

· 实验研究 ·

764-3 对不同类型慢性肺动脉高压大鼠
右心室肥厚胶原的影响*

柳志红 程显声 蔡如升 朱宜明 李亚辉 李 群

内容提要 目的:观察胶原合成抑制剂 764-3 对低压缺氧和野百合碱(MCT)引起的肺动脉高压大鼠右心室胶原的影响。方法:将雄性 Wistar 大鼠随机分为 10 组。低压缺氧给药组大鼠皮下注射 764-3 20mg/kg, 每日 1 次;MCT 治疗组大鼠皮下注射 764-3 40mg/kg, 每日 1 次。实验终点测定血流动力学及生化指标。结果:缺氧 2 周、4 周及 MCT 大鼠肺动脉压升高, 右心室胶原含量明显增加;764-3 能降低缺氧及 MCT 大鼠肺动脉压, 减少缺氧 2 周及 MCT 大鼠右室胶原含量(μg), 分别由 76.3 ± 13.3 降至 59.4 ± 11.4 ($P < 0.01$), 293.4 ± 73.9 降至 210.1 ± 37.6 ($P < 0.01$)。结论:764-3 对缺氧性肺动脉高压大鼠右室胶原沉积仅有部分预防作用, 对 MCT 大鼠的右室肌胶原沉积有治疗作用。

关键词 肺动脉高压 缺氧 野百合碱 胶原 心肌肥厚

Effect of 764-3 on Ventricular Collagen Deposition in Pulmonary Hypertension Induced by Chronic Hypoxia and Monocrotaline in Rats Liu Zhihong, Cheng Xiansheng, Cai Rusheng, et al *Cardiovascular Institute and Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing (100037)*

Objective: To observe the effect of 764-3 on ventricular collagen deposition in pulmonary hypertension induced by chronic hypoxia or monocrotaline (MCT) in rats. **Methods:** Wistar rats were divided into 10 groups. The hypobaric hypoxia group received 764-3 20mg/kg once daily subcutaneously and the MCT group treated with 764-3 40mg/kg once daily. The hemodynamic and biochemical parameters were measured. **Results:** At the time of 2 weeks and 4 weeks after treated with hypoxia or MCT, the pulmonary arterial pressure (PAP) of rats raised significantly and the right ventricular collagen content (RVCC) increased markedly. 764-3 could reduce the raised PAP induced either by hypoxia or MCT. It could lower the elevated RVCC of hypobaric hypoxia group at 2 weeks from 76.3 ± 13.3 to 59.4 ± 11.4 ($P < 0.01$), and the RVCC of MCT group lowered from 293.4 ± 73.9 to 210.1 ± 37.6 ($P < 0.01$). **Conclusion:** 764-3 could partially prevent right ventricular collagen deposition induced by hypoxia and has therapeutic effect on that induced by MCT.

Key words pulmonary hypertension, hypoxia, monocrotaline, collagen, myocardial hypertrophy

临床上,各种原因引起的心肌肥厚均存在心脏基质的改变,即心肌间质纤维化,成纤维细胞增生和胶原堆积,结果室壁顺应性降低,心室功能障碍⁽¹⁾。本研究旨在观察慢性低压缺氧及野百合碱性肺动脉高压引起

的右心室肥厚大鼠心肌间质胶原的变化及胶原合成抑制剂 764-3 的作用,为扩大其临床应用提供实验依据。

材料和方法

1 材料

1.1 动物 雄性 Wistar 大鼠购自中国医学科学院实验动物所。

* 本课题属国家自然科学基金资助项目(No. 39070404)

中国医学科学院 中国协和医科大学 心血管病研究所
阜外心血管病医院(北京 100037)

1.2 药物 764-3 由中国医学科学院血液病研究所提供, 为丹参提取物。

1.3 主要仪器 低压氧舱(上海医用核子仪器厂), 八导生理记录仪 RM-6300(日本光电公司), 分析天平(北京光学仪器厂), UV-731 紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

