

定心方对家兔心肌缺血及再灌注损伤的保护作用和抗心律失常作用的研究*

贾钰华 余林中 陈育尧 周轶林 孙学刚

内容提要 目的:研究定心方(DXR)抗兔心肌缺血及再灌注损伤和抗心律失常作用。方法:兔冠状动脉双重结扎造成心肌梗塞,观察各组心律失常情况并检测血浆超氧化物歧化酶(SOD)、cAMP、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT),观察心肌超微结构。结果:DXR对兔心肌梗塞后心律失常有拮抗作用,其中DXR大剂量组与对照组比较有显著性差异($P < 0.01$);对缺血再灌注心律失常也有拮抗作用,DXR大、小剂量组与对照组比较均有显著性差异($P < 0.01$);对上述状态的心电图ST-T抬高有改善作用。实验表明,DXR能升高血清SOD浓度,而使cAMP、NE、DA、5-HT浓度和全血粘度降低。结论:DXR能拮抗心肌缺血及再灌注损伤和心律失常,其机理可能通过清除氧自由基、调节细胞第二信使、抑制交感神经系统、改善局部循环、保护线粒体、抑制溶酶体活化使心肌细胞免受损伤而实现。

关键词 定心方 心肌缺血 再灌注 心律失常

Effect of Dingxin Recipe on Arrhythmia and Injury Induced by Ischemia and Reperfusion in Rabbits Jia Yuhua, Yu Linzhong, Chen Yuyao, et al *The First Military Medical University, Guangzhou (510515)*

Objective: To investigate the protective effect of Dingxin Recipe (DXR) on arrhythmia and injury induced by ischemia and reperfusion. **Methods:** Rabbits were randomly divided into four groups and administered orally with DXR of high dose, low dose, propranolol and distilled water. Two-step coronary artery ligation was used to form ischemia and reperfusion model. Superoxide dismutase (SOD), cyclic adenosine monophosphate (cAMP), norepinephrine (NE), dopamine (DA), 5-hydroxytryptamine (5-HT), myocyte ultrastructural injury and occurrence of arrhythmia were investigated. **Results:** DXR could obviously antagonize arrhythmia induced by myocardial infarction or ischemia and reperfusion in rabbits. Compared with the control group, DXR of high and low doses could improve the changes in ST-T. In rabbits treated with DXR, the levels of SOD were elevated while cAMP, NE, DA, 5-HT and the whole blood viscosity were lowered. **Conclusions:** DXR could obviously antagonize arrhythmia and injury induced by ischemia and reperfusion, DXR may clear oxygen free radical, regulate the second messenger, inhibit sympathetic nerve system, improve local circulation, protect mitochondria and prevent the activation of lysosome and safeguard the cardiac myocyte to be free from injury.

Key words Dingxin Recipe, myocardial ischemia, reperfusion, arrhythmia

心血管病是我国人群主要死亡原因之一,而对其中心律失常,尽管其发生机制、诊断技术和治疗方法已有了较大进展,但由于消融术等方法有一定的适应症和条件限制^(1,2),而抗心律失常西药的致心律失常作用已被人们所认识^(3,4),所以抗心律失常中药的研究已经也应该被重视。中药复方定心方(DXR)是我校中医系的经验方,对室性早搏有较好的临床疗效⁽⁵⁾,为进一步探讨其作用机理,我们进行了一系列的实验研究,现将部分实验结果报告如下。

材料与方法

1 动物 雄性新西兰兔,体重2~3kg,由第一军医大学实验动物中心提供。

2 药品与试剂 DXR煎剂由苦参、黄连、酸枣仁、三七、赤芍、丹参等10味药组成,经水煎浓缩供实验用。盐酸普萘洛尔(心得安)由汕头金石制药总厂出品。SOD-1放射免疫测定盒由上海长征医学科学有限公司提供。cAMP¹²⁵I放免测定盒由INCSTAR Corporation-Stillwater, Minnesots, USA制造。

