

· 药理 ·

## 氧化苦参碱对急性心肌梗死诱发实验性大鼠心肌重塑的影响

杨钰萍<sup>1</sup>, 沈祥春<sup>1,2</sup>, 刘兴德<sup>1\*</sup>, 方泰惠<sup>2</sup>, 许立<sup>2</sup>

(1. 贵阳医学院, 贵阳 550004; 2. 江苏省中药药效学与安全性评价重点实验室, 南京 210029)

[摘要] 目的: 研究氧化苦参碱(OMT)对大鼠急性心肌梗死诱发实验性心肌重塑的保护作用。方法: 采用冠状动脉结扎术复制大鼠急性心肌梗死模型, 随机分为模型组、OMT 高剂量组、OMT 中剂量组、OMT 低剂量组、卡托普利组; 假手术组只做冠状动脉穿线而不结扎。模型复制 8 周后分别测血流动力学指标以观察各组大鼠心功能的变化; 计算心脏质量参数、心室重构参数, 碱水解法测心肌羟脯氨酸含量以分析各组大鼠心肌重塑程度; 并对心脏进行大体解剖学观察。结果: 模型组大鼠血流动力学指标结果提示心功能显著恶化, 心脏质量参数、心室重构参数、心肌羟脯氨酸含量及心脏大体解剖学观察提示心肌重塑程度显著增加。与模型组比较, OMT 具有改善心肌重塑大鼠心功能, 抑制心肌重塑的作用。结论: OMT 对急性心肌梗死诱发实验性心肌重塑具有一定的保护。

[关键词] 氧化苦参碱; 心肌梗死; 心肌重塑

[中图分类号] R 285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0125-05

## Protective Effect of Oxymatrine on Cardiac Remodeling After Acute Myocardial Infarction Induced by Ligated Coronary Artery in Rats

YANG Yu-ping<sup>1</sup>, SHEN Xiang-chun<sup>1,2</sup>, LIU Xing-de<sup>1\*</sup>, FANG Tai-hui<sup>2</sup>, XU Li<sup>2</sup>

(1. Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of oxymatrine (OMT) on myocardial remodeling after acute myocardial infarction (AMI) in rats. **Method:** AMI was reproduced in male SD rats by ligation of the left coronary artery. The survived rats were randomly divided into five groups as following: model group, OMT50, 25, 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> OMT, 50 mg · kg<sup>-1</sup> captopril, and sham group which was treated as the model group except the operation of arteria coronaria ligation. After eight weeks ligation, the cardiac function was assayed by hemodynamics parameters, the degree of myocardial remodeling was analyzed by cardiac weight indexes, ventricles remodeling parameters and the content of hydroxyproline. **Result:** The cardiac functions of rats in model group were significantly exacerbated. Cardiac weight parameter, entricular remodeling parameters, and contents of hydroxyproline in ventricle were significantly increased that means degree of myocardial remodeling is increased. After continuous administration of OMT for 8 weeks, the cardiac functions of the rats in OMT group were significantly ameliorated, and the degree of myocardial remodeling was significantly alleviated. **Conclusion:** OMT could ameliorate the experimental myocardial remodeling induced by AMI in rats.

[Key words] oxymatrine; acute myocardial infarction; myocardial remodeling

[收稿日期] 20100126(005)

[基金项目] 国家自然科学基金(30701024), 贵州省科技攻关项目(黔科合[2007]1035号), 贵州省科学技术基金(黔科合G字[2007]2133号), 江苏省博士后基金(0801026B), 贵州省国际合作基金(黔科合外G字[2009]700115号)

[通讯作者] \* 刘兴德, Tel: (0851)6908108, E-mail: liuxd@gmc.edu.cn

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 后病程演变形成的心肌重塑可导致心室扩张, 心功能进行性障碍, 甚至诱发猝死<sup>[1]</sup>。目前, 预防和逆转心肌重塑已成为防治心血管系统疾病的焦点之一, 寻找合理有效的防治与逆转心肌重塑的药物成为世界各国医药研究工作的重大课题。我国独特的中医药理论指导下的防病治病体系是前人对临床经验系统总结和精心归纳的结果, 从传统中药中寻找防治心肌重塑的药物对促进中医药现代化和产业化以及中医药在世界范围内被认可具有重要的社会意义和经济价值。

