

· 药理实验与临床观察 ·

三七总皂苷对烫伤大鼠心肌 $G\alpha$ mRNA 表达的影响

张海港, 李晓辉, 李淑惠, 徐红梅, 谭 娅

(第三军医大学 药理教研室, 重庆 400038)

摘要:目的 研究三七总皂苷 (*panax notoginseng* saponins, PNS) 对烫伤早期大鼠心肌 $G\alpha$ mRNA 表达的影响。方法 通过 30% 体表面积皮肤 III 度烫伤大鼠模型, 应用 dot blotting 杂交、心肌组织原位杂交、放射免疫分析等技术观察三七总皂苷对严重体表烫伤大鼠心肌 $G\alpha$ mRNA 表达水平、cAMP 产生量、腺苷酸环化酶 (adenyl cyclase, AC) 活性的影响。结果 大鼠心肌组织中 $G\alpha$ mRNA 表达量、cAMP 含量、AC 活性在烫伤后 3 h 均明显降低。100, 200 mg/kg PNS 明显增加烫伤大鼠心肌组织 $G\alpha$ mRNA 的表达, 增加量与 PNS 剂量呈显著正相关 ($r = 0.95, P < 0.05$)。100, 200 mg/kg 使烫伤大鼠心肌组织 cAMP 含量分别增加 2%、3%, AC 活性分别增强 40%、63% ($P < 0.01$)。结论 PNS 可增加烫伤大鼠心肌 $G\alpha$ mRNA 表达, 增强 AC 活性, 增加 cAMP 生成。
关键词: 烧伤; 兴奋性 G 蛋白; 信使 RNA; 信号转导; 三七总皂苷; 腺苷酸环化酶; 环磷酸腺苷
中图分类号: R285.5; R286.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2001)11-1000-03

Effect of *Panax notoginseng* saponins on myocardial $G\alpha$ mRNA expression of seriously scalded rat

ZHANG Hai-gang, LI Xiao-hui, LI Shu-hui, XU Hong-mei, TAN Ya

(Department of Pharmacology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract **Object** To investigate the effects of *Panax notoginseng* saponins (PNS) on myocardial $G\alpha$ mRNA expression of seriously scalded rat. **Methods** A 30% skin-full-thickness scald model was produced by immersing rat in 95°C water for 10 s. The effects of PNS on myocardial $G\alpha$ mRNA level were observed with dot blotting hybridization and *in situ* hybridization technique; effects on cAMP and adeny cyclase (AC) activities were determined with radioimmunoassay. **Results** Myocardial $G\alpha$ mRNA, AC activity and cAMP content were reduced significantly 3 h after scalding. PNS (100, 200 mg/kg) could markedly increase the level of myocardial $G\alpha$ mRNA expression. The elevated quantity was correlated markedly with PNS dosage ($r = 0.95, P < 0.05$). *In situ* hybridization showed $G\alpha$ mRNA expression was also increased. AC activity was enhanced by 40% and 63% ($P < 0.01$) at 100, 200 mg/kg PNS respectively; cAMP content was increased by 2% and 3%, respectively. **Conclusion** PNS could improve myocardial $G\alpha$ mRNA expression, enhance AC activity and increase cAMP content of seriously scalded rats.

Key words burn; stimulatory G protein; message RNA; signal transduction; *Panax notoginseng* saponins (PNS); adeny cyclase, cyclic AMP

严重体表烫伤后常有明显的心功能障碍^[1], 表现为心脏舒缩功能降低, 心输出量下降, 心律紊乱等。既往研究发现大鼠严重体表烫伤后心功能下降, 心肌 β 肾上腺素受体数目下调, $G\alpha$ mRNA 表达减少, 心肌 $G\alpha$ 亚单位含量降低, 腺苷酸环化酶 (adenyl cyclase, AC) 活性降低; 心功能降低与 $G\alpha$ 及其 mRNA 表达减少有良好相关性^[2~4]。