2 方法

2.1 动物及分组 雄性 Wistar 大鼠月龄 3~4 月, 体重 200~250g, 随机分成 10 组: (1) 正常 2 周组(N2w 组, $n=8$): 皮下注射生理盐水 0.3ml, 每日 1 次; (2) 正常 4 周组(N4w 组, $n=8$): 第 15~28d 给生理盐水, 余同上; (3) 缺氧 2 周组(H2w 组, $n=10$): 大鼠置于低压氧舱(50.7kPa)内, 每日约 22h, 皮下注射生理盐水 0.3ml, 每日 1 次, 共 2 周; (4) 缺氧 4 周组(H4w 组, $n=10$): 缺氧第 15~28d 给生理盐水 0.3ml, 余同上; (5) 正常 2 周给 764-3 组(7-N2w 组, $n=8$): 764-3 20mg/kg, 皮下注射, 每日 1 次, 共 2 周; (6) 正常 4 周给 764-3 组(7-N4w 组, $n=8$): 第 15~28d 给 764-3, 20mg/kg, 皮下注射, 每日 1 次, 共 2 周; (7) 764-3 预防组(7-H2w 组, $n=10$): 缺氧第 1 日始给予 764-3, 余方法同 7-N2w 组; (8) 764-3 治疗组(7-H4w 组, $n=10$): 缺氧第 15~28d 给予 764-3, 方法同 7-N2w 组; (9) 野百合碱组(M 组, $n=10$): MCT60mg/kg 1 次腹腔给药, 观察 4 周; (10) 野百合碱治疗组(7-M 组, $n=10$): 腹腔给 MCT 后第 15~28d 给予 764-3, 40mg/kg, 皮下注射, 每日 1 次。

2.2 测定指标

表 1 BW、mPAP 和 RV/LV+S 比值的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	BW(g)	mPAP(kPa)	RV/LV+S(%)
N2w	8	310.5 ± 9.2	2.52 ± 0.19	23.0 ± 3.2
N4w	8	360.9 ± 35.2	2.50 ± 0.30	23.3 ± 1.3
7-N2w	8	308.8 ± 24.0	2.42 ± 0.49	23.9 ± 2.4
7-N4w	8	328.9 ± 41.3	2.48 ± 0.25	23.9 ± 2.6
H2w	9	192.1 ± 19.0**	3.94 ± 0.42**	40.8 ± 4.5**
H4w	10	222.6 ± 14.1**	4.70 ± 0.73**	41.7 ± 5.7**
7-H2w	9	216.3 ± 6.1**△△	3.12 ± 0.38*△△△	35.0 ± 4.3**△△
7-H4w	7	228.4 ± 22.6**	3.83 ± 0.89*△	41.8 ± 7.2**
M	10	350.6 ± 33.0	5.41 ± 1.72*	51.3 ± 13.2**
7-M	10	345.9 ± 26.9	3.81 ± 0.85*△	39.9 ± 9.3**△

注: 与相应 N2w、N4w 组比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$; 与相应 H2w、H4w 或 M 组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$, △△△ $P < 0.001$

2 缺氧大鼠心室肌 HYP、蛋白含量变化及药物对其影响 见表 2。

缺氧 2 周、4 周大鼠右心室 HYP 及其蛋白含量均较对照组明显增高, 7-H2w 组大鼠 RV 肌 HYP 含量

2.2.1 血流动力学测定 各组大鼠于第 15 或 29 天时, 用 12% 乌拉坦溶液腹腔麻醉(1ml/100g 体重), 右心导管法⁽²⁾测定大鼠肺动脉平均压(mPAP), 定标敏度 2.7kPa/10mm。

2.2.2 组织标本的制备 测压结束后, 立即开胸取出完整心肺, 按 Fulton 等⁽³⁾方法分离右室(RV)游离壁和左心室壁+室间隔(LV+S)。将 RV、LV+S 浸入无水乙醇脱水 24h, 氯仿脱脂 4~6h, 干燥后分别称重, 然后留作生化分析。

2.2.3 心室肌羟脯氨酸(HYP)、蛋白含量测定 按修改的 Kivirikko 方法⁽⁴⁾测定 HYP 含量, 茚三酮法⁽⁵⁾测定总蛋白含量。

2.3 统计学处理 所有数据均以平均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 用 t 检验进行组间显著性检验。

