3 讨论

调节机体免疫功能的药物可能作用于机体免疫反应的不同环节或不同细胞,如影响单核巨噬细胞系统的非特异性吞噬功能或影响特异性体液免疫或细胞免疫过程,我们考虑到这一特点,采用涉及免疫过程主要环节的实验方法,初步观察蛇床子素对小鼠免疫系统的影响,结果表明,蛇床子素能显著增加碳廓清指数及吞噬指数,显著增加脾指数,而对迟发性超敏反应有明显的抑制作用。说明蛇床子素可增加网状内皮细胞的吞噬功能,增强非特异性免疫功能,而且对免疫系统的

各个环节影响不一致,蛇床子素的抗变态反应,延缓衰老^[5]等作用可能与其对免疫系统的作用密不可分,蛇床子素在免疫系统的作用值得更深入的研究。

参考文献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典. 上海: 上海人民出版社, 1977. 4344
- 2 向仁德, 等. 天然产物与开发, 1993, 5(4): 57
- 3 陈志春, 等. 药学报, 1988, 23(2): 96
- 4 陈志春, 等. 中药通报, 1986, 11(2): 50
- 5 王彬, 等. 中药药理与临床, 1984(10): 9

(1996-05-13 收稿)

Effects of Osthole on Immunopharmacology in Mice

Liu Hua, Jiang Yun

Osthole was one of the active components isolated from the fruit of *Chidium monnier* (L.) Cusson. Its immunopharmacological activities were studied with results which showed that osthole markedly increased the clearance rate of iv charcoal particles and the weight of spleen in mice. A study on the effect on the cellular and humoral immune response showed that it remarkably inhibited delayed type hypersensitivity, but the production of serum hemolysin was not changed. These results suggested that osthole had immunopharmacological activities.

心复康对体外培养乳鼠心肌细胞影响的实验研究[△]

天津中医学院病理教研室(300193) 范英昌* 陆融 陆一竹 李雅琳

摘要 心肌细胞内超氧化物歧化酶(SOD)产生减少,过氧化脂质生成增多以及心肌细胞膜流动性的异常与心肌梗塞的发生有着重要的关系。本实验通过对乳鼠心肌细胞的体外培养,观察到中药心复康可明显提高缺氧性心肌细胞的SOD的活性,降低过氧化脂质含量并且提高心肌细胞膜流动性,维持其正常功能。实验结果提示心复康可有效地增强心肌细胞抗缺氧性损伤的能力。

关键词 心复康 心肌梗塞 过氧化损伤 膜流动性 益气养阴 活血化痰

目前国内外学者对心肌梗塞的始发病——动脉粥样硬化的研究已深入到遗传基因

* Address: Fan Yingchang, Department of Pathology, Tianjing College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin

范英昌 46岁,病理学硕士学位研究生。现任天津中医学院病理教研室副教授。多年来一直从事以动脉粥样硬化为主的心血管系统病理的研究。曾获国家教委霍英东教育基金教学类三等奖,获省部科技进步二等奖2项,局级科技进步一等奖1项。主持或参加完成各级科研课题7项,鉴定结果均获“国内领先”以上评价。在国内外正式刊物上发表科研论文30余篇,其中多篇被国外权威杂志摘录发表。

[△] 天津市自然科学基金资助课题

学,细胞生物学水平,而对心肌梗塞发生过程中心肌细胞的生物学变化及修复机制尚缺乏系统研究。同时对于心肌梗塞的治疗也仅限于扩张冠状动脉,改善心肌供血,保护心肌细胞的正常代谢等方法。我们认为如何提高心肌细胞的抗缺氧性损伤的能力是防治心肌梗塞的一条重要途径,这对于提供有效的防治措施具有重要意义。我们仅就心复康对培养乳鼠心肌细胞缺氧损伤后抗过氧化损伤及保护细胞膜的作用机制进行探讨。

1 材料与与方法

1.1 心肌细胞培养:取出生2~3 d的SD大鼠乳鼠消毒,开胸剪取心脏,剔除心房,放入盛有无菌D-Hanks溶液的平皿中,反复冲洗,剪碎心室,按常规心肌细胞培养技术进行培养^[3],细胞计数调整密度至 1×10^6 /mL,每4 mL细胞悬液接种至培养瓶中,37℃静置培养。

