

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.32.007

野百合碱致心肌肥厚大鼠的右心室血流动力学变化研究*

罗 璨¹, 黄 岚^{2△}

(1. 南京医科大学第一附属医院/江苏省人民医院药学部, 南京 210029;

2. 南京市市级机关医院药剂科 210016)

摘要:目的 观察野百合碱(MCT)致右心室肥厚大鼠血流动力学的变化。方法 SD大鼠单次腹腔注射 MCT 60 mg/kg, 以右室/体质量(RV/BW)、右室肥厚指数(RVHI)及心房利钠因子(ANF)mRNA 的表达为心肌肥厚指标。10%水合氯醛腹腔麻醉, 颈总动脉插管及右心室插管, 测量右心室血流动力学指标。结果 溶媒对照各组大鼠 RV/BW、RVHI 和 ANF mRNA 无明显变化。MCT 给药后, M2W 和 M4W 组心肌肥厚各指标明显增加($P < 0.01$), 右心室肥厚形成。溶媒对照各组右心室血流动力学各指标无明显变化。MCT 模型组, 心率(HR)及血压无改变。其中 M2W 组, RVEDP 明显下降($P < 0.01$), 其余指标明显升高($P < 0.01$); M4W 组各项指标均明显升高($P < 0.01$)。结论 MCT 在致心肌肥厚的同时, 右心室收缩和舒张功能受损; 进一步发展的结果可能导致右心功能衰竭。

关键词:野百合碱; 血流动力学; 大鼠; 心肌肥厚; 右心室

中图分类号: R962

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)32-4294-03

Hemodynamic changes on right ventricular hypertrophy induced by monocrotaline in rats*

Luo Can¹, Huang Lan^{2△}

(1. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University/Jiangsu Province

People's Hospital, Nanjing, Jiangsu 210029, China; 2. Department of Pharmacy,

Nanjing Government Hospital, Nanjing, Jiangsu 210016, China)

Abstract: Objective To observe the hemodynamic changes on right ventricular hypertrophy induced by monocrotaline in rats. **Methods** Male SD rats were given monocrotaline 60 mg/kg by a single intraperitoneal injection, the mRNA expression of RV/BW, RVHI and ANF were took as the indicators. Intraperitoneal injection with 10% chloral hydrate was performed, the artery cannulae and right ventricular catheter were inserted, and the right ventricle pressure was measured. **Results** The RVHI and RV/BW were significantly increased in M2W and M4W groups, compared with vehicle control ($P < 0.01$), and the ANF mRNA expression was significantly increased in both groups. Bp and HR did not change in model groups. RVEDP markedly decreased ($P < 0.01$) and RVP, $\pm dp/dt_{max}$, $t dp/dt_{max}$ and V_{pm} increased ($P < 0.001$) in M2W groups; and all parameters increased significantly in M4W groups ($P < 0.01$). **Conclusion** Monocrotaline can induce RVH, which accompany hemodynamic changes and the systolic and diastolic dysfunction in right ventricle may eventually cause right heart failure.

Key words: monocrotaline; hemodynamics; rats; hypertrophy; right ventricle

随着人们生活水平提高, 心血管疾病发病率逐年增加, 心肌肥厚已发展成为威胁公众健康的严重社会医疗卫生问题之一。因此, 心肌肥厚发生、发展的病理生理过程、临床表现、预防、治疗等方面的研究一直是相关领域的热点问题。目前, 更多的注意力集中于血压长期升高等引起的左心室肥厚, 而对右心室肥厚的研究较少。对于右心室肥厚引起的血流动力学的改变, 尤其右心室功能的改变少有报道。随着对肺动脉高压、三尖瓣关闭不全、右心衰竭等疾病的深入研究, 右心室的收缩舒张功能在疾病过程中的作用逐渐受到重视^[1]。由于右心室的血流动力学与左心室并不完全一致, 故左心室的相关指标并不完全适用于右心室^[2]。野百合碱(monocrotaline, MCT)可引起肺动脉高压和缺氧, 导致右心室肥厚, 是研究非原发于心脏(如高血压)的右心室肥厚和右心衰竭的理想病理模型^[3-4]。本研究拟采用 MCT 引起的右心室肥厚模型, 动态观察右心室肥厚时血流动力学的变化, 以期为临床应用提供基础理论支持和相关参考资料, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 雄性 SD 大鼠, 体质量 200~250 g, 清洁级, 由第三军医大学野战外科研究所动物室提供, 许可证号: SCXK(渝)20020003。MCT(Sigma 公司), 溶于 1 N 盐酸, 用 1 N 氢氧化钠调 pH 至 7.4, 加 PBS 调节药物终浓度为 2%。

