

人参二醇皂苷对失血性休克犬过氧化脂质和超微结构的影响

刘洁, 夏映红, 李天舒, 张大威, 赵雪俭*
(吉林大学基础医学院, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的: 探讨人参二醇组皂苷(PDS)对失血性休克犬血清自由基及心肌细胞超微结构的影响。方法: 制备犬失血性休克病理模型, 动脉放血至平均动脉压(MAP)在5.33 kPa以下, 然后给予PDS 12.5, 25 mg/kg, 地塞米松磷酸钠注射液(DXMT) 1 mg/kg, 均静脉滴注。观察血清氧自由基活性及心肌细胞电镜改变。结果: PDS能明显增强血清超氧化物歧化酶(SOD)的活性, 降低血清丙二醛(MDA)的含量; 减轻心肌细胞超微结构的损伤程度。结论: PDS通过抗脂质过氧化损伤, 对失血性休克犬心脏具有保护作用。

[关键词] 人参二醇皂苷; 失血性休克; 过氧化脂质; 超微结构

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)07-0041-03

人参二醇组皂苷(Panaxadiol Saponins, PDS)系从人参茎叶中提取纯化所得, 是以20(S)-Protopanaxadiol为苷元的人参皂苷, 属于三萜化合物, 主要包含人参皂苷单体成分: Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd^[1]。近代研究资料表明PDS具有抗休克、抗心肌缺血再灌注以及免疫调节等多种生物学功能^[2-4]。本实验建立了失血性休克动物模型, 观察PDS对其休克损伤中的自由基代谢和心肌超微结构的影响, 旨在探讨PDS心肌保护作用机制, 为临床应用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 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, 临用时用5%葡萄糖溶液配制成所需浓度; DXMT注射液, 由天津药业集团新郑股份有限公司生产, 批号: 030216; 戊巴比妥钠, 上海化学试剂分装厂, 批号: 050612; 5%葡萄糖注射液, 四平巨能药业有限公司, 批号: 050905; SOD MDA试剂盒均由南京建成生物工程研究所生产, 批号: 20050511和20050415。

1.2 动物 杂种犬, 体重(12~16)kg, 由吉林大学基础医学院实验动物中心提供。

1.3 仪器 722分光光度计由上海医疗设备厂生产; LKB-II型超薄切片机, 瑞士产; JEM-1200EX型透射电子显微镜, 日本产。

2 实验方法

2.1 造模分组给药 杂种犬24只, 雌雄不拘, 动物随机分为4组, 每组6只。分为模型组, 阳性药DXMT组和PDS大、小2个剂量组。以30 mg/kg戊巴比妥钠溶液静脉注射麻醉。常规手术, 分离气管并插管; 分离右侧颈动脉, 插管连接压力换能器, 监测血压; 分离左侧股动脉, 备放血用; 分离左侧股静脉, 备给药用。制备失血性休克模型^[5]: 于股动脉放血至MAP下降至(5.0~5.3)kPa以下, 10 min血压不回升。然后各组分别给药: 模型组给予溶媒5%葡萄糖溶液2 mL/kg, 阳性对照组给予DXMT 1 mg/kg加入溶媒液中, PDS两组分别给予12.5, 25 mg/kg溶于溶媒液中股静脉滴注。

2.2 观察指标

2.2.1 生化检测 取动脉血5 mL离心10 min, 3 000 r·min⁻¹。取血清标本于722分光光度计测定SOD MDA血清含量, 操作方法按试剂盒说明书进行。取血时间为休克前和给药后1, 3, 5 h。

2.2.2 组织学检查 实验结束剪取心脏心尖部1 mm心肌组织, 用生理盐水洗净血液, 滤纸吸去水分, 然后放入4%戊二醛溶液中前固定, 1%锇酸后固定,

[收稿日期] 2006-10-31

[基金项目] 吉林省科技厅自然科学基金资助项目(20030501)

[通讯作者] * 赵雪俭, Tel: (0431) 85632348; E-mail: prorz@jlu.edu.cn

乙醇系列脱水, Epon812 环氧树脂包埋, 超薄切片, 醋酸双氧铀及柠檬酸铅双重染色, 透射电镜下观察心肌超微结构变化。

2.3 统计学处理 所有实验数据以均值 ± 标准差表示, 与模型组进行组间 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异非常显著。

