



不同剂量野百合碱联合异丙肾上腺素对大鼠血流动力学变化及心指数、右心肥厚指数研究

邹习俊, 杨红宇, 江 滢, 智 妍, 兰露莎, 朱颜鑫, 邹 乾

(贵州医科大学实验动物中心, 贵阳 550004)

【摘要】 目的 研究不同剂量野百合碱联合异丙肾上腺素对大鼠血流动力学变化及心指数、右心肥厚指数。**方法** 采用 SD 大鼠 64 只, 雌雄各半, 体重 200 ~ 250 g, 随机分为空白对照组 ($n = 16$); 模型组 ($n = 48$)。模型组分为高剂量组 ($n = 16$): 80 mg/kg 野百合碱采取腹腔一次性注射; 10 mg/kg 异丙肾上腺素采取腹腔连续注射 1 周; 中剂量组 ($n = 16$): 55 mg/kg 野百合碱采取腹腔一次性注射; 8 mg/kg 异丙肾上腺素采取腹腔连续注射 1 周; 低剂量组 ($n = 16$): 30 mg/kg 野百合碱采取腹腔一次性注射, 3 mg/kg 异丙肾上腺素采取腹腔连续注射 1 周。动物饲养到第 6 周后, 行肺动脉压和右心室内压检测, 心系数和右心室肥厚指数测定。**结果** 与对照组比较, 低剂量平均肺动脉压和右室收缩压均无差异变化; 中剂量组平均肺动脉压、右室收缩压均有差异变化 ($P < 0.05$), 低剂量组心系数和右心室肥厚指数均无差异显著。中剂量组心系数差异极显著 ($P < 0.01$), 右心室肥厚指数差异显著 ($P < 0.05$)。**结论** 说明采用一次性注射野百合碱 55 mg/kg, 联合连续注射 8 mg/kg 异丙肾上腺素 1 周。既保证了大鼠的存活率, 又保证了肺动脉高压的成功形成, 野百合碱和异丙肾上腺素能对大鼠产生肺动脉高压, 导致心气虚弱。

【关键词】 野百合碱; 异丙肾上腺素; 大鼠; 血流动力学; 心指数; 右心肥厚指数

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016)10-0069-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.10.013

Effect of different doses of monocrotaline in combination with isopropylarterenol on the hemodynamic response, heart index and right heart hypertrophy index in rats

ZOU Xi-jun, YANG Hong-yu, JIANG Yan, ZHI Yan, LAN Lu-sha, ZHU Yan-xin, ZOU Qian

(Laboratory Animal Center of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of different doses of monocrotaline in combination with isopropylarterenol on the hemodynamic response, heart index and right heart hypertrophy index in rats. **Methods** Sixty-four healthy adult SD rats, male : female = 1 : 1, body weight 200 - 250 g, were randomly divided into blank control group ($n = 16$) and three model groups ($n = 16$ in each group). The high dose model group ($n = 16$) received i. p. injection of monocrotaline 80 mg/kg once and epinephrine 10 mg/kg once daily for one week. The moderate dose group received i. p. injection of monocrotaline 55 mg/kg once and epinephrine 8 mg/kg once daily for one week. The low dose group received i. p. injection of monocrotaline 30 mg/kg once and epinephrine 3 mg/kg once daily for one week. The rats were fed for 6 weeks, and then pulmonary artery pressure and right ventricular pressure were tested and heart index and right ventricular

[基金项目] 贵州省科技厅基金(编号:黔科合 LH 字[2014]7100)。

[通讯作者] 邹习俊(1981 -), 男, 硕士, 研究方向: 实验动物科学, E-mail: xijzou@163.com。

hypertrophy index were determined. **Results** Compared with the control group, the mean pulmonary artery pressure and right ventricular systolic blood pressure in the low dose monocrotaline group were not significantly changed, but significantly changed in the moderate dose monocrotaline group ($P < 0.05$). The heart index and right ventricular hypertrophy index in the low dose monocrotaline group were not significantly changed, but in the moderate dose monocrotaline group, the heart index was significantly reduced ($P < 0.01$) and the right ventricular hypertrophy index was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusions** The use of a single injection of 55 mg/kg monocrotaline in combination with continuous injection of 8 mg/kg isopropylarterenol once daily for one week can ensure the survival rate of rats, and the successful formation of pulmonary artery hypertension, leading to heart weakness.

