

## 基于 PPAR- $\gamma$ 探讨人参皂苷 Rg1 对大鼠心肌缺血再灌注后心律失常的调节作用

韩志龙, 王 静, 王连友, 于林君

(中国人民解放军联勤保障部队第九八八医院心血管内科, 河南省郑州市 450000)

[关键词] 心肌缺血再灌注; 人参皂苷 Rg1; 心律失常; PPAR- $\gamma$ ; 炎症反应

[摘要] **目的** 基于过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )探讨人参皂苷 Rg1 对大鼠心肌缺血再灌注(I/R)后心律失常的调节作用。**方法** 72 只 SD 大鼠随机分为假手术组(SO 组)、缺血再灌注组(I/R 组)、人参皂苷 Rg1 组(Rg1 组)、人参皂苷 Rg1+罗格列酮组(Rg1+ROS 组),后三组采用冠状动脉左前降支结扎的方法建立 I/R 模型;SO 组和 I/R 组给予生理盐水干预,Rg1 组给予 40 mg/kg 人参皂苷 Rg1 干预,Rg1+ROS 组给予 40 mg/kg 人参皂苷及 6 mg/kg 罗格列酮干预。再灌注 6 h 的过程中进行心电图监测,再灌注 6 h 后检测心肌 I/R 面积、心肌酶、炎症细胞因子的含量及核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、NF- $\kappa$ B 抑制因子(I- $\kappa$ B)、PPAR- $\gamma$  的表达水平。**结果** 与 SO 组比较,I/R 组的心律失常明显加剧,心肌 I/R 面积、磷酸肌酸激酶(CK)、磷酸肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素  $1\beta$ (IL- $1\beta$ )、P 选择素、E 选择素含量及 NF- $\kappa$ B、PPAR- $\gamma$  表达水平均明显增加,I- $\kappa$ B 表达水平明显减少。与 I/R 组比较,Rg1 组的心律失常明显改善,心肌 I/R 面积、CK、CK-MB、LDH、TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 、P 选择素、E 选择素含量及 NF- $\kappa$ B、PPAR- $\gamma$  表达水平均明显减少,I- $\kappa$ B 表达水平明显增加。与 Rg1 组比较,Rg1+ROS 组的心律失常明显加剧,心肌 I/R 面积、CK、CK-MB、LDH、TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 、P 选择素、E 选择素含量及 NF- $\kappa$ B、PPAR- $\gamma$  表达水平均明显增加,I- $\kappa$ B 表达水平明显减少( $P$  均 $<0.05$ )。**结论** 人参皂苷 Rg1 通过抑制 PPAR- $\gamma$  介导的炎症反应来改善大鼠心肌 I/R 后心律失常。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Regulatory effect of ginsenoside Rg1 on arrhythmia after myocardial ischemia-reperfusion in rats based on PPAR- $\gamma$

HAN Zhilong, WANG Jing, WANG Lianyou, YU Linjun

(Department of Cardiology, the 988th Hospital of Joint Logistic Support Force, Zhengzhou, Henan 450000, China)

[KEY WORDS] myocardial ischemia reperfusion; ginsenoside Rg1; arrhythmia; PPAR-gamma; inflammatory response

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of ginsenoside Rg1 on arrhythmia after myocardial ischemia reperfusion (I/R) in rats based on peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ). **Methods** 72 SD rats were randomly divided into sham-operated group (SO group), ischemia-reperfusion group (I/R group), ginsenoside Rg1 group (Rg1 group), ginsenoside Rg1 + rosiglitazone group (Rg1 + ROS group). The left anterior descending coronary artery was ligated in the last three groups to establish I/R model. The SO group and I/R group were given saline intervention, the Rg1 group was given 40 mg/kg ginsenoside Rg1 intervention, and the Rg1 + ROS group was given 40 mg/kg ginsenoside Rg1 + 6 mg/kg ROS intervention. ECG was monitored during 6 hours of reperfusion. Myocardial I/R area, myocardial enzymes, inflammatory cytokines and expressions of nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), inhibitor of NF- $\kappa$ B and PPAR- $\gamma$  were detected after 6 hours of reperfusion. **Results** Compared with SO group, arrhythmia in I/R group significantly aggravated, myocardial I/R area, the contents of creatine phosphate kinase (CK), creatine phosphate kinase isoenzyme (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), P-selectin, E-selectin and the expression of NF- $\kappa$ B, PPAR- $\gamma$  significantly increased, while the expression of I- $\kappa$ B expression significantly

[收稿日期] 2019-01-10

[修回日期] 2019-04-09

[作者简介] 韩志龙,主治医师,研究方向为心力衰竭、心律失常,E-mail 为 93767339@qq.com。通信作者于林君,博士,副主任医师,研究方向为心血管疾病,E-mail 为 lemonlilyx@163.com。

decreased. Compared with I/R group, arrhythmia in Rg1 group significantly improved, the contents of myocardial I/R area, CK, CK-MB, LDH, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , P-selectin, E-selectin and the expression of NF- $\kappa$ B, PPAR- $\gamma$  significantly decreased, while the expression of I- $\kappa$ B expression significantly increased; Compared with Rg1 group, the arrhythmia of Rg1+ROS group significantly aggravated, the contents of myocardial I/R area, CK, CK-MB, LDH, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , P-selectin, E-selectin and the expression of NF- $\kappa$ B, PPAR- $\gamma$  significantly increased, while the expression of I- $\kappa$ B expression significantly decreased. **Conclusion** Ginsenoside Rg1 can improve myocardial arrhythmia after I/R by inhibiting PPAR- $\gamma$ -mediated inflammation.

