

倒卵叶五加总皂苷对心肌缺血再灌注大鼠左心功能和血清一氧化氮及血浆内皮素的影响

胡宗礼, 黄晓萍 (广东韶关学院生物工程系药理教研室, 广东 韶关 512005)

摘要:目的 观察倒卵叶五加总皂苷对心肌缺血再灌注大鼠左心功能和血清一氧化氮(NO)及血浆内皮素(ET)的影响。方法 建立在体大鼠缺血再灌注损伤模型,用心功能分析系统测定左室心功能,用酶法测定血清 NO 水平及放免法测定血浆 ET 水平。实验分假手术组(sham)、心肌缺血再灌注损伤组(IR)和倒卵叶五加总皂苷(SAOH, $100 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$)治疗组。结果 IR 组左室 LVSP, $+dp/dt_{\max}$, $-dp/dt_{\max}$, $+dp/dt_{\max}/IP$ 明显下降($P < 0.001$),血清 NO 水平明显降低,而血浆 ET 水平则显著升高($P < 0.001$);SAOH 能够明显改善缺血再灌注损伤大鼠左心 LVSP, $+dp/dt_{\max}$, $-dp/dt_{\max}$, $+dp/dt_{\max}/IP$,提高血清 NO,降低血浆 ET,恢复 NO/ET 平衡($P < 0.001$)。结论 倒卵叶五加总皂苷能提高心肌缺血再灌注损伤大鼠血清 NO 水平和降低血浆 ET 含量,恢复 NO/ET 平衡,改善左心舒缩功能。

关键词:倒卵叶五加总皂苷;心肌缺血再灌注损伤;左心功能;一氧化氮;内皮素

中图分类号:R285 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2003)06-0468-03

Effects of saponin of *Acanthopanax obovatus* on the left cardiac function and the serum level of nitric oxide and the plasma level of endothelin during myocardial ischemic reperfusion injury in rats

ABSTRACT:OBJECTIVE To study the effects of saponin of *Acanthopanax Obovatus* Hoo(SAOH) on the left cardiac function, the serum level of nitric oxide(NO) and the plasma level of endothelin(ET) during myocardial ischemic reperfusion injury(IRI) in rats.

METHOD The experiment was carried out with IRI of rat in vivo. The left cardiac function was measured by the analysis system, the level of NO in serum by spectrophotometry and the level of ET in plasma by radioimmunoassay(RIA). The rats were divided into three groups: sham, ischemic/ reperfusion(I/ R) and SAOH group. **RESULTS** Compared with the sham group, the left cardiac function, the level of NO and ratio of NO/ ET in serum in the I/ R group were decreased, while the content of ET in plasma was increased after IRI ($P < 0.001$). Compared with the I/ R group, in the SAOH group, the left cardiac function was improved, the level of NO in serum was increased obviously while the content of ET in plasma was decreased markedly and the ratio of NO/ ET was improved ($P < 0.001$). **CONCLUSION** SAOH can improved left cardiac function and enhanced the level of NO in serum, decreased the content of ET in plasma after myocardial IRI. One of the mechanism may be that SAOH can enhance NOs secretes and protect myocardial and endothelia cells, rehabilitate the balance between NO and ET.

KEY WORDS saponin of *acanthopanax obovatus* hoo; myocardial ischemic/ reperfusion injury; left cardiac function; nitric oxide; endothelin

倒卵叶五加(*Acanthopanax obovatus* Hoo, AOH) 为五加科刺五加组植物, 其主要有效成分为倒卵叶五加总皂苷(Saponin of *Acanthopanax obovatus* Hoo, SAOH), 具有抗血小板聚集、抗实验性血栓形成和保护大鼠脑缺血再灌注损伤等作用^[1,2]。实验研究表明, 在心肌缺血再灌注损伤(ischemic reperfusion injury, IRI) 的发生、发展过程中, 一氧化氮(nitric oxide, NO)、内皮素(endothelin, ET) 发挥重要作用^[3], 并伴有心功能的损害^[4], 但有关 SAOH 对大鼠心肌 IRI 时 NO、ET 及心功能的影响笔者尚未见报道。本实验采用大鼠在体心肌 IRI 模型, 观察 SAOH 对血清 NO 与血浆 ET 水平及心功能的影响, 旨在阐明 SAOH 对大鼠心肌 IRI 的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用健康雄性 Wistar 大鼠 24 只, 体重 220 ~ 240g, 由广州军区陆军总医院实验动物中心提供。

1.2 药品与试剂

SAOH 由陕西师范大学中心实验室提取惠赠, 含量高于 98%, 用生理盐水配制成 2.5% 的溶液, pH = 8.0。NO 测定盒购自南京建成生物工程研究所, ET 测定盒购自北京北方生物技术研究所。

1.3 动物模型的建立^[5]