【Key words】 Monocrotaline; Isopropylarterenol; Blood flow dynamics; Heart index; Right heart hypertrophy index; Rats

血管系统疾病已经成为严重危害人类身体健康与生活质量的最为常见的疾患之一,其发病率和死亡率均超过肿瘤性疾病而位居世界第一,临床常见的合并心血管和呼吸系统疾病具有更高的死亡率。在我国传统医学中,常表现为心肺气虚,即心气虚弱、肺气不足,是以心悸、喘促为主证的虚弱证候。

1 材料和方法

1.1 实验动物及实验环境

实验用 SD 大鼠购自第三军医大学实验动物中心,实验动物生产许可证号: SCXK(军)2012-0011。动物实验在贵州医科大学实验动物中心实施,使用许可证号: SYXK(黔)2012-0001。

1.2 仪器与试剂

BL-420 生物信号采集仪(成都泰盟科技),BSA822-CW 电子天平(精确到 0.01 g 德国 Sartorius)。野百合碱(MCT;分析标准品,HPLC $\geq 99\%$,CAS 号: 315-22-0),盐酸异丙肾上腺素(ISO;含量 $\geq 98\%$,CAS 号 51-30-9)和 ELSA 试剂盒购自上海源叶生物科技有限公司;水合氯醛,生理盐水,肝素钠,等购自市售分析纯。其中野百合碱和盐酸异丙肾上腺素用无水乙醇与 0.9% 氯化钠注射液混合液(1:4)配成溶液备用。

1.3 动物实验

实验用 SD 大鼠 64 只,雌雄各半,体重 200 ~ 250 g,适应性饲养 1 周。随机分为空白对照组($n = 16$);模型组($n = 48$),模型组分为高剂量组($n = 16$): 80 mg/kg 野百合碱采取腹腔一次性注射;10 mg/kg 异丙肾上腺素采取腹腔连续注射 1 周;中剂量组($n = 16$): 55 mg/kg 野百合碱采取腹腔一次性注射;8 mg/kg 异丙肾上腺素采取腹腔连续注射 1 周;低剂量组($n = 16$): 30 mg/kg 野百合碱采取腹腔

一次性注射,3 mg/kg 异丙肾上腺素采取腹腔连续注射 1 周。自由饮水、进食。

1.4 研究方法

1.4.1 大鼠的一般情况观察:包括活动情况,饮食及毛发等。

1.4.2 血流动力学测定:动物饲养到第 6 周,称重,10% 水合氯醛 3 mL/kg 腹腔麻醉注射,仰卧固定,消毒。参照袁平等^[1]改良心导管测定大鼠肺血管阻力的方法,分离颈外静脉,结扎血管远心端,剪口,插入自制弯曲的 PE-10 导管,固定。导管末端弯曲向左下方向缓慢推进,1 ~ 2 cm 到达颈外静脉与腋静脉交汇处,顺时针旋转导管进入上腔静脉,继续向前推进 1 ~ 2 cm 进入右心房,适当旋转继续推进 1 cm,若感阻力明显下降,多道生理仪显示右心室波形后提示导管进入右心室。导管前端在右心室停留片刻,使其能流向肺动脉人口,然后缓慢推进 0.5 ~ 1 cm,当显示器呈现“M”与“N”交替的肺动脉波形时,提示导管已进入肺动脉,固定导管,记录压力曲线。

1.4.3 心系数、右心室肥厚指数测定:当血流动力学测定完毕后放血处死大鼠,取出心脏,用 0.9% 氯化钠溶液冲洗,滤纸吸干后称重,心系数 = 心重/体重 $\times 100\%$ 。然后把心脏左、右心房及相连的大血管去除,游离左心室(left ventricle, LV)、右心室(right ventricle, RV)与室间隔(interventricular septum, IVS),用 0.9% 氯化钠溶液冲洗掉附着血栓,滤纸吸干、称重,计算右心室肥厚指数,即 $RV/(LV + IVS)$ 。

1.4.4 统计学方法:采用 SPSS 19.0 中文统计软件。计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示, t 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠的一般情况

在注射后的第 2 周,除体重略有变化,其他无明显行动异常。第 3 周观察发现:高剂量组雄性行动异常,饮食减少,粪便痞积,毛发有脱落现象,2 只死亡;中剂量组和低剂量组肉眼观察均无明显变化。第 4 周观察发现:高剂量组雄性全部死亡,雌性组死亡 3 只,其它组没有发现有明显异常。第 6 周发现:高剂量组雌性也全部死亡;中剂量组有毛发脱落现象,饮食减少,行动迟缓,眼神呆滞。