中药苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根, 具有清热燥湿, 杀虫, 利尿等作用。氧化苦参碱 (oxymatrine, OMT) 是苦参的主要有效成分, 具有广泛的药理作用<sup>[2]</sup>。目前, 关于 OMT 的抗病毒、抗炎杀菌、抗肿瘤、抗心律失常等作用的研究较多, 但关于 OMT 对心肌重塑的影响研究相对较少。该研究采用结扎冠状动脉法复制 AMI 大鼠模型, 通过观察 OMT 对 AMI 大鼠的血流动力学指标、心脏质量参数、心室重构参数、心肌羟脯氨酸含量等指标的影响, 探究 OMT 对 AMI 诱导的心肌重塑的影响。

## 1 材料与方 法

**1.1 动物** 雄性 SD 大鼠, 清洁级, 9 周龄, 60 只, 体重 (275 ± 25) g, 由贵阳医学院实验动物中心提供。

**1.2 主要仪器** HX-300 动物呼吸机, 成都泰盟科技有限公司; BL-420E<sup>+</sup> 生物机能实验系统, 成都泰盟科技有限公司。

**1.3 药物与试剂** 氧化苦参碱, 本实验室自制 (纯度: HPLC ≥ 98%); 卡托普利片 (Captopril Tablets), 山东华信制药有限公司, 25 mg/片, 批号 H37021491; 羟脯氨酸试剂盒, 南京建成生物试剂公司, 批号 20090522。

### 1.4 方 法

**1.4.1 AMI 大鼠模型的制备** 参照文献并加以改进<sup>[3]</sup>。大鼠称重后用 3% 水合氯醛 ip 麻醉 (10 mL · kg<sup>-1</sup>), 固定于鼠板, 用针形电极插入四肢皮下, 观察记录标准肢体 II 导联心电图。胸部去毛, 消毒, 在第 4, 5 肋间距胸骨左缘 2 mm 处剪开皮肤, 上下纵向延伸切口约 2 cm, 逐层钝性分离皮下组织、肌肉至胸壁, 将皮肤作荷包缝合备用。将动物呼吸机调至频率 80 次/min、呼吸时程比 2:1、潮气量 16 ~ 20 mL ·

kg<sup>-1</sup>, 面罩式供呼吸。于第 4, 5 肋间距胸骨左缘约 2 mm 处打开胸壁, 剪断第 4, 5 肋 (或第 3, 4 肋), 挑开胸膜, 小拉钩拉开胸壁, 暴露心脏。挑开心包膜, 轻压右侧胸壁挤出心脏, 用无菌 7 ~ 0 号医用缝合线在肺动脉圆锥与左心耳之间距主动脉根部约 5 mm 处结扎左冠状动脉前降支, 结扎深度约 1 ~ 2 mm。将心脏迅速放回胸腔, 轻柔挤压胸腔排尽气体, 关闭胸腔。待大鼠恢复自主呼吸后, 停止人工呼吸。观察并记录结扎后 10 min 大鼠标准肢体 II 导联心电图, 比较结扎前后肢体 II 导联心电图, 以 J 点的位移变化标志结扎手术复制 AMI 成功。假手术组大鼠冠状动脉穿线但未行结扎手术。各组大鼠均术后予青霉素预防感染, 14 万 U/只, ip 每天 1 次, 连续 3 d。

**1.4.2 分组及给药方案** 将造模复制成功的大鼠随机分为模型组, OMT 高剂量组 50 mg · kg<sup>-1</sup>, OMT 中剂量组 25 mg · kg<sup>-1</sup>, OMT 低剂量组 12.5 mg · kg<sup>-1</sup>, 卡托普利组 50 mg · kg<sup>-1</sup>; 另设假手术组, 假手术组大鼠只做冠状动脉穿线而不结扎。各组于模型复制后 12 h 开始 ig 给药, 10 mL · kg<sup>-1</sup>, 每日 1 次, 其中假手术组、模型组的大鼠每日 ig 相同容积的生理盐水, 连续给药 8 周。每组保证实验结束时有 8 只动物存活。

