

西洋参叶 20S-原人参二醇组皂苷对大鼠实验性心室重构的影响

卢 应¹,董均树¹,刘 娅²,于小凤³,曲绍春³,睢大员^{3*}(1. 吉林大学第一医院,吉林 长春 130021; 2. 吉林大学公共卫生学院 营养与食品卫生教研室,吉林 长春 130021;
3. 吉林大学药学院 药理学研究室,吉林 长春 130021)

摘要:目的 研究西洋参叶 20S-原人参二醇组皂苷(PQDS)对大鼠急性心肌梗死晚期缺血再灌注后心室重构的影响及机制。方法 大鼠结扎左冠状动脉前降支 2 h 后,松扎再灌注 7 d 制备急性心肌梗死晚期缺血再灌注后心室重构模型,同时应用 PQDS 治疗,给药 7 d 后测定心室重构大鼠心脏形态学参数、血浆血管紧张素 II(AT II)及内皮素(ET)水平。结果 与心室重构模型组比较,PQDS 50、100 mg/kg 均能显著增加梗死区胶原沉积($P<0.05$),降低梗死扩展指数($P<0.05$),并显著降低血浆 AT II 及 ET 水平($P<0.05$)。结论 PQDS 能够抑制大鼠实验性心肌梗死晚期缺血再灌注后的心室重构,其机制可能与加速梗死区愈合,降低血浆 AT II 及 ET 水平相关。

关键词:20S-原人参二醇组皂苷;心肌梗死;晚期缺血再灌注;心室重构;胶原;血管紧张素 II;内皮素

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)11-1785-03

西洋参叶 20S-原人参二醇组皂苷(PQDS)是由五加科人参属植物西洋参 *Panax quinquefolium* L. 叶总皂苷分离纯化而来,主要含有人参皂苷 Rb₃、Rd、Rb₂ 和 Rb₁ 成分。研究表明^[1,2],PQDS 对实验性心肌梗死具有明显保护作用,其作用机制可能与以下因素有关,PQDS 具有钙通道阻滞作用,改善心肌代谢,抑制脂质过氧化过程,提高内源性抗氧化酶活性,抑制急性心肌梗死交感-肾上腺髓质过度兴奋,减少血管紧张素 II(angiotensin II, AT II)、内皮素(endothelin, ET)的生成。以心脏手术患者为对象进行临床研究,心脏手术需体外循环时,会暂时阻断冠状动脉血流,这势必导致心肌缺血再灌注损伤^[3]。研究者把 PQDS 加入心脏停搏液中,结果显示,与对照组相比 PQDS 对心肌缺血再灌注损伤具有明显的保护作用^[4],其作用机制与稳定心肌细胞膜、清除心肌缺血再灌注损伤产生的氧自由基,及保护内源性超氧化物歧化酶及谷胱甘肽过氧化物酶有关。但目前 PQDS 长期给药对心肌晚期缺血再灌注后心室重构的影响尚未见研究报道。本实验通过大鼠急性心肌梗死后晚期缺血再灌注,建立心室重构模型,观察心脏形态学指标及血液生化指标的变化,探讨 PQDS 对大鼠实验性心室重构的防治作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物:Wistar 大鼠,体质量 250~300 g,雌雄各半,由吉林大学白求恩医学部实验动物中心

提供。

1.2 药品与试剂:PQDS(二醇组皂苷质量分数不低于 85%),由吉林大学化学学院天然药物化学研究室提供;福辛普利钠片,中美上海施贵宝制药有限公司产品,批号 20031006;ET 及血浆 AT II 放射免疫分析药盒,由解放军总医院科技开发中心放免所提供。

