

· 基础研究 ·

别隐品碱抗心律失常作用及其单相动作电位的作用

刘谟烔 李泱 文毅 王琳

【摘要】 目的 观察别隐品碱(ALL)的抗动物心律失常作用。**方法** 以氯仿诱发小鼠室颤、以 CaCl_2 -ACh 混合液诱发小鼠心房纤颤、肾上腺素致豚鼠心律失常,以乌头碱诱发的豚鼠左室乳头肌收缩节律改变,选择大鼠结扎冠状动脉前降支,观察 ALL 抗心律失常的效应。记录豚鼠和大鼠心脏的动作电位和单相动作电位。**结果** ALL 能明显降低氯仿诱发小鼠室颤率,应用 30, 100 mg/kg 的 ALL 后, CaCl_2 -ACh 混合液诱发小鼠心房纤颤或扑动的发生率从 100%降低到 53.3%和 33.3%。ALL 使肾上腺素致豚鼠心律失常的持续时间降低,并对乌头碱诱发的大鼠心室乳头肌收缩节律失常有明显拮抗效应。ALL 可明显延长其心脏的动作电位时程和不应期,这可能是其抗心律失常效应的电生理基础。**结论** ALL 呈现出多种抗实验性心律失常的作用。

【关键词】 别隐品碱;心律失常;动物模型;单相动作电位;动作电位

The effect of allocryptopine on arrhythmia and monophasic action potential in animal models

LIU Mohan, LI Yang, WEN Yi, et al

Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To study the effect of allocryptopine (ALL) on animal models with arrhythmia. **Methods** (1) Arrhythmia of mice, rats and guinea pigs was induced by chloroform, CaCl_2 -ACh, adrenalin and ligation of anterior descending branch of coronary artery respectively. (2) The contraction rhythm and action potential of papillary muscle were recorded. (3) The effects of ALL on arrhythmia in animals were observed. **Results** Rate of ventricular fibrillation induced by chloroform in mice was reduced by ALL. Rate of atrial fibrillation induced by CaCl_2 -ACh in mice was reduced from 100% to 53.3 % and 33.3 % by ALL 30 and 100 mg/kg. Arrhythmia duration was shortened after treatment with ALL. The threshold dose of aconitine inducing change of rhythmic contraction was increased by ALL. Action potential duration and monophasic action potential duration were markedly prolonged by ALL. **Conclusion** ALL can be used to prevent and treat animal arrhythmia.

【Key words】 allocryptopine; antiarrhythmias; animal model; action potential; monophasic action potential

别隐品碱(allocryptopine, ALL)是从夏天无中分离的叔胺生物碱,后者为罂粟科紫堇属延胡索亚属植物伏生紫堇 *Corydalis decumbens* (Thunb.) Pers 的块茎。本品无色,溶于甲醇-氯仿(1:1)中,熔点:168℃。夏天无主要用于通经、活络祛淤、行气止痛,临床用于风湿性关节炎、坐骨神经痛^[1,2]。由于其母核具有与许多抗心律失常中药成分相似的异喹啉结构^[3],作者推测其可能也有抗心律失常的效应^[4]。因此,本文观察 ALL 抗动物实验性心律失常的效应,以为寻找抗心律失常新成分提供实验依据。

收稿日期:2005-05-25

作者单位:100853 北京市,解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:刘谟烔,男,1978年9月生,吉林省公主岭市人,医学学士,技术员

通讯作者:李泱,电话:010-66936762, E-mail:liyangsh@163.com

万方数据

1 材料与方法

1.1 材料 试剂与药物: ALL(兰州大学化学系馈赠),哇巴因(ouabain)、乌头碱(aconitine)系德国 Merck 公司产品, CaCl_2 、 BaCl_2 为美国 Sigma 公司产品。动作电位信号记录处理系统(华中科技大学研制)。YG-1 型刺激隔离器(成都仪器厂),GY-2000 生物信号采集与处理系统(华南电子有限公司,开封)。MEZ-8021 型微电极放大器(日本, Nihon),SDW-型动作电位微分离器(成都仪器厂),SEN-3201 型刺激器(成都仪器厂)。Tyrode 液成分如下(mmol/L): NaCl 137, KCl 5.4, MgCl_2 1.05, NaH_2PO_4 0.42, CaCl_2 1.8, NaHCO_3 11.9, 葡萄糖 5.5, 用 NaOH 调 pH 至 7.4。动物:健康雄性 SD 大鼠(200~250 g)与小鼠(18~20 g)。

