

- [5] Brodeur H, Parisot M, Chagnon S. Isomer specific retinoic acid biosynthesis in HeLa cells expressing recombinant class I aldehyde dehydrogenases [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1770(11): 1548-1556
- [6] Hansen N J, Wylie R C, Phipps S M. The low toxicity 9-*cis* UAB30 novel retinoid down regulates the DNA methyltransferases and has anti telomerase activity in human breast cancer cells [J]. *Oncol*, 2007, 30(3): 641-650
- [7] Singh R R, Gururaj A E, Vadlamudi R K. 9-*cis* retinoic acid up regulates expression of transcriptional coregulator PELP1, a novel coactivator of the retinoid X receptor alpha pathway [J]. *Biol Chem*, 2006, 281(22): 15394-15404
- [8] 徐瑞成, 周艳红, 呼文亮. 9-顺式维甲酸诱导胃癌 MGC803 细胞周期阻滞和凋亡的作用机制 [J]. *癌症*, 2006, 25(12): 1483-1487
- [9] 郭 赟, 徐瑞成, 何 滔. 土槿乙酸增强 9-顺式维甲酸对白血病细胞生长的抑制作用 [J]. *肿瘤防治研究*, 2009, 36(9): 726-729
- [10] 孟爱国, 徐瑞成, 呼文亮. 比格列酮对胃癌细胞生长的影响及机制 [J]. *肿瘤防治研究*, 2006, 33(5): 334-336
- [11] 徐瑞成, 孟爱国, 呼文亮. PPAR 和 RXR 表达上调增强了对肿瘤生长的抑制作用 [J]. *基础医学与临床*, 2007, 27(3): 255-258
- [12] Garber K. Beyond the Nobel Prize: cell cycle research offers new view on cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93(23): 1766-1768

黄芪苷 IV 通过 PI3K/Akt 信号通路抗 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞氧化损伤

张 琦, 彭 洋, 宋君秋, 吴艳娜, 刘艳霞

(天津医科大学基础医学院 药理学教研室, 天津 300070)

摘 要: 目的 研究黄芪苷 IV 对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞氧化损伤的保护作用及其作用机制。方法 建立 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞氧化损伤模型, MTT 法检测细胞存活率, DNA 抽提及琼脂糖凝胶电泳、Hoechst 33258 染色、caspase 3 活性检测细胞凋亡, Western blotting 检测 p-Akt 和 Akt 蛋白的表达。结果 与 H₂O₂ 组比较, 10、20 mg/L 的黄芪苷 IV 均显著提高细胞存活率, 降低 caspase 3 活性, 减轻细胞凋亡; 且均显著上调 p-Akt 蛋白的表达; PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 部分阻断 10、20 mg/L 黄芪苷 IV 的保护作用。结论 黄芪苷 IV 部分通过 PI3K/Akt 通路发挥对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞氧化损伤的保护作用。

关键词: 黄芪苷 IV; H₂O₂; H9c2; 细胞凋亡; PI3K/Akt; LY294002

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)06-0955-05

氧化应激是机体在遭受各种有害刺激时, 体内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生过多, 氧化程度超出抗氧化物的清除能力, 氧化系统和抗氧化系统失衡而导致组织损伤的过程。近年来大量研究表明, 氧化应激与多种心血管疾病如高血压、动脉粥样硬化、心肌肥大、心力衰竭等密切相关^[1]。黄芪苷 IV (Astragaloside IV, AST) 是黄芪总苷中的主要有效成分, 研究发现 AST 可以有效改善心功能, 对心肌受抑制大鼠的心肌收缩及舒张功能都有改善作用^[2-4], 具有明显的抗氧化损伤作用^[5]。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磷酸化 Akt 蛋白表达增加^[6]。现已证实, PI3K/Akt 信号通路在心肌保护作用中具有重要作用^[7], 活化的 PI3K 可激活下游信号蛋白 Akt, 进而

发挥抗凋亡作用, 促进 DNA 损伤修复。本研究以 H₂O₂ 诱导 H9c2 细胞氧化损伤为模型, 在研究 AST 细胞保护作用的同时探讨其保护作用与 PI3K/Akt 信号通路的关系。

1 材料

1.1 细胞株: H9c2 细胞, 购于中国医学科学院基础医学研究所细胞中心。

1.2 药物与试剂: 黄芪苷 IV (AST, 上海医科大学天然药物化学教研室提供, 质量分数 > 98%); 高糖 DMEM (Gibco 公司); 胎牛血清 (Hyclone 公司); 30% H₂O₂、DMSO (分析纯); MTT (Amresco 公司); PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 (Sigma 公司); 考马斯亮蓝蛋白质定量试剂盒 (南京建成生物工程研究所); DNA Ladder 抽提试剂盒 (碧云天生物技