1.3 心室重构模型制备:大鼠冠状动脉结扎参照文献方法^[5]稍加改进。乙醚吸入麻醉,大鼠仰卧位固定于手术台。于大鼠左胸第三、四肋间开胸,暴露心脏,0 号丝线结扎左冠状动脉前降支(位于左冠状动脉起点下 1~2 mm),连同直径为 1.2 mm 的乳胶管一同结扎,结扎后将心脏送回胸腔,并挤出胸腔内血液和气体,迅速关闭胸腔,开胸时间不超过 30 s。假手术组仅置缝线而不结扎冠脉。各组动物在左冠状动脉前降支结扎后 2 h 重新吸入乙醚麻醉,固定于手术台,开胸,暴露心脏,将结扎线切断后取出直径为 1.2 mm 的乳胶管,迅速关胸。假手术组 2 次开胸后暴露心脏,迅速关胸。

1.4 实验方法:造模前、造模后 2 h 及造模后 3 d,行心电图肢导+V1、V3、V5 导联检查,术后 ST 段较术前明显抬高者,模型成功;采用文献方法^[6],符合中到大范围的心梗标准者(即 I 及 aVL 有 Q 波且>1 mV,或胸前导联 R 波之和<10 mV)进入实验。假手术组及急性心肌梗死后晚期再灌注模型

收稿日期:2009-03-21

作者简介:卢 应(1976—),女,吉林省长春市人,讲师,吉林大学公共卫生学院在读博士,主要从事心血管病的临床与发病机制的研究。
Tel: 13596078692 E-mail: luying1976star@gmail.com

* 通讯作者 睢大员

组:ip 生理盐水 1 mL/(kg·d);阳性药对照组:ig 给予福辛普利钠 20 mg/(kg·d);PQDS 低、高剂量组:ip PQDS 50、100 mg/(kg·d)。于模型成立后立即开始给药,每日1次,连续7 d。常规饲养,于第7天以3%戊巴比妥钠 30 mg/kg ip 麻醉,腹主动脉插管采血,按试剂盒方法测定血浆 AT II 及 ET 的量。迅速切除经上述处理的大鼠心脏,浸入 30 mmol/L 的冰 KCl 溶液中,使心脏停跳于舒张期,沿房室沟切除左右心房,在生理盐水中洗去血液,滤纸吸干,称心室质量,并计算心室脏器系数(心室质量/体质量)。将标本置于 11% 甲醛液中固定,石蜡包埋,切片,HE 染色、Masson 染色,光镜下进行病理分析。取梗死最为明显的心肌层面病理切片,应用 HPIAS-1000 高清晰度病理图文分析系统(同济医科大学研制),于梗死区中点测定梗死区左室游离壁厚度(IT),于室间隔中点测定非梗死区室间隔厚度(NIST),同时测定左室腔面积(LVCA)及左室(包括左心及左右心交界区室间隔)总面积(TLAV)。计算梗死扩展指数(EI): $EI = LVCA / TLAV \times NIST / IT \times 100^{[7]}$ 。测定梗死区及非梗死区心内膜及心外膜周长,以百分数表示梗死面积(IS): $IS = (\text{梗死区心内膜周长} / \text{左心室心内膜周长} + \text{梗死区心外膜周长} / \text{左心室心外膜周长}) / 2 \times 100\%^{[8]}$ 。

1.5 统计学方法:实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两组间比较 *t* 检验进行统计学处理。

2 结果

2.1 PQDS 对大鼠体质量、心室质量及心室脏器系数的影响:与假手术组相比,模型组体质量、心室质量及心室脏器系数均无显著差异($P > 0.05$)。与模

型组相比,PQDS 有降低心室脏器系数的趋势,作用与阳性药物福辛普利钠片相当,但无统计学差异($P > 0.05$),见表1。

表1 PQDS 对大鼠体质量、心室质量及心室脏器系数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of PQDS on body weight, ventricular weight, and cardiac coefficient in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	动物/只	体质量/g	心室质量/mg	心室脏器系数/(mg·g ⁻¹)
假手术	—	6	293±26	731±63	2.51±0.29
模型	—	9	290±16	759±117	2.62±0.35
PQDS	50	8	280±12	715±91	2.54±0.30
	100	6	279±13	701±60	2.51±0.18
福辛普利钠片	20	6	285±16	737±97	2.58±0.24

