增加提示心肌细胞膜断裂或缺损处具备了酶释放的超微病理形态基础[10].

本实验研究表明 Sal 对缺氧后再给氧损伤心肌细胞具有保护作用. 超微结构观察提示其主要作用机制在于维持心肌细胞膜的稳定性与完整性，因而使心肌细胞的搏动功能维持正常，避免细胞内 LDH 释放. 此外，还观察到 Sal 作用效果与钙离子通道阻滞剂 Ver 相似. 有报道心肌缺血再灌注损伤的重要发病环节是细胞内 Ca^{2+} 超载所致[11]，因此，Sal 是否具有钙离子通道阻滞样作用，有待研究.

REFERENCES

1 Chen QM, Jiang P. Electron microscope study of the protecting effect of Hongjingtian (*Rhodiola eccinea*) ethanol extract on myocardium of rats. *High Altit Med J* 1987; (1) : 20—2.

2 Jiang P, Chen QM, Wu GM, Gao XF, Huang LC, Kou XC. Effect of *Rhodiola coccinea* of Tibetan drug on hypoxic tolerance. *Qinghai Sports Sci Tech* 1985; (2) : 18—26.

3 Ming GQ, Xia GC, Zhang RG. Advances of Hongjingtian study. *Chin Trad Herb Drugs* 1988; **19** : 229—31.

4 Li LD, Gao HY, Zhang JM, Li YO, Zhang J. Influences of "Tu Mao Dong Qing № II" (3,4-dihydroxyacephenone) on the beating of cultured heart cell of neonatal rat. *J Trad Chin Med* 1980; **21** (6) : 68—70.

5 Ye YC, Chen QM, Hai P, Chai FL, Zhou SX. Effect of *d*-hydrastine on the ultrastructure of experimental *Echinococcus granulosus* cyst in mice. *Acta Pharmacol Sin* 1989; **10** : 185—7.

6 Xu SK, Lactate dehydrogenase determination. In: Shanghai Medical Laboratory, editor. *Laboratory methods in clinical biochemistry*. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1979 : 314—21.

7 Hearse DJ. Enzyme release during myocardical anoxia: a study of metabolic protection. *J Mol Cell Cardiol* 1975; **7** : 463—9.

8 Zwier JL, Rayburn BK, Flaherty JT, Weisfeldt ML. Recombinant superoxide dismutase reduces oxygen free radical concentrations in reperfused myocardium. *J Clin Invest* 1987; **80** : 1728—33.

9 Rao PS, Cohen MV, Mueller HS. Production of free radicals and lipid peroxides in early experimental myocardical ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 1983; **15** : 713—6.

10 Ye YC, Chen QM, Long W, Ruan ZH. Comparative studies on myocardium structure and function in *Marmota himalayana* and rat. *Acta Theriol Sin* 1990; **10** : 197—202.

11 Pridjian AK, Levilsky S, Krukenkamp I, Silverman NA, Feinberg H. Intracellular sodium and calcium in the postischemic myocardium. *Ann Thorac Surg* 1987; **43** : 416—9.

426-429 (12)

BIBLID : ISSN 0253-9756 中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1993 Sep; **14** (5) : 426—429

美西律对海马脑片突触功能缺氧损伤的保护作用[1]

张雪松，王天佑 (北京市神经外科研究所病理生理室，北京100050，中国)

R 972.2

Protection of mexiletine against hypoxic damage of synaptic function in hippocampal slices

ZHANG Xue-Song, WANG Tian-You
(*Department of Pathophysiology, Beijing Neurosurgical Institute, Beijing 100050, China*)

Received 1991-10-22 Accepted 1992-12-24
[1] Project supported by the National Natural Science Foundation of China, № 3890353.

ABSTRACT The evoked population spike (PS) and presynaptic fiber volley (PV) were recorded from the CA1 area in rat hippocampal slices. At the 3rd min of hypoxia, the amplitude of PS declined to 0.4±0.4 mV in control slices whereas to 1.2±1.2 mV or 1.5±0.4 mV in slices pretreated for 1 h with mexiletine (Mex) 10 or 100 μmol·L^{-1}, respectively. Thirty min after reoxygenation the amplitude of PS recovered to 11.1% of its original level in control slices, but to 47.6% or 65.0% in slices pretreated with Mex 10 or 100

μmol·L^{-1} respectively. Thus Mex retarded the hypoxic declining of PS during hypoxia and accelerated the recovery of PS during reoxygenation. At normal conditions Mex 100 μmol·L^{-1} reversibly reduced the amplitude of PS and PV partially. Our results suggested that the inhibition of Mex on sodium current may play an important role in the mechanism of its protection against hypoxic damage.

