

降低 bax 基因的表达, 细胞内 Ca^{2+} 浓度及 caspase-3 活性。已有研究发现, 黄芪提取物能够促进缺氧复氧损伤的神经元细胞 pAkt 表达增加^[6]。本研究在 AST 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡具有保护作用的基础上, 应用 PI3K/Akt 抑制剂 LY294002, 发现阻断 PI3K/Akt 通路后, AST 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞损伤的保护作用被部分取消。本实验还通过 Western blotting 检测显示, AST 能够上调 pAkt 的表达, 这都说明 AST 的保护作用是部分依赖于 PI3K/Akt 通路的。

总之, AST 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞氧化损伤具有一定的保护作用, 其作用机制与其激活 PI3K/Akt 细胞信号通路有关。

参考文献:

- [1] Lakshmi S V, Padmaja G, Kuppusamy P, *et al.* Oxidative stress in cardiovascular disease [J]. *Indian J Biochem Biophys*, 2009, 46(6): 421-440
- [2] 刘艳霞, 刘在萍, 焦建杰, 等. 黄芪苷 IV 对正常和心功能受抑制大鼠左心室心肌力学的影响 [J]. 中草药, 2001, 32(4): 332-334
- [3] Zhao Z Y, Wang W T, Wang F, *et al.* Effects of Astragaloside IV on heart failure in rats [J/OL]. *Chin Med*, 2009, doi: 10.1186/1749-8546-4-6

- [4] Wang W T, Zhao Z Y, Han Y M, *et al.* Effects of astragaloside IV derivate on heart failure in rats [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(1): 48-53
- [5] Hu J Y, Han J, Chu Z G, *et al.* Astragaloside IV attenuates hypoxia induced cardiomyocyte damage in rats by upregulating superoxide dismutase 1 levels [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(4): 351-357.
- [6] 朱芬芳, 尹艳艳, 李卫平, 等. 黄芪提取物对缺氧/复氧诱导神经元损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(2): 213-216
- [7] Wang J, Li J. Activated protein C: a potential cardioprotective factor against ischemic injury during ischemia/reperfusion [J]. *Am J Transl Res*, 2009, 1(4): 381-392
- [8] Guo R X, Wei L H, Tu Z, *et al.* 17 beta estradiol activates PI3K/Akt signaling pathway by estrogen receptor (ER)-dependent and ER-independent mechanisms in endometrial cancer cells [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 99(1): 9-18
- [9] 苏丹, 严浩然, 张蓓蓓, 等. 黄芪对慢性心衰大鼠心功能及心肌肌浆网钙泵基因表达的影响 [J]. 中药材, 2009, 32(1): 85-88.
- [10] Xu X L, Chen X J, Ji H, *et al.* Astragaloside IV improved intracellular calcium handling in hypoxia reoxygenated cardiomyocytes via the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase [J]. *Pharmacology*, 2008, 81(4): 325-332
- [11] Miyamoto S, Murphy A N, Brown J H. Akt mediated mitochondrial protection in the heart: metabolic and survival pathways to the rescue [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2009, 41(2): 169-180

蒺藜皂苷预适应对心肌缺血再灌注损伤大鼠心功能的影响

张爽, 李红, 魏征人, 梁蕾, 张问, 杨世杰
(吉林大学基础医学院 药理学教研室, 吉林 长春 130021)

