

生脉散对自由基致大鼠离体心脏损伤保护作用*

刘红,艾明仙,阳辉

摘要:目的 观察对家兔灌胃给予生脉散后,其含药血清对大鼠离体灌流心脏内外源性自由基所致心肌损伤的保护作用。方法 家兔每日 2 次灌胃给予生脉散 5 ml/kg,连续 3 d,末次给药后 60 min 取血,分离血清。将含药血清加到 Langendorff 法灌流的大鼠离体心脏,记录左室内压(LVP)、左室内压最大上升速率($+dp/dt_{max}$)、左室舒张末压(LVEDP)、心率(HR),定时收集冠脉流出液测定冠脉流量(CF)和肌酸激酶(CK)活性,再灌结束时测定心肌组织中丙二醛(MDA)含量。结果 以含 0.25 $\mu\text{mol/L}$ 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)或 0.06 $\mu\text{mol/L}$ 次黄嘌呤(HX)和 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 黄嘌呤氧化酶(XO)的 K-H 液灌流心脏 10 min,可显著降低 LVP、 $+dp/dt_{max}$ 升高 LVEDP,增加 CK 和 MDA 释放;预先用含药血清灌流心脏 10 min,可显著改善 DPPH 或 HX + XO 所致心功能损伤,减少 CK 和 MDA 释放。结论 含生脉散血清对 DPPH 或 HX + XO 诱导内外源性自由基所致心肌损伤具有明显保护作用。

关键词:生脉散;自由基;心脏

Protective effects of Shengmaisan on isolated heart injury induced by free radical in rats LIU Hong, AI Ming-xian, YANG Hui. Department of Medicine, Hubei Institute for Nationalities(Enshi 445000, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effects of Shengmaisan on myocardial injury induced by endogenous and exogenous free radical in isolated rat hearts. **Methods** The experiment was accomplished by serum pharmacology. All rabbits were treated with Shengmaisan via gastric gavage twice daily for three days consecutively. After this treatment, 60 min after the last dosing the blood was taken and the serum was separated. The herbal medicines serum was added to the isolated rat hearts perfused in a Langendorff model. Left ventricular pressure (LVP), the first derivative of LVP ($+dp/dt_{max}$), left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) and heart rate (HR) were recorded. Coronary flow (CF) in coronary effluent were measured by timed collection of coronary effluent, at the end of the reperfusion, the content of malondialdehyde (MDA) in cardiac tissue was measured. **Results** Perfusion with 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH 0.25 $\mu\text{mol/L}$) or hypoxanthine (HX 0.06 $\mu\text{mol/L}$) and xanthine oxidase (XO 2.0 u/L) for 10 min caused a marked decrease in LVP and $+dp/dt_{max}$, and an increase in LVEDP, the release of CK and the content of MDA. pretreatment with herbal medicines serum for 10 min produced a significant improvement of cardiac function injury induced by DPPH or HX + XO and a decrease in the release of CK and the content of MDA. **Conclusion** Shengmaisan marked protectively effects on myocardial injury induced by endogenous and exogenous free radical which were produced by DPPH or HX + XO.

Key words: Shengmaisan; free radical; heart

生脉散又名生脉饮,是中医益气养阴的著名古方,由人参、麦冬、北五味子组成^[1]。本实验旨在大鼠离体灌流心脏模型上,用血清药理学实验方法观察生脉散对大鼠离体灌流心脏内外源性自由基所致心肌损伤的影响,以探讨生脉散对自由基所致心肌损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 Wistar 大鼠 45 只,雌雄不拘,体重 200 ~ 300 g 家兔 10 只,体重 2.0 ~ 2.5 kg (湖北省实验动物研究中心)。

1.1.2 仪器 MP150 型 16 道生理信号记录分析仪及插件(美国 BIOPAC 公司)。

1.1.3 药品与试剂 生脉注射液(江苏苏中药业股份有限公司) 10 ml/支,每 10 ml 相当于红参、麦冬各 1 g,批准文号:国药准字 Z32021054;批号:20031203。1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、次黄嘌呤(HX)和黄嘌呤氧化酶(XO)(美国 Sigma 公司),肌酸激酶(CK)和丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。其余各试剂均为市售分析纯。

