

# 调脉饮及其拆方对快速心律失常大鼠心肌 L 型钙通道 mRNA 表达的影响

韩焱<sup>1</sup>, 秦田雨<sup>2</sup>, 刘红旭<sup>1\*</sup>, 孙文<sup>2</sup>, 戴梅<sup>1</sup>, 张大炜<sup>1</sup>, 魏执真<sup>1</sup>

(1. 首都医科大学附属北京中医医院, 北京 100010; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

**[摘要]** 目的:观察调脉饮全方及其拆方对快速性心律失常模型大鼠心电图及心肌 L 型钙通道(L-type calcium channels,LTCC)  $\alpha 1c$  亚基 mRNA 表达的影响。方法:把 60 只 Wistar 大鼠随机分成 6 组,每组各 10 只,分别为模型组,调脉饮全方组( $22\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),凉血清热组( $7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),行气通脉组( $7.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),益气养心组( $7.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )和西药组(胺碘酮, $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。除模型组外,每组按相应剂量分别灌胃给药 7 d。采用乌头碱舌下静脉注射造模,分别记录室性早搏、室性心动过速和室颤及死亡出现的时间,通过实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测和蛋白免疫印迹法(Western blot)测定各组心肌组织 LTCC $\alpha 1c$  亚基 mRNA 和蛋白表达情况。结果:与模型组比较,全方组、凉血清热组、胺碘酮组大鼠出现室性早搏时间均有延迟,其中全方组、胺碘酮组大鼠出现室性早搏时间延迟明显( $P < 0.05, P < 0.01$ );全方组、凉血清热组、胺碘酮组出现室性心动过速时间明显延迟( $P < 0.05$ );全方组、凉血清热组、胺碘酮组出现室颤时间明显延迟( $P < 0.05, P < 0.01$ );全方组、凉血清热组、胺碘酮组出现死亡时间明显延迟( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与模型组相比,全方组、凉血清热组、胺碘酮组大鼠心肌 LTCC $\alpha 1c$  亚基 mRNA 表达均有所降低,其中全方组和胺碘酮组与模型组相比有显著差异( $P < 0.05$ );与模型组比较,全方组、凉血清热组、胺碘酮组大鼠心肌 LTCC $\alpha 1c$  亚基蛋白表达均有所降低,有显著差异( $P < 0.01$ )。结论:调脉饮全方及其中凉血清热药具有抗实验性快速心律失常的作用,作用机制可能与干预心肌组织 LTCC mRNA 的表达水平有关。

**[关键词]** 调脉饮;拆方研究;快速性心律失常;凉血清热;L 型钙通道

**[中图分类号]** R2-0;R22;R25;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)20-0123-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182143

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180821.1559.003.html>

**[网络出版时间]** 2018-08-22 20:46

## Effect of Whole Prescription and Decomposed Recipes of Tiaomai Drink on mRNA Expression of L-type Calcium Channels in Tachyarrhythmia Model of Big Rats

HAN Yao<sup>1</sup>, QIN Tian-yu<sup>2</sup>, LIU Hong-xu<sup>1\*</sup>, SUN Wen<sup>2</sup>, DAI Mei<sup>1</sup>, ZHANG Da-wei<sup>1</sup>, WEI Zhi-zhen<sup>1</sup>

(1. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University,

Beijing 100010, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of the whole prescription and decomposed recipes of Tiaomai drink on the electrocardiogram changes of experimental tachyarrhythmia rats and the mRNA expression levels of  $\alpha 1c$  sub-units in L-type calcium channels (LTCC) of myocardium. **Method:** The 60 Wistar rats were randomly divided into the model group, Tiaomai drink whole prescription group ( $22\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), blood cooling and heat

**[收稿日期]** 20180407(005)

**[基金项目]** 北京市自然科学基金项目(7173261);北京中医药科技发展项目(QN2016-16);国家中医药管理局第五批全国名老中医药专家学术经验传承项目(国中医药人教函[2012]123号)(2012-2015);国家中医药管理局“全国名老中医药专家传承工作室”项目-魏执真名老中医工作室(2012-2016);北京中医药薪火传承“3+3”建设项目-魏执真名老中医工作站(2008-2013)