1.2 实验方法

1.2.1 ALL对氯仿诱发小鼠心室纤颤的影响^[5]

雄性小鼠 60 只,随机分为 4 组,每组 15 只。空白对照组灌胃生理盐水 15 ml/kg, ALL 30 和 100 mg/kg 组及普萘洛尔(propranolol, Pro; 20 mg/kg)组,灌胃给药 1 次/d,连续 5 d。依文献观察室速(ventricular tachycardia, VT)和室颤(ventricular fibrillation, VF),并求出室颤率和 3 min 心脏停搏的百分率(cardiac arrest, CA%)。

1.2.2 ALL对CaCl₂-ACh混合液诱发小鼠心律失常的影响^[6] 取 60 只小鼠,随机分为 4 组,每组 15 只。以腹腔注射戊巴比妥钠 60 mg/kg 麻醉,记录小鼠正常心电图。各组动物分别于腹腔静脉给予 ALL 30 和 100 mg/kg,奎尼丁(quinidine, Quin)5 mg/kg 及等容积生理盐水。当分别作用 1、3、5 min 后,再静注 CaCl₂-ACh (CaCl₂ 0.6% + ACh 0.0025%) 混合液 10 mg/kg,通过 GY-2000 生物信号采集与处理系统记录心电图。

1.2.3 ALL对抗肾上腺素诱发的豚鼠心律失常^[7]

将豚鼠麻醉后背位固定于鼠台上,记录正常心电图。先分别由豚鼠舌下静脉注射生理盐水、普萘洛尔(10 mg/kg)、ALL 30 和 100 mg/kg,观察并记录心电图变化。10 min 后再分别由舌下静脉恒速注射肾上腺素 10 μ mol/(kg·min);连续灌注 10 min,造成豚鼠心律失常,观察并记录其间心电图的变化。

1.2.4 ALL对结扎左冠状动脉前降支诱发心律失常的影响 SD 大鼠 40 只,体重(207 $\pm$ 14) g,将其分成 4 组,以腹腔注射戊巴比妥钠 60 mg/kg 麻醉,GY-2000 生物信号采集与处理系统,记录心电图。接呼吸机行人工呼吸,开胸备用。各组分别静注生理盐水、ALL 30 和 100 mg/kg,Quin 10 mg/kg。5 min 后于左心房下缘 1 mm 结扎左冠状动脉前降支。连续观察并记录 30 min 内心律的变化。

1.2.5 ALL对离体豚鼠乳头肌收缩节律失常的影响^[8] 心室乳头状肌标本制备:取雄性豚鼠,体重 250~300 g,击昏致死,迅速开胸取出心脏,置入经 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气体饱和的 Tyrode 溶液中,分离右心室乳头状肌,两端用 3-0 号丝线结扎后水平放入 1 ml 恒温浴槽中。用氧饱和的 30 ml Tyrode 液体[温度为(36 $\pm$ 1)℃,pH 值为 7.3]持续表面灌流,流速为 4 ml/min。给予标本 0.5 g 的前负荷,平衡 1 h 后进行实验。依文献给予乌头碱诱发标本节律失常。持续 3 min 后,分别向浴槽内加入 ALL 及利多卡因或生理盐水。以加入药物后乳头肌节律失常逆转为与电

刺激脉冲同步的节律性收缩,并维持 3 min 以上为有效。计算诱发乳头肌节律失常的乌头碱阈浓度。

1.2.6 ALL对豚鼠乳头肌标本跨膜动作电位的作用 取豚鼠雌雄兼有,体重 250~350 g。摘出心脏,于 95% O₂ + 5% CO₂ 混合气体饱和的台氏液中分离右心室乳头肌,将标本置于 1 ml 的恒温水浴槽中固定,用(35 $\pm$ 0.5)℃ 台氏液循环灌流标本,由 SEN-3201 型刺激器输出不同频率的方波以场刺激驱动标本,平衡 1 h。中间更换灌流液 2 次。用充满 3 mol/L 溶液的玻璃微电极(电阻 20~50 M Ω)引导膜电位并输至 MEZ-8021 型微电极放大器,用 SDW-型动作电位微分离器将动作电位及微分信号输至计算机中。以 1.0 Hz、波宽 3 ms、110%~120% 阈电压的方波刺激引出动作电位(AP),并记录 APD₂₀、APD₉₀。待标本平衡后,记录动作电位图形和各种参数。