①收稿日期: 2009-11-23

作者简介: 张 琦 (1985-), 女, 天津人, 硕士生, 研究方向: 心血管药理学及分子药理学。

Tel: (022) 23542523 E-mail: zhangqi8501@126.com

* 通讯作者 刘艳霞 Tel: (022) 23542523 E-mail: liu_yanxia@yahoo.com

术研究所); Hoechst 33258 染色试剂盒及 Caspase 3 检测试剂盒 (南京凯基生物科技发展有限公司), 兔抗鼠 τ -Akt 和 p-Akt (Ser473) 单克隆抗体 (Cell Signaling Technology 公司); 羊抗兔 IgG (北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.3 仪器: CO₂ 孵箱 (Thermo 公司); SW-CJ-1F 型净化工作台 (苏州净化设备有限公司); 680 型酶标仪、电泳仪、转膜仪、凝胶成像仪 (BIO-RAD 公司); 5417 型低温高速离心机 (Eppendorf 公司); 荧光显微镜 (Olympus 公司)。

2 方法

2.1 H9c2 细胞培养: H9c2 细胞培养于含 10% FBS 的高糖 DMEM 培养基中, 于 5% CO₂、饱和湿度及 37 °C 条件下培养, 每 2~3 d 更换 1 次培养基。将对数生长期的细胞以 8×10^4 /mL 或 1.2×10^5 /mL 的密度接种于 96 或 6 孔板中, 于培养箱中培养。

2.2 实验分组: 细胞培养 24 h, 换用无血清高糖 DMEM 培养基并加入不同试剂。各组加入 H₂O₂ 后作用 6 h。实验分组: 对照组, 加入无血清高糖 DMEM 培养基; H₂O₂ 组, 加入 H₂O₂ 终浓度为 200 μ mol/L; AST (10 mg/L) + H₂O₂ 组, 同时加入终质量浓度为 10 mg/L 的 AST 和 200 μ mol/L 的 H₂O₂; AST (20 mg/L) + H₂O₂ 组, 同时加入终质量浓度为 20 mg/L 的 AST 和 200 μ mol/L 的 H₂O₂; LY294002 + H₂O₂ 组, LY294002 10 μ mol/L 预处理 10 min, 再加入终质量浓度为 200 μ mol/L 的 H₂O₂ 组; LY294002 + AST (10 mg/L) + H₂O₂ 组, LY294002 10 μ mol/L 预处理 10 min, 再同时加入终浓度为 10 mg/L 的 AST 和 200 μ mol/L 的 H₂O₂; LY294002 + AST (20 mg/L) + H₂O₂ 组, LY294002 10 μ mol/L 预处理 10 min, 再同时加入终质量浓度为 20 mg/L 的 AST 和 200 μ mol/L 的 H₂O₂。

2.3 MTT 法检测细胞存活率: 取各组细胞, 每孔加入 MTT 溶液 20 μ L, 放入培养箱中继续培养 4 h 后弃培养基, 每孔加入 150 μ L DMSO, 震荡 10 min, 490 nm 波长处检测吸光度 (A) 值, 以 $A_{\text{实验组}} / A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 计算细胞存活率。

2.4 Hoechst 33258 染色: 取各组细胞, 弃去培养基, 用 D-Hank's 液洗涤细胞 2 次, 然后加入 Hoechst 33258 室温染色 10 min, 用蒸馏水洗去染液, 用荧光显微镜在激发波长 340 nm 处观察并拍照。

2.5 caspase 3 活性检测: 使用分光光度法检测细

胞中 caspase 3 活性。收集细胞, 加入裂解液, 细胞于冰上裂解 30 min, 4 °C 下 12 000 r/min 离心, 取上清 5 μ L 用 Bradford 法进行蛋白定量, 各组均取等量蛋白加入 2 $\times$ 反应缓冲液及 5 μ L caspase 3 作用底物, 37 °C 避光孵育 4 h, 405 nm 处测定 A 值, 以 $A_{\text{实验组}} / A_{\text{对照组}}$ 的值表示 caspase 3 的活性。

2.6 DNA 抽提及琼脂糖凝胶电泳: 根据 DNA Ladder 抽提试剂盒说明书进行操作。收集并裂解细胞后, 抽提 DNA 并定量, 各组取 6 μ g DNA 样品上样, 2% 琼脂糖凝胶电泳, 30 V 电泳 3 h, 观察 DNA 梯状条带。

