

# 西洋参茎叶三醇组皂苷在大鼠离体心脏中的作用

曹霞<sup>1</sup>, 谷欣权<sup>2</sup>, 杨世杰<sup>1</sup>, 陈燕平<sup>3</sup>, 马兴元<sup>3</sup>

(1. 吉林大学药学院 药理教研室, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学第三临床医院, 吉林 长春 130031; 3. 吉林大学 化学中心, 吉林 长春 130021)

**摘要:**目的 探讨西洋参茎叶三醇组皂苷(PQTS)对大鼠离体心脏和缺血再灌注损伤心脏的作用及机制。方法 采用大鼠离体工作心脏,观察 PQTS 对其血流动力学的影响;利用离体心脏 Langendorff 灌流模型,观察 PQTS 对缺血再灌注损伤心肌组织中超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物脂质(LPO),游离脂肪酸(FFA),乳酸(LA)含量以及再灌注性心律失常、冠脉流量和冠脉流出液中肌酸磷酸激酶(CPK),乳酸脱氢酶(LDH)的影响。结果 PQTS (30, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )具有负性肌力和负性频率作用;可以不同程度地降低缺血再灌注损伤心肌组织中 LPO, FFA, LA 含量;提高心肌 SOD 活性水平;并抑制再灌注性心律失常的发生;提高再灌注期间的冠脉流量;降低冠脉流出液中 CPK, LDH 水平。结论 PQTS 具有负性肌力和负性频率作用,对缺血再灌注损伤心肌的保护作用与抑制心肌脂质过氧化物反应以及纠正 FFA 代谢紊乱等因素有关。

**关键词:**西洋参茎叶三醇组皂苷(PQTS);离体工作心脏;心肌缺血再灌注损伤

中图分类号:R286.2 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2003)09-0827-04

## Effect of PQTS on isolated rat heart

CAO Xia<sup>1</sup>, GU Xinquan<sup>2</sup>, YANG Shi-jie<sup>1</sup>, CHEN Yan-ping<sup>3</sup>, MA Xing-yuan<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmacology; 2. Third Clinical Hospital; 3. Chemical Center, Jilin University, Changchun 130021, China)

**Key words:** PQTS; isolated heart; myocardial ischemia-reperfusion injury

西洋参茎叶总皂苷(*Panax quinquefolium* total saponins, PQTS)具有广泛的药理作用<sup>[1]</sup>,在抗脂质过氧化、抗缺氧、抗低温应激反应方面优于人参,开发利用西洋参茎叶皂苷具有重要的经济和社会效益。近年来心血管疾病的发病率逐渐升高,成为威胁人类健康的主要疾病之一。心肌缺血再灌注损伤普遍存在,心绞痛、冠状动脉成形术、心肌梗死后的溶栓治疗等均可发生。通过寻找安全、有效的药物激发机体内源性保护机制,已成为重要课题。本实验采用大鼠离体工作心脏及 Langendorff 灌流模型,观察 PQTS 对正常心肌血流动力学的影响及对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。

### 1 材料与方法

1.1 动物:Wistar 大鼠,购于吉林大学实验动物部,体重 180~240 g,雌雄各半。

1.2 药品与试剂:Krebs-Henseleit (K-H) 营养液各组份均为市售的分析纯试剂,以双蒸水配制。PQTS 由本校化学中心提取,其纯度>85%,为淡黄色粉末,以 K-H 液配成所需浓度。CPK, LDH 检测试剂购自北京中生公司, SOD 试剂盒、LPO 试剂盒

购自长春汇力公司。

### 1.3 实验分组

1.3.1 PQTS 对离体大鼠心肌血流动力学的影响:随机分为 PQTS 30, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  组,每组 8 只大鼠。

1.3.2 PQTS 对缺血再灌注损伤心脏的作用:将 40 只 Wistar 大鼠随机分为 5 组,每组 8 只。(1)正常对照组(A组):于 LAD 穿线,但不结扎。(2)缺血再灌注组(B组):于 LAD 穿线并结扎,结扎前后均用 K-H 液灌流。(3)给药组(C, D 组):结扎 LAD 前 10 min 改用含 100, 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PQTS 的 K-H 液灌流心脏,并持续到实验结束。(4)阳性药对照组(E组):结扎前 10 min 改用含维拉帕米(0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的 K-H 液灌流心脏,并持续到实验结束。

### 1.4 实验方法

1.4.1 PQTS 对离体大鼠心肌血流动力学的影响:将动物脱臼处死,取出心脏。经主动脉插管记录动脉血压(AP),用 95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>平衡的 K-H 缓冲液(37±0.5)°, pH 7.4 先行 Langendorff 模式逆灌。于肺静脉行左房插管,以备顺灌。向左心室插管,用 RM-6000 型多导生理记录仪记录左室收缩压

