

人参二醇组皂苷对感染性休克大鼠体内血栓素 B₂ 及 6-酮-前列腺素 F_{1α} 的影响

于蕾¹, 黄氏¹, 王健春^{2*}

(1. 吉林大学白求恩医学院生理学系, 长春 130021;

2. 吉林大学白求恩医学院机能科学实验中心, 长春 130021)

[摘要] 目的: 观察人参二醇组皂苷(PDS)对感染性休克大鼠肝中血栓素 B₂(TXB₂)及 6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-Keto-PGF_{1α})含量的影响,探讨其抗感染性休克的作用机制。方法: 动物随机分为对照(Control)组;内毒素休克(LPS)组;地塞米松(LPS + Dex 2 mg·kg⁻¹)组;人参二醇组皂苷(LPS + PDS)组。LPS + PDS 组 iv 人参二醇组皂苷(22.5, 45, 90 mg·kg⁻¹)葡萄糖溶液 5 mL·kg⁻¹。10 min 后 iv 细菌内毒素(LPS, 5 mg·kg⁻¹)复制感染性休克模型。颈动脉插管记录平均动脉压(MAP)。休克后 4 h 处死动物,称取肝 20 mg 匀浆后测 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α} 的含量。结果: 注射内毒素后, LPS 组的 MAP 迅速下降,在低水平维持, LPS + Dex 组和 LPS + PDS 组的 MAP 未见明显下降;测得肝组织中 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α} 的含量在 LPS + PDS 中、大剂量组均显著低于 LPS 组, 6-Keto-PGF_{1α}/TXB₂ 在中剂量组显著低于 LPS 组。结论: PDS 可通过降低体内 TXA₂ 和 PGI₂ 的含量,调节血浆或组织中二者的平衡关系,改善内毒素休克大鼠的低血压状态,起到抗休克的作用。

[关键词] 内毒素;人参二醇组皂苷;血栓素 B₂;6-酮-前列腺素 F_{1α}

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0177-03

Effects of Ginseng Panaxadiol Saponins on Thromboxane B₂ and 6-keto-prostaglandin F_{1α} in Rats with Septic Shock

YU Lei¹, HUANG Min¹, WANG Jian-chun^{2*}

(1. Department of Physiology, School of Norman Bethune Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Research Center of Functional Sciences, School of Norman Bethune Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of ginseng panaxadiol saponins (PDS) on thromboxane B₂ (TXB₂) and 6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-Keto-PGF_{1α}) in rat model of endotoxic shock. **Method:** Sixty rats were divided into 6 groups randomly: groups under the names of lipopolysaccharides (LPS), LPS + dexamethasone (DEX, 2 mg·kg⁻¹), LPS + PDS (22.5 mL·kg⁻¹), LPS + PDS (45 mL·kg⁻¹), LPS + PDS (90 mL·kg⁻¹) and control group respectively. PDS was injected into ranine vein ten minutes after septic shock model was induced by injection of LPS (4 mg·kg⁻¹). MAP was measured through carotid arterial cannula. Animals were killed after 4 hours and their livers (20mg each) were taken for homogenate. PGF_{1α} and TXB₂ were measured using radioimmunoassay kit. **Result:** MAP in LPS group was decreased significantly after injection of LPS and maintained at lower level. While MAPs of LPS + DEX, LPS + PDS were not shown obviously decrease. PGF_{1α} and TXB₂ of LPS + PDS group were decreased obviously with comparison to LPS group. **Conclusion:** PDS plays the role of anti-

[收稿日期] 20110503(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30570687)

[第一作者] 于蕾, 博士, 讲师, 主要从事神经生理学研究, Tel: 0431-85619472, E-mail: y_lei@jlu.edu.cn

[通讯作者] * 王健春, 高级实验师, 从事病理生理学实验方法的研究, Tel: 0431-85619754

shock through decreasing the levels of $\text{PGF}_{1\alpha}$ and TXB_2 in rats with septic shock.

