

连参律平滴丸抗心律失常的动物实验研究

刘 喆*,朱日然(山东中医药大学附属医院,济南 250011)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)25-3507-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.25.18

摘要 目的:研究连参律平滴丸抗大鼠、小鼠、豚鼠心律失常的作用。方法:48只SD大鼠随机均分为正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、心律平(阳性对照,270 mg/kg)组与连参律平滴丸高、中、低剂量(210、140、70 mg/kg)组;一次性尾iv给药10 min后尾iv乌头碱(10 mg/L,3 μ g/min),记录心电图(ECG)出现室性早搏(VP)、室性心动过速(VT)、室颤(VF)时的乌头碱用量。48只豚鼠分组、给药同上,一次性尾iv给药10 min后尾iv哇巴因(1 mg/L,1 μ g/min),记录出现VP、VT、VF时的哇巴因用量。120只KM小鼠分组、给药剂量同上,一次性ip给药30 min后置小鼠于含4 ml氯仿的烧杯中,呼吸停止后开胸观察并计算室颤率。120只Wistar大鼠分组、给药剂量同上,舌下iv 0.8% BaCl₂(0.25 ml/kg),待出现典型心律失常后一次性舌下iv给药;48只Wistar大鼠分组、给药剂量同上,舌下iv 5% CaCl₂,出现典型心律失常后一次性舌下iv给药,测定大鼠窦性心律失常恢复率。48只SD大鼠分组、给药剂量同上,ig给药,每天1次,连续7 d后复制大鼠心肌缺血再灌注模型,记录VT、VF发生率及死亡率。结果:与正常对照组比较,模型组大鼠各项指标均异常。与模型组比较,连参律平滴丸高、中、低剂量组动物出现VP、VT、VF时乌头碱/哇巴因用量增加,小鼠室颤率降低,大鼠窦性心律失常恢复率升高;连参律平滴丸高、中剂量组大鼠VT、VF发生率和死亡率均降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论:连参律平滴丸对动物具有一定的抗心律失常作用。

关键词 连参律平滴丸;心律失常;大鼠;小鼠;豚鼠

Experimental Study of Anti-arrhythmic Effects of Lianshen Lyuping Dripping Pills in Animals

LIU Zhe, ZHU Ri-ran (The Hospital Affiliated to Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study anti-arrhythmic effects of Lianshen lyuping dripping pills in rats, mice, guinea pigs. METHODS: 48 SD rats were randomized into a normal control (isometric normal saline) group, a model (isometric normal saline) group, a propafenone (positive control, 270 mg/kg) group and Lianshen lyuping dripping pills high-dose, medium-dose and low-dose (210, 140, 70 mg/kg) groups. The rats' tails were given the drugs iv at a time, 10 min later, aconitine (10 mg/L, 3 μ g/min) iv. The doses of aconitine were recorded when ventricular premature beat (VP), ventricular tachycardia (VT) and ventricular fibrillation (VF) developed in ECG. 48 guinea pigs were grouped and given drugs as above and 10 min later, were given uabain iv (1 mg/L, 1 μ g/min). The doses of uabain were recorded when VP, VT and VF developed in ECG. 120 KM mice were grouped and given drugs ip at a dose as above at a time, 30 min later, were placed in the beaker containing 4 ml chloroform. When respiratory arrest occurred, ventricular fibrillation rate of mice were calculate. 120 Wistar rats were grouped and given drugs at a dose as above, following typical arrhythmia reaction, given 0.8% BaCl₂ (0.25 ml/kg) iv and sublingually at a time; 48 Wistar rats were grouped and given drugs at a dose as above and, following typical arrhythmia reaction, given 5% CaCl₂ (0.28 ml/kg) iv and sublingually at a time. Recovery of sinus arrhythmia rate of rats were determined. 48 SD rats were grouped and given drugs at a dose as above, after the administration ig once daily for 7 consecutive days, the rat models of myocardial ischemia reperfusion were established, and then VT, VF incidence rate and death were recorded. RESULTS: Compared to the normal control group, those in the model group were all abnormal in all indexes. Compared to the model group, those in Lianshen lyuping dripping pills high-dose, medium-dose and low-dose groups used more aconitine and uabain at the time of the occurrence of VP, VT and VF, had a lower occurrence rate of VF in mice and higher recovery of sinus arrhythmia rate in rats. The rats in Lianshen lyuping dripping pills high-dose and medium-dose groups which had myocardial ischemia reperfusion demonstrated a lower of VT, VF incidence rate and death rate. There were statistically significances ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). CONCLUSIONS: Lianshen lyuping dripping pills have an anti-arrhythmic effects in animals to some degree.

