

灯盏花素对豚鼠单一心室肌细胞 I_{Ca} 的抑制作用

王丽娟 王 勇¹ 邱丽萍 林 宇 苏富琴 李金鸣² 陈咏梅(齐齐哈尔 161042 齐齐哈尔医学院药理教研室;¹ 齐齐哈尔 161041 北钢医院;² 沈阳 110001 中国医科大学)

摘要 目的:观察灯盏花素对豚鼠单一心室肌细胞钙离子电流(I_{Ca})的影响。方法:应用全细胞膜片钳制技术。结果:灯盏花素能明显抑制心室肌细胞的 Ca^{2+} 通道,使 I_{Ca} 减小。此作用有明显的电压依赖性,在峰电流电压下作用最明显,而对其反转电位无明显影响。在指令电位 0 mV 时,0.5 mg % 灯盏花素使 I_{Ca} 减小 5.4 %,1 mg % 灯盏花素使 I_{Ca} 减小 22.9 % ($P < 0.01$),2 mg % 灯盏花素使 I_{Ca} 减小 45.0 % ($P < 0.01$)。此作用有明显的剂量依赖性和可复性。结论: I_{Ca} 灯盏花素能抑制豚鼠单一心室肌细胞钙离子电流 I_{Ca} 。

关键词 灯盏花素;膜片钳制技术;钙通道阻滞剂;钙离子电流(I_{Ca})

Inhibition of breviscapine to calcium current in single ventricular cells of guinea pigs

Wang Lijuan(Wang LJ), Wang Yong(Wang Y), Qiu Liping(Qiu LP), *et al* (Department of Pharmacology , Qiqihaer Medical College , Qiqihaer 161042)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of breviscapine on slow inward calcium current in single ventricular cells of guinea pigs. **METHODS:** The whole-cell patch clamp methods were used. **RESULTS:** Breviscapine decreased I_{Ca} obviously in a way of concentration and voltage-dependent mode, but had little effect on reversal potential. Breviscapine with the concentration of 0.5, 1 and 2 mg % decreased I_{Ca} by 5.4%, 22.9% and 45.0%, respectively. **CONCLUSION:** Breviscapine blocked I_{Ca} .

KEY WORDS breviscapine patch clamp technique, calcium channel blockers, calcium current I_{Ca}

灯盏花素系菊科植物灯盏细辛(*Erigeron breviscapus*)提取的灯盏甲素、乙素的混合物, 主要含有灯盏乙素。具有扩张血管、降低血液粘滞度、改善微循环、防治血栓形成的作用, 临床用于治疗缺血性脑血管病、高粘滞血症、视网膜静脉阻塞等, 疗效较好^[1-3]。治疗冠心病心绞痛也取得了满意的疗效^[4]。治疗冠心病心绞痛的机制除与血管扩张有关, 是否还有其他的影响因素尚缺乏资料报道, 本文应用全细胞膜片钳制技术观察了灯盏花素对豚鼠单一心室肌细胞钙离子通道的影响。

1 材料与方 法

1.1 细胞分离

豚鼠, 体重(339 ± 29) g, 雌雄兼用。用戊巴比妥钠(50 mg / kg)麻醉后开胸, 在人工呼吸机辅助下行主动脉插管, 迅速取出心脏, 置于 Langandoff 灌流装置上, 在 37 °C 恒温及供氧条件下, 先用普通台氏液及无钙台氏液分别灌流 5 min, 然后换成含胶原酶(Ya Kult, Japan, 4 mg / 40 ml)的无钙台氏液循环灌流 10 ~ 20 min, 再用 KB 液冲洗终止消化。取下心脏, 剪碎心室肌并稍加振荡, 经滤过、离心、弃去上清液, 便制得单一心室肌细胞, 将制得的心肌细胞置于 KB 液中保存备用。