摘要: 目的 建立 Langendorff 离体心脏灌流系统, 制备缺血再灌注实验模型, 观察蒺藜皂苷 (gross saponins from *Tribulus terrestris*, GSTT) 预适应对大鼠心肌缺血再灌注损伤心功能的影响。方法 56 只大鼠随机分为 7 组, 正常对照组、缺血/再灌注组 (I/R)、心肌缺血预适应组 (IPC)、阳性药腺苷组、GSTT 200、100、50 mg/L 组, 缺血 30 min, 再灌注 40 min, 记录给药前、再灌注后 5、10、15、20、30 min 心率 (HR)、左室收缩压 (LVSP) 等心功能指标, 并同步记录冠脉流量 (CF), 同时测定心肌组织 ATP 水平。结果 I/R 组再灌注后 5、10、15、20、30 min HR、LVSP 明显下降 ($P < 0.001$); IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组再灌注后 5、10、15、20、30 min HR、LVSP 均明显升高 ($P < 0.05, 0.01$); I/R 组再灌注后各时间点 (5、10、15、20、30 min) CF 明显减少 ($P < 0.001$); 与 I/R 组相比, IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组再灌注后各时间点 (5、10、15、20、30 min) CF 均增加 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); I/R 组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶活力明显降低 ($P < 0.001$)。与 I/R 组相比, IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶活力明显升高 ($P < 0.05, 0.01$)。I/R 组的 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ ATP 酶活力有增高趋势, 与 I/R 组相比, IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ ATP 酶活力明显升高 ($P < 0.05, 0.01$)。结论 GSTT 可抑制心功能低下, 舒张冠状动脉, 增加冠脉血流量而改善心肌的供血、供氧; GSTT 还可增加心肌组织 ATP 酶活性, 通过抑制 $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ 交换, 使得细胞摄取的 Ca^{2+} 减少。

关键词: 蒺藜皂苷; 缺血再灌注损伤; 缺血预适应; 心功能; ATP 酶

中图分类号: R286.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2010)06-0959-05

①收稿日期: 2009-10-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30472020, 30672654); 高校博士点基金资助项目 (2005183129)

作者简介: 张爽 (1975-), 女, 吉林省长春市人, 药理学博士, 吉林大学电子科学与工程学院讲师, 研究方向为分子药理学。

E-mail: mariazs@163.com

* 通讯作者 李红 E-mail: LHong@jlu.edu.cn

蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 为蒺藜科蒺藜属植物, 又名刺蒺藜、硬蒺藜、白蒺藜, 是中医在治疗心脑血管性疾病中应用较多的一味中药。蒺藜皂苷 (gross saponins from *T. terrestris*, GSTT) 为蒺藜全草提取的有效成分, 是以呋甾醇和螺甾醇皂苷为主的多种皂苷混合物。研究表明 GSTT 具有降低血压、调血脂、降血糖、舒张血管、抗血小板聚集等作用, 对大鼠结扎冠状动脉左前降支所致的心肌缺血、对离体心脏缺血再灌注损伤、对体外培养的心肌细胞缺氧再给氧损伤以及对急性脑缺血损伤等具有保护作用^[1-5]。也有文献报道, 应用含有 GSTT 的营养液对离体大鼠心脏灌流, 减少细胞内钙离子浓度, 使心肌收缩力下降, 减少心肌耗能保护心脏^[6]。本实验采用 Langendorff 离体心脏灌流模型, 在大鼠心肌缺血再灌注损伤前, 预先用含有 GSTT 的心肌营养液灌流代替短暂的缺血预刺激, 在心肌复灌时灌流液中不再加入 GSTT, 观察 GSTT 是否可对抗心肌缺血再灌注损伤。

1 材料与方法

1.1 实验动物: 健康 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体质量 280~320 g, 由吉林大学基础医学院动物实验研究中心提供。

1.2 药品与仪器: 注射用蒺藜皂苷, 吉林敖东洮南药业股份有限公司, 批号 050601, 以 K-H 营养液配制; 腺苷注射液, 沈阳光大制药有限公司, 批号 07020603。ATP 酶试剂盒 (不离心), K-H 营养液各成分均为市售国产分析纯试剂, 以蒸馏水配制。ESJ60—4 电子天平, 沈阳龙腾电子称量仪器有限公司; 755B 紫外可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; RM—6000 八道生理记录仪, 日本; HL—2 型横速输液泵, 上海精科公司; 恒温循环水浴箱, 北京医疗设备厂。