急性心肌梗死是临床上常见的心血管疾病之一,冠状动脉内血栓形成、管腔闭塞会引起血流中断、心肌发生缺血缺氧损害。在临床实践中,及时进行经皮冠状动脉介入治疗能够尽早恢复缺血心肌的血流灌注、减轻缺血缺氧所造成的心肌损害。但是,缺血心肌在经历血流再灌注的过程中会出现损伤加剧的情况,一方面直接加重心肌细胞损伤、另一方面也增加心律失常发生风险,心肌缺血再灌注(ischemia reperfusion, I/R)后心律失常是影响急性心肌梗死患者再灌注治疗效果、增加心源性猝死发生率的重要原因<sup>[1-2]</sup>。因此,预防心律失常的发生对改善急性心肌梗死的治疗结局具有重要意义。

人参皂苷 Rg1 是人参、三七等中药材中的活性成分,具有抗氧化、抗凋亡、抗炎等生物学作用,能够在心血管系统中发挥保护作用。动物实验研究发现,人参皂苷 Rg1 能够减轻大鼠心肌 I/R 的损伤程度、降低心肌 I/R 后心律失常的发生率<sup>[3-5]</sup>,但 Rg1 发挥上述保护作用的分子机制并未完全阐明。国内陈华等<sup>[6]</sup>关于心肌 I/R 后心律失常发生机制的研究认为,过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , PPAR- $\gamma$ ) 的过度激活与心肌 I/R 后心律失常的发生密切相关,基于此,本文对 PPAR- $\gamma$  在人参皂苷 Rg1 调节大鼠心肌 I/R 后心律失常中的作用进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物、试剂和仪器

SPF 级雄性 SD 大鼠、体质量 250 ~ 280 g、10 ~ 12 周龄,共 72 只,购自上海西普尔-必凯实验动物公司,许可证号 SCXK(沪)2018-0006。

人参皂苷 Rg1、PPAR- $\gamma$  激动剂罗格列酮均购自 Sigma 公司,电化学发光试剂盒购自南京建成研究所,酶联免疫吸附试剂盒购自上海西唐公司,超纯 RNA 提取试剂盒、SuperRTcDNA 第一链合成试剂盒、UltraSYBR Mixture 试剂、核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、NF- $\kappa$ B 抑制因子(inhibitor of NF-

$\kappa$ B, I- $\kappa$ B) 及 PPAR- $\gamma$  的第一抗体均购自 Abcam 公司, ECL 显影系统购自上海碧云天公司。小动物心电图仪购自成都泰盟科技公司, 荧光定量 PCR 仪、蛋白显影仪均购自 Bio-rad 公司。

### 1.2 动物分组及干预

实验动物随机分为假手术组(SO 组)、缺血再灌注组(I/R 组)、人参皂苷 Rg1 组(Rg1 组)、人参皂苷 Rg1+罗格列酮组(Rg1+ROS 组), 每组各 18 只。后 3 组采用冠状动脉左前降支结扎的方法建立 I/R 模型, 具体如下: 腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉后进行气管插管, 连接小动物呼吸机, 呼吸频率 65 次/分; 在左胸壁、第二肋间隙做切口, 暴露心脏后剪开心包膜, 在左心耳下缘 1 ~ 2 mm 处穿入 6-0 缝线、在肺动脉圆锥右上方垫海绵条, 缝线结扎后直视下可见相应区域心肌变为苍白色, 缺血 30 min 后拔出海绵条、再灌注 60 min。SO 组按照相同的方法进行麻醉、开胸及左心耳下缘穿线操作, 但不进行结扎。

4 组大鼠在造模前 2 周开始进行药物干预, Rg1 组给予 40 mg/kg 人参皂苷 Rg1 腹腔注射, 1 次/天; Rg1+ROS 组给予 40 mg/kg 人参皂苷 Rg1 腹腔注射, 1 次/天, 以及 6 mg/kg 罗格列酮腹腔注射, 1 次/天; SO 组及 I/R 组给予等体积生理盐水腹腔注射。均连续给药 14 天。

### 1.3 心律失常的心电图监测

再灌注过程中连续进行心电图监测, 计算 QRS 波宽度, 记录室性早搏次数、室性心动过速次数及室速最长持续时间。

### 1.4 心肌 I/R 面积的检测

完成心电图监测后, 每组中选择 6 只大鼠用于心肌 I/R 面积的检测, 解剖心脏并去除心房和右心室, 在 -20 °C 内冷冻 1 h 后在冠状动脉结扎水平以下将心室切成等厚的 5 片, 置入 0.1% NBT 溶液、37% 水浴中震荡染色 10 min, 去除后拍照记录图像, 正常心肌呈暗蓝色、I/R 心肌为暗红色, 采用 Image 软件计算 I/R 心肌面积占完整心肌面积的百分比。

