

复方生脉饮对小鼠心肌 LDH 同工酶的影响

北京联合大学应用文理学院(100083) 文 镜* 陈 文 金宗濂

摘 要 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳活性染色法,观察复方生脉饮对小鼠心肌乳酸脱氢酶(LH)同工酶的影响。结果表明:a)服用复方生脉饮 10 d 的小鼠 LDH 总比活力比对照组提高 13%。b)实验组小鼠心肌 LDH 同工酶谱发生显著变化,LDH₁ 和 LDH₂ 增加,LDH₄ 与 LDH₅ 减少。c)与对照组比较,实验组小鼠心肌 LDH₁₊₂ 比活力提高 38%,LDH₄₊₅ 比活力降低 31%。d)小鼠剧烈运动后血乳酸清除速率显著加快。结果提示复方生脉饮改变 LDH 同工酶谱,增加 LDH₁₊₂ 比活力是其一个重要的抗疲劳机制。

关键词 复方生脉饮 乳酸脱氢酶 同工酶 抗疲劳

近年来,乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, EC1. 1. 1. 27, 简称 LDH)同工酶与运动性疲劳的关系逐渐被人们所重视。1975 年 Burke 等发现 ST 肌纤维比 FT 肌纤维有更强的抗疲劳作用。1978 年 Tesch 的研究表明,FT 肌纤维中 M 型 LDH 活力明显高于 ST 肌纤维中 M 型 LDH 的活力^[1]。1984 年 Pette 在研究运动引起 FT 向 ST 转变的过程中发现 LDH 同工酶谱的改变:LDH₄ 和 LDH₅ 减少而 LDH₁, LDH₂ 及 LDH₃ 增加,指出这与增强抗疲劳能力有关^[2]。国内一些学者在研究中药补剂强力宝和蜂花粉的抗疲劳作用时也观察到 LDH 同工酶谱改变的现象^[3,4]。1990 年我们发现复方生脉饮具有提高血清 LDH 总活力和加速运动后血乳酸清除的作用^[5]。在此基础上,我们研究了复方生脉饮对小鼠心肌 LDH 同工酶的影响,探讨其在乳酸代谢过程中的作用机理。

1 材料

1.1 动物: BALB/C, 8 周龄雄性小鼠, 体重 19.5±0.6 g。

1.2 复方生脉饮, 见文献^[5]。

2 方法

2.1 动物分组与饲养: 将小鼠随机分为实验组与对照组, 每组 20 只, 单笼分养。实验组小鼠每日每只灌喂复方生脉饮煎剂 0.6 mL (相当生药: 24 g/kg), 对照组小鼠每日每只灌喂同样剂量的清水。连续灌喂 10 d。

2.2 血乳酸含量的测定: 用乙醛对羟基联苯比色法^[6]在连续给药 10 d 前后取尾血测定每只小鼠游泳前及于 30±2℃ 水中负重 (体重 3%) 游泳 30 min, 离水休息 25 min, 50 min 时测血乳酸含量。

2.3 心肌 LDH 同工酶的提取: 于实验第 11 天断颈处死小鼠, 取心脏, 用预冷的生理盐水洗去血污, 滤纸吸干水分, 称重。按 W/V=1/5 比例加入 4℃ 预冷的 10 mmol/L, pH6.5 磷酸钾盐缓冲液, 在冰浴中匀浆, 4℃、6000 r 离心 20 min, 上清液为 LDH 提取液。

2.4 LDH 比活力的测定: 取 LDH 提取液 0.02 mL 用 King 氏法测定 LDH 活力^[7], 以牛血清白蛋白为标准, 用 Bradford 方法测定蛋白质含量^[8]。LDH 比活力单位: 每毫克蛋白每秒钟催化乳酸转变为丙酮酸的纳摩尔数。

2.5 LDH 同工酶分析: 用连续聚丙烯酰胺

* Address: Wen Jing, Beijing United University, Beijing.