1.2 方法

1.2.1 动物及分组 将大鼠分笼饲养, 适应环境 1 周, 随机分为 MCT 模型组和溶媒对照组。MCT 模型组予 2% MCT 0.3 mL/100 g 单次腹腔注射, 溶媒对照组予磷酸盐缓冲液(PBS)同法等量注射。给药后常规饲养, 分别于第 2 周和第 4 周进行检测。根据喂养时间长短, 其中溶媒对照组又分为: (1) N0W 组: 给药前; (2) N2W 组: 饲养 2 周; (3) N4W 组: 饲养 4 周。MCT 模型组亦分为: (1) M2W 组: 饲养 2 周; (2) M4W 组: 饲养 4 周。溶媒对照各组 $n=7$, 模型各组 $n=10$ 。

1.2.2 血流动力学检测 10%水合氯醛 0.4 mL/100 g 腹腔麻醉。经一侧颈总动脉插管检测收缩压/舒张压(SP/DP)和心

* 基金项目: 江苏省高校优势学科建设工程资助项目(2011)。 作者简介: 罗璨(1971-), 副主任药师, 博士, 主要从事临床药学工作。 △

通讯作者, Tel: (025)68781603; E-mail: 987174884@qq.com。

率(HR)。经左侧第 4~5 肋间开胸,暴露心脏,心尖部插管,术后 15 min,待观察指标稳定后,记录右室内压(RVP)、右室舒张末压(RVEDP)、右室等容期压力最大变化速率($\pm dp/dt\text{-max}$)、右室开始收缩至右室内压上升速率峰值时间($t\text{-dp/dt}\text{-max}$)及心肌纤维收缩成分的缩短速度(V_{pm})等。将上述指标同步记录于四道生理记录仪(RL-420E 型,成都泰盟科技有限公司)。

1.2.3 组织标本制备 血流动力学检测结束后,取出心脏,分离右心室(RV)及左心室+室间隔(LV+S),称质量;分别计算右心室/体质量比(RV/BW)和右室肥厚指数(RVHI) = RV/(LV+S)。分装标本, -70 °C 冻存检测心肌肥厚标志基因心房利钠因子(ANF) mRNA 的表达。

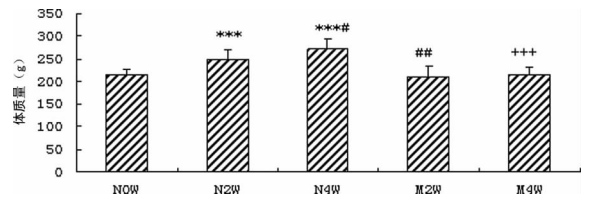
1.2.4 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测 ANF mRNA 的表达 按 RNA 提取试剂盒(Qiagen 公司)说明书操作,提取纯化心肌组织总 RNA,用 RT-PCR 试剂盒(Promega 公司)检测 ANF mRNA 表达。参照文献[5-6]及 GenBank 中大鼠相应的基因序列,引物序列如下: $\beta\text{-actin}$ (正向引物:5'-GAC TAC CTC ATG AAG ATC CTG ACC-3',反向引物:5'-TGA TCT TCA TGG TGC TAG GAG CC-3');ANF(正向引物:5'-GCC CTG AGC GAG CAG ACC GA-3',反向引物:5'-CGG AAG CTG TTG CAG CCT A-3')。扩增片段分别为 423 bp 和 202 bp。扩增条件:94 °C 预变性 2 min;94 °C 30 s,60 °C 30 s,72 °C 1 min,35 个循环;72 °C 延伸 7 min。上述引物由北京鼎国生物技术发展中心合成。取 RT-PCR 产物 1% 琼脂糖凝胶电泳,BI2000 凝胶成像系统(成都泰盟科技有限公司)分析,以 ANF 与 $\beta\text{-actin}$ 积分光密度值之比表示 ANF 基因的表达水平。每组重复 3 次。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.5 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析或 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