1.1.4 含药血清的制备 家兔,体重 2.0 ~ 2.5 kg 分成 2 组,每组 5 只。第 1 组为对照组,灌胃生理盐水(NS) 10 ml/kg;第

2 组生脉散组(含药血清组),灌胃剂量为 5 ml/kg。以上各组每日灌胃 2 次,连续 3 d。家兔末次给药前 12 h 禁食,不禁水。末次给药后 60 min 从耳缘静脉取血,3 000 r/min 离心 20 min,分离含药血清,50 $^{\circ}\text{C}$ 灭活 30 min,于 -40 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻备用。

1.2 方法

1.2.1 心脏模型 按文献[2]。用戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔内麻醉大鼠后,开胸,取出心脏固定于 Langendorff 装置上,用 K-H 液(NaCl 118 mmol/L, KCl 4.7 mmol/L, CaCl₂ 2.5 mmol/L, MgSO₄ 1.2 mmol/L, KH₂PO₄ 1.2 mmol/L, NaHCO₃ 25 mmol/L, Glucose 11 mmol/L, 95% O₂ + 5% CO₂) 恒压恒温(90 cmH₂O, 37 $^{\circ}\text{C}$) 逆行灌流,左心室插入带气囊的导管,导管连压力换能器,用 16 道生理信号记录分析仪记录左室内压(LVP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室内压最大上升速率($+dp/dt_{max}$)和心率(HR),定时收集冠脉流出液测定冠脉流量(CF)。所有心脏均在平稳 10 min 后开始实验。

1.2.2 CK 含量测定 在自由基损伤后 10 min 收集冠脉流出液,用分光光度法测定 CK 含量。

1.2.3 MDA 含量测定 在实验结束后取心脏称重,用生理盐水制成 10% 的心肌匀浆液,离心(3 000 r/min, 15 min, 4 $^{\circ}\text{C}$) 取上清液,用分光光度法测定 MDA 含量。

1.2.4 动物分组 共分 5 组,每组各 9 只动物,各组均先用 K-H 液连续灌流心脏稳定 10 min,再在灌流液中加入对照组

*基金项目:湖北省卫生厅科研基金(JXIB120)

作者单位:湖北民族学院医学院药理教研室,恩施 445000

作者简介:刘红(1963-),男,土家族,湖北建始人,教授,学士,研究方向:中药药理研究。

血清或含药血清(以下各组含药血清在灌流液中的体积分数为 4%)连续灌流心脏 10 min,再用含自由基的 K-H 液灌流心脏 10 min,最后再用正常 K-H 液连续灌流心脏 30 min。(1)对照组:将对照组血清给予大鼠的离体灌流心脏;(2)DPPH 组:将对照组血清给予大鼠的离体灌流心脏,连续灌流后用 0.25 $\mu\text{mol/L}$ DPPH 的 K-H 液灌流心脏;(3)含药血清 + DPPH 组:将含药血清给予大鼠的离体心脏,连续灌流后用含 0.25 $\mu\text{mol/L}$ DPPH 的 K-H 液灌流心脏;(4)HX + XO 组:将对照组血清给予大鼠的离体灌流心脏,连续灌流后用含 0.06 $\mu\text{mol/L}$ HX 和 2U/L XO 的 K-H 液灌流心脏;(5)含药血清 + (HX + XO)组:将含药血清给予大鼠的离体心脏,连续灌流后用含

0.06 $\mu\text{mol/L}$ HX 和 2U/L XO 的 K-H 液灌流心脏。

1.3 统计分析 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 药物灌流后不同时间对大鼠心功能指标的影响(表 1)