KEYWORDS Lianshen lyuping dripping pills; Arrhythmia; Rat; Mouse; Guinea pig

心律失常是临床上引发猝死最主要的原因^[1],发作时可使患者血液循环失常、心房和心室收缩改变,心排血量下降30%左右^[2],引起患者心虚、胸闷、无力等症状,较严重者可致窦性

*副教授。研究方向:中药新药与中药炮制原理。电话:0531-82602964。E-mail:liuzhe1166@163.com

停搏、窦房阻滞和心动过缓。其中以室性心动过速、室颤及传导阻滞引起猝死的发生率最高。连参律平滴丸是由黄连、苦参提取物制成,临床应用具有较好的抗心律失常作用。本研究对连参律平滴丸抗大鼠心律失常作用进行了研究,以期为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

6511型心电图机(上海光电仪器有限公司);X-J-11型心电图监视仪(上海医用电子仪器厂);微型气动气控呼吸机(无锡市佳灵医疗器械厂);JY2001型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)

1.2 药品与试剂

连参律平滴丸(山东中医药大学附属医院中药制剂国家三级实验室自制,批号:20140604,每丸含盐酸小檗碱不低于0.1 mg、含苦参总碱和苦参总黄酮共不低于40 mg);心律平片(阳性对照,广州白云山明兴制药有限公司,批号:0140413,规格:50 mg/片);乌头碱(美国Sigma公司,纯度:>98%);哇巴因(德国Merck公司,纯度:>98%);乌拉坦、水合氯醛、BaCl₂、CaCl₂、氯仿均为国产分析纯。

1.3 动物

健康SD大鼠96只,♂,体质量(206±10)g;健康Wistar大鼠168只,♂,体质量(200±20)g;健康豚鼠48只,♂,体质量(280±20)g;健康KM小鼠120只,♂,体质量(20±2)g,均由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供[实验动物使用许可证号:SCXK(鲁)2014-0007]。

2 方法

2.1 各组大鼠出现VP、VT、VF时乌头碱的用量测定^[8-9]

48只SD大鼠随机均分为6组,即正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、心律平(270 mg/kg)组与连参律平滴丸高、中、低剂量(210、140、70 mg/kg)组。禁食12 h,20%乌拉坦(1.2 g/kg)ip麻醉,采用仰位固定。然后用针形电极插入大鼠四肢皮下,连续记录心电图(ECG)。大鼠分别经过尾iv给药,10 min后心律稳定时,以3 μg/min恒速尾iv乌头碱(10 mg/L),立即观察大鼠ECG,记录发生室性早搏(VP)、心动过速(VT)、心律失常(VF)时乌头碱的用量。药物的动物用量按人和动物间等效剂量换算方法折算^[9],以等效剂量作为低剂量、2倍等效剂量为中剂量、3倍等效剂量为高剂量,下同。

2.2 各组豚鼠出现VP、VT、VF时哇巴因的用量测定^[6-7]

48只豚鼠随机均分为6组,按“2.1”项下方法分组、给药与记录ECG。以1 μg/min恒速尾iv哇巴因(1 mg/L),立即观察大鼠ECG,记录发生VP、VT、VF时哇巴因的用量。

2.3 各组小鼠室颤率测定

120只KM小鼠随机分成6组,按“2.1”项下方法分组,给药剂量同上。一次性ip给药,30 min后,将小鼠置于含4 ml氯仿的500 ml烧杯中,待小鼠呼吸停止后立即开胸观察小鼠VF情况,计算室颤率[(模型组室颤数-用药组室颤数)/模型组室颤数×100%]。

2.4 各组大鼠窦性心律失常恢复率测定

120只Wistar大鼠随机均分为6组,同“2.1”项下方法分组与给药剂量。禁食12 h,10%水合氯醛麻醉,记录正常ECG。10 min后,快速舌下iv 0.8% BaCl₂(0.25 ml/100 g),3 s内完成,待大鼠出现窦性心律失常症状后,立即舌下iv给药,记录大鼠恢复窦性心律的数量并计算窦性心律失常恢复率{[1-(模型组窦性心律数-用药组窦性心律数)/模型组窦性心律数]×100%}。

48只Wistar大鼠随机均分为6组,同“2.1”项下方法分组与给药剂量。按上述方法记录正常ECG后,快速舌下iv 5% CaCl₂(0.28 ml/100 g),5 s内完成,待大鼠出现典型心律失常症

状后,快速舌下iv给药,记录大鼠恢复窦性心律的数量并计算窦性心律失常恢复率。

2.5 各组大鼠VT、VF发生率和死亡率测定^[8-9]