结 果

1 各组大鼠最终体重(BW)、mPAP 和 RV/LV+S 比值的变化及药物对其影响 见表 1。

缺氧 2 周大鼠 mPAP 和 RV/LV+S 比值与对照组比较显著升高。随缺氧时间延长, mPAP 继续升高, 4 周时较 H2w 组有显著差异, 但 RV/LV+S 的比值变化不明显, 说明 2 周时右心室肥厚已达高峰, 以后随缺氧时间延长, 右心室肥厚与 mPAP 的变化不平行。MCT4 周大鼠上述变化重于 H4w 组大鼠。764-3 能降低缺氧 2 周、4 周及 MCT 大鼠的 mPAP, 减轻 H2w 组及 MCT 大鼠右心室重量, 但对 H4w 组大鼠的右心室肥厚无明显影响。

明显低于缺氧组, 7-H4w 组大鼠右心室 HYP 含量虽低于缺氧 4 周组, 但无显著差异, 提示 764-3 仅对右心室胶原的沉积有部分预防作用。缺氧 2 周、4 周大鼠 LV+S 胶原含量均升高, 但仅 H4w 组大鼠具显著

表 2 缺氧大鼠心室肌 HYP 和蛋白含量的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	RV		LV + S	
		HYP ($\mu\text{g}/100\text{g BW}$)	蛋白质 ($\text{mg}/100\text{g BW}$)	HYP ($\mu\text{g}/100\text{g BW}$)	蛋白质 ($\text{mg}/100\text{g BW}$)
N2w	8	45.9 $\pm$ 5.2	7.53 $\pm$ 0.95	124.2 $\pm$ 15.0	30.0 $\pm$ 2.8
N4w	8	45.1 $\pm$ 4.8	8.47 $\pm$ 1.13	122.0 $\pm$ 11.1	30.0 $\pm$ 1.6
7 - N2w	8	50.5 $\pm$ 4.1	8.11 $\pm$ 0.68	126.1 $\pm$ 8.3	32.2 $\pm$ 2.6
7 - N4w	8	47.1 $\pm$ 7.4	8.46 $\pm$ 1.24	119.3 $\pm$ 22.4	32.1 $\pm$ 5.4
H2w	9	76.3 $\pm$ 13.3 ***	15.43 $\pm$ 2.67 ***	143.2 $\pm$ 23.7	33.2 $\pm$ 6.0
H4w	10	75.0 $\pm$ 13.3 ***	15.10 $\pm$ 2.65 **	149.7 $\pm$ 14.8 ***	33.3 $\pm$ 3.5 *
7 - H2w	9	59.4 $\pm$ 11.4 Δ	13.32 $\pm$ 2.05 ***	133.4 $\pm$ 13.8	32.0 $\pm$ 3.5
7 - H4w	7	69.3 $\pm$ 14.6 **	14.81 $\pm$ 3.58 ***	146.6 $\pm$ 21.0 *	31.0 $\pm$ 4.2

注:与相应 N2w、N4w 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与相应 H2w、H4w 组比较, $\Delta P < 0.01$

差异,由于室间隔右心室面的结构与右心室一致,因此, LV + S 胶原含量的升高可能主要是右心室面胶原增加所致。764 - 3 处理组 LV + S 的 HYP 含量虽有下降趋势,但与相应缺氧组比较无显著差异。

3 MCT 大鼠心室肌 HYP 和蛋白含量的变化及

药物对其影响 见表 3。

与相应正常组相比, MCT 大鼠右室肌 HYP 和蛋白含量均明显增多, LV + S 的 HYP 和蛋白含量无明显变化。764 - 3 能降低大鼠右心室肌 HYP 和蛋白含量,对 LV + S 的 HYP 和蛋白含量无明显影响。

表 3 MCT 大鼠心室肌 HYP 和蛋白含量的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	RV		LV + S	
		HYP(μg)	蛋白质(mg)	HYP(μg)	蛋白质(mg)
N4w	8	161.4 $\pm$ 10.6	30.4 $\pm$ 3.9	438.0 $\pm$ 38.1	107.8 $\pm$ 9.5
7 - N4w	8	153.0 $\pm$ 18.2	27.6 $\pm$ 3.9	387.3 $\pm$ 64.0	104.7 $\pm$ 18.7
M	10	293.4 $\pm$ 73.9 **	67.6 $\pm$ 17.2 **	488.3 $\pm$ 65.8	103.8 $\pm$ 12.7
7 - M	10	210.1 $\pm$ 37.6 * $\Delta\Delta$	53.3 $\pm$ 11.2 ** Δ	479.0 $\pm$ 59.2	100.6 $\pm$ 14.4