3 主要仪器 日立JEM-1200EX透射电镜,日本光电RM-6000生理记录仪,成都NE-1型锥板式粘

* 国家中医药管理局科研基金重点课题(No. 95B154)

第一军医大学中医系(广州 510515)

度计,上海 682-γ 闪烁计数器, XD-30c 三道心电图机,日本岛津 RF-510 荧光分光光度计等。

4 方法 上述动物 34 只中 2 只作为正常组供电镜观察对照之用,其余 32 只随机均分 4 组,每组 8 只。定心方大剂量(DXR 大量)组每兔灌服定心方浓缩煎剂 10ml/kg,每毫升相当于生药 1.13g;定心方小剂量(DXR 小量)组每兔灌服定心方浓缩煎剂 10ml/kg,每毫升相当于生药 0.565g,阳性对照组每兔灌服心得安 1.185mg/kg,阴性对照组每兔灌服同体积蒸馏水,连续 3 天。末次给药后 1h 以戊巴比妥钠 30mg/kg 耳静脉注射麻醉。固定描记心电图后,开胸(不破坏胸膜)于冠状动脉前降支根部(离冠状动脉出口 3~5mm)处和根部下约 5mm 处双重结扎前降支,造成心肌梗塞,观察心律失常发生情况及 ST 段变化。15min 后松开丝线,恢复冠脉灌注,观察记录即刻、5、10、15min 的心律失常情况及 ST 段变化。然后心脏取血检测全血粘度,血浆和血小板去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT),血清超氧化物歧化酶(SOD)及 cAMP 值,取丝线结扎下缘左心室肌,切成 1mm × 1mm 小块,置固定液中。经包埋切片、染色后,使用日立 JEM-1200EX 透射电镜观察心肌细胞超微结构。

5 统计学处理 计数资料用 χ^2 检验,计量资料用 t 检验。

结 果

1 对兔冠脉双结扎造成心肌梗塞后心律失常的拮抗作用 家兔冠脉双结扎造成心肌梗塞后除定心方大剂量组外,其余各组均有心律失常发生,定心方小剂量组的心律失常持续时间要短于对照组,说明定心方

对缺血性心律失常有较好的拮抗作用,见表 1。

2 对家兔心肌缺血再灌注诱发心律失常的影响 当松开结扎丝线恢复冠脉灌注后,阴性对照组即有 5 只发生室性早搏,心得安组有 2 只发生室性早搏,而定心方大、小剂量组无 1 例发生室性早搏,与阴性对照组比较, $P < 0.05$ 。心律失常总发生率也以定心方大、小剂量组为最低($P < 0.01$),表明定心方对缺血再灌注心律失常也有较好的拮抗作用,见表 1。

3 对兔冠脉双结扎后心电图 ST-T 抬高的影响 家兔冠脉双结扎后大多立即出现 ST-T 抬高的心肌缺血和损伤反应,但与阴性对照组比较,其余 3 组 ST-T 抬高程度较轻($P < 0.05$),说明心得安和定心方均有对抗家兔冠脉结扎后心肌缺血和损伤反应,而这种作用以定心方大剂量组尤为显著,见表 2。

4 对家兔心肌缺血再灌注后心电图 ST-T 抬高的影响 见表 2。家兔心肌缺血再灌注后心电图 ST-T 抬高仍以阴性对照组明显,而定心方大剂量组在各时间段均较对照组低($P < 0.05 \sim 0.01$),表明定心方有较好的对抗家兔心肌缺血再灌注的心肌损伤作用。

5 对心肌缺血再灌注后血清 SOD-1、cAMP 的影响 见表 3。家兔心肌缺血再灌注后的血清 SOD-1 浓度从高到低依次表现为定心方大剂量组 > 定心方小剂量组 > 心得安、阴性对照组;而 cAMP 含量则 3 组均低于阴性对照组。