**[第一作者]** 韩焱,博士,副主任医师,从事中西医结合心血管基础及临床研究,Tel:010-52176633,E-mail:hanyao1212@126.com

**[通信作者]** \*刘红旭,主任医师,从事中西医结合心血管基础及临床研究,Tel:010-52176633,E-mail:lhx\_@263.net

clearing medicine group ( $7 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), Qi-regulating and blood flow promoting medicine group ( $7.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), Qi and heart tonifying medicine group ( $7.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), and western medicine group (amiodarone,  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Except those in model group, corresponding dose of medicines was given in other groups for 7 days. Sublingual intravenous injection of aconitine was used for modeling, and then the time to have ventricular premature beat, ventricular tachycardia, ventricular fibrillation and death was recorded respectively. Quantitative Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) and Western blot were respectively used to detect the mRNA and protein expression levels of LTCC $\alpha 1c$  sub-units in rat myocardial tissue. **Result:** As compared with the model group, there was a delay in ventricular premature beats in the whole prescription group, blood cooling group and the western medicine group, among which the time delay of ventricular premature beat was obvious in the whole prescription group and the western medicine group ( $P < 0.005$ ,  $P < 0.01$ ); the time of ventricular tachycardia was significantly delayed in the whole prescription group, blood cooling group and western medicine group ( $P < 0.05$ ); the time of ventricular fibrillation was significantly delayed in the whole prescription group, blood cooling group and western medicine group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); the death time was significantly delayed in the whole prescription group, blood cooling group and western medicine group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). As compared with the model group, the mRNA expression of myocardial LTCC $\alpha 1c$  was decreased in the whole prescription group, blood cooling group and the western medicine group, and the whole prescription group and the western medicine group were significantly different from the model group ( $P < 0.01$ ); the protein expression of myocardial LTCC $\alpha 1c$  was significantly decreased in the whole prescription group, blood cooling group and the western medicine group. **Conclusion:** The whole prescription as well as blood cooling and heat clearing medicine were effective for experimental tachyarrhythmia, and the mechanism may be related to the intervention on the mRNA expression level of the myocardial tissue L-type calcium channel.

**[ Key words ]** Tiaomai drink; decomposed recipe study; tachyarrhythmia; blood cooling and heat clearing; L-type calcium channels

室性心动过速等快速性心律失常临床危害严重,不仅加重原有的心脏病,还可能诱发猝死。我国每年心脏性猝死总人数约 500 余万例<sup>[1]</sup>,其中恶性心律失常是导致死亡的主要原因。但目前临床应用的抗心律失常药物疗效十分有限<sup>[2]</sup>。中医药治疗有药力缓和,药效稳定,毒副作用小的优势。

近期研究发现,致死性室性心律失常往往与心肌细胞内钙浓度异常增高(钙超载)从而影响了细胞结构和功能有关<sup>[3]</sup>。在心力衰竭、心肌缺血缺氧等各种病理状态下,可通过各种途径使细胞内钙离子增多,导致心律失常发生率增高<sup>[4,6]</sup>。心室肌细胞膜上以 L 型钙通道为主,而其中决定钙通道的电压依赖性以及药物敏感性的主要亚单位是  $\alpha 1$ 。钙超载的同时可以通过负反馈机制而降低 L 型钙通道基因的 mRNA 表达以减少钙离子内流。

国家级名老中医魏执真教授经过多年临床实践,研制出中药复方制剂调脉饮,以凉血清热、养心益气、行气通脉为法,既往临床研究证实,调脉饮明显缓解快速性心律失常患者的临床症状,改善中医证候<sup>[7]</sup>;动物模型层面研究提示调脉饮全方组与凉

血清热药组具有抗快速性心律失常的作用,凉血清热法在快速性心律失常治疗中是关键治法<sup>[8]</sup>;对心肌缺血再灌注所致心律失常有保护作用,其作用机制可能与抑制脂质过氧化,减少自由基损伤有关<sup>[9]</sup>;调脉饮全方组与凉血清热药组可能是通过增强  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATP}$  酶和  $\text{Ca}^{2+} \text{-Mg}^{2+} \text{-ATP}$  酶的活性,降低心肌胞浆  $\text{Ca}^{2+}$  浓度,减轻  $\text{Ca}^{2+}$  超载而发挥抗心律失常作用。本实验采用实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)和蛋白免疫印迹法(Western blot)技术,观察调脉饮全方及其拆方各组对快速心律失常大鼠心电图的变化,以及大鼠心室肌组织 L 型钙通道(L-type calcium channels, LTCC)  $\alpha 1c$  亚基 mRNA 和蛋白表达水平的干预影响,提高对调脉饮复方配伍规律的认识。