1.3 心肌缺血再灌注损伤模型的建立: 大鼠用 20% 乌拉坦 (1.5 g/kg) ip 麻醉, 立即开胸取出心脏, 放入 4℃ K-H 营养液中, 轻轻挤压心室, 使心腔中残余血排出, 后迅速行主动脉插管, 将心脏连于 Langendorff 灌流系统上, 心脏复跳后先以 10 mL/min 流速主动脉逆行灌流 10 min。继之行肺静脉插管, 以备顺向灌流; 再向左心室插管, 记录左室收缩压。逆向灌流 10 min, 待心脏活动稳定后, 改为顺向灌流, 整个实验过程中持续通入 95% O₂、5% CO₂ 混合气体, 并且保持离体心脏在前负荷 1.17 kPa, 后负荷 5.38 kPa 的条件下进行工作。实验中灌流液保持在 (37±5)℃ 左右, 且 pH 值保持

7.2~7.4。以 RM—6000 型记录仪同步记录左室收缩压 (LVSP) 及心率 (HR), 同时记录冠脉流量 (CF)。纸速为 25 mm/s, 定标: 1 mm=1 mV。

心脏搏动稳定后按给药前, 再灌注后 5、10、15、20、30 min 的顺序观察。给药前、再灌注后同步记录诸指标于 RM—6000 型记录仪上。

K-H 液成分 (mmol/L): NaCl 118.5、KCl 4.70、CaCl₂ 22.50、MgSO₄ 41.20、NaHCO₃ 25.00、KH₂PO₄ 1.20、葡萄糖 11.10, 以蒸馏水配制, 经 0.45 μm 滤器滤过。

1.4 实验分组: 将 56 只 Wistar 大鼠随机分为 7 组, 每组 8 只。①正常对照组: 以 K-H 液持续灌流 100 min。②缺血/再灌 (I/R) 组: 以 K-H 液稳定灌流后, 停灌 30 min (保温, 保湿), 再恢复 K-H 液灌流 40 min。③心肌缺血预适应 (IPC) 组: 以 K-H 液稳定灌流后, 先停止灌流 5 min, 再复灌流 5 min, 重复 3 次, 然后停灌 30 min, 后再恢复 K-H 液灌流 40 min。④阳性药腺苷组: 以 K-H 液稳定灌流后, 先以含腺苷 (2.67 mg/L) K-H 液灌流 15 min, 然后停灌 30 min, 再灌 40 min。⑤GSTT 高剂量组: 以 K-H 液稳定灌流后, 先以含 GSTT 200 mg/L K-H 液灌流 15 min, 然后停灌 30 min, 再灌 40 min。⑥GSTT 中剂量组: 以 K-H 液稳定灌流后, 先以含 GSTT 100 mg/L K-H 液灌流 15 min, 然后停灌 30 min, 再灌 40 min。⑦GSTT 低剂量组: 以 K-H 液稳定灌流后, 以含 GSTT 50 mg/L K-H 液灌流 15 min, 然后停灌 30 min, 再灌 40 min。

1.5 心功能及心电图记录: 备 3 根铂金丝作为电极, 两根分别置于左右心房, 一根置心尖部, 记录表面心电图。用一充满生理盐水的内径 0.3 cm 的斜面硬度适中的塑料导管自心尖部插入左心室, 另一端连接在压力换能器上, 记录给药前, 再灌后 5、10、15、20、30 min LVSP、HR 等心功能指标并同步记录 CF。

1.6 心肌组织 ATP 的测定: 实验完毕, 取下心脏, 留取左心室相同部位的部分心肌组织, 准确称取组织质量及体积, 加 9 倍生理盐水制成 10% 匀浆, 4℃ 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 10% 组织匀浆液 0.2 mL 加 0.8 mL 生理盐水稀释成 2% 组织匀浆, 按试剂盒说明书测定 ATP 水平。

1.7 统计学分析: 应用 SPSS 软件对测量结果进行统计处理, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 对离体心脏 HR 的影响: 给药前, 各组间 HR

