

炙甘草汤及有效成分配伍对猫缺血再灌心脏触发活动及心肌损伤影响

朱若凯, 陈 奇, 毕 明 (江西中医学院, 南昌 330006)

摘要: 本研究在麻醉猫左冠状动脉前降支(LDH) 结扎再灌的实验中, 使用心肌单相动作电位技术, 观察了炙甘草汤、甘草酸单铵盐、人参总皂甙配伍甘草酸单铵盐能显著降低心律失常, 缩短触发活动时程和幅度, 减少血清中磷酸肌酸激酶(CPK) 和乳酸脱氢酶(LDH), 明显增加缺血再灌注区心肌组织超氧化物歧化酶(SOD) 活性, 降低心肌组织中脂质过氧化产物丙二醛(MDA) 的含量。实验结果表明, 炙甘草汤、甘草酸单铵盐、人参总皂甙配伍甘草酸单铵盐具有抗实验性心肌缺血再灌注触发活动和对心肌损伤有保护作用。

关键词: 炙甘草汤; 甘草酸; 人参总皂甙; 缺血再灌; 触发活动; 心肌损伤

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)06-0027-03

The Effects of Zhigancao Decoction, its active ingredients and Their combinations on triggered activity and Myocardial Damage Induced by Ischemia-Reperfusion in cat

ZHU Ruo-kai, CHEN Qi, BI Ming

(Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006)

Abstract: The Myocardial monophasic action potential (MAP) techniques were used to study the effects of Zhigancao Decoction (ZGCD), Glycyrrhizinate (MG), MG and Gingseng total saponins (GTS) in the myocardial damage induced by ischemia-reperfusion in anesthetized cats. In the experimental ischemia-reperfusion model, ZGCD, MG and GTS had remarkably shortened the duration of the triggered activities, greatly increased the SOD activity and reduced MDA content in the ischemia-reperfusion area. It also reduced the release of CPK and LDH on the cat serum. The results indicate that ZGCD, MG, and the combinations of MG and GTS would protect myocardial injury by ischemia-reperfusion.

Key words: Zhigancao Decoction; glycyrrhizinate; gingseng total saponins; ischemia-reperfusion; triggered activity; myocardial Damage.

炙甘草汤出自东汉张仲景《伤寒论》, 是历代医

家治疗“心动悸, 脉结代”的重要方剂, 近年来用于冠心病、心肌炎等心律失常^[1-2]。动物实验研究表明: 炙甘草汤对乌头碱、氯化钙、肾上腺素、大鼠缺血再

收稿日期: 2001-05-21

基金项目: 国家自然科学基金课题 No: 39860084

灌等多种因素心律失常有明显防治作用^[3-4]。炙甘草汤中两味主药炙甘草、人参能抗多种实验性心律失常,其中甘草酸、人参总皂甙是抗心律失常的主要有效成分^[5-7]。为进一步探索和验证这个作用机理,我们应用单相动作电位技术就甘草酸单铵盐、甘草酸单铵盐配伍人参总皂甙对家猫在体心脏结扎再灌心肌损伤有关酶和触发活动的影响。

1 材料

1.1 药品 炙甘草汤总提物按《伤寒论》原方甘草(炙)、人参、麦冬、生地、桂枝、火麻仁、生姜、大枣、阿胶组成^[8],按中药传统工艺煎煮,合并煎液,浓缩至1g生药/ml。甘草酸单铵盐:纯度约为82%(自提,经HPLC测定含量)。人参总皂甙:纯度约为71%(自提,经比色法测定含量)。乌拉坦:中国上海化学试剂采购供应站经销,批号:880328。异搏定:南通第二制药厂,批号990816。MDA药盒和SOD药盒:南京聚力生试剂有限公司提供。

1.2 仪器 二道生理记录仪(LMS-2B):成都仪器厂。江湾I型人工呼吸机:第二军医大学生产。示波器(J2459):江西电子仪器厂。高速式离心机:上海手术器械十厂。全自动生化分析仪(Loyon-300):法国产。

1.3 动物与分组 健康杂种家猫,体重2.5~3.5Kg,雄性,随机分成模型组(生理盐水空白对照)、假手术组、异搏定阳性对照组、甘草酸单铵盐组、人参总皂甙+甘草酸单铵盐组。