文镜 副教授, 1983—01 北京大学分校生物系毕业。长期从事食品分析及生物化学教学和科研工作。近 5 年内发表论文 15 篇, 并参加编写“功能食品评价原理及方法”一书, 与金宗濂教授合作 1996 年完成。总后“八五”攻关项目“高能野战口粮”中的增力粉剂科研课题, 该课题为国内外军用野战品的首创, 填补国内外野战口粮研究空白, 属世界领先水平。1995 年参加北京市自然科学基金项目“腺苷受体阻断剂改善老年记忆障碍研究课题”, 该研究利用 HPLC 分析脑内 Ach 填补国内空白, 是国际上首次提出腺苷随龄增加是老年记忆障碍的一种可能分子机制。

电泳及活性染色法分离 LDH 同工酶。显色后的凝胶经透射薄层扫描记录 660 nm 波长处的电泳酶谱^[9]。

3 结果

3.1 复方生脉饮对 LDH 比活力的影响:

实验组小鼠服复方生脉饮 10 d 后,心肌 LDH 总比活力比对照组增加 13%。(见表 1)

表 1 复方生脉饮对小鼠心肌 LDH 比活力的影响($\bar{x}\pm s$,nmol/s·mg)

分组	n	实验第 11 天
对照组	20	38.27±2.17
实验组	20	43.35±2.19*

**P<0.05,与对照组比较(下同)

3.2 复方生脉饮对小鼠心肌 LDH 同工酶

表 2 实验第 11 天,小鼠心肌 LDH 同工酶分布(%)

组别	n	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
对照组	20	19.2±1.6	31.6±1.3	24.7±1.5	15.5±1.8	9.0±2.2
实验组	20	25.1±1.9*	3.60±1.5*	24.0±2.0	10.3±2.1*	4.6±1.4*

从图 1 和表 2 可以看到,小鼠服用复方生脉饮 10 d 后 LDH 同工酶谱发生了变化:与对照组比较,实验组 LDH₁₋₂增加,LDH₄₋₅减少。

根据 LDH 总比活力和同工酶谱计算出有变化的 LDH 同工酶比活力结果见表 3。

表 3 复方生脉饮对小鼠心肌 LDH₁₋₂及 LDH₄₋₅比活力的影响($\bar{x}\pm s$,nmol/s·mg)

组别	n	LDH ₁₋₂	LDH ₄₋₅
对照组	20	19.44±1.07	9.35±0.88
实验组	20	26.49±1.26*	6.46±1.08*

小鼠服用复方生脉饮 10 d 后,心肌 LDH₁₋₂比活力比对照组提高了 36%,而 LDH₄₋₅比活力比对照组降低了 31%。

3.3 复方生脉饮对小鼠血乳酸的影响:结果见表 4。服用复方生脉饮 10 d 小鼠负重游泳之后 25 min 时,血乳酸含量比对照组低 1.94 mmol/L,50 min 时,比对照组低 2.72 mmol/L。

的影响:实验第 11 天,两组小鼠心肌由电泳扫描图谱得出的两组小鼠心肌 LDH 提取液经电泳分离后的扫描图谱如图 1;LDH 同工

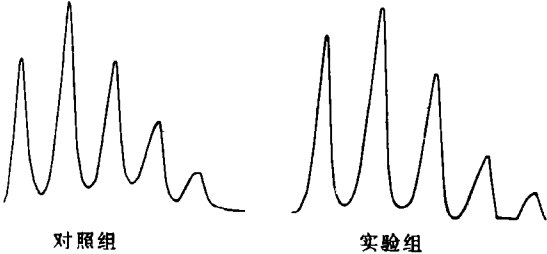


图 1 服用复方生脉饮 10 d 后小鼠心肌 LDH 同工酶扫描图谱

峰从左至右依次为:LDH₁,LDH₂,LDH₃,LDH₄,LDH₅

酶分布情况如表 2。

表 4 复方生脉饮对小鼠血乳酸的影响($\bar{x}\pm s$,nmol/L)

组别	n	游泳前	游泳后 25 min	游泳后 50 min
对照组	20	2.15±0.26	6.91±0.36	5.95±0.38
实验组	20	2.39±0.39	4.97±0.43*	3.23±0.41*

**P<0.05,与对照组比较

4 讨论

LDH 的 5 种同工酶都是由 H 型亚基和 M 型亚基按不同比例组成的四聚体,它们是 LDH₁(亚基组成为 H₄)、LDH₂(H₃M₁)、LDH₃(H₂M₂)、LDH₄(H₁M₃)和 LDH₅(M₄),H 型亚基和 M 型亚基对于相同底物的 K_m 值有显著区别。H 型亚基对乳酸的亲合力高,M 型亚基对丙酮酸的亲合力高。因此,LDH₁、LDH₂ 主要催化乳酸脱氢转变成丙酮酸的反应,而 LDH₄ 和 LDH₅ 主要催化丙酮还原为乳酸的反应。

