

人参皂苷 R_{g2}对内毒素性血管内凝血致心肌损伤及血液流变学的影响

张志伟¹, 赵永娟², 叶金梅¹, 田建明¹, 郭伟芳¹, 李浩¹, 李龙云¹, 金毅^{2*}

(1. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021; 2. 青岛大学医学院, 山东 青岛 266021)

摘要: 目的 观察人参皂苷 R_{g2}对内毒素所致弥漫性血管内凝血(DIC)引起大鼠心肌损伤的保护作用及血液流变学的影响。方法 大肠杆菌内毒素 0.5 mg/kg iv, 4 h 后人参皂苷 R_{g2} 2.5, 5.0, 10 mg/kg iv, 给药后 1 h, 测定血液流变学指标, 并取心肌用生化方法测定心肌肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、游离脂肪酸(FFA), 用放免法测定血清 Ang-⁻。大肠杆菌内毒素 8 mg/kg iv, 同时 iv 人参皂苷 R_{g2} 2.5, 5.0, 10 mg/kg, 观察小鼠 24 h 内的死亡率。结果 人参皂苷 R_{g2}可明显减少心肌 CK、LDH 的外漏, 降低 MDA 和 FFA 含量, 降低血清 Ang-⁻ 含量, 改善内毒素所致的血液流变学变化, 并降低小鼠 24 h 内死亡率。结论 人参皂苷 R_{g2}对内毒素性 DIC 引起的心肌损伤具有保护作用和改善血液流变学变化, 能降低内毒素休克死亡率。

关键词: 人参皂苷 R_{g2}; 内毒素; 心肌损伤; 血液流变学

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0814-03

Effects of ginsenoside R_{g2} on myocardial damage induced by endotoxin diffuse intravascular coagulation and hemorrheology

ZHANG Zhi-wei¹, ZHAO Yong-juan², YE Jin-mei¹, TIAN Jian-ming¹, GUO Wei-fang¹, LI Hao¹, LI Long-yun¹, JIN Yi²

(1. Jilin Academy of TCM and Chinese Materia Medica, Changchun 130021, China; 2. Medical College of Qingdao University, Qingdao 266021, China)

Abstract: **Object** To observe the effects of ginsenoside R_{g2} on protecting myocardium from damage induced by *Escherichia coli* endotoxin (ET) resulting in diffuse intravascular coagulation (DIC) and hemorrheology in rats. **Methods** The rats were iv 0.5 mg/kg ET, after 4 h followed 2.5, 5.0, 10 mg/kg ginsenoside R_{g2}, and then 1 h later hemorrheology was tested, angiotensin⁻ in serum was measured by RIA method and CK, LDH, MDA, FFA of rat myocardium were measured by biochemical methods. The mortality was observed within 24 h after ET 8 mg/kg and ginsenoside R_{g2} 2.5, 5.0, 10 mg/kg were injected (iv) in mice, respectively. **Results** Ginsenoside R_{g2} decreased obviously activities of CK and LDH, as well as contents of MDA and FFA in the myocardium, declined Ang-⁻ level of serum in rats, and could adjust the abnormal hemorrheology induced by ET, and decreased the mortality of endotoxic shock within 24 h. **Conclusion** Ginsenoside R_{g2} has the protective effect of myocardial damage induced by DIC and improves the hemorrheologic change. It could decrease the mortality of ET shock.

Key words: ginsenoside R_{g2}; endotoxin (ET); myocardial damage; hemorrheology

内毒素(endotoxin, ET)可引起机体多脏器功能和形态学及凝血系统的改变,对心肌损伤和血液流变学的影响只是其中的一部分,改善内毒素引起的心肌损伤和血液流变学变化,是纠正内毒素引起休克以至死亡的重要措施之一。本研究用人参皂苷 R_{g2}观察其对内毒素性弥漫性血管内凝血(DIC)所致心肌损伤及血液流变学的影响,为该药治疗中毒

性休克奠定基础。

1 材料

1.1 动物: Wistar 大鼠, 体重 180 ~ 230 g, 雌雄各半, 由山东省海洋药物研究所动物室提供, 清洁二级。

1.2 药品: 人参皂苷 R_{g2}, 由吉林省中医中药研究院提供; 参麦注射液, 华西医科大学制药厂, 批号:

* 收稿日期: 2002-02-23

基金项目: 国家科委“九五”期间重大项目“1035”工程项目(No. 96-901-01-12)

