

# 龙胆苦苷对压力负荷致小鼠心肌肥厚的保护作用

王戈, 王宁, 易蔚, 刘宝辉, 张羽, 陈文豪, 赵达君, 易定华

(第四军医大学附属西京医院心血管外科, 陕西省西安市 710032)

[关键词] 龙胆苦苷; 压力负荷; 主动脉弓缩窄术; 心肌肥厚

[摘要] **目的** 观察龙胆苦苷(GPS)对主动脉弓缩窄术诱导的 C57BL 小鼠心肌肥厚是否有预防作用。**方法** 40 只雄性 C57BL 小鼠随机分成假手术组( $n=8$ )和心肌肥厚模型组( $n=32$ ), 心肌肥厚模型组通过主动脉弓缩窄术建立心肌肥厚模型。术后 24 h 随机分成心肌肥厚模型组和龙胆苦苷低[2.5 mg/(kg·d)]、中[5.0 mg/(kg·d)]、高[10.0 mg/(kg·d)]剂量组, 分别给予生理盐水和不同剂量的龙胆苦苷处理 4 周。4 周后进行心脏超声检查, 并测量心脏重量/体重(HW/BW)、心脏重量/胫骨长度(HW/TL)、左心室舒张期末内径(LVEDD)、左心室收缩期末内径(LVESD)、左心室射血分数(LVEF)和短轴缩短率(FS)。PCR 技术检测心肌组织中心房钠尿肽(ANP)、脑钠尿肽(BNP)、 $\beta$ 肌球蛋白重链( $\beta$ -MHC)表达的水平, 并行病理学检查。**结果** 与心肌肥厚模型组相比, 龙胆苦苷[当剂量达到 10.0 mg/(kg·d)]干预 4 周后, LVEDD 较之下降 24.9%, LVESD 较之下降 26.3%; LVEF 较之升高 49.5%, FS 较之升高 62.6%, 差异均有统计学意义。初步证实龙胆苦苷能够显著降低心肌肥厚参数(心脏重量/体重)( $P<0.01$ ), 显著降低心肌细胞平均横截面积( $P<0.01$ )。与心肌肥厚模型组相比, 龙胆苦苷组 ANP、BNP 和  $\beta$ -MHC 的表达水平显著降低( $P<0.05$ )。**结论** 龙胆苦苷对压力超负荷等诱导的心肌肥厚有保护作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Protective Effects of Gentiopicroside on Rat Pressure-overload Induced Myocardial Hypertrophy

WANG Ge, WANG Ning, YI Wei, LIU Bao-Hui, ZHANG Yu, CHEN Wen-Hao, ZHAO Da-Jun, and YI Ding-Hua

(Department of Cardiovascular Surgery, Xijing Hospital Affiliated to Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China)

[KEY WORDS] Gentiopicroside; Pressure Overload; Transverse Aortic Constriction; Myocardial Hypertrophy

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the protective effect of pretreatment with Gentiopicroside on transverse aortic constriction (TAC)-induced myocardial hypertrophy. **Methods** 40 male C57BL mice were randomly divided into two groups: sham group( $n=6$ ) and myocardial hypertrophy model group( $n=32$ ). Mice in myocardial hypertrophy group were operated transverse aortic constriction. 24 h later, the mice in myocardial hypertrophy group were randomly divided into 4 groups: myocardial hypertrophy model group, Gentiopicroside high, middle and low dose group, which were given physiological saline and different doses of Gentiopicroside for 4 weeks. Echocardiogram was performed to assess the cardiac function changes. Heart weight to body weight ratio(HW/BW), heart weight/tibial length(HW/TL), left ventricular end-diastolic diameter(LVEDD), left ventricular end-systolic diameter(LVESD), left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (FS) were measured. The expression levels of atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), and  $\beta$ -myosin heavy chain ( $\beta$ -MHC) in heart tissues and the size of cardiomyocytes were also observed. **Results** Compared with myocardial hypertrophy model group, the LVEDD decreased 24.9% in Gentiopicroside group(especially dose up to 10.0 mg/(kg·d), the LVESD decreased 26.3%; while the LVEF increased 49.5%, the FS increased 62.6%, respectively( $P<0.01$ ). The HW/BW and the cardiac myocyte cross-sectional area showed a decrease in Gentiopicroside group compared with myocardial hypertrophy model group( $P<0.01$ ), while still increased significantly compared with the normal control group. The expression of ANP, BNP and  $\beta$ -MHC in Gentiopicro-

[收稿日期] 2014-02-15

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81100137,81200151)

[作者简介] 王戈, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向为心肌保护, E-mail 为 sdcocowangning@163.com。通讯作者易定华, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为微创心脏外科, E-mail 为 573116671@qq.com。

side group were lower than those in myocardial hypertrophy model group ( $P < 0.05$ ).

intervene the progress of pressure overload-induced myocardial hypertrophy in C57BL mice.

