

苦参碱影响豚鼠乳头肌细胞动作电位的实验研究

唐汉庆¹,李妙玲²,王勇³,郭健³,李国彰³,宋宁⁴,庞宇舟^{4*}
(1. 右江民族医学院,广西 百色 533000; 2. 泸州医学院,四川 泸州 646000;
3. 北京中医药大学,北京 100029;4. 广西中医药大学,南宁 530001)

[摘要] 目的:观察苦参碱对豚鼠心室肌动作电位的影响,探讨其抗心律失常的作用机制。方法:豚鼠分为对照组、苦参碱组(10,50,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、乌头碱组(1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、乌头碱(1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + 苦参碱(50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组,乌头碱(1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + 苦参碱(100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组;采用标准微电极记录技术记录动作电位时程(APD)、动作电位 0 相幅值(APA)、动作电位 50%复极化时程(APD₅₀)和 90%复极化时程(APD₉₀)。结果:苦参碱浓度依赖性(10,50,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)适度延长 APD₅₀和 APD₉₀,降低 APA;乌头碱明显延长 APD(和对照组比较 $P < 0.05$),APD₅₀,APD₉₀;苦参碱(100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)能纠正乌头碱对 APD,APD₅₀,APD₉₀的过度延长作用(和乌头碱组比较 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。苦参碱(100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)能显著降低 APA(和乌头碱组比较 $P < 0.05$)。结论:苦参碱能纠正乌头碱对 APD,APD₅₀,APD₉₀的过度延长作用,能使乌头碱诱发心律失常的 APA 降低,维持动作电位在正常范围可能是苦参碱抗心律失常的机制之一。

[关键词] 苦参碱; 乌头碱; 动作电位; 心律失常
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)24-0241-03

Influence of Matrine on Cell Action Potential
in Guinea Pig Papillary Muscle

TANG Han-qing¹, LI Miao-ling², WANG Yong³, GUO Jian³, LI Guo-zhang³, SONG Ning⁴, PANG Yu-zhou^{4*}
(1. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China;
2. Institute of Myocardium Electrophysiology of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China;
3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
4. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] Objective: To observe influence of matrine on cell action potential in guinea pig papillary muscles thus to clarify its antiarrhythmic mechanism. Method: Guinea pigs were divided into control group, matrine group (10, 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), aconitine group 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, aconitine 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + matrine 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group, aconitine 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + matrine 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group. Conventional microelectrode technique was used to record action potential duration (APD), action potential amplitude (APA), 50 % and 90 % of APD repolarization (APD₅₀ and APD₉₀). Result: Matrine could prolong moderately APD₅₀ and APD₉₀ in a dose-dependent manner (10, 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and reduce APA. Aconitine could excessively prolong APD (vs control group, $P < 0.05$), APD₅₀ and APD₉₀. Matrine (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) could remedy for excessive elongation of aconitine on APD, APD₅₀ and APD₉₀ (vs aconitine group, $P < 0.05$ or $P < 0.01$). Matrine (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) also could reduce APA (vs aconitine group, $P < 0.05$). Conclusion: Matrine could remedy for excessive elongation of aconitine on APD, APD₅₀ and APD₉₀ and reduce APA of aconitine-induced arrhythmia, which could maintain action potential in a normal range, and was probably one of matrine antiarrhythmic mechanisms.

[Key words] matrine; aconitine; action potential; arrhythmia

[收稿日期] 20120510(003)
[基金项目] 广西自然科学基金项目(桂科自 0991154)
[第一作者] 唐汉庆,副教授,医学博士,从事中西医结合基础研究,Tel:0776-2849479, E-mail: iloveyouverymuch0000@ yahoo. com. cn
[通讯作者] * 庞宇舟,教授,硕士生导师,E-mail: pangyz422@ sina. com

苦参碱(matrine)是从苦参中提取出来的生物碱,是苦参的主要成分。现代药理研究表明苦参碱有抗心律失常作用。本研究采用标准微电极技术,观察苦参碱对乌头碱(aconitine)诱发的心律失常的动作电位时程(APD)、动作电位 0 相幅值(APA)、动作电位 50%复极化时程(APD₅₀)和 90%复极化时程(APD₉₀)的影响,并探讨其抗心律失常的作用机制。

1 材料

1.1 动物 豚鼠,体质量 0.3~0.4 kg,雌雄不拘,由泸州医学院实验动物中心购买提供。许可证号 SCXK(京)2009-0015。

1.2 试剂 苦参碱(批号 110805-200306),乌头碱(批号 07989403)(国家标准物质网,纯度>99%,水溶),Collagenase II(Worthington company),HEPE(Sigma,U S A)。