2.2 心系数、右心室肥厚指数测定结果

结果表明:与对照组比较,低剂量组心系数和

右心室肥厚指数差异均无显著性意义。中剂量组心系数差异极显著($P < 0.01$),右心室肥厚指数差异显著($P < 0.05$)(表 1)。

2.3 血流动力学分析结果

结果表明,中剂量组的肺动脉压、右心室收缩压都呈平稳曲线变化(图 1)。与对照组比较,低剂量组平均肺动脉压和右室收缩压均无差异变化;中剂量组平均肺动脉压、右室收缩压均有差异变化($P < 0.05$)(表 2)。

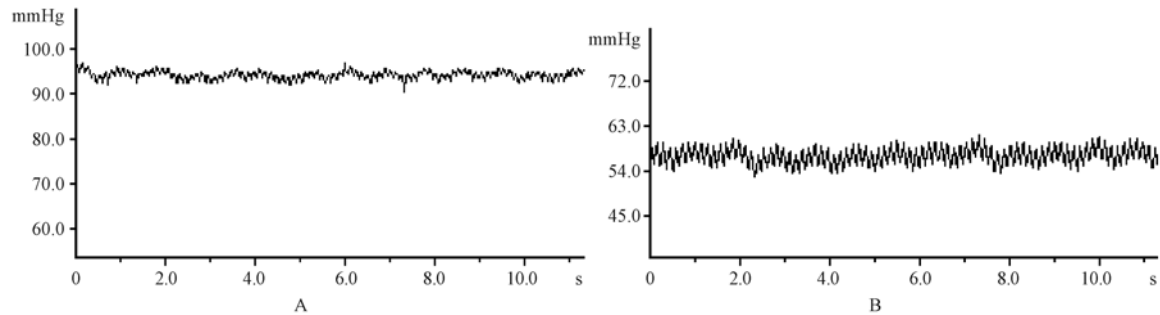


图 1 A 肺动脉压,B 右心室收缩压

Fig. 1 Stable pulmonary artery pressure (A) and right ventricular systolic pressure (B) in a rat of the moderate dose group.

表 1 心系数及右心室肥厚指数

Tab. 1 The heart index and right heart hypertrophy index

组别 Groups	性别 Male/Female	心系数(%) Heart index (%)	右心室肥厚指数 Right heart hypertrophy index
对照组	♀	0.4123 ± 0.0605	0.2685 ± 0.0452
Control group	♂	0.3889 ± 0.0342	0.2742 ± 0.0641
低剂量组	♀	0.4049 ± 0.0495	0.2967 ± 0.0102
Low dose group	♂	0.4140 ± 0.0949	0.2895 ± 0.0419
中剂量组	♀	0.3529 ± 0.0388 **	0.3216 ± 0.0572 *
Moderate dose group	♂	0.3096 ± 0.0475 **	0.3591 ± 0.0428 *

注:与对照组比较,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 血流动力学指标(mmHg,1 mmHg ≈ 0.133 kPa)

Tab. 2 The blood flow dynamics indexes

组别 Groups	性别 Male/Female	平均肺动脉压 Mean pulmonary arterial pressure	右室收缩压 Right ventricular systolic pressure
对照组	♀	93.30 ± 4.45	49.87 ± 5.90
Control group	♂	86.69 ± 4.93	44.34 ± 4.57
低剂量组	♀	95.97 ± 6.27	54.24 ± 4.31
Low dose group	♂	81.58 ± 7.10	45.12 ± 3.59
中剂量组	♀	103.81 ± 6.80 *	58.62 ± 7.06 *
Moderate dose group	♂	102.50 ± 10.98 *	62.16 ± 2.18 *

注:与对照组比较,*表示 $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$.