收稿日期:2002-11-02

作者简介:曹霞(1972—),女,讲师,毕业于白求恩医科大学医疗专业,现在吉林大学中日联谊医院中心研究室攻读生物化学及分子生物学博士学位,研究方向为心血管药理学及分子药理学。

(LVSP)、左室舒张期末压 (LVEDP)、左室内压等容收缩期最大上升及下降速率 ( $\pm dp/dt_{max}$ )。于心房和心室安置电极记录心电变化。心脏搏动稳定后改以前负荷 10 cm H<sub>2</sub>O、后负荷 60 cm H<sub>2</sub>O 恒定状态顺向灌流心脏。按加药前、加药后 10 min、洗脱的顺序观察药物作用。

1.4.2 PQTS 对缺血再灌注损伤心脏的作用: 将大鼠迅速脱臼处死取出心脏, 分离主动脉, 插入主动脉插管, 连于 Langendorff 装置中, 以 K-H 营养液行主动脉逆行恒压灌注, 连续通以 95% O<sub>2</sub>+ 5% CO<sub>2</sub> 混合气体, pH 7.4, 温度 (37±0.5)。缝合线穿过左冠状动脉前降支 (LAD) 以备结扎用。在主动脉根部和心尖分别放置铂丝电极, 监测心电。稳定后给药, 10 min 后结扎 LAD 30 min 再灌注 20 min。于再灌注后 1, 3, 5, 10, 20 min 测定冠脉流量并留取冠脉流出液。采用日立 7170 型自动生化分析仪测定各时间点冠脉流出液中的 CPK, LDH 含量。实验结

束后取左前壁心肌组织, 在 1 ~ 4 条件下制成 10% 生理盐水匀浆, 离心取上清, 测定心肌中 SOD 及 LPO 含量, 同时取损伤心肌采用比色法测定 FFA 含量, 对羟基联苯法测定 LA 含量。

1.5 统计学处理: 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用组间 *t* 检验。

2 结果

2.1 PQTS 对大鼠离体工作心脏的作用: 在离体工作心脏搏动稳定后, 按给药前、给药后 10 min 观察血流动力学的变化, 结果显示 PQTS 可以剂量依赖性地使 HR, AP, LVSP, + dp/dt<sub>max</sub> 降低, LVEDP 升高, 见表 1。

2.2 PQTS 对冠脉流出液中 CPK, LDH 及冠脉流量的影响: 动态观察各组在缺血再灌注期间 CPK, LDH 水平的变化, 结果见表 2, 3。缺血前各组冠脉流出液中 CPK, LDH 含量无显著差别。再灌注期间, B 组心肌释放 CPK, LDH 明显增多, 其各相应

表 1 PQTS 对大鼠离体工作心脏血流动力学的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 1 Effect of PQTS on hemodynamics in isolated rat heart ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

PQTS/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	HR/(次·min <sup>-1</sup> )	AP/kPa	LVSP/kPa	+ dp/dt <sub>max</sub> /(kPa·s <sup>-1</sup> )	- dp/dt <sub>max</sub> /(kPa·s <sup>-1</sup> )	LVEDP/kPa	
30	给药前	233.4 ± 26.3	13.44 ± 0.83	15.22 ± 1.14	405.6 ± 53.3	326.7 ± 31.6	0.33 ± 0.16
	给药后	214.3 ± 24.8	13.01 ± 0.75	14.86 ± 1.05	369.4 ± 57.0*	296.1 ± 37.3	0.38 ± 0.12
100	给药前	241.7 ± 25.9	13.83 ± 1.16	15.74 ± 1.04	416.2 ± 66.1	317.4 ± 42.9	0.37 ± 0.14
	给药后	218.5 ± 20.2	11.80 ± 1.07*	13.23 ± 0.86*	352.9 ± 63.4**	264.0 ± 36.7*	0.44 ± 0.18

与给药前比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01 vs before administration

表 2 PQTS 对缺血再灌注心肌冠脉流出液中 CPK 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

U · L<sup>-1</sup>

Table 2 Effect of PQTS on release of CPK in rat heart with ischemia-reperfusion injury ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