作者简介: 张志伟(1954-), 男, 吉林省吉林市人, 助理研究员, 1974年毕业于吉林医学院, 同年分配至吉林省中医中药研究院, 主要从事中药药理学研究工作。Tel: (0431)5960906

970602; 肝素钠, 徐州生物生化制药厂, 批号: 970422; 大肠杆菌内毒素 (Sigma 公司, 0111: B4)。

2 方法

2.1 大鼠内毒素性 DIC 致心肌损伤和血液流变学测定: Wistar 大鼠 70 只, 随机均分为 7 组, 分别为生理盐水对照组、模型对照组、人参皂苷 R_{g2} 2.5, 5.0 与 10.0 mg/kg 组、参麦注射液组及肝素钠注射液组。于给药前 1 d 开始禁食不禁水 16 h, 除对照组 iv 生理盐水 10 mL/kg 外, 其余各组大鼠均 iv ET 0.5 mg/kg, 4 h 后各组分别注射生理盐水、溶媒、人参皂苷 R_{g2} 2.5, 5.0, 10 mg/kg、参麦注射液 0.5 mL/kg, 肝素钠注射液 100 U/kg, 给药 1 h 后, ip 3% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉, 腹主动脉采血, 抗凝, 用 LIANG-100 电脑血粘度计 (上海医科大学) 测定全血粘度、血浆粘度、红细胞聚集指数。并参照文献方法^[1]测定纤维蛋白原含量。用 SYSMEXF-820 血球计数仪 (日本东亚) 测定血小板计数; 余血液分离血清, 按北京北方试剂研究所提供的药盒说明书用放免法测定 Ang-1 含量。取心肌, 在冰浴下制成 10% 匀浆, 离心, 取上清, 用南京建成生物工程研究所提供的 CK, LDH, MDA 试剂盒说明书操作, FFA 测定用一次提取法, 心肌匀浆蛋白测定用双缩脲法。

2.2 小鼠内毒素性休克死亡率测定: 昆明种小鼠 75 只, 随机分为 5 组 (每组雄性 8 只, 雌性 7 只): 溶媒对照组、人参皂苷 R_{g2} 2.5, 5.0, 10 mg/kg 组、

参麦注射液 1.0 mL/kg 组。于实验前开始禁食不禁水 16 h, 各组分别注射 ET 8 mg/kg 后 0.5 h, 分别 iv 溶媒、人参皂苷 R_{g2} 2.5, 5.0, 10 mg/kg、参麦注射液 1.0 mL/kg, 观察各组小鼠给予内毒素后 24 h 内的死亡率。

2.3 数据处理: 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 显著性检验采用组间 t 检验; 计数资料采用确切概率法。

3 结果

3.1 人参皂苷 R_{g2}对内毒素性心肌损伤大鼠心肌 CK, LDH, MDA, FFA, Ang-1 的影响: 由表 1 所见, 与模型组比较, 人参皂苷 R_{g2}可明显降低血清 Ang-1 含量, 升高心肌 CK, LDH 活性, 表明心肌细胞膜通透性降低, CK 和 LDH 的漏出减少, 并且降低心肌 FFA 和 MDA 含量。

3.2 人参皂苷 R_{g2}对内毒素引起大鼠血液流变学改变的影响: 由表 2 所见, 给予内毒素的模型组大鼠全血粘度、红细胞聚集指数、纤维蛋白原含量及血小板数明显低于对照组, 表明给予 ET 0.5 mg/kg 后 5 h, 大鼠血液流变学正处于低凝状态, 给予肝素、参麦注射液及人参皂苷 R_{g2}可不同程度改善上述指标变化, 而血浆粘度和红细胞压积无明显变化, 给予人参皂苷 R_{g2}后血液流变学的改变与肝素的作用一致。

3.3 人参皂苷 R_{g2}对内毒素所致小鼠死亡率的影响: 由表 3 所见, 人参皂苷 R_{g2} 2.5, 5.0, 10 mg/kg 可明显降低内毒素 8 mg/kg 所致的小鼠死亡百分率。