Wistar 大鼠称重后, 用 20% 乌拉坦腹腔注射麻醉(0.5 mL/100g), 仰卧位固定, 行右颈总动脉插管和气管插管, 接 DH-140 型动物人工呼吸机(浙江医科大学生产), 频率为 55 ~ 60 次/ min, 潮气量 3 ~ 4 mL/100g。以银针电极插于四肢皮下, 接心电图机, 监测标准肢体 II 导联心电图。在胸骨左缘 3 ~ 4 肋间横行切口, 暴露心脏, 仔细剪开心包膜, 以左心耳和肺静脉圆锥交界处的左冠状动脉前降支为标志, 用 4/0 无损伤缝针于左心耳下方 2 mm 处进针, 血管下穿线备用。

1.4 实验分组

将 24 只大鼠随机分成 3 组, 每组 8 只。①假手术组(sham): 左冠状动脉前降支穿线后不结扎, 稳定 10 min 后由

舌下静脉注射生理盐水 4 mL/kg, 旷置 60 min; ②缺血再灌注损伤组(I/ R): 左冠状动脉前降支穿线稳定 10 min 后结扎, 以心电图 S-T 段明显上抬, 结扎线以下心肌颜色变暗为心肌缺血成功标志, 30 min 后松开结扎线, 以 S-T 段逐渐下降, 心肌颜色变红为再灌注成功标志^[5], 再灌注 30 min; ③SAOH 治疗组: 左冠状动脉前降支穿线稳定 10 min 后, 由舌下静脉注射 SAOH 100 mg/kg(4 mL/kg), 余同 I/ R 组。

1.5 左心功能测定^[6]

在电脑屏幕观察下, 经右颈总动脉缓慢插入内含肝素生理盐水的导管。当动脉血压波变成下降达 0 kPa 附近, 且具有明显舒张期而峰顶平坦的波形时, 表明插管进入左心室, 并记录左室内压。应用 SMUP-CARDIO 软件分析缺血前、缺血 30 min 和再灌注 30 min 时左室内压最大值(LVSP)、左室内压上升段最大变化率($+dp/dt_{max}$)、左室内压下降段最大变化率($-dp/dt_{max}$)、左内压上升最大变化率与等容收缩期室内压的比($+dp/dt_{max}/ip$)。

1.6 血清 NO 及血浆 ET 的测定

再灌注结束时, 从颈动脉取血 2 份, 其中 1 份 3000 r/min 4℃离心 10 min, 取上清液, 按试剂盒说明, 采用酶法测定血清 NO。另 1 份加入含 10% EDTA-Na 30 μL 和抑肽酶 40 μL 的试管中, 混匀, 3000 r/min 4℃离心 10 min, 取上清液, 按 ET 放免试剂盒说明测定血浆 ET。

1.7 数据处理

所有数据以均数 ± 标准差表示($\bar{x} \pm s$), 用 t 检验进行显著性检验。

2 结果

2.1 SAOH 对心肌 IRI 大鼠左心功能的影响

缺血前各组反映左心功能的指标稳定。在缺血期和再灌注期, 各项指标均有不同程度的降低, 但以 I/ R 组降低最明显, 而假手术组和 SAOH 组相对较缓。缺血期末和再灌注末, I/ R 组各项指标显著降低, SAOH 组虽显著低于假手术组, 但明显高于 I/ R 组。结果提示心肌缺血再灌注损伤可导

致左心功能降低,而 SAOH 有改善心功能的作用。见表 1。

表 1 SAOH 对 IRI 大鼠左心功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab 1 Effects of SAOH on left cardiac function in rats of myocardial ischemia reperfusion injury($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Group		L VSP(kPa)	+ dp/ dt . max	- dp/ dt . max	+ dp/ dt . max/ ip(kPa/ s)
缺血前	sham	14.6 ± 0.39	777 ± 15.8	539 ± 17.6	102 ± 6.2
	I/ R	14.3 ± 0.37	774 ± 17.6	531 ± 19.8	101 ± 8.2
	SAOH	14.3 ± 0.40	789 ± 20.8	527 ± 22.3	101 ± 8.8
缺血末	sham	14.2 ± 0.38	737 ± 15.1	518 ± 18.4	98 ± 5.2
	I/ R	11.8 ± 0.39 ²⁾	605 ± 14.1 ²⁾	411 ± 14.3 ²⁾	88 ± 6.8 ¹⁾
	SAOH	12.9 ± 0.39 ³⁾	663 ± 17.1 ³⁾	446 ± 18.8 ³⁾	92 ± 8.2
再灌末	sham	13.9 ± 0.38	731 ± 11.6	498 ± 13.1	93 ± 5.2
	I/ R	9.6 ± 0.42 ²⁾	444 ± 18.1 ²⁾	300 ± 16.2 ²⁾	78 ± 8.1 ²⁾
	SAOH	11.8 ± 0.34 ³⁾	580 ± 20.3 ³⁾	372 ± 13.0 ³⁾	87 ± 9.4

