

· 药理 ·

氧化苦参碱对大鼠冠脉结扎诱发急性  
心肌梗死的保护作用及机制

王恒<sup>1,2</sup>, 吉杨丹<sup>2</sup>, 徐旖旎<sup>1</sup>, 沈祥春<sup>1\*</sup>

(1. 贵阳医学院药理研究室, 贵阳 550004; 2. 黔南民族医学高等专科学校, 贵州 都匀 558003)

[摘要] 目的:研究氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)对大鼠冠脉结扎诱发急性实验性心肌梗死的作用及可能作用机制。方法:SD 大鼠按体重随机分为 4 组:假手术组、模型组、OMT 50, 25 mg·kg<sup>-1</sup>组, 各组 ig 给药, 连续 5 d。末次给药后 1 h 结扎冠状动脉左前降支(LAD)复制大鼠急性实验性心肌梗死模型, 6 h 后, 收集分析标本。HE 染色观察大鼠心肌组织病理形态学变化, 生化分析法检测血清中过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活力, 总抗氧化能力(T-AOC)及丙二醛(MDA)含量, ELISA 法分析血清中白介素-1β(IL-1β)、白介素-6(IL-6)、和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的水平。结果: OMT 50 mg·kg<sup>-1</sup>组能明显改善急性心肌梗死所致心肌组织间质水肿、炎细胞浸润等病理组织学改变; 提高心肌梗死大鼠血清中 SOD, CAT, GSH-Px 活性, 降低大鼠血清中 MDA 含量(与模型组比较,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 降低心肌梗死大鼠血清中 IL-1β, IL-6, TNF-α 的水平( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 对血清中 T-AOC 未见明显影响。结论: OMT 对大鼠冠状动脉结扎诱发实验性急性心肌梗死具有一定的保护作用, 其作用机制可能与抑制免疫炎症因子分泌和改善氧化应激状态有关。

[关键词] 氧化苦参碱; 心肌梗死; 氧化应激; 炎症因子  
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)04-0154-04  
[DOI] CNKI:11-3495/R. 20111209. 1454. 002 [网络出版时间] 2011-12-09 14:54  
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20111209.1454.002.html>

Protective Mechanism of Oxymatrine on Acute Experimental  
Myocardial Infarction in Rats Induced by  
Ligatting Left Anterior Descending Branch of Coronary Artery

WANG Heng<sup>1,2</sup>, JI Yang-dan<sup>2</sup>, XU Yi-ni<sup>1</sup>, SHEN Xiang-chun<sup>1\*</sup>

(1. Research Division of Pharmacology, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China;  
2. Qiannan Medical College For Nationalities, Duyun 558003, China)

[Abstract] Objective: To investigate the protective effects and mechanism of oxymatrine (OMT) on experimental acute myocardial infarction (AMI) in rats induced by ligatting left anterior descending branch of coronary artery. Method: The SD rats were allotted into 4 groups according to the body weight as following: sham operation, model group, the OMT 50 mg·kg<sup>-1</sup> and 25 mg·kg<sup>-1</sup> groups, the rats were orally administered for 5 days. The rat AMI model was reproduced by ligation of left anterior descending branch of coronary artery after 1 hour of the last treatment, the ligation of the artery did not be performed in sham operation group. The sample was collected after ligation of left anterior descending branch of coronary artery for 6 hours. The pathological changes of