从实验结果可以看到,小鼠服用复方生脉饮 10 d 以后,不仅 LDH 总比活力有了显著增加,而且 LDH 酶谱也发生了变化。表现为心肌细胞中 LDH₁₋₂升高而 LDH₄₋₅降低。酶

谱的这一改变使得 LDH₁₋₂ 比活力比对照组提高了 36%。剧烈运动时由于供氧不足,机体储备的糖原主要通过无氧酵解最终生成乳酸的反应为机体提供能量。机体内乳酸的大量积累成为导致疲劳的一个重要原因。体内积累的乳酸必须经过由乳酸转变为丙酮酸的反应才能得到清除。由于这一反应是在 LDH₁ 和 LDH₂ 的催化下完成的,所以 LDH₁₋₂ 比活力的增加必然会加速乳酸的清除代谢过程。从表 4 的结果可以看到,服用复方生脉饮 10 d 的小鼠负重游泳后血乳酸水平明显低于对照组,特别是在游泳停止后 25~50 min 时,实验组血乳酸平均清除速率为 0.07 mmol/L·min,而对照组只有 0.04 mmol/L·min。

综上所述,复方生脉饮通过改变心肌细胞 LDH 同工酶谱,增加 LDH₁₋₂ 比活力,从而加速乳酸的清除代谢过程是其具有抗疲劳作用的重要机制。

参考文献

- 1 Tesch P, et al. Acta Physiol Scand, 1978, 103: 413
- 2 Pette, et al. Med Sci Sports Exerc, 1984, 16(6): 520
- 3 谢敏豪,等. 中国运动医学杂志, 1989, 8(4): 211
- 4 吕建新,等. 中国运动医学杂志, 1992, 11(4): 248
- 5 金宗廉,等. 中草药, 1990, 21(8): 19
- 6 Barker S B, et al. J Biol Chem, 1941, 138: 535
- 7 King J A. J Med Lab Tech, 1959, 16: 265
- 8 Bradford M M, et al. Anal Biochem, 1976, 72: 248
- 9 李建武,等. 生物化学实验原理和方法. 北京: 北京大学出版社, 1994. 355

(1996-05-20 收稿)

Influence of "Pulse Vitalizing Tonic Compound" on Heart LDH Isozyme of Mice

Wen Jing, Chen Wen, Jin Zonglian

Effects of "Pulse Vitalizing Tonic Compound" (Fufangshengmai Yin, FSMY) on mouse heart lactate dehydrogenase (LDH) isozyme was examined with polyacrylamide gel electrophoresis and active staining. Results showed that: (1) Total specific activity of LDH was increased by 13% after taken FSMY for 10 days, as compared with the control. (2) LDH isozyme map of heart muscle changed significantly with increase of LDH₁ and LDH₂ and decreased of LDH₄ and LDH₅. (3) Specific activities of LDH₁₋₂ was elevated by 38%, while that of LDH₄₋₅ lowered by 31% as compared with the control. (4) Blood lactic acid clearance was accelerated after vigorous exercises. The above results pointed out that influence on LDH isozyme map and LDH₁₋₂ specific activities are important aspects of anti-fatigue mechanism of FSMY.

火绒草降血糖作用的初步研究

吉林医学院预防医学系(132001)

吉林市药品检验所

焦淑萍* 陈彪 姜虹

张立明

摘要 用火绒草水煎剂 30 g/kg 给小鼠灌胃 10 d,可以降低正常小鼠的血糖,对四氧嘧啶引起的小鼠糖尿病有预防及治疗作用,并可对抗肾上腺素或葡萄糖引起的血糖升高。

关键词 火绒草 降血糖作用

火绒草系菊科植物,具有清热凉血、消炎 益肾^[1]等功效。对其降血糖作用尚未见报道。

* Address: Jiao Shuping, Department of Preventive Medicine, Jilin Medical College, Jilin

焦淑萍 女,1983年毕业于沈阳药学院药学专业,获学士学位。1988年被学院聘为讲师。近年来主要从事中草药的开发研究及应用研究。曾在贵刊发表过《蓝桉的抗炎及镇痛作用研究》。