

铁屎米酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

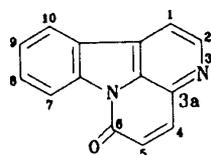
石明健*, 刘惟莞, 胡 岚¹, 王红英, 杨晓茹, 余恩欣²

(湖北医科大学药理教研室,¹ 附一院麻醉科;² 湖北省药品检验所, 武汉 430071)

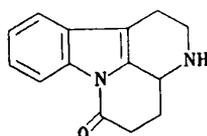
摘要 目的: 研究铁屎米酮对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。方法: 大鼠左冠脉前降支结扎造成心肌缺血再灌注损伤。结果: 铁屎米酮(5, 10 及 20 mg·kg⁻¹, ig)可显著降低缺血再灌性心律失常发生率, 缩短心律失常持续时间, 防止室颤的发生; 减少心肌丙二醛含量, 提高心肌超氧化物歧化酶活性; 减轻心肌细胞超微结构损伤。结论: 铁屎米酮对心肌缺血再灌注损伤有保护作用。

关键词 铁屎米酮; 心肌再灌注损伤; 心律失常; 超氧化物歧化酶

铁屎米酮(canthir-6-one, Can)是从芸香科花椒属植物刺异叶花椒中提取的生物碱^[1]。此化合物与其结构类似的六氢铁屎米酮(hexahydrocanthinone)均有明显的心血管效应和抗缺氧作用^[2]。实验表明, Can可降低血压、减慢心率、降低心肌氧耗量^[3]。本文研究 Can对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响, 进一步探讨其对心血管系统的作用。两者的结构见下:



Canthin-6-one



Hexahydrocanthinone

材 料 和 方 法

药品和试剂 铁屎米酮: 中国科学院武汉植物研究所提供, 用 pH 4 的盐酸蒸馏水配成 1, 2, 4 mg·ml⁻¹ 的溶液。维拉帕米(verapamil): 德国 Knoll 药厂产品, 用蒸馏水配成 4 mg·ml⁻¹ 的混悬液。硫代巴比妥酸(thiobarbituric Acid, TBA): 上海试剂二厂产品。四乙氧基丙烷(1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane): Fluka 公司产品。邻苯三酚(pyrogallol): 上海化学试剂公司工厂产品。

动物 Sprague-Dawley (SD) 大鼠由我校实验动物中心提供。

心肌缺血再灌性心律失常模型制备 SD 大鼠 50 只, 体重(235 ± 16) g, ♀ ♂不拘。随机分为对照组: pH 4 的蒸馏水 5 ml·kg⁻¹; Can 低、中、高剂量组(分别为: 5, 10, 20 mg·kg⁻¹); 维拉帕米组(20 mg·kg⁻¹, 术前 1 h, ig)。戊巴比妥钠(3%, 30 mg·kg⁻¹, ip)麻醉。切开气管人工呼吸, ECG II 导联监测, 按文献^[4]方法结扎大鼠冠脉前降支。缺血 5 min, 再灌注 15 min。观察并记录复灌 15 min 内室性心律失常的发生数、室性心律失常持续时间、室颤(VF)发生数和死亡数。

超氧化物歧化酶(SOD)活力、脂质过氧化产物(MDA)含量的测定 ♂ SD 大鼠 50 只, 体重(246 ± 20) g。实验分组、给药及缺血再灌注方法同前述。不同的是缺血 1 h, 复灌 30 min。实验完毕取心脏用冰 NS 冲洗残血。剪取非缺血区及结扎线下缺血再灌区心肌, 制成 10% 心肌组织匀浆。用邻苯三酚法^[5]测 SOD 活性; TBA 比色法^[6]测 MDA 含量; 紫外分光光度法测定组织蛋白质含量。

心肌超微结构观察 上述对照组及 Can 5 mg·kg⁻¹ 组大鼠心脏, 取结扎线以下左心室缺血再灌注区心肌制作电镜观察标本。另用一正常大鼠, 假手术后(穿线而不结扎冠脉左前降支)取线下方左心室心肌作电镜观察标本。将所取标本经戊二醛及锇酸先后固定, 邻苯二甲酸二丙烯酯包埋, 铀-铅染色, H-600 型透射电镜观察细胞超微结构变化。

实 验 结 果

1 缺血再灌性心律失常变化

对照组 70% 发生室性心律失常, 表现为室性早搏、室性心动过速、室颤(发生率 50%)、甚至室颤死

收稿日期: 1998-03-05

基金项目: 中国科学院资源与环境研究“九五”重大项目“治疗数种重要疾病新天然药物的研究与开发”专题基金课题

* Tel: (027) 87823465, Fax: (027) 87360376,

E-mail: shimingjian@public.wuhan.cngb.com

亡(死亡率 10%), Can 低、中、高剂量组和阳性药组与对照组相比,可减少室性心律失常发生率($P < 0.05$ 及 $P < 0.01$),显著缩短室性心律失常持续时间($P < 0.01$),防止室颤的发生($P < 0.05$)及室颤导致的死亡。结果见表 1。