**Conclusion** Gentiopicroside can

心肌肥厚主要发生在心脏长期压力负荷过重的情况下,心肌总量增加,收缩力加强,使心脏得以维持正常的血循环,产生缓慢的代偿功能。由于肥大的心肌需氧增加,而冠状动脉的供血量不能予以满足时造成心肌缺血,最终将导致心肌收缩力的减退<sup>[1]</sup>。因此,持久的心肌肥厚是许多心血管疾病共有的病理过程,也是心力衰竭和心源性猝死等心血管事件的独立危险因素。虽然临床上已采取了多种治疗策略,但心肌肥厚导致的心衰发病率和病死率仍不断上升<sup>[2]</sup>。龙胆苦苷(Gentiopicroside, GPS)为龙胆苦苷类单体成分,是从龙胆科植物干燥根及根茎中提取的一种天然有效分子<sup>[3]</sup>。研究证实,龙胆苦苷具有保肝<sup>[4]</sup>、利胆<sup>[5]</sup>、健胃<sup>[6]</sup>、降血糖<sup>[7]</sup>、抗炎<sup>[8]</sup>及兴奋中枢神经系统<sup>[9]</sup>的作用。但龙胆苦苷对压力负荷性心肌肥厚的作用尚未见研究报道,我们采用主动脉弓缩窄术(transverse aortic constriction, TAC)诱导 C57BL 小鼠建立小鼠心肌肥厚模型,通过超声检测、心脏组织处理和病理学观察和实时定量 PCR 等方法研究龙胆苦苷是否对心肌肥厚具有预防作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

龙胆苦苷(美国 Sigma 公司)、Trizol(G&M Gene Technology 公司)、氯仿(天津市天大化工实验厂)、异丙醇(天津市红岩化学试剂厂)、乙醇(西安市福晨化学试剂有限公司)、反转录试剂盒及 RT-PCR 试剂盒(Takara 公司)、生理盐水(西京医院制剂中心提供)、Vevo2100 型超声仪及 24 MHz 线阵高频探头(Visualsonic 公司)。

### 1.2 动物分组与模型制备

雄性 20 周龄 C57BL 小鼠 40 只,体重  $20 \pm 2$  g, 购买于第四军医大学实验动物中心,随机分为两组:假手术组( $n=8$ )、心肌肥厚模型组( $n=32$ )。心肌肥厚模型组通过主动脉弓缩窄术建立心肌肥厚模型,具体步骤如下:小鼠腹腔注射 10 g/L 戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,脱去胸腹侧的体毛后,于冷光源灯引导下气管插管,连接呼吸机,以 0.2 mL 潮气量、120 次/分的通气频率进行人工呼吸。手术野消毒,沿左侧胸骨第 2 肋间剪开皮肤,钝性分离肌层进入胸腔,暴露主动脉弓段。在头臂干和左颈总动

脉间,以 27G 针头垫扎,用 7 号丝线在此段对主动脉进行缩窄。结扎确实后,抽出垫扎针,依次关闭胸腔、肌层和皮肤。待小鼠自主呼吸恢复后,拔出气管插管,并腹腔注射生理盐水 1 mL 以补充体液损失。将切口消毒后,装笼常规饲养。假手术组除不行主动脉弓结扎外,其他手术过程同心肌肥厚模型组一样。术后 24 h 给予药物处理,心肌肥厚模型组 32 只小鼠根据临床用药及用量不同分为心肌肥厚模型组( $n=8$ )及龙胆苦苷低剂量组[2.5 mg/(kg·d)]、中剂量组[5.0 mg/(kg·d)]和高剂量组[10.0 mg/(kg·d)]。假手术组与心肌肥厚模型组给予腹腔注射生理盐水 30 mL/(kg·d),平均治疗 4 周,在治疗 4 周末进行一次二维超声心动图检测,然后处死小鼠并取左心室进行 4% 甲醛固定,取其心尖部 -80℃ 冰箱保存并用于测其心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠尿肽(brain natriuretic peptide, BNP)、 $\beta$  肌球蛋白重链( $\beta$ -myosin heavy chain,  $\beta$ -MHC)的含量。