**1.4.3 血流动力学指标的测定** 方法参照文献 [4]。大鼠称重, 3% 水合氯醛 ip 麻醉 (10 mL · kg<sup>-1</sup>), 仰位固定, 游离右颈总动脉约 1.5 ~ 2.0 cm, 将远心端结扎, 近心端用动脉夹夹闭。用眼科剪在距远心端结扎点约 2 mm 处斜行剪开约 1/2 血管, 插入 PE-50 心导管 (预先将插管与压力换能器连接, 用 1% 的肝素填充插管与换能器接口, 排尽气泡, 连接于 BL-420E<sup>+</sup> 生物机能记录仪, 松开动脉夹, 观察动脉波形。保持插管与动脉的方向一致, 继续轻缓向心脏方向插管, 当显示屏上出现波幅明显大于动脉波幅的近似方形波形时, 即表示插入左心室, 插入的管长约 4 cm 左右。记录波形及血流动力学指标左室收缩压 (LVSP)、左室舒张末期压 (LVEDP)、左室内压最大上升速率 (+ dp/dt<sub>max</sub>)、左室内压最大下降速率 (- dp/dt<sub>max</sub>) 并保存。

**1.4.4 心脏质量参数及心室重构参数的测定** 方法参照文献 [5]。经插管向左心室推注 10% KCl 溶液, 2 ~ 3 mL/只, 使心脏停搏于舒张期, 取出心脏, 用 4 °C 生理盐水洗净残血, 用吸水纸吸净残存液, 剪除大血管, 拍照; 称取全心重量 (HW), 测心长轴

(HL); 剪除心房, 将左、右心室分离, 分别称取左、右心室质量 (LVW, RVW), 测左心室内径 (LVD)、左室前壁厚度 (LVAW); 计算心脏质量参数及心室重构参数。

**1.4.5 非梗死区心肌羟脯氨酸含量的测定** 具体操作按羟脯氨酸测试盒说明书。精确称取 100 mg 左心室非梗死区心肌, 心肌中的羟脯氨酸在氧化剂的作用下所产生的氧化产物与二甲氨基苯甲醛作用呈现紫红色, 在 550 nm 处测样本吸光度。

**1.4.6 统计学方法** 所有统计在 SPSS 11.0 软件

上完成, 各组数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 OMT 对 AMI 诱发心肌重塑血流动力学的改善

AMI 8 周后, 模型组与假手术组比较, LVSP, LVMP,  $+dp/dt_{max}$  均显著降低, LVEDP,  $-dp/dt_{max}$  显著增加 ( $P < 0.01$ ), 提示 AMI 8 周后心功能障碍。连续给与 OMT 8 周后, OMT 对血流动力学异常指标均有显著的改善作用 (与模型组比较, 差异显著  $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 OMT 对心肌梗死 8 周后诱发心肌重塑大鼠左心功能的影响

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	LVSP /mmHg	LVEDP /mmHg	LVMP /mmHg	+ dp/dt <sub>max</sub> /mmHg·ms <sup>-1</sup>	- dp/dt <sub>max</sub> /mmHg·ms <sup>-1</sup>
假手术	—	107.47 ± 18.90 <sup>2)</sup>	-4.75 ± 8.09 <sup>2)</sup>	52.23 ± 6.73 <sup>2)</sup>	4 351 ± 653 <sup>2)</sup>	-3 734 ± 119 <sup>2)</sup>
模型	—	61.56 ± 14.58	7.32 ± 6.56	33.10 ± 12.10	1 990 ± 461	-1 323 ± 145
卡托普利	50	103.74 ± 18.21 <sup>2)</sup>	1.80 ± 3.56 <sup>2)</sup>	51.53 ± 15.15 <sup>2)</sup>	3 984 ± 113 <sup>2)</sup>	-3 192 ± 858 <sup>2)</sup>
OMT	50	93.37 ± 27.66 <sup>2)</sup>	3.25 ± 8.77 <sup>1)</sup>	40.15 ± 11.24 <sup>2)</sup>	3 988 ± 151 <sup>2)</sup>	-3 329 ± 139 <sup>2)</sup>
	25	89.08 ± 17.79 <sup>2)</sup>	4.03 ± 7.32	39.95 ± 7.62	3 033 ± 160 <sup>1)</sup>	-2 405 ± 930
	12.5	84.56 ± 19.46 <sup>2)</sup>	4.98 ± 7.95	37.02 ± 15.71	2 503 ± 911	-2 157 ± 931