[Key words] lipopolysaccharides; ginseng panaxadiol saponins; thromboxane B_2 ; 6-keto-prostaglandin $\text{F}_{1\alpha}$

感染性休克的常见致病菌为革兰阴性菌,内毒素是革兰阴性菌细胞壁上的一种脂多糖(lipoly saccharide, LPS)和微量蛋白的复合物。故在感染性休克的发病过程中,细菌内毒素起着重要作用。静脉注入内毒素可引起内毒素休克,是实验中研究感染性休克常用的方法^[1]。内毒素血症及内毒素休克的高发病率和死亡率一直是困扰医学界的一大难题。迄今为止,临床上仍缺乏有效的治疗手段。虽然地塞米松(dexamethasone, Dex)被广泛应用于临床上各种休克的治疗,但由于其明显的副作用,限制了其发展也大大减低了临床应用的安全性。人参二醇组皂苷(ginseng panaxadiol saponins, PDS)作为人参中提取的天然活性成分,具有降血脂、抗血小板聚集、抗心肌缺血、提高机体免疫力、预防感染等作用^[2-6],具有 Dex 等合成药无法比拟的优点。本实验通过注入内毒素复制感染性休克模型,观察人参二醇组皂苷对感染性休克大鼠血压及肝中血栓素 B_2 (TXB_2) 及 6-酮-前列腺素 $\text{F}_{1\alpha}$ (6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$) 含量的影响,探讨人参二醇组皂苷在抗感染性休克中的作用及其相关机制。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠 60 只,体重 230 ~ 250 g 雌雄各半,由吉林大学白求恩医学院实验动物中心提供。合格证号 SCXK-(吉)2007-0003。

1.2 药品 PDS 由吉林大学天然药物化学教研室提供淡黄色粉末,纯度 85% 以上;地塞米松注射液,天津药业集团新郑股份有限公司生产,批号 030216;大肠杆菌内毒素(LPS):购于 Sigma 公司,血清型 OIII:B₄,批号 12880。三者均用 5% 葡萄糖溶液配制。 TXB_2 , 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 试剂盒由中国人民解放军总医院科技开发中心放免研究所提供,批号 20060108。

1.3 仪器 LDZ5-2 离心机,北京医用离心机厂;GC-2016r 放射免疫计数器,科大创新股份有限公司中佳分公司。

2 方法

2.1 实验方法 Wistar 大鼠 60 只,实验前禁食 24 h,自由饮水。随机分为 6 组,每组 10 只。分别为:对照(Control)组;内毒素休克(LPS)组;地塞米松预处理组(LPS + Dex)组;人参二醇组皂苷预处理(LPS + PDS: 22.5, 45, 90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组。动物用 3%

戊巴比妥钠(30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) ip 麻醉,将大鼠仰卧固定于鼠板上,分离一侧颈总动脉,插动脉插管,通过压力传感器连接 BL-420 医学机能实验系统记录血压,待血压平稳后,记录正常的心率、血压。实验前 Control 组和 LPS 组大鼠舌下 iv 5% 葡萄糖溶液 5 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, LPS + Dex 组 iv DEX (2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 葡糖溶液 5 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, LPS + PDS 组分别 iv PDS (22.5, 45, 90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 葡萄糖溶液 5 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 10 min 后除 Control 组外均 iv LPS (5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), Control 组 iv 等量的葡萄糖溶液,以血压降到实验前基础血压的 2/3 时判断为休克状态^[7]。在休克 4 h 时处死动物,称取肝 20 mg 置微型匀浆器中,加无水乙醇 0.1 mL 研磨,再加生理盐水 0.9 mL 充分研磨制成匀浆,置于 -20 度以下保存,待测 TXB_2 和 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的含量。肝组织中 TXB_2 和 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 含量测定采用放射免疫分析法,应用 TXB_2 , 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 放免试剂盒,实验过程严格按说明书操作。

