

· 实验研究 ·

人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁ 对模拟移植肺的保护作用^①

江 沛^{1,②} 孙培吾² 麦惠成¹

(1中山医科大学附属第三医院胸外科; 广州, 510630 2中山医科大学附属第一医院心外科; 广州, 510080)

摘 要 按照肺移植对供肺获取和保存的方法,将 45 只家兔的肺分别获取,保存 24 h,然后采用体外装置,对肺进行通气和灌流,建立模拟肺移植状态的肺缺血再灌注损伤模型。研究人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁ 对肺缺血再灌注损伤的保护作用及 Rb₁ 作用的量效关系。研究结果显示, Rb₁ 对肺缺血再灌注损伤具有明显保护作用,表现为使肺组织中超氧化物歧化酶 (SOD) 含量升高,丙二醛 (MDA) 含量降低;使肺动脉压 (P_{PA}) 降低,湿肺干肺比重降低和改善肺组织病理变化。量效关系显示, Rb₁ 在再灌流血液中浓度为 80 mg/L 时,已达到满意的抗肺缺血再灌注损伤效果,而 Rg₁ 对肺缺血再灌注损伤无明显保护作用。

主题词 人参皂苷 药理学; 肺移植 病理学; 肺移植 生理学

中图分类号 R655; R965

近年来肺移植发展很快,已成为临床上治疗终末期肺纤维化以及晚期阻塞性肺部病变等严重肺部疾病的重要手段。但是,肺移植仍然落后于心、肝和肾等器官移植;其限制肺移植发展的最重要原因是供肺来源缺乏,耐受缺血保存的时间短,移植后的缺血再灌注损伤明显。因此,国际上许多学者都在研究抗移植肺缺血再灌注损伤的药物,但是结果仍不理想。目前国内肺移植还处于起步阶段。根据国内学者对人参皂苷的研究,发现它具有清除自由基^[1],拮抗钙离子通道^[2],调整前列腺素、血栓素 A₂ (PGI₂/TXA₂) 比值等作用^[3];并且具有抗心和脑缺血再灌注损伤的作用^[1,4]。因此,我们将人参皂苷用于抗肺缺血再灌注损伤的研究。人参皂苷有 30 余种单体,主要分为人参二醇组和三醇组皂苷两大类。其中 Rb₁ 和 Rg₁ 分别是二醇组和三醇组中含量最高的单体,因此,是人参皂苷中具有代表性的单体。本实验选择这两种单体作为研究对象。

1 材料与方 法

1.1 建立模拟肺移植肺缺血再灌注损伤模型

参照 Kawahara 的方法^[5],我们采用中山医科大学实验动物中心提供的体重 2.0~2.5 kg 家兔 45 只,将兔麻醉,气管切开插管,呼吸机控制呼吸,经正中切口开胸,从右心房放血 50 mL,抗凝,4℃ 保存。

用 4℃ 低钾右旋糖酐溶液 (LPD 液) 150 mL,以 2.94 kPa 压力,进行肺动脉灌洗。然后将心肺整块取出,使肺保持充气状态,置于生理盐水中,4℃ 保存 24 h。24 h 后,结扎右侧肺门,采用原收集的 50 mL 静脉血,对左肺进行循环灌流和呼吸机室内空气通气。灌入肺动脉的血液,经肺静脉,左房回收到贮血器内,再循环灌入肺动脉。条件为:灌流液温度 37℃,血流量 25 mL·min⁻¹,呼吸频率 32 min⁻¹,潮气量 13 mL。灌流通气持续 1 h,建立模拟肺移植状态的肺缺血再灌注损伤模型。

1.2 实验分组

第一组,实验对照组,9 例。第二组, Rg₁ 用药组,10 例,在即将再灌流前,将 4 mg Rg₁ 加入到 50 mL 再灌流血液中。第三组, Rb₁ 2 mg 用药组,10 例。第四组, Rb₁ 4 mg 用药组,8 例。第五组, Rb₁ 8 mg 用药组,8 例。第三、四、五组加药时间同第二组。

1.3 观察指标

测定灌流前后,灌流血液中氧分压 (P_{O₂}) 和二氧化碳分压 (P_{C_{O₂}})。测定灌流期间肺动脉压 (P_{PA}) 和气道压 (P_{aw})。测定灌流后湿肺-干肺质量比,肺组织中 SOD 含量 (邻苯三酚法) 和 MDA 含量 (硫代巴比妥酸法)。检查灌流后肺组织病理变化,参照 Aeba 等人制定的分级标准^[6],肺组织病理变化由轻至重分为 0 至 4 五级。