[收稿日期] 20110918(003)  
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173586); 贵州省科技攻关项目(黔科合[2011]3010 号); 贵州省国际科技合作项目(黔科合外 G 字[2009]700115 号)  
[第一作者] 王恒, 硕士, 助教, 从事民族药活性研究, Tel: 15286225520, E-mail: wuiiam@163.com  
[通讯作者] \* 沈祥春, 博士后, 教授, 从事心血管系统药物药理、中药民族药活性研究, Tel: 0851-6908108, E-mail: shenxiangchun@126.com

cardiac tissue were checked by HE staining. The indexes of oxidative stress were detected by biochemical assay kits, including the total antioxidant capacity (T-AOC), activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), and malondialdehyde (MDA) content. And the contents of the interleutin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleutin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in serum were measured by Elisa kits. **Result:** The histological examination indicated there was a myocardial lesion in model group including edema of myocardial interstitial and inflammatory cell infiltration, etc, after ligation of left anterior descending branch of coronary artery, OMT 50 mg·kg<sup>-1</sup> could ameliorate the histopathological changes. The activities of antioxidant enzymes in serum were significantly decreased such as SOD, CAT, and GSH-Px, as well as MDA contents in serum were increased, and the contents of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  in serum were increased in model group (compared with sham group, there were significant difference,  $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). 50 mg·kg<sup>-1</sup> OMT could obviously ameliorate oxidative stress and inflammatory cytokines in serum (compared with model group,  $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** OMT can protect the cardiac injury in rats induced by ligating left anterior descending branch of coronary artery, the mechanism maybe involve in inhibiting secretion of inflammatory cytokines and ameliorating oxidative stress.

[**Key words**] oxymatrine; myocardial infarction; oxidative stress; inflammatory cytokines

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是心血管疾病的重要死亡病因,也是临床猝死的常见症状之一。心肌梗死大多是在冠状动脉长期和急剧病变的基础上,冠状动脉的血流急剧减少或中断,使相应的心肌出现严重而持久地急性缺血,最终导致心肌的缺血性坏死。心肌梗死是 21 世纪医学亟待解决的难题之一<sup>[1]</sup>。从中药民族药中寻找防治心肌梗死的药物对促进中医药现代化和产业化,使中医药迈向国际化具有重要的意义。

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 (苦参素 oxymatrine, OMT) 是主要有效成分,药理研究表明具有抗病毒、抗炎杀菌、抗肿瘤、降压、强心、抗心律失常、改善心肌缺血等药理作用,但相关机制研究未见明确报道<sup>[2-3]</sup>。本研究以 OMT 为研究对象,建立大鼠急性心肌梗死模型,研究其对氧化应激激活和炎症因子分泌的干预作用,分析可能的作用机制。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 氧化苦参碱 (OMT) 购于南京泽朗医药科技有限公司,批号 20080210,经本室纯化 OMT 含量 HPLC  $\geq 90\%$ ;总抗氧化能力检测试剂盒 (ABTS 法) 购于碧云天生物技术研究,批号 091102;丙二醛 (MDA) 试剂盒,批号 20091230;过氧化氢酶 (CAT) 试剂盒,批号 20091230;超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒,批号 20100107;谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒,批号 20100107;均购于南京建成生物工程研究所。大鼠 (Rat) 白介素 1 $\beta$  (IL-

1 $\beta$ ) ELISA 检测试剂盒,批号 20091028;大鼠 (Rat) 白介素 6 (IL-6) ELISA 检测试剂盒,批号 20091028;大鼠 (Rat) 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ELISA 检测试剂盒,批号 20091028;均为上海门课塔生物科技发展有限公司分装 R&D 公司产品。其余试剂均为市售分析纯。

**1.2 动物** 健康清洁级 14 ~ 16 周龄 SD 大鼠,雄性,体重 320 ~ 360 g,由贵阳医学院动物实验中心提供。动物合格证号 SCXK (黔) 2002-0001。实验前置于室温 18 ~ 22 °C,相对湿度 65%,光照周期 12 h,适应性喂养 5 d。

**1.3 仪器** HX-300 型动物呼吸机 (浙江龙湾医疗器械厂),TDL-4ZB 型台式低速离心机 (湖南星科科学仪器厂),DG 530 酶联免疫检测仪 (华东电子集团医疗装备有限公司),KJ-210A 型振荡器 (姜堰市康健医疗器具有限公司),TS-100 型摇床 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司),HH·B11·500 电热恒温培养箱 (上海市越进医疗器械一厂),722 光栅分光光度计 (上海第三分析仪器),BS223 型电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