### 1.5 心肌酶及炎症细胞因子的检测

完成心电图监测后, 每组剩余的 12 只大鼠经心

尖用注射器采集血液标本 5 mL, 室温静置 20 ~ 30 min 后自然凝血, 4 ℃ 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清备用; 另取 I/R 心肌组织, 加入磷酸盐缓冲液后超声匀浆, 匀浆液在 4 ℃ 离心机中以 12 000 r/min 速度离心 10 min, 分离上清备用。取血清及上清适量, 采用电化学发光试剂盒检测磷酸肌酸激酶 (creatinine phosphate kinase, CK)、磷酸肌酸激酶同工酶 (creatinine phosphate kinase isoenzyme, CK-MB)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 的含量, 采用酶联免疫吸附试剂盒检测肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、P 选择素 (P-selectin)、E 选择素 (E-selectin) 的含量。

## 1.6 NF- $\kappa$ B 及 PPAR- $\gamma$ 的检测

### 1.6.1 NF- $\kappa$ B 及 PPAR- $\gamma$ 的 mRNA 表达

处死大鼠后取 I/R 心肌组织, 采用超纯 RNA 提取试剂盒分离提取组织中的总 RNA, 采用 SuperRTcDNA 第一链合成试剂盒将组织中的总 RNA 反转录为 cDNA, 采用 UltraSYBR Mixture 试剂对 cDNA 中的 NF- $\kappa$ B 及 PPAR- $\gamma$  进行荧光定量 PCR 扩增, NF- $\kappa$ B 的引物序列为上游: 5'-ACG AGC GCA TGC TAG CTA GC-3'、下游: 5'-ATA GCA TAT GCT AGC TCG T-3'; I- $\kappa$ B 的引物序列为上游: 5'-ATG CTA GCT AGC TAG CTA AC-3'、下游: 5'-TAT CGT ACG GTC AGC TAT C-3'; PPAR- $\gamma$  的引物序列为上游: 5'-AAC GTA CGT ACG ATC GTA A-3'、下游: 5'-GCG ATC GTA CGT ATT AGC TA-3'。根据 PCR 反应曲线的循环阈值计算基因的 mRNA 表达水平。

### 1.6.2 NF- $\kappa$ B 及 PPAR- $\gamma$ 蛋白的检测

处死大鼠后取 I/R 心肌组织, 加入蛋白裂解液后超声匀浆, 提取组织中的总蛋白, 蛋白样本高温变性后加入聚丙烯酰胺分离凝胶中, 电泳分离蛋白后电转移至硝酸纤维素 (NC) 膜, 而后将 NC 膜放入 5% 脱脂牛奶中封闭 2 h, 取出后加入 NF- $\kappa$ B 及 PPAR- $\gamma$  的第一抗体, 4 ℃ 孵育过夜; 第二天, TBST 洗膜后室温孵育第二抗体 1 h; 最后用 ECL 显影系统显影得到蛋白条带, 根据目标基因蛋白条带光密度值与看家基因  $\beta$ -actin 蛋白条带光密度值的比值计算蛋白表达水平。

## 1.7 统计学方法

采用 SPSS21.0 软件录入数据, 计量资料以均数  $\pm$  标准差表示, 组间比较采用单因素方差分析并用 LSD 法检验进行两两比较。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠心电图指标的变化

经方差分析, 多组间 QRS 波宽度、室性早搏次数、室性心动过速次数、室速最长持续时间差异均有统计学意义 (P < 0.05)。经 LSD 法两两比较: 与 SO 组大鼠比较, I/R 组大鼠心电图的 QRS 波宽度、室性早搏次数、室性心动过速次数均明显增加, 室速最长持续时间明显延长; 与 I/R 组大鼠比较, Rg1 组大鼠心电图的 QRS 波宽度、室性早搏次数、室性心动过速次数均明显减少, 室速最长持续时间明显缩短; 与 Rg1 组比较, Rg1 + ROS 组大鼠心电图的 QRS 波宽度、室性早搏次数、室性心动过速次数均明显增加, 室速最长持续时间明显延长 (P < 0.05, 表 1)。

表 1. 各组大鼠心电图指标的比较 (n = 18)

Table 1. Comparison of electrocardiography indicators in rats of each group (n = 18)

分 组	QRS 波宽度 (ms)	室性早搏 (次)	室性心动 过速 (次)	室速最长 持续时间 (s)
SO 组	23.51 $\pm$ 5.23	1.42 $\pm$ 0.24	0	0
I/R 组	34.62 $\pm$ 6.73 <sup>a</sup>	3.94 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	2.39 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	17.61 $\pm$ 4.62 <sup>a</sup>
Rg1 组	28.92 $\pm$ 5.77 <sup>b</sup>	2.21 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>	1.32 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	6.72 $\pm$ 0.95 <sup>b</sup>
Rg1+ROS 组	32.12 $\pm$ 5.42 <sup>c</sup>	3.36 $\pm$ 0.59 <sup>c</sup>	1.89 $\pm$ 0.37 <sup>c</sup>	12.31 $\pm$ 1.99 <sup>c</sup>
F	12.230	9.303	14.626	23.481
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