2 心肌组织 SOD 活性及 MDA 含量的变化

缺血再灌区心肌 SOD 活性明显降低,脂质过氧化代谢产物 MDA 含量明显增加。Can 低、中、高剂量组及阳性对照组 SOD 活性明显高于对照组。MDA 含量明显低于对照组,两组非缺血区心肌 SOD 活性、MDA 含量无显著性差异。结果见表 2。

Tab 1 Effect of Canthin 6-one (Can) given ig on arrhythmia induced by myocardial ischemia and reperfusion in rats

Group	Dose / mg·kg ⁻¹	Onset of arrhythmia / min	Incidence of arrhythmia / %	Incidence of ventricular fibrillation / %	Mortality / %
Control	-	7.54 ± 2.30	70	50	10
Can	5	0.29 ± 0.47**	30*	0*	0
	10	0.26 ± 0.55**	20**	0*	0
	20	0.21 ± 0.66**	10**	0*	0
Ver	20	0.16 ± 0.51**	10**	0*	0

$\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs control. Ver: Verapamil.

Tab 2 Effect of Canthin 6-one (Can) given ig on SOD activities and MDA content in rat myocardium injured by ischemia and reperfusion (N: normal area, R: reperfused area)

Group	Dose / mg·kg ⁻¹	SOD / U·mg ⁻¹ protein		MDA / nmol·mg ⁻¹ protein	
		N	R	N	R
Control	-	6.51 ± 1.30	4.11 ± 0.88##	3.15 ± 0.56	4.60 ± 0.61##
Can	5	6.38 ± 1.18	5.70 ± 1.16**	3.08 ± 0.64	3.63 ± 0.80**
	10	6.54 ± 1.26	5.85 ± 1.03**	3.11 ± 0.70	3.51 ± 0.78**
	20	6.71 ± 1.35	5.97 ± 1.11**	3.04 ± 0.64	3.49 ± 0.64**
Ver	20	6.47 ± 1.15	6.14 ± 0.98**	2.98 ± 0.48	3.37 ± 0.55**

$\bar{x} \pm s$, $n = 10$. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs normal area; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control.

3 心肌超微结构变化

假手术大鼠左室心肌细胞膜、核膜及线粒体膜完整;线粒体形态正常,嵴排列整齐,皱折较多,无溶解及断裂;糖原丰富,无异常颗粒(图 1-A)。对照组心肌线粒体膜破坏;线粒体肿胀、变形、溶合或破

裂,嵴排列明显紊乱并有断裂、溶解及空泡产生;糖原颗粒减少,有较多致密颗粒存在(图 1-B)。Can 低剂量组心肌细胞膜、核膜及线粒体膜完整;线粒体形态基本正常,嵴排列整齐而丰富,有少许断裂;糖原颗粒较丰富,可见少量致密颗粒(图 1-C)。

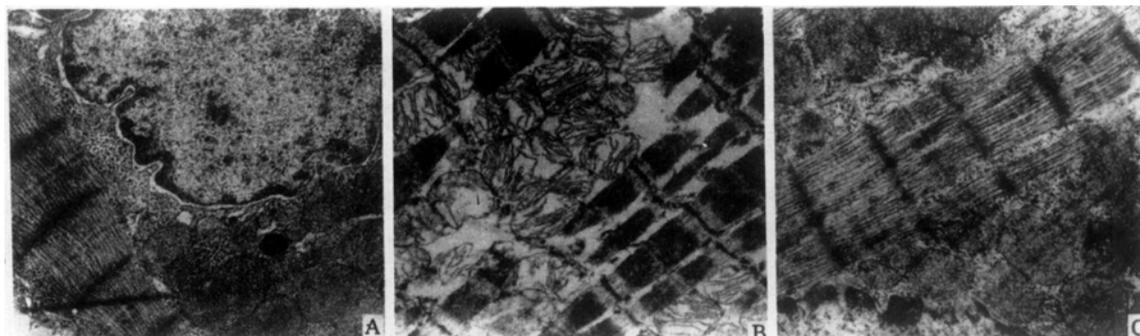


Fig 1 Effect of canthin 6-one on myocyte ultrastructure of rats. A: Myocyte ultrastructure of normal rat ($\times 20\ 000$); B: Myocyte ultrastructure of control rat ($\times 15\ 000$), the mitochondria is swollen, the mitochondria crista is broken, the mitochondria membrane is destroyed and the glycogen is decreased; C: Myocyte ultrastructure of canthin 6-one treated rat ($\times 20\ 000$), the membrane of cell and mitochondria are unharmed, the mitochondria is basically normal.