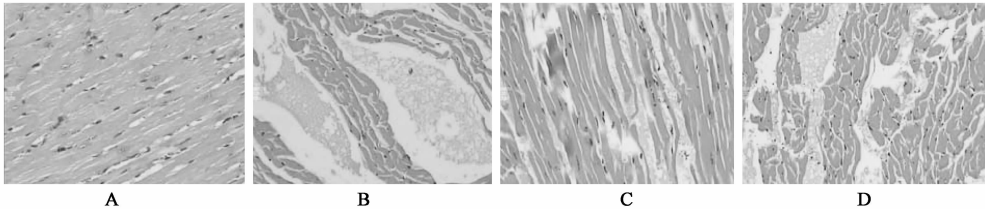
## 2 方法

**2.1 动物模型的复制、分组及给药** SD 大鼠按体重随机分为 4 组:假手术组 (蒸馏水 20 mL·kg<sup>-1</sup>)、模型组 (蒸馏水 20 mL·kg<sup>-1</sup>)、OMT 高剂量组 (50 mg·kg<sup>-1</sup>)、OMT 低剂量组 (25 mg·kg<sup>-1</sup>)。ig 容积为 20 mL·kg<sup>-1</sup>。每天 ig 1 次,连续 5 d。末次给药后 1 h,参照文献方法复制急性心肌梗死大鼠动物模型<sup>[3]</sup>,以体表心电图肢体 II 导联出现 J 点向上抬高,

持续 30 min 以上作为模型成功的标志<sup>[4]</sup>。假手术组大鼠左冠状动脉前降支穿线但未进行结扎手术,其余操作同模型组。手术结束后,每组保证存活 10 只。

**2.2 血清制备及指标分析** 各组大鼠术后 6 h 颈总动脉取血,离心(3 000 r·min<sup>-1</sup>,10 min)取血清,根据相关的生化指标分析需要分装,置-20 ℃冰箱保存备用。根据 CAT,SOD,GSH-Px,T-AOC,MDA,IL-1β,IL-6,TNF-α 说明书测定及计算。

**2.3 大鼠心肌组织病理形态学观察** 颈总动脉取血后解剖大鼠,取左心室缺血区心肌组织,以中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,切片,HE 染色,行光学显微镜下观察<sup>[5]</sup>。



A. 假手术组; B. 模型组; C. OMT 50 mg·kg<sup>-1</sup>; D. OMT 25 mg·kg<sup>-1</sup>

图 1 OMT 对大鼠冠脉结扎诱发实验性急性心肌梗死心肌病理组织学的影响(HE, ×200)

**3.2 对大鼠冠脉结扎诱发实验性急性心肌梗死血清氧化应激的影响** 冠脉结扎 6 h 后,抗氧化酶 CAT,SOD,GSH-Px 活力及总抗氧化能力显著降低( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。氧化应激标志产物 MDA

**2.4 统计学方法** 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,所有数据用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理,两样本均数进行  $t$  检验, $P<0.05$  为有统计学意义。

3 结果

**3.1 对大鼠冠脉结扎诱发急性心肌梗死心肌组织病理组织学的影响** 心肌标本镜下观察:假手术组心肌纤维排列整齐,心肌间质未见明显水肿及血管扩张;模型组心肌纤维肿胀,排列紊乱,心肌间质出现大量水肿,甚至可见血管扩张;OMT 50 mg·kg<sup>-1</sup> 心肌组织细胞核大小均匀,呈现轻度水肿及血管扩张。OMT 25 mg·kg<sup>-1</sup> 病理结果与高剂量组一致,但是细胞间质水肿严重。见图 1。

水平显著升高( $P<0.01$ ),与假手术组比较,差异显著;与模型组比较 OMT 高剂量组可显著升高血清中 CAT,SOD,GSH-Px 活力( $P<0.05$ ),可显著降低血清中 MDA 水平( $P<0.01$ ),见表 1。