2.2 PQDS 对大鼠梗死区胶原量的影响:在 Masson 染色上,梗死区可见新生的胶原纤维呈现绿色,部分心肌纤维已连接成片状。梗死区胶原的量占心室面积比:模型组(24.5±2.9)%,PQDS 50、100 mg/kg 组分别为(27.5±3.0)%、(28.0±2.7)%;福辛普利钠片组为(27.8±2.6)%。与模型组大鼠比较,PQDS 增加胶原在梗死区的沉积($P < 0.05$)。PQDS 低、高剂量组及阳性药物福辛普利钠片组之间均无显著差异($P > 0.05$)。

2.3 PQDS 对大鼠心肌 IS 及 EI 的影响:与假手术组相比,模型组 IS 及 EI 均明显增加($P < 0.01$),LVCA、NIST、TLVA 及 IT 则无明显改变($P > 0.05$)。与模型组相比,PQDS 50、100 mg/kg 可使 EI 显著下降($P < 0.05$),有限制 IT 变薄趋势,但无统计学差异($P > 0.05$)。PQDS 低、高剂量组及阳性药物福辛普利钠片组之间均无显著差异($P > 0.05$),见表2。

表2 PQDS 对大鼠心脏形态学的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of PQDS on cardiac morphology in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	动物/只	IS/%	LVCA/mm ²	TLVA/mm ²	NIST/mm	IT/mm	EI
假手术	—	6	0	29.20±5.18	67.38±8.58	2.43±0.39	2.35±0.42	44.32±5.70
模型	—	9	41.62±4.97 ^{##}	32.27±5.00	74.59±8.40	2.48±0.37	1.86±0.47	58.93±8.00 ^{##}
PQDS	50	8	41.29±3.16	30.99±4.11	72.14±8.10	2.53±0.37	2.22±0.52	50.01±7.32 [*]
	100	6	42.42±3.81	32.20±3.96	71.57±7.54	2.47±0.40	2.18±0.35	50.83±3.11 [*]
福辛普利钠片	20	6	42.82±4.58	29.55±3.76	67.60±5.50	2.42±0.26	2.10±0.26	50.47±5.55 [*]

与假手术组比较:## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$

$P < 0.01$ vs Sham group; * $P < 0.05$ vs model group

2.4 PQDS 对大鼠血浆 AT II 及 ET 水平的影响:与假手术组相比,模型组 AT II 及 ET 血浆水平显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,PQDS 50、100 mg/kg 能明显降低血浆 AT II 及 ET 水平($P < 0.05$ 、 0.01)。PQDS 低、高剂量组及阳性药物福辛

普利钠片组之间均无显著差异($P > 0.05$),见表3。

3 讨论

急性心肌梗死,尤其大面积透壁性心肌梗死,可产生心室面积、形态及室壁厚度的改变,包括心室的梗死区及非梗死区,称为心室重构。临床上将心室

表 3 PQDS 对大鼠血浆 ET 及 AT II 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of PQDS on ET and AT II levels in plasma of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	动物/ 只	AT II / (pg · mL ⁻¹)	ET / (pg · mL ⁻¹)
假手术	—	6	284.55 ± 28.02	197.21 ± 17.14
模型	—	9	355.98 ± 22.12 ^{##}	256.77 ± 21.35 [#]
PQDS	50	8	324.49 ± 20.51 [*]	225.27 ± 27.62 [*]
	100	6	319.92 ± 24.55 [*]	224.66 ± 24.15 [*]
福辛普利钠片	20	6	321.34 ± 24.97 [*]	221.78 ± 20.23 ^{*,*}

与假手术组比较: ^{##} $P < 0.01$

与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs Sham group

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

重构分为急性期——梗死扩展,继之梗死相邻区域的延展及慢性期——心室扩张^[9],与胶原重建密切相关^[10]。梗死扩展发生在急性心肌梗死后早期,数天内有进行性发展,可能是由于心肌细胞的滑脱及心肌纤维的扩展导致的^[11]。梗死扩展增加心肌梗死后的死亡率,与心脏猝死及充血性心力衰竭的发生率增高密切相关。