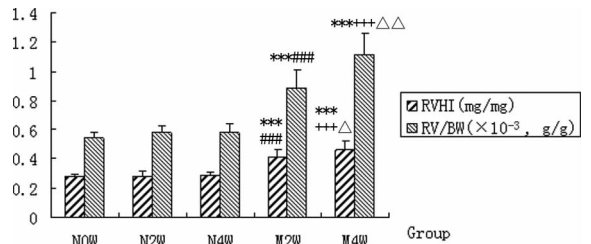
2.1 MCT 导致大鼠右心室肥厚 随着喂养时间延长,溶媒对照组大鼠 BW 明显增加。与 N0W 组比较,N2W 组和 N4W 组分别增加了 16% 和 27% ($P < 0.05$)。MCT 给药后,M2W 组和 M4W 组 BW 与 N0W 组比较无差异,但比同期喂养大鼠(N2W 组或 N4W 组)分别减轻了 16% ($P < 0.05$) 和 21% ($P < 0.05$)。溶媒对照组 RVHI 和 RV/BW 无明显差异。M2W 组 RVHI、RV/BW 较 N2W 组分别增加了 47% 和 53% ($P < 0.05$);M4W 组较 N4W 组分别增加了 64% 和 94% ($P < 0.05$)。同时,ANF mRNA 在溶媒对照组表达很低。MCT 给药后,ANF mRNA 明显增加。M2W 和 M4W 组与同期溶媒对照组比较,ANF 均增加 3 倍多 ($P < 0.05, n = 3$),见图 1、2、

表 1。



***: $P < 0.01$, 与 N0W 组比较; #: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$, 与 N2W 组比较; +++: $P < 0.01$, 与 N4W 组比较。

图 1 野百合碱对大鼠体质量的影响



***: $P < 0.01$, 与 N0W 组比较; ###: $P < 0.01$, 与 N2W 组比较; +++: $P < 0.01$, 与 N4W 组比较; Δ : $P < 0.05$, $\Delta\Delta$: $P < 0.01$, 与 M2W 组比较。

图 2 野百合碱引起大鼠心脏病理改变

表 1 野百合碱对大鼠右心室 ANF mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	ANF mRNA
N0W 组	0.010 \pm 0.002
N2W 组	0.007 \pm 0.003
N4W 组	0.008 \pm 0.001
M2W 组	0.025 \pm 0.002***
M4W 组	0.026 \pm 0.003###

***: $P < 0.001$, 与 N2W 组比较; ###: $P < 0.001$, 与 N4W 组比较。

2.2 血流动力学检测 溶媒对照组随喂养时间增加,其 HR、SP/DP、RVP、RVEDP、 $\pm dp/dt\text{max}$ 、 $t\text{-dp/dt}\text{max}$ 及 V_{pm} 均无明显变化。在 MCT 给药 2 周和 4 周,M2W 组和 M4W 组 HR 及血压无明显改变。但在 M2W 组,除 RVEDP 明显下降外 ($P < 0.01$),右心室血流动力学其余各指标均明显增加 ($P < 0.01$),而在 M4W 组,与同期 N4W 组比较,各项指标均明显增加 ($P < 0.05$);与 M2W 组比较,除 RVEDP 增加外,其余各项指标均下降 ($P < 0.01$),见表 2。