P < 0.05, a 为与 SO 组比较; b 为与 I/R 组比较; c 为与 Rg1 组比较。

### 2.2 各组大鼠心肌 I/R 面积的比较

经方差分析, 多组间心肌 I/R 面积比较, 差异均有统计学意义 (P < 0.05)。经 LSD 法两两比较: 与 SO 组大鼠比较, I/R 组大鼠的心肌 I/R 面积明显增加; 与 I/R 组大鼠比较, Rg1 组大鼠的心肌 I/R 面积明显减少; 与 Rg1 组比较, Rg1 + ROS 组大鼠的心肌 I/R 面积明显增加 (P < 0.05, 图 1)。

### 2.3 各组大鼠血清心肌酶的比较

经方差分析, 多组间血清 CK、CK-MB、LDH 含量比较, 差异均有统计学意义 (P < 0.05)。经 LSD 法两两比较: 与 SO 组大鼠比较, I/R 组大鼠血清 CK、CK-MB、LDH 含量均明显增加; 与 I/R 组大鼠比较, Rg1 组大鼠血清 CK、CK-MB、LDH 含量均明显减少; 与 Rg1 组比较, Rg1 + ROS 组大鼠血清 CK、CK-MB、LDH 含量均明显增加 (P < 0.05, 表 2)。

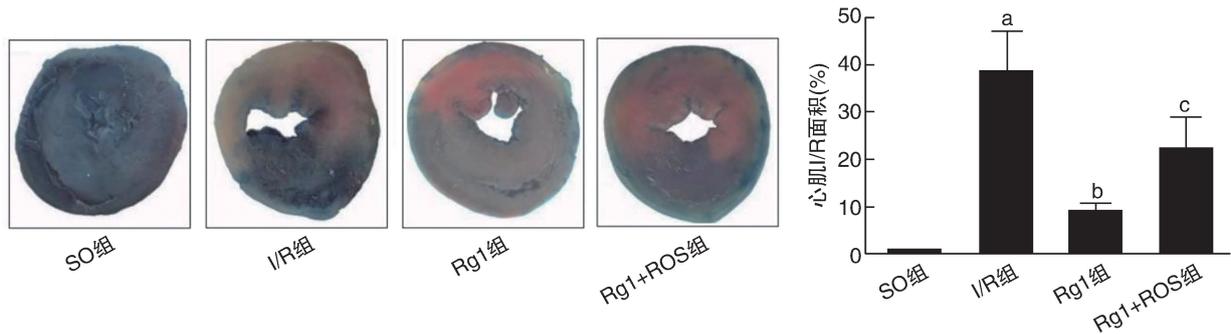


图 1. 各组大鼠心肌 I/R 面积的比较 (n=6) P<0.05, a 为与 SO 组比较; b 为与 I/R 组比较; c 为与 Rg1 组比较。

Figure 1. Comparison of myocardial I/R area in rats of each group (n=6)

表 2. 各组大鼠血清心肌酶的比较 (n=12)

Table 2. Comparison of serum myocardial enzymes in rats of each group (n=12)

分 组	CK(U/L)	CK-MB(U/L)	LDH(U/L)
SO 组	45.12±7.85	5.64±0.89	126.58±19.39
I/R 组	238.72±45.59 <sup>a</sup>	29.49±6.82 <sup>a</sup>	369.72±54.48 <sup>a</sup>
Rg1 组	104.68±21.39 <sup>b</sup>	12.17±2.32 <sup>b</sup>	204.62±36.48 <sup>b</sup>
Rg1+ROS 组	187.22±27.69 <sup>c</sup>	23.12±4.77 <sup>c</sup>	315.78±49.79 <sup>c</sup>
F	10.569	12.821	9.291
P	<0.001	<0.001	<0.001

P<0.05, a 为与 SO 组比较; b 为与 I/R 组比较; c 为与 Rg1 组比较。

Rg1 组大鼠心肌中 NF-κB 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显减少, I-κB 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显增加; 与 Rg1 组比较, Rg1+ROS 组大鼠心肌中 NF-κB 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显增加, I-κB 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显减少 (P<0.05, 图 2、图 3)。

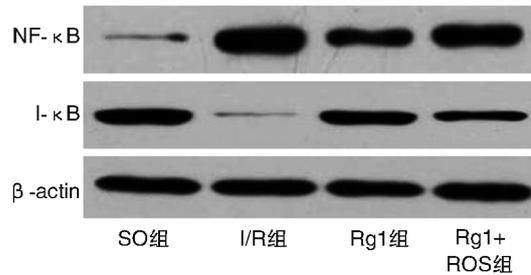


图 2. 各组大鼠心肌中 NF-κB、I-κB 蛋白表达的比较 (n=12)

Figure 2. Protein bands of NF-κB, I-κB in myocardial tissues in rats of each group (n=12)

### 2.4 各组大鼠心肌中 NF-κB 表达的比较

经方差分析, 多组间心肌中 NF-κB、I-κB mRNA 表达水平及蛋白表达水平比较, 差异均有统计学意义 (P<0.05)。经 LSD 法两两比较: 与 SO 组大鼠比较, I/R 组大鼠心肌中 NF-κB 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显增加, I-κB 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显减少; 与 I/R 组大鼠比较,