1.3 仪器 有芯玻璃毛细管(Havard, USA),P-97 拉制仪(Sutter USA)三维微操纵器(Narishige, Japan),SEN 7203 电子刺激器(Nihon Kohden, Japan);SS-202J 隔离器(Nihon Kohden, Japan);BL-420 E⁺生物机能实验系统(泰盟,成都),倒置相差显微镜(CKX31, Olympus, Japan),200B 膜片钳放大器(Axopatch)。

2 方法

2.1 动物分组 豚鼠,根据乌头碱以及不同浓度苦参碱水溶液的灌流,分组如下:①正常对照组(简称对照组, $n = 8$);②苦参碱组(10, 50, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$);③乌头碱组(1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$);④乌头碱(1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) + 苦参碱(50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组;⑤乌头碱(1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) + 苦参碱(100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组;③~⑤组 $n = 7$ 。

2.2 心室乳头肌的分离 豚鼠击颅致昏后,分离、

冲洗心脏,置于 100% O² 饱和、温度(36 ± 0.5)℃台式液中($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$: NaCl 147, KCl 5.4, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 1.05, HEPES 10, Glucose 11, NaOH 调节至 pH 7.4),分离心室乳头肌,固定于恒温浴槽中,并持续流速 3 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 灌流,稳定 2 h 后进行实验。

2.3 玻璃微电极的制备 铂金电极放于肌条的两侧作为刺激电极,用有芯玻璃毛细管在拉制仪上进行玻璃微电极的拉制。

2.4 电位导引记录 玻璃微电极(电极液 3 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl,直流电阻 20~30 M Ω)插入 Ag-AgCl 引导电极,用三维微操纵器固定,以参比电极接地。电极入水后调零,缓慢插入电极至出现静息电位(RP)时,用电子刺激器发放刺激脉冲(2 ms, 1.5 倍阈电压),通过隔离器脉冲刺激豚鼠乳头肌,诱发乳头肌的动作电位。电信号通过微电极放大器,用生物机能实验系统在计算机上进行实时采集并分析存储数据。

2.5 观察指标 动作电位时程(APD);动作电位 0 相幅值(APA);动作电位 50%复极化时程(APD₅₀);90%复极化时程(APD₉₀)。

2.6 统计学处理 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,SPSS 11.0 统计软件包统计。组间比较 t 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

苦参碱对豚鼠心室乳头肌细胞电生理效应的影响:动作电位稳定后,在台式液中加入 1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乌头碱后,观察到 APD 明显延长,与对照组比较($P < 0.05$),APA 也有升高趋势。在此基础上分别加入 50, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 苦参碱,观察到 APD 随着苦参碱浓度的增加而逐渐减小,趋向于对照组正常水平,同时其 APD₅₀, APD₉₀ 和 APA 下降,与乌头碱组比较($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 苦参碱对豚鼠心室乳头肌细胞电位的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	n	APD/ms	APD ₅₀ /ms	APD ₉₀ /ms	APA/mV
对照	—	8	320 ± 14	180 ± 11	216 ± 11	113.21 ± 7.12
苦参碱	10	7	325 ± 12	190 ± 13	228 ± 14	110.52 ± 7.66
	50	7	332 ± 12	228 ± 14 ²⁾	256 ± 15 ²⁾	109.32 ± 7.62
	100	7	340 ± 10	245 ± 15 ²⁾	279 ± 16 ²⁾	90.68 ± 6.58 ¹⁾
乌头碱	1	7	398 ± 13 ¹⁾	262 ± 15	298 ± 18	114.25 ± 8.23
乌头碱 + 苦参碱	1 + 50	7	342 ± 12	251 ± 14	278 ± 16 ³⁾	106.33 ± 7.65
	1 + 100	7	328 ± 11	212 ± 12 ³⁾	226 ± 13 ⁴⁾	92.35 ± 7.22 ³⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与乌头碱组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

苦参碱对心脏具有负性频率、负性自律性及负性传导作用,因此能产生抗心律失常效应^[1]。能拮抗乌头碱等诱发的心律失常,不同浓度表现的作用强度不同,本实验研究观察了不同浓度苦参碱对豚鼠心肌 APD, APD₅₀, APD₉₀ 和 APA 的影响。