U · L<sup>-1</sup>

组别	缺血前	再灌注后				
		1 min	3 min	5 min	10 min	20 min
A	51.36 ± 4.77	51.37 ± 4.85	51.34 ± 4.94	52.17 ± 3.90	52.23 ± 4.47	52.38 ± 5.33
B	51.51 ± 4.99	64.72 ± 6.55	76.93 ± 10.82	70.02 ± 8.95	68.52 ± 7.54	69.30 ± 7.96
C	51.38 ± 4.31	61.95 ± 6.21	69.83 ± 6.77	64.89 ± 7.20	62.00 ± 5.75	55.76 ± 6.45*
D	50.33 ± 6.02	62.69 ± 7.04	72.62 ± 9.81	66.51 ± 8.50	65.12 ± 8.64	63.42 ± 55.74
E	52.24 ± 4.30	55.08 ± 7.17*	55.68 ± 6.40**	54.57 ± 6.87**	53.46 ± 7.34*	65.50 ± 9.21

与 B 组相应时间点比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01 vs corresponding time of group B

表 3 PQTS 对缺血再灌注心肌冠脉流出液中 LDH 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

U · L<sup>-1</sup>

Table 3 Effect of PQTS on release of LDH in rat heart with ischemia-reperfusion injury ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

U · L<sup>-1</sup>

组别	缺血前	再灌注后				
		1 min	3 min	5 min	10 min	20 min
A	16.40 ± 2.18	16.38 ± 2.34	16.41 ± 2.51	16.39 ± 3.12	16.55 ± 2.78	16.63 ± 2.82
B	16.28 ± 2.20	27.38 ± 5.41	28.10 ± 4.20	28.39 ± 5.38	26.25 ± 5.00	27.81 ± 4.30
C	16.15 ± 3.39	21.97 ± 3.22*	24.95 ± 5.60*	23.38 ± 4.66*	24.16 ± 4.70	23.90 ± 5.03*
D	15.80 ± 2.60	25.54 ± 4.66	26.39 ± 5.71	25.99 ± 4.27	24.34 ± 5.44	24.17 ± 4.32*
E	16.50 ± 2.45	20.01 ± 4.54*	19.64 ± 3.14**	18.38 ± 4.80**	18.35 ± 5.87*	18.78 ± 3.21**

与 B 组相应时间点比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01 vs corresponding time of group B

表 4 PQTS 对缺血再灌注心肌冠脉流量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

mL · min<sup>-1</sup>

Table 4 Effect of PQTS on coronary blood flow in rat heart with ischemia-reperfusion injury ( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) mL · min<sup>-1</sup>

组别	缺血前	再灌注后				
		1 min	3 min	5 min	10 min	20 min
A	11.30 ± 1.12	11.30 ± 1.12	11.30 ± 1.12	11.27 ± 1.11	11.27 ± 1.08	11.23 ± 1.09
B	11.70 ± 0.95	6.07 ± 0.60	5.56 ± 0.52	5.63 ± 0.61	6.47 ± 0.59	5.43 ± 0.59
C	11.70 ± 0.76	7.93 ± 0.46*	7.50 ± 0.71*	8.15 ± 1.17**	8.23 ± 0.46*	7.67 ± 0.58*
D	11.73 ± 1.24	6.13 ± 0.45	5.82 ± 0.41	6.50 ± 0.37	6.93 ± 0.21	6.37 ± 0.15
E	11.57 ± 1.43	8.60 ± 0.28*	9.27 ± 0.93**	10.40 ± 0.68**	9.72 ± 0.41*	9.37 ± 0.43**

与 B 组相应时间点比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01 vs corresponding time of group B

时间点与 A 组比较均有显著差异 (P < 0.01)。C, D 组与 B 组比较, 呈剂量依赖性地减少冠脉流出液中 CPK, LDH 的释放, 与 E 组变化相似。B 组在灌注期间冠脉流量明显低于 A 组相应时间点 (P < 0.01), 各组冠脉流量的变化见表 4。

2.3 PQTS 对缺血再灌注心肌 SOD, LPO, FFA, LA 含量的影响: B 组心肌组织中 SOD 活性下降, LPO, FFA, LA 水平升高, 与 A 组比较差异非常显著 (P < 0.01)。与 B 组比较, 预先灌注 PQTS 可显著提高 SOD 活性并抑制 LPO 的升高, 明显降低损伤心肌中 FFA, LA 水平, 见表 5。

