

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2010.06.004

红霉素减慢离体家兔窦房结的自律性

王俊杰 黄延红

(济宁医学院基础医学与法医学院, 山东 济宁 272067)

摘要 **目的** 研究红霉素对离体家兔窦房结自律性的影响。**方法** 用细胞内微电极技术记录并观察红霉素对家兔窦房结细胞慢反应动作电位的作用。**结果** 红霉素可使家兔窦房结细胞自律性兴奋频率(SHR)、慢反应动作电位4期自动除极速率(SDR)和0期除极最大速率(Vmax)明显减小,且效应具有剂量依赖性。0.3mmol/L的红霉素使SHR从对照组的 120.0 ± 5.8 beats/min减少到 99.2 ± 4.3 beats/min,减少17.2%($F=6.37, P<0.05$),SDR和Vmax分别减少24.9%和13.1%($F=10.84, P<0.05$ 和 $F=4.51, P<0.05$)。**结论** 红霉素可能主要通过减慢4期自动除极速率(SDR)而减慢窦房结的自律性。

关键词 红霉素;自律性;兔

中图分类号:R-37 **文献标志码**:A **文章编号**:1000-9760(2011)03-162-03

Erythromycin slowed autorhythmicity of the isolated rabbit sinus node

WANG Jun-jie, HUANG Yan-hong

(College of Basic and Forensic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To explore the effect of erythromycin on autorhythmicity of the isolated rabbit sinus node. **Methods** Intracellular microelectrode technique was used to investigate the effect of erythromycin on slow action potential of rabbit sinus node cell. **Results** Erythromycin reduced spontaneous heart rate (SHR), spontaneous depolarization rate of phase 4 (SDR) and maximal upstroke velocity of action potential (Vmax) in a dose-dependent manner. **Conclusion** Erythromycin may slow autorhythmicity of sinus node cell by reducing spontaneous depolarization rate of phase 4 (SDR).

Key words: Erythromycin, Autorhythmicity, sinus node

红霉素是一种相对安全的抗生素,大多数的不良反应并不威胁生命。最常见的副作用是胃肠道症状,包括恶心、呕吐、腹部痉挛和腹泻等^[1-2]。然而,近年来有关红霉素引起心律失常如尖端扭转性室速(Torsade de pointes, TdP)、心脏骤停甚至猝死的病例屡有报道^[2-4]。这引起临床医生的注意和重视。已有研究表明红霉素能导致心电图Q-T间期延长。Q-T间期延长是许多心血管和非心血管疾病的高危因子,可诱发TdP,甚至昏厥、猝死。而心率减慢是导致Q-T间期延长的原因之一。本文将观察红霉素对离体家兔窦房结细胞慢反应动作电位的影响,初步探讨其对心率的作用及机制,也为其诱发心律失常提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 兔窦房结标本制备及慢反应动作电位的记录

8~10周龄家兔(由上海交通大学医学院实验动物中心提供)10只,体质量2.5~3.0kg,雌雄不拘。制备带有部分右心耳组织的窦房结标本。标本固定于恒温(36 ± 0.5 °C)、恒流(3 ml/min)标本槽内,用充以100% O₂的台氏液(mmol/L: NaCl 140, KCl 5.4, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 1.0, HEPES 5.0和葡萄糖10, pH7.4)灌流。待标本自律性活动稳定后,用电阻为25 MΩ、内充3mol/L KCl的玻璃微电极作窦房结细胞内穿刺,记录慢反应动作电位^[5-6]。记录信号经放大器(MEZ. 8201, Nihon Kohden, Japan)放大后,经PowerLab(AD instruments, Australia)系统输入计算机储存。

1.2 药物溶液的配制

取出粉末状乳糖酸红霉素(粉针剂 1mg/瓶,

由上海第四制药公司购买),加入适量生理盐水,配制成实验所需浓度。乌拉坦溶液:将乌拉坦溶于生理盐水中,配成 20% 的溶液。

1.3 统计学方法

实验数据采用 SPSS13.0 进行统计分析。

2 结果

在家兔窦房结细胞动作电位记录中,依次在台氏液灌流液中加入不同浓度(0.01、0.03、0.1、0.3mmol/L)的红霉素后,约 5min 后起效,15 min 后效应达到最大。0.03mmol/L 红霉素可使自律性心率(SHR)和 4 期自动除极速率(SDR)减慢,0 期上升速率(Vmax)减小,动作电位幅值(APA)、最大复极电位(MRP)和阈电位(TP)均无显著性变化;而 0.3mmol/L 的红霉素则使 SHR 从对照组的 120.0±5.8 beats/min 减少到 99.2±4.3 beats/min,减少 17.2%,SDR 和 Vmax 分别减少 24.9%和 13.1%。用正常台氏液灌洗,可使以上指标基本恢复。图 1 是其中 1 例实验结果,窦房结动作电位各参数统计数据见表 1。