2 方法

2.1 实验操作 取家猫乌拉坦(1g/kg)腹腔注射麻醉,仰卧位(稍偏右侧)固定于手术台上,手术部位(右侧胸部、颈部、腹股沟)剪毛后行十二指肠插管术以备给药。分离气管行气管插管术,进行人工呼吸,保持30次/min左右的呼吸节率。开胸,撕开心包膜,暴露心脏,做心包摇篮。分离左冠状动脉前降支(LAD),于LAD起始部下3mm处放置细线结扎,造成心肌急性缺血。结扎20min后剪断结扎细线使LAD再灌通,进行缺血区心肌再灌注30min。实验过程中,将自制Ag-AgCl接触电极置于左室心外膜上,直接引导单相动作电位(MAP)。接触电极作用于心外膜的压力控制在 $1 \pm 0.5 \text{g/mm}^2$ 。MAP经接触电极引导后通过二道生理记录仪直流放大、记录,同步输入示波器观察心电图。假手术组在LAD起始部下3mm处放置细线不结扎,模型组给等容积生理盐水,药物用蒸馏水配制。各组十二指肠给药1h进行结

扎再灌实验。

2.2 观察指标 (1)触发活动:观察结扎再灌前后记录触发活动的幅度(TA-D)、时程(TA-D)。考虑到后除极和触发性心律失常划分的幅度标准难以确定,故后除极和触发性心律失常的各参数值一并计入。(2)实验结束时立即心脏内取血,高速离心分离得血清测LDH和CPK。(3)取缺血区左心室靠心尖部的心肌组织(约0.2g)用生理盐水冲洗除去血液滤纸拭干,放入10ml的小烧杯中,用量筒取预冷的生理盐水(其总量约为组织重量的9倍)加入到烧杯中。在冰浴下用眼科剪迅速剪碎组织块后,将其倒入10ml匀浆器匀浆6~8min。将匀浆用双层纱布过滤,滤液以普通离心机以3000~4000r/min离心10~15min。倾出上清液。按说明书的方法用试剂盒测心组织SOD和MDA。

2.3 资料统计方法 所有数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,成对数据t检验法检验。

3 实验结果

3.1 对在体结扎再灌注猫血清中LDH、CPK的影响 模型组与假手术组比较,血清中的LDH、CPK含量显著升高。甘草酸单铵盐组、人参总皂甙和甘草酸单铵盐配伍组均可显著降低结扎再灌注所致猫血清中LDH、CPK的含量,且人参总皂甙与甘草酸单铵盐配伍优于甘草酸单铵盐组(表1)。

表1 炙甘草汤、甘草酸单铵盐、人参总皂甙和甘草酸单铵盐配伍对在体结扎再灌注猫血清中LDH的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (n)	LDH (U/l)	CPK (U/l)
假手术		3	62.33 ± 9.02	141.67 ± 11.06
模型组		5	459.8 ± 47.23 ^{△△}	2422.40 ± 438.61 ^{△△}
异搏定	2	6	88.66 ± 8.47 [*]	279.67 ± 64.85 [*]
甘草酸单铵盐	100	6	155.67 ± 59.68 [*]	794.83 ± 157.73 [*]
甘草酸单铵 + 人参总皂甙	100+ 50	6	143.0 ± 58.68 [*]	418.16 ± 27.72 ^{**◇◇}
炙甘草汤	8.5g 生药	6	125.5 ± 31.93 [*]	887.33 ± 151.18 [*]

注:与假手术组比较:△△P < 0.01;与模型组比较:* P < 0.01;与甘草酸单铵盐组比较:◇◇P < 0.01(下同)

3.2 对在体结扎再灌注猫缺血心肌中SOD、MDA含量的影响 模型组与假手术组比较,心肌组织中SOD含量显著降低。甘草酸单铵盐组、人参总皂甙与甘草酸单铵盐配伍组均可显著升高结扎再灌注所致猫血清中SOD;模型组与假手术组比较,心肌组织中的MDA含量显著升高。甘草酸单铵盐组、人参总皂甙和甘草酸单铵盐配伍组均可显著降低结扎再灌

