

鹿衔草提取物对豚鼠右心室游离壁缺血再灌注心肌电活动的影响

封卫毅 袁秉祥¹ 王军宪² 鲁会侠(西安 710061 西安医科大学第一临床医学院药剂科;¹ 西安医科大学基础医学院药理教研室)

鹿衔草传统上被用来治疗腰、膝关节酸痛、痢疾、虚弱咳嗽等症。近年将其应用于高血压、心肌梗死、冠心病等病的治疗。药理研究显示,鹿衔草具有抗菌、扩张血管、增加心肌营养性血流、提高血浆 cAMP 含量、抗心律失常等作用。

在研究鹿衔草的化学成分时,将其提取物分为乙醚部分、乙酸乙酯部分(ethyl acetate extracts, EAE)、正丁醇部分(n-butanol extracts, NBE)和水相残余四部

分。本文利用豚鼠右心室游离壁缺血再灌注心律失常(RIA)模型,研究了 EAE、NBE 对 RIA 发生率以及心室肌跨膜和跨壁传导等电生理特性的影响。

材料与方法

1 实验材料

1.1 药品:鹿衔草正丁醇提取物、鹿衔草乙酸乙酯提取物(西安医科大学药学院植化教研室王军宪副教授提供)。每克鹿衔草正丁醇和乙酸乙酯提取物分别相

中国现代应用药学杂志 1999 年第 16 卷第 7 期

当于原生药 20 和 50g。

1.2 仪器、试剂和动物:仪器:MEZ-8201 型微电极放大器(日本光电公司);YC-2 程控电刺激仪(成都仪器厂);RM-6000 型八道生理记录仪(日本光电公司)。试剂:正常 Tyrode's 液组成(mmol/L):NaCl 129.0;KCl 4.0;CaCl₂ 2.5;MgSO₄ 0.5;NaH₂PO₄ 0.9;NaHCO₃ 20.0;葡萄糖 5.5。用 5% CO₂ + 95% O₂ 不断饱和的正常 Tyrode's 溶液在 36.5 ± 0.5℃ 时 pH 值为 7.35 ~ 7.4。缺氧 Tyrode's 液的组成(mmol/L):NaCl 123.0;KCl 8.0;CaCl₂ 2.5;MgSO₄ 0.5;NaH₂PO₄ 0.9;NaHCO₃ 6.0;乳酸钠 20.0。用 10% CO₂ + 90% N₂ 饱和后 pH 值为 6.8。所用试剂均为分析纯,西安化学试剂厂出品。动物:健康成年豚鼠,雌雄不限,体重 350 ~ 400g,由西安医科大学实验动物中心提供。

2 实验方法

取豚鼠击头致晕,迅速开胸摘取心脏投入正常 Tyrode's 液中,小心挤压洗去淤血后,沿室间隔和房室交界处剪取右心室游离壁约 1.5cm² 大小,放入用正常 Tyrode's 液灌流的灌流槽中。将标本心内膜向上按其自然弯曲形状,从边缘垂直固定。标本在溶液中距灌流槽底约 1mm,以保证标本和灌流液充分接触。灌流液流速为 30ml/min。

用仅尖端裸露的金属电极以波宽 3ms、2Hz、1.5 倍阈值强度的方波,在标本内膜一定部位刺激驱动标本,每 12 个连续刺激间隔 3s。用一对玻璃微电极同时分别在心内膜和心外膜的一定部位记录心肌细胞的跨膜电位。玻璃微电极用 2.7M 的 KCl 溶液填充,尖端电阻值为 10 ~ 20 兆欧。记录电极距刺激电极负极 4 ~ 12mm。生物信号和刺激信号均由示波器监视、用磁带记录仪和八道生理记录仪同步记录。

观察 EAE、NBE 对豚鼠右心室正常心肌电生理特性的影响时,标本在正常 Tyrode's 液灌流槽中平衡 60min 后,用含不同浓度药物的正常 Tyrode's 液灌流 60min。测定给药前后不同时刻的动作电位时程(APD)、内膜有效不应期(ERP)、传导时间(CT)、刺激阈值(DT)等参数。从刺激开始到动作电位开始的时间差即为 CT^[1]。