表 1 人参皂苷 R_{g2}对内毒素所致 DIC 大鼠心肌 CK、LDH、FFA、MDA 及血浆 Ang-1 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	Ang-1 (pg/mL)	CK (U/mg·pro)	LDH (U/mg·pro)	FFA (mmol/100mg)	MDA (mmol/100mg)
正常对照	-	679.3 ± 147.05(9)	324.9 ± 220.42(10)	4 432.7 ± 2 438.10(9)	136.4 ± 69.90(8)	846.52 ± 442.84(10)
模型对照	-	894.7 ± 248.92(9)*	147.5 ± 87.88(9)*	1 850.7 ± 906.77(8)**	203.9 ± 40.88(8)	1 799.28 ± 1 290.68(9)*
参麦注射液	1.0 mL/kg	773.1 ± 216.74(10)	238.5 ± 169.16(10)	2 907.0 ± 1 909.97(10)	136.4 ± 58.85(8)	1 061.52 ± 527.04(11)
肝素钠	100 U/kg	829.7 ± 211.20(8)	332.2 ± 111.55(10)	3 521.5 ± 1 238.60(10)		1 173.80 ± 445.51(9)
R _{g2}	10	618.7 ± 102.33(9)	312.0 ± 163.28(8)	3 720.2 ± 1 073.57(9)	146.1 ± 53.75(9)	829.91 ± 439.61(10)
	5	648.7 ± 185.50(8)	286.0 ± 171.43(8)	3 828.8 ± 2 051.60(9)	151.4 ± 42.20(9)	1 098.39 ± 540.18(10)
	2.5	686.9 ± 267.10(8)	334.2 ± 170.86(10)	3 606.4 ± 1 834.81(10)	148.0 ± 51.46(8)	1 246.77 ± 464.24(10)

与正常对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01; 与模型对照组比较: P < 0.05 P < 0.01(表中括号内数字为 n 值)

表 2 人参皂苷 R_{g2}对内毒素所致 DIC 大鼠血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	n	全血粘度		血浆粘度	红细胞聚集指数	血小板 (1 × 10 ⁹ /L)	纤维蛋白原 (mg/L)
			低切 20 s ⁻¹	高切 80 s ⁻¹				
正常对照	-	10	25.16 ± 1.95	10.61 ± 1.26	1.60 ± 0.05	2.25 ± 0.27	461.0 ± 54.44	3 896 ± 745.3
模型对照	-	10	10.14 ± 3.73**	6.51 ± 1.49*	1.60 ± 0.16	1.58 ± 0.15**	178.1 ± 60.90**	2 102 ± 259.7**
肝素钠	100 U/kg	10	15.10 ± 3.43	8.44 ± 1.59	1.60 ± 0.07	1.90 ± 0.15	217.4 ± 46.22	2 651 ± 249.2
参麦注射液	1.0 mL/kg	9	16.91 ± 1.51	9.20 ± 0.64	1.58 ± 0.05	1.84 ± 0.11	288.9 ± 40.25	2 794 ± 437.4
R _{g2}	10	10	14.79 ± 1.66	8.65 ± 0.54	1.59 ± 0.05	1.71 ± 0.14	252.7 ± 37.11	2 571 ± 334.7
	5	10	21.98 ± 3.50	10.14 ± 1.20	1.58 ± 0.04	2.16 ± 0.21	249.6 ± 79.04	2 664 ± 616.1
	2.5	10	14.06 ± 1.41	8.23 ± 0.52	1.66 ± 0.10	1.66 ± 0.12	227.7 ± 90.54	2 859 ± 719.0

与正常对照组比较: * P < 0.01 ** P < 0.001; 与模型对照组比较: P < 0.05 P < 0.01 P < 0.001

表 3 人参皂苷 R_{g2}对内毒素致小鼠死亡率的影响

组别	剂量 (mg/kg)	n	死亡数	死亡率 (%)
溶媒对照	-	15	12	80
R _{g2}	2.5	15	6	40
	5	15	4	26.47*
	10	15	4	26.67*
参麦注射液	1	15	7	46.67

与对照组比较: * P < 0.05

4 讨论

内毒素引起 DIC 时,除血流动力学和微循环可发生明显变化外^[2],心肌^[3,4]、肺、肝、肾同时也发生病理改变^[5],自由基生成增加^[6],体液酸-碱、电解质平衡遭到破坏,大量 Ca²⁺ 流入细胞内,使组织细胞内发生钙超载^[7],逐渐引起细胞变性,线粒体结构破坏,ATP 生成减少,出现循环、呼吸、消化、代谢多系统功能衰竭,血液系统在内毒素作用下发生高凝、低凝及继发性纤溶亢进,导致多组织器官缺血缺氧甚至衰竭,直至引起死亡。