注: 与模型组比较 <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (下同)

**2.2 心脏质量参数与重构指数的变化** 大鼠急性心肌梗死 8 周后模型组与假手术组比较 HW, LVW, HW/BW, LVW/BW 显著增加, 左心室前壁 (LVAW) 厚度显著下降, 左心室腔 (LVD) 显著扩大, 提示心肌

梗死 8 周后形成病理性心肌重塑。连续给予 OMT 8 周, 各剂量组对心脏质量参数及重构指数指标具有一定的改善作用, 提示 OMT 对 AMI 诱发实验性心肌重塑动物模型具有一定的抑制作用, 见表 2~3。

表 2 OMT 对心肌梗死 8 周后诱发心肌重塑大鼠心脏质量参数的影响

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	BW/g	HW/g	LVW/g	HW/BW	LVW/BW
假手术	—	386.9 ± 30.9	0.911 ± 0.070 <sup>1)</sup>	0.662 ± 0.060 <sup>1)</sup>	0.239 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>1)</sup>
模型	—	376.3 ± 46.4	1.239 ± 0.410	0.723 ± 0.109	0.256 ± 0.03	0.193 ± 0.02
卡托普利	50	378.8 ± 47.1	0.855 ± 0.388	0.611 ± 0.086 <sup>1)</sup>	0.220 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.161 ± 0.02 <sup>2)</sup>
OMT	50	390.6 ± 30.1	0.950 ± 0.428	0.727 ± 0.116	0.250 ± 0.02	0.185 ± 0.02 <sup>1)</sup>
	25	394.4 ± 30.3	0.977 ± 0.446	0.735 ± 0.078	0.254 ± 0.02	0.187 ± 0.02
	12.5	380.6 ± 48.2	0.983 ± 0.15	0.739 ± 0.12	0.253 ± 0.02	0.191 ± 0.02

表 3 OMT 对心肌梗死 8 周后诱发心肌重塑大鼠心室重构参数的影响

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	LVAW/cm	LVD/cm	HL/cm	HL/LVD	LVAW/LVD
假手术	—	0.36 ± 0.05 <sup>2)</sup>	0.25 ± 0.04 <sup>2)</sup>	1.43 ± 0.10	5.90 ± 0.87 <sup>2)</sup>	1.54 ± 0.48 <sup>2)</sup>
模型	—	0.09 ± 0.04	0.61 ± 0.22	1.46 ± 0.18	2.45 ± 0.28	0.14 ± 0.07
卡托普利	50	0.16 ± 0.08 <sup>1)</sup>	0.45 ± 0.11 <sup>1)</sup>	1.36 ± 0.11	3.23 ± 0.99 <sup>1)</sup>	0.43 ± 0.39 <sup>1)</sup>
OMT	50	0.15 ± 0.09 <sup>1)</sup>	0.51 ± 0.17 <sup>1)</sup>	1.42 ± 0.11	2.98 ± 0.69	0.36 ± 0.30 <sup>1)</sup>
	25	0.14 ± 0.09	0.52 ± 0.13	1.45 ± 0.08	2.98 ± 0.71	0.32 ± 0.32
	12.5	0.14 ± 0.09	0.61 ± 0.15	1.40 ± 0.10	2.70 ± 0.94	0.32 ± 0.31