6 对血液流变学的影响 检测心肌缺血再灌注后全血粘度的结果为:低切($19.2s^{-1}$)粘度(mPa·s)对照组、心得安组、定心方大剂量组、定心方小剂量组依次为 10.58 ± 3.63 、 6.46 ± 2.15 、 3.96 ± 0.86 、 4.29 ± 1.03 ,高切($192s^{-1}$)粘度各组依次为 4.66 ± 1.12 、

表 1 家兔冠脉结扎后心肌缺血及再灌注诱发心律失常情况

组别	n	冠脉结扎后心律失常					心肌缺血再灌注后心律失常					
		室早	室速	传导阻滞	总发生率	持续时间	室早	室速	传导阻滞	总发生率	持续时间	停搏死亡
		[例(%)]				(min)	[例(%)]				(min)	[例(%)]
阴性对照	8	6(75.0)	0(0)	2(25.0)	7(87.5)	11.0 ± 4.6	5(62.5)	1(12.5)	2(25.0)	7(87.5)	8.6 ± 5.1	3(37.5)
心得安	8	3(37.5)	1(12.5)	1(12.5)	4(50.0) [△]	6.0 ± 5.2	2(25.0)	0(0)	0(0)	2(25.0)*	3.0 ± 0	1(12.5)
DXR 大量	8	0(0)**	0(0)	0(0)	0(0)**	0	0(0)*	0(0)	0(0)	0(0)**	0	0(0)
DXR 小量	8	2(25.0)	0(0)	1(12.5)	3(37.5)	$2.3 \pm 2.3^*$	0(0)*	1(12.5)	1(12.5)	1(12.5)**	14.5 ± 0	1(12.5)

注:与阴性对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 DXR 大量组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

表 2 家兔冠脉结扎和心肌缺血再灌注后引起 ST-T 抬高情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	冠脉结扎引起 ST-T 抬高(mv)				心肌缺血再灌注后 ST-T 抬高(mv)			
		即刻	5min	10min	15min	即刻	5min	10min	15min
阴性对照	8	0.131 ± 0.075	0.113 ± 0.088	0.113 ± 0.088	0.106 ± 0.078	0.131 ± 0.084	0.106 ± 0.094	0.120 ± 0.104	0.110 ± 0.082
心得安	8	$0.069 \pm 0.026^*$	0.069 ± 0.037	0.050 ± 0.027	$0.044 \pm 0.018^{*△}$	0.069 ± 0.026	$0.069 \pm 0.037^△$	$0.056 \pm 0.018^{△△}$	$0.036 \pm 0.024^*$
DXR 大量	8	$0.063 \pm 0.023^*$	0.056 ± 0.018	$0.025 \pm 0.027^*$	$0.019 \pm 0.026^{**}$	$0.056 \pm 0.018^*$	$0.025 \pm 0.027^*$	$0.019 \pm 0.026^*$	$0.013 \pm 0.023^{**}$
DXR 小量	8	$0.069 \pm 0.026^*$	0.075 ± 0.060	$0.075 \pm 0.060^△$	0.044 ± 0.042	0.069 ± 0.065	0.050 ± 0.071	0.044 ± 0.056	$0.031 \pm 0.046^*$

注:与阴性对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 DXR 大量组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

表 3 对心肌缺血再灌注后血清 SOD-1、
cAMP 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD-1(ng/ml)	cAMP(nmol/L)
阴性对照	8	613.31 ± 367.52	389.29 ± 210.79
心得安	8	1198.00 ± 1154.95 ^{△△}	194.71 ± 32.75 [*]
DXR 大量	8	3355.25 ± 391.66 ^{**△}	181.71 ± 71.67 [*]
DXR 小量	8	2650.81 ± 423.05 ^{**△}	185.44 ± 61.88 [*]

注:与阴性对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 DXR 大量组比较, $\Delta P < 0.01$;与 DXR 小量组比较, $\Delta P < 0.01$

3.46 ± 0.95、2.07 ± 0.80、2.79 ± 0.52, 均以定心方组为低($P < 0.01$), 表明定心方有明显的降低全血粘度作用, 且作用强于心得安。