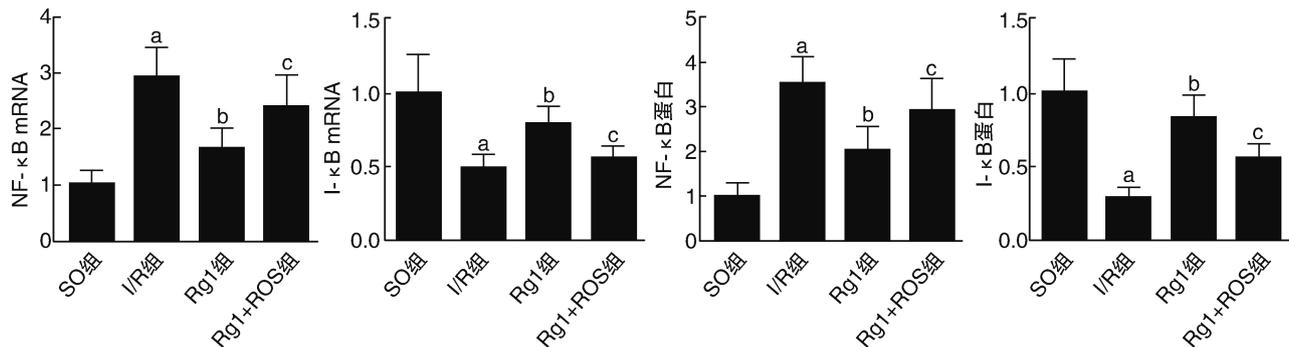


图 3. 各组大鼠心肌中 NF-κB 表达的比较 (n=12) P<0.05, a 为与 SO 组比较; b 为与 I/R 组比较; c 为与 Rg1 组比较。

Figure 3. Comparison of NF-κB expression in myocardial tissues in rats of each group (n=12)

## 2.5 各组大鼠血清及心肌中炎症细胞因子的比较

经方差分析,多组间血清及心肌中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、P 选择素、E 选择素含量比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。经 LSD 法两两比较:与 SO 组大鼠比较,I/R 组大鼠血清及心肌中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、P 选择素、E 选择素的含量均明显增加;与 I/R 组大鼠比较,Rg1 组大鼠血清及心肌中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、P 选择素、E 选择素的含量均明显减少;与 Rg1 组比较,Rg1+ROS 组大鼠血清及心肌中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、P 选择素、E 选择素的含量均明显增加( $P < 0.05$ ,表 3、表 4)。

表 3. 各组大鼠血清炎症细胞因子的比较( $n = 12$ )

Table 3. Comparison of serum inflammatory cytokines in rats of each group( $n = 12$ )

分 组	TNF- $\alpha$ ( $\mu\text{g/L}$ )	IL-1 $\beta$ ( $\mu\text{g/L}$ )	P 选择素 ( $\text{ng/L}$ )	E 选择素 ( $\text{ng/L}$ )
SO 组	11.39 $\pm$ 2.72	6.71 $\pm$ 0.92	35.15 $\pm$ 6.48	24.65 $\pm$ 5.54
I/R 组	29.39 $\pm$ 6.14 <sup>a</sup>	30.39 $\pm$ 6.94 <sup>a</sup>	113.29 $\pm$ 16.58 <sup>a</sup>	103.58 $\pm$ 17.34 <sup>a</sup>
Rg1 组	16.72 $\pm$ 2.94 <sup>b</sup>	14.25 $\pm$ 2.62 <sup>b</sup>	59.79 $\pm$ 9.29 <sup>b</sup>	42.92 $\pm$ 7.79 <sup>b</sup>
Rg1+ROS 组	22.31 $\pm$ 3.49 <sup>c</sup>	21.92 $\pm$ 4.28 <sup>c</sup>	82.39 $\pm$ 13.38 <sup>c</sup>	85.59 $\pm$ 12.48 <sup>c</sup>
<i>F</i>	4.330	6.771	9.118	12.181
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

$P < 0.05$ , a 为与 SO 组比较; b 为与 I/R 组比较; c 为与 Rg1 组比较。

表 4. 各组大鼠心肌中炎症细胞因子的比较( $n = 12$ )

Table 4. Comparison of inflammatory cytokines in myocardial tissues in rats of each group( $n = 12$ )

分 组	TNF- $\alpha$ ( $\text{ng/g}$ 总蛋白)	IL-1 $\beta$ ( $\text{ng/g}$ 总蛋白)	P 选择素 ( $\text{pg/g}$ 总蛋白)	E 选择素 ( $\text{pg/g}$ 总蛋白)
SO 组	1.88 $\pm$ 0.32	0.93 $\pm$ 1.16	10.39 $\pm$ 2.12	14.41 $\pm$ 2.52
I/R 组	7.69 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	6.62 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>	30.29 $\pm$ 6.49 <sup>a</sup>	52.38 $\pm$ 7.78 <sup>a</sup>
Rg1 组	3.02 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	2.77 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>	16.47 $\pm$ 1.93 <sup>b</sup>	23.10 $\pm$ 5.57 <sup>b</sup>
Rg1+ROS 组	5.89 $\pm$ 0.78 <sup>c</sup>	4.94 $\pm$ 0.62 <sup>c</sup>	23.12 $\pm$ 4.49 <sup>c</sup>	41.28 $\pm$ 7.84 <sup>c</sup>
<i>F</i>	14.221	17.693	11.382	21.294
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