KEY WORDS mexiletine; hippocampus; synaptic membranes; anoxia

摘要 记录大鼠海马脑片CA1区锥体细胞的群锋电位(PS)和突触前排放(PV)，缺氧3 min时对照组PS幅度下降至0.4±0.4 mV，而提前1 h灌流美西律(Mex) 10或100 μmol·L^{-1}组PS仅下降至1.2±1.2或1.5±0.4 mV. 复氧30 min后对照组PS恢复率为11%，Mex 10或100 μmol·L^{-1}组分别为48%和65%. 可见Mex减慢缺氧时PS下降过程，加速复氧时PS恢复过程，其机制可能与Na^+通道阻滞有关.

关键词 美西律；海马；突触膜；缺氧症

美西律(mexiletine，Mex)在抗心律失常药中属I_B类，它能阻止心肌缺血或缺氧时产生的心律失常[1,2]，对神经系统有局部麻醉[3]、抗癫痫[4]及镇痛作用[5]. 本实验室发现Mex能延长缺氧小鼠存活时间，减轻断头后脑组织的乳酸堆积，提示Mex对缺血脑组织有保护作用[6]. 本文选用海马脑片电生理方法，观察Mex对脑缺氧后及复氧早期突触功能的影响，以了解其脑保护机制.

MATERIALS AND METHODS

Wistar大鼠，200±s 32 g，♂，乙醚麻醉. 制备海马脑片，厚度约0.5 mm. 脑片温育1 h后开始实验[7].

实验采用半浸式浴槽，恒温34±0.5℃，缺氧时将半浸式浴槽中的O_2改为N_2. 刺激电极置于脑片Schaffer侧支路径上. 玻璃微电极置于CA1区锥体细胞层，记录刺激产生的群锋电位(population spike，PS)和突触前排放(presynaptic fiber volley，PV). 电信号经微电极放大器和前极放大器放大，经A/D转换板输入IBM PC/AT计算机，描绘电位幅度及测算有关时间值[7].

美西律盐酸盐由常州第三制药厂生产，批号900403. 实验时用人工脑脊液(ACSF)配成所需浓度.

实验数据以$\bar{x}$±s表示，用t或χ^2检验.

RESULTS

Mex对正常脑片PS和PV的影响 记录脑片PS和PV，稳定15 min后给以含不同浓度Mex的ACSF灌流1 h. Mex 1或10 μmol·L^{-1}对PS和PV的幅度与时延(delay)均无影响(n=3，P>0.05). Mex 100 μmol·L^{-1}分别使PS和PV的幅度下降37.1%，29.1%(P<0.05)，使PS和PV的时延增加7.7%，27.8%(n=4，P>0.05). Mex 300 μmol·L^{-1}完全抑制PS和PV. 以不含药物的ACSF冲洗1 h，上述抑制可完全消除(n=4，冲洗前后相比均P<0.01).

脑片缺氧后PS和PV的变化 以ACSF灌流的脑片，缺氧1－2 min时PS开始下降，并逐渐消失. 消失时间为2.8±0.8 min (n=37). 继续缺氧则PV下降，在8.1±0.8 min (n=5)时突然消失. PV消失2 min恢复给氧，全部脑片在1－3 min内PV均开始恢复，脑片的PS或是在复氧3－10 min时开始恢复，20 min时恢复到缺氧前电位水平的90%以上(2/18，n=18)，或是20 min时仍不能恢复(16/18，n=18)，即突触功能发生不可逆损伤. 在以下药物实验中均在PV消失2 min时恢复给氧[7].

Mex对缺氧脑片PS和PV的影响 以不含Mex的ACSF(对照组)或含有Mex 1，10或100 μmol·L^{-1}的ACSF灌流脑片1 h后，缺氧，观察缺氧过程中PS和PV的下降过程. 缺氧3 min时，对照组PS幅度下降至0.4±0.4 mV，Mex 10或100 μmol·L^{-1}组下降减慢，分别至1.2±1.2 mV (P<0.05)及1.5±0.4 mV (P<0.01) (Tab 1). 缺氧后PS减低至原电

位水平50%的时间随给药浓度增加而减慢，对照组2.2 ±0.4 min，Mex 100 μmol·L^{-1}，2.9 ±0.4 min ($P<0.05$)。缺氧至 PV 消失时间随给药浓度增加也有减慢趋势($P>0.05$)(Tab 2)。

恢复给氧后 PV 恢复时间随药物浓度增加有加快趋势($P>0.05$)。复氧30 min 后 PS 恢复率(恢复脑片数/脑片总数)给药组明显增高，Mex 10及100 μmol·L^{-1}组分别 $P<0.05$，$P<0.01$。给药浓度的对数值与脑片 PS 恢复率呈直线关系(Tab 2，Fig 1)。

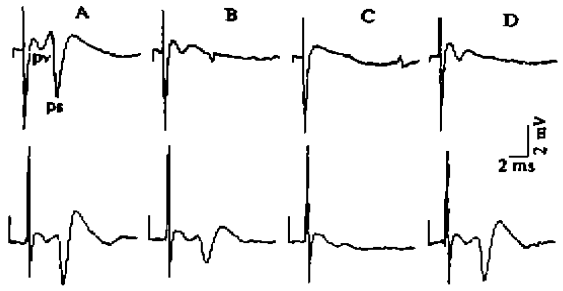

Fig 1. Representative tracings of PS and PV before hypoxia (A), doring early hypoxia (B), before reoxygenation (C), and 30 min after reoxygenation (D). Upper: ACSF; lower: ACSF+Mex 100 μmol·L^{-1}.