7 对 NE、DA、5-HT 的影响 对进行心肌缺血再灌注后的家兔分别检测血浆和血小板中的 NE、DA、5-HT 含量, 结果心得安, 定心方大、小剂量组的 NE、DA 均低于阴性对照组, 5-HT 含量则以定心方大、小剂量组较低。见表 4。

8 心肌细胞超微结构观察 正常心肌:肌原纤维走向正常, 肌横纹清楚, 间有大量线粒体, 脊清楚可见, T 管清楚, 核内可见少量溶酶体。阴性对照组:肌原纤维走向正常, 肌横纹较模糊, 线粒体脊模糊不清, 基质淡(脱基质)甚至空泡化, T 管增大, 溶酶体明显增多, 说明心肌细胞损伤较重。定心方大剂量组:肌原纤维走向正常, 肌横纹清楚, 线粒体脊清楚, 比对照组好, 无空泡化, T 管清楚, 可见少量溶酶体, 表明心肌细胞未受损伤。定心方小剂量组:肌原纤维走向正常, 肌横纹较清楚, 线粒体脊多数清楚可见, 少量模糊, 有少量脱基质现象, 可恢复, T 管稍扩张, 溶酶体稍增多, 表明心肌细胞轻度损伤。心得安组:肌原纤维走向正常, 肌横纹清楚, 线粒体脊清楚可见, T 管清楚, 可见少量溶酶体, 表明心肌细胞基本未受损伤。

讨 论

1 室颤等心律失常是心肌梗塞患者猝死的主要原因。心肌梗塞后及早恢复冠脉灌注又是治疗心肌梗塞的根本方法, 然而由此引发的心律失常、猝死, 又是人们所顾虑的问题。如何能有效地阻止心肌梗塞和再灌注的心律失常, 降低心肌梗塞及再灌注所致的猝死,

表 4 各组对 NE、DA、5-HT 影响的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血浆($\mu\text{g/L}$)			血小板($\text{ng}/10^9$)		
		NE	DA	5-HT	NE	DA	5-HT
阴性对照	8	195.4 ± 6.4	241.4 ± 26.9	184.7 ± 47.9	286.9 ± 48.1	328.0 ± 39.1	488.9 ± 87.7
心得安	8	142.7 ± 7.2 ^{**△△}	134.2 ± 43.5 ^{**△△△}	161.8 ± 35.8 ^{△△}	228.7 ± 36.4 ^{*△△}	184.1 ± 40.2 ^{**△△△}	436.8 ± 119.7 ^{△△}
DXR 大量	8	109.1 ± 14.2 ^{**}	80.2 ± 13.5 ^{**}	89.2 ± 38.0 ^{**}	154.1 ± 28.9 ^{**}	127.4 ± 20.5 ^{**}	240.0 ± 43.8 ^{**}
DXR 小量	8	156.7 ± 28.6 ^{**△△}	191.7 ± 25.4 ^{**△△}	134.6 ± 35.5 [*]	219.9 ± 56.4 ^{*△}	274.1 ± 38.5 ^{*△△}	320.4 ± 87.2 ^{**}

注:与阴性对照比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 DXR 大量组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与 DXR 小量组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

一直是大家所关注的问题。然而经过心律失常抑制试验(CAST), 服用恩卡胺或氟卡胺、莫雷西嗪等药物治疗心肌梗塞患者的心律失常, 病死率反而上升了⁽⁴⁾。而另有资料表明, 鉴于心肌梗塞患者血中儿茶酚胺增高的事实, 使用作为有调节植物神经功能的 β -受体阻滞剂心得安, 可减少心律失常的发生, 降低死亡率⁽⁷⁾。这些争议使我们不得不考虑中药在此方面有何作为? 定心方是我们这种思索和实践的主要成果之一。实验表明, 定心方能降低家兔冠脉结扎后缺血性心律失常的发生率, 减轻心肌缺血损伤程度, 且其作用优于心得安。而且定心方对缺血再灌注引起的心肌损伤、心律失常亦有较好的拮抗作用, 并且剂量较大时作用显著。这与临床治疗作用相吻合。