结果表明,与对照组比较,用含 0.25 $\mu\text{mol/L}$ 的 DPPH 或 0.06 $\mu\text{mol/L}$ HX 和 2U/L XO 的 K-H 液灌流心脏 10 min 可显著损伤心功能,表现为 LVP、+ dp/ dt_{mat}降低,LVEDP 升高,HR 减慢,CF 减少($P < 0.01$);预先用含药血清灌流 10 min,可显著改善 DPPH 或 HX + XO 所致心功能损伤,CF 增加($P < 0.01$);预先用含药血清灌流 10 min,可显著改善 DPPH 或 HX + XO 所致功能损伤,CF 增加($P < 0.01$)。

表 1 药物灌流后不同时间对心功能指标的影响($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	基础值	10 min	10 min	30 min
LVP(KPa)	对照	1.45 \pm 0.184	1.456 \pm 0.11	1.472 \pm 0.20	1.484 \pm 0.15
	DPPH	1.1614 \pm 0.07	0.85 \pm 0.06 ^a	0.574 \pm 0.05 ^a	0.64 \pm 0.02 ^a
	含药血清 + DPPH	1.394 \pm 0.14	1.266 \pm 0.12 ^b	1.214 \pm 0.07 ^b	1.246 \pm 0.09 ^b
	HX + XO	1.294 \pm 0.14	0.926 \pm 0.23 ^a	0.83 \pm 0.19 ^a	0.974 \pm 0.19 ^a
	含药血清 + (HX + XO)	1.484 \pm 0.24	1.38 \pm 0.18 ^c	1.284 \pm 0.15 ^c	1.344 \pm 0.13 ^c
+ dp/ dt _{max} (KPa/s)	对照	5.595 \pm 0.89	5.72 \pm 0.7	5.655 \pm 0.68	5.69 \pm 0.68
	DPPH	6.25 \pm 0.82	2.265 \pm 0.69 ^a	1.375 \pm 0.35 ^a	1.675 \pm 0.92 ^a
	含药血清 + DPPH	5.215 \pm 0.75	4.785 \pm 0.49 ^b	4.32 \pm 0.65 ^b	4.62 \pm 0.59 ^b
	HX + XO	5.25 \pm 0.91	3.585 \pm 0.96 ^a	2.585 \pm 0.84 ^a	3.075 \pm 0.89 ^a
	含药血清 (HX + XO)	5.29 \pm 0.90	5.085 \pm 0.91 ^c	4.665 \pm 0.87 ^c	4.875 \pm 0.90 ^c
LVEDP(KPa/s)	对照	0.059 \pm 0.017	0.059 \pm 0.016	0.061 \pm 0.016	0.059 \pm 0.016
	DPPH	0.062 \pm 0.012	0.097 \pm 0.017 ^a	0.101 \pm 0.011 ^a	0.100 \pm 0.016 ^a
	含药血清 + DPPH	0.072 \pm 0.010	0.073 \pm 0.011 ^b	0.072 \pm 0.00 ^b	0.071 \pm 0.007 ^b
	HX + XU	0.076 \pm 0.015	0.103 \pm 0.012 ^a	0.107 \pm 0.016 ^a	0.102 \pm 0.008 ^a
	含药血清 + (HX + XO)	0.067 \pm 0.02	0.064 \pm 0.017 ^c	0.071 \pm 0.018 ^c	0.065 \pm 0.017 ^c
CF(ml/min)	对照	3.55 \pm 0.47	3.58 \pm 0.21	3.63 \pm 0.13	3.70 \pm 0.11
	DPPH	3.70 \pm 0.82	4.14 \pm 0.91	4.37 \pm 0.76	4.18 \pm 0.92
	含药血清 + DPPH	3.83 \pm 0.61	5.68 \pm 0.44 ^b	5.82 \pm 0.53 ^b	5.85 \pm 0.29 ^b
	HX + XO	3.35 \pm 0.64	3.82 \pm 0.52	3.77 \pm 0.52	3.87 \pm 0.50
	含药血清 + (HX + XO)	3.71 \pm 0.43	5.92 \pm 0.31 ^c	5.76 \pm 0.40 ^c	5.77 \pm 0.43 ^c
HR(次/min)	对照	205 \pm 19	204 \pm 17	202 \pm 12	204 \pm 14
	DPPH	178 \pm 27	165 \pm 34	144 \pm 34	147 \pm 16
	含药血清 + DPPH	195 \pm 25	176 \pm 27	171 \pm 28	175 \pm 27
	HX + XO	201 \pm 44	216 \pm 55	217 \pm 70	215 \pm 72
	含药血清 + (HX + XO)	211 \pm 31	207 \pm 29	204 \pm 25	206 \pm 20

