

69-71

水飞蓟宾对麻醉大鼠急性心肌梗死及再灌注损伤的保护作用

陈红, 苏定冯¹, 章同华, 丁鸿钧, 杨友才¹, 陈思聪

(第二军医大学附属长海医院心内科; ¹药理学教研室, 上海 200433, 中国)

R 969.4

Effects of silybin on acute myocardial infarction and reperfusion injury in anesthetized rats

CHEN Hong, SU Ding-Feng¹, ZHANG Tong-Hua, DING Hong-Jun, YANG You-Cai¹, CHEN Shi-Chong

(Department of Cardiology, Changhai Hospital; ¹Department of Pharmacology, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT The effects of silybin (Sil) on myocardial infarction size and ischemia- and reperfusion-induced arrhythmias were studied in anesthetized open chest Sprague-Dawley rats. It was found that pretreatment with Sil 20, 50, and 80 mg · kg⁻¹ iv reduced significantly infarct size by 34.7%, 35.0%, and 50.6% respectively at 4 h after ligation. Sil prevented ischemic arrhythmia only at the dose of 80 mg · kg⁻¹. In reperfusion experiment, pretreatment with Sil 20 mg · kg⁻¹ decreased significantly reperfusion-induced arrhythmia.

KEY WORDS silymarin; myocardial infarction; myocardial reperfusion injury

摘要 用麻醉大鼠冠状动脉前降支结扎造成急性心肌梗死及再灌注损伤模型, 观察了水飞蓟宾(Sil)对心肌梗死范围及再灌注心律失常的作用。Sil 20、50、和 80 mg · kg⁻¹ 于冠状动脉结扎前 iv, 显著降低结扎后 4 h 的心肌梗死范围, 比对照组分别减少 34.7%、35.0%、及 50.6%。冠脉结扎 5 min 后予再灌注模型中, Sil 20 mg · kg⁻¹ 可预防再灌注心律失常的发生。

关键词 水飞蓟宾; 心肌梗死; 心肌再灌注损伤

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)时心肌细胞坏死的多少, 以及早期致命性心律失常的发生与否, 是决定其死亡率及其后心力衰竭发生的重要因素⁽¹⁾。心肌梗

死后冠脉再通则可挽救一部分缺血的心肌, 因此溶栓治疗在临床上得到了广泛应用。但是冠脉再通的同时遇到了一个不利因素, 即再灌注损伤(reperfusion injury, RI)。再灌注损伤限制了冠脉再通对缺血心肌的益处。为了寻找有效的治疗药物, 我们选择了水飞蓟宾(silybin, Sil)。已证明 Sil 具有护肝, 降脂⁽²⁾, 抗脂质过氧化⁽³⁾, 以及降压, 减慢心率的作用⁽⁴⁾。Sil 对 AMI 及 RI 的作用未见文献报道。本实验利用麻醉大鼠急性心肌梗死及再灌注损伤模型, 观察了 Sil 对 AMI 及 RI 的保护作用。

MATERIALS AND METHODS

Sprague-Dawley (SD)大鼠, ♂, 体重 289 ± s 28 g (上海市计划生育研究所提供); 水飞蓟宾葡甲胺盐水溶液(4% PVP 助溶)及溶剂对照液(含 4% PVP 及 1.4% 葡甲胺, 葡甲胺浓度相当于配制水飞蓟宾葡甲胺原液所用剂量, 第二军医大学药学院提供); 氯化硝基四氮唑兰(NBT, 上海前进试剂厂, 批号 900503), 用前以磷酸缓冲液(pH 7.4)配成 0.05% 溶液。

冠状动脉结扎方法 以 3% 戊巴比妥钠 60 mg · kg⁻¹ ip 麻醉大鼠, 右颈动脉插管监测动脉血压, 气管插管行人工呼吸, 左股静脉插管用于给药。经左侧第 4 肋间开胸, 剪开心包并以止血钳夹持心包, 暴露心脏及左室表面血管。以肺动脉圆锥及左心耳交界处的左冠状静脉为标志(此处冠状动脉与静脉并行, 动脉位于静脉之下), 用 3/8 Cr 3×6 规格的不锈钢园针, 3-0 丝线穿过左心耳下缘的心肌浅层, 穿线后稳定 15 min, 如出现心律失常或