未见明显差异 ($P > 0.05$)。对照组整个灌流期间 HR 均无明显变化 ($P > 0.05$); I/R 组再灌注后各时间点 (5、10、15、20、30 min) HR 明显下降 ($P < 0.001$); 与 I/R 组相比, IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组再灌注后各时间点

(5、10、15、20、30 min) HR 均有明显升高 ($P < 0.05, 0.01$); GSTT 50 mg/L 预适应组 HR 无明显变化。GSTT 作用存在一定的剂量依赖关系, 结果见表 1。

2.2 对离体心脏 LVSP 的影响: 给药前, 各组间

表 1 GSTT 对大鼠离体心脏缺血再灌注后 HR 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effects of GSTT on heart rate in reperfused ischemic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	$\rho/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	HR/(次 $\cdot \text{min}^{-1}$)					
		给药前	再灌后 5 min	再灌后 10 min	再灌后 15 min	再灌后 20 min	再灌后 30 min
对照	-	181.37 $\pm$ 3.59	180.36 $\pm$ 3.02	180.92 $\pm$ 3.70	180.78 $\pm$ 2.89	180.78 $\pm$ 4.35	180.88 $\pm$ 3.37
I/R	-	182.45 $\pm$ 2.73	157.18 $\pm$ 6.35 $\Delta\Delta\Delta$	171.57 $\pm$ 5.18 $\Delta\Delta\Delta$	172.60 $\pm$ 4.93 $\Delta\Delta\Delta$	176.34 $\pm$ 2.04 $\Delta\Delta\Delta$	176.56 $\pm$ 1.48 $\Delta\Delta\Delta$
IPC	-	182.99 $\pm$ 3.95	178.70 $\pm$ 2.01***	182.64 $\pm$ 2.28	184.70 $\pm$ 2.36*	182.58 $\pm$ 2.49	181.56 $\pm$ 3.05*
腺苷	2.67	181.13 $\pm$ 3.58	174.58 $\pm$ 0.86***	175.78 $\pm$ 1.19*	176.34 $\pm$ 2.03*	178.27 $\pm$ 2.10*	181.08 $\pm$ 3.65***
GSTT	200	181.98 $\pm$ 3.88	174.06 $\pm$ 1.50***	175.22 $\pm$ 1.31	177.48 $\pm$ 2.10*	179.46 $\pm$ 2.59*	181.53 $\pm$ 3.25***
	100	181.24 $\pm$ 3.13	173.71 $\pm$ 1.17***	175.05 $\pm$ 1.32	176.22 $\pm$ 1.42*	177.63 $\pm$ 1.78	178.04 $\pm$ 2.23*
	50	182.10 $\pm$ 2.78	161.68 $\pm$ 4.58	169.83 $\pm$ 3.55	172.46 $\pm$ 2.69	175.83 $\pm$ 1.76	177.89 $\pm$ 1.14

与对照组比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; 与 I/R 组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$

$\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs I/R group

LVSP 未见明显差异 ($P > 0.05$)。对照组在灌流期间 LVSP 无明显变化 ($P > 0.05$); I/R 组再灌注后各时间点 (5、10、15、20、30 min) LVSP 明显下降 ($P < 0.001$); 与 I/R 组相比, IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组再灌注后各时间点 (5、10、15、20、30 min) LVSP 均有明显升高 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); GSTT 50 mg/L 预适应组再灌注后 15、20、30 min 时间点 LVSP 亦有所升高 ($P < 0.05, 0.01$)。GSTT 剂量依赖关系明显, 结果见表 2。

2.3 对离体心脏 CF 的影响: 给药前, 各组 CF 均值未见明显差异 ($P > 0.05$)。对照组整个灌流期间 CF 无明显变化 ($P > 0.05$); I/R 组再灌注后各时间点 (5、10、15、20、30 min) CF 明显减少 ($P < 0.001$); 与 I/R 组相比, IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组再灌注后各时间点 (5、10、15、20、30 min) CF 均增加 ($P < 0.05, 0.01$ 、