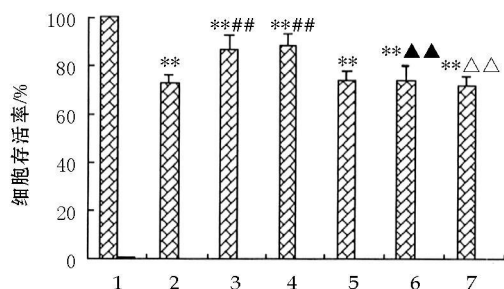
2.7 Western blotting 检测^[8]: 收集各组细胞, 用 4 °C 预冷裂解液冰上裂解 30 min, 冰上刮取细胞, 4 °C 下 12 000 r/min 离心 5 min。取上清, -80 °C 保存备用。用 Bradford 法测定蛋白浓度。制备 12% 分离胶和 5% 浓缩胶。将蛋白与 5 $\times$ 上样缓冲液混匀, 煮沸 5 min。上样总蛋白为 80 μ g, 加入电泳缓冲液, 80 V 电泳 30 min, 待进入分离胶后改为 120 V 约 1.5 h。再以 200 mA, 转 PVDF 膜 2 h。5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后, 加入相应兔抗鼠一抗 (p-Akt 1: 1 000, τ -Akt 1: 1 000), 4 °C 过夜, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。加入过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (1: 10 000), 室温孵育 1 h。TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。加入 ECL 显色液, 曝光显影。结果运用 Quantitative 软件进行分析, 计算条带的吸光度值。采用所测 p-Akt 蛋白条带与 τ -Akt 条带的比值来表示 p-Akt 蛋白的表达水平。

2.8 数据处理: 结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理分析, 对所测定结果进行正态性及方差齐性检验, 各组间比较使用 One way ANOVA 检验。

3 结果

3.1 MTT 法检测细胞存活率: 与对照组比较, H₂O₂ 处理使细胞存活率明显降低 ($P < 0.01$); 与 H₂O₂ 组比较, 10、20 mg/L AST 均显著提高细胞存活率 ($P < 0.01$); 分别与 10、20 mg/L AST 比较, 加入 LY294002 后细胞存活率显著下降 ($P < 0.01$), 而与 H₂O₂ 组比较无显著差异, 结果见图 1。

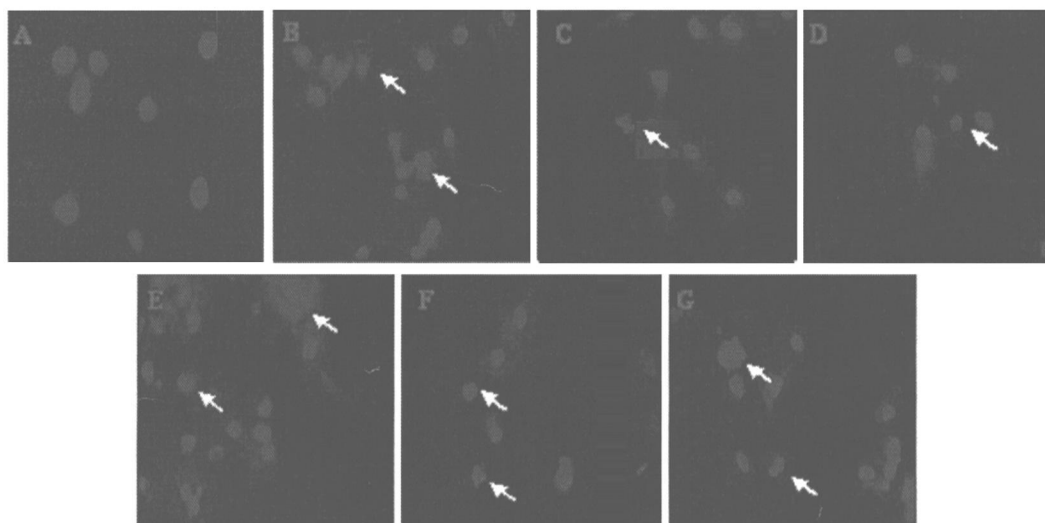
3.2 Hoechst 33258 染色: 结果显示, 对照组细胞形态完整, 细胞核染色均匀。而 H₂O₂ 处理后细胞不规则固缩凝聚, 呈致密浓染, 细胞核分裂成碎片; 与 H₂O₂ 组比较, 10、20 mg/L AST 均能减轻细胞核凝聚, 减少细胞碎片; 分别与 10、20 mg/L AST 比较, 加入 LY294002 后细胞核碎片明显增加, 细胞