1.2.7 ALL对大鼠在体心脏单相动作电位和有效不应期的作用 调节电极与心外膜紧密接触,参比电极固定于大鼠胸壁皮下。各电极分别与 GY-2000B 生物信号采集与处理系统连接,信号经 A/D 转换器输入计算机。设置时间常数 0.1,滤波 50 Hz。同步记录心脏的单相动作电位(monophasic action potential, MAP)、有效不应期(effective refractory period, ERP)和体表心电图。

1.3 统计处理 资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料采用 one way ANOVA 检验和 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 分别为统计学差异有显著性和极显著性意义。

2 结果

2.1 ALL对氯仿诱发小鼠心律失常的影响 结果表明,生理盐水组动物最早在出现 VT 和 VF 时间较早,小鼠多在 1~2 min 内即停搏死亡。而应用 ALL 和 Pro 后心律失常心电图出现晚,动物耐受力普遍较强,有的小鼠停搏死亡时间超过 5 min(表 1)。

表 1 别隐品碱对氯仿诱发小鼠心律失常的影响($n = 15$)

分组	剂量 (mg/kg)	室速开始的 时间(s)	室颤开始的 时间(s)	停搏百 分率(%)
生理盐水组	-	32.4 $\pm$ 6.7	60.3 $\pm$ 9.1	100
别隐品碱组	30	51.5 $\pm$ 11.1*	84.5 $\pm$ 14.2*	56.7*
别隐品碱组	100	78.3 $\pm$ 15.7*	108.3 $\pm$ 21.3*	42.3*
普萘洛尔组	20	80.1 $\pm$ 12.0	115.5 $\pm$ 15.8	33.3

注:与生理盐水组比较,* $P < 0.01$

2.2 ALL对CaCl₂-ACh混合液诱发小鼠心律失常的影响 与对照比较,生理盐水组 15 只小鼠全部发生

心房纤颤或扑动,使用 30 及 100 mg/kg 的 ALL 后,15 只小鼠中分别有 8 只和 5 只发生房性心律失常,发生率降低到 53.3% 和 33.3%,而 5 mg/kg Quin 则可使发生率降低到 26.7%。

2.3 ALL 对肾上腺素诱发豚鼠心律失常的影响

恒速静脉注射肾上腺素后,盐水组动物均出现多种心律失常,并有 60% 的动物于 10 min 内死亡。ALL 组静注等量肾上腺素后心律失常出现时间和持续时间均降低,未见室颤及动物死亡,心律失常持续时间缩短,其效果与普萘洛尔相似(表 2)。

表 2 别隐品碱对肾上腺素诱发豚鼠心律失常的影响 ($n=10$)

分组	剂量 (mg/kg)	开始时间 (s)	持续时间 (s)
生理盐水组	-	18.5 ± 2.5	260.6 ± 21.1
别隐品碱组	30	28.2 ± 3.1 [*]	200.3 ± 32.2 [*]
别隐品碱组	100	51.6 ± 2.7 [#]	147.7 ± 24.3 [#]
普萘洛尔组	1	62.2 ± 3.1	90.2 ± 11.2

注:与生理盐水组比较,^{*} $P < 0.05$,[#] $P < 0.01$

2.4 ALL 对结扎大鼠左冠状动脉前降支诱发心律失常的影响 按照前心电图统计 30 min 内生理盐水、ALL 和 Quin 组的室性早搏数、室颤出现百分率和心律失常时间,结果见表 3。

表 3 别隐品碱对结扎大鼠左冠状动脉前降支诱发心律失常的影响 ($n=10$)

分组	剂量 (mg/kg)	室颤 (%)	开始时间 (s)	持续时间 (s)
生理盐水组	-	78.6	360.2 ± 33.2	650.0 ± 47.4
别隐品碱组	30	73.3	431.3 ± 32.5 [*]	235.5 ± 27.1 [*]
别隐品碱组	100	26.7	451.6 ± 22.1 [#]	167.8 ± 32.6 [#]
奎尼丁组	10	20.0	462.2 ± 21.7	130.2 ± 17.0