### 1 材料

**1.1 动物** Wistar 大鼠共 60 只,雌雄各半,SPF 级,体质量( $280 \pm 20$ ) g。由军事医学科学院提供[合格证号 SCXK(军)2012-0004]。本研究经首都医科大学实验动物伦理委员会批准。

**1.2 药物与试剂** 中药饮片由首都医科大学附属

北京中医医院药剂科提供。调脉饮全方(丹皮、赤芍、黄连、太子参、麦冬、五味子、香附、香橼、丹参、川芎)、凉血清热组(丹皮、赤芍、黄连)、益气养心组(太子参、麦冬、五味子)、行气通脉组(香附、香橼、丹参、川芎)。各组药材均按照原用量比例,加水浸泡 1 h,加热煎煮 2 次,滤过后合并水煎液,并浓缩至实验用量。实验用量根据临床等效剂量换算,全方组大鼠剂量  $22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;凉血清热组大鼠剂量  $7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;行气通脉组和益气养心组大鼠剂量  $7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。乌头碱(成都普瑞法科技开发有限公司,批号 PRF7033041,乌头碱溶液的配制方法:精确称取乌头碱 2 mg,加入少量稀盐酸,加蒸馏水至 100 mL,调 pH 7.0,配成质量浓度为  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司,批号 1010N0310);可达龙[盐酸胺碘酮片,赛诺菲(杭州)制药有限公司,批号 2A13819];trizol(美国 Ambion 公司,批号 47313);GoScript<sup>®</sup> Reverse Transcription System, GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master Mix(美国 Promega 公司,批号分别为 0000231533, 0000076581); $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin),LTCC $\alpha$ 1c mRNA 引物设计使用 Primer5.0 软件设计,中美泰和生物技术(北京)有限公司合成, $\beta$ -actin 上游引物 5'-AGGCCCTCTGAACCT AAG-3',下游引物 5'-TGCCACAGGATTCATACCC-3',引物长度为 42 bp;LTCC $\alpha$ 1c 亚基上游引物 5'-TCTTCAGCCCAAACAACAGG-3',下游引物 5'-GAGATGAGGGACACGCTAACC-3',引物长度为 39 bp;RIPA 蛋白裂解缓冲液,分离胶缓冲液,浓缩胶缓冲液,过硫酸铵,TEMED,电转移缓冲液,电泳缓冲液,TBS 缓冲液,TBS-T 漂洗液(北京普利莱基因技术有限公司,批号分别为 C1053, B1004, B1003, A1004, A1006, B1028, B1005, B1004, B1009);30% 丙烯酰胺(北京索莱宝科技有限公司,批号 20160708);Marker(美国 Bio-Rad 公司,批号 161-0374);PVDF 膜(德国默克公司,批号 R7HA4297C);ECL 化学发光试剂, $\beta$ -actin 抗体,LTCC $\alpha$ 1c 抗体(美国 Proteintech 公司,批号分别为 B2201702, 66009-1, 21774-1-AP)。

**1.3 仪器** FX-7202 型多道自动分析心电图机(北京福田电子医疗仪器有限公司);3K15 型高速低温离心机(美国 Sigma 公司);DZKW-4 型恒温水浴箱(北京中兴伟业仪器有限公司);NanoDrop2000C 型核酸紫外分光光度计,ABI 7500 型 Real-time PCR 仪(美国 Thermo Fisher 公司);043BR38439 型稳压稳流电泳仪,552BR143920 型垂直电泳槽,221BR48203 型半干

转电转印仪,721BR06231 型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

## 2 方法

**2.1 动物分组** 将大鼠按照性别不同用随机数字表法分为 6 组,分别为模型组、调脉饮全方组、凉血清热组、益气养心组、行气通脉组、西药胺碘酮组,每组 10 只。按上述受试药物给药剂量给予相应药物(胺碘酮组剂量为  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),胺碘酮组给予胺碘酮  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,给药体积均为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,模型组给予等量生理盐水,灌胃给药 7 d。