人参是祖国医学常用来救治多种休克的药物,人参皂苷 R_{g2}是其中单体成分之一,研究表明,人参中含有多种成分,预防用药具有抗内毒素引起的 DIC 作用,增加组织血流量,抑制血小板聚集,抑制纤维蛋白降解,减少纤维蛋白原降解产物 (FDP) 的生成^[8]。研究表明,人参皂苷 R_{g2}对乙酰胆碱诱发的 Na⁺、Ca²⁺ 内流以及儿茶酚胺的释放具有强烈的抑制作用^[9],并具有细胞钙通道阻滞和抗自由基作用^[10]。本实验依文献^[8]方法制造大鼠 DIC 模型,应用人参皂苷 R_{g2}观察其对大鼠内毒素性 DIC 心肌损伤和血液流变学的影响。表明人参皂苷 R_{g2}可通过抑制 Ang- 的释放,使 Ang- 通过磷脂酰肌醇途径促 Ca²⁺ 内流而引起细胞钙超负荷过程及组织损伤过程被抑制,从而降低细胞膜通透性,使心肌细胞 CK、LDH 外漏和 FFA、MDA 生成减少,从而改善由内毒素造成的心肌损伤,这些作用与人参皂苷 R_{g2}抑制儿茶酚胺的释放、Ca²⁺ 内流及自由基生

成有密切关系,另外,在给予内毒素后 5 h,可使大鼠血液粘滞度降低,可能是由于内毒素导致大鼠纤溶系统激活,纤维蛋白原降低和红细胞聚集引起,而给予内毒素 4 h,注射肝素和人参皂苷 R_{g2},呈现的血液流变学改变趋向生理盐水对照组,表现其对血流变学异常的调节作用,因而对 DIC 形成、发展过程有对抗作用及对心肌血氧供应的改善和心肌损伤有保护作用。这些观察有助于进一步揭示人参皂苷 R_{g2}抗内毒素性休克的作用机制。本实验中某些指标量效关系并不明显,这可能因为选用剂量或给药后取血时间均对药物量效关系有影响。本实验中各剂量组所观察的多数指标均被恢复至正常水平,故未能显出量效关系。

参考文献:

- [1] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 第二版. 北京:人民卫生出版社,1991.
- [2] 石一鸣,姚定方,杨林,等. 内毒素休克时血浆组胺、儿茶酚胺的含量与血液动力学和微循环变化的关系[J]. 第二军医大学学报,1986,7(2):75-78.
- [3] Cho T H, Kwak J S, Sohn T J. Effects of escherichia coli endotoxin on structure and permeability of myocardial capillaries [J]. Acta Pathol Jpn, 1991, 41(1):12-14.
- [4] 胡萍,罗正曜,周启明,等. U74500A 去铁胺对内毒素血症小鼠心脏损伤的保护作用[J]. 中国病理生理杂志,1992,8(3):315.
- [5] 黄生宁,郭炯. 小鼠内毒素休克某些血液变化和细胞超微结构损伤的发生[J]. 中国病理生理杂志,1994,10(5):454-458.
- [6] 钟本土,甘卉,赵雪俭,等. 内毒素休克大鼠过氧化脂质与单胺类递质的变化[J]. 中国病理生理杂志,1992,8(3):315.
- [7] 王晓明,张仪华,吴其夏. 内毒素诱导血小板磷脂酰肌醇代谢和胞浆 [Ca²⁺]_i 的变化研究[J]. 中国病理生理杂志,1992,8(3):313.
- [8] 松田秀秋,久保道德,水野瑞夫. 药用人参の药理学研究(第8版)循环器系に及ぼす赤参と白参影响[J]. 生药学杂志,1987,42(2):125-128.
- [9] Tachikawa E, Kudo K, Kashimoto T, et al. Ginseng saponins reduce acetylcholine-evoked Na⁺ influx and catecholamine secretion in bovine adrenal chromaffin cells [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1995,273(2):629-632.
- [10] 江岩,刘伟,王晓明,等. 人参三醇皂苷对培养心肌细胞的钙通道阻滞作用和抗自由基作用[J]. 中国药理学报,1996,17(2):138-141.

《特产研究》征订启事:

《特产研究》是中华人民共和国农业部主管、中国农业科学院特产研究所和中国农学会特产学会联合主办的国家级农牧特产学术期刊。主要报道野生经济动植物的引种驯化、遗传育种、饲养繁殖、栽培管理、病虫害防治、产品加工、储藏保鲜等方面的最新科研成果。介绍农牧特产业的新技术、新方法、新经验等。

季刊,16开本64页,季末月出版,每期定价5.00元,年价20.00元。全国各地邮局(所)均可订阅,邮发代号12-182。也可通过当地邮局汇款至本刊编辑部直接订阅。

地址:吉林省吉林市左家镇鹿鸣大街15号《特产研究》编辑部

联系人:周淑荣

邮编:132109

电话:(0432)4702060