1-对照 2-H₂O₂ 3-AST (10 mg·L⁻¹) + H₂O₂
 4-AST (20 mg·L⁻¹) + H₂O₂ 5-LY294002 + H₂O₂
 6-LY294002 + AST (10 mg·L⁻¹) + H₂O₂
 7-LY294002 + AST (20 mg·L⁻¹) + H₂O₂
 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与 H₂O₂组比较: ## $P < 0.01$
 与 AST (10 mg·L⁻¹) + H₂O₂组比较: ▲▲ $P < 0.01$
 与 AST (20 mg·L⁻¹) + H₂O₂组比较: △△ $P < 0.01$
 ** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs H₂O₂ group
 ▲▲ $P < 0.01$ vs AST (10 mg·L⁻¹) + H₂O₂ group
 △△ $P < 0.01$ vs AST (20 mg·L⁻¹) + H₂O₂ group

图 1 AST 和 LY294002 对 H₂O₂ 损伤的 H9c2 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 1 Effect of AST and LY294002 on viability of H9c2 cells injured by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)



A-对照 B-H₂O₂ C-AST (10 mg·L⁻¹) + H₂O₂ D-AST (20 mg·L⁻¹) + H₂O₂ E-LY294002 + H₂O₂
 F-LY294002 + AST (10 mg·L⁻¹) + H₂O₂ G-LY294002 + AST (20 mg·L⁻¹) + H₂O₂

图 2 AST 和 LY294002 对 H₂O₂ 损伤的 H9c2 细胞核 Hoechst 染色的影响

Fig. 2 Effect of AST and LY294002 on nuclei Hoechst staining of H9c2 cells injured by H₂O₂

4 讨论

氧化应激是心血管疾病的重要病理反应过程。心肌损伤时, 自由基的产生远远超过自身内源性抗氧化系统的清除能力。过多的自由基可以引起脂质、蛋白质、核酸的过氧化, 最终导致疾病的发生。ROS 是生物体内的主要自由基, 机体中的 ROS 不

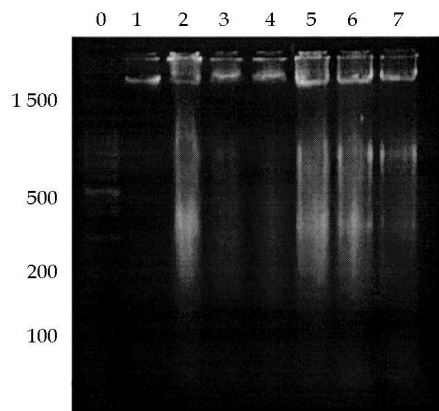
核呈致密浓染; 见图 2 (箭头所示为凋亡细胞)。

3.3 DNA Ladder 检测: 琼脂糖凝胶电泳结果显示, 与对照组比较, H₂O₂ 处理后 DNA 片段分布较弥散, DNA 梯状条带明显; 与 H₂O₂ 组比较, 10、20 mg/L AST 减轻 DNA 片段弥散程度, DNA 梯状条带不明显; 与 10、20 mg/L AST 比较, 加入 LY294002 后 DNA 片段分布较弥散, DNA 梯状条带明显; 见图 3。

3.4 caspase-3 活性检测: 结果显示, 与对照组比较, H₂O₂ 处理使 caspase-3 活性显著升高 ($P < 0.01$); 与 H₂O₂ 组比较, 10、20 mg/L AST 均明显降低 caspase-3 活性 ($P < 0.01$); 与 10、20 mg/L AST 比较, 加入 LY294002 后 caspase-3 活性均明显升高 ($P < 0.01$), 见图 4。

3.5 pAkt/tAkt 蛋白表达变化: Western blotting 检测显示, 与对照组比较, H₂O₂ 处理使 pAkt 蛋白表达增加 ($P < 0.05$); 与 H₂O₂ 组比较, 10、20 mg/L AST 能够明显增加 pAkt 蛋白的表达 ($P < 0.01$); 与 10、20 mg/L AST 比较, 加入 LY294002 后 pAkt 蛋白的表达被明显抑制 ($P < 0.01$); 各组 tAkt 蛋白表达水平无明显改变, 见图 5。