注所致猫心肌组织中MDA的含量(表2)。

表2 炙甘草汤、草酸单铵盐、人参总皂甙和甘草酸单铵盐配伍对在体结扎再灌注猫缺血心肌中SOD、MDA的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (n)	SOD (μmol/mg. pro)	MDA (μmol/mg. pro)
假手术		3	17.81 ± 0.48	22.16 ± 1.38
模型组		5	5.24 ± 1.71 ^{△△}	53.45 ± 5.01 ^{△△}
异搏定	2	6	15.82 ± 2.15 [*]	25.15 ± 3.21 [*]
甘草酸单铵盐	100	6	8.94 ± 2.24 [*]	43.63 ± 6.73 [*]
甘草酸单铵盐 + 人参总皂甙	100+ 50	6	11.17 ± 1.47 [*]	38.35 ± 2.45 [*]
炙甘草汤	8.5g 生药	6	12.76 ± 1.65 [*]	36.15 ± 4.81 [*]

3.3 对在体结扎再灌注猫心肌触发活动幅度触发活动时程的影响 模型组与假手术组比较,假手术组无触发活动。甘草酸单铵盐组、人参总皂甙和甘草酸单铵盐配伍组均可显著降低触发活动幅度和缩短触发活动时程,且甘草酸单铵盐与人参总皂甙配伍、炙甘草汤全方优于单味甘草酸单铵盐组(表3)。

表3 炙甘草汤、甘草酸单铵盐、人参总皂甙和甘草酸单铵盐配伍对在体结扎再灌注猫心肌触发活动的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (n)	TA-A (mv)	TA-D (ms)
假手术		3	0	0
模型组		5	15 ± 4.74	84.8 ± 12.13 ^{△△}
异搏定	2	6	1.46 ± 0.57 [*]	20.0 ± 5.16 [*]
甘草酸单铵盐	100	6	9.43 ± 1.22 [*]	50.5 ± 7.86 [*]
甘草酸单铵盐 + 人参总皂甙	100+ 50	6	3.93 ± 0.56 [*] ◇◇	40.0 ± 8.76 [*]
炙甘草汤	8.5g 生药	6	3.72 ± 0.48 [*]	40.0 ± 9.47 [*]

4 讨论

缺血一再灌注损伤是当今研究抗心律失常药物最活跃的领域之一。目前,对心肌缺血再灌注损伤的发病机制尚不完全清楚,大多数学者认为,缺血再灌注损伤时心功能受损、心肌酶漏出与氧自由基作

用、钙超载有关^[9]。氧自由基使生物膜发生脂质过氧化,因而心肌细胞膜功能和结构被破坏,通透性增加,心肌酶释放,更多的Ca²⁺进入细胞内,诱发触发活动而致心律失常^[10]。本实验采用心肌细胞单向动作电位(MAP)及生化测定技术,首次用供试药品对缺血再灌注猫心肌组织损伤有关酶含量及触发活动的影响进行研究。本实验结果表明,甘草酸单铵盐及其与人参总皂甙的配伍能增强再灌注心肌组织SOD活性,降低MDA含量,抑制心肌细胞CPK、LDH的释放,抗自由基损伤,保护心肌细胞,而产生抗心肌缺血再灌注心律失常的作用,为进一步化裁、精减炙甘草汤这一古方提供理论基础。

参考文献:

[1] 陈奇. 中成药名方药理与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 493-495.

[2] 连晓媛、陈奇. 炙甘草汤临床及药理研究进展[J]. 中药药理与临床. 1994, (特刊): 81-83.

[3] 连晓媛、陈奇、毕明, 等. 炙甘草汤抗心律失常的实验研究[J]. 中药药理与临床. 1994, (1): 1-4.

[4] 胡因铭、陈奇. 炙甘草汤对离体心脏结扎再灌心律失常影响[J]. 中国实验方剂学杂志. 1995, 1(1): 18-20.

[5] 陈汝兴. 炙甘草注射液抗实验性心律失常的研究[J]. 中国中药杂志. 1991, 16(10): 617-618.

[6] 但汉雄. 人参二醇抗心律失常的实验研究[J]. 中西医结合杂志. 1991, 11(6): 364-34.

[7] 陈修. 人参总皂甙对心血管系统的作用[J]. 中华心血管病杂志. 1982, 10(2): 147-148.

[8] 许济群. 方剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 101.

[9] 罗晓波, 等. 钙、氧自由基、前列环素等与心肌缺血再灌注损伤[J]. 中国药理学通报. 1992, 8(3): 174-146.

[10] Capucci A, Rosi A, Villani Gq et al. Cardiac arrhythmias in coronary artery disease[J]. Ital Heart J. 2000, 1 Suppl 2: 32-6.