

Ro 31-8220 对脂多糖诱导的肝细胞毒性及大鼠库普弗细胞释放肿瘤坏死因子的影响<sup>1</sup>

R975.5

林文, 张俊平, 胡振林, 冯增辉, 钱定华  
(第二军医大学药学院中西药研究室, 上海 200433, 中国)

关键词 Ro 31-8220; 库普弗细胞; 肝; 培养的细胞; 肿瘤坏死因子; 脂多糖; 丙氨酸转氨酶类

目的: 为探讨蛋白激酶 C 在脂多糖(LPS)诱导的肝细胞毒性中的作用, 研究蛋白激酶 C 抑制剂

Ro 31-8220 (Ro)对脂多糖诱导的大鼠肝细胞毒性以及对库普弗细胞(Kupffer Cell, KC)释放肿瘤坏死因子(TNF)的影响. 方法: 大鼠肝细胞(含 KC)以 LPS 刺激 24 h, 以肝细胞培养上清丙氨酸转氨酶(AlaA)活性评价肝细胞损伤. 大鼠 KC 培养上清的 TNF 活性以杀伤 L929 细胞结晶紫染色法测定. 结果: Ro 降低 LPS 诱导的大鼠肝细胞培养上清 AlaA 活性升高并抑制 LPS 诱导的库普弗细胞释放 TNF. 结论: Ro 拮抗 LPS 诱导的肝细胞毒性, 并抑制 LPS 诱导的 TNF 释放.

87-89

蜂毒素

离体心房

心脏作用

蜂毒素对大鼠离体心房的作用

R977.6

游育红, 黄自强, 李常春 (福建医科大学药理教研室, 福州 350004, 中国)

Effects of melittin on isolated rat atrium

YOU Yu-Hong, HUANG Zi-Qiang, LI Chang-Chun (Department of Pharmacology, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

KEY WORDS melittin; verapamil; calcium; myocardial contraction; heart rate

AIM: To study the effects of melittin (Mel) on rat heart. METHODS: The isolated rat atria were adopted. Before and after giving Mel, the heart rate, contraction of atrium, post-rest contraction and staircase were measured. RESULTS: Verapamil (Ver) 0.1  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  was found to inhibit heart rate in the right atria of rats increased by Mel 20.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . In left atria of rats, the post-rest contraction was inhibited and typical positive staircase was markedly attenuated by Mel 2.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Mel possessed negative inotropic effects on both the left and right atria of rats. CONCLUSION: Mel possessed negative inotropic and positive chronotropic actions on rat heart.

关键词 蜂毒素; 维拉帕米; 钙; 心肌收缩; 心率

目的: 研究蜂毒素(Mel)对大鼠心脏的作用. 方法: 采用大鼠离体心房, 测定给药前后心房率, 心收缩力, 左房休息后加强及阶梯现象. 结果: Mel 20.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对大鼠右心房产生正性频率作用, 可被 Ver 0.1  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 拮抗. Mel 2.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 抑制左心房休息后加强, 并使正性阶梯现象产生翻转. Mel 抑制左右心房收缩力. 结论: Mel 具正性频率作用和负性肌力作用.

Melittin (Mel)是蜂毒中的多肽之一, 占蜂毒干重 50%, 具抗炎、抗辐射, 抗关节炎及心血管药理作用. Marsh<sup>[1]</sup>发现其抑制心脏收缩, 在体动物, 其心脏毒性作用几乎消失, EKG 不变, 但作用机制未作进一步研究. 国内未见文献报道 Mel 的心脏作用. 本文旨在用大鼠离体心房, 进一步研究其对心脏的作用, 并探讨其作用机制.

MATERIALS AND METHODS

药品 Mel (福建农学院提取纯化, HPLC 纯化, 经 C18 反相柱层析为单峰); Mel 标准品 (Sigma); 卡托普利 (captopril, Cap; Sigma); 西米替丁 (cimetidin, Cim; 扬州制药厂); 维拉帕米 (verapamil, Ver; Orion-yhtyma Oy ORION PHARMACEUTICA Helsinki-Finland).

20

**动物** Wistar 大鼠, 雌雄兼用, 体重 250-300 g, 由上海动物研究所提供。

**仪器** LMS-2A 二道仪(成都仪器厂)。

**心房率及心房收缩力测定** 按文献<sup>[2,3]</sup>制备大鼠左右心房标本, 分别置于含 10 mL 台氏液中, 温度: 左房 31 °C, 右房 37 °C, 静息负荷: 左房 1 g, 右房 0.5 g, 稳定 1 h, 开始实验, 右房率及左右心房间肌收缩力用二道仪记录

**左心房阶梯现象及休息后加强测定** 按文献<sup>[4]</sup>测定给药前后的阶梯现象及休息后加强。以 0.5 Hz、3 ms、120 % 阈电压, 驱动左心房收缩, 用二道仪描记一段收缩基线, 停止刺激 30 s, 恢复刺激(0.5 Hz), 此时第一次收缩明显加强, 为休息后加强。逐渐增强刺激频率(0.5, 1, 2, 3 Hz), 随着刺激频率的增加, 收缩力明显加强, 此为阳性阶梯现象。