0.001); GSTT 50 mg/L 预适应组对 CF 没有明显影响 ($P > 0.05$)。剂量依赖关系明显, 结果见表 3。

2.4 对心肌组织 ATP 酶水平的影响: 再灌后, 与对照组相比, I/R 组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶活力明显降低 ($P < 0.001$)。与 I/R 组相比, IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶活力明显升高 ($P < 0.05, 0.01$), GSTT 50 mg/L 预适应组有增高趋势, 但无统计学意义。不同剂量之间存在一定的剂量依赖关系。对 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ ATP 酶而言, I/R 组的活力反而有增高趋势, 与 I/R 组相比, IPC 组, GSTT 200、100 mg/L 预适应组和腺苷预适应组 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ ATP 酶活力明显升高 ($P < 0.05, 0.01$)。GSTT 50 mg/L 预适应组有增高趋势, 但无统计学意义。不同剂量之间存在一定的剂量依赖关系, 结果见表 4。

3 讨论

影响心肌耗氧量的诸多因素中, 心室壁张力、心

表 2 GSTT 对大鼠离体心脏缺血再灌注后 LVSP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of GSTT on LVSP in reperfused ischemic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	$\rho/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	LVSP/kPa					
		给药前	再灌后 5 min	再灌后 10 min	再灌后 15 min	再灌后 20 min	再灌后 30 min
对照	-	13.37 $\pm$ 0.51	11.85 $\pm$ 0.81	12.32 $\pm$ 0.63	12.23 $\pm$ 0.62	12.78 $\pm$ 0.85	12.91 $\pm$ 1.30
I/R	-	12.95 $\pm$ 0.45	8.77 $\pm$ 0.28 $\Delta\Delta\Delta$	8.97 $\pm$ 0.28 $\Delta\Delta\Delta$	9.46 $\pm$ 0.24 $\Delta\Delta\Delta$	9.79 $\pm$ 0.21 $\Delta\Delta\Delta$	10.00 $\pm$ 0.23 $\Delta\Delta\Delta$
IPC	-	13.26 $\pm$ 0.51	10.18 $\pm$ 0.55*	10.52 $\pm$ 0.83*	11.16 $\pm$ 0.68**	11.63 $\pm$ 0.66**	12.36 $\pm$ 0.58***
腺苷	2.67	12.96 $\pm$ 0.44	10.63 $\pm$ 0.47**	10.73 $\pm$ 0.40*	11.51 $\pm$ 0.33**	12.01 $\pm$ 0.40***	12.73 $\pm$ 0.41***
GSTT	200	12.90 $\pm$ 0.44	10.38 $\pm$ 0.32**	10.88 $\pm$ 0.27**	11.17 $\pm$ 0.19***	11.96 $\pm$ 0.24**	12.68 $\pm$ 0.40***
	100	12.94 $\pm$ 0.47	10.22 $\pm$ 0.15*	10.40 $\pm$ 0.16**	10.59 $\pm$ 0.16**	11.00 $\pm$ 0.19*	11.52 $\pm$ 0.21**
	50	12.92 $\pm$ 0.39	9.20 $\pm$ 0.15	9.50 $\pm$ 0.13	9.69 $\pm$ 0.16*	10.02 $\pm$ 0.27*	10.39 $\pm$ 0.13**

与对照组比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; 与 I/R 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

