

三七总皂苷对心肌梗后心室重构大鼠增强 抗氧化与改善心肌形态学作用*

郭洁文¹, 邓志军², 符永恒³, 黄亚非⁴, 杨敏³, 潘竞锵⁵, 刘若轩¹

(1. 广州市中医医院, 广东 广州 510130; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510405;

3. 广东省人民医院医学研究中心//广东省心血管病研究所, 广东 广州 510080;

4. 中山大学附属第三医院, 广东 广州 510630; 5. 广州市中医中药研究所, 广东 广州 510130)

摘要:为研究三七总皂苷(PNS)对急性心肌梗塞(AMI)后左室重构(LVRM)大鼠自由基损伤和心肌细胞形态学改变的作用,采用结扎大鼠左冠状动脉前降支的方法,建立AMI模型,术后24 h后随机分为对照组和实验组,连续4周分别灌胃给予生理盐水和PNS低、中、高剂量,观察PNS和福辛普利对病鼠血清丙二醛(MDA)、c反应蛋白(CRP)、肌红蛋白-I(cTn-I)及肌酸激酶同工酶(CK-MB)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、一氧化氮(NO)及心肌细胞形态病理结构和心脏指数改变等的影响。结果发现与对照组比较,PNS与福辛普利均能显著改善病鼠左室心肌细胞形态结构病理改变及心脏指数($P < 0.01$),显著降低MDA、CRP、CK-MB与cTn-I、提高GSH-Px活性($P < 0.01 \sim 0.05$),高剂量PNS可明显降低NO含量($P < 0.05$)。可见PNS可通过抑制脂质过氧化反应,减轻病鼠心肌细胞的病理损伤,增强抗氧化,具有抑制心肌肥大与改善心室重构心肌细胞形态学结构作用。

关键词:三七总皂苷; 心肌梗塞; 心室重构; 抗氧化; 心肌形态学

中图分类号: R96 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2008) 02-0140-03

现代化学和药理学研究发现三七主要活性成分三七总皂苷(*panax notoginseng saponin*, PNS)可抑制血栓形成,扩张外周血管,降低血压,治疗心脑血管疾病疗效显著^[1],本实验通过结扎大鼠左冠状动脉前降支制备实验性急性心肌梗死(AMI)后左室重构(LVRM)模型,从病鼠心肌形态学改变方面观察PNS是否具有防治心室重构的作用,为扩展其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 ①实验动物、饲料:SD大鼠,♀♂各半,体质量 250 ± 20 g,动物及饲料均购自广东省医学实验动物中心。②仪器:美国贝克曼 Access微粒子全自动化学发光免疫分析仪及Immage双光径免疫浊度分析仪;日立7170全自动生化分析仪;北京微信斯达PCLab-3804科研型生物信号采集处理系统;OLYMPUS BX50型光学显微镜;③药物及试剂:福辛普利(Fosinopril)片:中美上海施贵宝制药有限公司生产;三七总皂苷(PNS)注射液:丽珠集团利民制药厂生产;一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)含量测定试剂盒:南京建成生物工程研究所生产,C-反应蛋白(CRP)、肌红蛋白(cTn-I)、肌酸激酶同工酶(CK-MB):由广东省人民医院检验科检测。

1.2 方法 ①实验性AMI大鼠模型的制备参见文

献[2];②生化指标测定:4周后取5 mL大鼠血液分离血清,-4℃保存24 h待测,按试剂盒说明书操作检测血清中NO,MDA,CPR,cTn-I,CK-MB的含量GSH-Px及活性;③大鼠心脏指数(HW/BW)的测定:大鼠称体质量(BW)插管后腹主动脉取血,快速打开胸腔取心脏,滤纸吸干水分电子天平称量全心质量(HW),计算全心质量/体质量(HW/BW)指数;④心肌组织学检测:断头处死大鼠将新鲜心肌组织标本放入φ为10%中性甲醛溶液中固定,然后集中进行石蜡包埋,切片于4℃冰箱保存备用;⑤统计学处理:采用SPSS12.0数据统计软件包,计量资料采用组间t检验(方差不齐,用t'检验),等级资料采用秩和检验,实验数据以 $\pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 PNS对AMI后LVRM大鼠血清MDA及NO含量、GSH-Px活性、CRP、cTn-I、CK-MB的影响与生理盐水对照组相比,PNS高剂量组NO含量显著降低($P < 0.05$);PNS高、中、低剂量组及福辛普利组MDA、CPR与CK-MB均显著减少、GSH-Px活性明显增高($P < 0.01 \sim 0.05$);PNS中、低剂量组cTn-I明显下降($P < 0.05$),提示其对大鼠AMI引发的自由基氧化损伤有明显对抗作用,见表1。