2 已有研究证明⁽⁶⁾, 心肌缺血时心肌细胞内第二信使 cAMP 堆积是心律失常的重要诱发因素。急性心梗出现严重心律失常时, 血浆 cAMP 浓度显著升高。通过腺苷酸环化酶(cAMP)依赖性蛋白激酶系统激活, 控制膜离子通道调节的磷酸化, 导致钙电导加强和钾电导降低, 使异位起搏点自律性提高。而且 cAMP 引起心律失常的原理与交感神经兴奋、血中儿茶酚胺增高有密切关系。儿茶酚胺可缩短动作电位时程和有效不应期, 增加各部心肌的动作电位时程和有效不应期的离散性, 并且也可提高异位起搏点的自律性。而再灌注引起心律失常则与以下五方面有关:(1)因原堆积的乳酸等代谢产物大量释出可致室颤阈降低和不应期缩短;(2) α 和 β 受体被激活;(3)cAMP 升高;(4)新的离子通道形成, 离子平衡失调, 局部电生理紊乱;(5)氧自由基 OFR 升高, 膜脂质过氧化, 影响了膜通透性和心肌电稳定性。而本实验表明定心方能升高有清除氧自由基 2 作用的 SOD 血清浓度, 而使 cAMP、NE、DA 的浓度降低, 说明定心方的抗心肌缺血及再灌注心律失常, 可能是通过清除氧自由基、调节细胞第二信使、抑制交感神经系统而实现的。

3 与上述机理有关的还有一个指标就是 5-HT, 其广泛分布于胃肠道、脾、血液和神经系统等组织。一般认为 5-HT 对心脏有正性肌力、正性频率作用。对家兔 5-HT 可激活支配兔心的 NE 能神经末梢上的 5-

HT₃ 受体, 释放 NE, 引起心率加快。而且 5-HT 可作用于心、脑、肾内 5-HT₄ 受体, 激活腺苷酸环化酶 cAMP, 升高细胞 cAMP 水平, 促进肾上腺分泌类固醇, 心率加快⁽⁷⁾。本实验显示血浆 5-HT 浓度两组定心方均低于对照组, 而心得安组则无此变化。此外, 5-HT 还是一种血小板激活剂, 能显著增强 ADP、TXA₂、凝血酶、胶原等的血小板聚集作用, 从而使血粘度增高。从全血粘度测定来看, 对照组从低切变速率到高切变速率粘度均较高, 心得安次之, 定心方小剂量组再次之, 定心方大剂量组为最低。说明定心方不但有通过调节 5-HT、NE 和 cAMP 机制拮抗心肌缺血及再灌注心律失常作用, 而且还有通过 5-HT 等机制降低血粘度, 改善血循环的作用。

4 从超微结构观察来看, 线粒体是细胞储存能量和供能的机构, 是细胞生物氧化功能的主要结构。当缺血缺氧时, 线粒体内膜通透性改变, Mg²⁺ - ATP 酶活性下降, 内室浓缩, 外室扩大, 脊紊乱, 出现凝聚、肿胀或水性变及空泡化。而预先给药情况下, 则上述改变明显减轻或不出现。说明定心方和心得安均有拮抗缺血缺氧对心肌细胞线粒体的破坏作用。溶酶体作为

细胞内的消化器, 当心肌缺氧缺血时可导致溶酶体活化, 膜脆性增加, 水解酶外逸, 因而导致细胞自溶和代谢紊乱。定心方也能通过抑制溶酶体活化作用和膜稳定作用, 从而发挥细胞保护作用。