观察 EAE、NBE 对 RIA 发生率以及心室肌跨壁传导等电生理特性的影响时,将标本分为模型对照组和给药组:模型对照组标本在正常 Tyrode's 液灌流槽中平衡 60min 后,用缺氧 Tyrode's 液灌流 15min。然后再用正常 Tyrode's 液进行复灌 40min。给药组标本依次用正常 Tyrode's 溶液和含有一定浓度药物的正常 Tyrode's 溶液分别平衡灌流 30min,然后用含有相同浓

度药物的缺氧和正常 Tyrode's 溶液与模型对照组平行操作。灌流液中药物的浓度分别是:NBE 5 ~ 80mg/L;EAE 10 ~ 50mg/L。测定缺血时和再灌后不同时刻的心律失常发生率以及实验过程中各时刻 APD₉₀、ERP、CT 等参数,每 5min 测定记录一次。

数据处理:药物对正常灌流标本的影响,用配对 *t* 检验;与模型对照组比较,计数资料用 $\chi^2(2 \times 2)$ 法,计量资料用非配对 *t* 检验。

实验结果

1 NBE 和 EAE 对豚鼠右心室正常心肌电生理特性的影响

分别给予 20、80mg/LEAE 和 50mg/LNBE,观察并计算给药前后各电生理参数的变化率[变化率 = (给药前值 - 给药后值)/给药前值]。结果显示:给予 EAE 后,除 80mg/L 剂量可降低心内膜 DT 外,对其他电生理参数均无明显性影响。NBE 对所观察的各种电生理参数亦均无显著性改变($P > 0.05$)。

2 EAE 和 NBE 对豚鼠右心室 RIA 及心肌电生理特性的影响

2.1 对心律失常发生率的影响

EAE 组 [10mg/L ($n = 8$)、20mg/L ($n = 9$)、40mg/L ($n = 9$)、80mg/L ($n = 6$)] 和 NBE 组 [10mg/L ($n = 5$)、50mg/L ($n = 6$)] 在缺血过程中心律失常发生率分别为 12.5%, 22.2%, 33.3%, 33.3% 和 40.0%, 33.3%, 在再灌注过程中心律失常发生率分别为 37.5%, 33.3%, 55.6%, 83.3% 和 100%, 83.3%, 与对照组在缺血和再灌注过程中 28% 和 84% ($n = 25$) 的心律失常发生率比较,除 10mg/L、20mg/L EAE 可明显性降低再灌注过程心律失常发生率外($P < 0.05$),其他各组对缺血和再灌注过程中的心律失常发生率均无明显影响。

2.2 对 APD 的影响

EAE 以及 NBE 各浓度组,在缺血再灌注过程中,内、外膜下心肌细胞 APD 与同时刻对照组相比均无显著性差别($P > 0.05$)。

2.3 对心内膜下 ERP 值及 ERP/APD₉₀ 值的影响

缺血再灌注过程中,EAE 及 NBE 各浓度组心内膜下 ERP 值及 ERP/APD₉₀ 值与对照组相比亦无明显性改变($P > 0.05$)。

2.4 对心肌传导变化的影响

以记录电极在缺血再灌注过程不同时刻所记录到的 CT 变化值作为指标(变化值 = 缺血再灌注过程 CT 值 - 缺血前 CT 值),考察各浓度的 EAE 以及 NBE 对缺血再灌注过程中心肌传导改变的影响。

2.4.1 刺激内膜时,EAE、NBE 对心内膜和外向跨壁传

导的影响:在缺血再灌注过程中,EAE 和 NEB 对心内膜传导时间的延长无明显性作用($P > 0.05$)。对于外向跨壁传导时间延长,EAE 组的降低作用虽无统计学意义,但 20mg/L EAE 组表现出降低趋势。NBE 组则无这种趋势。

