

# 人参二醇组皂苷对心肌梗死犬血清一氧化氮、 一氧化氮合酶水平的影响

刘 洁\*, 刘 芬, 王秋静, 赵雪俭  
(吉林大学白求恩医学院, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的: 观察人参二醇组皂苷(PDS)对急性心肌梗死(AMI)犬血清一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)水平及心肌超微结构的影响。方法: 结扎犬左冠状动脉前降支(LAD)建立AMI模型。采用分光光度法检测血清NO、NOS水平; 定量组织学硝基四氮唑兰(N-BT)染色法, 测定心肌梗死面积(MIS)以及应用透射电子显微镜观察心肌细胞超微结构的改变。结果: 与模型组比较, PDS能明显提高AMI犬血清NO含量和NOS活性; 减少MIS, 减轻心肌缺血引起的心肌细胞超微结构的损伤。结论: PDS对AMI犬心肌细胞有保护作用, 可能与其提高血清NO和NOS水平有关。

[关键词] 人参二醇组皂苷; 心肌梗死; 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 心肌/超微结构

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)04-0046-04

## Effect of Panaxadiol Saponins on NO, NOS Level in Serum in Acute Myocardial Infarction Dogs

LIU Jie\*, LIU Fen, WANG Qiu-jing, ZHAO Xue-jian

(School of Norman Bethune Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Panaxadiol Saponins (PDS) on the nitric oxide(NO) and nitric oxide synthase(NOS) in serum in acute myocardial infarction (AMI) dogs. **Methods:** An AMI model was made by ligating left coronary artery in dogs. The content of NO and activity of NOS in serum were detected by spectrophotometric method. N-BT staining method was used to determine the extent of myocardial infarction and the change in myocardial ultrastructure was observed by transmission electron microscope. **Results:** Compared with model group, PDS increase the content of NO and activity of NOS in serum, and decrease the extent of myocardial infarction significantly. PDS can alleviate the change induced by ischemia in myocardial ultrastructure markedly. **Conclusions:** PDS has apparently protective effects on myocardium in acute myocardial infarction dogs. Its mechanisms probably lie in increasing NO and NOS level in serum.

[Key words] Panaxadiol Saponins; myocardial infarction; nitric oxide; nitric oxide synthase; myocardium/ultrastructure

人参二醇组皂苷(Panaxadiol Saponins, PDS)系从人参茎叶中提取纯化所得。是以 20(S)-

Protopanaxadiol 为甙元的人参皂苷, 主要包含人参皂苷单体成分: Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd 等。近年研究表明 PDS 具有抗心肌缺血、抗脂质过氧化以及免疫调节等药理作用<sup>[1]</sup>。作者曾报道 PDS 能降低心源性休克犬血清细胞因子 IL-1, IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平<sup>[2]</sup>。改善心肌梗死状态下异常血液流变学状态, 对休克心脏有保护作用<sup>[3]</sup>。本实验研究通过建立 AMI 模型, 观察 PDS 对其血清 NO, NOS 含量的影响, 探讨其心肌保

[收稿日期] 2007-06-04

[基金项目] 吉林省科技厅自然科学基金资助项目(20030501)

[通讯作者] \* 刘 洁, Tel: (0431) 85619754; E-mail: liujie@jlu.edu.cn

护的作用机制。

### 1 试验材料

**1.1 药品** PDS 由吉林大学天然药物化学教研室提供,其主要组分所占比例为 Rb<sub>1</sub>, R<sub>c</sub>, Rb<sub>2</sub>, R<sub>d</sub> 为 1:1:8:8,纯度 85%。溶媒为 5% 葡萄糖注射液,内蒙古康源药业有限公司生产,批号:05080304。临用时按所需浓度配制;生脉(SM)注射液,华西医科大学制药厂生产,批号:200401;戊巴比妥钠,上海化学试剂分装厂,批号:20030612;氯化硝基四氮唑蓝,上海前进化学试剂厂生产,批号:20040502;盐酸利多卡因注射液,上海复星朝晖药业有限公司生产,批号:040913;NO, NOS 试剂盒均由南京建成生物工程研究所生产,批号:20050415,20051008。