以 3 Hz 刺激的收缩幅度为 100 %, 计算给药前后相应频率收缩的百分率绘制曲线。同时, 以给药前每一频率刺激所产生的收缩力为收缩幅度的 100 %, 计算给药后相应频率收缩的百分率。

**RESULTS**

**Mel 对大鼠心房率及收缩力的作用** 浴槽中加入 Mel 20 mg·L<sup>-1</sup>, 对大鼠右心房率立即产生正性频率作用(Fig 1)。对大鼠右心产生负性肌力作用(Tab 1)。

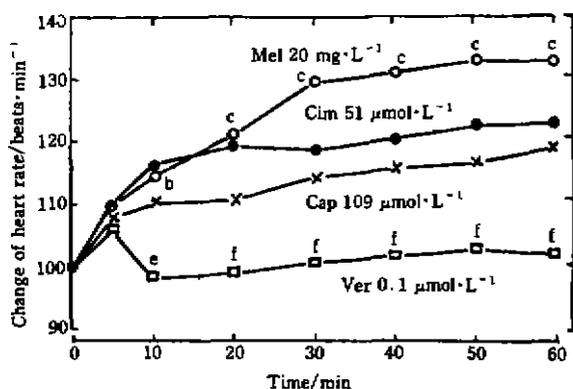


Fig 1. Antagonism by cimetidin (Cim) 51.0 μmol·L<sup>-1</sup>, captopril (Cap) 109.0 μmol·L<sup>-1</sup>, verapamil (Ver) 0.1 μmol·L<sup>-1</sup> of positive chronotropic effects induced by Mel 20.0 mg·L<sup>-1</sup>, n = 6,  $\bar{x} \pm s$ .  
<sup>b</sup>P < 0.05, <sup>c</sup>P < 0.01 vs control.  
<sup>d</sup>P < 0.05, <sup>e</sup>P < 0.01 vs Mel.

**西咪替丁、卡托普利、维拉帕米对 Mel 诱发心房率增加的影响** 浴槽中预先加入 Ver 0.1

Tab 1. Effects of Mel 20.0 mg·L<sup>-1</sup> on contraction of isolated right atria. n = 6,  $\bar{x} \pm s$ .  
<sup>a</sup>P > 0.05, <sup>b</sup>P < 0.05, <sup>c</sup>P < 0.01 vs control.

Time/min	Force of contraction/ % of control	Time/min	Force of contraction/ % of control
0	100	30	33.8 ± 24.3 <sup>c</sup>
5	41.5 ± 18.3 <sup>b</sup>	40	32.7 ± 25.3 <sup>c</sup>
10	34.0 ± 21.7 <sup>c</sup>	50	29.0 ± 26.5 <sup>c</sup>
20	34.4 ± 23.6 <sup>c</sup>	60	29.0 ± 22.6 <sup>c</sup>

μmol·L<sup>-1</sup> 5 min, Cim 51.0 μmol·L<sup>-1</sup> 10 min, Cap 19.0 μmol·L<sup>-1</sup> 5 min, 加入相同浓度的 Mel, 各药拮抗 Mel 正性频率作用在 10 min 出现, 30 min 达高峰(Fig 1)。

**Mel 对左心房阶梯现象及休息后加强的影响** Ver 0.1 μmol·L<sup>-1</sup> 和 Mel 2.5 mg·L<sup>-1</sup> 均使左心房正性阶梯现象转为负性阶梯现象(Fig 2, 3), 比较给药前后阶梯现象变化(Fig 2A)、比较给药后, 不

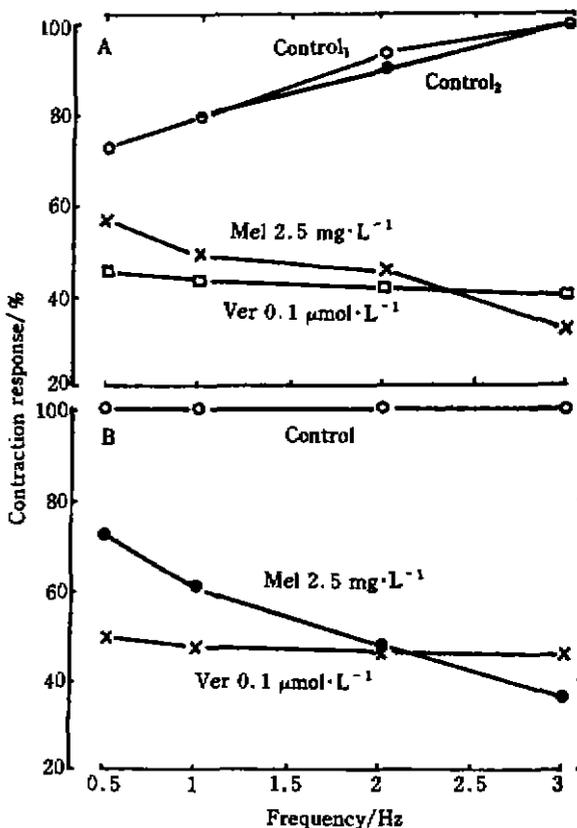


Fig 2. Effects of Mel 2.5 mg·L<sup>-1</sup> and Ver 0.1 μmol·L<sup>-1</sup> on the force-frequency contraction on the left atria of rats. n = 8.