注:与生理盐水组比较,^{*} $P < 0.05$,[#] $P < 0.01$

2.5 ALL 对离体大鼠乳头肌收缩节律失常的影响

大鼠乳头肌标本用 ALL 处理后,能明显提高对乌头碱致节律失常毒性反应的耐受剂量。盐水组标本乌头碱诱发乳头肌节律失常阈剂量为 $(0.6 \pm 0.1) \mu\text{g/L}$,在乌头碱诱发节律失常后,10 min 内均不能自发地转为节律性收缩。3 及 $10 \mu\text{mol/L}$ 的 ALL 使乌头碱诱发乳头肌节律失常阈剂量上升为 (1.3 ± 0.2) 和 $(1.9 \pm 0.3) \mu\text{g/ml}$,ALL 高、低剂量组标本在给药后恢复节律性收缩。 $3 \mu\text{mol/L}$ 利多卡因组标本的乌头碱阈剂量上升为 $(2.1 \pm 0.2) \mu\text{g/ml}$ 。

2.6 ALL 对豚鼠乳头肌动作电位的作用 ALL 可明显延长动作电位时程(action potential duration, APD),使动作电位幅度(action potential amplitude,

APA)和最大去极化速率(maximum velocity of 0 phase of AP, $V_{\max}$)显著降低,但对静息电位(resting potential, RP)影响甚微($n=12$),见图 1。此效应用正常 Tyrode 氏液洗脱后减弱。表 4 和图 1。

表 4 别隐品碱对乳头肌标本的动作电位的作用 ($n=10$)

分组	剂量 ($\mu\text{mol/L}$)	RP (mV)	APA (mV)	$V_{\max}$ (V/s)	APD ₂₀ (ms)	APD ₅₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)
生理盐水	-	92 ± 5	117 ± 7	253 ± 13	132 ± 13	198 ± 24	237 ± 19
别隐品碱组	10	91 ± 3	101 ± 10 [*]	213 ± 7 [*]	146 ± 21 [*]	226 ± 10 [#]	278 ± 23 [#]
别隐品碱组	30	93 ± 6	87 ± 6 [#]	169 ± 11 [#]	165 ± 9 [#]	249 ± 32 [#]	308 ± 11 [#]

注:与生理盐水组比较,^{*} $P < 0.05$,[#] $P < 0.01$



图 1 别隐品碱对豚鼠乳头状肌跨膜动作电位的作用 (别隐品碱 30 $\mu\text{mol/L}$)

2.7 ALL 对大鼠心脏 MAP 和 ERP 的作用 应用 ALL 后 MAPD 明显延长,其中 MAPD₉₀ 从对照的 $(178 \pm 14) \text{ms}$ 延长到 $(234 \pm 17) \text{ms}$ ($P < 0.01$, $n=10$),见图 2。ALL 使 ERP 从对照的 $(113 \pm 12) \text{ms}$ 延长到 $(147 \pm 18) \text{ms}$ ($P < 0.05$, $n=10$)。

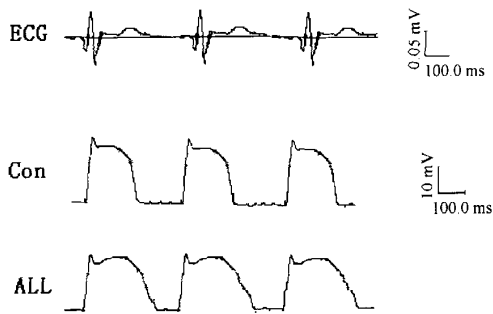


图 2 别隐品碱对大鼠心脏单相动作电位的作用 (别隐品碱 100 $\mu\text{mol/L}$)

3 讨论

氯仿诱导心律失常,其机制是增加动物肾上腺素的敏感性。文献报道夏天无总植物碱具有抑制 β 肾上腺素受体的效应。本实验提示别隐品碱可抗氯仿诱导的小鼠心律失常,推测其机制可能也是影响肾上腺素与心肌细胞膜上 β 受体有关。CaCl₂-ACh

(下转第 65 页)

心脏起搏与电生理杂志, 1997, 11: 119.