表 1 OMT 对大鼠冠脉结扎诱发实验性急性心肌梗死血清 CAT,SOD,GSH-Px,MDA 的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

| 组别  | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | MDA/μmol·L <sup>-1</sup> | CAT/U·mL <sup>-1</sup> | SOD/U·mL <sup>-1</sup>  | GSH-Px/U·mL <sup>-1</sup>   | T-AOC/mmol·L <sup>-1</sup> |
|-----|------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 假手术 | -                      | 5.6±2.9                  | 7.6±3.4                | 92.4±59.5               | 1901.1±539.5                | 0.34±0.06                  |
| 模型  | -                      | 11.3±3.6 <sup>2)</sup>   | 2.9±1.7 <sup>2)</sup>  | 30.9±15.1 <sup>1)</sup> | 1 066.2±435.1 <sup>2)</sup> | 0.27±0.05 <sup>1)</sup>    |
| OMT | 50                     | 6.3±2.6 <sup>4)</sup>    | 4.9±1.8 <sup>3)</sup>  | 57.7±29.8 <sup>3)</sup> | 1 566.3±435.1 <sup>3)</sup> | 0.31±0.03                  |
|     | 25                     | 8.1±4.9                  | 3.3±1.5                | 37.7±19.2               | 1 305.8±295.4               | 0.28±0.03                  |

注:与假手术组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ ,<sup>4)</sup> $P<0.01$ (表 2 同)。

**3.3 对大鼠冠脉结扎诱发实验性急性心肌梗死血清 IL-1β,IL-6,TNF-α 的影响** 急性心肌梗死后血中免疫炎症因子水平显著升高,抑制免疫炎症因子表达,成为防治急性心肌梗死和心肌梗死预后的关键指标。本研究结果提示,模型组与假手术组比,血清中 IL-1β,IL-6,TNF-α 显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比,OMT 50 mg·kg<sup>-1</sup> 显著降低血清中 IL-1β,IL-6,TNF-α 水平( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),OMT 25 mg·kg<sup>-1</sup> 对血清中 IL-1β,IL-6,TNF-α 水平的升高具有一定的抑制趋势。见表 2。

4 讨论

急性心肌梗死多由于冠脉供血绝对或相对不足

表 2 OMT 对大鼠冠脉结扎诱发实验性急性心肌梗死

大鼠血清 IL-1β,IL-6,TNF-α 的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) ng·L<sup>-1</sup>

| 组别  | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | IL-1β                 | IL-6                  | TNF-α                 |
|-----|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 假手术 | -                      | 6.3±3.2 <sup>2)</sup> | 1.1±0.8 <sup>2)</sup> | 4.2±5.8 <sup>2)</sup> |
| 模型  | -                      | 11.7±3.5              | 5.4±3.0               | 17.1±4.8              |
| OMT | 50                     | 7.5±2.5 <sup>3)</sup> | 1.7±1.4 <sup>4)</sup> | 6.6±5.8 <sup>4)</sup> |
|     | 25                     | 9.8±0.9               | 4.3±2.8               | 11.5±5.7              |

时,心肌代谢从有氧代谢转向无氧酵解,高能磷酸化合物很快耗竭,心肌能量衰竭,导致心功能严重受损,泵血障碍、停止,上述变化在冠脉急性闭塞后几

分钟之内出现<sup>[6]</sup>。此时重新灌注缺血损伤即停止<sup>[7]</sup>。如果缺血时间延长,绝大部分心肌呈凝固性坏死,心肌间质充血、水肿并伴大量炎症细胞浸润<sup>[8]</sup>。本实验通过 HE 染色证实了 OMT 能够显著的抑制心肌损伤。