48只SD大鼠随机均分为6组,按“2.1”项下方法分组,给药剂量同上。ig给药,每天1次,连续7 d。末次给药24 h后,参考文献[10]除正常对照组外其他组复制大鼠心肌缺血再灌注模型;30 min后,放开丝线恢复冠脉血液流动40 min。全过程连续观察ECG变化。发生心律失常时随时记录,计算大鼠再灌注时VT、VF发生率和死亡率。结扎成功即ECG ST段抬高,局部心肌明显变苍白;再灌注成功即苍白心肌恢复红润,ST段恢复1/2以上^[11]。

2.6 统计学方法

采用SPSS 13.0软件处理实验数据。各组数据均为计量资料,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用LSD检验进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠出现VP、VT、VF时乌头碱的用量测定结果

与模型组比较,心律平组与连参律平滴丸高、中、低剂量组大鼠出现VP、VT、VF时,乌头碱用量增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。这表明连参律平滴丸具有一定的抗乌头碱诱发大鼠ECG失常的作用。各组大鼠出现VP、VT、VF时乌头碱的用量测定结果见表1(表中正常对照组数据略,下同)。

表1 各组大鼠出现VP、VT、VF时乌头碱的用量测定结果($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 1 Determination results of aconitine doses at the time of the occurrence of VP, VT, VF in all groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量,mg/kg	乌头碱用量,μg/kg		
		出现VP	出现VT	出现VF
模型组		24.11±8.09	33.76±11.77	66.53±16.45
连参律平滴丸低剂量组	70	45.80±14.39*	56.03±16.86*	92.31±15.33*
连参律平滴丸中剂量组	140	46.60±14.75*	57.72±15.45*	126.29±15.21*
连参律平滴丸高剂量组	210	47.76±14.51*	59.51±16.47*	148.25±13.74*
心律平组	270	49.53±14.49*	60.20±15.78*	93.92±14.33*

注:与模型组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. model group, * $P < 0.01$

3.2 各组豚鼠出现VP、VT、VF时哇巴因的用量测定结果

与模型组比较,心律平组与连参律平滴丸高、中、低剂量组豚鼠出现VP、VT、VF现象时,哇巴因用量增加,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。这表明连参律平滴丸具有一定的抗哇巴因诱发豚鼠ECG失常的作用。各组豚鼠出现VP、VT、VF时哇巴因的用量测定结果见表2。

3.3 各组小鼠室颤率测定结果

与模型组比较,心律平组与连参律平滴丸高、中、低剂量组小鼠室颤率降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。这表明连参律平滴丸具有一定的抗氯仿诱发小鼠室颤的作用。各组小鼠室颤率测定结果见表3。

3.4 各组大鼠窦性心律失常恢复率测定结果

与模型组比较,心律平组与连参律平滴丸高、中、低剂量组大鼠用药后窦性心律失常恢复率升高,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。这表明连参律平滴丸具有一定的抗BaCl₂、CaCl₂致大鼠窦性心律失常的作用。各组大鼠窦性心律失常恢复率测定结果见表4、表5。

表2 各组豚鼠出现VP、VT、VF时哇巴因的用量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Determination results of uabain doses at the time of the occurrence of VP, VT, VF in all groups of guinea pigs ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量, mg/kg	哇巴因用量, $\mu\text{g}/\text{kg}$		
		出现VP	出现VT	出现VF
模型组		165.43 ± 21.09	234.16 ± 43.69	280.06 ± 28.45
连参律平滴丸低剂量组	70	236.42 ± 32.58**	285.40 ± 36.54*	354.12 ± 35.98**
连参律平滴丸中剂量组	140	227.37 ± 38.32**	296.46 ± 31.24**	366.31 ± 32.98**
连参律平滴丸高剂量组	210	221.84 ± 37.73**	300.99 ± 49.10**	386.58 ± 38.73**
心律平组	270	265.47 ± 32.22**	345.92 ± 41.56**	399.11 ± 42.47**

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表3 各组小鼠室颤率测定结果

Tab 3 Determination results of ventricular fibrillation rate in all groups of mice

组别	剂量, mg/kg	n	室颤	
			n	百分率, %
模型组		20	17	85
连参律平滴丸低剂量组	70	20	7	35*
连参律平滴丸中剂量组	140	20	4	20*
连参律平滴丸高剂量组	210	20	2	10*
心律平组	270	20	3	15*

注:与模型组比较, * $P < 0.01$

Note: vs. model group, * $P < 0.01$

表4 各组大鼠窦性心律失常恢复率(BaCl₂诱导)测定结果

Tab 4 Determination results of recovery rate of sinus arrhythmia (induced by BaCl₂) in all group of rats

