

四逆汤保护缺血心肌作用的实验研究*

吴伟康¹ 侯 灿¹ 罗汉川¹ 卢景露² 杨正红²

内容提要 从自由基角度在小鼠垂体后叶素性心肌缺血模型上探讨四逆汤保护缺血心肌的可能机制。结果表明: 四逆汤可降低缺血心肌的氧自由基(OFR)浓度和丙二醛(MDA)含量, 增加营养血流量(NBF)和超氧化物歧化酶(SOD)活性。提示四逆汤保护缺血心肌是通过改善缺血心肌的灌流, 减轻自由基损伤反应, 加强自由基防御能力等多种机制实现的。

关键词 四逆汤 心肌缺血 自由基

Mechanisms Responsible for Protective Effect of Sini Decoction on Ischemic Myocardium in Mice
Wu Wei-kang, Hou Can, Luo Han-chuan, et al Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou (510089)

The possible mechanisms responsible for the protective effect of Sini decoction (SND) on the ischemic myocardium were studied on the mice model of pituitrin-induced myocardial ischemia in terms of free radical. Results indicated that SND significantly decreased the concentration of oxygen free radical and the content of malondialdehyde (MDA), increased nutritional blood flow and the activity of superoxide dismutase (SOD) in ischemic myocardium. These results suggested that three mechanisms whereby SND exerted its protective effects existed: improving the perfusion of ischemic myocardium, attenuating the injurious action of free radical and strengthening the free radical defense.

Key words Sini decoction, myocardial ischemia, free radical

近年来, 大量研究材料表明自由基损伤是心肌缺血损伤的主要机制之一⁽¹⁾。因此, 寻找有效的自由基清除剂是保护缺血心肌的一个重要途径。本研究从自由基角度探讨了四逆汤对缺血心肌的影响及机制。

材料与方法

1 动物与分组 昆明种小鼠, 中山医科大学实验动物中心及北京医科大学动物部提供, 体重 23 ± 1 g, 完全随机设计, 分为单纯缺血组(缺血组), 正常对照组(对照组), 缺血加四逆汤组(四逆组), 各组雌雄各半。

2 实验方法 四逆汤组用四逆汤水煎液(1 g 生药/ml)灌胃, 每日剂量 0.1 ml/20 g 体重, 缺血组和对照组用等量蒸馏水灌胃。各组连续处理 3 天后, 四逆汤组与缺血组按我室建立的方法复制心肌缺血⁽²⁾, 腹腔注射垂体后叶素(Pituitrin, Pit), 剂量 20 u/kg 体重, 对照组腹腔注射等量注射用水。注射后分别在

20 min 时测定心肌营养性血流量(NBF), 氧自由基(OFR)浓度; 60 min 时测定超氧化物歧化酶(SOD)活性, 丙二醛(MDA)含量。心肌 NBF 测定采用 ^{86}Rb 示踪摄取法⁽³⁾, 每鼠尾静脉注入生理盐水稀释的 $^{86}\text{RbCl}$, 剂量为 1.0~1.5 万 cpm/0.15 ml, 以心肌 ^{86}Rb 摄取率(%)表示。心肌 OFR 浓度测定采用电子自旋共振(ESR)法⁽²⁾, 测试仪器为 Bruker-ESP-300 型 ESR 波谱仪。测试条件: X 波段, 微波功率 10 mW, 调制频率 100 kHz, 调制幅度 0.25 mT, 时间常数 0.327 s, 扫描时间 5 min, 扫描范围 50 mT, 低温 77 K。OFR 浓度以 g 平行峰高(g_{11} , mm)表示。在 $1^\circ\text{C} \sim 4^\circ\text{C}$ 条件下将心肌制成 10% 生理盐水匀浆, 用 TBA 法⁽⁴⁾测定心肌 MDA 含量。上述匀浆经离心后($4000 \text{ r/min} \times 20 \text{ min}$, $4^\circ\text{C} \sim 8^\circ\text{C}$), 取上清, 用邻苯三酚法⁽⁵⁾测定心肌 SOD 活性。