参 考 文 献

1. Wellens HJJ, Pedro Brugada. Treatment of cardiac arrhythmias: when, how and where? JACC 1989;14(6):1417—1428.
2. 郭继鸿. 1994 中国医学科学进展. 心血管疾病. 中华医学杂志 1994;74(12):715.
3. Knoebel SB. Ventricular arrhythmias: why is it so difficult to find a pharmacologic cure? JACC 1989;14(6):1401—1416.
4. 邹建刚, 黄元铸. 抗心律失常药物的致心律失常作用. 中华心律失常学杂志 1998;2(1):52—55.
5. 贾钰华, 贾满盈. 定心丸治疗室性早搏 65 例临床疗效观察. 中国中医药科技 1998;5(1):49—50.
6. 林曙光, 郑广华, 段小贝. 细胞信号转导系统基础医学与临床. 天津: 天津科学技术出版社, 1996:297—298.
7. 陈修, 陈维洲, 曾贵云. 心血管药理学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1997:452, 202—204.

(收稿:1998-12-29 修回:1999-07-26)

新生儿急性朱砂中毒 10 例

孙爱荣 黄玉强

1996~1998 年, 本院共收治 10 例新生儿急性朱砂中毒, 现报告如下。

临床资料 10 例患儿, 男 6 例, 女 4 例; 足月儿 7 例, 早产儿 3 例(胎龄 30~36 周); 日龄: 5~7 天 4 例, 8~12 天 6 例; 出生时体重: 1500~2500g 3 例, 2501~4000g 7 例; 母乳喂养 9 例, 牛奶粉喂养 1 例。应用朱砂原因: 易惊、夜啼 7 例, 吃奶差, 腹胀、大便干燥 2 例, 抽搐 1 例。全部患儿均为直接口服朱砂, 连用 5~7 天, 总量约 6.3~10g, 平均 6.5g。临床表现为拒乳、反应差 6 例, 腹胀、腹泻 4 例, 阵阵哭闹不安、易激惹 2 例, 口腔溃疡 1 例, 抽搐 1 例, 呼吸困难、血压下降 1 例, 尿少、浮肿 1 例, 洗胃、洗肠或排大便有朱红色样物 10 例, 大便潜血阳性 8 例, 血尿素氮升高(12.2mmol/L)1 例, X 线透视胃肠内存有阻光物 10 例, 尿汞检查含汞量均 >0.02mg/L, 有 1 例达 0.18mg/L。

治疗方法 6 例予 2% 碳酸氢钠液洗胃、洗肠, 洗胃后胃内注入母乳 10ml。全部患儿均予输液, 纠正水、电解质紊乱, 利

尿, 止血等综合治疗。5 例输血浆支持治疗, 2 例因 Hb 低(<80g/L)输新鲜全血(10ml/g 体重)2 次。除 3 例因病情转轻未用, 其余 7 例每次给予二巯基丙醇 2mg/g 体重, 肌肉注射, 第 1 天每 4h 1 次, 共 6 次; 第 2 天每 6h 1 次, 共 4 次; 第 3 天每 12h 1 次, 共 2 次; 以后每天 1 次, 用至临床症状、体征明显改善, 尿汞检测阴性, 疗程 4~8 天, 平均 5 天。

结 果 临床症状、体征完全消失, 尿汞检测阴性 8 例, 平均住院 16 天。死亡 2 例, 分别于入院后 12h、24h 死亡, 均为早产儿, 其中 1 例并发硬肿症, 蓄积较多, 中毒严重, 死亡原因为肺出血, 多器官功能衰竭(心、肾、脑)。

体 会 朱砂(HgS)属无机汞硫化物, 中医学认为可镇静安神, 服用过量或时间久者可发生汞中毒, 以肾脏含汞量最高。汞与体内巯基结合, 使许多具有重要生物活性的酶失去活性, 影响细胞功能, 造成多器官系统损害, 可致死亡。尤其新生儿, 肝肾功能不完善, 遇有发惊夜啼, 腹胀等症状应明确诊断, 予以相应治疗, 朱砂及含有朱砂的药物不宜应用, 更不能作为保平安药使用, 以防中毒发生。

(收稿:1999-01-20 修回:1999-03-17)