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与 DPPH 组比较,^b $P < 0.01$;与 HX + XO 组比较,^c $P < 0.01$ 。

2.2 药物灌流后对大鼠冠脉流出液中肌酸激酶含量和心肌组织中丙二醛含量的影响(表 2) 结果表明,与对照组比较,用含 0.25 $\mu\text{mol/L}$ 的 DPPH 或 0.06 $\mu\text{mol/L}$ HX 和 2U/L XO 的 K-H 液灌流心脏 10 min 可显著增加冠脉流出液中 CK 释放和心肌组织中 MDA 含量($P < 0.01$),预先用含药血清灌流 10 min,可减少冠脉流出液中 CK 释放和心肌组织中 MDA 含量($P < 0.01$)。

3 讨论

DPPH 是一种稳定的带有不配对电子的外源性自由基^[2-4],HX 和 XO 可诱导内源性超氧阴离子的产生^[5-7]。本研究用 DPPH、HX 和 XO 灌流大鼠离体心脏,可显著降低

表 2 药物灌流后对冠脉流出液中 CK 和心肌组织 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	CK(u/ml)	MDA(nmol/g)
对照	1.78 \pm 0.40	164.4 \pm 30.2
DPPI	4.92 \pm 0.39 ^a	285.3 \pm 29.6 ^a
含药血清 + DPPH	2.53 \pm 0.66 ^b	204.3 \pm 38.5 ^b
HX + XO	4.77 \pm 0.26 ^a	274.1 \pm 23.9 ^a
含药血清 + (HX + XO)	2.96 \pm 0.19 ^c	135.3 \pm 27.8 ^c

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与 DPPH 组比较,^b $P < 0.01$;与 HX + XO 组比较,^c $P < 0.01$ 。

LVP、+ dp/ dt^{max}升高 LVEDP,减慢 HR,减少 CF,增加 CK 释放和 MDA 生成,提示氧自由基在心肌缺血中起重要作用。

本研究发现,生脉散可显著改善 DPPH 或 HX + XO 所致心肌损伤,表现为可明显升高 LVP、+ dp/ dt_{max},降低 LVEDP,增加 CF,减少 CK 释放和 MDA 生成。资料表明^[8],生脉散有抑制自由基和抗脂质过氧化作用,但该作用及扩张冠脉血管,增加冠脉血流量的报道至今均为体外实验或静脉直接给药所得结论,对有效成分并不十分确切的这一粗制剂经口给药后能否产生同样的活性报道较少。本实验采用生脉散给动物口服,取其血清进行体外实验,这样可排除其所含杂质成分包括无机离子的干扰。实验表明,含生脉散血清与生脉散制剂直接给药两者对心肌的作用基本相似,说明其抑制自由基、抗脂质过氧化和扩张冠脉血管,增加冠脉血流量作用的有效成分确能经胃肠道吸收入血。

鉴于生脉散的有效成分复杂,对其确切作用机制仍不明确。但根据自由基能造成心肌缺血和再灌注性损伤的机制,生脉散改善心功能的作用,可能与清除体内的自由基和抗脂质过氧化损伤有关。