### 2.3 心脏标本大体解剖学观察

大鼠急性心肌梗死 8 周后,模型组大鼠心脏左心梗死面积显著增大,梗死灶灰白透明,左心室腔扩大

明显,左室前壁厚度明显变薄。与模型组比较, Cap 组、OMT 各剂量组大鼠心脏左心梗死面积、左心室腔明显缩小,左室前壁厚度明显增加。结果见图 1。

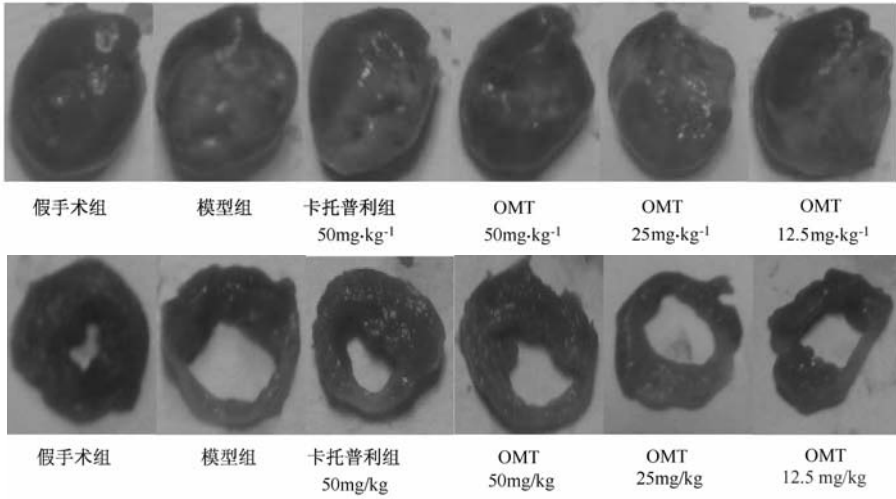


图 1 急性心肌梗死 8 周后诱发心肌重塑大鼠心脏大体解剖学观察

### 2.4 非梗死区心肌羟脯氨酸含量

大鼠心肌梗死后 8 周,与假手术组比较,模型组大鼠非梗死区心肌羟脯氨酸含量显著增加 ( $P < 0.01$ ),提示心肌纤维化程度严重;与模型组比较, Cap 组、OMT 各剂量组非梗死区心肌羟脯氨酸含量显著降低 ( $P < 0.01$ ),提示心肌纤维化程度显著缓解。结果见图 2。

因此,心脏质量参数和心室重构参数以及梗死灶的大小是直接反映心肌梗死后心肌重塑的指标<sup>[7]</sup>。心肌纤维化 (myocardial fibrosis, MF) 是指在各种致病因素 (炎症、缺血、缺氧等) 作用下,心肌的正常组织结构中胶原纤维过量积聚,心脏组织中胶原浓度显著升高或胶原成分发生改变<sup>[8]</sup>,是心肌重塑的主要表现之一。心肌中羟脯氨酸含量的变化能够反映心肌总胶原含量的变化,是目前反映 MF 的重要指标之一。在血流动力学各项指标中, LVSP,  $+dp/dt_{max}$  是反映心肌收缩性能的指标,其数值的降低反应心肌收缩功能的降低; LVEDP,  $-dp/dt_{max}$  是评价心肌舒张功能的重要指标, LVEDP 升高间接地反映了心脏舒张功能的减退<sup>[5]</sup>。

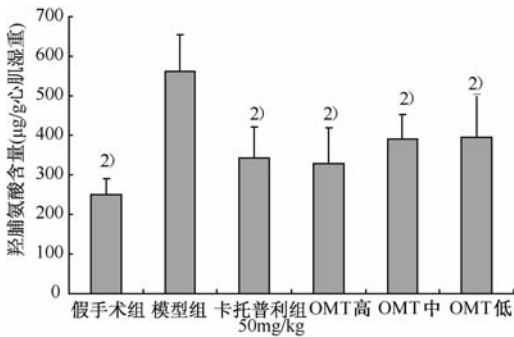


图 2 OMT 对心肌梗死 8 周后大鼠非梗死区心肌羟脯氨酸含量的影响

该研究结果显示,冠脉结扎 8 周后,模型组大鼠与假手术组比较,其血流动力学指标 LVSP, LVEDP,  $+dp/dt_{max}$ ,  $-dp/dt_{max}$  显著异常,提示模型组大鼠 AMI 后心功能严重障碍;心脏质量参数、心室重构参数的改变,心肌羟脯氨酸含量的显著增加及梗死灶性质提示模型组大鼠出现心肌重塑,且程度显著。与模型组比较,OMT 各剂量组大鼠的血流动力学指标结果提示心功能均有不同程度的提高;心脏质量参数、心室重构参数、梗死灶性质的良性变化及心肌羟脯氨酸含量的显著下降提示心肌重塑程度有不同程度的缓解。本研究结果表明 OMT 能够降低 AMI 大鼠的心肌重塑程度,改善 AMI 大鼠的心功能,对