$P < 0.05$ , a 为与 SO 组比较; b 为与 I/R 组比较; c 为与 Rg1 组比较。

## 2.6 各组大鼠心肌中 PPAR- $\gamma$ 表达的比较

经方差分析,多组间心肌中 PPAR- $\gamma$  的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。经 LSD 法两两比较:与 SO 组大鼠比较,I/R 组大鼠心肌中 PPAR- $\gamma$  的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显增加;与 I/R 组大鼠比较,Rg1 组大鼠心肌中 PPAR- $\gamma$  的 mRNA 表达水平及蛋

白表达水平均明显减少;与 Rg1 组比较,Rg1+ROS 组大鼠心肌中 PPAR- $\gamma$  的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显增加( $P < 0.05$ ,图 4、图 5)。

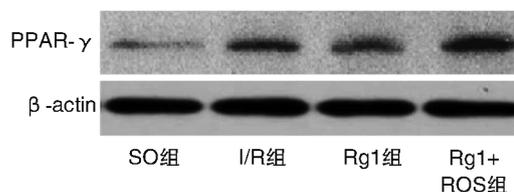


图 4. 各组大鼠心肌中 PPAR- $\gamma$  的蛋白表达的比较( $n = 12$ )

Figure 4. Protein bands of PPAR- $\gamma$  in myocardial tissues in rats of each group( $n = 12$ )

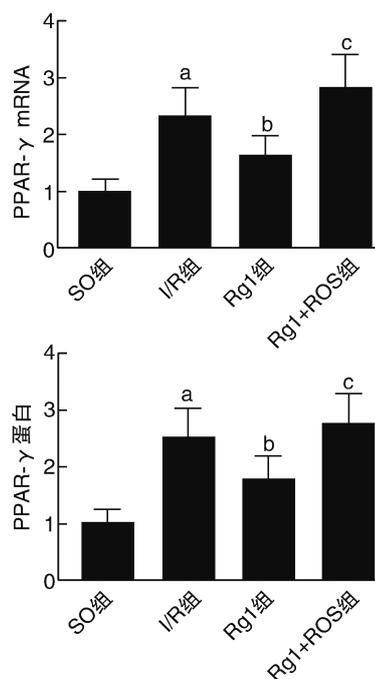


图 5. 各组大鼠心肌中 PPAR- $\gamma$  表达的比较( $n = 12$ )  $P < 0.05$ , a 为与 SO 组比较; b 为与 I/R 组比较; c 为与 Rg1 组比较。

Figure 5. Comparison of PPAR- $\gamma$  expression in myocardial tissues in rats of each group( $n = 12$ )

## 3 讨论

心肌 I/R 是急性心肌梗死患者接受溶栓或介入治疗后的必经过程, I/R 后心律失常的发生是影响再灌注治疗后病情转归、增加心源性猝死风险的重要因素。人参皂苷 Rg1 是人参、三七等中药材中提取得到的具有细胞保护作用的活性物质,对心肌组织的 I/R 损伤<sup>[3-4]</sup>、脑组织的 I/R 损伤<sup>[7-8]</sup>均具有保护作用。国内申文字等<sup>[5]</sup>的动物实验表明,人参皂苷 Rg1 对心肌 I/R 后的心律失常具有改善作用。

本实验通过腹腔注射人参皂苷 Rg1 的方式在造模前进行干预并通过冠状动脉左侧前降支结扎的方式建立心肌 I/R 模型,再灌注 60 min 后对心肌酶及心肌 I/R 面积的观察发现:I/R 组大鼠的心肌 I/R 面积及血清 CK、CK-MB、LDH 含量明显增加,同时 I/R 造模成功、心肌出现了 I/R 损伤。在再灌注 60 min 的过程中通过心电图监测心律失常情况的可知:I/R 组大鼠的心律失常明显加剧,而在人参皂苷 Rg1 干预后,Rg1 组大鼠的心律失常明显改善并且心肌 I/R 面积、血清心肌酶含量明显减少。以上结果提示人参皂苷 Rg1 能够减轻心肌 I/R 损伤,同时也能预防心肌 I/R 后的心律失常。

心肌 I/R 后心律失常的发生与心肌细胞间超微结构损伤、心肌细胞电生理异常、细胞膜离子通道功能改变均有密切关系<sup>[9-10]</sup>。国内申文字等<sup>[5]</sup>的动物实验表明,心肌组织中 PPAR- $\gamma$  的过度激活是造成心肌 I/R 后心律失常的重要环节。PPAR- $\gamma$  是配体激活核受体超家族的转录因子,识别靶基因启动子上的维甲酸 X 受体并与 PPAR 反应元件结合后,能够调控基因表达并产生相应的生物学效应<sup>[11-12]</sup>。本实验进一步分析了 PPAR- $\gamma$  在人参皂苷 Rg1 预防心肌 I/R 后心律失常中的作用,I/R 组大鼠心肌中 PPAR- $\gamma$  的表达明显增加,而 Rg1 组大鼠心肌中 PPAR- $\gamma$  的表达明显减少,提示人参皂苷 Rg1 能够抑制 I/R 心肌中 PPAR- $\gamma$  的表达;在人参皂苷 Rg1 干预的同时加用 PPAR- $\gamma$  激动剂罗格列酮后,Rg1 + ROS 组大鼠的心律失常明显加剧,表明 PPAR- $\gamma$  激动剂能够削弱人参皂苷 Rg1 预防心肌 I/R 后心律失常中的作用,进而也提示人参皂苷 Rg1 对心肌 I/R 后心律失常的预防作用部分由 PPAR- $\gamma$  的抑制来介导。

