

中药对心肌细胞损伤的保护作用

黄海霞, 莫晓燕*

(西安交通大学生命科学与技术学院, 陕西 西安 710049)

摘要: 心血管疾病的治疗是目前研究的热点, 国内外学者对保护受损心肌细胞进行了深入研究。现以心肌细胞的线粒体和生物膜为切入点, 从心肌酶谱、膜流动性、线粒体膜通透性及肌钙蛋白等不同方面综述中药对心肌细胞损伤的保护作用。中药对于心血管疾病的治疗具有重要临床意义。

关键词: 中药; 心肌细胞; 保护作用

中图分类号: R 285

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)12-1150-03

Protective effect of Chinese materia medica on myocardial cell injury

HUANG Hai-xia, MO Xiao-yan

(School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Key words: Chinese materia medica; myocardial cell; protective effect

随着生活模式现代化与社会老龄化进程的加快, 心血管疾病的发病率在全球范围内逐年增加, 已成为严重危害人类健康的慢性疾病。目前, 中医中药在心血管疾病的预防及治疗中已占据重要的地位, 通过一系列实验和临床研究, 逐步深入了解中药对心肌细胞的作用机制, 为充分发挥中药治疗心肌损伤和心力衰竭的优势奠定理论基础。

近年来, 中药对心肌细胞损伤保护作用的实验研究主要从以下几方面进行: 心肌酶活性, 心肌细胞膜流动性, 心肌细胞线粒体及转换通透性, 以及心肌肌钙蛋白。本文以心肌细胞的线粒体和生物膜作为切入点, 从不同层面上综述中药对心肌细胞损伤的保护作用。

1 心肌细胞生物膜及线粒体

线粒体是心肌细胞的供能动力中心, 是心肌细胞最重要的细胞器。线粒体以膜结构为主, 其脂质双层结构中磷脂类分子的不饱和脂肪酸 PUFA 极易受自由基侵袭形成过氧化物, 从而影响正常膜功能的发挥。当心肌缺血性损伤时, 自由基产生增多, 破坏膜内成分及其在膜中的有序排列, 抑制 ATP 合成, 从而直接损害心脏的泵功能和电功能, 最终使心肌细胞变性、坏死。因此, 线粒体内膜受损是心肌细胞损伤的重要环节。

1.1 生物膜流动性: 生物膜流动性是反映膜磷脂分子运动状态的一个指标, 生物膜适宜的流动性对生物膜正常功能的发挥有重要作用。实验研究中常以心肌细胞线粒体内膜的 SOD 活性及血清 MDA 含量两个指标观察心肌损伤和心肌线粒体膜流动性的改变状况。据文献报道^[1] 定心方(内含苦参、黄连、党参和赤芍等中药)对心肌细胞氧自由基损伤具有保护作用。实验建立了 H₂O₂ 损伤心肌细胞的模型, 用戊巴比妥酸法监测细胞内脂质过氧化物、MDA 的含量变化。结

果显示, H₂O₂ 对原代培养的乳鼠心肌细胞有明显的损伤作用, 导致心肌细胞的酶指数显著增加, MDA 含量增加及细胞活力下降; 而定心方可明显降低 MDA, 具有抗氧化、清除氧自由基和保护心肌细胞线粒体免受损伤的作用。周梅花^[2] 以心肌细胞内 MDA 含量、SOD 活性及细胞膜的流动性为指标, 从细胞水平研究了冬虫夏草对心肌细胞缺氧再给氧时细胞内脂质过氧化的影响, 并探讨了冬虫夏草抗脂质过氧化的作用机制。实验证明, 细胞缺氧再给氧时, 心肌细胞 MDA 含量增加、SOD 活性降低、细胞膜脂质流动性下降。冬虫夏草剂量依赖性地降低了心肌细胞 MDA 含量, 从而有效减轻了细胞内脂质过氧化反应; 并且通过提高 SOD 活性增加了细胞清除氧自由基的能力; 从而有效防止了缺氧再给氧时心肌细胞脂质流动性的降低, 维持细胞膜功能, 保护心肌细胞。夏腊梅^[3] 探讨了川芎嗪对大鼠缺血再灌注心肌线粒体损伤的影响。研究显示, 川芎嗪能提高大鼠缺血再灌注损伤时心肌线粒体膜中 SOD 活性, 抑制 MDA 生成。提示川芎嗪通过提高心肌线粒体对氧自由基的清除能力, 降低脂质过氧化反应, 从而减轻氧自由基介导的线粒体膜结构与功能的损伤, 实现了其对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。