3 结果

3.1 对血清 SOD 和 MDA 的影响 模型组犬休克后血清 SOD 活力显著下降, MDA 含量明显升高。PDS 高、低剂量组治疗后明显增强休克犬血清 SOD 活力, 而降低血清 MDA 含量, 药物作用强度呈剂量依赖性。作用同 DXMT 组相似。与模型组比较有显著性差异, $P < 0.05$, $P < 0.01$, 见表 1。

表 1 PDS 对血清 SOD 和 MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量 (mg/kg)	时间 (h)	SOD (nu/mL)	MDA (nmol/mL)
模型组	—	造模前	72.74± 5.13	6.89± 1.25
		1	70.04± 10.55	7.03± 1.87
		3	64.79± 8.47	8.42± 2.22
		5	60.16± 11.15	9.45± 2.82
地塞米松	150	造模前	71.23± 16.81	7.23± 0.99
		1	75.29± 14.26	5.47± 1.59
		3	86.43± 19.87 ¹⁾	5.81± 0.97 ¹⁾
		5	93.91± 22.54 ²⁾	6.08± 2.42 ¹⁾
PDS	12.5	造模前	66.42± 12.32	7.47± 0.76
		1	70.78± 13.85	5.83± 1.41
		3	78.00± 15.09 ¹⁾	5.67± 1.00 ¹⁾
		5	76.91± 15.22 ¹⁾	6.46± 1.32
	25	造模前	68.82± 17.76	7.28± 0.71
		1	73.56± 18.17	4.70± 1.70 ¹⁾
		3	83.18± 10.21 ²⁾	5.89± 1.89 ¹⁾
		5	77.47± 9.70 ²⁾	6.23± 2.28 ¹⁾

注: 与模型组同时点比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

3.2 对心肌细胞超微结构的影响 电镜观察显示: 模型组心肌细胞超微结构呈现明显的梗死征象, 肌膜破损, 核膜模糊, 细胞核和细胞质均呈空化状改变, 个别细胞呈固缩状; 部分肌丝断裂或溶解; 线粒体排列紊乱, 体积缩小, 大部分呈凝集状改变; 大量心肌润盘解离, 细胞间毛细血管空化状, 染色质趋边凝集, 胞质略空化(图 1)。DXMT 对照组(图 2)和 PDS 高剂量组(图 3)与模型组比较, 均能明显减轻心肌细胞结构的损伤程度, 呈现好转趋势, 肌膜完整;

核结构基本正常; 大部分肌丝排列较规整, 肌节明暗带结构清晰可见; 大部分线粒体结构正常, 有少部分线粒体嵴呈致密状。PDS 低剂量组心肌细胞超微结构的改善虽不如高剂量组, 但较模型组损伤轻, 心肌细胞胞质内偶见肌丝断裂现象; 肌丝间可见糖原颗粒(图 4)。电镜结果说明 PDS 能有效减轻失血性休克心肌细胞的损伤程度。

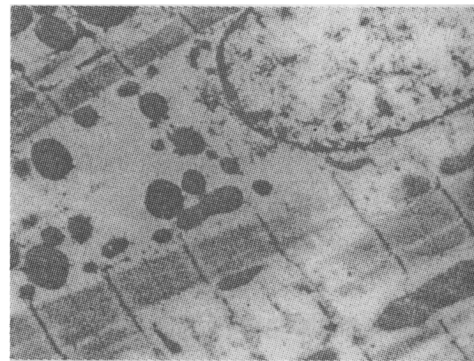


图 1 模型对照组 × 7500

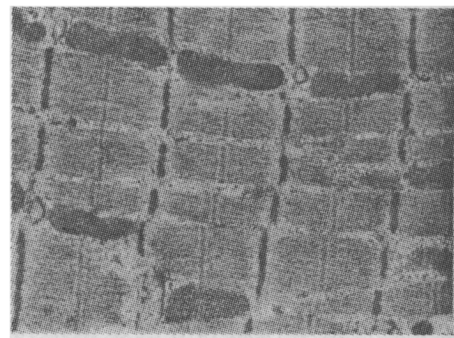


图 2 地塞米松对照组 × 12k

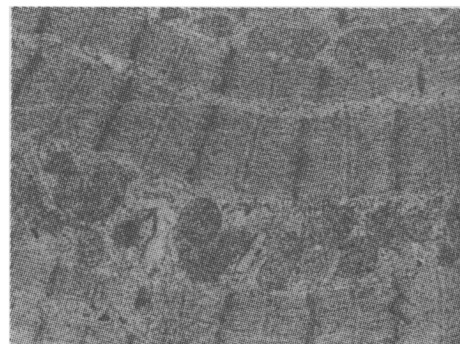


图 3 人参二萜皂苷高剂量组 × 12k

4 讨论

近年来研究资料表明, 低灌流休克造成心肌严重缺血、缺氧、ATP 下降, 高钾、酸中毒等, 使心肌细胞能量耗竭, 导致心肌细胞损伤, 引起大量的氧自由基释放、堆积。氧自由基可攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸(PUFA) 过氧化代谢, 通过脂氢过氧化物的