1.2 分组及处理:按上述接种乳鼠心肌细胞74瓶,每3 d换液1次,2周后,细胞伸出伪足,相互连接呈网状,并形成同步收缩,将其随机分为正常对照组($n=34$)、中药组($n=40$)。在中药组中按每100 mL正常培养液30 μ L的比例加入心复康中药无菌提取液(合生药300 μ g/mL,中药心复康制剂主要由西洋参、白术、鹿衔草、枸杞子、女贞子、功劳叶、土鳖虫等药物组成。由天津中医学院第一附属医院制剂室提供。)培养3 d后,从正常对照组中抽取20瓶细胞标本换入缺氧缺糖培养液,即成为缺氧缺糖对照组;从中药组中抽取20瓶换入加有心复康中药无菌提取液的缺氧缺糖培养液,即成为缺氧缺糖中药组。此时,得到正常对照组14瓶,缺氧缺糖对照组20瓶,缺氧缺糖中药组20瓶,中药对照组20瓶。将缺氧缺糖的对照组和缺氧缺糖中药组开盖置于密闭式的CO₂培养箱中,并迅速抽吸箱中空气,置换以高纯氮气37℃密闭培养。6 h后,同时取出各组标本,制成细胞悬液,分置于离心管中,离心,弃上清液,待测指标。

1.3 指标检测

1.3.1 细胞膜流动性的测定:取 2×10^{-6} /mol DPH液2 mL(6depheugl 1,3,5-henatrieue 美国Sigma公司提供)25℃温育30min,标记细胞膜脂质双层,离心,去除残留标记液,用荧光偏振法,荧光分光光度计(日立-850型),荧光激发波长362 nm反射波长430 nm,在25℃下分别测定平行与垂直时的荧光偏振光强度 I_{11} 、 $I_{\perp}$,校正后输入计算机,按公式计算荧光偏振度(P)和细胞膜流动性(MFU)。

$$\text{公式: } P = \frac{I_{11} - G I_{\perp}}{I_{11} + G I_{\perp}} \dots \dots (1)$$

$$\text{MFU} = \frac{\text{prmax} - 1}{\text{pr}} \dots \dots (2)$$

pr为测得值,prmax为极限值

1.3.2 细胞中超氧化物歧化酶(SOD)测定:用邻苯三酚自氧化法测定细胞内的SOD活性。

1.3.3 细胞中氧化脂质(LPO)测定:用硫化巴比妥酸比色法测定细胞中LPO含量。

1.4 统计学处理采用组间对照t检验。

2 结果

2.1 心复康对体外培养乳鼠心肌细胞膜流动性的影响:结果表明,缺氧缺糖对照组心肌细胞膜流动性明显降低与正常对照组相比,具有非常显著性差异($P < 0.01$);缺氧缺糖中药组心肌细胞膜流动性虽较正常组低,但与缺氧缺糖对照组相比,仍然明显升高,具有非常显著性差异($P < 0.01$)。见表1。

表1 各组间心肌细胞膜流动性的比较

组别	n	膜流动性($\bar{x} \pm s$)
正常对照组	14	2.56 $\pm$ 0.247
中药对照组	20	2.47 $\pm$ 0.205
缺氧缺糖对照组	20	1.732 $\pm$ 0.234**
缺氧缺糖中药组	20	2.157 $\pm$ 0.209* $\Delta\Delta$

与正常对照组相比** $P < 0.01$ $P < 0.05$;与缺氧缺糖对照组相比 $\Delta\Delta P < 0.01$ (下同)

2.2 心复康对体外培养乳鼠心肌细胞抗脂质过氧化损伤作用的影响:结果表明,细胞内SOD活性,缺氧缺糖对照组较正常对照组,

中药对照组均明显降低。缺氧缺糖中药组与正常对照组,中药对照组相比,有显著或非常显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)与缺氧缺糖对照组相比,亦有显著或非常显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2、3。

表 2 各组间 SOD 活性的比较(u/mg 蛋白)