在心肌细胞中,PPAR- $\gamma$  的激活既能直接启动多种炎症细胞因子的表达,也能与 NF- $\kappa$ B 起到协同作用、增加炎症细胞因子的释放,进而通过介导炎症反应来造成心肌细胞损伤<sup>[13-14]</sup>。TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、P 选择素、E 选择素是受到 PPAR- $\gamma$  及 NF- $\kappa$ B 调控的炎症细胞因子,TNF- $\alpha$  及 IL-1 $\beta$  具有促炎活性、P 选择素及 E 选择素具有黏附作用,均参与炎症的放大激活过程<sup>[15-16]</sup>。在心肌 I/R 过程中,I/R 组大鼠血清、心肌中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、P 选择素、E 选择素含量及心肌中 NF- $\kappa$ B 表达水平均明显升高,提示心肌 I/R 能够使炎症反应发生过度激活。人参皂苷 Rg1 干预后,Rg1 组大鼠血清、心肌中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、P 选择素、E 选择素含量及心肌中 NF- $\kappa$ B 表达水平均明显低于 I/R 组,提示人参皂苷 Rg1 对心肌 I/R 过程中

炎症反应的激活具有抑制作用。在人参皂苷 Rg1 干预的同时加用 PPAR- $\gamma$  激动剂罗格列酮后,Rg1 + ROS 组大鼠血清、心肌中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、P 选择素、E 选择素含量及心肌中 NF- $\kappa$ B 表达水平均明显高于 Rg1 组,表明 PPAR- $\gamma$  激动剂能够削弱人参皂苷 Rg1 抑制 I/R 心肌炎症反应的作用,进而也提示人参皂苷 Rg1 对 I/R 心肌炎症反应的抑制作用部分由 PPAR- $\gamma$  的抑制来介导,通过抑制 PPAR- $\gamma$  介导的炎症反应也可能是人参皂苷 Rg1 预防心肌 I/R 后心律失常的分子途径。

综上所述,人参皂苷 Rg1 对大鼠心肌 I/R 后心律失常具有改善和预防作用,这一作用与 I/R 心肌组织中 PPAR- $\gamma$  介导的炎症反应受抑制有关。本研究的局限之处在于人参皂苷 Rg1 为单一剂量给药,今后可进一步设计剂量梯度的人参皂苷 Rg1 给药,以明确 Rg1 的剂量效应。

#### [参考文献]

- [1] van der Weg K, Prinzen FW, Gorgels AP. Editor's choice-reperfusion cardiac arrhythmias and their relation to reperfusion-induced cell death[J]. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*, 2019, 8(2): 142-152.
- [2] Lakota J. Molecular mechanism of ischemia - reperfusion injury after myocardial infarction and its possible targeted treatment[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 29(220): 571-572.
- [3] Qin L, Fan S, Jia R, et al. Ginsenoside Rg1 protects cardiomyocytes from hypoxia-induced injury through the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Pharmazie*, 2018, 73(6): 349-355.
- [4] Li L, Pan CS, Yan L, et al. Ginsenoside Rg1 ameliorates rat myocardial ischemia-reperfusion injury by modulating energy metabolism pathways[J]. *Front Physiol*, 2018, 7(9): 78.
- [5] 申文字,李玉东,杨守忠,等. 人参皂苷 Rg1 对大鼠缺血性/再灌注心律失常的作用[J]. *临床心血管病杂志*, 2017, 33(5): 465-469.
- [6] 陈华,莫新玲,何学恕,等. 缺血/再灌注大鼠心肌 PPAR- $\gamma$  表达变化对再灌注心律失常的影响[J]. *重庆医学*, 2017, 46(17): 2313-2315.
- [7] Zheng T, Jiang H, Jin R, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates protein aggregation and inflammatory response following cerebral ischemia and reperfusion injury[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 19(853): 65-73.
- [8] Wang L, Zhao H, Zhai ZZ, et al. Protective effect and mechanism of ginsenoside Rg1 in cerebral ischaemia-reperfusion injury in mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 876-882.
- [9] Chang PC, Huang YC, Lee HL, et al. Inhomogeneous downregulation of INa underlies piceatannol proarrhythmic mechanism in regional ischemia-reperfusion [J]. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2018, 41(9): 1116-1122.