**1.2 动物** 杂种犬,体重(12~16) kg,由吉林大学白求恩医学院实验动物中心提供。

**1.3 仪器** 722S-分光光度计由上海医疗设备厂生产;LKB-III型超薄切片机,瑞士产;JEM-1200EX 型透射电子显微镜,日本产。

### 2 实验方法

**2.1 分组给药** 健康杂种犬 24 只,雌雄不拘,随机分为 4 组,每组 6 只。分别为模型对照组、阳性药 SM 对照组和 PDS 大、小两个剂量组。用 30 mg·kg<sup>-1</sup> 戊巴比妥钠溶液静脉注射麻醉。常规手术,背位固定,用烧灼器切开颈部皮肤,分离气管并插管,连接呼吸机,正压(3~4) kPa 行人工呼吸。分离右侧股动脉和股静脉,以备放血和给药用。犬右侧卧位,于第 4 肋间开胸,暴露心脏;分离左冠状动脉前降支 LAD,备线待结扎。按文献方法建立急性心肌梗死(AMI)模型<sup>[4]</sup>,静脉注射盐酸利多卡因注射液,防止心律失常。结扎 LAD 下 1/3~1/2 处,造成 AMI 模型(通过观察心外膜心电图变化确定模型成立。以各标测点 ST 段升高的总毫米数(ΣST)表示心肌损伤程度;以 ST 段升高超过 2 mV 的导联数(NST)表示心肌损伤范围<sup>[5]</sup>。然后各组分别给药:模型组给予溶媒 5% 葡萄糖溶液 2 mL·kg<sup>-1</sup>;阳性对照组给予 SM 150 mg·kg<sup>-1</sup> 加入溶媒液中;PDS 两个剂量组分别给予 12.5, 25 mg·kg<sup>-1</sup> 加入溶媒液中股静脉滴注。

#### 2.2 观察指标

**2.2.1 检测血清 NO, NOS 含量** 取动脉血 5 mL 离心 10 min, 3 000 r·min<sup>-1</sup>。分离血清,采用分光光度法测定 NO, NOS 含量,操作方法按试剂盒说明书进行。取血时间为造模前、给药后 2, 4, 6 h。

**2.2.2 组织学检查** (1) 实验结束剪取心脏分别称心脏和左心室质量。然后将左室横切成 1 cm 厚的心肌片,将心肌片放入 0.5% 的氯化硝基四氮唑蓝溶液中,37 °C 恒温水浴,染色 10 min。称取梗塞区心肌组织质量,计算梗塞区质量占心脏和左心室质量百分率。(2) 用刀片切取左心室结扎线下 1 cm 处小块心肌组织放入 4% 戊二醛溶液中前固定,1% 锇酸后固定,乙醇系列脱水,Epon812 环氧树脂包埋,LKB-III 型超薄切片机切片,醋酸双氧铀及柠檬酸铅双重染色,JEM-1200EX 型透射电镜观察心肌细胞超微结构变化。

**2.3 统计学处理** 所有实验数据以均值±标准( $\bar{x} \pm s$ )差表示,与模型组进行组间 *t* 检验分析,*P* < 0.05 为差异显著,*P* < 0.01 为差异非常显著。

### 3 结果

**3.1 对 AMI 犬血清 NO, NOS 的影响** 模型组犬 AMI 后血清 NO 含量明显减少、NOS 活力下降;PDS 大小剂量组药物治疗后明显抑制 AMI 犬血清 NO 含量的降低和 NOS 活力的下降,作用同 SM 组相似,血清 NO, NOS 水平显著高于模型组(*P* < 0.05, *P* < 0.01),结果见表 1。

表 1 PDS 对 AMI 犬 NO, NOS 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量 (mg·kg <sup>-1</sup> )	时间 (h)	NO (μmol·L <sup>-1</sup> )	NOS (U·mL <sup>-1</sup> )
模型	-	造模前	31.23 ± 15.46	22.73 ± 8.02
		药后 2	18.26 ± 8.80	18.04 ± 4.41
		药后 4	14.93 ± 5.91	16.32 ± 5.17
		药后 6	15.19 ± 4.82	16.76 ± 4.61
		药后 2	28.37 ± 3.11	24.21 ± 7.02
		药后 4	22.52 ± 8.03 <sup>1)</sup>	23.69 ± 7.16 <sup>1)</sup>
牛脉	150	造模前	28.37 ± 3.11	24.21 ± 7.02
		药后 2	24.22 ± 10.31	22.64 ± 4.73
		药后 4	22.52 ± 8.03 <sup>1)</sup>	23.69 ± 7.16 <sup>1)</sup>
		药后 6	18.03 ± 9.85	21.82 ± 4.29 <sup>1)</sup>
		药后 2	32.52 ± 11.67	24.24 ± 4.66
		药后 4	25.72 ± 10.46	22.45 ± 4.78
PDS	12.5	造模前	32.52 ± 11.67	24.24 ± 4.66
		药后 2	25.72 ± 10.46	22.45 ± 4.78
		药后 4	23.11 ± 4.36 <sup>1)</sup>	26.78 ± 5.03 <sup>2)</sup>
		药后 6	16.63 ± 3.70	25.32 ± 8.03 <sup>1)</sup>
		药后 2	30.51 ± 4.29	24.74 ± 7.54
		药后 4	41.77 ± 26.52	23.91 ± 7.07
PDS	25	造模前	30.51 ± 4.29	24.74 ± 7.54
		药后 2	41.77 ± 26.52	23.91 ± 7.07
		药后 4	41.76 ± 25.93 <sup>1)</sup>	28.20 ± 5.10 <sup>2)</sup>
		药后 6	44.29 ± 24.63 <sup>1)</sup>	26.03 ± 2.82 <sup>2)</sup>