① 国家教委博士点基金资助课题; ② 第一作者, 1959 年出生, 男, 博士, 讲师。

1.4 数据处理

计量资料采用方差分析,病理分级资料采用秩和检验。

2 实验结果

2.1 P_{O_2} 和 P_{CO_2} 测定结果

灌流前后灌流血液 P_{O_2} 和 P_{CO_2} 测定结果显示,每组灌流后 P_{O_2} 明显升高, P_{CO_2} 明显降低;但是,各组

间无明显差异。

2.2 P_{PA} 和 P_{aw} 测定结果

灌流期间,灌流即将停止前 P_{PA} 和 P_{aw} 测定结果显示,与第一组比较,第二、三组 P_{PA} 无明显变化,第四、五组明显降低;第二、三组 P_{aw} 无明显变化,第四、五组有所降低,但未达到显著性差异水平(表 1)

表 1 P_{PA} 和 P_{aw} 测定结果 $P[PA \text{ or } aw, (\bar{x} \pm s)] / kPa$

分 组	例 数	P_{PA}	P_{aw}
第一组(对照)	9	3.30± 1.01	0.74± 0.29
第二组 (R _{g1})	10	3.20± 1.09	0.64± 0.30
第三组 (R _{b1} 2 mg)	10	2.85± 1.02	0.77± 0.29
第四组 (R _{b1} 4 mg)	8	1.93± 0.44 ¹⁾	0.57± 0.29
第五组 (R _{b1} 8 mg)	8	2.00± 0.32 ¹⁾	0.62± 0.21

1)与对照组比较, $P < 0.05$

2.3 湿肺-干肺质量比及 SOD和 MDA测定结果

灌流后,与第一组比较,第二、三组湿肺干肺比重无明显变化,第四、五组明显降低;第二、三组

SOD含量无明显变化,第四、五组明显升高;第二、三组 MDA含量无明显变化,第四、五组明显下降(表 2)。

表 2 灌流后湿肺-干肺质量比及肺 SOD和 MDA含量 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	例 数	湿肺-干肺质量比	SOD(U/100 mg)	MDA(nmol/100 mg)
第一组(对照)	9	8.16± 1.26	47.03± 11.42	21.02± 2.13
第二组 (R _{g1})	10	7.82± 0.72	45.51± 17.08	22.64± 4.01
第三组 (R _{b1} 2 mg)	10	7.40± 0.76	51.55± 14.32	21.50± 3.32
第四组 (R _{b1} 4 mg)	8	6.46± 0.55 ²⁾	70.78± 12.33 ¹⁾	16.29± 2.41 ²⁾
第五组 (R _{b1} 8 mg)	8	6.44± 0.44 ²⁾	67.19± 13.09 ¹⁾	16.55± 3.32 ²⁾

1)与对照组比较, $P < 0.05$; 2)与对照组比较, $P < 0.01$

2.4 病理检查结果

灌流后肺组织病理检查结果显示,与第一组比较,第二、三组无明显改善,第四、五组明显改善,表现为肺组织出血,水肿和透明膜形成减轻(表 3)。

表 3 灌流后肺组织病理变化分级

分 组	总例数	I 级	II 级	III 级	IV 级	P 值
第一组(对照)	9	0	1	6	2	
第二组 (R _{g1})	10	0	3	5	2	> 0.05
第三组 (R _{b1} 2 mg)	10	0	3	6	1	> 0.05
第四组 (R _{b1} 4 mg)	8	1	5	2	0	< 0.01
第五组 (R _{b1} 8 mg)	8	2	3	3	0	< 0.05

3 讨 论

本实验采用的模拟肺移植状态的肺缺血再灌注损伤模型,可以准确控制血流量,呼吸频率,潮气量等条件,并且可以维持足够长的时间,使再灌注损伤充分表现出来。实验结果准确、可靠,因此得到广泛的运用。但是,它也象其它模型一样,有一定的局限性,血液经过反复循环后, P_{O_2} 和 P_{CO_2} 指标已不敏感,这可能是本实验中,这两个指标各组间无明显差异的原因。