以上实验结果证明中药可降低受损心肌细胞内 MDA 含量及提高 SOD 活性, 有效防止受损心肌细胞膜流动性的降低, 从而保护心肌细胞。黄芪、当归、川芎、红花等中药也有类似的作用, 对受损心肌细胞膜流动性有调节作用, 能有效保护受损心肌细胞。这些研究为临床用药提供了有益的理论依据。

1.2 线粒体膜通透性: Dauber 指出用通透性来评价心肌损伤已证明是一个敏感而特异的指标。硝酸镧是被用来观察膜在超微结构上所显示的通透性改变的示踪剂, 根据镧颗粒穿

* 收稿日期: 2003-03-17

作者简介: 黄海霞(1977—), 女, 硕士生, 1999 年毕业于西安交通大学, 目前研究方向为中药有效成分对培养心肌细胞的影响。

Tel: (029) 2673153 E-mail: hhaixia@etang.com

入线粒体的多少可反映线粒体膜通透性改变的轻重程度,并对各类病变线粒体进行统计分类,提高实验的可靠性。

心肌细胞线粒体膜磷脂定位改变可作为心肌细胞的一种损伤性指标。已有研究证明,心力衰竭患者的心肌细胞线粒体增生、线粒体膜磷脂定位呈现不同程度的脱失,其程度与心功能状态一致。胡元会^[4]通过 ip 阿霉素制备大鼠实验性心衰模型,以心肌细胞中 MDA 含量和细胞膜通透性为观察指标,研究心复康口服液(人参、黄芪、丹参、附子、淫羊藿、灵芝等中药)对大鼠实验性心衰模型心肌细胞自由基代谢及膜通透性的影响,探讨心复康口服液治疗心衰的作用机制。通过硝酸镧标记对心肌细胞膜通透性进行观察,可见阿霉素组心肌细胞的超微结构有严重损伤,膜通透性发生明显改变,在细胞内可见大量电子致密的镧颗粒,线粒体外膜周围亦有致密的镧颗粒沉积;心复康口服液治疗心肌细胞超微结构损伤较轻,膜通透性改变不明显,同时可明显降低受损心肌细胞 MDA,证明心复康口服液具有抗氧化自由基、减轻膜通透性改变和保护心肌细胞超微结构的作用。

以上实验表明用硝酸镧检测心肌细胞的膜通透性是一种很好的指标,可以通过电镜观察到损伤的心肌细胞膜通透性增加,以及人参、黄芪、丹参等中药减小细胞膜通透性、保护心肌细胞的作用。但是目前这方面的研究大多为临床注射药物,关于中药研究的报道甚少。

1.3 线粒体通透性转换孔:最新研究表明,细胞死亡的根本原因是线粒体钙离子超载,任何原因引起的胞质 Ca^{2+} 浓度升高都可能导致线粒体钙聚超量钙,并最终使线粒体通透性转换孔呈高通透状态而持久开放,使得线粒体肿胀、细胞能量耗竭。 Ca^{2+} 及其转运通过调节细胞能量代谢维持生理条件下细胞的生命活动,而病理条件下线粒体 Ca^{2+} 升高及其转运紊乱可使其发生一系列变化并最终导致细胞凋亡。

细胞内钙离子浓度短暂升高(钙瞬流)不但与心肌收缩的启动有关,而且心肌细胞收缩力的强弱也受钙瞬流大小的调控。细胞内钙稳态的变化可显著改变全部或单个心肌细胞的收缩力^[5~7]。金春华^[8]探讨了虎杖苷对培养乳鼠心肌细胞收缩性的影响,通过强心剂西地兰和 D-Hanks 液与虎杖苷的作用效果对比研究,发现虎杖苷可使心肌细胞内钙荧光强度呈现进行性上升趋势,同时使单个心肌细胞内游离钙离子浓度明显增加,提示虎杖苷可能通过促使心肌细胞内钙离子浓度升高而增加心肌细胞的收缩性。另一实验^[9]利用肾上腺素造成大鼠心肌细胞缺血模型,研究心痛宁煎剂(含黄芪、黄精、当归、川芎、肉桂、红花等)对大鼠缺血心肌细胞游离钙离子浓度的影响。实验中急性心肌缺血模型大鼠心肌细胞内游离钙离子浓度明显升高,说明存在钙超载现象;心痛宁可使损伤的心肌细胞内钙离子浓度降低。Wang^[10]建立了培养大鼠心肌细胞超负荷的心衰模型,研究不同剂量沙棘总黄酮对心衰心肌细胞收缩功能和钙离子转运的影响。显示出沙棘总黄酮有增强心肌细胞收缩力的作用,并且这种作用具有量-效关系;但沙棘总黄酮增强心肌细胞收缩力的作用与细胞内钙离子转运却未显示出量-效关系,即在小剂量范围内,沙棘