$\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs I/R group

表 3 GSTT 对大鼠离体心脏缺血再灌注后 CF 的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)
Table 3 Effects of GSTT on CF in reperfused ischemic rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	$\rho/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	CF/($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)					
		给药前	再灌后 5 min	再灌后 10 min	再灌后 15 min	再灌后 20 min	再灌后 30 min
对照	—	8.33 $\pm$ 0.61	7.42 $\pm$ 0.66	8.00 $\pm$ 0.71	7.75 $\pm$ 0.52	8.08 $\pm$ 0.66	8.25 $\pm$ 0.61
I/R	—	8.08 $\pm$ 0.74	3.33 $\pm$ 0.52 $\Delta\Delta\Delta$	3.42 $\pm$ 0.74 $\Delta\Delta\Delta$	4.00 $\pm$ 0.45 $\Delta\Delta\Delta$	5.17 $\pm$ 0.41 $\Delta\Delta\Delta$	5.92 $\pm$ 0.86 $\Delta\Delta\Delta$
IPC	—	8.00 $\pm$ 0.71	4.42 $\pm$ 1.16	5.08 $\pm$ 2.01	5.50 $\pm$ 1.82*	6.50 $\pm$ 1.00**	7.42 $\pm$ 0.58
腺苷	2.67	8.17 $\pm$ 0.68	4.58 $\pm$ 0.49*	5.08 $\pm$ 0.92**	5.67 $\pm$ 0.88*	6.42 $\pm$ 0.49*	7.17 $\pm$ 0.61**
GSTT	200	8.17 $\pm$ 0.68	4.75 $\pm$ 0.52**	5.08 $\pm$ 0.58**	5.58 $\pm$ 0.49***	6.50 $\pm$ 0.63**	7.25 $\pm$ 0.76***
	100	8.17 $\pm$ 0.68	4.42 $\pm$ 0.49*	4.83 $\pm$ 0.61**	5.33 $\pm$ 0.41**	6.08 $\pm$ 0.38*	7.08 $\pm$ 0.80**
	50	8.00 $\pm$ 0.71	3.25 $\pm$ 0.42	3.58 $\pm$ 0.58	4.50 $\pm$ 0.71	5.33 $\pm$ 1.03	6.17 $\pm$ 0.75

与对照组比较: $\Delta\Delta\Delta P<0.001$; 与 I/R 组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$
 $\Delta\Delta\Delta P<0.001$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs I/R group

表 4 GSTT 对大鼠离体心脏缺血再灌注后心肌组织 ATP 酶水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 4 Effects of GSTT on ATPase concentration in myocardial tissue of reperfused ischemic rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	$\rho/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Na^+-K^+ ATPase/	$\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}$ ATPase/
		($\mu\text{mol Pi}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	($\mu\text{mol Pi}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
对照	—	6.47 $\pm$ 0.76	4.97 $\pm$ 0.81
I/R	—	2.91 $\pm$ 0.84 $\Delta\Delta\Delta$	6.30 $\pm$ 1.15 Δ
IPC	—	4.53 $\pm$ 1.07*	8.75 $\pm$ 1.48**
腺苷	2.67	5.91 $\pm$ 1.43**	8.28 $\pm$ 0.98**
GSTT	200	6.23 $\pm$ 1.67**	8.10 $\pm$ 0.65**
	100	4.66 $\pm$ 1.44*	7.81 $\pm$ 1.15*
	50	4.10 $\pm$ 1.28	7.08 $\pm$ 1.73

与对照组比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta\Delta P<0.001$
与 I/R 组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$
 $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta\Delta P<0.001$ vs control group
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs I/R group

Ca^{2+} 交换体反向运转, 将大量 Ca^{2+} 转运到细胞内, 使得细胞内的 Ca^{2+} 增加, 进而导致细胞内钙超载。有研究报道, 抑制 Na^+-K^+ ATP 酶和 $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}$ ATP 酶活性有减弱预处理缩小心肌梗死范围的作用^[11-12], 这说明抗 Ca^{2+} 作用和心肌缺血预适应作用紧密相关。本研究结果表明, 预先给予 GSTT 200、100 mg/L 可使 Na^+-K^+ ATP 酶、 $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}$ ATP 酶活性明显升高, 提示 GSTT 通过抑制 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换, 使得细胞摄取的 Ca^{2+} 减少, 具有良好的抗 Ca^{2+} 超负荷作用, 而 GSTT 对 $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}$ ATP 酶、 Na^+-K^+ ATP 酶活性影响有所不同, 其原因可能是这两种酶在线粒体上的分布和量不同所致, 其具体机制有待进一步研究。

综上所述, 预先给予 GSTT 能诱导对随后缺血/再灌注损伤适应性保护作用, 即可产生药理性预适应保护作用。

参考文献:

[1] 李红, 王秀华, 崔佳乐, 等. 注射用蒺藜皂苷的抗血栓形成作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(1): 14-16.
[2] 姜恩平, 苏学今, 李红, 等. 蒺藜皂苷对 H_2O_2 诱导 PC12 细胞凋亡保护作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2008, 39(9): 1368-1371.
[3] 王思思, 纪影时, 李红, 等. 蒺藜皂苷激活 PKC ϵ 抗氧化应激诱导心肌细胞凋亡的机制 [J]. 药理学学报, 2009, 44(2): 134-139.
[4] 孙巍, 李晶莹, 李红, 等. 蒺藜皂苷对缺血心肌细胞内核转录因子- κB 的作用 [J]. 中草药, 2008, 39(6): 889-892.
[5] 顾关云, 蒋昱. 蒺藜及其同属植物的化学与药理学研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(4): 198-202.
[6] 于昕, 郑丽华, 李红, 等. 蒺藜皂苷对大鼠离体心脏的作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(1): 9-13.
[7] Kaheinen P, Pollesello P, Levijoki J, et al. Effects of levosimendan and milrinone on oxygen consumption in isolated guinea pig heart [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2004, 43(4): 555-561.
[8] 陈月, 曹霞, 李勇, 等. 山参果汁总皂苷对大鼠离体心脏血流动力学的影响 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(4): 504-505.
[9] Wang W T, Zhao Z Y, Han Y M, et al. Effects of astragaloside IV derivative on heart failure in rats [J]. Chin Herb Med, 2010, 2(1): 48-53.
[10] 徐向伟, 王维亨, 赵专友, 等. 狭窄冠脉致犬心肌缺血模型

肌收缩性和心率起主要作用。因此检测 HR、LVSP、CF 等血流动力学参数, 可以正确反映心肌收缩性能^[1-9]。在在体情况下, 由于前、后负荷及神经、体液的影响, 很难正确评价药物对心肌收缩性能的影响^[10]。采用离体灌流后, 排除了以上影响因素, 从而能更好地说明药物对心肌收缩的直接作用。研究表明, GSTT 能增加冠状动脉血流量和心肌血流量, 增加冠状动脉供血供氧; 并能降低冠状动脉阻力, 降低心肌收缩力, 从而降低心肌耗氧量^[6]。本实验结果表明, 大鼠心肌缺血再灌注后, HR、LVSP、CF 均明显降低, 提示缺血再灌注后心功能低下。给予 GSTT 200、100 mg/L 可使 HR、LVSP、CF 值有所增加, 但仍比正常水平低, 提示 GSTT 可能具有调节作用, 能抑制再灌注引起的心功能低下。心肌缺血、缺氧后, ATP 供应不足, 抑制了 Na^+-K^+ ATP 酶、 $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}$ ATP 酶等离子泵的主动性运转及慢钠通道增加等, 导致 Na^+ 内流增多, 使得细胞内 Na^+ 大量积累, 刺激细胞膜的 Na^+ /

- 在清醒与麻醉状态下的比较 [J]. 药物评价研究, 2010, 33 (1): 43-47.
- [11] Baartseheer A, Sehumaehar C A, Belterman C N, et al. [Na⁺]_i and the driving force of the Na⁺/Ca²⁺-exchanger in

- heart failure [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 57(15): 986-995
- [12] Bers D M, Despa S. Cardiac myocytes Ca²⁺ and Na⁺ regulation in normal and failing hearts [J]. *J Pharmacol Sci*, 2006, 100(5): 315

止颤胶囊对帕金森模型大鼠脑内单胺氧化酶 B 的影响

刘亚珍¹, 施雨露², 刘永茂², 万全³

(1. 吉林大学第一医院 药剂科, 吉林 长春 130021; 2 吉林大学白求恩医学院, 吉林 长春 130021;

3. 吉林大学生命科学学院 生物技术系, 吉林 长春 130051)