### 1.3 心脏超声检查

应用小动物超声仪及高频探头行经胸心脏超声检查(M 模式)。将小鼠吸入麻醉,保持自主呼吸,于胸骨旁乳头肌水平短轴切面,采集左心室二维图像,同时获得二维引导下 10 个心动周期的 M 型超声心动图记录并测量心率(HR)。超声测量左心室舒张期末内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左心室收缩期末内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, FS)。LVEF (%) = {[左心室舒张期末容积(EDV) - 左心室收缩期末容积(ESV)]/EDV} × 100%。FS (%) = [(LVEDD - LVESD)/LVEDD] × 100%。

### 1.4 心脏重量/体重及心脏重量/胫骨长度的测量

龙胆苦苷处理 4 周之后,称取小鼠体重(BW),断颈处死小鼠并开胸游离心脏,用 PBS 冲洗干净残留血液,滤纸吸干,称取心脏重量(HW),计算心脏重量/体重比值。去小鼠的右下肢,浸入到 1% 浓度的氢氧化钠(NaOH)24 h,用游标卡尺测量其胫骨长度(TL),计算心脏重量/胫骨长度比值。

### 1.5 心脏组织处理及病理学观察

剪去心尖处组织约 20 mg 与 -80℃ 冻存留做提取 RNA。各组小鼠心脏的剩余标本沿左心室冠状

面中部切取环状心肌组织块,经 4% 甲醛固定后石蜡包埋,间距 4 μm 切片(厚度 4 μm),进行常规 HE 染色,光镜下观察心肌的病理改变,并计算单位面积下的心肌细胞数目。

1.6 心肌组织 RNA 的提取、实时定量 PCR 实验

冻存的心肌组织 20 mg,冰上匀浆(10 cm 直径的培养皿中加入 500 μL Trizol),室温静置 5 min。加入 100 μL(20% Trizol 的体积)氯仿震荡 30 s,于室温静置 3 min,以 10000 g 离心 10 min。取上清,加入 250 μL 异丙醇室温静置 10 min,于 4℃ 以 9000 g 离心 10 min。弃上清,加入 50 μL 75% 乙醇后,于 4℃ 以 10000 g 离心 5 min。弃上清,于冰上控干后,加入 30 μL RNase-free 水溶解。提取的 mRNA 通过核酸分析系统 DU800 检测 RNA 浓度和纯度。根据 cDNA 合成的逆转录试剂盒说明进行逆转录聚合酶链反应,cDNA 的合成 20 μL(Takara 公司)反应体系。检测目的基因与内参基因(GAPDH)在样本中的扩增情况,反应条件为 95℃30 s,95℃10 s,55℃30 s,共 40 个循环。从 55℃ 到 95℃ 每上升 0.5℃ 取一次荧光值,最后生成溶解曲线。所有样本均重复 3 次,计算出 CT 值,各基因 mRNA 相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$ (目标组  $\Delta CT$  值 = 目标基因组 CT 值 - 内参基因 CT 值; $2^{-\Delta\Delta CT} = 2^{-(\text{目标组 } \Delta CT \text{ 值} - \text{内参组 } \Delta CT \text{ 值})}$ ) 进行计算<sup>[10]</sup>。Real-Time PCR 引物由上海生工生物公司设计合成,以 GAPDH 为内参照,上游 5'-TCTCCT-GCGACTTCAACA-3',下游 5'-TGGTCCAGGGTTTCT-TACT-3',产物长度 178 bp;ANP 上游 5'-AGGATTG-GAGCCCAGAGTGGACTAGG-3',下游 5'-TGAT-AGATGAAGGCAGGAAGCCGC-3',产物长度 592 bp;BNP 上游 5'-ATGGATCTCTGAAGGTGCTG-3',下游 5'-GTGCTGCCTTGAGACCGAA-3',产物长度 436 bp;

$\beta$ -MHC 上游 5'-GCCAACACCAACCTGTCCAAGG-3',下游 5'-TGCAAAGGCTCCAGGTCTGAGGGC-3',产物长度 769 bp。

1.7 统计学处理方法

计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 统计软件进行数据处理。计量资料多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-t 检验;计数资料采用  $\chi^2$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物的一般情况及模型建立