急性心肌梗死后晚期缺血再灌注的梗死心肌仍然存在心室重构。梗死区胶原沉积对于维持心脏的正常结构非常重要,心肌胶原网络在维持心室舒张功能方面发挥着重要作用^[12]。本实验证明,在急性心肌梗死后早期,与重构模型组比较,PQDS 能增加梗死区胶原沉积,促进梗死区的愈合,增加梗死区的抵抗力,进而降低梗死扩展指数。提示 PQDS 能够限制急性心肌梗死晚期缺血再灌注后的心室重构的发展,发挥保护作用。

急性心肌梗死后晚期缺血再灌注,由于缺血缺氧,促进 ET 大量释放^[13]。ET 是体内作用最强的冠状动脉收缩剂,可引起冠状动脉持续而剧烈收缩,甚至造成冠脉血流停止,进而抑制心肌能量代谢,促进心血管活性物质释放(如 AT II),加重组织损伤。肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin-system, RAS)是通过血管紧张素作用于血管紧张素受体产生各种生物效应的,其中 AT II 是主要的活性肽,作用于 AT II 受体,产生生物学效应。心肌缺

血时,血管内皮细胞受损,释放大量的 AT II,AT II 是重要的内源性血管收缩因子,血浆 AT II 升高时,可阻碍血流的通畅,降低心排血量和局部组织灌注;刺激交感神经活性,增加心肌收缩力,成为导致进行性心衰和心肌缺血时产生心律失常的因素之一。ET 和 AT II 具有生物学协同作用。本实验研究中,PQDS 可显著降低实验性晚期缺血再灌注大鼠血浆 ET、AT II 水平,提示 PQDS 可通过减轻血管内皮损伤,减少 ET 及 AT II 释放,从而保护心肌,抑制心室及血管重构,发挥心肌保护作用。

参考文献:

- [1] 陆丰,孙乾. 西洋参叶 20S-原人参二醇组皂苷对急性心肌梗死大鼠交感神经递质及肾素-血管紧张素系统的影响[J]. 中草药, 2001, 32(7): 619-621.
- [2] 金铭,曲绍春,于小凤,等. 西洋参二醇组皂苷注射液对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. 天津中医药, 2006, 23(2): 154-156.
- [3] Lazar H L, Roberts A J. Recent advances in cardiopulmonary bypass and the clinical application of myocardial protection[J]. *Surg Clin North Am*, 1985, 65(3): 455-476.
- [4] 刘玉梅,于倩. 西洋参二醇组皂苷注射液的研制及临床研究[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(10): 619-621.
- [5] McDonald K, Chu C, Francis G, et al. The effect of delayed reperfusion following infarction in the rat on structural changes in viable myocardium[J]. *Cardiovascular Res*, 1997, 36: 347-353.
- [6] Milavetz J J, Raya T E, Johnson C S, et al. Survival after myocardial infarction in rats; catopril versus losartan[J]. *JACC*, 1996, 27(3): 714-719.
- [7] Fraccarollo D, Galuppo P, Bauersachs J, et al. Collagen accumulation after myocardial infarction: effects of ET_A receptor blockade and implications for early remodeling[J]. *Cardiovascular Res*, 2002, 54: 559-567.
- [8] Yang R, Bunting S, Gillett N, et al. Growth hormone improves cardiac performance in experimental heart failure[J]. *Circulation*, 1995, 92: 262-267.
- [9] French B A, Kramer C M. Mechanisms of post-infarct left ventricular remodeling[J]. *Drug Discov Today Dis Mech*, 2007, 4(3): 185-196.
- [10] Weber K T. Monitoring tissue repair and fibrosis from a distance[J]. *Circulation*, 1997, 96(8): 2488-2492.
- [11] Weisman H F, Bush D E, Mannisi J A, et al. Cellular mechanisms of myocardial infarct expansion[J]. *Circulation*, 1988, 78: 186-201.
- [12] Cleutjens J P M, Verluyten M J A, Smits J F M, et al. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart[J]. *Am J Pathol*, 1995, 147: 325-338.
- [13] Pernow J. Endothelin in myocardial ischemia and reperfusion[J]. *Cardiovascular Res*, 1997, 33(3): 518-526.