肺血管内皮细胞中,存在着黄嘌呤氧化酶

(XO),在正常情况下,该酶 90%以脱氢酶形式存在,称黄嘌呤脱氢酶(XD),但在肺保存的缺血缺氧条件下,XD转变为 XO,同时细胞内的三磷酸腺苷(ATP)逐级分解成为次黄嘌呤。当再灌时,有氧存在条件下,XO催化次黄嘌呤变为黄嘌呤(X)的同时,产生超氧化物阴离子,另外,XO还催化 X 变为尿酸,这时产生超氧化物阴离子。超氧化物阴离子可以直接损害细胞成分。超氧化物阴离子经歧化反应生成过氧化氢(H₂O₂),超氧化物阴离子和 H₂O₂经 Fenton 反应产生非常活跃的羟自由基(OH[•]),超氧化物阴离子和 OH[•] 反应又生成单线态氧。上述自由基,特别是 OH[•],在肺内皮细胞膜上,引起广泛的脂质过氧化和蛋白变性,使膜的完整性遭到破坏,导致通透性增加,最终引起肺水肿^[7]。

肺的内源性抗氧化自由基损伤的系统有 SOD,它催化超氧化物阴离子转变为 H₂O₂;过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶,它们催化 H₂O₂ 生成水,使 H₂O₂ 经 Fenton 的反应生成 OH[•] 减少^[8]。在肺的缺血保存期,这些酶逐渐耗竭;另外,再灌注时氧自由基大量产生,远远超过这些酶的清除能力。本实验中,Rb₁ 使肺组织中 MDA 下降,SOD 升高,证实 Rb₁ 具有抗氧化自由基损伤的作用,其机理与增加肺组织中 SOD 含量有关。

肺缺血再灌注损伤时,肺血管阻力增加,在血流量不变的情况下,表现为 P_{AP} 升高。肺血管阻力增加,可能与循环中 TXA₂ 水平升高有关。TXA₂ 主要由血小板产生,具有强烈收缩血管和支气管及聚集血小板作用。另外,肺的迷走交感神经支配中断,使肺血管不能随血流量的增加而反应性扩张,使血管阻力增大。方云祥等^[3],研究证明人参总皂苷能降低心肌缺血再灌注损伤时的血中 TXA₂ 水平。PGI₂ 在体内可对抗 TXA₂ 的作用,研究证明人参总皂苷能提高 PGI₂ 水平^[4]。本实验中,Rb₁ 能降低 P_{AP},可能与降低 TXA₂,升高 PGI₂ 的功能有关。

陈立波等人的研究^[9],证实浓度为 20~80 mg/L 的人参总皂苷灌流,能减轻心肌缺血再灌注损伤,而浓度增加至 160 mg/L 时,反而有加重损伤的倾向。本实验证实,Rb₁ 2 mg 组,灌流血液中 Rb₁ 含量为 40 mg/L,对肺缺血再灌注损伤无作用,而 Rb₁ 4 mg 和 8 mg 组,灌流血液中 Rb₁ 含量为 80 mg/L 和 160 mg/L,对肺缺血再灌注损伤有明显保护作用,但是这种作用没有随剂量的加倍而增大,也未发现有加重肺损伤的情况。Odani 等的研究证实^[10],以 5 mg/kg 给大鼠静脉注射 Rb₁,5 min 后

血清中含量为 (83.8 ± 12.9) mg/L,1 h 内下降较快,1 h 降至 5 min 的 1/3 左右,1 h 后下降缓慢,72 h 血清中含量为 (1.1 ± 0.03) mg/L。按照二室开放模型计算 Rb₁ 药代动力学参数,分布相 t_{1/2α} 为 11.6 min,消除相 t_{1/2β} 为 14.5 h。因此,以本实验 Rb₁ 在再灌流血液中的有效浓度 80 mg/L 计算,我们建议,活体上静脉运用 Rb₁ 的探索剂量为 15 mg/kg,目前运用的 25~50 mg/kg 剂量,可能偏大。