小鼠在主动脉弓缩窄术之后,出现一定程度的呼吸短促、喘鸣甚至点头样呼吸,并伴有毛发脱落、光泽减退,进食及活动量降低。模型制备 4 周后假手术组和主动脉弓缩窄术诱导的心肌肥厚模型组随机各处死 1 只取心脏观察,与假手术组比较,心肌肥厚模型组心脏明显增大,重量增加。进行小鼠心动超声观察,与假手术组比较,心肌肥厚模型组 LVEDD 和 LVESD 变化幅度明显变小(图 1)。与假手术组相比,心肌肥厚模型组的 LVEF 和 FS 值均显著降低( $P < 0.01$ ;表 1)。表明主动脉弓缩窄术诱导的心肌肥厚模型建立成功。

表 1. 主动脉弓缩窄术后小鼠左心室超声参数的变化( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1. The changes of left ventricle's ultrasonic parameter after transverse aortic constriction( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	LVEF	FS
假手术组	8	67.17% ± 1.95%	35.91% ± 4.09%
心肌肥厚模型组	32	39.92% ± 12.46% <sup>a</sup>	19.58% ± 7.17% <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.01$ ,与假手术组比较。

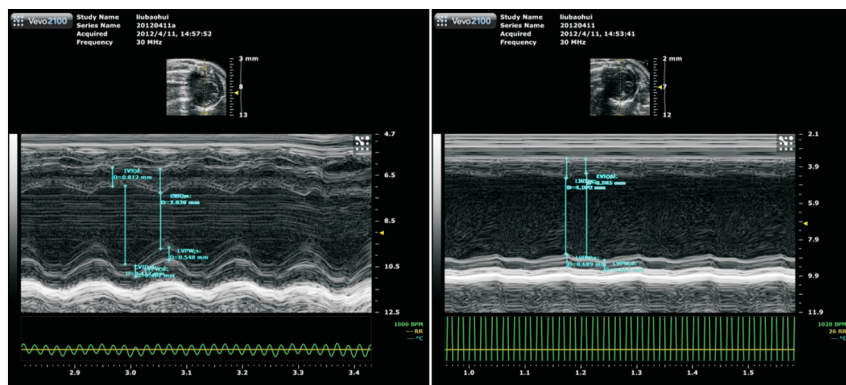


图 1. 主动脉弓缩窄术后 4 周心脏 M 型超声改变 左为假手术组,右为心肌肥厚模型组。  
Figure 1. The changes of heart M-mode ultrasonic four weeks after transverse aortic constriction

## 2.2 心脏超声检测及心功能参数测定

在龙胆苦苷干预4周后,与心肌肥厚模型组比较,龙胆苦苷中剂量组和高剂量组的LVEDD和LVESD变化幅度明显增加(图2)。与心肌肥厚模型组比较,龙胆苦苷高剂量组LVEF值和FS值显著

提高( $P < 0.01$ ),LVEF值升高49.5%,FS值升高62.6%;与心肌肥厚模型组相比,龙胆苦苷低、中剂量组LVEF值和FS值均显著增高( $P < 0.05$ ),且龙胆苦苷的剂量与小鼠心功能指标之间存在一定的剂量-效应关系(表2)。

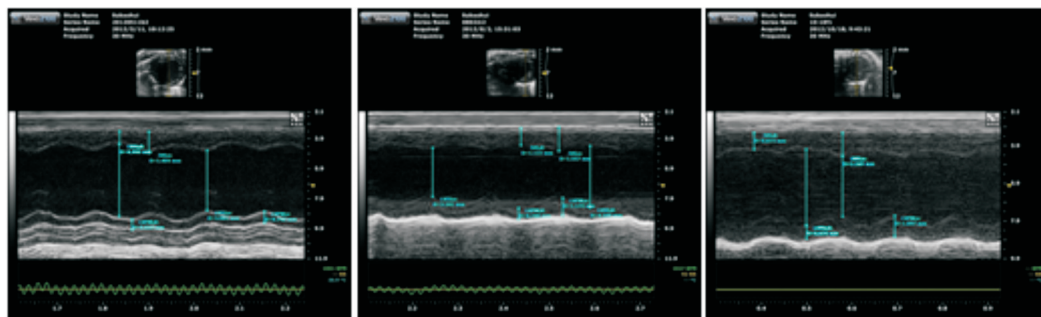


图2. 药物干预4周后各组小鼠M型超声 从左到右依次为龙胆苦苷低、中、高剂量组。

Figure 2. The M-mode ultrasonic of each group four weeks after medical intervention

表2. 药物干预4周后各组小鼠左心室超声参数( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2. The ultrasonic parameter of left ventricle four weeks after medical intervention( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