Received 1991 Feb 9

Accepted 1991 Jul 1

动脉收缩压低于 9.31 kPa (70 mm Hg) 持续超过 5 min 则废除该动物。穿线 15 min 后 iv 水飞蓟宾葡甲胺盐(Sil)或等容量溶剂, 给药组按 Sil 剂量分为 20, 50, 80 mg · kg⁻¹ 三组。观察 10 min, 尔后结扎冠状动脉, 记录心电图及血压变化。结扎后 4 h 取心脏用生理盐水洗净血液用于染色。

再灌注方法 手术方法基本同前, 穿线后 iv Sil 20 mg · kg⁻¹ 或对照溶剂, 观察 10 min。结扎前先将丝线两端分别穿过并列在一起的两聚乙烯管(管径各为 2.5 mm), 结扎丝线持续 5 min, 尔后迅速剪断丝线, 准确复灌, 记录复灌后 30 min 的心电图及血压。

梗死范围的确定 参照参考文献(5)。

心律失常的评价 心律失常严重程度以结扎后或再灌注后 30 min 内出现的室性早搏个数 (premature ventricular contraction, PVC) 的对数值 lg PVC, 室速与室颤 (ventricular tachycardia and ventricular fibrillation, VT and VF) 总时程的对数值 lg (VT+VF), VT 及 VF 的发生率, 心律失常记分⁽⁶⁾表示。

统计 心肌梗死前后及给药前后血压, 心率, 梗死范围, lg PVC, lg (VT+VF), 心律失常记分等用方差分析或非配对 *t* 检验; VT 及 VF 发生率、死亡率以 *P* 值直接计算法计算。

RESULTS

给药前后及冠脉结扎前后心率与血压变化 Sil iv 后血压逐渐下降, 于 2-3 min 时达最低点, 后逐渐回升, 10 min 时平稳。血压下降同时

伴有心率明显减慢。对照组注射溶剂后血压及心率无明显变化。冠脉结扎后, 血压于 1-2 min 内略下降, 随即逐渐回升至结扎前水平, 出现心律失常时再次下降, 至实验结束时血压恢复至实验开始时的水平。心率先于冠脉结扎后随时间推移逐渐下降 (Tab 1)。

Tab 1. Blood pressure and heart rate after injection of silybin in anesthetized rats. $n=8$, $\bar{x} \pm s$, * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs preinjection.

Silybin / mg · kg ⁻¹	Before iv	After iv	
		3 min	10 min
Systolic blood pressure / kPa			
0	13.0 ± 2.03	13.4 ± 1.96*	13.9 ± 1.65*
20	13.9 ± 1.07	10.8 ± 1.16**	13.0 ± 1.51*
50	14.5 ± 1.49	10.6 ± 1.17**	13.0 ± 1.78*
80	14.1 ± 2.47	10.0 ± 1.43***	11.0 ± 2.23**
Heart rate / bpm			
0	394 ± 42	404 ± 38*	401 ± 52*
20	408 ± 22	377 ± 22**	389 ± 25*
50	410 ± 25	384 ± 24**	400 ± 28*
80	396 ± 49	368 ± 45**	380 ± 56*

冠脉结扎后心电图改变 冠脉结扎后心电图的一般改变有: QRS 波于结扎即刻或 1-2 s 后增宽, 增高, 并于 60 s 左右达高峰, 随后 QRS 波逐渐变小, ST 段逐渐抬高, 于 5-7 min 时 ST 段抬高达高峰, 并出现明显的心律失常。常见的心律失常有 PVC, VT 及 VF, 偶有房室传导阻滞。给药组中 20, 50 mg · kg⁻¹ 组心律失常记分比对照组略减少, 未达显著水平, $P > 0.05$ 。80 mg · kg⁻¹ 组心律失常记分较对照组显著减小, 其 VF 发生率亦较对照组显著减少 (Tab 2)。

Tab 2. Effects of silybin on arrhythmia in 30 min after coronary artery ligation. $n=8$, $\bar{x} \pm s$, * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$.