3 统计方法 实验数据用单因素方差分析(F-检验)及 q 检验进行分析处理。

结 果

四逆汤对缺血心肌的影响: 见附表。

1. 中山医科大学病理生理学教研室(广州 510089); 2. 北京医科大学天然药物与仿生药物国家重点实验室; *国家中医药管理局重点课题

附表 四逆汤对缺血心肌各指标的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	^{86}Rb 摄取率 (%)	OFR 浓度 (g_{11}, mm)	SOD 活性 ($\text{u}/0.1 \text{g} \cdot \text{MC}$)	MDA 含量 ($\text{nmol}/0.1 \text{g} \cdot \text{MC}$)
对照	1.75 ± 0.25 (8)	4.92 ± 1.53 (6)	114.8 ± 16.6 (8)	48.6 ± 5.9 (8)
缺血	$1.05 \pm 0.14 \Delta$ (8)	$10.83 \pm 1.94 \Delta$ (6)	$95.2 \pm 9.7 \Delta$ (8)	$71.5 \pm 12.9 \Delta$ (8)
四逆汤	$1.56 \pm 0.24^{**}$ (8)	$5.17 \pm 1.21^{**}$ (6)	$110.5 \pm 12.2^*$ (8)	$52.8 \pm 10.0^{**}$ (8)

注: 括号内为动物数; 与对照组相比, $\Delta P < 0.01$; 与缺血组相比, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$

结果证明, Pit 的缺血效应是明确的。缺血组在 Pit 注入后 20 min, 心肌 NBF 下降到对照水平的 60% 左右(见附表), 差异显著($P < 0.01$), 表明 Pit 的模型效应是确立的。Pit 注入后 20 min, 缺血组 OFR 浓度大幅度上升, 达对照组的 2.2 倍, 符合多数学者在这方面的研究结果^(7, 8)。

讨 论

过量 Pit 可引起冠状动脉强烈痉挛, 从而引起急性心肌缺血, 多年来广泛地利用 Pit 作用复制急性心肌缺血模型⁽⁶⁾研究抗心肌缺血药物作用。

在心肌缺血时, 心肌内与自由基有关的指标发生显著变化, OFR 具有强烈的毒性生物学效应, 可直接或通过脂质过氧化反应引起细胞结构破坏和功能障碍。结果表明, 缺血组 MDA 含量显著上升, 这是 OFR 攻击心肌不饱和脂肪酸的结果。与此同时, 缺血组心肌 SOD 活性也显著下降, SOD 是机体清除 OFR 的主要酶类, 其活性下降提示心肌内有大量 OFR, 并造成氧化应激(oxidative stress)。上述结果表明, 在 Pit 性心肌缺血过程中自由基损伤因素增加, 而防御性因素减弱。

与缺血组相比, 四逆汤组 OFR 浓度和 MDA 含量下降, SOD 活性增加, 表明四逆汤可削弱缺血心肌中自由基损伤性反应, 而增加自由基防御性因素。四逆汤对缺血心肌的这种保护性效应可能与下列因素有关: (1) 四逆汤可改善缺血心肌的供血。四逆汤组 NBF 比缺血组有显著增加, 证明了这一点。(2) 四逆汤可清除 OFR。这可能与其中一些成份(如甘草甜素)可淬灭 OFR 有关。(3) 四逆汤可阻止缺血引起的脂质过氧化反应。可能是供血改善, OFR 清除,

SOD 活性提高等因素综合作用的结果。(4) 四逆汤可提高缺血心肌 SOD 活性。这可能与供血改善, OFR 产生减少, 因而 SOD 消耗减少有关。总之, 从现有结果提示, 四逆汤对缺血心肌的保护作用可能是多重机制。

参 考 文 献

1. Anand IS, Wahi PL, Dhalla NS. Pathophysiology and pharmacology of heart diseases. Boston: Kluwer Academic Publisher, 1989: 91—107.
2. 吴伟康, 侯 灿, 罗汉川, 等. 垂体后叶素性心肌缺血模型再探. 中国病理生理杂志 1993; 2: 124.
3. 朱秀媛, 李振华. 用于 ^{86}Rb 测定小鼠心肌营养性血流量的方法. 中华医学杂志 1975; 8: 559.
4. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry 1979; 95: 351.
5. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 1974; 47: 469.
6. 郭 鹤. 人类疾病的动物模型. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 367.
7. Rao PS, Cohen MV, Mueller HS. Production of free radicals and lipid peroxides in early experimental myocardial ischemia. J Mol Cell Cardiol 1983; 15: 713.
8. Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84: 1404.

(收稿: 1992—12—15 修回: 1994—03—20)