注:与 N4w 组比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$;与 M 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

讨 论

近 10 年,随着心血管内外科的进展,特别是右心外科和右心梗塞的广泛研究以及新技术的开发应用,对疾病状态下的右心室功能有了更深入的了解,它不只是血液通过的场所,更是一个十分重要的泵器官,对维持患者的生活质量具有重要作用^[6],因此,右心室功能障碍及其影响因素受到越来越多的关注。以往,人们习惯用心肌细胞及其收缩蛋白的异常来解释心脏病的发生、发展,随着研究进展,越来越多的资料表明,细胞外基质(主要是胶原)在维持心肌的正常结构和功能上起着十分重要的作用^[7]。正常心肌组织中,胶原纤维形成网络,围绕心肌细胞并负责心肌细胞之间、心肌细胞与毛细血管之间的联结,有助于心肌细胞的收缩,维持心脏的正常结构和心室顺应性,防止心肌细胞的滑动或过度牵拉,避免心脏破裂,以及保证机械力由心肌细胞向血液协调一致的传送。因此,胶原类型、含量及分布的改变都会引起心脏结构和功能的变化。目前,国内外尚无有效的抑制胶原增生的药物。764 - 3 曾用于实验性肺纤维化胶原增生抑制作用的观察,显

示有良好的防治效果^[8]。在此基础上,进一步观察该药对右心肥厚过程胶原代谢的作用,无疑将对防治原发性右心心肌损害及继发于负荷增加的右心室肥厚具有重要的理论意义和实用前景。以往的研究显示压力负荷过重引起的右心室肥厚伴有胶原总量的增加^[9],我们的实验结果也证实了这一点。缺氧 2 周、4 周及 MCT 大鼠右心室胶原含量均显示明显增高,胶原含量增加是病理状态下(压力负荷过重)一种代偿反应,以防止心肌细胞过度牵拉,避免心脏破裂。但胶原含量增加过多势必降低心肌顺应性,影响心脏功能。胶原合成抑制剂 764 - 3 能减少 H2w 组及 MCT 大鼠 RV 肌胶原含量,提示它对缺氧大鼠的右心室胶原沉积有部分预防作用,对 MCT 大鼠已存在的右心室胶原沉积有治疗作用。关于心肌肥厚时过多胶原的来源,目前普遍认为,来自心肌间质的纤维母细胞。在左心室肥厚的研究中发现,结扎大鼠腹主动脉后,原胶原脯氨酸羟化酶活性在几天内升高,然后出现脯氨酸结合的迅速增加^[10],几天后心肌纤维母细胞增生,提示胶原合成的增加与最初的纤维母细胞的存在以及随后纤维母细胞的增生有关。以往研究(应用 ^{14}C - 脯氨酸参

入)发现,764-3 能够抑制纤维母细胞内前胶原的羟化,减少胶原的分泌^[11]。因此,764-3 很可能通过上述机制部分抑制了胶原的沉积。心肌肥厚时,室壁顺应性的降低除与胶原含量增多有关外,也与不同类型胶原比例的变化及 I、III 型胶原交联程度的增加有关^[12]。764-3 是否也通过影响上述途径起作用,有待进一步研究。

参 考 文 献

1. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. *Circulation* 1991;83(6):1849—1865.
2. 宋 波, 刘文利. 右心导管测定大鼠肺动脉压的实验方法. *中国医学科学院学报* 1984;6(6):465—466.
3. Fulton RM, Hutchinson EC, Jones AM. Ventricular weight in cardiac hypertrophy. *Br Heart J* 1952;14(3):413—420.
4. Kivirikko KI, Laitinen O, Prockop DJ. Modifications of a specific assay for hydroxyproline in urine. *Anal Biochem* 1967;19(2):249—255.
5. Moore S, Stein WH. Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *J Biol Chem* 1948;176(1):367—388.