**2.2 造模、记录心电图** 将大鼠用 0.4% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,仰卧位固定,并且记录 II 导心电图。5 s 内快速由舌下静脉按  $2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  迅速注入乌头碱溶液<sup>[8-9]</sup>。实时监测心电图,出现心律失常后用秒表分别记录室性早搏(ventricular premature beat, VPB),室性心动过速(ventricular tachycardia, VT)和室颤(ventricular fibrillation, VF)及死亡(cardiac arrest, CA)出现的时间。心律失常消失恢复窦性心律 300 s 以上或出现死亡后停止记录。

### 2.3 动物处理和指标检测

**2.3.1 标本采集** 记录完各组心电图,开胸并充分暴露大鼠心脏,剪取心尖搏动位置的左心室心肌组织 200 ~ 300 mg,用 0.9% 氯化钠溶液洗掉血液,装入无酶水处理的冻存管后放入液氮中速冻,  $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  低温冰箱保存待检。

**2.3.2 Real-time PCR 检测大鼠心肌 LTCC $\alpha$ 1c mRNA 的表达** 以 trizol 法提取大鼠心肌总 RNA,以 GoScript<sup>™</sup> Reverse Transcription System 试剂盒反转录,退火  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  5 min,延伸  $42 \text{ }^{\circ}\text{C}$  1 h,灭活  $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  15 min,得到 cDNA。cDNA 稀释液 2  $\mu\text{L}$  加入 GoTaq 反应液 10  $\mu\text{L}$  中, Nuclease-Free Water 7.2  $\mu\text{L}$  和引物 0.8  $\mu\text{L}$  进行混合后,装入 PCR 仪中反应,反应条件为  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  10 min,  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  15 s,  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  1 min(共 40 次循环);  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  15 s,  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  15 s 溶解。最后,应用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  相对定量法来检测各样本 mRNA 的表达情况。

**2.3.3 Western blot 检测大鼠心肌 LTCC $\alpha$ 1c 蛋白的表达** 将大鼠心肌组织加入预冷的 RIPA 蛋白裂解液,在冰上孵育 30 min,以  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$   $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  离心 30 min。离心后取上清,并加入上样缓冲液,  $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$  进行蛋白变性 5 min。上样以每孔加入 12.5% SDS-PAGE 凝胶 20  $\mu\text{g}$ , 100 V 电泳 2 h,预处理 PVDF 膜及滤纸,以半干法凝胶转膜,100 A 2 h,在 TBS 溶液洗膜 15 min,将膜完全浸没封闭 30 min,一抗按

1:1 000 比例稀释,4 ℃ 孵育过夜, TBST 洗膜后二抗 (1:1 万) 室温孵育 1 h。洗膜后放入显影液中显影、定影,扫描用 IPP 软件对扫描图象的目的条带进行灰度分析。

**2.4 统计学处理** 采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析,方差齐性采用 LSD 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 对乌头碱导致快速心律失常大鼠心电图的影响

表 1 调脉饮及其拆方对实验性快速心律失常大鼠心电图的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of whole prescription and dissection of Tiaomai drink on electrocardiogram changes of experimental tachyarrhythmia rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	VPB	VT	VF	CA
模型	-	18.13 ± 6.64	38.63 ± 11.98	81.03 ± 19.03	290.40 ± 54.13
全方	22	30.74 ± 14.55 <sup>2)</sup>	52.01 ± 9.49 <sup>1)</sup>	167.81 ± 57.06 <sup>2)</sup>	497.31 ± 105.47 <sup>2)</sup>
凉血清热	7	23.24 ± 11.37	50.81 ± 12.06 <sup>1)</sup>	153.23 ± 47.05 <sup>2)</sup>	443.32 ± 113.77 <sup>1)</sup>
益气养心	7.5	17.54 ± 7.69	38.63 ± 12.79	77.94 ± 26.86	308.60 ± 88.16
行气通脉	7.5	18.44 ± 7.62	39.92 ± 11.82	77.81 ± 48.03	308.53 ± 85.61
胺碘酮	0.1	29.10 ± 13.49 <sup>1)</sup>	50.74 ± 18.76 <sup>1)</sup>	157.30 ± 56.53 <sup>1)</sup>	499.10 ± 99.91 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2,3 同)。