分 组	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEF	FS
假手术组	3.13 ± 0.37	1.90 ± 0.25	67.17% ± 1.95%	35.91% ± 4.09%
心肌肥厚模型组	4.20 ± 0.31 <sup>b</sup>	3.55 ± 0.45 <sup>b</sup>	39.92% ± 12.46% <sup>b</sup>	19.58% ± 7.17% <sup>b</sup>
龙胆苦苷低剂量组	3.68 ± 0.08 <sup>ac</sup>	3.02 ± 0.10 <sup>bc</sup>	50.80% ± 3.63% <sup>bc</sup>	22.50% ± 2.03% <sup>bc</sup>
龙胆苦苷中剂量组	3.62 ± 0.18 <sup>ad</sup>	2.74 ± 0.06 <sup>bc</sup>	55.70% ± 1.79% <sup>bd</sup>	27.30% ± 1.54% <sup>b</sup>
龙胆苦苷高剂量组	3.74 ± 0.32 <sup>bc</sup>	2.63 ± 0.30 <sup>bd</sup>	57.59% ± 3.14% <sup>bd</sup>	29.71% ± 3.61% <sup>bd</sup>

a为 $P < 0.05$ , b为 $P < 0.01$ ,与假手术组比较;c为 $P < 0.05$ , d为 $P < 0.01$ ,与心肌肥厚模型组比较。

## 2.3 心脏重量/体重及心脏重量/胫骨长度比值

与假手术组比较,心肌肥厚模型组的心脏重量/体重及心脏重量/胫骨长度的比值差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。与心肌肥厚模型组比较,龙胆苦

苷中剂量组和高剂量组的心脏重量/体重及心脏重量/胫骨长度比值均显著降低( $P < 0.05$ ),且心脏重量/体重及心脏重量/胫骨长度比值(心肌肥厚参数)随龙胆苦苷剂量增加而降低(图3)。

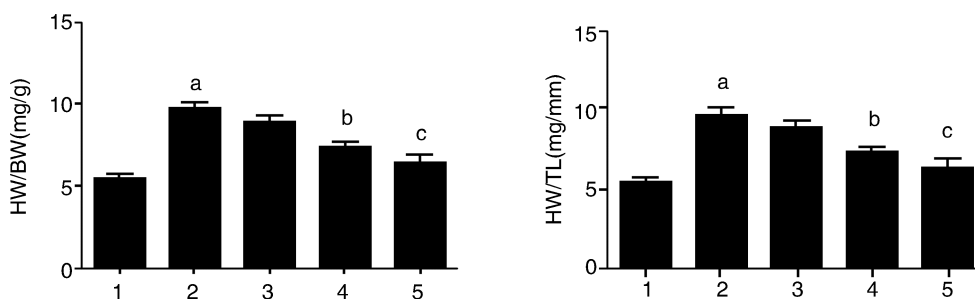


图3. 龙胆苦苷干预4周后心脏重量/体重及心脏重量/胫骨长度比值( $n = 8$ ) 1为假手术组,2为心肌肥厚模型组,3为龙胆苦苷低剂量组,4为龙胆苦苷中剂量组,5为龙胆苦苷高剂量组。a为 $P < 0.001$ ,与假手术组比较;b为 $P < 0.05$ ,c为 $P < 0.01$ ,与心肌肥厚模型组比较。

Figure 3. The HW/BW and HW/TL after four weeks of GPS intervention( $n = 8$ )

## 2.4 病理组织学观察

与假手术组相比,心肌肥厚模型组 HE 染色病理切片见其小血管壁增厚,心肌细胞肥大,肌纤维排列紊乱,间质纤维组织增生伴有炎症细胞浸润,甚至出现心肌细胞坏死。而龙胆苦苷中剂量组和高剂量组其组织改变程度与心肌肥厚模型组相比较小(图 4)。在 40 倍光学显微镜下观察心肌组织的组织形态学改

变并随机收集 10 个视野下心肌组织的横截图片,并对其心肌细胞的横截面积进行统计学分析,结果显示,与假手术组相比,心肌肥厚模型组心肌细胞横截面积显著增加( $P < 0.001$ )。与心肌肥厚模型组相比,龙胆苦苷中剂量组和高剂量组的心肌细胞横截面积均显著减小( $P < 0.05$ ),且心肌细胞横截面积随龙胆苦苷剂量增加而减小(图 5)。