1.2 溶液及药品

台氏液(mmol / L): NaCl 143, KCl 5.4, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 0.5, NaH₂PO₄ 0.25, HEPES 5, Glucose 5, NaOH 24.4。无钙台氏液是将台氏液中的 CaCl₂ 去除配制而成。KB 液的组成(mmol / L): KOH 70, L- Glutamic Acid 50, KCl 40, Taurine 20, KH₂PO₄ 20, MgCl₂ 3, Glucose 10, HEPES 10, GEDTA 0.5。细胞内液组成(mmol / L): K-aspartate 49.89, KCl 30.07, KH₂PO₄ 25, HEPES 20.12, GEDTA 0.999, KOH 29.95, MgCl₂ 1, CaCl₂ 0.2, ATP- Na₂ 6.8。含 Cs⁺ 台氏液: 加 CsCl 于台氏液中, 使其浓度为 3 mmol / L。

灯盏花素(批号: 971204, 大连弘丰制药厂), 浓度 0.25 %。

1.3 I_{Ca} 记录

采用全细胞方式膜片钳制方法记录 I_{Ca} 。用含 3 mmol / L CsCl 的台氏液进行灌流, 将心肌细胞放于浴槽内, 静止 10 min 后用尖端直径 2 ~ 3 μm 的膜片电极进行千兆封接, 并形成全细胞记录方式, 用 CEZ-2200 膜片钳放大器使保持电位为 - 30 mV, 用 SEN-7103 电子刺激器使刺激时间为 300 ms, 刺激间隔 6 s; 用 S-8300 步阶脉冲发生器使指令电位为 - 20 mV ~ + 60 mV, 间隔 10 mV。观察并用 PLG-6201 连续摄影机摄影记录, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 通过 *t* 检验比较给药前后 I_{Ca} 变化的显著性。

2 结 果

2.1 灯盏花素对 I_{Ca} 的电压依赖性作用

在上述条件下引出一慢内向离子电流, 此电流可被 Nifedipine 所阻断, 证明其为 I_{Ca} 。实验中以 Cs⁺ 阻断 I_K , 观察到 I_{Ca} 在 - 20 mV 时已经被激活, 在 0 mV 时达最大值, 通过 *I* ~ *V* 关系曲线可以看出, I_{Ca} 随着指令电位的变化而发生规律性的变化, 其反转电位大约为 + 60 mV。在各指令电压下, 不同浓度的灯盏花素均能明显地减小 I_{Ca} , 在峰电流电压下此作用最明显, 但对其反转电位无明显影响(图 1)。

2.2 灯盏花素对 I_{Ca} 作用的浓度依赖关系

灯盏花素对 I_{Ca} 的作用具有明显的浓度依赖关系。在指令电压 0 mV 时, 0.5 mg % 的灯盏花素即使 I_{Ca} 减小 5.4% ($1.3 \sim 1.23$ nA, *n* = 2), 1 mg % 的灯盏花素使 I_{Ca} 减小 22.9% [(1.09 ± 0.33) nA 至 (0.84 ± 0.31) nA, *P* < 0.01, *n* = 4], 2 mg % 的灯盏花素使 I_{Ca} 减小 45.0% [(1.09 ± 0.33) nA 至 (0.60 ± 0.19) nA, *P* < 0.01, *n* = 4] (图 2)。

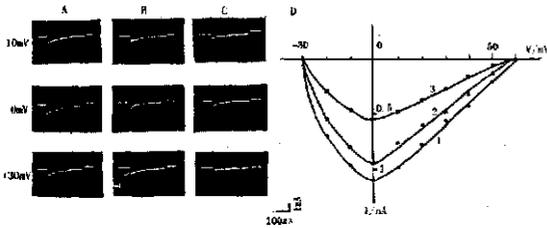


图1 灯盏花素对钙离子电流的影响
A~C- 给药前, 0.5 mg %和 2 mg %灯盏花素灌流期间的电流轨迹; D- I~V关系曲线; 1- 给药前; 2- 0.5 mg %灯盏花素; 3- 2 mg %灯盏花素