注:与模型组同时点比较<sup>1)</sup> *P* < 0.05, <sup>2)</sup> *P* < 0.01(下同)

**3.2 对 MIS 的影响** 模型组 AMI 后 MIS 明显增大。PDS 大、小剂量组治疗后较模型组 MIS 明显缩小。心肌梗塞区组织质量占心脏和左心室质量百分率均明显低于模型组,两组比较有显著性差异(*P* < 0.05, *P* < 0.01);SM 组 MIS 质量百分率也明显低于模型组

( $P < 0.05$ ), 结果见表 2。

表 2 PDS 对心肌梗死率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	梗死率%	
		占左心室	占心脏
模型	—	16.97 ± 4.52	12.09 ± 2.79
生脉	150	11.63 ± 2.94 <sup>1)</sup>	8.39 ± 2.01 <sup>1)</sup>
PDS	12.5	11.91 ± 3.02 <sup>1)</sup>	8.58 ± 2.16 <sup>1)</sup>
	25	10.51 ± 2.01 <sup>2)</sup>	7.38 ± 1.52 <sup>2)</sup>

**3.3 对 AMI 犬心肌细胞超微结构的影响** 电镜显示模型组心肌细胞缺血缺氧时线粒体和肌丝的形态结构病理性损伤较重。心肌细胞膜破损, 线粒体大小不等、肿胀, 嵴排列不规则。肌浆网扩张以及肌丝断裂、溶解等明显的病理改变。并可见一较大脂褐素颗粒(图 1); SM 组和 PDS 两个剂量组明显减轻 AMI 犬心肌细胞损伤程度。SM 组心肌细胞核呈长椭圆形, 肌丝排列规整, 肌节明暗带结构清楚。心肌闰盘结构正常, 连接结构清楚。线粒体沿肌丝束排列(图 2); PDS 小剂量组心肌细胞核膜完整, 核呈不规则型。周围肌节结构清晰, 线粒体纵行排列于肌丝之间, 胞质内可见吞饮小泡(图 3); PDS 大剂量组心肌细胞膜结构完整, 肌节明暗带结构清晰。肌丝排列较整齐。肌丝间线粒体较粗大, 纵行排列, 嵴清晰可见(图 4)。