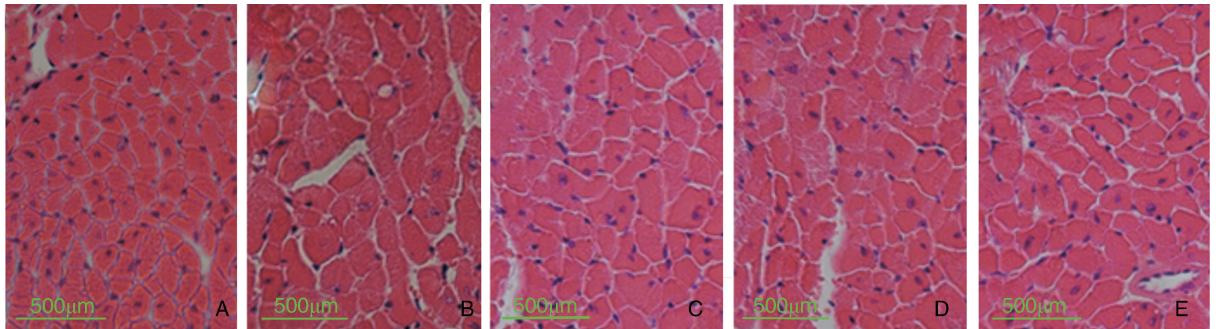


图 4. HE 染色观察龙胆苦苷干预 4 周后小鼠心肌组织的变化( $\times 40, n = 8$ ) A 为假手术组, B 为心肌肥厚模型组, C 为龙胆苦苷低剂量组, D 为龙胆苦苷中剂量组, E 为龙胆苦苷高剂量组。

Figure 4. The changes of cardiac muscle tissue four weeks after GPS intervention observed by HE-staining( $\times 40, n = 8$ )

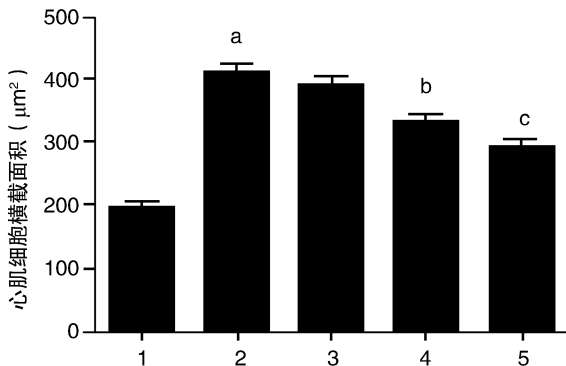


图 5. 龙胆苦苷干预 4 周后小鼠心肌细胞横截面积改变( $n = 8$ ) 1 为假手术组, 2 为心肌肥厚模型组, 3 为龙胆苦苷低剂量组, 4 为龙胆苦苷中剂量组, 5 为龙胆苦苷高剂量组。a 为  $P < 0.001$ , 与假手术组比较; b 为  $P < 0.05$ , c 为  $P < 0.01$ , 与心肌肥厚模型组比较。

Figure 5. The changes of myocardial cells cross sectional area four weeks after GPS intervention( $n = 8$ )

## 2.5 心力衰竭相关标志基因的相对表达量

实时定量 PCR 测定 CT 值后经过  $2^{-\Delta\Delta CT}$  换化后,以心肌肥厚模型组为参照,结果表明,与心肌肥厚模型组相比,龙胆苦苷中剂量组和高剂量组 ANP、BNP、 $\beta$ -MHC 的 mRNA 表达均显著降低( $P < 0.01$ )。与龙胆苦苷低剂量组相比,龙胆苦苷中剂量组和高剂量组 ANP、BNP 显著降低( $P < 0.05$ )。提示用龙胆苦苷处理主动脉弓缩窄术诱导的心肌肥厚小鼠其心肌肥厚相关基因的表达量随龙胆苦苷剂量的增加而降低(表 3)。

## 3 讨论

心肌肥厚的发生发展病理生理机制复杂,涉及诸多信号通路。目前研究比较深入的信号通路主要

表 3. 心力衰竭相关标志基因的相对表达量( $n = 8$ )

Table 3. The relative expression level of cardiac failure related genes( $n = 8$ )

基因	心肌肥厚模型组	龙胆苦苷低剂量组	龙胆苦苷中剂量组	龙胆苦苷高剂量组
ANP	1 $\pm$ 0	0.887 $\pm$ 0.043	0.756 $\pm$ 0.011 <sup>bc</sup>	0.471 $\pm$ 0.022 <sup>bd</sup>
BNP	1 $\pm$ 0	0.802 $\pm$ 0.071	0.654 $\pm$ 0.039 <sup>bc</sup>	0.560 $\pm$ 0.033 <sup>bd</sup>
$\beta$ -MHC	1 $\pm$ 0	0.931 $\pm$ 0.046	0.852 $\pm$ 0.030 <sup>a</sup>	0.720 $\pm$ 0.025 <sup>bd</sup>