注: I/ R 组同 sham 组比, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.001$; SAOH 组同 I/ R 组比, ³⁾ $P < 0.001$

Note: compared with the sham group, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.001$; compared with the I/ R group, ³⁾ $P < 0.001$

2.2 SAOH 对心肌 IRI 大鼠血清 NO 和血浆 ET 的影响

I/ R 组血清 NO 较假手术组明显降低,而血浆 ET 明显增高, NO/ ET 值显著降低。与 I/ R 组相比, SAOH 能明显提高血清 NO 和降低血浆 ET 水平,恢复 NO/ ET 比值。见表 2。

表 2 SAOH 对 IRI 大鼠血清 NO 和血浆 ET 的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab 2 Effects of SAOH on the levels of NO in serum and ET in plasma($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Group	NO(μ mol/ L)	ET(pg/ mL)	NO/ ET 值
sham	47.4 ± 3.73	142 ± 7.3	0.33 ± 0.021
I/ R	19.8 ± 2.70 ¹⁾	303 ± 8.9 ¹⁾	0.06 ± 0.012 ¹⁾
SAOH	59.2 ± 7.14 ²⁾	197 ± 10.1 ²⁾	0.30 ± 0.024 ²⁾

注: I/ R 组同 sham 组比, ¹⁾ $P < 0.001$; SAOH 组同 I/ R 组比, ²⁾ $P < 0.001$

Note: Compared with the sham group, ¹⁾ $P < 0.001$; Compared with the I/ R group, ²⁾ $P < 0.001$.

3 讨论

通常将参数 LVSP, + dp/ dt_{max}, + dp/ dt_{max}/ IP 等作为反映心脏收缩功能和以 - dp/ dt_{max} 来衡量心脏舒张性能的指标。心肌 IRI 的重要表现之一是心脏功能状态发生改变,具体表现为再灌注后血流的恢复与心功能的恢复不匹配,甚至进一步恶化,一般认为与氧自由基(ORF) 的大量产生,细胞内钙超载,心肌能量代谢障碍,收缩蛋白降解及反应低下等因素有关^[7]。近年的一些研究结果表明, NO 对缺血及再灌注后心肌有正性肌力作用, Sato 等^[8]采用 NO 合成前体 L- Arg 灌注羊缺血后心肌,发现 NO 释放明显增加,左室收缩和舒张功能亦得到明显改善,而 NO 合酶抑制剂则对心功能产生负性效应,认为引起心功能障碍的原因与心肌 IRI 造成内皮细胞功能损害及 NO 含量减少,促进中性白细胞的黏附聚集和 OFR 生成有关^[9]。本实验结果显示,反映心肌收缩和舒张性能的参数在缺血期下降,再灌注期进一步下降,同时

伴有血清 NO 水平明显降低和血浆 ET 水平显著增加,而 SAOH 能明显减缓心肌 IRI 过程中左室功能的下降,改善左心功能,并且显著提高血清 NO 和降低血浆 ET 水平,恢复 NO/ ET 值。故认为 SAOH 保护心肌缺血再灌注损伤的机制之一是促进 NOS 合成分泌 NO,有效保护血管内皮细胞和心肌细胞,恢复 NO/ ET 之间的动态平衡。

参考文献

[1] 李立中, 吴基良. 倒卵叶五加总皂甙对大鼠血栓形成及家兔凝血功能的影响[J]. 咸宁医学院学报, 1998, 12(3) : 143 .
[2] 何丽娅, 王秋桂, 吴基良, 等. 倒卵叶五加总皂甙对大鼠脑缺血/ 再灌注损伤的影响[J]. 中药药理与临床, 1996, 5(4) : 30 .
[3] Friedrich B. Interaction of nitric oxide and endothelin-1 in ischemic/ reperfusion injury of rat heart[J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29 : 2364 .
[4] Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction[J]. Ann Surg, 1999, 68 (5) : 1898 .
[5] 覃数, 陈运贞, 王志华. 大白鼠实验性心肌缺血再灌注模型制备与心电图改变的特点[J]. 重庆医科大学学报, 1998, 23(1) : 8 .
[6] 徐淑云, 卞如瀛, 陈修. 药理学实验方法学[M] 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1994 : 1018 .
[7] Kaplan P, Lenotsky J, Racay P, et al. Role of sarcoplasmic reticulum in the contractile dysfunction during myocardial ischemia and reperfusion[J]. Physiol Res, 1997, 46(5) : 333 .
[8] Sato H, Zhao ZQ, McGee DS, et al. Supplemental L-arginine during cardioplegic arrest and reperfusion avoids regional postischemic injury[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1995, 110 : 302 .
[9] Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction[J]. Ann Surg, 1999, 68 (5) : 1898 .

收稿日期: 2002-03-15