2.4.2 刺激心外膜时,EAE 对外膜径向和内向跨壁传

表 1 缺血再灌时 EAE 对豚鼠心室外膜 CT(ms)变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量	缺血前 CT 值	缺血时变化值(min)			再灌注时变化值(min)					
			5	10	15	5	10	15	20	25	30
模型对照组		42.0 $\pm$ 15.6	0.0 $\pm$ 14.3	24.2 $\pm$ 21.2	53.2 $\pm$ 24.7	51.5 $\pm$ 31.7	23.8 $\pm$ 30.1	11.2 $\pm$ 19.2	8.6 $\pm$ 24.4	15.8 $\pm$ 21.5	10.0 $\pm$ 21.1
EAE	10mg/L	44.7 $\pm$ 12.1	5.1 $\pm$ 4.6	12.6 $\pm$ 9.1	23.7 $\pm$ 14.9 ^{*1}	23.9 $\pm$ 15.4	12.0 $\pm$ 16.6	4.6 $\pm$ 14.3	-3.0 $\pm$ 12.4	-2.9 $\pm$ 11.3	-0.7 $\pm$ 6.3

注:各组均与模型对照组对比,^{*1} $P < 0.05$,^{*2} $P < 0.01$

表 2 缺血再灌时 EAE 和 NBE 对豚鼠心室内向跨壁传导时间变化(ms)的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量	缺血前 CT 值	缺血时变化值(min)			再灌注时变化值(min)					
			5	10	15	5	10	15	20	25	30
模型对照组		28.7 $\pm$ 13.4	-2.7 $\pm$ 12.3	14.5 $\pm$ 17.2	38.3 $\pm$ 16.3	38.0 $\pm$ 24.4	9.0 $\pm$ 18.2	3.7 $\pm$ 12.7	0.9 $\pm$ 11.6	0.6 $\pm$ 7.0	-0.3 $\pm$ 14.4
EAE	10mg/L	29.3 $\pm$ 9.4	0.29 $\pm$ 3.2	5.14 $\pm$ 6.0	28.1 $\pm$ 25.4	28.6 $\pm$ 24.5	11.9 $\pm$ 17.2	6.4 $\pm$ 17.8	5.4 $\pm$ 16.3	5.0 $\pm$ 16.1	0.1 $\pm$ 12.4

注:各组均与模型对照组对比,^{*1} $P < 0.05$,^{*2} $P < 0.01$

2.5 对刺激阈值(DT)影响

与模型对照组相比,缺血再灌注过程中各给药组对心内膜 DT 变化(DT 变化值 = 缺血再灌时 DT 值/缺血

表 3 缺血再灌时 EAE 对豚鼠心室外膜 DT 的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量	缺血前 CT 值(V)	缺血时变化值(min)			再灌注时变化值(min)						
			5	10	15	5	10	15	20	25	30	35
模型对照组		1.3 $\pm$ 1.2	1.6 $\pm$ 1.1	5.6 $\pm$ 3.5	9.8 $\pm$ 2.4	9.7 $\pm$ 2.0	4.3 $\pm$ 3.5	1.7 $\pm$ 0.6	2.0 $\pm$ 1.2	1.5 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 0.7	1.1 $\pm$ 0.2
EAE	10mg/L	1.8 $\pm$ 0.7	1.6 $\pm$ 1.1	1.4 $\pm$ 0.4 ^{*1}	2.0 $\pm$ 1.5 ^{*2}	2.0 $\pm$ 1.5 ^{*2}	1.2 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.6	1.1 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.0

注:各组均与模型对照组对比,^{*1} $P < 0.05$,^{*2} $P < 0.01$

2.6 对早后除极、迟后除极或振荡后电位(EAD、DAD 或 OAP)发生率的影响

选择对 RIA 发生率有明显性降低作用的 10mg/L EAE 组,对缺血末和再灌注初心室肌内外膜所记录 EAD、DAD 或 OAP 发生数进行总计。结果表明,EAD、DAD 或 OAP 的发生率有显著性的降低($P < 0.05$)。

3 讨论

在正常灌流条件下,EAE 和 NBE 对豚鼠右心室外膜下心肌细胞正常跨膜和跨壁电活动特性无明显性影响。高浓度 EAE(80mg/L)降低心内膜 DT 的作用可能是药物有效部位中各种有效成分复杂作用的结果。