表 2 野百合碱对右心室心肌肥厚大鼠血流动力学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	HR(bpm)	SP/DP(mm Hg)	RVP(mm Hg)	RVEDP(mm Hg)
N0W 组	351 \pm 28	126/108 \pm 12/8	13.83 \pm 1.03	12.94 \pm 0.96
N2W 组	347 \pm 36	132/106 \pm 10/5	13.81 \pm 0.74	12.51 \pm 0.75
N4W 组	344 \pm 44	132/106 \pm 14/6	13.97 \pm 0.73	12.24 \pm 0.54
M2W 组	345 \pm 23	131/112 \pm 8/13	21.60 \pm 1.45 $\circ\circ\circ$ ***	5.95 \pm 1.73 $\circ\circ\circ$ ***
M4W 组	343 \pm 23	125/112 \pm 14/15	19.05 \pm 1.80 $\circ\circ\circ$ ### $\Delta\Delta$	16.52 \pm 1.77 $\circ\circ\circ$ ### $\Delta\Delta\Delta$

续表 2 野百合碱对右心室心肌肥厚大鼠血流动力学的影响($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	+dp/dtmax(mm Hg/s)	t-dp/dtmax(ms)	-dp/dtmax(mm Hg/s)	Vpm(L/s)
N0W 组	22.46±6.29	3.10±5.20	19.50±9.03	2.02±0.43
N2W 组	24.46±5.19	3.40±2.40	25.33±4.32	2.28±0.45
N4W 组	27.47±6.59	5.10±4.70	27.53±9.03	2.49±0.73
M2W 组	260.73±61.01 ^{○○○***}	27.30±5.76 ^{○○○***}	228.24±97.49 ^{○○○***}	27.21±9.81 ^{○○○***}
M4W 组	59.59±24.39 ^{○○○# # #△△△}	19.00±9.65 ^{○○○# # #△△△}	42.45±13.55 ^{○○○# # #△△△}	3.40±1.28 ^{○○○# # #△△△}

○○○: $P < 0.01$, 与 N0W 组比较; ***: $P < 0.01$, 与 N2W 组比较; #: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$, ###: $P < 0.01$, 与 N4W 组比较; △△: $P < 0.01$, △△△: $P < 0.01$, 与 M2W 组比较。

3 讨 论

MCT, 又名单响尾蛇毒蛋白、猪屎豆碱、大叶猪屎青碱等, 是从野百合、猪屎豆等植物种子中提取的吡咯烷生物碱。MCT 进入大鼠体内后, 在肝脏多功能氧化酶系作用下, 转化为野百合吡咯(MCT-pyrrole), 而后损伤肺血管内皮细胞, 引起肺动脉平滑肌细胞增殖, 最终导致肺动脉高压, 继发右心室肥厚, 是常用的右室肥厚病理模型^[7-8]。本研究采用单次腹腔注射给药的方式, 在 MCT 注射后 2 周即出现 ANF mRNA 表达增加和 RVHI、RV/BW 增加, 至 4 周时上述各指标增加更为明显。由于给予 MCT 后, 模型各组体质量无明显增长, 与相应溶媒对照组(N2W 组或 N4W 组) 比较, 体质量明显偏轻, 故 RV/BW 的增加可能是由于模型组体质量较轻而产生的非特异效应, 但模型各组 RVHI 的明显升高强烈提示出现右心室肥厚。另外, 心肌肥厚发生的标志基因之一 ANF mRNA 表达的明显增加, 进一步证实了右心室肥厚的发生^[9-10]。