炎症反应在 AMI 的发生发展中起到重要的作用并影响其临床转归<sup>[9]</sup>。AMI 后心肌内炎症细胞因子基因表达及其蛋白合成增多, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  和 IL-6 是致炎症反应细胞因子,加强炎症反应和组织破坏<sup>[10]</sup>。研究证实致炎症细胞因子,如 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  对孤立灌注的心脏、乳头肌标本和培养的心肌细胞有负性肌力作用<sup>[11-12]</sup>;此外致炎症细胞因子有可能通过激活细胞毒 T 细胞而直接造成心肌细胞的损伤<sup>[13]</sup>。本实验结果证实 OMT 能降低炎症反应因子水平。

抗氧化活性酶 SOD, CAT, GSH-Px 以及非酶类抗氧化物质能有效清除氧自由基、活性氧,以免引发大分子的脂质氧化,阻断链反应,抗氧化性损伤。丙二醛(MDA),是自由基作用于脂质发生过氧化反应的终产物,会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合,且具有很强的细胞毒性,MDA 的高低能够反映机体受自由基攻击的严重程度<sup>[14]</sup>。本研究结果证实 OMT 改善急性心肌梗死氧化应激状态主要影响抗氧化酶类,而不是非酶类物质抗氧化的作用。

综上所述,本研究以近年来免疫炎症理论在急性心肌梗死防治中的应用为前提,根据传统中药苦参及其主要效应成分——OMT 的药理作用,建立急性心肌梗死的实验动物模型,证实 OMT 对冠脉结扎 6 h 后诱发急性心肌梗死的机制可能是通过提高抗氧化酶的活力、改善心肌氧化应激状态和抑制炎症反应细胞因子的分泌和释放。

## [参考文献]

- [1] Gajos G. Optimal treatment for patients after myocardial infarction: some current concepts and controversies[J]. Pol Arch Med Wewn, 2008,118(1/2): 43.
- [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] 杨钰萍,沈祥春,刘兴德,等. 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[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(6):125.
- [4] 陈祖云,肖婷婷,王恒,等. 氧化苦参碱对大鼠冠脉结扎诱发实验性急性心肌梗死的保护作用[J]. 中华中医药杂志,2011,26(6):1303.
- [5] 李伟,王旭东,葛海燕,等. 复心煎抗大鼠心肌缺血再灌注损伤机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):170.
- [6] Goyal S, Arota S, Mital R, et al. Myocardial salvaging effect of telmisartan in experimental model myocardial infarction[J]. Eur J Pharmacol,2009,619(1/3):75.
- [7] Tarantini G, Ramondo A, Iliceto S. Aborted myocardial infarction;a clinical-magnetic resonance correlation[J]. Heart,2005,91:24.
- [8] 彭章平,朱建华. 现代缺血性心脏病[M]. 北京:人民军医出版社,2000:30.
- [9] Henning R J, Shadf M, Eadula U, et al. Humancord blood mononuclear cells decrease cytokines and inflammatory cells in acute myocardial infarction [J]. Stem Cells Dev,2008,17(6):1207.
- [10] Koch W, Kastrai A, Bottiger C, et al. Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary disease and myocardial infarction [J]. Atherosclerosis, 2001,159 (1):137.
- [11] Fikel M S, Oddis C V, Jacob T D, et al. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric-oxide[J]. Science,1992,257(5068):387.
- [12] Balligand J L, Ungureanu D, Kelly R A, et al. Abnormal contractile function due to induction of nitric oxide synthesis in rat cardiac myocytes follows exposure to activated macrophage-conditioned medium [J]. J Clin Invest, 1993,91(5):2314.
- [13] Woodley S L, Mc Millan, Shelby J, et al. Myocyte injury and contraction abnormalities produced by cytotoxic T-lymphocytes[J]. N Engl J Med, 1990,323(4):236.
- [14] Nakamura T, Kuroda Y, Yamashita S, et al. Edaravone attenuates brain Edema and urologic deficit s in a rat model of acute intracerebral hemorrhage [J]. Stroke, 2008,39(2):463.

[责任编辑 聂淑琴]