表 5 PQTS 对缺血再灌注心肌 SOD, LPO, FFA, LA 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 5 Effect of PQTS on SOD, LPO, FFA and LA in rat heart with ischemia-reperfusion injury ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	SOD/(U · g <sup>-1</sup> )	LPO/(μmol · g <sup>-1</sup> )	FFA/(μEq · L <sup>-1</sup> )	LA/(μg · L <sup>-1</sup> )
A	1365.8 ± 78.5**	0.69 ± 0.19**	712.5 ± 181.2**	9.26 ± 2.15**
B	763.4 ± 64.2	2.38 ± 0.28	1420.7 ± 315.5	14.33 ± 2.24
C	1034.2 ± 54.2*	1.37 ± 0.24*	788.0 ± 141.9**	10.42 ± 1.97*
D	932.2 ± 60.1*	1.64 ± 0.21	826.4 ± 159.3**	13.61 ± 2.05

与 B 组比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01 vs group B

2.4 PQTS 对缺血再灌注性心律失常的影响: 在本实验条件下, 正常灌流的大鼠离体心脏均未发生心律失常, B 组中 8 只大鼠全部出现心律失常, 其中 4 只频发室性早搏, 3 只室颤, 1 只室速。C 组有 4 只偶发室早, D 组 4 只偶发室早 1 只室颤, E 组 2 只偶发室早。

### 3 讨论

目前普遍认为再灌注心肌损伤的发生与再灌注导致细胞内钙离子超载有关, Ca<sup>2+</sup> 通道阻滞剂可降低心肌缺血再灌注损伤, 证实了钙离子超载在再灌注损伤中的作用, 而 Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> 交换是 Ca<sup>2+</sup> 进入细胞的一个重要途径<sup>[2]</sup>。NO 供体化合物能抑制肌浆网中 Ca<sup>2+</sup> 的释放, 推测 NO 在 Ca<sup>2+</sup> 内流中可能起

关键的调节作用<sup>[3]</sup>。另外再灌注心肌损伤与氧自由基大量产生、微血管损伤也有关。缺血再灌注时可引起大量氧自由基的释放而导致细胞损伤, 由于氧自由基具有极其活泼的反应性, 能和各种细胞成分发生反应造成损伤<sup>[4]</sup>。再灌注性心律失常以室性心律失常多见, 其发生机制可能与以下原因有关: 心肌缺血导致传导性和不应期的不均一; 细胞内钙超载, 诱发瞬间内向电流, 增加迟后除极的幅度和次数, 产生触发性心律失常; 再灌注时 K<sup>+</sup> 突然降低和再灌注时儿茶酚胺刺激缺血时增加的 α 受体均可导致自律性增加<sup>[5]</sup>。因此尽可能在再灌注损伤发生之前恢复血流, 抑制 Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> 交换, 适当选用钙通道阻断剂, 清除氧自由基, 改善缺血组织的代谢可起到理想的疗效。

西洋参传统药用其根, 对其地上部分应用较少。对西洋参茎叶提得的总皂苷进行分析研究证实茎叶部总皂苷、氨基酸、无机元素含量明显高于根部。西洋参茎叶总皂苷特别是二醇组皂苷对心脏的作用及机制的研究, 已取得一些进展。本实验采用大鼠离体工作心脏, 观察了 PQTS 对心肌收缩性能的影响。初步研究表明 PQTS 具有负性肌力及负性频率作用, 并且呈现一定的量效关系, 经过洗脱后各项指标均迅速恢复正常, 排除了心肌收缩性能的减弱是因为实验中发生心肌损伤的可能性, 与总皂苷的作用相一致。

采用大鼠离体心脏 Langendorff 灌流模型通过测定冠脉流量、冠脉流出液中 CPK, LDH 含量、心肌组织 SOD 的活性、LPO, FFA, LA 含量的变化, 观察了 PQTS 对心肌缺血再灌注损伤的影响。结果表明: 缺血再灌注可以使心肌组织 SOD 活性降低, LPO, FFA, LA 水平升高, 心律失常明显增加, 再灌注期间, 缺血再灌注组心肌释放的 CPK, LDH 明显增高, 在 5 min 内达到高峰, 同时冠脉流量明显减少。提示缺血再灌注使氧自由基生成增加, 同时清除能力下降, 对脂肪酸及乳酸的利用发生障碍, 心肌中

FFA, LA 升高, 心肌细胞发生一定程度损伤。以 PQTS 预先灌注能够缓解上述变化, 减轻氧自由基对心肌的损伤和心律失常的发生, 降低心肌 CPK, LDH, 提高冠脉流量, 纠正 FFA 的代谢紊乱, 减少乳酸堆积。表明 PQTS 对缺血再灌注心肌的保护机制是多方面的, 与 PQTS 负性肌力作用减少心肌耗氧、增加冠脉流量改善心肌供血减少乳酸堆积、纠正心肌脂肪酸代谢及抗脂质过氧化反应有关。