总黄酮是一种不依赖离子内转运而增加心肌细胞收缩力、有效改善心衰的中药。

上述实验研究从不同角度探讨了钙离子浓度对心肌细胞的影响。虎杖苷是通过促进心肌细胞内钙离子浓度的升高直接增强心肌细胞收缩性;黄芪、当归、川芎等中药则可使受损伤的心肌细胞内钙离子浓度明显降低,使心肌细胞逐渐恢复正常;沙棘总黄酮增强心肌细胞收缩力、改善心衰的作用,并不依赖钙离子浓度的变化。提示不同中药及其有效成分虽然都有增强心肌收缩力的作用,但作用机制不尽相同,即对心肌细胞线粒体通透性转换孔的影响是不同的。

2 心肌酶谱

目前,血清酶活力的测定已广泛用于诊断和研究心肌损害性疾病。心肌酶谱中的天冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶 MB(CK-MB)、 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH),在心肌损伤、颅脑损伤、肝脏疾病的诊断中均有一定价值。当心肌细胞受损时,细胞膜通透性升高,胞内酶大量释放进入血液中,导致血清心肌酶的活性升高。因此以心肌酶为指标,可以观察中药对心肌细胞的保护作用。

包保全^[11]将广枣总黄酮用于阿霉素损伤的培养心肌细胞模型,结果表明广枣总黄酮可使心肌细胞内 LDH 的释放显著减少,说明广枣总黄酮有保护心脏及修复受损心肌细胞的作用。近年来的研究已证明丹参具有抗缺氧、抗血小板凝集、抗感染等作用,临床上用于心脑血管病的治疗。柯于鹤^[12]研究了丹参对缺糖、缺氧心肌细胞凋亡的影响,通过检测心肌酶 LDH 和 α -HBDH,发现受损心肌细胞的酶指数显著高于正常心肌细胞,大剂量和小剂量的丹参液均可使受损心肌细胞的酶指数明显下降,证明丹参对心肌细胞缺糖、缺氧性损伤有直接的保护作用。罗伟等^[13]观察了人参总皂苷对急性心肌细胞凋亡的影响,从细胞分子水平上探讨了人参总皂苷对心血管的保护作用,结果显示受损心肌细胞的酶漏出量增加,而人参总皂苷可使酶漏出量明显减少。研究表明,黄芪不仅有稳定心肌细胞膜、保护线粒体及溶酶体的功能,还具有减轻心肌细胞钙离子超载所致的损伤、加强心肌细胞代谢及补偿能力,以及抗自由基损伤的能力,从而使细胞抗损伤能力增强。金劲松^[14]通过对心肌酶的测定证实了黄芪可明显减少受损心肌细胞酶的漏出量,对大分子物质损伤的体外培养心肌细胞有保护作用。

上述实验研究的结果均表明,通过测定心肌酶活性有助于判断心肌细胞是否受损,以及损伤的程度。广枣、丹参、人参、黄芪等中药都具有减少细胞内心肌酶外漏,减轻心肌细胞损伤和修复心肌细胞膜的作用。

3 心肌肌钙蛋白

肌钙蛋白是由结构和功能各不同的 3 种亚单位(TnC、TnT、TnI)组成的蛋白复合物,其主要功能是参与肌肉收缩中 Ca^{2+} 的激活调节过程。心肌肌钙蛋白的检测是近年来心血管病研究领域中的一项重要进展。心肌 TnT(cTnT)大部分以结合形式存在,小部分以游离形式存在于细胞浆中。当

心肌细胞缺血、缺氧发生微小损伤时,游离型 TnT 首先通过损伤的细胞膜进入血液中,随后心肌细胞发生变性坏死,激活蛋白分解酶导致结合型 TnT 的大量降解和释放。目前,心肌肌钙蛋白作为一种灵敏度高、特异性强、发病后出现较早的心肌损伤诊断血清标记物,正逐步取代 CK-MB 成为急性心肌梗死(AMI)的诊断“金标准”。

梁铁军^[15]观察了 28 例 AMI 病人接受复方丹参滴丸治疗后血清 TnT 浓度的动态变化,结果显示,与常规西药治疗组比较,复方丹参滴丸组血清 TnT 浓度峰值明显下降,TnT 升高持续时间及恢复正常时间均明显缩短。复方丹参滴丸的主要有效成分为丹参素、三七皂苷等,现代药理研究表明,这些成分具有扩张冠脉、改善微循环、抑制血小板聚集、清除自由基等作用,因此复方丹参滴丸具有保护濒临坏死的心肌细胞、缩小心肌梗死范围的疗效。