* 收稿日期:2007-12-12

基金项目:广东省中医药管理局基金资助项目(1060060)

作者简介:郭洁文(1968年生),女,主任药师;通讯联系人:黄亚非;E-mail:ZSSYYJK@21cn.com

2.2 PNS 对 AMI 后 LVRM 心肌组织病理学改变

①PNS 对 AMI 后 LVRM 大鼠心脏肥大和心肌细胞病理改变的作用:按分级标准^[3]心肌病变包括心肌坏死和炎性细胞浸润:Ⅰ:无病变(5分);Ⅱ:病变范围<25%(4分);Ⅲ:病变范围25%~

50%(3分);Ⅳ:病变范围50%~75%(2分);Ⅴ:病变范围>75%(1分)。与生理盐水对照组比较,PNS高、中、低3个剂量组与福辛普利均能明显改善左室心肌细胞形态结构病理改变及心脏指数($P<0.01$),见表2;②组织病理学变化:心梗

表1 PNS 对 AMI 后 LVRM 大鼠 MDA、NO 含量、GSH-Px 活性、CRP、cTn-I、CK-MB 的影响

Tab.1 The influence of PNS on GSH-Px, NO, MDA, CRP, cTn-I and CK-MB in post AMI LVRM rats

组别	n	剂量 (mg·kg ⁻¹)	MDA (nmol·mL ⁻¹)	NO (μmol·L ⁻¹)	GSH-Px (U·L ⁻¹)	CRP (mg·L ⁻¹)	cTn-I (μg·L ⁻¹)	CK-MB (U·L ⁻¹)
生理盐水对照组	8	2ml·kg ⁻¹	3.95 ± 1.72	103.15 ± 45.30	309.72 ± 40.23	7.96 ± 0.33	3.08 ± 1.26	2794.84 ± 991.04
福辛普利组	9	20	1.37 ± 0.53 **	65.89 ± 15.15	396.48 ± 44.53 **	4.30 ± 1.01 **	1.65 ± 1.55	370.19 ± 230.79 *
PNS 低剂量组	7	10	2.00 ± 1.11 *	66.26 ± 16.77	375.97 ± 55.65 *	6.50 ± 2.87	2.49 ± 3.54	972.08 ± 1826.61
PNS 中剂量组	10	20	1.61 ± 0.89 **	90.34 ± 54.40	413.76 ± 46.74 **	3.42 ± 1.41 **	1.66 ± 1.29	1257.87 ± 1812.03
NS 高剂量组	8	40	1.74 ± 0.71 **	61.93 ± 22.59 *	395.40 ± 48.61 **	6.97 ± 2.59	1.47 ± 1.07	279.36 ± 142.73 *

与生理盐水对照组比较 *: $p<0.05$, **: $p<0.01$; n 为动物数,表2同

表2 PNS 改善 AMI 后 LVRM 大鼠心脏肥大和心肌细胞病理改变作用

Tab.2 The effect of PNS improving cardiac hypertrophy and pathological manifestations of myocardial cell in post AMI LVRM rats

组别	n	剂量 (mg·kg ⁻¹)	心脏指数 (g·kg ⁻¹)	心肌细胞病理改变总分值(秩和检验)					Mean Rank
				I	II	III	IV	V	
生理盐水对照组	8	2ml·kg ⁻¹	8.62 ± 1.05	0	4	6	6	2	127.17
福辛普利组	9	20	5.30 ± 1.21 **	20	12	6	0	0	71.45 **
PNS 低剂量组	7	10	5.94 ± 1.70 **	15	8	3	0	1	70.50 **
PNS 中剂量组	10	20	5.07 ± 0.87 **	20	0	9	4	1	77.97 **
PNS 高剂量组	8	40	5.32 ± 1.01 **	25	8	0	2	0	59.13 **