**3.2 对乌头碱导致快速心律失常大鼠心肌 LTCC $\alpha$ 1c mRNA 的影响** 与模型组比较,全方组、凉血清热组、胺碘酮组大鼠心肌 LTCC $\alpha$ 1c mRNA 表达降低,其中全方组和胺碘酮组与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表 2。

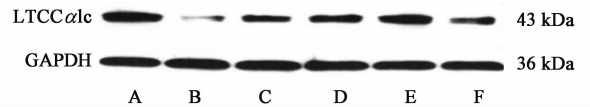
表 2 调脉饮及拆方对快速心律失常大鼠心肌 LTCC $\alpha$ 1c mRNA 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 2 Effect of whole prescription and dissection of Tiaomai drink on myocardial LTCC $\alpha$ 1c mRNA ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	LTCC $\alpha$ 1c
模型	-	1.21 ± 0.93
全方	22	0.44 ± 0.12 <sup>2)</sup>
凉血清热	7	0.69 ± 0.09
益气养心	7.5	1.10 ± 0.33
行气通脉	7.5	1.09 ± 0.35
胺碘酮	0.1	0.43 ± 0.10 <sup>2)</sup>

**3.3 对乌头碱导致快速心律失常大鼠心肌 LTCC $\alpha$ 1c 蛋白的影响** 与模型组比较,全方组、凉血清热组、胺碘酮组大鼠心肌 LTCC $\alpha$ 1c 蛋白表达均有所降低( $P < 0.01$ )。见图 1,表 3。

响 与模型组比较,全方组、凉血清热组、胺碘酮组大鼠出现 VPB 时间均有延迟,其中全方组、胺碘酮组大鼠出现 VPB 时间延迟明显( $P < 0.05, P < 0.01$ );与模型组比较,全方组、凉血清热组、胺碘酮组出现 VT 时间显著延迟,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,全方组、凉血清热组、胺碘酮组出现 VF 时间显著延迟,差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ );与模型组比较,全方组、凉血清热组、胺碘酮组出现 CA 时间均有显著延迟,差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 1。



A. 模型组; B. 全方组; C. 凉血清热组; D. 益气养心组; E. 行气通脉组; F. 胺碘酮组

图 1 大鼠心肌组织 LTCC $\alpha$ 1c 蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of LTCC $\alpha$ 1c protein expression in myocardial

表 3 调脉饮及拆方对快速心律失常大鼠心肌 LTCC $\alpha$ 1c 蛋白表达影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 3 Effect of whole prescription and dissection of Tiaomai drink on expression of LTCC $\alpha$ 1c protein in myocardial ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	LTCC $\alpha$ 1c
模型	-	0.93 ± 0.20
全方	22	0.30 ± 0.07 <sup>2)</sup>
凉血清热	7	0.53 ± 0.01 <sup>2)</sup>
益气养心	7.5	0.70 ± 0.05
行气通脉	7.5	0.80 ± 0.17
胺碘酮	0.1	0.46 ± 0.22 <sup>2)</sup>

### 4 讨论

调脉饮是魏执真教授临床治疗快速性心律失常

经验方。魏教授认为快速性心律失常的主要病机为心气阴虚,血脉不畅,瘀而化热<sup>[10]</sup>。致病的关键是“血热”,其必然环节为血脉瘀阻,而根本因素为心脏亏虚,三者相互影响,互为因果。调脉饮以养心益气、凉血清热、理气通脉为法则,凉血清热是其中的关键治法,用牡丹皮、赤芍以清血中瘀热、散血中瘀滞,佐以黄连凉血清热而厚肠。这是本方辨证组方的特色所在。

现代药理研究提示,调脉饮中凉血清热主药牡丹皮的有效成分丹皮酚能抑制心肌细胞的自律性,使后去极和触发活动得以延迟,从而抗心律失常<sup>[11]</sup>。丹皮酚对钙通道电流的阻滞作用是抗心律失常作用的主要机制<sup>[12]</sup>,丹皮酚对大鼠缺血性心律失常具有明显改善作用,并能降低心肌细胞 miRNA 的 mRNA 表达<sup>[13]</sup>。而调脉饮中芍药的主要有效成分芍药苷能抑制血小板聚集、改善微循环、抗氧化、扩张动脉、增加冠脉流量、保护急性缺血心肌及抑制心肌肥大<sup>[13-16]</sup>。芍药苷具有浓度依赖性,可以通过抑制大鼠心肌细胞的钙电流,对 LTCC 从失活状态的恢复起到延长作用<sup>[17]</sup>。