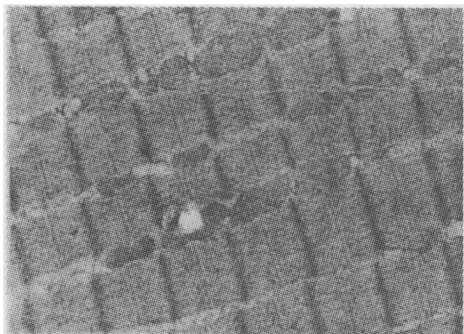


图 4 人参二醇皂苷低剂量组 ×10k

分解产物使细胞损伤进一步加重。MDA 是不饱和脂肪酸过氧化产物, 它的产量多少可表示过氧化代谢程度大小。SOD 是机体清除氧自由基的重要酶, 超氧阴离子在 SOD 的作用下还原成过氧化氢, 经过氧化氢酶的作用变成羟自由基, 最终被还原成水^[6]。实验表明, 随着休克的发展及加重, 血清 MDA 含量显著增加, 而 SOD 水平下降明显, 说明过氧化脂质代谢增强, 自由基清除酶的功能低下。PDS 可显著减少血清 MDA 含量, 增强 SOD 的活性。提示 PDS 具有降低自由基介导的脂质过氧化反应, 提高内源性氧自由基清除系统的功能, 有抗氧化应激作用。

线粒体是细胞中能量储存和供给的场所, 提供生命活动所需要的能量, 以供细胞驱动各种生命活动反应的需要。机体组织器官缺血缺氧, 细胞内 ATP 水平迅速降低, 线粒体功能的下降, 可造成呼吸链、氧化磷酸化障碍, 维持各种生命活动的直接能源下降。实验证明 PDS 对缺血再灌注后心肌线粒体有保护作用^[3]。具报道 PDS 能保护休克状态下血小板形态和细胞膜结构的完整性^[7]。本实验电镜下心肌细胞超微结构显示, 模型组心肌细胞结构损伤严重。

应用 PDS 治疗后能显著提高失血性休克犬有效循环血量, 改善血流动力学状态(另文报道), 进而减轻低血容量引起的心肌缺血缺氧损伤程度, 抑制生物膜脂质过氧化代谢, 保护心肌细胞的结构和功能。

本实验从自由基、形态学角度对犬失血性休克进行实验研究, 证明 PDS 通过提高氧自由基清除剂 SOD 的血清水平, 对抗脂质过氧化代谢, 减轻生物膜脂质过氧化损伤, 起到稳定生物膜, 改善心肌细胞功能, 对失血性休克犬心脏有积极的保护作用。

[参考文献]

- [1] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1997. 1147-1161.
- [2] 王秋静, 刘洁, 刘芬, 等. 人参二醇皂苷对犬急性心源性休克的保护作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2005, 31(4): 557-560.
- [3] 陈立波, 崔东哲, 刘玉梅, 等. 人参二醇组皂苷对家兔缺血再灌注损伤心肌线粒体的影响[J]. 中国中医药科技, 2003, 10(3): 152-153.
- [4] 但汉雄, 刘翠霞, 江南. 人参二醇甙对实验动物的免疫促进作用[J]. 湖北中医学院学报, 2003, 5(1): 36-37.
- [5] 刘洁, 吕文伟, 田建明, 等. 人参皂苷 R_{g2} 对失血性休克犬血流动力学的影响及抗脂质过氧化作用[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(8): 556-558.
- [6] Salvatore C, Dennis P R, Achille P, *et al.* Antioxidant Therapy: A New pharmacological Approach in Shock, Inflammation, and Ischemia/Reperfusion Injury [J]. *Pharmacol Rev*, 2001, 53(1): 135-159.
- [7] 赵丹, 林桦, 潘力, 等. 人参二醇皂苷对失血性休克犬血清 5-HT 的影响及对血小板的保护作用[J]. 中国病理生理杂志, 1992, 8(1): 50-54.