(下转第 598 页)

meta 分析显示,在 CTO-PCI 成功后,患者 LVEF 提高了 4.44%,左室舒张末期容积减少了 6.14 mL/m<sup>2</sup>,且与 PCI 失败组比较患者死亡率显著降低( $P < 0.01$ ),这就提示 PCI 对于 CTO 合并 LVEF 降低的冠心病患者改善心功能和降低死亡率有一定的益处。本研究同样发现两组患者术后 NYHA 心功能分级均有明显改善( $P < 0.01$ ),同时多因素分析发现 LVEF、年龄、糖尿病史、心率和住院时间对心功能改善程度的影响没有统计学意义,即成功行 PCI 术可以明显改善 CTO 冠心病患者的心功能,且对于合并 LVEF 降低的 CTO 冠心病患者改善程度更加明显( $P < 0.05$ )。

总之,本研究发现 PCI 治疗可以显著改善 CTO 合并 LVEF 降低的冠心病患者短期生活质量,且与 LVEF 正常的 CTO 冠心病患者改善程度相近,并不增加患者的主要不良心脏事件的发生率,同时患者心功能也有明显改善。

#### [参考文献]

- [1] 中国冠状动脉慢性闭塞病变介入治疗俱乐部. 中国冠状动脉慢性完全闭塞病变介入治疗推荐路径[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2018, 26(3): 121-128.
  - [2] Azzalini L, Jolicœur EM, Pighi M, et al. Epidemiology, management strategies, and outcomes of patients with chronic total coronary occlusion[J]. Am J Cardiol, 2016, 118(8): 1128-1135.
  - [3] 陈功,程标. 冠状动脉慢性完全闭塞介入治疗的新进展[J]. 实用医学临床杂志, 2017, 5(3): 161-166.
  - [4] Mateusz T, Lukasz P, Jaroslaw G, et al. Impact of chronic total occlusion of the coronary artery on long-term prognosis in patients with ischemic systolic heart failure[J]. JACC Cardiovasc Interv, 2016, 9(17): 1790-1797.
  - [5] Tomasello SD, Boukhris M, Giubilato S, et al. Management strategies in patients affected by chronic total occlusions; results from the Italian Registry of Chronic Total Occlusions[J]. Eur Heart J, 2015, 36(45): 3189-3198.
  - [6] Cardona M, Martin V, Prat-Gonzalez S, et al. Benefits of chronic total coronary occlusion percutaneous intervention in patients with heart failure and reduced ejection fraction; insights from a cardiovascular magnetic resonance study[J]. J Cardiovasc Magn Reson, 2016, 18(1): 78.
  - [7] Ware JJ, Kosinski M, Keller SD. A 12-item short-form health survey: construction of scales and preliminary tests of reliability and validity[J]. Med Care, 1996, 34(3): 220-233.
  - [8] 刘同想,孔素平,廖忠友,等. 西雅图心绞痛调查量表对冠心病患者机体功能及生活质量的评估研究[J]. 中国行为医学科学, 1997, 6(2): 127-129.
  - [9] Bardage C, Isacson DG. Hypertension and health-related quality of life: an epidemiological study in Sweden[J]. J Clin Epidemiol, 2001, 54(2): 172-181.
  - [10] CASS Principal Investigators and Their Associates. Coronary artery surgery study(CASS): a randomized trial of coronary artery bypass surgery, quality of life in patients randomly assigned treatment groups[J]. Circulation, 1983, 68(5): 951-960.
  - [11] Wallace TW, Berger JS, Wang A, et al. Impact of left ventricular dysfunction on hospital mortality among patients undergoing elective percutaneous coronary intervention[J]. Am J Cardiol, 2009, 103(3): 355-360.
  - [12] Brodie BR, Stuckey TD, Kissling G, et al. Importance of infarct-related artery patency for recovery of left ventricular function and late survival after primary angioplasty for acute myocardial infarction[J]. J Am Coll Cardiol, 1996, 28(2): 319-325.
  - [13] Hoesbers LP, Claessen BE, Elias J, et al. Meta-analysis on the impact of percutaneous coronary intervention of chronic total occlusions on left ventricular function and clinical outcome[J]. Int J Cardiol, 2015, 187: 90-96.
- (此文编辑 朱雯霞)
- 
- (上接第 592 页)
- [10] Zu L, Wen N, Liu C, et al. Connexin43 and myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2018, 18(1): 14-16.
  - [11] Li X, Bilali A, Qiao R, et al. Association of the PPAR $\gamma$ /PI3K/Akt pathway with the cardioprotective effects of tacrolimus in myocardial ischemic/reperfusion injury[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(5): 6759-6767.
  - [12] Zhong CB, Chen X, Zhou XY, et al. the role of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in mediating cardioprotection against ischemia/reperfusion injury[J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2018, 23(1): 46-56.
  - [13] Lv FH, Yin HL, He YQ, et al. Effects of curcumin on the apoptosis of cardiomyocytes and the expression of NF- $\kappa$ B, PPAR- $\gamma$  and Bel-2 in rats with myocardial infarction injury[J]. Exp Ther Med, 2016, 12(6): 3877-3884.
  - [14] Ibarra-Lara Mde L, Sánchez-Aguilar M, Soria E, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) downregulate the expression of pro-inflammatory molecules in an experimental model of myocardial infarction[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2016, 94(6): 634-642.
  - [15] Shen ZX, Yang QZ, Li C, et al. Myeloid peroxisome proliferator-activated receptor gamma deficiency aggravates myocardial infarction in mice[J]. Atherosclerosis, 2018, 274: 199-205.
  - [16] Huang T, Gao D, Hei Y, et al. D-allose protects the blood brain barrier through PPAR $\gamma$ -mediated anti-inflammatory pathway in the mice model of ischemia reperfusion injury[J]. Brain Res, 2016, 1(1642): 478-486.
- (此文编辑 朱雯霞)