2.2 统计学方法 采用 SPSS 11.0 统计软件包处理,所有结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间数据比较采用 *t* 检验; $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠平均动脉血压及 4 h 死亡率的影响 LPS 组的平均动脉压在注射 LPS 1 h 内开始下降,并持续 4 h 以上。LPS + Dex 组和 LPS + PDS 组在 4 h 内平均动脉压都能维持稳定,明显优于 LPS 组 ($P < 0.01$),见表 1。LPS 组 4 h 存活率是 Control 组的 50%, LPS + Dex 组和 LPS + PDS (45 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组是 Control 组的 80%, LPS + PDS (90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组是 Control 组的 60%。

3.2 PDS 对内毒素休克大鼠肝组织中 TXB_2 , 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的变化 LPS 组大鼠肝组织中 TXB_2 及 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的含量与 control 组相比明显升高 ($P < 0.01$); LPS + PDS (45, 90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组 TXB_2 及 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的含量均显著低于 LPS 组 ($P < 0.05$); 6-Keto- $\text{PGF}_{1\alpha}/\text{TXB}_2$ 在 LPS + PDS (45 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组比 LPS 组降低;在 LPS + PDS (90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组未见差异。见表 2。

表 1 大鼠平均动脉压 (MAP) 的变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

kPa

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	Normal	Shock	1 h	2 h	3 h	4 h
对照	-	15.80 ± 2.28	16.20 ± 3.10	15.90 ± 1.78	16.80 ± 3.05	15.40 ± 2.58	17.10 ± 1.95
模型	-	15.39 ± 4.79	9.13 ± 3.07	9.00 ± 3.26	8.65 ± 3.22	7.62 ± 2.96	5.99 ± 2.71
LPS + Dex	2.0	16.08 ± 3.25	8.81 ± 1.15	12.14 ± 2.08	12.28 ± 2.09 ¹⁾	12.03 ± 2.29 ¹⁾	11.78 ± 2.19 ¹⁾
LPS + PDS	45.0	16.66 ± 2.11	9.84 ± 2.06	10.75 ± 1.80	10.75 ± 1.76 ¹⁾	11.02 ± 2.37 ¹⁾	11.34 ± 2.58 ¹⁾
	90.0	16.29 ± 1.96	9.46 ± 1.28	11.54 ± 1.58 ¹⁾	10.73 ± 1.80 ²⁾	11.85 ± 2.44 ²⁾	11.09 ± 2.06 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ P < 0.01, ²⁾ P < 0.001。表 2 PDS 对内毒素休克 4 h 大鼠肝组织中的 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α} 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	6-Keto-PGF _{1α} /pg·mg ⁻¹	TXB ₂ /pg·mg ⁻¹	6-Keto-PGF _{1α} /TXB ₂
对照	-	13.18 ± 2.53	12.68 ± 1.83	1.06 ± 0.23
模型	-	21.62 ± 3.43 ¹⁾	21.40 ± 2.85 ¹⁾	1.10 ± 0.26
LPS + Dex	2.0	13.38 ± 2.98 ³⁾	13.34 ± 3.24 ³⁾	1.06 ± 0.35
LPS + PDS	22.5	19.42 ± 7.87	19.47 ± 2.80	1.02 ± 0.42
	45.0	14.40 ± 4.11 ³⁾	18.68 ± 2.99 ²⁾	0.81 ± 0.32 ³⁾
	90.0	15.09 ± 3.72 ²⁾	15.60 ± 0.91 ³⁾	0.93 ± 0.26

注:与对照组比较¹⁾ P < 0.01; 与模型组比较²⁾ P < 0.05, ³⁾ P < 0.01。

4 讨论

血栓素 A₂ (TXA₂) 和前列环素 I₂ (PGI₂) 分别由血小板微粒体及血管壁内皮细胞合成并释放。前者具有促进血管收缩和血小板聚集的功能,后者为抗血小板聚集和舒张血管的生物活性物质。二者的生物半衰期均较短,分别代谢为无活性的 TXB₂ 和 6-Keto-PGF_{1α}。在正常生理状态下血浆或组织中 TXA₂ 和 PGI₂ 的平衡失调是造成血小板聚集,血管痉挛收缩或血栓形成的原因之一。因此,测定两种化合物的含量,在基础药理学理论研究,临床血栓形成病的发病预测,疗效判断具有十分重要的意义。但由于 TXA₂ 和 PGI₂ 的不稳定性,目前难以直接测定,故国内外均以测定 TXB₂ 和 6-Keto-PGF_{1α} 作为判断其浓度的指标。