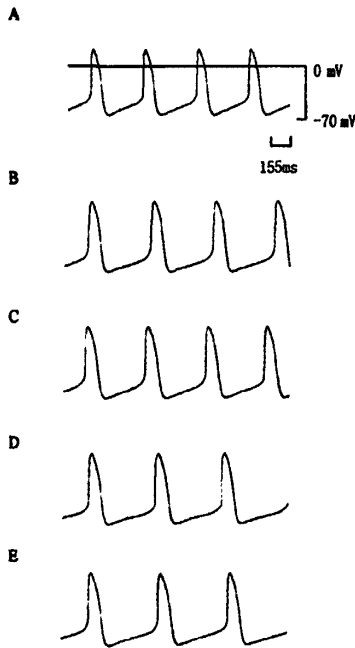


图 1 红霉素对家兔窦房结自发性动作电位的影响
A,对照;B,C,D 和 E,分别应用 0.01、0.03、0.1 和 0.3mmol/L 红霉素后,窦房结自发性心率浓度依赖性减慢。

表 1 红霉素对家兔窦房结细胞自发性动作电位的影响

	SHR(beat/min)	APA(mv)	MRP(mv)
对照	120.0±5.8	86.3±9.7	-64.9±6.2
0.01mmol/L EM	116.5±5.9	84.1±9.8	-62.6±5.5
0.03mmol/L EM	112.1±4.9*	84.8±9.6	-61.1±5.8
0.1mmol/L EM	104.3±4.7*	84.4±8.2	-61.7±6.6
0.3mmol/L EM	99.2±4.3*	85.9±9.9	-61.3±5.9
F	6.37	1.86	1.67
P	<0.05	>0.05	>0.05

	TP(mv)	Vmax(v/s)	SDR(mv/s)
对照	-52.5±5.9	9.9±0.7	66.8±4.7
0.01mmol/L EM	-50.8±5.1	9.8±0.8	62.6±4.8
0.03mmol/L EM	-51.9±4.8	9.5±0.5	60.5±5.3*
0.1mmol/L EM	-52.5±5.3	9.1±0.4*	54.2±4.7*
0.3mmol/L EM	-51.3±4.9	8.6±0.3*	51.7±4.9*
F	1.58	4.51	10.84
P	>0.05	<0.05	<0.05

与对照比较,*P<0.05 EM:红霉素

3 讨论

影响窦房结细胞自律性活动的因素有最大舒张电位(MRP),阈电位(TP)和 4 期自动除极速率(SDR)。实验结果显示,红霉素作用后,SDR 的减慢最为突出。0.3mmol/L 的红霉素对 4 期自动除极速率(SDR)抑制 24.9%,导致窦房结自律性心率减慢 17.2%。因此红霉素引起心率减慢可能主要与 4 期自动除极速率(SDR)减慢有关。窦房结细胞动作电位 4 期自动除极速率的形成机制包括 3 种离子流的作用:即内向钠离子流(If)的进行性增强、外向钾离子流(IK)的进行性衰减和内向钙离子流(T-Ca²⁺通道)。其中,内向 If 离子流的进行性增强发挥主要作用。红霉素减慢窦房结 4 期自动除极速率可能是其抑制了内向 If 离子流和/或 T-Ca²⁺离子流,抑或是增强外向 IK 离子流。而我们之前的研究已证明红霉素可以阻断 IK 离子流^[7]。由此,我们推测红霉素主要是通过阻断内向 If 离子流而减慢窦房结 4 期自动除极速率,从而减慢窦房结自律性。另外,窦房结细胞动作电位为慢反应动作电位,L-Ca²⁺通道开放所致的 Ca²⁺内流形成了 0 期除极,而实验中红霉素明显减小窦房结细胞的 0 期除极最大速率(Vmax),提示该药可能还有抑制 L-Ca²⁺通道的作用。这些推论还需要利用膜片钳技术进一步验证。

参考文献:

[1] Alvarez-Elcoro S,Enzler MJ. The macrolides, erythromycin, clarithromycin, and azithromycin[J]. Mayo Clin Proc, 1999,

74(6):613-634.

[2] Ray WA, Murray KT, Meredith S, et al. Oral erythromycin and the risk of sudden death from cardiac causes[J]. N Engl J Med. 2004, 351(11):1089-1096.

[3] Beier MT. Pharmacokinetic interaction and erythromycin-induced sudden cardiac death, implications for practice[J]. J Am Med Dir Assoc. 2005, 6(2):154.