组别	n	SOD 活性($\bar{x} \pm s$)
正常对照组	10	38.46 ± 3.95
中药对照组	15	44.32 ± 5.43*
缺氧缺糖对照组	15	25.28 ± 5.32* ^{△△}
缺氧缺糖中药组	15	34.14 ± 5.47* ^{△△#}

与中药对照组相比#[△] $P < 0.01$,#^{△△} $P < 0.05$ (下同)

表 3 各组间细胞内 LPO 含量的比较(mmol/mg Hb)

组别	n	LPO 含量($\bar{x} \pm s$)
正常对照组	10	0.205 ± 0.029
中药对照组	15	0.232 ± 0.037
缺氧缺糖对照组	15	0.843 ± 0.045* ^{△△}
缺氧缺糖中药组	15	0.532 ± 0.051* ^{△△#}

3 讨论

现代医学认为,心肌缺氧时,自由基产生增多而细胞内自由基清除剂 SOD 活性降低不能清除过多的 OFR,由于 OFR 化学活性很高,与细胞膜上的不饱和脂肪酸反应,形成超氧脂质基团,再进一步与其他脂肪酸上的氢原子反应,生成超氧化物和新的脂基团,这一系列反应可反复进行,其结果可导致脂肪链断裂^[2,4];作为 LPO 分解的终产物丙二醛(MDA)可使细胞膜蛋白的-SH 和磷脂-NH 交联,使维持离子平衡的葡萄糖-6-磷酸酶, N^1/K^1 三磷酸腺苷酶活性降低,致胞膜刚性增强,流动性和通透性发生变化^[1];LPO 还可使缺氧区补体被激活,产生 C_3 等片段,并且激活细胞膜上的磷脂酶促进花生四烯酸

代谢,使白三烯生成增多, C_3 等与白三烯能吸引中性粒细胞进入缺氧区在 NADPH 氧化酶的作用下,中性粒细胞可产生大量 $O_2^{\cdot-}$,从而再形成大量 LPO,发生脂质过氧化。如此恶性循环,影响细胞的完整性及其正常功能,造成细胞的损伤,甚至导致细胞的死亡。

祖国医学认为心肌梗塞属于中医“胸痹”、“真心痛”范畴。从《内经》的“邪在心”到《金匱》的“阳微阴弦”较完整,而扼要地指出“胸痹心痛”的病机,“阳微”即本虚,以气阴两虚为多,标实者,系气滞、血淤、痰浊、寒凝、热结等病理因素,阻遏胸阳,使心气痹阻。已虚之体加诸诱因合而为患,闭阻心络,不通而痛^[5]。根据其病机特点,我们用西洋参、白术益气养阴为君;枸杞子、女贞子、功劳叶益肝肾之阴虚,以清热生血为臣;土鳖虫活血化瘀,鹿衔草健脾益肾为佐使者。全方“益气养阴,活血化瘀”对心肌梗塞进行防治,从而达到扶正祛邪,补不留邪,攻不伤正。

本实验结果显示,心复康可明显增强缺氧状态下心肌细胞自由基清除系统的功能,抑制脂质过氧化反应,提高细胞膜流动性,维持其正常能力,对于缺氧性心肌细胞具有保护作用。

参考文献

- 1 苏志. 国外医学-生理病理学临床分册,1990,10(1): 11
- 2 Roberto F, et al. The American Journal of Medicine, 1991,91,3c
- 3 李连达,等. 中西医结合杂志,1986,6(4):246
- 4 Sharonr W. Medical Clinics of North America, 1988, 72:227
- 5 谭保平. 中国中医急症,1995,4(4):174

(1996-09-30 收稿)

Effect of Xinfukang on Lipid Peroxidation and Membrane Fluidity of Myocardial Cells of Suckling Mice Incubated in vitro

Fan Yengchang, Lu Rong, Lu Yizhu, et al

Myocardial infarction was known to be closely related with the decrease of SOD, increase of lipid peroxidation and abnormal cell membrane fluidity of myocardial cells. The effect of Xinfukang, a compound Chinese herbal preparation was studied in vitro incubation of myocardial cells of suckling mice. Results showed that Xinfukang could improve the activity of SOD, decrease lipid peroxidation and improve membrane fluidity of the hypoxic myocardial cell, suggesting that Xinfukang can enhance the antianoxia ability of myocardial cells.