4.1 苦参碱对正常心肌 APD, APD₅₀, APD₉₀ 和 APA 的影响 苦参碱对正常心肌 APD 有适度延长作用,呈浓度依赖性,对 APD₅₀ 和 APD₉₀ 的影响表现为浓度较高则延长效应越明显,和对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.01$)。推测可能是高浓度更容易改变心肌细胞膜钾、钙和钠离子通道状态,降低心肌应激性,延长不应期而致。苦参碱对正常心肌 APA 的影响,也和浓度有关系,表现在随浓度增高 APA 降低,在本研究中,以 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度的苦参碱降低 APA 的作用明显,和对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

4.2 苦参碱对乌头碱致心律失常 APD 的影响 乌头碱诱发心律失常,表现为明显延长 APD,加入苦参碱后,使 APD 缩短,趋向正常,从而对心律失常起到治疗作用。 $50, 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的苦参碱作用强度不同,本研究表明 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的苦参碱使过度延长的 APD 适度减小的效果比 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的要强些,体现了浓度依赖性,但就两种浓度苦参碱缩短乌头碱导致 APD 延长的效果比较,差异没有统计学意义。

4.3 两种浓度苦参碱对乌头碱致心律失常 APD₅₀, APD₉₀, APA 的影响 $50, 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 苦参碱均能缩短乌头碱致心律失常 APD₅₀,其中以 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度苦参碱的缩短效果明显,和乌头组比较($P < 0.05$)。两种浓度苦参碱均能显著缩短乌头碱致心律失常 APD₉₀($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中以 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度的效果最明显($P < 0.01$)。两种浓度苦参碱均能降低乌头碱致心律失常 APA,其中以 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度的降低作用明显($P < 0.05$)。

4.4 苦参碱抗心律失常作用机制 研究表明,苦参碱抗心律失常作用已得到肯定,和阿托品比较,具有起效快,作用持久的特点。能对抗多种实验性心律失常,推测此种作用是非特异性“奎尼丁样”作用^[2]。还有研究观察到,不同浓度的苦参碱对豚鼠心室肌细胞钠电流有明显的抑制作用,表现在剂量依赖性对钠电流不同程度的抑制作用,因此,该研究认为苦参碱对钠通道的阻滞作用可能是其抗心律失常作

用的又一个机制^[3]。

随着对离子通道研究的深入,医学界注意到许多疾病与离子通道有关,促进了离子通道病研究的发展,心律失常在一些研究中也归入离子通道病,除了对钠离子通道的研究,还进行了对心室肌细胞电压依赖性钙通道的研究,一项采用激光扫描共聚焦显微镜技术对豚鼠单个心室肌细胞的研究表明^[4], $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 苦参碱对心室肌细胞的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 没有影响,而对于 $60 \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 介导的外 Ca^{2+} 内流有明显的抑制作用,结论认为苦参碱对电压依赖性钙通道具有明显抑制作用,有可能是其抗心律失常作用机制之一。

上述研究从苦参碱抗心律失常的作用表现和离子通道探究其作用机制,这些都可能是机制的其中之一,有关抗心律失常的多靶点学说和最佳靶点学说提出^[5],抗心律失常药物应该是多靶点、多环节起作用,使心肌细胞的内向电流和外向电流达到平衡,动作电位维持在正常水平,表现为能使 APD 恢复或接近正常的水平。本研究结果显示,不同浓度苦参碱使 APD 和 APA 恢复或接近正常水平可能是苦参碱抗心律失常的机制之一。

本研究注意到苦参碱对正常心肌 APD 有一定的延长作用,且呈浓度依赖性,提示苦参碱的抗心律失常作用是多靶点的,应该涉及到钠通道、钙通道及其他各种离子通道,这也给本研究指明了方向,伴随心肌细胞电生理学研究的进展和膜离子通道技术的不断进步,综合研究苦参碱对心肌细胞膜钠通道、钙通道以及其他离子通道的影响,可以使其抗心律失常的确切机制得以逐步明确。

[参考文献]

- [1] 唐汉庆. 苦参对心血管系统和消化系统的临床研究概述[J]. 右江民族医学院学报, 2011(3): 343.
- [2] 沈映君. 中药药理学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 61.
- [3] 陈霞, 李英骥, 张文杰, 等. 氧化苦参碱对豚鼠心室肌细胞钠电流的影响[J]. 白求恩医科大学学报, 2001, 27(1): 41.
- [4] 孙宏丽, 许超千, 李哲, 等. 氧化苦参碱对豚鼠单个心室肌细胞胞浆 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(4): 264.
- [5] 杨宝峰, 单宏丽, 龚冬梅. 抗心律失常药物作用最佳靶点研究[J]. 哈尔滨商业大学学报, 2002, 18(1): 1.

[责任编辑 聂淑琴]