[4] Milberg P, Eckardt L, Bruns HJ, et al. Divergent proarrhythmic potential of macrolide antibiotics despite similar QT prolongation, fast phase 3 repolarization prevents early afterdepolarizations and torsade de pointes[J]. J Pharmacol Exp T-

her, 2002, 303(1):218-225.

[5] 郑燕倩, 陈曙霞, 李慈珍, 等. 槐果碱的心脏电生理效应[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2008, 28(4):380-384.

[6] Wang HW, Zhen YQ, Yang ZF, et al. Effect of mexiletine on long QT syndrome[J]. Acta Pharmacol cSin, 2003, 24(4):316-320.

[7] 王俊杰, 朱宝亮, 朱苏红, 等. 红霉素的心脏电生理效应[J]. 医学综述, 2009, 15(09):1407-1409.

(收稿日期 2011-04-15)

(上接第 161 页)

2.8 加标回收率试验

分别精确称取山东肿足蕨药材 5g 于 5 个 250ml 的锥形瓶中;按供试品制备项下方法处理,由所得样品溶液中移取 2.00ml 溶液于 25ml 容量瓶中,精密量取对照品溶液 2.00ml,用乙酸乙酯定容,按显色方法项下方法进行显色,于 532 nm 波长处测定其吸光度。计算回收率。实验结果见表 3。平均回收率为 100.6%,RSD 为 1.1%。

表 3 回收率试验结果

样品含量 (mg/ml)	加入标准量 (mg)	测得含量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
0.7858	9.2	9.2276	100.3		
0.7745	9.2	9.2460	100.5		
0.7820	9.2	9.1900	99.89	100.6	1.1
0.7558	9.2	9.4300	102.5		
0.7670	9.2	9.1632	99.60		

2.9 样品的测定试验

分别精密称取 8 月份与 11 月份山东肿足蕨全草与叶子粉末 5g 各 3 份于 250ml 锥形瓶中,依次编号 1、2、3,按供试品制备项下方法处理,然后由提取分离所得的样品中分别移取 2ml 转移至 25ml 容量瓶中,按显色方法项下显色,以空白试剂为参比,于 532nm 处测吸光度。以标准曲线法计算含量,结果见表 4。

表 4 样品含量测定结果

药材	1 含量 (mg/g)	2 含量 (mg/g)	3 含量 (mg/g)	平均含量 (mg/g)
8 月份全草	1.5715	1.5227	1.6053	1.5678
8 月份叶子	1.7330	1.7105	1.7405	1.7293
11 月份全草	1.5227	1.4814	1.5002	1.5002
11 月份叶子	1.6729	1.6804	1.7067	1.6879

3 讨论

本文采用单因素试验及正交试验法考察了山

东肿足蕨中总三萜化合物的提取的最佳方案。确定料液比为 1:12,乙醇浓度为 70%,超声时间为 60min 为最佳提取条件。

试验中以 5% 香草醛-冰醋酸溶液,浓硫酸为显色系统,采用紫外分光光度法测定山东肿足蕨中总三萜化合物含量,显色剂为 5% 香草醛-冰醋酸和浓硫酸,此显色剂必须现配现用,而且在进行紫外测量时,全过程最好控制在 1h 之内,否则显色效果不好,会影响实验结果。

结果显示 8 月份山东肿足蕨中总三萜化合物含量要比 11 月份含量高,而且相同质量的叶中三萜化合物含量比全草的含量高,所以 8 月份采集山东肿足蕨要比 11 月份采集合适。

本试验为山东肿足蕨中总三萜化合物首次含量测定,为该植物的科学合理开发提供了理论依据。但是三萜化合物种类繁多,仅测定总三萜含量远远不够,有必要对其三萜化合物成分进行进一步的研究和开发。

参考文献:

[1] 凌秀珍,张鸿祺,刘善庭,等. 山东肿足蕨药理作用初步研究[J]. 济宁医学学报,1978,1(1):31.

[2] 凌秀珍,张鸿祺,刘善庭,等. 山东肿足蕨抗生育作用实验研究[J]. 济宁医学学报,1980,1(1):23.

[3] 王家英,张其楦. 山东肿足蕨对美尼尔氏综合征与胃神经官能症的治疗研究[J]. 济宁医学学报,1978,1(1):24.

[4] 山东肿足蕨抗生育作用研究协作组. 山东肿足蕨抗生育作用实验研究[J]. 济宁医学学报,1981,4(1):1.

[5] 刘梁,韩定献,周军,等. 三叶委陵菜根中三萜类化合物抗癌毒作用研究[J]. 时珍国医国药,2006,17(8):1484-1485.

[6] 罗俊,林志彬. 灵芝三萜类化合物药理作用研究进展[J]. 药学报,2002,37(7):574-578.

(收稿日期 2011-05-24)