4 展望

21 世纪是生命科学的时代,基因技术在中药研制方面将得到更加广泛的应用。近年来,国内外开始使用基因芯片对中药有效成分进行研究,例如对于基因缺陷所引起的肿瘤、糖尿病、心血管等疾病,可通过将致病基因置入基因芯片中,快速筛选出能够抑制或阻止某种致病基因表达的中药提取物。此外,利用基因芯片检测细胞蛋白基因具有高通量、高灵敏度、高效率、大规模和并行性等优点,可有效的对心血管结构与功能的变化机制进行更深一步的研究。中药提取物由于其成分复杂,而且多种成分可能存在协同作用,因而难以分析其生物活性。随着生物技术的发展,可利用基因芯片建立基因表达谱,多层次解释中草药作用机制。但目前在基因水平上进行中药对抗心肌细胞损伤的实验和研究报道很少。

References:

- [1] Zhao X S, Jia Y H, Qin Q H, *et al.* Studies on Dingxin recipe drug serum for cultured myocardial cell injured by H₂O₂ in neonatal rats [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中医药学刊), 2001, 19(3): 215-217.
- [2] Zhou M H, He J X, Yu Z. Influences of liquid of *Cordyceps sinensis* SaSS on myocardial cell effect of oxidation [J]. *Guandong Med J* (广东药学), 1998, 2: 43-44.
- [3] Xia L M, Wu J X. Protective effect of ligustrazin on the mitochondrial damage of myocardium in ischemia reperfusion on rats [J]. *China Pharm* (中国药房), 2002, 13(7): 400-401.
- [4] Hu Y H, Cao X B, Cao G M, *et al.* Effect of Xinfukang Oral Liquid on oxygen free radicals and membrane permeability of myocardial cell in rat with experimental congestive heart failure [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 2000, 6(2): 16-19.
- [5] Xu C B, Wang S R. Cordis electrophysiology and pharmacology [J]. *Bas Clin* (基础与临床), 1997, 24: 154-168.
- [6] Barry W B, Bridge J H B. Intracellular calcium homeostasis in cardiac myocytes [J]. *Circulation*, 1993, 87(6): 1806-1815.
- [7] Brodde O E, Michel M C, Zerkowski H R. Signal transduction mechanisms controlling cardiac contractility and their alterations in chronic heart failure [J]. *Cardiovasc Res*, 1995, 30: 570-584.
- [8] Jin C H, Liu J, Huang X L, *et al.* Influence of polydation on contractility of myocardial cells [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2000, 16(4): 400-402.
- [9] Wang X L, Zhang Y H, Zhao F, *et al.* Influence of Xin Tong Ning on free calcium concentration in myocardial ischemic cell of adult rats [J]. *Jiangsu J Tradit Chin Med* (江苏中医药), 2002, 23(7): 101-103.
- [10] Wang Z R, Wang L. Effect of total flavonoids of *Hippophae rhamnoides* on contractile mechanics and calcium transfer in stretched myocyte [J]. *Space Med Med Eng*, 2000, 13(1): 6-9.
- [11] Bao B Q, Zhang X Y. The establishment of the cultural technique of cardiomyocytes and anti-oxidative activity of TFFC in cultured cardiomyocytes [J]. *J Inner Mongolia Univ Nationalities* (内蒙古民族大学学报), 2001, 16(1): 85-87.
- [12] Ke Y H. Effects of salvia miltiorrhiza injection on cardiomyocyte apoptosis in neonatal rats [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 2000, 25(5): 376-378.
- [13] Luo W, Cheng X S, Wu Q H, *et al.* Studies on ginsenosides on acute myocardial ischemic electrophysiology and apoptosis [J]. *Jiangxi J Med Pharm* (江西医药), 2002, 37(1): 20-23.
- [14] Jin J S, Gao M, Ma Q Y, *et al.* *Astragalus membranaceus* protects myocardial cell from damage caused by middle molecular substances [J]. *Nephrotic J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合肾病杂志), 2002, 3(1): 16-17.
- [15] Liang T J, Gao S Z, Wang A W, *et al.* Influences of Fufang Danshen Diwan on troponin T of acute myocardial infarction patients [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 1999, 10(2): 90.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975 年,1976 年,1979 年,1985 ~1994 年(80 元/年);1995 ~1997 年(110 元/年),1998 年(120 元),1999 年(135 元),2000 年(180 元),2001 年(200 元);2002 年(200 元);1996 年增刊(50 元),1997 年增刊(45 元),1998 年增刊(55 元),1999 年增刊(70 元),2000 年增刊(70 元),2001 年增刊(70 元),2002 年增刊(65 元),2003 年增刊(65 元)。欢迎订购,电话:022-27474913;022-23006821(传真)。