讨 论

大量的实验及临床研究表明:心肌缺血后及早

恢复血流供应(再灌注)能够缩小心肌梗死范围,降低死亡率,但再灌注同时造成心肌细胞损伤^[7,8],表现为再灌注心律失常、心功能恢复延缓(stunning)、

心肌组织超微结构改变等^[9]。因此寻找有效防治再灌注损伤的药物有重要意义。

整体大鼠心肌缺血再灌注模型可作为筛选抗心律失常药物和评价药物对缺血心肌保护作用的方法之一^[10], Can 可降低室性心律失常发生率、缩短心律失常持续时间、减少室颤发生率,说明 Can 有抗缺血再灌性心律失常的作用。

心肌缺血再灌注可产生大量氧自由基,氧自由基的生成及由其引起生物膜脂质过氧化是缺血再灌注损伤的重要机制之一^[11]。SOD 是体内重要的氧自由基清除剂,MDA 则为脂质过氧化代谢产物,心肌缺血再灌注时,其含量增加。Can 保护 SOD 活性,减少膜脂质过氧化,使 MDA 含量降低。这可能为 Can 保护缺血再灌注心肌损伤机制之一。

心肌再灌注损伤还可出现超微结构的改变,其中以线粒体明显肿胀、广泛嵴溶解及嵴断裂最明显,Can 可减轻心肌细胞超微结构的损伤程度。

综上所述,Can 对心肌缺血再灌注损伤有显著保护作用,对其作用有待深入的研究,为这一从植物资源中寻找的抗心肌缺血再灌注损伤成分提供实验依据。

参 考 文 献

1 朱克刚,丁牧良,屠治本,等.刺异叶花椒的化学成分研

究.武汉植物学研究,1987,5: 59

- 2 陈光旭,钟维雄.六氢铁尿米酮盐酸盐的合成.药学报,1983,18: 585
- 3 石明健,刘惟莞,宛小平,等.铁尿米酮对家兔血流动力学的影响.湖北医科大学学报,1995,16: 10
- 4 邓汉武.大鼠心肌缺血再灌注损伤实验法.中国药理学通报,1989,5: 317
- 5 静天玉,赵晓瑜.用终止剂改进超氧化物歧化酶邻苯三酚测定法.生物化学与生物物理进展,1995,22: 84
- 6 向荣,王鼎年.过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进.生物化学与生物物理进展,1990,17: 241
- 7 Hease DJ, Bolli R. Reperfusion induced injury: manifestations, mechanisms and clinical reference. *Cardiovasc Res*, 1992,26: 101
- 8 Reimer KA, Van der Heide RS, Richard VJ. Reperfusion in acute myocardial infarction: effect of timing and modulating factors in experimental model. *Am J Cardiol*, 1993,72: 13 G
- 9 Yang XP, Liu YH, Peterson E, et al. Effect of neutral endopeptidase 24.11 inhibition on myocardial ischemia/reperfusion injury, The role of kinins. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1997,29: 250
- 10 Baczkó I, Ldprón I, Papp JG. Influence of anesthetics on the incidence of reperfusion induced arrhythmias and sudden death in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1997,29: 196
- 11 Jeroudi MO, Hartley CJ, Bolli R. Myocardial reperfusion injury: role of oxygen radical, and potential therapy with antioxidants. *Am J Cardiol*, 1994,74: 2B

PROTECTIVE EFFECT OF CANTHINONE ON MYOCARDIAL ISCHEMIA REPERFUSION INJURY IN RATS

Shi Mingjian (Shi MJ), Liu Weiwan (Liu WW), Hu Lan (Hu L)¹, Wang Hongying (Wang HY), Yang Xiaoru (Yang XR) and Yu Enxin (Yu EX)²

(Department of Pharmacology, Hubei Medical University, Wuhan 430071; ¹Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Hubei Medical University, Wuhan 430060; ²Institute of Drug Control and Test, Hubei Province, Wuhan 430064)

ABSTRACT AIM: To study the effect of canthinone (Can) on myocardial ischemia and reperfusion injury. **METHODS:** The left coronary artery of the rat was ligated. **RESULTS:** Can (5, 10, 20 mg•kg⁻¹, ig) was shown to decrease the incidence of arrhythmia induced by ischemia and reperfusion, shorten the duration of ventricular arrhythmia, eliminate the incidence of ventricular fibrillation; increase the activities of superoxide dismutase (SOD), decrease the malondialdehyde (MDA) contents and alleviate the myocardial ultrastructure injury. **CONCLUSION:** Can has protective effect on the injury induced by myocardial ischemia and reperfusion.

KEY WORDS canthinone; myocardial reperfusion injury; arrhythmia; superoxide dismutase