三七总皂苷 (*Panax notoginseng* saponins, PNS) 是五加科人参属多年生植物三七的主要活性成分, 具有广泛的作用^[5]。能有效改善烧伤后心功能障碍^[6,7]。PNS 改善烫伤后心功能作用与其对心肌 β 受体信号转导的正向调节作用有密切关系。为进一步探讨 PNS 改善烧伤后心功能的分子机制, 本研究通过 30% 体表面积皮肤 III 度烫伤大鼠模型, 观察

收稿日期: 2000-02-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 39370791)

作者简介: 张海港 (1970-), 男, 河南南阳人。1988 年第三军医大学临床医学 (六年制) 专业学士; 1996 年就读该校药理专业, 获医学硕士学位。现为第三军医大学药理学讲师。主要研究方向: 信号转导药物药理、心血管药理。联系地址: 重庆市第三军医大学药理教研室, 400038。Tel (203) 68753397(办), 68753295(宅); E-mail: hg2@mail.tmmu.com.cn

PNS对严重体表烫伤后心肌 $G\alpha$ mRNA表达水平的影响及其意义

1 材料与方法

1.1 药物:三七总皂苷(PNS),粉剂,由中国科学院昆明植物研究所提供,纯度>99%。

1.2 试剂:地高辛(DIG)3'端加尾试剂盒、DIG标记与检测试剂盒以及 Tripure RNA抽提试剂盒均为 Boehringer Mannheim公司产品。大鼠 $G\alpha$ 寡核苷酸探针(5'-TCC AGA GGT CAG GAC GCG GCA GCG AAG CAG GTC CTG GTC-3')由中国科学院上海细胞生物学研究所合成,经 HPLC反相柱纯化。与大鼠 $G\alpha$ cDNA第580~618位核苷酸碱基互补,焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)为 Sigma公司产品。环腺苷酸(cAMP)测定试剂盒购自上海第二医科大学同位素室。

1.3 仪器:GDS7600S型 UVP凝胶成像分析系统(美国);液体闪烁计数器(LKB-Bas K-Bata 1217型,瑞典)。

1.4 动物:健康成年♂Wistar大鼠,由本校实验动物中心提供(II级,合格证号 No. 24301050),体重为(178±17)g

1.5 烫伤模型制作:于致伤前1天,剪短背部占30%体表面积的毛,用1.2 mol/L Na₂S脱净,以温水冲洗后擦干,24 h后用乙醚麻醉动物,置95℃水浴中烫10 s,造成30%体表面积皮肤III度烫伤(病理检查证实)。致伤后ip生理盐水约5 mL,分笼喂养,自由进食

1.6 分组与给药:正常对照组以37℃温水代替热水进行假烫伤;给药组分为3组,分别于烫伤后ip 50, 100, 200 mg/kg体重的PNS,伤后3 h活杀取心脏置液氮中保存备用。

1.7 $G\alpha$ mRNA表达量的测定:按说明书提取心肌总RNA,紫外分光光度法定量,1%琼脂糖电泳确定其完整性。将各组总RNA样品用DEPC水稀释到同一浓度,按说明书及文献^[8]进行dot blotting杂交,结果照片,用凝胶成像分析系统扫描各点,测定各时间点杂交信号的积分吸光度值。以对照组斑点吸光度值为100,求出各组杂交信号的相对值。同时用DIG标记探针300 ng/mL进行心肌组织 $G\alpha$ mRNA原位杂交。

1.8 心肌cAMP产生量、AC活性测定:cAMP测定采用放射免疫法,按说明书进行;AC活性测定采用间接方法

1.9 数据处理:数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS进行

单因素方差分析及相关分析

2 结果

2.1 PNS对烫伤大鼠心肌组织 $G\alpha$ mRNA表达量的影响:Dot blottign杂交可见在烫伤后3 h大鼠心肌组织 $G\alpha$ mRNA的表达量显著减少;100, 200 mg/kg PNS明显增加 $G\alpha$ mRNA表达(见表1),增加量与PNS剂量呈显著正相关($r=0.95$, $P<0.01$)。原位杂交同样可见应用100或200 mg/kg PNS后烫伤大鼠心肌 $G\alpha$ mRNA表达增强