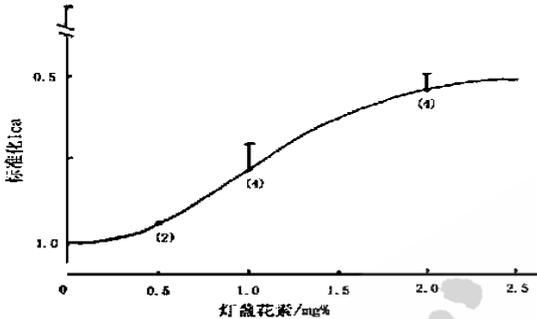


图2 灯盏花素与标准化 I_{Ca} 间的浓度-效应关系
· - 平均值; I 标准差, 括号内的数字为实验例数

2.3 灯盏花素对 I_{Ca} 作用的可复性

灯盏花素抑制 Ca^{2+} 内流的作用是可逆的, 2 mg %的灯盏花素作用 5 min 后, I_{Ca} 由 (1.17 ± 0.25) nA 减小至 (0.62 ± 0.18) nA, 经普通台氏液冲洗 10 min, I_{Ca} 增至 (1.03 ± 0.21) nA ($n=3$), 恢复至接近给药前的水平, 图 3 为其中的 1 例。

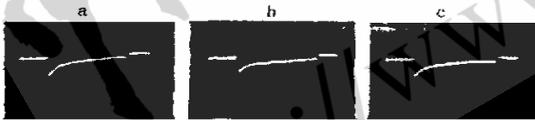


图3 灯盏花素减小 I_{Ca} 作用的可复性
保持电位 - 30 mV, 指令电位 0 mV; a- 给药前; b- 2 mg %灯盏花素作用 3 min; c- 冲洗后 10 min

3 讨论

文献报道, 钙拮抗剂以电压依赖的方式作用于

I_{Ca} ^[5,6]。本实验结果表明: 灯盏花素在不同的指令电压下对 I_{Ca} 的阻断作用不同, 在峰电流电压下作用最明显, 而对其反转电位无明显影响; 此作用是可逆的, 且具有明显的剂量(浓度)依赖性。

灯盏花素能阻断心肌细胞的 Ca^{2+} 通道, 减少 Ca^{2+} 内流, 可使心肌收缩力减弱, 心脏做功减小, 心肌耗氧量减少, 故可制止冠心病心绞痛发作。另外, 在心室肌等快反应细胞, 钙离子 (Ca^{2+}) 内流发生在动作电位复极化的 2 期。 Ca^{2+} 内流增多将使心肌细胞的自律性提高, 后除极及触发活动增多, ERP 缩短, 折返激动形成, 从而诱发心律失常。灯盏花素以电压依赖的方式阻断心肌细胞膜上的钙离子通道, 使 Ca^{2+} 内流减少, 从而可以使心肌细胞 ①后除极及触发活动减少; ②复极后的膜电位负值变大而远离阈电位, 使心肌细胞的自律性降低; ③ERP 延长, 减少折返激动, 从而可能产生抗心律失常作用。有关灯盏花素的其他作用及确切机制尚有待进一步研究。

致谢: 本研究的实验部分系在中国医科大学药理学教研室完成的, 张沈丽、赵青给予了大力协作, 在此表示衷心的感谢。

参考文献

- 1 陈新谦, 金有豫主编. 新编药理学. 第 14 版. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 277.
- 2 徐庆有, 李学信. 灯盏细辛注射液对高粘滞血症病人血液粘度的影响. 新药与临床, 1995, 14(4): 233.
- 3 沈金麟. 灯盏花素治疗视网膜静脉阻塞. 上海医学, 1995, 18(12): 736.
- 4 徐济民, 郑慧君, 夏翔, 等. 灯盏花素片治疗冠心病心绞痛的疗效. 中国新药杂志, 1993, 2(5): 46.
- 5 江明性. 钙拮抗药. 见: 江明性主编. 药理学, 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 140.
- 6 Ehara T, Kaufmann R. The voltage and time dependent effects of (-)-verapamil on the slow inward current in isolated cat ventricular myocardium. J Pharmacol Exp Ther, 1978, 207: 49.

收稿日期: 1999-07-12