

疏肝活血方对体外培养主动脉平滑肌细胞影响的实验研究

范英昌 胡利民 陆 融

(天津中医学院)

动脉粥样硬化(As)是当今社会发病率最高、危害最大的疾病之一。多年来,人们对 As 的病因病理从多方面进行了深入研究,以期揭示其病因病理,从而寻找出有效的防治手段。平滑肌细胞(SMC)为 As 形成的重要因素之一。过氧化脂质(LPO)含量增加可促进 As 的发生、发展。给家兔静注 LPO 可致 As 发生,As 斑块区 LPO 含量明显高于非斑块区。超氧化物歧化酶(SOD)可降低 LPO 的含量。SMC 增生,功能代谢变化是构成 As 病变的主要特征,细胞膜是细胞功能的重要调节器,SMC 膜的各项功能又都取决于膜的流动性,有人强调 SMC 膜流动性的下降是 As 开始的表现。根据多年的临床经验,从中医学的角度,我们认为 As 的发生存在“肝郁气滞、瘀血内停”的病理机制,

提出用疏肝活血法治疗 As。临床上已经取得良好的治疗效果,动物实验亦初步证实了该法方药可以推迟 As 的形成。为了进一步探讨疏肝活血方(暂名)的作用机理,我们从细胞生物学的分子水平对家兔主动脉的 SMC 进行体外培养,观察疏肝活血方药对 SMC 内 LPO 含量、SOD 含量、SMC 膜流动性的影响。

选用 3 月龄健康家兔主动脉中膜切成 $1\sim 2\text{ mm}^3$ 小块,接种于 25 ml 培养瓶内, 37°C 恒温孵育 $1\sim 2$ 小时,待贴壁后,加入含 20% 胎牛血清的培养液(1000 ml 水中含 DME 6.7 g, F₁₂ 4.9 g)培养,待细胞生长晕达 1.5 cm 时,消化液(由 0.125% 胰蛋白酶溶液和 0.02% 乙二胺四乙酸二钠溶液按等毫升数的量配制)消化,再以含 15% 胎牛血清的培养液制成细胞悬液,按 $7\times 10^4/\text{ml}$ 的量种入培养瓶继续培养,此为第一代细胞,待细胞铺满瓶底后,再依上法相继传代,选第四代生长状态良好的 SMC 进行实验,将细胞数均匀的 SMC 常规培养 24 小时,随机分为给药组和对照组,给药组每 ml 培养液中加入疏肝活血方药的提取液 $30\text{ }\mu\text{g}$,两组细胞均培养 6 天后,用硫代巴比妥酸比色法测定每瓶 SMC 内的 LPO 值,袁氏邻苯三酚自氧化法测定每瓶 SMC 内的 SOD 活性,用荧光偏振法测定膜脂微粘度来表示 SMC 的膜流动性。

实验结果为,给药组 SMC 内 LPO 含量为 $1.845\pm 1.701\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,对照组为 $5.577\pm 2.893\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,给药组 SOD 活性为 $69.763\pm 14.127\text{ U/mg}$,对照组为 $53.285\pm 13.015\text{ U/mg}$,给药组 SMC 膜流动性为 2.978 ± 0.668 ,对照组为 2.101 ± 0.218 。给药组与对照组比较均有非常显著差异($P<0.01$)。

结果表明疏肝活血方可显著降低 SMC 内 LPO 含量,明显提高 SOD 活性,可显著提高 SMC 膜流动性,具有保护 SMC 功能、代谢、结构完整,从而使 As 病变减轻和趋向静止。