内毒素作用于血管内皮细胞、血小板和中性粒细胞,促使血小板聚集,血流受阻。同时,激活补体,使血管扩张,大量血液淤积在微循环内,回心血量和心输出量减少,血压降低。实验已证明,人参二醇组皂苷能够改善微循环状态,扩张微动脉和加快血流速度,对内毒素休克具有保护作用^[8]。本实验观察到,人参二醇组皂苷能够明显改善休克大鼠的低血压状态,降低 6-Keto-PGF_{1α} 和 TXB₂ 含量。给大鼠注射 LPS 4 h 后,PDS 中、大剂量组的肝组织中 TXB₂ 及 6-Keto-PGF_{1α} 含量均低于 LPS 组。6-Keto-PGF_{1α}/TXB₂ 在中剂量组最低,显著低于 LPS 组。说明人参二醇组皂苷发挥抗休克作用与体内 TXB₂ 及 6-Keto-PGF_{1α} 含量有关,且发挥药理作用以中等剂量最为适宜,过大

过小效果均不理想。上述结果与大鼠 MAP 及 4 h 死亡率密切相关。Ghuysen A 等发现 TXA₂ 受体拮抗剂可减少猪内毒素休克的发生^[9]。表明 TXA₂ 和 PGI₂ 的含量变化在感染性休克中发挥重要作用。人参二醇组皂苷抗休克的机制可能通过阻止 LPS 与其受体结合,减轻 LPS 对机体的损伤作用有关。至于人参二醇组皂苷是通过何种方式阻碍 LPS 与内皮细胞的受体结合还有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] Poli-de-Figueiredo L F, Garrido A G, Nakagawa N, et al. Experimental models of sepsis and their clinical relevance[J]. Shock, 2008, 30(Suppl 1):53.
- [2] 李凤娥,孔繁利,孙新,等. 人参二醇组皂苷(PDS)对血脂、血清 NO、MDA 含量、SOD 活力的影响[J]. 中国健康医学,2009,21(11):2653.
- [3] 于晓风,曲绍春,刘巍,等. 西洋参茎叶 20s-原人参二醇组皂苷对实验性脑缺血大鼠血小板功能及血液流变学的影响[J]. 中药材,2011,34(02):272.
- [4] 韩冬,于晓风,曲绍春,等. 人参二醇组皂苷对心肌梗死后心室重构大鼠心脏形态学及血流动力学的影响[J]. 中国老年学杂志,2011,31(01):57.
- [5] 陈立波,王师,刘玉梅,等. 人参二醇组皂苷对体外循环心内直视手术患儿免疫功能的影响[J]. 中国药学杂志,1999,34(1):37.
- [6] 谢新生,张秀丽,高聆. 一氧化氮对白血病 HL-60 细胞作用的研究[J]. 中国现代医学杂志,2002,23(1):37.
- [7] Jones S B, Romano F D. Plasma catecholamines in the conscious rat during endotoxemia [J]. Circ Shock, 1984,14(3):189.
- [8] 唐笑迪,孙晓霞,王健春. 人参二醇组皂苷对感染性休克大鼠血液流变性及微循环的影响[J]. 老年医学杂志,2009,29(12):3044.
- [9] Ghuysen A, Dogné J M, Chiap P, et al. Pharmacological profile and therapeutic potential of BM-573, a combined thromboxane receptor antagonist and synthase inhibitor [J]. Cardiovasc Drug Rev, 2005, 23(1):1.

[责任编辑 聂淑琴]