Silybin / mg · kg ⁻¹	lg PVC	lg (VT+VF)	Arrhythmia score	Incidence (%) of	
				VT	VF
0	2.3 ± 0.25	2.2 ± 1.24	4.0 ± 1.69	100	50
20	2.3 ± 0.35*	2.0 ± 1.15*	3.6 ± 0.92*	100*	37.5*
50	2.1 ± 0.81*	1.7 ± 1.19*	3.4 ± 1.92*	87.5*	37.5*
80	1.5 ± 1.07*	0.89 ± 0.73**	2.1 ± 1.46**	75.0*	0**

冠脉结扎后 4 h 心肌梗死范围及死亡率
治疗组心肌梗死范围较对照组显著缩小, 80 mg · kg⁻¹ 组降低梗死范围最明显, 20, 80 mg · kg⁻¹ 组死亡率较对照组减少 (Tab 3).

Tab 3. Effects of silybin on infarct size and mortality after 4 h ligation. $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$. ** $P < 0.05$. *** $P < 0.01$ vs 0 mg · kg⁻¹; * $P < 0.05$ vs 20 mg · kg⁻¹.

Silybin / mg · kg ⁻¹	Infarct size / % of ventricular wt	Mortality / %
0	33 ± 6.1 (n=6)	25 (2/8)
20	22 ± 7.0 (n=8)**	0**
50	22 ± 3.8 (n=7)**	12.5 (1/8)*
80	17 ± 5.1 (n=8)****	0**

Sil 对再灌注心律失常的影响 治疗组再灌注心律失常较对照组显著减轻, 治疗组与对照组心律失常记分分别为 0.4 ± 1.1 及 3.1 ± 2.2 , 相差非常显著 ($P < 0.01$). 治疗组 VF 及 VT 发生率为 12.5%, 较对照组的 75% 明显降低, $P < 0.05$.

DISCUSSION

本实验表明, Sil 可明显降低大鼠急性心肌梗死的范围, 降低早期死亡率, 减少再灌注心律失常的发生, 作用持久. 这样就为利用药物延缓早期心肌梗死与溶栓等冠脉再通疗法相结合提供了一个较为理想的药物.

Sil 保护缺血心肌的机制尚不清楚. 静脉给药后血压及心率明显下降, 20 及 50 mg · kg⁻¹ 组血压及心率于给药 10 min 后即结扎开始前已恢复至给药前水平. 虽然 80 mg · kg⁻¹ 组血压于 10 min 后仍低于注射前水平, 但冠状动脉结扎开始之前的血压结扎后心梗范围, 心律失常记分无显著相关性 (80 mg · kg⁻¹

组结扎前血压水平与心梗范围, 心律失常记分的 r 分别为 -0.68 , -0.57 , $n=8$, $P > 0.05$), 据此不能推断 Sil 保护心肌的作用是通过降压作用实现的. 研究表明 Sil 具有很强的抗自由基作用⁽³⁾, 并有可能影响钙通道⁽⁷⁾.

ACKNOWLEDGMENTS 本校药学院刘超美讲师, 芮耀诚教授及张大志助教提供水飞蓟宾葡甲胺盐及其浓度测定方法.

REFERENCES

- Engler RL. Free radical and granulocyte-mediated injury during myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Cardiol* 1989; 63: 19E-23E.
- Mai K, Qiu SJ. The effect of silymarin (Yi Gan Lin) on serum lipoprotein in hyperlipemic rats. *Chin J Cardiol* 1987; 15: 49-51.
- Bindoli A, Cavallini L, Siliprandi N. Inhibitory action of silymarin of lipid peroxide formation in rat liver mitochondria and microsomes. *Biochem Pharmacol* 1977; 26: 2405-9.
- Vogel G, Trost W, Braatz R, et al. Untersuchungen zu Pharmakodynamik, Angriffspunkt und Wirkungsmechanismus von Silymarin, dem antihepatotoxischen Prinzip aus *Silybum mar.* (L.) Gaertn. *Arzneimittelforschung* 1975; 25: 179-88.
- Nachlas MM, Shnitka TK. Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity. *Am J Pathol* 1963; 42: 379-97.
- Johnston KM, MacLeod BA, Walker MJA. Responses to ligation of a coronary artery in conscious rats and the actions of antiarrhythmics. *Can J Physiol Pharmacol* 1983; 61: 1340-53.
- Miadonna A, Tedeschi A, Leggieri E, Lorini M, Froidi M, Zanussi C. Effects of silybin on histamine release from human basophil leucocytes. *Br J Clin Pharmacol* 1987; 24: 747-52.