参考文献

- [1] 党波,商惠萍,江丽.生脉注射液对冠心病患者内皮功能的影响[J].陕西中医,2005,26(6):639.
- [2] Jin ZQ,Chen X. A simple reproducible model of free radical-injured isolated heart induced by 1,1-diphenyl,2-picryl,hydral (DPPH) [J].J Pharmacol Toxicol Methods,1998,39:63.
- [3] 王开金,陈列忠,李宁,等.加拿大一枝黄花黄酮类成分及抗氧化与自由基消除活性的研究[J].中国药学杂志,2006,41(7):493-497.
- [4] 向志军,赵广荣,元英进,等.复方丹参的体外抗氧化活性研究[J].中草药,2006,37(2):211-213.
- [5] 李年生,钟志莲,胡长平,HOE694 对自由基所致离体心脏损伤的保护作用[J].江西医学院学报,2006,46(1):11-13.
- [6] Norholt SE,Sindet Pedersen S,Larsen U,et al. Pain control after dental surgery:a double-blind,randomized trial of lornoxicam versus morphine[J].Pain,1996,67(2-3):335-343.
- [7] Chen PH,WU WL,LU ZH,et al. Tramadol or lornoxicam reduces restlessness during recovery after general anesthesia[J].China Journal of Modern Medicine,2004,14(6):129-131.
- [8] 刘慧,盛庆寿,农钊.生脉散加味方抗家兔动脉粥样硬化的实验研究[J].实用中医内科杂志,2006,20(4):373-374.

收稿日期:2006-10-23

(宋艳萍编辑 刘铁校对)

文章编号:1001-0580(2007)07-0849-02

中图分类号:R 134

文献标志码:A

【论 著】

甲醛对作业工人呼吸系统及肺功能影响*

洪志强,童智敏,施健

摘要:目的 探讨甲醛对作业工人呼吸系统及肺功能的影响。方法 运用职业流行病学调查方法,对 65 名甲醛作业工人(暴露组)和 70 名对照工人呼吸系统症状进行问卷调查和肺功能测定。结果 结果表明,暴露组流泪、流涕、疲乏无力、记忆力减退、腹痛和咳嗽等 6 项自觉症状的出现率与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。肺功能测定结果暴露组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。作业组工人主要以小气道通气功能异常为主,且工龄越长肺功能损伤越严重。结论 工人刺激症状明显,导致工人阻塞性肺功能通气功能障碍,肺功能测定可为作业工人健康监护的理想指标。

关键词:甲醛;职业流行病学;肺功能

Effects of maldehyde on respiratory system and pulmonary function of workers HONG Zhì-qian, TONG Zhì-min, SHI Jian. Center for Disease Control and Prevention of Kunshan of Jiangshu Province(Kunshan 215301, China)

Abstract: Objective To discuss the hazardous effect of formaldehyde on spontaneous symptoms and pulmonary function among occupational exposure population. **Methods** sixty five workers exposed to formaldehyde, and 70 non-exposed garment workers as control, were investigated in the study. Spontaneous symptoms and pulmonary function were applied in the study. **Results** A significant difference was found in the frequency of occurrence of symptoms such as achrymation, snivel, tiredness, failure of memory, bellyache and tussis between two groups. The pulmonary function result indicated that there was statistical difference compared with the control group. And the workers ventilative function were abnormal mainly because the small gas channel was abnormal, and dose-effect response existed. **Conclusion** Obstructive airway changes can be found in formaldehyde exposure population. The pulmonary function injury was more severe with the prolongation of service. And pulmonary function test may be used as a method for early detection to monitor the hazardous effect of formaldehyde exposure.

Key words: formaldehyde; occupational epidemiology; pulmonary function

甲醛对上呼吸道的损害作用一直是学术界研究的热点,特别是甲醛被确认为人类鼻咽癌的致癌物后,甲醛对肺组织等深呼吸道毒害作用的研究引起关注。本调查通过研究甲醛

对作业工人呼吸系统症状及肺通气功能的影响,进一步探讨甲醛的职业健康危害,并为寻找甲醛作业工人呼吸道早期损伤健康监护的敏感指标提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象 选择木材加工厂等 65 名接触甲醛作业工人为暴露组,其中男 42 人,女 23 人,工龄为 0.5~11.2 年,平均工龄 2.72 年,平均年龄(25.15 ± 5.68)岁;另选无尘毒接触、劳动

*基金项目:昆山市科学技术局项目(KS0521)

作者单位:江苏省昆山市疾病预防控制中心,215301

作者简介:洪志强(1966-),男,江苏人,副主任医师,本科,主要从事疾病预防控制工作。