表1 PNS对烫伤大鼠心肌组织 $G\alpha$ mRNA表达、cAMP含量及AC活性的影响($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (μ g/mL)	$G\alpha$ mRNA 表达量(RA)	cAMP含量 (pmol/g)	AC活性 (pmol/g·s)
正常对照	-	100	744±72	49±13
烫伤	-	6±15 [△]	598±68 [△]	3±1 [△]
PNS	50	73±12	613±75	34±12
	100	107±22	725±83	43±14
	200	122±19	816±105	5±18

RA:相对吸光度值(relative absorbance);与正常对照组比较:
 $\Delta P<0.01$;与烫伤组比较:* $P<0.01$

2.2 PNS对烫伤大鼠心肌组织cAMP、AC活性的影响:100, 200 mg/kg PNS可使烫伤大鼠心肌组织cAMP含量分别增加21%, 36%, AC活性分别增强40%, 63% ($P<0.01$)。50 mg/kg PNS对此无明显影响($P>0.05$),见表1

3 讨论

在烫伤后心功能障碍的发生发展中,Gs-AC-cAMP系统功能异常占据重要地位。PNS可显著增加离体心脏心输出量、冠脉流量、 $+dp/dt_{max}$ 、 $-dp/dt_{max}$ 以及 V_{max} ,具有明显的增强心功能的作用^[9];能够明显增加烫伤大鼠心肌组织AC活性及cAMP含量,改善烫伤后心功能^[7]。但有研究发现三七皂苷不影响心肌细胞膜上 β 受体的亲和力及受体数目^[10]。据此推测PNS改善烧伤后心功能的机制与其影响 β -AR受体后环节有关。本研究观察到PNS可使烫伤早期心肌 $G\alpha$ mRNA表达增多,AC活性增强,cAMP含量增加,且呈剂量依赖关系。相关分析表明, $G\alpha$ mRNA表达水平与AC活性、cAMP含量呈显著正相关。分析可能的原因有:PNS改善了心肌供血,使心肌能量供应好转,蛋白质分解减少,转录酶增多。PNS通过增加心肌组织 $G\alpha$ mRNA表达而使 $G\alpha$ 增多,从而激活AC,使cAMP产量增加,改善心功能。至于PNS对AC是否具有直接的激活作用,尚待进一步的实验证实。

参考文献:

[1] Carleton S C. Cardiac problems associated with burns [J].

- Cardiol Clin, 1995, 13(2): 257-262.
- [2] 何华美,宋裕南,孙继武,等.大鼠严重体表烫伤后心脏 β -肾上腺素受体腺苷酸环化酶系统的变化[J].中国病理生理杂志,1996,12(4): 355-358.
- [3] 李晓辉,何保斌,李淑惠,等.G蛋白功能在严重体表烫伤大鼠心肌组织的变化及意义研究[J].中国病理生理杂志,1998,14(7): 846-847.
- [4] 张海港,李晓辉,宋裕南.大鼠严重烫伤后心功能及心肌 G_{α} mRNA表达的变化[J].中国急救医学,1999,19(7): 387-388.
- [5] 王浴生,邓文龙,薛春生.中药药理与应用[M].第二版.北京:人民卫生出版社,1998.
- [6] Huang Y S, Yang Z C, Yan B G, *et al*. Improvement of early postburn cardiac function by use of Panax notoginseng and immediate total eschar excision in one operation [J]. Burns, 1999, 25(1): 35-42.
- [7] 李晓辉,杨宗城,黎 鳌,等.三七总皂苷对烫伤应激大鼠心脏 β -AR信号转导系统的调节作用[J].中国药理学会通讯,1997,14(4): 20-21.
- [8] 杨清峰,陈 彪,杨 宏,等.大鼠脊髓组织CNTFR α mRNA的表达及其坐骨神经损伤后表达的变化[J].军事医学科学院院刊,1998,22(2): 84-87.
- [9] 李永伟,周晓玲.三七总皂苷抗失血性休克和对心脏舒缩性能的影响[J].中国病理生理杂志,1991,7(3): 298-300.
- [10] 缪丽燕,关永源,孙家钧.三七皂苷单体 Rb_1 对心肌细胞 Ca^{2+} 内流作用的研究[J].中国药理学通报,1996,12(1): 39-42.