组别	剂量, mg/kg	n	窦性心律失常恢复	
			n	百分率, %
模型组		20	2	10.0
连参律平滴丸低剂量组	70	20	14	70.0*
连参律平滴丸中剂量组	140	20	16	80.0*
连参律平滴丸高剂量组	210	20	17	85.0*
心律平组	270	20	16	80.0*

注:与模型组比较, * $P < 0.01$

Note: vs. model group, * $P < 0.01$

表5 各组大鼠窦性心律失常恢复率(CaCl₂诱导)测定结果

Tab 5 Determination results of recovery rate of sinus arrhythmia (induced by CaCl₂) in all group of rats

组别	剂量, mg/kg	n	窦性心律失常恢复	
			n	百分率, %
模型组		8	2	25.0
连参律平滴丸低剂量组	70	8	5	62.5*
连参律平滴丸中剂量组	140	8	6	75.0*
连参律平滴丸高剂量组	210	8	7	87.5**
心律平组	270	8	6	75.0*

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.5 各组大鼠VT、VF发生率和死亡率测定结果

与模型组比较, 心律平组与连参律平滴丸高、中剂量组大鼠VT、VF发生率降低, 死亡率降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。这表明大鼠的死亡率随连参律平滴丸的用量增多而明显减少。各组大鼠VT、VF发生率和死亡率测定

结果见表6。

表6 各组大鼠VT、VF发生率和死亡率测定结果($n=8$)

Tab 6 Determination results of VT, VF incidence rate and death rate in all group of rats($n=8$)

组别	剂量, mg/kg	VT		VF		死亡	
		n	百分率, %	n	百分率, %	n	百分率, %
模型组		7	87.5	5	62.5	3	37.5
连参律平滴丸低剂量组	70	5	62.5	3	37.5	2	25.0*
连参律平滴丸中剂量组	140	3	37.5*	3	37.5*	2	25.0*
连参律平滴丸高剂量组	210	2	25.0**	2	25.0**	1	12.5**
心律平组	270	3	37.5*	2	25.0**	2	25.0*

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

心律失常是当前危害人类社会健康与生命“杀手”之一, 其可单独发病亦可与心血管病伴发, 可突然发作而致猝死, 亦可持续累及心脏而致衰竭。中医学均认为心病发生多由脾胃病在先。现代研究表明, 脾胃功能失司, 化浊生痰, 痰热与痰湿互结, 促成新陈代谢紊乱。血管失去营养, 脆弱而失去了弹性, 痰浊黏腻, 阻遏气机, 气滞则血流不畅, 导致心脉不通, 直接导致心律失常、心衰、房颤、心绞痛等。

本研究结果表明, 连参律平滴丸具有一定抗乌头碱、哇巴因诱发鼠ECG失常的作用, 对BaCl₂和CaCl₂致大鼠窦性心律失常有良好的对抗作用, 能明显对抗氯仿诱发的小鼠室性心律失常, 且具有抗心肌缺血再灌注致大鼠心律失常的作用。连参律平滴丸的药效学实验结果与预期推测的药效相吻合, 此研究也为临床上黄连、苦参在治疗心律不齐方面的应用提供了实验依据。

参考文献

- [1] 李勇. 中医药治疗心律失常研究进展[J]. 河北中医, 2012, 34(6):935.
- [2] 杨建忠. 中药治疗心律失常综述[J]. 现代中医药, 2013, 33(1):91.
- [3] 罗美兰, 廖银根, 王文, 等. 复方苦蛇黄洗剂质量标准[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):131.
- [4] 宋昆, 肖桂林, 石燕. 双黄连粉针剂抗乌头碱诱发大鼠心律失常的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(4):38.
- [5] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2005:202
- [6] 周兰兰, 江勤, 于英莉, 等. 双黄连粉针剂抗实验性心律失常作用的研究[J]. 中药药理与临床, 2000, 16(5):27.
- [7] 王和平, 韩艳艳, 王建明, 等. 苦参总碱贴片抗心律失常作用的实验研究[J]. 中医药信息, 2008, 25(5):80.
- [8] 王继光, 吕高虹. 苦参总黄酮抗实验性心律失常作用的研究[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(5):13.
- [9] 韩丹丹, 张文杰, 刘洁, 等. 氧化苦参碱对缺血再灌注致心律失常的影响及其机制[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2007, 33(6):1047.
- [10] 欧阳昌汉, 吴基良, 陈金和. 黄芩苷抗实验性心律失常的作用[J]. 咸宁医学院学报, 2002, 16(1):7.
- [11] 巫志峰, 袁小红. 莲子心微囊抗心律失常作用研究[J]. 中国药房, 2006, 17(23):1770.

(收稿日期:2015-02-28 修回日期:2015-03-31)

(编辑:张 静)