小檗碱为调脉饮中黄连的主要有效成分,能防治乌头碱、氯化钙、哇巴因、肾上腺素、电刺激以及冠状动脉结扎引起的实验性室性心律失常,抗乙酰胆碱、氯化钙诱发的房扑、房颤以及氯仿引起的室颤;并对临床多种原因引起的室上性以及室性心律失常均有效<sup>[18-21]</sup>。小檗碱对 L 及 T 型钙离子通道均有抑制作用<sup>[19-20]</sup>。

本研究根据复方制剂调脉饮中医辨证组方思路,以“凉血清热”为切入点,以组方药物的药性、功效为依据,将调脉饮拆分为凉血清热组、益气养心组、行气通脉组,观察全方及拆方各主要功效组对实验性快速心律失常的影响。

实验结果表明调脉饮全方及凉血清热组均可以延迟乌头碱诱发室性早搏的出现时间,其中全方组较为显著;全方组、凉血清热组均可以明显延迟乌头碱诱发室速、室颤和死亡出现时间。结果提示,凉血清热组在复方制剂调脉饮的组方中发挥了主要抗快速性心律失常的作用。

乌头碱所诱发的心律失常表现为室早、室速和室颤。有研究表明,乌头碱能够促使电压依赖型钠离子通道被永久激活,细胞膜去极化,心肌细胞不应期缩短,从而诱发心律失常<sup>[22-25]</sup>;可以促进心肌细胞膜的 LTCC 开放,增加钙离子内流,从而诱发心律失常<sup>[25-26]</sup>;可以通过上调 LTCC $\alpha$ 1c 亚基的 mRNA 表

达水平,从而使细胞内钙离子浓度增高,诱发心律失常<sup>[27]</sup>。进一步研究表明乌头碱可以影响心肌细胞中的钙调控蛋白,导致胞浆内钙信号的调控失调,破坏心肌细胞的钙稳态<sup>[28]</sup>;可以降低细胞活力,降低心肌细胞内  $Mg^{2+}$  和  $K^{+}$  浓度,升高  $Ca^{2+}$  和  $Na^{+}$  的浓度,降低  $Ca^{2+}$ -ATP 酶,  $Na^{+}$ -K-ATP 酶和  $Ca^{2+}$ - $Mg^{2+}$ -ATP 酶活力<sup>[29]</sup>。

实验结果表明,与模型组比较,调脉饮全方组、凉血清热组、胺碘酮组大鼠心室肌组织 LTCC $\alpha$ 1c 亚基 mRNA 的表达均有所降低,而其中全方组、胺碘酮组与模型组比较差异显著。说明调脉饮可能具有拮抗钙离子通道的作用,通过减轻细胞内钙超载的状态,而起到抗快速性心律失常的作用。清热凉血药物是调脉饮中起主要作用的药物,但与益气、通脉等药物在复方中配伍应用,存在一定协同作用,提高了抗心律失常疗效。而全方组和胺碘酮组比较无明显差异,说明两者拮抗钙离子通道的作用相当。

#### [参考文献]

- [1] 李庚山,李莉. 心脏猝死的防治建议[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志,2002,16(6):401-416.
- [2] 杨宝峰,蔡本志. 心律失常发病机制研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2010,37(2):81-88.
- [3] 范新荣. 心肌细胞内高钙引发心室肌电扰乱及心律失常[D]. 武汉:武汉科技大学,2009.
- [4] 曾秋棠,黄恺,祝武强,等. 颅痛定对单个豚鼠心室肌细胞缺氧后复氧早期 L-Ca 电流的影响[J]. 临床心血管病杂志,2001,17(5):215-217.
- [5] Pogwizd S M, McKenzie J P, Cain M E. Mechanism underlying spontaneous and in induced ventricular arrhythmias in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. Circulation, 1998, 98 (4): 2404-2414.
- [6] 刘丽平,杨琳. 心力衰竭的钙循环与室性心律失常的研究进展[J]. 世界核心医学期刊文摘:心脏病学,2005,1(5):13-16.
- [7] 魏执真,曹若楠,吴江丽,等. 调脉汤治疗快速性心律失常的研究[J]. 中国医药学报,1992,7(3):14-16.
- [8] 解欣然,易京红,王军,等. 调脉饮拆方抗心律失常作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):109-112.
- [9] 李红,牛欣,李国彰,等. 调脉饮注射液抗心律失常的实验研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(9):759-762.
- [10] 魏执真,谢欣然,李景,等. 调脉饮及拆方对实验性室性心律失常的作用和分子机制研究[J]. 中华中医药学刊,2017,35(12):2983-2986.