在缺血末期和再灌注初期,模型对照组心肌组织外向和内向跨壁传导时间之和接近或大于内膜不应期,从而具备了产生折返激动的前提条件。同样浓度的 EAE 对内膜不应期虽无显著性影响,但由于加快了缺血再灌过程心肌跨壁传导速度,使异常的跨壁传导冲动消除在内膜不应期之中。因此使得产生折返激动的可能性降低。与此同时,EAE 加快心外膜径向传导

导的影响:由于 10mg/L EAE 对缺血再灌注过程 RIA 发生率有显著性的降低作用,因此研究其对心室外膜下径向传导和心室内向跨壁传导的影响。结果发现,EAE 可明显性对抗缺血末和再灌注初外膜下心肌径向 CT 的延长(表 1,2)。

血前的 DT 值)基本无明显性影响($P > 0.05$),但所观察的 10mg/L EAE 组,对缺血再灌注过程中心肌外膜 DT 的升高有显著性的降低作用(表 3)。

速度,降低外膜下刺激阈值的升高,可使外膜不同方向的传导速度和复极化离散程度降低,促使缺血再灌过程的心肌兴奋性均一化,这些作用都既不利于折返激动的形成也不利于折返激动的维持。因此,消除折返激动的发生可能是 EAE 发挥其抗 RIA 作用的重要途径之一。

氧自由基在 RIA 的发生中,起着十分重要的作用^[2-5]。清除缺血再灌心肌组织中的氧自由基,是抗 RIA 发生的重要途径。

对鹿衔草乙酸乙酯提取部分进行研究,曾得到以 2"-o-没食子酰基金丝桃甙为主的 8 种结晶性成分^[6]。2"-o-没食子酰基金丝桃甙具有很强的单宁活性,在酶促和非酶促体系中均有明显的清除氧自由基的作用,并且强于槲皮素和芦丁。其可明显升高缺血再灌心肌组织中的 SOD 活性水平,降低脂质过氧化产物 MDA 的含量,并且对线粒体损伤有明显的保护作用^[7]。

本次实验也证明,在一定浓度范围内,EAE 可明显

改善缺血再灌注心肌跨壁传导时间的延长和外膜心肌径向传导的减慢,促进内外膜心肌兴奋性的均一化;同时也明显减少了DAD或OAP的发生。从而阻止折返激动的形成和触发活动的发生,使RIA发生率明显降低。至于这些作用是否与其含有抗自由基物质、从而具有清除缺血再灌注过程中所产生的氧自由基、增强心肌细胞的保护机制、减轻了缺血再灌注过程中心肌细胞的损伤有关,还有待于进一步研究。

与EAE相比,NBE对RIA发生率则无明显影响。EAE和NBE均为鹿衔草的不同提取部位,本实验表明,EAE为其抗RIA的有效部位。

参考文献

- 1 封卫毅,袁秉祥.离体豚鼠心室肌缺血再灌注心律失常及电生理特征.西安医科大学学报,1998,19(4):526.
- 2 Werns SW,Shea MJ,Driscoll EM, *et al.* The independent effect of oxygen radical scavengers on canine infarct size. Reduction

by superoxide dismutase but not catalase. *Circ Res*, 1985, 56: 895.

- 3 Manning AS, Coltart DJ, Hearse DJ. Ischemia and reperfusion - induced arrhythmias in the rat. Effect of xanthine oxidase inhibition with allopurinol. *Circ Res*, 1984, 55: 545.
- 4 Riva E, Manning AS, Hear DJ. Superoxide dismutase and the reduction of reperfusion - induced arrhythmias: In vivo dose response studies in the rat. *Cardiovasc Drug Ther*, 1987, 11: 133.
- 5 Bornier M, Hearse DJ, Manning AS. Reperfusion - induced arrhythmias and oxygen - derived free radical. Studies with "antifree radical" intervention and a free radical - generating system in the isolated perfused rat heart. *Circ Res*, 1986, 58(2): 331.
- 6 王军宪,陈新民,李宏,等.鹿衔草化学成分的研究(第1报).天然产物研究与开发,1991,3(9):1.
- 7 边晓丽,刘次伯,邓秀玲,等.没食子酰基金丝桃甙对实验性心肌缺血再灌注损伤的保护作用.西安医科大学学报,1998,19(3):399.