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与心肌肥厚模型组比较; c 为  $P < 0.05$ , d 为  $P < 0.01$ , 与龙胆苦苷低剂量组比较。

有:蛋白激酶 C(PKC)途径、Jak 信号转导子和转录激活因子(Jak-STAT)途径、钙/钙调素依赖性蛋白激酶(CaMK)及钙调神经磷酸酶(CaN)途径、低分子量 GTPases 途径、有丝分裂原激活的蛋白激酶(MAPK)途径及 miRNA 信号通路等<sup>[10-12]</sup>。长期压力和(或)容积负荷过度、机械性刺激和神经体液因素可通过激活相关细胞内信号分子,各种分子信号的级联放大作用调节肥厚相关基因的表达,最终促进心肌细胞的肥大。

由于上述原因,构建心肌肥厚实验动物模型的方法种类繁多,其中由药物注射(如血管紧张素Ⅱ、去甲肾上腺素、异丙肾上腺素)诱导心肌肥厚建立模型应用较多。此类方法虽建模相对容易,但在其基础上再施加药物干预性治疗,很难排除被研究药物与造模药物之间的相互作用,而且不能持续存在损伤因素<sup>[13]</sup>,具有一定的局限性。另外,在临床上心肌肥厚多为高血压、瓣膜病等机械原因导致,与神经体液因素致心肌肥厚存在一定的差异<sup>[14]</sup>,所以通过手术建立压力过负荷诱导的心肌肥厚模型更符合临床发病机制,且在其基础上进行药物干预研究可以排除药物之间的相互影响作用。主动脉弓缩窄术致心肌肥厚模型是通过增加动物心脏的压力负荷而产生明显的左心室肥厚,左心室舒张功能减退<sup>[15]</sup>,循环中增加血管加压素和心房钠尿肽,但不激活肾素血管紧张素系统,也没有左心室收缩功能不全,从而很好地模拟了左心室肥厚演变为心衰时的心肌力学特性、病理变化以及心肌肥厚的分子机制。该模型的优点在于模型成功率高,时间短,一般在手术后4周左右就会出现心室肥厚的高峰,在8周左右就会转变为离心性肥厚。

心脏超声检查作为心功能检测的临床首选指标之一,能够直观、便捷地观测心脏的病理生理变化,提供心脏功能参数,定位病变部位。LVEF值、FS值是心脏超声检查中能够很好反映心室形态及功能的参数。在本研究中,我们发现经过连续4周的龙胆苦苷干预,并在药物干预4周末进行心脏超声检查以观察龙胆苦苷干预过程中心脏功能的动态变化。主动脉缩窄术诱导的心力衰竭小鼠,心脏超声功能参数较心肌肥厚模型组EF值及FS值逐步回升,且在干预4周后显著( $P < 0.05$ )。为验证龙胆苦苷这一效果,我们使用了低、中、高三种浓度梯度的剂量进行干预性腹腔注射。心脏超声及其他心衰指标检测(如心脏/体重比值、心肌细胞平均横截面积以及心力衰竭相关标志性基因的表达量)结果发现,在主动脉缩窄术诱导的心力衰竭小鼠进

行干预性注射龙胆苦苷后,可以观测到小鼠心脏超声心功能及各项心力衰竭指标均有不同程度的改善,与心肌肥厚模型组比较,三种剂量的龙胆苦苷组均有心力衰竭程度减轻,且存在一定的剂量-效应关系趋势。当龙胆苦苷剂量达到10 mg/(kg·d),持续4周时,其改善心肌肥厚的程度有显著性差异( $P < 0.05$ )。传统中药龙胆苦苷是从龙胆科植物干燥根及根茎中提取的一种有效成分,分子式为 $C_{16}H_{20}O_9$ ,龙胆苦苷有增强机体免疫功能、延缓细胞衰老、保肝、利尿、抗水肿、降压等多种生物学效应,被广泛应用于治疗多种疾病,包括肾脏损伤、帕金森病和糖尿病肾病等<sup>[16-18]</sup>。许多研究报道龙胆苦苷发挥多种功效是通过以浓度依赖方式抑制氧化应激产生,消除炎症和抑制细胞质基质化合物的磷酸化和易位来实现。而其在心脏保护方面的作用最近才发现,在心肌肥厚的作用机制有待研究。