摘要:目的 探讨止颤胶囊对帕金森病 (PD) 模型大鼠脑内单胺氧化酶 B (MAO-B) 表达的调节作用。方法应用脑内定位注射 6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 方法制备部分损伤 PD 模型; 采用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 对 PD 大鼠脑内 MAO-B mRNA 的表达进行分析; 采用生化法对脑内 MAO-B 活性进行测定。结果 从给药后第 10 天开始, 模型组 MAO-B mRNA 表达明显增加, 扩增产物的量为止颤胶囊的 4.728 倍, 远远高于止颤胶囊组 and 对照组; MAO-B 的活性检测结果与 RT-PCR 分析结果一致, 止颤胶囊对大鼠脑内 MAO-B 活性抑制率大于 40%。结论 止颤胶囊对 PD 大鼠脑内 MAO-B mRNA 表达和活性有下调作用, 可使 6-OHDA 引起的脑内 MAO-B mRNA 高表达得到抑制。

关键词: 止颤胶囊; 帕金森病; 单胺氧化酶 B (MAO-B)

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)06-0963-03

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是一种神经系统疾病, 多发于中老年, 呈缓慢的神经元细胞变性。主要病理特点是黑质致密区多巴胺 (DA) 能神经元严重缺失^[1]。6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 对黑质 DA 能神经元的损伤程度与注入的剂量有关。调整 6-OHDA 的用量可相对保留较多的 DA 能神经元, 从而制造部分损伤的 PD 大鼠模型, 以模拟中、早期 PD 病人的症状^[2]。单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO) 在大脑和周围神经组织中催化生物体产生的胺, 氧化脱氨产生过氧化氢^[3]。因此, MAO-B 活力的变化与 PD 密切相关。

以滋养肝肾、育阴熄风作为根本法则, 由生黄芪、人参、白首乌、女真子、续断、厚朴、川芎为主要组成的止颤胶囊方药具有改善大鼠旋转行为、提高黑质纹状体 DA 量和抗自由基酶活性的作用, 临床应用也取得一定疗效。研究表明止颤胶囊对 PD 模型大鼠血液中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 的量以及小鼠免疫功能均有影响^[4-6]。本实验主要研究止颤胶囊对 PD 模型大鼠脑内 MAO-B 基因表达及活性变化的影响, 为止颤胶囊治疗 PD 研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂: 止颤胶囊由长春中医学院盖国忠教授研制; 6-OHDA 是美国 Sigma 公司产品; Trizol 试剂为美国 Life Technologies; 逆转录试剂盒、Taq 酶、DL-2000 Marker、DEPC、琼脂糖均由日本 Takara 生物工程公司提供; MAO-B 和 β -actin PCR 引物由上海生物工程技术服务公司合成; 溴乙锭为瑞士 Fluka 产品, 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器: 日本 Narishige 公司生产的 WDT-II 脑立体定位仪; 日本岛津公司生产的 UV-7200 紫外分光光度计; 美国 PE 公司生产的 9700 型 PCR 仪; 杭州天能生物科技有限公司生产的凝胶成像系统; 德国 Heraeus 公司生产的 Biofuge primo R 高温离心机等。

1.3 动物: SD 大鼠 150~160 g, 白求恩医学院实验动物中心生产, 清洁级动物。

1.4 PD 动物模型制备: 参照陈生弟等^[7]方法, 选用体质量 150~160 g SD 大鼠, 麻醉后固定于立体定向仪上, 确定黑质坐标: 前囟后 4.4 mm, 中线旁开 1.1 mm, 硬膜下 7.5 mm, 以微量注射器向上述坐标点注入 6-OHDA 10 μ L/min, 注药后留针 1~5

①收稿日期: 2009-11-27

基金项目: 吉林省自然科学基金资助项目 (2000006)

作者简介: 刘亚珍 (1959-), 女, 吉林省长春市人, 主管药师, 研究方向为中药治疗帕金森病作用机制。

Tel: (0431) 85619709 E-mail: lyymm8338@sina.com