### 3 讨论

心肌重塑是指在各种因素 (心肌缺血、梗死、血流动力负荷、炎症等) 直接或间接作用下所造成的心肌结构、功能的变化,心肌细胞适应性肥大、坏死、凋亡,心肌细胞外基质胶原沉积和纤维化,心肌僵硬增加等病理变化。

AMI 后,梗死区膨展、非梗死区心肌的反应性肥厚,导致心脏质量参数和心室重构参数的改变<sup>[6]</sup>。

(下转第 133 页)

Bcl-2 蛋白表达上调, Bax 蛋白表达下调。

该实验初步阐释了胃肠舒促胃肠运动可能与其改善线粒体的动能系统有关, 对于用现代医学观点阐释中药促进胃肠运动的作用机制提供了科学的实验数据, 为开发胃肠动力中药新药开辟了思路。

[参考文献]

[1] Feldman M, Schiller L R. Disorders of gastrointestinal motility associated with diabetes mellitus[J]. *Ann Intern Med*, 1983, 98: 378.

[2] Icks A, Haastert B, Rathmann W, et al. Prevalence of gastrointestinal symptoms in patients with type 2 diabetes: a population-based study [J]. *Arch Intern Med*, 2002, 162: 1067.

[3] Choi S, Park C G, Kim M Y, et al. Action of imipramine on activated ATP-sensitive K(+) channels in interstitial cells of Cajal from murine small intestine [J]. *Life Sci*, 2006, 78(20):2322.

[4] 宋晓冬, 刘孟安, 孙丰润, 等. 中药胃肠舒对胃肠平滑肌细胞 ATP 生成的影响[J], *世界华人消化杂志*, 2007, 15(30):3159.

[5] 刘孟安, 赵岩, 张树平. 胃肠舒的药理与毒理实验研究[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(10):2460.

[6] 刘孟安, 姜学连, 孙丰润, 等. 胃肠舒治疗痞满证的临床研究[J], *中国中医急症*, 2006, 15(8):843.

[7] Kitayama J, Faraci F M, Gunneth C A, et al. Impairment of dilator responses of cerebral arterioles during diabetes mellitus: role of inducible NO synthase [J]. *Stroke*, 2006, 37: 2129.

[8] Yu X, Tesiram Y A, Towner R A, et al. Early myocardial dysfunction in streptozotocin induced diabetic mice: a study using in vivo magnetic resonance imaging [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2007, 6: 6.

[9] Chiche J, Rouleau M, Gounon P, et al. Hypoxic enlarged mitochondria protect cancer cells from apoptotic stimuli[J]. *J Cell Physiol*, 2010, 222(3):648.

[10] Hirst J. Towards the molecular mechanism of respiratory complex I[R]. *Biochem J*, 2009, 425(2):327.

[11] Vaidya B, Mishra N, Dube D, et al. Targeted nucleic acid delivery to mitochondria [R]. *Curr Gene Ther*, 2009, 9(6):475.

[责任编辑 聂淑琴]

(上接第 128 页)

AMI 诱导的心肌重塑有逆转作用。OMT 逆转心肌重塑的机制有待于进一步深入研究。

[参考文献]

[1] Pfeffer M A, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: Experimental observations and clinical implications [J]. *Circulation*, 1990, 81(4): 1161.

[2] 杨钰萍, 沈祥春. 氧化苦参碱药理作用的研究进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2009, 29(5): 405.

[3] 张润峰, 魏毅东, 张小刚, 等. 提高大鼠心肌梗死模型成功率的方法研究[J]. *同济大学学报*, 2005, 26(4): 67.

[4] 沈祥春, 陶玲, 彭佼, 等. 太子参对心肌梗死后慢性心衰大鼠心功能与基质金属蛋白酶表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2008, 24(9):1694.

[5] 李云霞. 心肌力学和心肌收缩性能的评定[J]. *生理科学进展*, 1980, 11(3):21.

[6] Sun Y. Myocardial repair/remodelling following infarction; roles of local factors [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 81(3): 482.

[7] Ertl G, Frantz S. Healing after myocardial infarction[J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 66(1):22.

[8] 姜秀春, 姜秀丽, 李树青. 心肌纤维化发病机制和防治的研究进展[J]. *医学综述*, 2006, 12(15):931.

[责任编辑 聂淑琴]