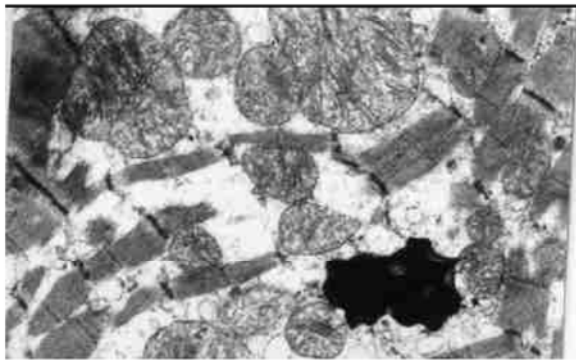


图 1 模型组心肌超微结构 ×10K

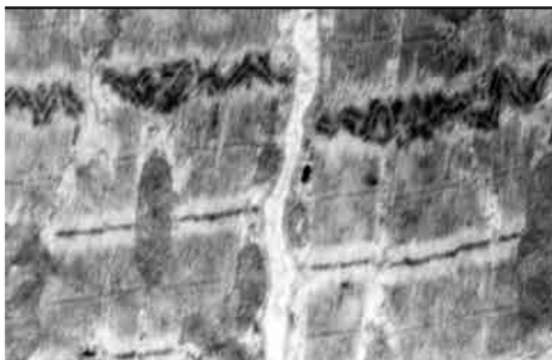


图 2 生脉组心肌超微结构 ×10K

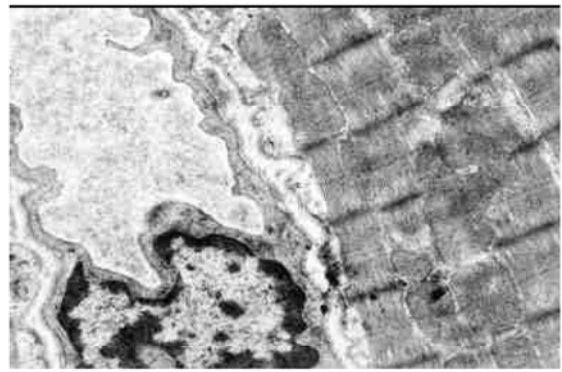


图 3 PDS 小剂量组心肌超微结构 ×10K

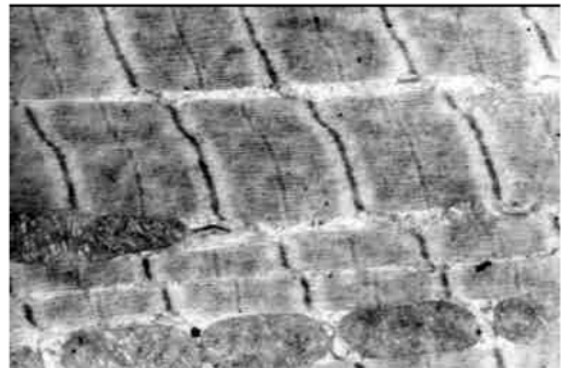


图 4 PDS 大剂量组心肌超微结构 ×10K

放量的 NO 是内源性递质, 在心血管、神经、免疫、内分泌等方面起到重要调节作用。内源性 NO 是由 L-精氨酸的胍基氮与分子氧经 NOS 催化而成。其前体 L-精氨酸具有强大的扩张血管作用, 并抑制血小板的聚集和黏附。是机体重要的信息分子和效应分子<sup>[6-7]</sup>。NOS 是控制 NO 产生的限速酶, 可分为结构型(CNOS)和诱生型(iNOS)两大类。前者参与血管张力调节和起神经递质作用, 后者参与机体正常免疫和 NO 的细胞毒作用<sup>[8]</sup>。本实验结扎犬 LAD 造成心肌缺血缺氧, 引起血管内皮细胞功能障碍, 释放大量的内皮素(ET), 抑制 NOS 的活性, 使 NO 生成减少, 并加重冠脉痉挛, 心肌血流灌注量下降, 出现心肌梗死病理损伤, 与文献报道一致<sup>[9-10]</sup>。PDS 通过保护内皮功能, 增强 NOS(CNOS)活性, 促使 NO 的合成与释放, 提高血清 NO 水平。调节冠状动脉血管张力, 增加心肌血流灌注量, 减少心肌梗死面积。提示 PDS 在心肌保护物质 NO, NOS(CNOS)代谢中具有重要的调节作用。

在心肌梗死的发生、发展过程中, 心肌缺血、缺氧造成机体生理稳态失衡, 细胞膜、溶酶体膜的损伤, 造成心肌酶类 CPK, LDH, AST 的漏出, 炎症细胞因子 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  水平增高, 氧自由基堆积引起脂质过氧化等, 都直接参与机体急性炎症、组织损伤和免疫反应<sup>[2]</sup>。本实验模型组心肌细胞超微结构的

#### 4 讨论

NO 是内皮细胞依赖的舒血管因子, 基础生理释

损伤,尤其表现在线粒体和肌丝的形态结构的改变。心肌细胞膜破损,线粒体大小不等、肿胀,嵴排列紊乱。以及肌丝断裂、溶解等明显的病理改变等。应用 PDS 可明显增加 AMI 犬 NO 含量和 NOS 活性,改善血管内皮功能,减轻炎症介导的心肌细胞坏死,提高心肌细胞和血管内皮细胞对缺血、缺氧的耐受性。保护心肌细胞膜和线粒体的形态结构并改善其功能。PDS 对 AMI 犬心肌超微结构的保护效应可能与调节血清 NO 和 NOS 代谢平衡有关,是抗心肌缺血和治疗心肌梗死的重要机制之一。

### [参考文献]

- [1] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1997. 1147-1161.
- [2] 刘洁, 王秋静, 刘芬, 等. 人参二醇皂苷对急性心源性休克犬血清 IL-1 水平的影响[J]. 中成药, 2005, 27(11): 1304-1307.
- [3] 王秋静, 刘洁, 刘芬, 等. 人参二醇皂苷对犬急性

心源性休克的保护作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2005, 31(4): 557-560.

- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 938-940.
- [5] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 121-129.
- [6] Moncada S, Palmer Rj, Higgs EA, *et al.* Physiology Phthophysiology and Phaemacology [J]. Pharmacological Review. 1991, 43: 109.
- [7] Feelisch M. The Biochemical Pathways of NO formation from nitrovasdilators [J]. J Cardiovasc Phamacol, 1991, 17 (Suppl3): S25-S33.
- [8] 杨志海. 一氧化氮与内皮素的生理、病理生理作用及其相互关系 II. 四川生理科学杂志. 1996. 18(3): 31-34.
- [9] 谭睿, 顾健, 刘茹, 等. DSF 对急性心肌缺血大鼠模型 NO 系统的影响[J]. 中药材, 2006, 29(9): 940-943.
- [10] 唐丽, 韩华, 杨炳友, 等. 广枣对大鼠急性心肌缺血保护作用的研究[J]. 中医药学报, 2003, 31(3): 50-51.