**References:**

[1] Wang B X. *Modern Pharmacology of Traditional Chinese Drugs* (现代中药药理学) [M]. Tianjin: Tianjin Science and

Technology Publishing House, 1997.  
 [2] Ralenkotter L, Dales C, Delcamp T J, et al. Cytosolic [Ca<sup>2+</sup>], [Na<sup>+</sup>], and pH in guinea pig ventricular myocytes exposed to anoxia and reoxygenation [J]. *Am J Physiol*, 1997, 272(6 Pt 2): H2679-2685.  
 [3] Meszaros L G, Minarovic I, Zahradnikova A. Inhibition of the skeletal muscle ryanodine receptor calcium release channel by nitric oxide [J]. *FEBS Lett*, 1996, 380(1-2): 49-52.  
 [4] Minor T, Isselhard W. Related articles role of the hepatovasculature in free radical mediated reperfusion damage of the liver [J]. *Eur Surg Res*, 1993, 25(5): 287-293.  
 [5] Priori S G, Mantica M, Napolitano C, et al. Early after depolarizations induced *in vivo* by reperfusion of ischemic myocardium. A possible mechanism for reperfusion arrhythmias [J]. *Circulation*, 1990, 81(6): 1911-1920.

## 染料木素对大鼠生殖毒性的实验研究 ( ) 一般生殖毒性

许建宁<sup>1</sup>, 王全凯<sup>1</sup>, 崔涛<sup>1</sup>, 罗玉姝<sup>1</sup>, 王四旺<sup>2</sup>, 郑玉新<sup>1</sup>

(1. 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050; 2. 第四军医大学药物研究所, 陕西 西安 710032)

**摘要:** 目的 为保证染料木素临床用药的安全, 评价其生殖毒性。方法 16, 160, 480 mg/(kg·d) 染料木素分别连续 ig 雄、雌性大鼠 60 d, 14 d 后合笼, 雄性大鼠给药至交配结束, 雌性大鼠给药至妊娠第 17 天, 观察染料木素对大鼠的受胎能力、生殖系统及子代的影响。结果 染料木素 480 mg/(kg·d) 引起亲代雄性大鼠精子活动度下降, 但未发现睾丸病变, 也未影响雄鼠生殖能力; 同时使雌鼠妊娠期体重增长明显低于其他组 ( $P < 0.01$ ), 但未影响胚胎形成、仔鼠生长发育。160 mg/(kg·d) 剂量对亲代和子代未引起明显的异常。结论 染料木素 160 mg/(kg·d) 对雌、雄性大鼠无一般生殖毒性作用。

**关键词:** 染料木素; 生殖毒性; 胚胎

中图分类号: R 286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)09-0830-03

### Study on reproductive toxicity of genistein I. General reproductive toxicity

XU Jian-ning<sup>1</sup>, WANG Quan-kai<sup>1</sup>, CUI Tao<sup>1</sup>, LUO Yu-shu<sup>1</sup>, WANG Si-wang<sup>2</sup>, Zheng Yu-xin<sup>1</sup>

(1. Institute for Occupational Health and Poisoning Control, Chinese Centre for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China; 2. Institute of Materia Medica, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

**Key words:** genistein; reproductive toxicity; embryo

染料木素系从豆科植物槐角 *Sophora japonica* L. 的干燥成熟果实中提取的异黄酮单体成分, 是具有弱雌激素样作用又非雌激素类化合物, 称之为植物雌激素。流行病学调查、动物实验和临床观察均发现, 异黄酮通过抑制骨吸收和促进骨形成过程, 维持骨代谢的动态平衡, 有效地预防骨质疏松<sup>[1-3]</sup>。鉴于染料木素是治疗骨质疏松症的有效药物, 为了保证其安全使用, 对其一般生殖毒性进行了研究。

#### 1 材料与方法

1.1 药物: 染料木素由第四军医大学药物研究所提

供, 纯度 > 98%。用蒸馏水将其配成不同浓度的混悬液进行实验。

1.2 实验动物: 三级健康 Wistar 大鼠, 由中国药品生物制品检定所实验动物中心提供, 动物合格证号为京动许字(2000)第 017 号。动物饲养于中国预防医学科学院二级动物室(医动字第 01-4018 号), 室内温度为 24 ~ 26 , 相对湿度为 40% ~ 60%, 喂食军事医学科学院实验动物中心提供的清洁级繁殖鼠料[京许字(2000)013 号], 动物进入动物室后适应环境 1 周。

收稿日期: 2002-11-15

作者简介: 许建宁(1968—), 女, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事化学物致突变致癌机制和化学物安全性评价方面的研究及检测工作, 专长为遗传毒理学。