- [11] 陈江斌,唐其柱,黄从新,等.丹皮酚对心肌细胞自律性和延迟后除极的影响[J].中国应用生理学杂志,1999,15(4):332-334.
- [12] 王腾,唐其柱,江洪.丹皮酚对豚鼠心肌细胞动作电位及钙通道电流的影响[J].武汉大学学报:医学版,2001,22(4):331-333.
- [13] 张金花,熊永爱.丹皮酚对大鼠缺血性心律失常及其心肌细胞 miRNA-1 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(5):129-132.
- [14] Ohta H, Matsumoto K, Shimizu M, et al. Paeoniflorin attenuates learning impairment of aged rats in operant brightness discrimination task [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1994, 49(1): 213-217.
- [15] 张林,王停,杜守颖,等.芍药苷、薄荷脑对葛根素在 Calu-3 细胞模型转运过程中膜流动性、钠-钾离子 ATP 酶和钙离子 ATP 酶的影响[J].中国中药杂志,2018,43(4):731-735.
- [16] 刘和兰,莫丹,梁荣寿,等.芍药苷对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥大的抑制作用及其机制研究[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(16):88-92.
- [17] 张广钦,郝雪梅,陈世忠,等.芍药苷对大鼠心肌细胞 L 钙通道的阻断作用[J].中国药理学通报,2003,19(8):863-866.
- [18] 刘丹,曹广尚,司席席,等.黄连中生物碱类成分抗心律失常研究概述[J].山东中医杂志,2017,36(2):164-171.
- [19] 徐尚忠,张翼,任建英,等.小檗碱对豚鼠心室肌细胞 L-及 T-型钙离子通道的影响[J].中国药理学报,1997,18(6):515-518.
- [20] 司晓晨,R. Clinton Webb. 黄连素片对钙离子通道的拮抗作用[J].南京中医药大学学报,1996,12(6):20-22.
- [21] 魏婷,梁喆,金彦,等.小檗碱、莲心碱和甲基莲心碱对 HERG 通道表达的影响[J].中国中药杂志,2013,38(2):239-244.
- [22] Furukawa Y, XUE Y X, Chiba S, et al. Effects of zatebradine on ouabain, two-stage coronary ligation and epinephrine-induced ventricular tachyarrhythmias [J]. Eur J Pharmacol,1996,300(3):203-210.
- [23] Faber E M, Rudy Y. Action potential and contractility changes in  $[Na^+]_i$  overloaded cardiac myocytes: a simulation study[J]. Bio Phys J,2000,78:2392-2404.
- [24] Friese J, Gleitz J, Gutser U T, et al. Aconitum sp. alkaloids: the modulation of voltage-dependent  $Na^+$  channels, toxicitey and antinociceptive properties [J]. Eur J Pharmaeol,1997,337(2/3):165-174.
- [25] 刘影,单宏丽,孙宏丽,等.乌头碱对大鼠心室肌细胞包浆钙及 L-型钙电流的影响[C]//中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会.中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会五届一次会议论文集:2002卷.衡阳:中国动脉硬化杂志,2002:101-102.
- [26] 龚冬梅,单宏丽,周宇宏,等.哇巴因和乌头碱诱发豚鼠和大鼠心律失常的离子作用靶点[J].药学报,2004,39(5):328-332.
- [27] 董晞,赵世萍,刘岩,等.甘草苷对乌头碱致心肌细胞损伤的保护作用[J].中华中医药杂志,2009,24(2):163-165.
- [28] 付敏.乌头碱致心律失常的细胞分子机制的实验研究[D].北京:北京中医药大学,2007.
- [29] 张雪,赵炳祥,董艳红,等.人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 配伍乌头碱对新生大鼠心肌细胞 ATP 酶及相关离子的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(7):112-115.

[责任编辑 周冰冰]