本结果证实,Rb₁ 具有抗模拟移植肺缺血再灌注损伤的作用,表现为使肺组织中 SOD 含量升高,MDA 含量下降,P_{AP} 下降,湿肺-干肺质量比下降和改善肺组织病理变化。量效关系显示,Rb₁ 在再灌流血液中含有 80 mg/L 时,已达到满意的效果。而 Rg₁ 对肺缺血再灌注损伤无明显作用。我们认为,Rb₁ 是一种很有前途的保护移植肺的药物,值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 杨白纯,李元建,邓汉武,等. 人参皂甙抗心肌缺血与抗自由基的关系. 中华医学杂志, 1988, 68: 294
- 2 张文杰,钟国赣,江 崖,等. 人参二醇组与三醇组皂甙对大鼠心肌细胞钙通道阻滞作用的单通道分析. 中国药理学报, 1994, 15: 173
- 3 方云祥,沈 乃,陈 修. 人参皂甙对犬心肌梗塞和再灌注损伤及前列环素和血栓素 A₂ 变化的有益作用. 中国药理学报, 1986, 7: 226
- 4 储国祥,陈 修. 人参皂甙抗脂质过氧化作用及对大鼠脑再灌注损伤的保护作用. 中国药理学报, 1990, 11: 119
- 5 Kawahara K, Ikari H, Hisano H, *et al.* Twenty-four-hour canine lung preservation using UW solution. Transplantation, 1991, 51: 584
- 6 Aeb R, Keenan R J, Hardesty R L, *et al.* University of Wisconsin solution for pulmonary preservation in a rat transplant model. Ann Thorac Surg, 1992, 53: 240
- 7 Paull D E, Keage B A, Kron E J, *et al.* Reperfusion injury in the lung preservation for 24 hours. Ann Thorac Surg, 1989, 47: 187
- 8 Deneke S M, Fanburg B L. Normobaric oxygen toxicity of the lung. Engl J Med, 1980, 303: 76
- 9 陈立波,赵洪序. 人参总皂甙对兔心肌缺血再灌注损伤的保护作用及浓度-效应关系. 白求恩医科大学学报, 1994, 20: 442
- 10 Odani T, Tanizawa H, Takino Y. Studies on the

absorption distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins III. The absorption distribution and excretion of ginsenoside Rb₁ in the rat. Chem Pharm

Bull, 1982, 31: 1059

(1996-11-20收稿 1997-03-04修回)

PROTECTIVE EFFECTS OF GINSENOSE Rb₁ AND Rg₁ ON TRANSPLANTED LUNG OF SIMULATION

Jiang Pei¹ Sun Peiwu² Mai Huicheng¹

(1 Department of Thoracic Surgery, Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510630 2 Department of Cardial Surgery, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

The lungs of 45 rabbits were harvested respectively and preserved for 24 hours according to the methods of lung transplantation. Then the lungs were reperfused using an *ex vivo* model respectively to establish the models of lung ischemia-reperfusion injury. We studied the protective effects of ginsenoside Rb₁ and Rg₁ on lung ischemia-reperfusion injury and dose-effect relationship of Rb₁. The results showed that the Rb₁ provided significant protective effects on ischemia-reperfusion injury of the lung. The effects included increasing lung tissue SOD contents, decreasing lung tissue MDA contents, decreasing P_{PA} , improving lung edema and histological manifestation. The dose-effect relationship showed that the optimal concentration of Rb₁ is 80 mg/L in infuse blood. The Rg₁ did not exhibit any significant effect on lung ischemia-reperfusion injury.

Subject headings panaxosides / pharmacology; lung transplantation / pathology; lung transplantation / physiology

◦ 新成果 ◦

临床视觉电生理应用及应用基础的系列研究

课题负责 吴乐正

(中山医科大学中山眼科中心; 广州, 510060)

该成果从 60年代至今一直进行着不间断的探讨,对视觉电生理的基础及临床应用进行了系统全面研究,通过大样本检测,确定我国正常人的各种正常参考值数据,并应用在眼病的诊断、预后和随访中,验证了视觉电生理检查对一些眼病的早期诊断、病变定位及预后判断有参考价值,采用了国标准化规定,在国内倡导国际标准化要求。并建立了对比敏感度、色觉和视跟踪运动的客观测定方法;研究了视觉-前庭相互作用的特征;局部视网膜电图;以及计算机技术在视觉电生理中的应用。开展了视觉电生理测定的生理和物理基础的研究,视觉电生理与心理物理学的联合测定等多方面的系列性的研究,达到了当前国际同类研究水平,该成果于 1996年获广东省自然科学奖二等奖。

(陈丽芳)