如上所述,在主动脉缩窄术诱导的心力衰竭小鼠模型中,龙胆苦苷对肥厚的心肌功能有保护甚至治疗作用。且龙胆苦苷基本上都可以溶解在酒精和水中,更容易被患者接受,这为临床上预防与治疗心肌肥厚提供了新的思路。

#### [参考文献]

- [1] Jia Z, Xue R, Liu G, et al. HMGB1 is involved in the protective effect of the PPAR $\alpha$  agonist fenofibrate against cardiac hypertrophy [J]. PPAR Res, 2014, 2014: 541-594.
- [2] Miyoshi T, Nakamura K, Yoshida M, et al. Effect of vildagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, on cardiac hypertrophy induced by chronic beta-adrenergic stimulation in rats[J]. Cardiovasc Diabetol, 2014, 13: 43.
- [3] Han H, Xiong AZ, He CY, et al. Combination of UHPLC/Q-TOF-MS, NMR spectroscopy, and ECD calculation for screening and identification of reactive metabolites of gentiopicroside in humans[J]. Anal Bioanal Chem, 2014, 406(6): 1781-793.
- [4] Deng Y, Wang L, Yang Y, et al. In vitro inhibition and induction of human liver cytochrome P450 enzymes by gentiopicroside: potent effect on CYP2A6 [J]. Drug Metab Pharmacokinet, 2013, 28(4): 339-344.
- [5] Wang Z, Wang S, Sun Y, et al. New analytical method for the study of the metabolism of gentiopicroside in rats after oral administration by LC-TOF-MS following picolinoyl derivatization[J]. J Sep Sci, 2014, 37(3): 237-243.
- [6] Lian LH, Wu YL, Wan Y, et al. Anti-apoptotic activity of gentiopicroside in D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced murine fulminant hepatic failure[J]. Chem Biol In-

- teract, 2010, 188(1): 127-133.
- [7] Rojas A, Bah M, Rojas JI, et al. Smooth muscle relaxing activity of gentiopicroside isolated from *Gentiana spathacea* [J]. *Planta Med*, 2000, 66(8): 765-767.
- [8] Chen L, Liu JC, Zhang XN, et al. Down-regulation of NR2B receptors partially contributes to analgesic effects of Gentiopicroside in persistent inflammatory pain[J]. *Neuropharmacology*, 2008, 54(8): 1 175-181.
- [9] Liu SB, Ma L, Guo HJ, et al. Gentiopicroside attenuates morphine rewarding effect through downregulation of GluN2B receptors in nucleus accumbens[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18(8): 652-658.
- [10] Laaksonen MS, Heinonen I, Luotolahti M, et al. VO (2peak), myocardial hypertrophy, and myocardial blood flow in endurance-trained men[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2014, 46(8): 1 498-505.
- [11] Li MH, Zhang YJ, Yu YH, et al. Berberine improves pressure overload-induced cardiac hypertrophy and dysfunction through enhanced autophagy[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 728: 67-76.
- [12] Hu WS, Ho TJ, Pai P, et al. Gelsolin (GSN) induces cardiomyocyte hypertrophy and BNP expression via p38 signaling and GATA-4 transcriptional factor activation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 390(1-2): 263-270.
- [13] Qi J, Tian S, Zhang Z, et al. Choline prevents cardiac hypertrophy by inhibiting protein kinase C- $\delta$  dependent transient receptor potential canonical 6 channel[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 172(3): e525-526. .
- [14] Jia LL, Kang YM, Wang FX, et al. Exercise training attenuates hypertension and cardiac hypertrophy by modulating neurotransmitters and cytokines in hypothalamic paraventricular nucleus [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85 481.
- [15] Morais C, Small DM, Vesey DA, et al. Fibronectin and transforming growth factor beta contribute to erythropoietin resistance and maladaptive cardiac hypertrophy[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444(3): 332-327.
- [16] Zeng W, Han H, Tao Y, et al. Identification of bio-active metabolites of gentiopicroside by UPLC/Q-TOF MS and NMR [J]. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27(9): 1 129-136.
- [17] Senol FS, Tuzun CY, Toker G, et al. An in vitro perspective to cholinesterase inhibitory and antioxidant activity of five *Gentiana* species and *Gentianella caucasea*[J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2012, 63(7): 802-812.
- [18] Chang-Liao WL, Chien CF, Lin LC, et al. Isolation of gentiopicroside from *Gentianae Radix* and its pharmacokinetics on liver ischemia/reperfusion rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(2): 668-673.

(此文编辑 许雪梅)