6. Morrison DA. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease: the right ventricular hypothesis. *Chest* 1987;92(3):387—388.
7. Zeenat GS, Azorides RM, Renzo R, et al. Remodelling of human myocardial collagen in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J pathol* 1996;148(5):1639—1648.
8. 陈祥银, 西品香, 严仪昭, 等. 764-3 对大鼠实验性肺纤维化的保护作用. *中国医学科学院学报* 1992;14(4):263—266.
9. Honda M, Yamada S, Goto Y, et al. Biochemical and structural remodeling of collagen in the right ventricular hypertrophy induced by monocrotaline. *Jpn Circ J* 1992;56(4):392—403.
10. Turto H. Collagen metabolism in experimental cardiac hypertrophy in the rat and effect of digitoxin treatment. *Cardiovasc Res* 1977;11(2):358—366.
11. Yang CZ, Hua GX, Ma J, et al. Effect of tong mai ling and its potent component, IH764-3, on synthesis of collagen. *Proc CAMS and PUMC* 1988;3(1):133—138.
12. Iimoto DS, Covell JW, Harper E. Increase in cross-linking of type I and type III collagens associated with volume-overload hypertrophy. *Circ Res* 1988;63(2):399—408.

(收稿:1997-04-04 修回:1997-08-16)

青黛子黄散治疗带状疱疹 216 例

沈 勇

笔者自 1984 年 1 月~1994 年 12 月间,应用自拟方青黛子黄散治疗带状疱疹,获得满意疗效,现报道如下。

临床资料 门诊患者 338 例,随机分为两组:青黛子黄散治疗组 216 例,男 120 例,女 96 例;年龄 16~66 岁,平均 43.2 岁;病程 1~25 天,平均 4.2 天;发病部位:三叉神经眶上支 13 例,臂丛神经 17 例,肋间神经 113 例,腰神经 73 例。聚肌胞对照组 122 例,男 67 例,女 55 例;年龄 15~67 岁,平均 42.8 岁;病程 1~24 天,平均 3.9 天;发病部位:三叉神经眶上支 7 例,臂丛神经 9 例,肋间神经 64 例,腰神经 42 例。两组年龄、性别、病期及皮损范围无明显差异,具有可比性。

治疗方法 青黛子黄散治疗组给予青黛子黄散,药物组成:青黛 30g,马钱子 5g,五倍子 9g,雄黄、生大黄各 10g,蜈蚣 1 条,食醋 70ml。制作方法:将 6 味药共研细末,过 120 目筛,以食醋调成糊状。用 5% 白矾水溶液洗净患处,鸭翅毛搽药涂于皮损处,每日 2~5 次。连用 1 周,不用其他药物。

聚肌胞对照组:聚肌胞注射液 2ml,维生素 B₁₂ 注射液 0.5mg,肌肉注射,每日 1 次。板蓝根冲剂 15g,每

次 1 包,每日 3 次。两组均 1 周后观察疗效。

结 果 疗效标准:痊愈:疱疹干涸结痂、疼痛消失。显效:疱疹枯萎 70% 以上,疼痛缓解。有效:疱疹枯萎 30% 以上,疼痛减轻。无效:治疗 1 周后疼痛无明显缓解或疱疹消退少于 30%。结果:青黛子黄散治疗组痊愈 126 例,显效 42 例,有效 38 例,无效 10 例,痊愈率 58.3%,总有效率 95.3%。聚肌胞对照组痊愈 28 例,显效 44 例,有效 40 例,无效 10 例,痊愈率 23%,总有效率 91.8%。两组痊愈率有显著性差异($P < 0.05$),而两组总有效率无显著性差异($P > 0.05$)。

讨 论 带状疱疹系水痘-带状疱疹病毒引起。中医又名蛇串疮,认为由肝胆火邪炽盛,脾经湿热内蕴,循经外溢肌肤而生。故方选青黛清热解毒为君;马钱子、五倍子散结消肿,解毒止痛,收湿敛疮为臣;大黄、蜈蚣、雄黄清热泻火,解毒燥湿为佐;食醋散瘀解毒收敛,穿透力强,可引药直捣病所为使。据现代药理研究证明,马钱子、五倍子、雄黄、大黄均有明显抗病毒及抑菌作用,且马钱子对感觉神经末梢有麻痹作用。故用药后 1~24h 内疼痛即可明显减轻,1 天后疱疹逐渐消退干涸,愈后无后遗症神经痛且使用方便,疗效好,价廉,值得推广应用。

(收稿:1997-06-18 修回:1997-08-10)