MCT 右心室肥厚模型一般对左心室功能没有影响^[11]。本研究结果亦显示, M2W 组和 M4W 组的 BP 和 HR 没有变化, 提示不存在左心室肥厚的病理基础。与左心室相比, 右心室受前负荷的影响较小, 而受后负荷影响较大^[12]。给予 MCT 后, 由于肺动脉压力增加, 右心室血流动力学随之发生改变。M2W 组反映心室收缩功能的指标, 如 +dp/dtmax、t-dp/dtmax 及 Vpm 均增加, 提示心肌的收缩功能代偿性增加; -dp/dtmax 亦升高, 提示心室舒张功能亦代偿性增加; RVEDP 明显下降, 提示心室的舒张顺应性尚处于代偿期^[13-15]。模型至 4 周时(M4W 组), 心室收缩和舒张功能均下降, RVEDP 明显上升, 提示出现了右心室功能衰竭, 心室舒张顺应性降低。

综上所述, 本研究结果提示, MCT 在导致心肌肥厚的同时, 右心室收缩和舒张功能亦受损; 如不予以及时治疗, 进一步发展, 可能出现右心功能衰竭。

参考文献:

[1] 刘宁, 陈同. 右心功能研究进展 [J]. 医学信息, 2011, 24(3): 1470-1473.

[2] 徐力辛, 杨鹏麟, 蔡孔长, 等. 增加前、后负荷对右心室心肌收缩性指标的影响 [J]. 温州医学院学报, 1990, 20(2): 65-69.

[3] Jiang QS, Huang XN, Dai ZK, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rb1 on cardiac hypertrophy induced by monocrotaline in rat [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 111(3): 567-572.

[4] Sutendra G, Dromparis P, Paulin R, et al. A metabolic re-

modeling in right ventricular hypertrophy is associated with decreased angiogenesis and a transition from a compensated to a decompensated state in pulmonary hypertension [J]. J Mol Med (Berl), 2013, 91(11): 1315-1327.

[5] Wang M, Wang J, Tan R, et al. Effect of berberine on PPAR α /NO activation in high glucose and insulin-induced cardiomyocyte hypertrophy [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 285489.

[6] 蒋青松. PGF2 α 诱导心肌肥厚信号通路研究及人参皂甙 Rb1 的作用 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2005.

[7] Boor PJ, Gotlieb AI, Joseph EC, et al. Chemical-induced vasculature injury [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1995, 132: 177-195.

[8] Naito Y, Hosokawa M, Hao H, et al. Impact of dietary iron restriction on the development of monocrotaline-induced pulmonary vascular remodeling and right ventricular failure in rats [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 436(2): 145-151.

[9] Chien KR, Knowlton KU, Zhu H, Chien S. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: molecular studies of an adaptive physiologic response [J]. FASEB J, 1991, 5(15): 3037-3046.

[10] 彭晓凤, 陈加飞, 王全华, 等. PI3K/AKT-NO 信号通路在 Ang IV 诱导大鼠心肌肥大中的作用 [J]. 重庆医学, 2012, 41(11): 1055-57, 1061.

[11] Borgdorff MA, Bartelds B, Dickinson MG, et al. Distinct loading conditions reveal various patterns of right ventricular adaptation [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013, 305(3): H354-364.

[12] 陈力, 杨双强, 廖慧. 肺叶切除围手术期右心血流动力学变化 [J]. 中华超声影像学杂志, 2004, 13(4): 266-269.

[13] 赵婷, 苏中平, 朱莉莉, 等. 银杏内酯 C 对正常大鼠在体心功能的影响 [J]. 临床医药实践, 2013, 22(7): 524-526.

[14] 姜水莲, 吕圭源, 陈素红, 等. 黄芪、人参、西洋参提取物对心肌缺血犬心脏血流动力学的影响 [J]. 上海中医药大学学报, 2011, 25(3): 80-84.

[15] 来于, 吴红金, 郑思道, 等. 参附汤对慢性心力衰竭大鼠血流动力学的影响 [J]. 吉林中医药, 2013, 33(3): 276-277.