同频率收缩的抑制大小(Fig 2B).

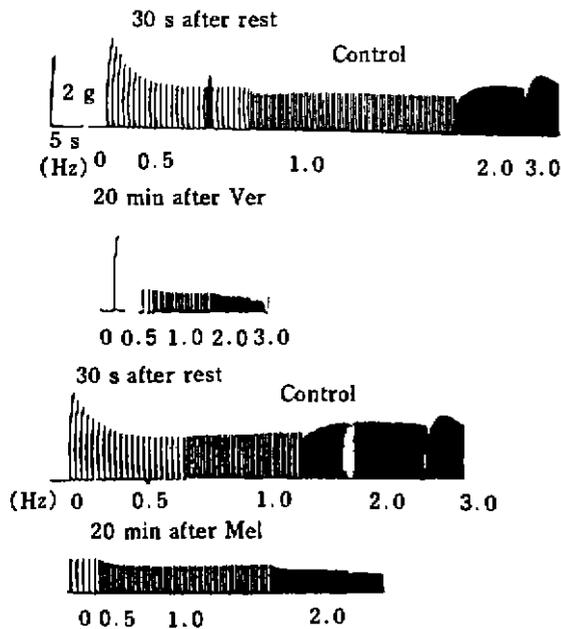


Fig 3. Effects of Mel  $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  or Ver  $0.1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  on the post-rest contraction staircase phenomenon of left atria of rats.  $n = 8$ .

## DISCUSSION

实验结果提示 Mel 的心房作用与其影响钙离子流动有关。Mel 对右心房的作用,提示 Mel 对心肌自律性细胞钙的内流起促进作用。左房正性阶梯现象,主要由细胞外钙进入细胞内增加所致<sup>[5,6,7]</sup>。Mel 作用与 Ver 相似,产生负性阶梯现象,提示 Mel 对心房工作心肌钙内流起抑制作用。休息后加强,主要由细胞内钙释放引起<sup>[3,8]</sup>, Mel 抑制休息后加强,提示 Mel 对心房工作心肌细胞钙内流起抑制作用。Mel 对右心房率,右心房收

缩力作用不同,提示 Mel 对心脏自律心肌及工作心肌细胞作用不同。

以上实验可见: Mel 具正性频率和负性肌力作用,可能与促进心脏自律细胞钙的内流,抑制工作心肌细胞钙的内流和释放有关,但 Mel 对细胞钙离子的影响仍需进一步证明。

## REFERENCES

- 1 Marsh NA, Whaler BC. The effects of honey bee (*Apis Mellifera*) venom and two of its constituents melittin and phospholipase A<sub>2</sub> on the cardiovascular system of the rat. *Toxicol* 1980; **18**: 427-35.
- 2 Levy JV. Isolated atrial preparation. In Schwartz A, editor. *Methods in pharmacology*; vol I. New York: Appleton-Century-Crofts Educational Division, 1971: 77-100.
- 3 Sun F, Li DX. Effects of L-tetrahydropalmatine on isolated guinea pig atria. *Chin Pharmacol Bull* 1989; **5**: 158-61.
- 4 Temna K, Akera T, Brody TM. Inotropic effects of digitoxin in isolated guinea-pig heart under conditions which alter contraction. *Eur J Pharmacol* 1981; **76**: 361-70.
- 5 Bayer R, Kaufmann HR, Mannhold R. Inotropic and electrophysiological actions of verapamil and D600 in mammalian myocardium. 11. Pattern of inotropic effects of the optical isomers. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1975; **290**: 69-73.
- 6 Bayer R, Kaufmann HR, Mannhold R. Inotropic and electrophysiological actions of verapamil and D600 in mammalian myocardium. 1. Pattern of inotropic effects of racemic compounds. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1975; **290**: 49-53.
- 7 Mccans JL, Lindenmayer GE, Munson RG, Evans RW, Schartz A. A dissociation of positive staircase (Bowditch) from ouabain-induced positive inotropism: use of verapamil. *Circ Res* 1974; **35**: 439-47.
- 8 Zhao DX, Zhao GS, Qiu PL. Comparison of L-tetrahydropalmatine with verapamil on the left auricle of guinea-pig. *Acta Pharm Sin* 1986; **21**: 407-10.