部位 HE 染色在 200 倍光学显微镜镜下观察可见,与生理盐水组比较,PNS高、中、低剂量组及福辛普利组大鼠的心肌间质水肿明显缩小,间质水肿程度减轻,心肌纤维呈胞浆嗜伊红浓染消失且纤维化面积或程度没有后者明显,提示 PNS 及福辛普利均能保护大鼠心肌梗死后左心室重构引起的细胞损伤(图1)。

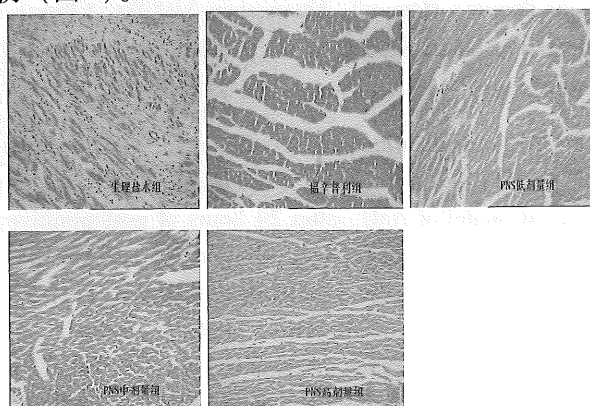


图1 心梗部位 HE 染色图(×100)

Fig.1 HE staining map of infarct sites

从图1可见,生理盐水对照组:心包膜水肿,肌纤维间隙水肿,淋巴细胞带状浸润,肌纤维组织增生,核固缩,有明显的心肌细胞浊肿性坏死;福辛普利组:肌纤维间隙轻度水肿,部分肌纤维轻度增生;PNS低剂量组:心肌纤维间隙轻度水肿;

PNS中剂量组:心肌纤维细胞部分变性;PNS高剂量组:部分肌纤维束间隙水肿,细胞坏死情况减轻。

3 讨论

血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)是防止AMI后LVRM并改善其预后有效药物,福辛普利可明显降低心肌缺血再灌注损伤大鼠血清MDA含量,升高GSH-Px活性,既保护内源性自由基清除剂GSH-Px活力,又减轻心肌细胞膜脂质过氧化损伤,这可能是福辛普利对大鼠心肌缺血再灌注损伤产生保护作用的主要机制之一^[4]。本研究观察到中PNS高、中、低3个剂量组与福辛普利均显著减少病鼠MDA,GSH-Px含量明显增高,说明PNS与福辛普利改善心肌重构作用可能与其提高心肌细胞抗氧化能力有关。

NO可抑制自由基诱导脂质过氧化反应,保护心肌,减少再灌注损伤,它由合酶(NOS)催化左旋精氨酸生成,根据存在部位及作用机制分为结构型NOS(cNOS)和诱导型NOS(iNOS),前者包括神经元型NOS(nNOS)和内皮型NOS(eNOS)。心肌nNOS上调是AMI后梗死心肌代偿影响LVRM重要机制^[5]。本实验组织病理学检测结果发现大鼠NO值偏高可能是iNOS亚型表达过高造成其合成NO释放过多所致,推测PNS是通过干预iNOS与eNOS、nNOS之间的平衡,降低病鼠高NO含量,减轻自由基损伤,抑制心肌肥大,保护心肌细

胞结构的完整和维持功能,可改善AMI后LVRM,这与文献报道^[6]结果类同。

近年研究^[7]发现CK-MB与cTn-I是心肌细胞损伤的特异性标志物且关联明显,心肌细胞受损时血液中这两种标志物浓度升高。CRP是机体受到创伤或炎症造成组织损伤时肝脏合成释放入血的急性相蛋白,AMI时血清CRP浓度显著升高,升高的CRP可促进粥样斑块处血栓形成,导致AMI。本组研究发现PNS对病鼠的CTnI、CK-MB及CRP水平均有明显的改善,证实PNS具有保护AMI后LVRM病鼠缺血性心肌细胞损伤的作用。

参考文献:

- [1] 郭洁文,杨敏,朱剑光,等.三七总皂苷对心血管作用的药理研究新进展[J].现代食品与药品杂志,2007,17(2):1-4.
GUO Jiewen, YANG Min, ZHU Jianguang, et al. New progress on pharmacological study of Panax Notoginsenoside on the cardiovascular effects[J]. Journal of Modern Food and Pharmaceuticals, 2007, 17(2): 1-4.
- [2] 尹倪,陈胜喜,罗万俊,等.冠状动脉前降支结扎法制作大鼠急性心肌梗死模型[J].中国医师杂志,2006,8(9):1193-1195.
YIN Ni, CHEN Shengxi, LUO Wanjun, et al. Establishing the model of myocardial infarction by ligation of the left anterior descending branch in rats[J]. Journal of Chinese Physician, 2006, 8(9): 1193-1195.
- [3] JUGEDUTT B I. Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix: When is enough enough [J]. Circulation, 2003, 108: 1395-403.
- [4] 赵学忠,张志国,王晔玲,等.福辛普利对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].吉林大学学报:医学版,2005,31(4):567-570.
ZHAO Xuezhong, ZHANG Zhiguo, WANG Yeling, et al. Protective effects of Fosinopril on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Journal of Jilin University: Medicine Edition, 2005, 31(4): 567-570.
- [5] DAWSON D, LYSATE C A, ZHANG M H, et al. nNOS gene deletion exacerbates pathological left ventricular remodeling and functional deterioration after myocardial infarction [J]. Circulation, 2005, 112(24): 3729-3737.
- [6] 刘金鑫,于波,张玺,等.腹腔注射一氧化氮合酶抑制剂对鼠模型急性病毒性心肌炎的影响[J].中华心血管病杂志,2004,32(12):1009-110.
LIU Jinxin, YU Bo, ZHANG Shuo, et al. Effect of L-NAME on experimental murine acute viral myocarditis at different stages [J]. Chinese Journal of Cardiology, 2004, 32(12): 1009-110.
- [7] ZHU B L, ISHIKAWA T, MICHIEU T, et al. Postmortem cardiac troponin I and creatine kinase MB levels in the blood and pericardial fluid as markers of myocardial damage in medicolegal autopsy[J]. Leg Med, 2007, 9: 241-250.

Effects of Panax Notoginsenoside on Potentiating Antioxidation and Improving Myocardial Morphology in Rats with Post-myocardial Infarction-ventricular Remodeling

GUO Jie-wen¹, DENG Zhi-jun², FU Yong-hen³, HUANG Ya-fei⁴, YANG Min³, PAN Jing-qiang⁵, LIU Ruo-Xuan¹

(1. Guangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510130, China;

2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

3. Research Center of Medical Science, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China;

4. Affiliated Third Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China;

5. Guangzhou Institute of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Guangzhou 510130, China)

Abstract: It was studied the Panax Notoginsenoside (PNS) on free radical injury and cardiac myocytes' morphological alterations in rats with acute post-myocardial infarction (AMI) left ventricular remodeling (LVRM). By ligation in rats left anterior descending coronary artery, building rat model of AMI, after 24 hours of postoperative, the rats were randomly divided into control and experimental groups, then respectively gavaged NS and the low, middle and high dosage of PNS for four consecutive weeks to observe the index such as Malondialdehyde (MDA), C-reactive protein (CRP), Troponin-I (cTn-I), Creatine kinase isoenzymes (CK-MB), Glutathione peroxidase (GSH-PX), Nitric oxide (NO) and the pathological structure of cardiac myocytes, cardiac index of PNS and Fosinopril in the disease rats. The result showed that compared with the NS group, PNS and Fosinopril can be significantly improved pathological changes and cardiac index of left ventricular cardiac myocytes' morphology rats ($P < 0.01$), the biochemistry index SOD, MDA, CRP, CK-MB and cTn-I are all significantly lower, the activity of GSH-PX significantly enhanced ($P < 0.01 \sim 0.05$), the high-dose PNS group can decrease NO ($P < 0.05$). So, through inhibiting lipid peroxidation in rats, PNS can reduce pathological injury of cardiac myocytes, enhance the antioxidance, inhibit cardiac hypertrophy and improve ventricular remodeling, morphological structure of cardiac myocytes in post AMI LVRM rats.

Key words: panax notoginsenoside (PNS); myocardial infarction; ventricular remodeling; anti-oxidation; myocardial morphology