- 李志彬. 长期住院老年人低钾血症的临床特征分析. 中华民康医学杂志, 2004, 16: 343-344.
- 张丽萍, 李志勤, 戴静. 低钾室速 1 例. 实用心电图学杂志, 2003, 12: 440.

- 雷招宝. 药源性低钾血症及其防治. 药物不良反应杂志, 2003, 1: 18-21.
- 张树基, 罗明绮. 水、电解质、酸碱平衡失调的判定与处理. 北京: 北京大学医学出版社, 2005. 59.

(上接第 50 页)

诱发心律失常, 缩短动作电位时程及不应期, 使心肌不同部位兴奋的扩散不一致, 导致折返激动. 心肌各部位对 CaCl_2 的敏感性不一致, 易形成局部的传导阻滞. 因此, CaCl_2 和 ACh 合用可诱发心房纤颤和心房扑动. ALL 能对 CaCl_2 -ACh 诱发的房性心律失常有显著的对抗作用. 提示 ALL 可能通过延长动作电位时程和有效不应期, 减少心肌各部位电活动和机械活动的异质性而发挥抗心律失常效应. 别隐品碱还对药物诱发的乳头肌收缩节律失常有效, 进一步说明其抗心律失常作用主要是对心脏的直接作用. 临床实践中, 降低自律性和延长不应期是抗心律失常药物作用的重要基础之一. ALL 能显著降低大鼠离体心房和乳头肌的自律性, 这也很可能是 ALL 抗心律失常的药理学基础和作用机制之一.

心律失常的发生与心肌电生理密切相关, 其中心肌动作电位起着关键性作用, 若内向电流加速或外向电流受到抑制, 则 APD 延长. APD_{20} 代表平台期时程, 它的长短主要由钙内流决定^[9,10], 而 APD_{90} 则主要与钾通道电流有关^[11]. 无论是单相动作电位还是跨膜动作电位, ALL 均可延长其时程. 同时, ALL 还可降低动作电位的 APA 等参数, 提示该药物通过多途径发挥抗心律失常的作用, 这种特点将有利于减少诱发新的心律失常等不良反应发生, 为其临床应用提供了可能^[12]. 深入的离子通道机制尚需进一步研究.

参考文献

- 廖静, 梁文藻, 涂国土. 夏天无化学成分. 中国中药杂志,

1994, 19: 612-613.

- 樊竹婷, 蒋思萍, 陈金瑞. 毛黄堇的化学成分. 西藏科技, 2002, 8: 63-64.
- 张志祖, 何晓南, 曾靖. 夏天无生物碱的抗心律失常作用. 赣南医学院学报, 1997, 17: 7-9.
- 李决, 主编. 离子通道与膜片钳技术. 兰州: 甘肃文化出版社, 2001. 240-241.
- 杨艳, 曾晓荣, 徐鸣夏, 等. TAP 对离体豚鼠心脏收缩性及对氯仿致小鼠心律失常保护作用的研究. 四川生理科学杂志, 2003, 25: 65-67.
- 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 主编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 2003. 85-87.
- 周彤, 曾秋棠, 张桂清, 等. 酸钠抗肾上腺素实验性心律失常作用. 中国新药杂志, 2003, 12: 345-347.
- 张海柱, 崔长琮, 赵晓静, 等. 绝对不应期电刺激对正常及心力衰竭右心室乳头肌收缩功能的影响. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2003, 17: 291-293.
- Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM, et al. $\text{Ca(V)}_{1.2}$ calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. Cell, 2004, 119: 19-31.
- Harada K, Xu F, Ono K, et al. Effects of PFOS and PFOA on L-type Ca^{2+} currents in guinea-pig ventricular myocytes. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 329: 487-494.
- Sarmast F, Kolli A, Zaitsev A, et al. Cholinergic atrial fibrillation: I (K , ACh) gradients determine unequal left/right atrial frequencies and rotor dynamics. Cardiovasc Res, 2003, 9: 863-873.
- Semrad B. Failure of antiarrhythmia agents and understanding the phenomenon of proarrhythmia. Vnitr Lek. 2003, 49: 700-706.