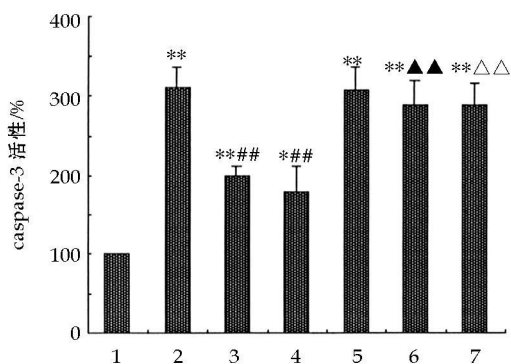
仅具有氧化性, 更能引发级联反应, 从而产生更多的 ROS。细胞内 ROS 水平升高时, 可以促进细胞内 Ca²⁺ 浓度升高, 并上调 bax 相关基因的表达, 开放线粒体通透性转换孔, 激活 caspases, 而导致细胞凋亡。H₂O₂ 是细胞内氧化代谢的中间产物, 是研究细胞氧化应激损伤的主要工具。本研究证明, 200



M-DNA Marker 1-对照 2-H₂O₂ 3-AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂
4-AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂ 5-LY294002+H₂O₂
6-LY294002+AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂
7-LY294002+AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂

图 3 AST 和 LY294002 对 H₂O₂ 损伤的 H9c2 细胞 DNA 片段化的影响

Fig. 3 Effect of AST and LY294002 on DNA fragmentation of H9c2 cells injured by H₂O₂



1-对照 2-H₂O₂ 3-AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂
4-AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂ 5-LY294002+H₂O₂
6-LY294002+AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂
7-LY294002+AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与 H₂O₂ 组比较: ## $P < 0.01$

与 AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂ 组比较: ▲▲ $P < 0.01$

与 AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂ 组比较: △△ $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

$P < 0.01$ vs H₂O₂ group

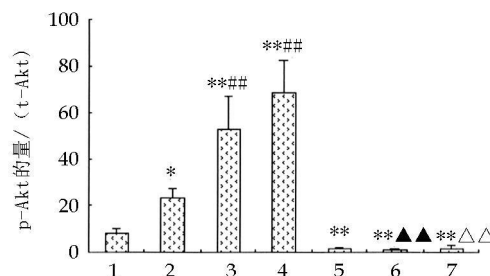
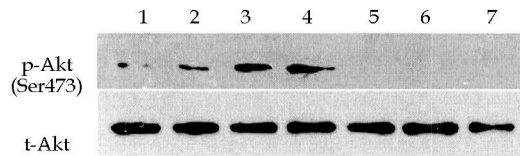
▲▲ $P < 0.01$ vs AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂ group

△△ $P < 0.01$ vs AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂ group

图 4 AST 和 LY294002 对 H₂O₂ 损伤的 H9c2 细胞 caspase 3 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 4 Effect of AST and LY294002 on caspase 3 activity of H9c2 cells injured by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

μmol/L H₂O₂ 作用 6 h, 能够显著诱导 H9c2 细胞存活率下降, caspase 3 活性升高, DNA 片段弥散程度



1-对照 2-H₂O₂ 3-AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂
4-AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂ 5-LY294002+H₂O₂
6-LY294002+AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂
7-LY294002+AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与 H₂O₂ 组比较: ## $P < 0.01$

与 AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂ 组比较: ▲▲ $P < 0.01$

与 AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂ 组比较: △△ $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

$P < 0.01$ vs H₂O₂ group

▲▲ $P < 0.01$ vs AST (10 mg·L⁻¹)+H₂O₂ group

△△ $P < 0.01$ vs AST (20 mg·L⁻¹)+H₂O₂ group

图 5 AST 上调 H₂O₂ 损伤的 H9c2 细胞 p-Akt 的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 5 AST increases p-Akt expression of H9c2 cells injured by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

及凋亡细胞数明显增加。

目前大量研究已证实, 黄芪具有较好的心肌保护作用, 并已被广泛应用于心血管疾病的治疗中^[9]。AST 作为黄芪总苷中重要的单体成分, 能够显著改善心肌功能, 减轻缺氧/复氧或自由基等造成的心肌损伤^[10]。本研究发现, AST 能够显著提高 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞存活率, 减少小片段 DNA 及凋亡细胞数, 降低 caspase 3 活性, 这些都说明 AST 对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞凋亡具有保护作用。

PI3K/Akt 通路是细胞内重要的生存通路, 该通路的激活可减轻细胞凋亡。Akt 是 PI3K 下游重要的靶蛋白, 经 PI3K/Akt 信号途径的磷酸化作用生成 p-Akt 而被激活。研究发现, 诱导心肌细胞过表达 Akt 或激活 Akt, 能够显著抵抗心肌细胞的缺氧/复氧损伤^[11]。而 PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 能够加重缺氧诱导的心肌细胞凋亡。PI3K/Akt 的抗凋亡作用主要依赖于线粒体功能,

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 derivative 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