地黄苷 A 对环磷酰胺致小鼠白细胞减少症的影响

于 震,王 军,李更生,王玉升
(河南省中医药研究院,河南 郑州 450004)

摘要:目的 观察地黄苷 A 对环磷酰胺致小鼠白细胞减少症的影响。方法 利用环磷酰胺 ip 造成小鼠白细胞减少症模型,地黄苷 A 进行治疗,对模型小鼠体重、外周血象、网织红细胞数、脾脏指数、骨髓有核细胞数和 DNA 含量进行检测。结果 地黄苷 A 可明显升高模型小鼠的白细胞数、红细胞数、血小板数、网织红细胞数、骨髓有核细胞数和 DNA 含量及体重。结论 地黄苷 A 具有明显升白作用。

关键词:地黄苷 A;环磷酰胺;白细胞减少症;升白

中图分类号: R286.91 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)11-1002-00

Effect of rehmaionoside A on cyclophosphamide induced leukopenia in mice

YU Zhen, WANG Jun, LI Geng-sheng, WANG Yu-sheng

(Henan Academy of TCM, Zhengzhou Henan 450004, China)

Abstract Object To observe the effects of rehmaionoside A on mice leukopenia models induced by cyclophosphamide. **Methods** Mice leukopenia models were prepared by ip cyclophosphamide and then treated with rehmaionoside A. The levels of body weight, peripheral hemogram, reticulocyte count, spleen index, bone marrow karyocyte count and contents of bone marrow DNA were determined. **Results**

Rehmaionoside A could obviously raise the counts of white blood cell, red blood cell, platelet, reticulocyte and bone marrow karyocyte, contents of bone marrow DNA, and body weight of the leukopenia model. **Conclusion** Rehmanionoside A has apparent leukogenic and antianemic actions.

Key words rehmanionoside A; cyclophosphamide; leukopenia; leukogenic action

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 的新鲜或干燥块根。熟地具有滋阴补血,益精填髓功效,生地具有清热凉血,养阴,生津功效。现代药理学研究表明其具有升白、补血,提高人体免疫力的作用。地黄苷 A (rehmaionoside A) 为地黄中的单体化学成分,其药理活性国内外尚未见报道。我室成功提取分离地黄苷 A 后,为探讨其药理活性,对其升白作用进行了研究。

1 实验材料

1.1 药品与试剂:地黄苷 A,河南省中医药研究院中药研究所植化室提供。生白口服液,郑州市东方药业有限公司生产。环磷酰胺,上海华联制药有限公司生产。RPM I1640 营养液,美国 GIBCO 公司提供。

1.2 动物:昆明种小鼠,雌雄各半,体重 18~20 g,由河南省中医药研究院实验动物中心提供。

1.3 仪器:血球计数仪(日本东亚);UV-265 紫外

收稿日期:2001-02-19

基金项目:国家中医药管理局资助(No.95Y3411);国家“九·五”科技攻关项目(No.96-903-02-04)

作者简介:于 震,男,1996年毕业于上海中医药大学中西医结合专业,硕士,助理研究员。主要从事中药新药开发研究,共发表论文 7 篇,成果 3 项,专著 1 部。目前正在进行国家“九·五”科技攻关和国家中医药管理局科研课题的研究工作。