- [6] 范媛媛, 郑冰, 王树祥, 等. 一种新型培养基在沙门氏菌检测中的效果评价 [J]. 食品工业科技, 2008, 8: 415-417.
- [7] 杨保伟, 盛敏, 席美丽, 等. 食源性沙门氏菌耐药性检测及相关质粒 [J]. 微生物学报, 2008, 48(8): 1006-1012.
- [8] He LL, Sok D, Azadnia P, et al. Toward a more accurate view of human B-cell repertoire by next-generation sequencing, unbiased repertoire capture and single-molecule barcoding [J]. Sci Rep, 2014, 4: 67-78.
- [9] Weinstein JA, Jiang N, White III RA, et al. High-throughput sequencing of the Zebrafish antibody repertoire [J]. Science, 2009, 324(5928): 807-810.
- [10] DeKosky BJ, Ippolito GC, Deschner RP, et al. High-throughput sequencing of the paired human immunoglobulin heavy and light chain repertoire [J]. Nat Biotech, 2013, 31(2): 166-169.
- [11] 王章云, 滕焕昭, 李柏桂, 等. 肠炎沙门氏菌引起的食物中毒细菌学调查 [J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(3): 115.
- [12] Henrik C, Steen N, John EO. Phylogenetic relationships of *Salmonella* based on rRNA sequences [J]. Int J Systematic Bacteriol, 1998, 48: 605-610.
- [13] Sara PL, Francisco R, Ruiting L. Variation of the ribosomal operon 16S-23S gene spacer region in representatives of *Salmonella enterica* subspecies [J]. J Bacteriol, 1998, 180(8): 2144-2151.
- [14] Cesar AM, Richard G, Jean G. Linkage of avian and reproductive tract tropism with sequence divergence adjacent to the 5S ribosomal subunit *rrfH* of *Salmonella enterica* [J]. FEMS Microbiol Lett, 2006, 264: 48-58.
- [15] Fukushima M, Kakinuma R. Phylogenetic analysis of *Salmonella*, *Shigella*, and *Escherichia coli* strains on the basis of the *gyrB* gene sequence [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(8): 2779-2785.

[修回日期]2016-03-08

(上接第 71 页)

3 分析与讨论

野百合碱可引起大鼠肺血管内皮损伤、血管重构,进而导致肺血管阻力增加,肺动脉高压形成,这与人肺动脉高压发病的病理生理机制类似^[2]。异丙肾上腺素为受体激动剂,对心肌的正性变力和变时作用可使心肌收缩力增强,心率加快,致使心肌细胞肥大,胶原纤维增生,产生心肌肥厚^[3]。但是,采用野百合碱联合异丙肾上腺素共同作用于大鼠的报道罕见,本研究发现:药物使用剂量越大,对大鼠心、肺组织破坏就越严重,大鼠的死亡率也随之上升;但如果注射药物剂量低,作用效果不明显。采用一次性注射野百合碱 55 mg/kg 联合 8 mg/kg 异丙肾上腺素连续注射 1 周,既保证了大鼠的存活率,又保证了肺动脉高压的成功形成。

本实验中,野百合碱联合异丙肾上腺素共同作用注射 6 周后,与空白对照组相比,中剂量组大鼠平均肺动脉压、右心室内压均明显升高($P < 0.05$),平均肺动脉压大大超过 25 mmHg,达到了重度以上肺动脉高压的标准,这其中也可能与生物信号采集仪的设定标准有一定的关系,也与信号采集连接导管有关系。

肺动脉高压早期,右心室尚能代偿,舒张末期压仍正常,但随着病情的进展,特别是急性加重期,肺动脉压持续升高且严重,超过右心室的负荷,右心失代偿,右心排血量下降,右室收缩末期残留血量增加,舒张末压增高,促使右心室肥厚,严重时甚至出现右心室功能衰竭。野百合碱进入大鼠体内后,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^[4,5]。本研究通过注射野百合碱联合异丙肾上腺素的作用,使心肌肥厚的作用十分明显,与空白对照组比较,中剂量组心系数增加($P < 0.01$)。中剂量组大鼠右心室肥厚指数比空白对照组增加($P < 0.05$),说明野百合碱和异丙肾上腺素能对大鼠产生肺动脉高压,导致心气虚弱。

致谢:贵州医科大学机能实验室提供了 BL-420 生物信号采集仪,张金娟老师对本 PE-10 管的自备和大鼠静脉插管的悉心指导,在此一并致以衷心的感谢。

参考文献:

- [1] 袁平, 吴文汇, 刘崇, 等. 改良心导管测定大鼠肺血管阻力的方法 [J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39(10): 901-904.
- [2] Abe K, Shimokawa H, Morikawa K, et al. Long-term treatment with a Rho-kinase inhibitor improves monocrotaline-induced fatal pulmonary hypertension in rats [J]. Circ Res, 2004, 94(3): 385-393.
- [3] Bos R, Mougnot N, Findji L, et al. Inhibition of catecholamine-induced cardiac fibrosis by an aldosterone antagonist [J]. Cardiovasc Pharmacol, 2005, 45(1): 8-13.
- [4] Boor PJ, Gotlieb AI, Joseph EC, et al. Chemical-induced vasculature injury [J]. Toxicol Applied Pharmacol, 1995, 132(2): 177-195.
- [5] 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.

[修回日期]2016-05-09