DISCUSSION

PV 反映 Schaffer 侧支神经纤维传导功能，PS 反映 Schaffer 侧支纤维与 CA1 锥体细胞顶树突间的突触传递功能。缺氧后 PS 先消失而复氧后 PS 后恢复，说明突触功能对缺氧有较高敏感性。Mex 能明显延缓缺氧时 PS 的幅度下降，增加复氧后 PS 恢复率，其有效浓度(10－100 μmol·L^{-1})相当于整体动物实验的缺氧保护剂量[6]，因而 Mex 对整体动物脑缺氧保护的机制之一可能是对突触功能的保护。

缺氧后 PV 的消失与细胞外 K^+ 浓度的急剧升高同时发生[8]。本文作者观察到，当缺氧

Tab 1. Amplitude of population spike (mV) during hypoxia. The hippocampal slices were pre-perfused with mexiletine for 1 h. $\bar{x}\pm s$. $^aP>0.05$, $^bP<0.05$, $^cP<0.01$ *vs* control.

Mexiletine/ μmol·L^{-1}	n	Time of hypoxia/min 0	1	2	2.5	3
0	11	4.6±1.3	4.6±1.3	2.3±0.9	0.8±0.6	0.4±0.4
1	3	3.9±0.5^a	3.8±0.5^a	3.5±0.2^b	2.4±2.2^b	1.0±1.0^a
10	5	3.0±1.3^a	2.9±1.5^a	2.6±1.6^a	1.8±1.0^b	1.2±1.2^b
100	5	4.0±2.1^a	4.2±2.2^a	3.5±2.5^a	2.3±1.9^b	1.5±0.4^c

Tab 2. Changes of population spike (PS) and presynaptic fiber volley (PV) after hypoxia and reoxygenation in the absence or presence of mexiletine (Mex). The hypoxia lasted 2 min after PV disappearance. $n=5$, $\bar{x}\pm s$. $^aP>0.05$, $^bP<0.05$, $^cP<0.01$ *vs* control.

Mex/ μmol·L^{-1}	Hypoxia: Time for PS to decay to 50%/min	Hypoxia: Time to PV disappearance/ min	Reoxygenation: Time for PV recovery/ min	Reoxygenation: Time for PS to 50% recovery/min	Reoxygenation: PS recovery/ %	Reoxygenation: Number of slices recovered/total
0	2.2±0.4	8.1±1.3	2.6±1.1	4.5±1.6	11.1	2/18
1	2.3±0.4^a	8.4±1.3^a	2.4±0.8^a	4.3±1.3^a	25.0	2/8^a
10	2.6±0.4^a	8.7±1.7^a	1.7±0.6^a	3.7±1.4^a	47.6	10/21^b
100	2.9±0.4^b	8.8±1.3^a	1.5±0.5^a	5.2±1.4^a	65.0	13/20^c

持续到 PV 消失后2 min 时 PS 即不能恢复[7]，这种突触功能不可逆损伤与缺氧后 K^+ 外流，Na^+ 和 Ca^{2+} 内流有关[9]. Mex 能够促进复氧后 PS 的恢复，而对 PV 的缺氧消失无显著影响，提示 Mex 的缺氧保护不是通过推迟 K^+ 外流所致.

Mex 抑制坐骨神经的动作电位[8]及电压依赖性 Na^+ 通道[10]. 较高浓度 Mex 对正常脑片 PS 和 PV 同时有抑制作用可能就是通过 Na^+ 通道阻滞作用. 本实验室用膜片钳全细胞记录方式观察大鼠背根神经节细胞 Na^+ 电流，发现 Mex 在5，25，150 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 时对 Na^+ 电流的抑制率分别是0%，55%，100%（待发表资料），由此推测本文所用浓度（10－100 $\mu mol \cdot L^{-1}$）Mex 对神经元 Na^+ 电流有部分抑制作用.

Mex 与利多卡因同属 I_B 类抗心律失常药[11]，本文报告的 Mex 缺氧保护作用及其对 PS 抑制的浓度均与利多卡因相似[12]. 因而，降低细胞膜 Na^+ 通透性可能是这类药物的脑缺氧保护的共同机制.

ACKNOWLEDGMENT　常州第三制药厂赠送美西律.

REFERENCES

1 Yoon MS, Han J. Electrophysiologic effects of mexiletine on normal and ischemic ventricles.
J Electrocardiol 1982; **15**: 109－14.

2 Amerini S, Carbonun P, Cerbai E, Giotti A, Mugelli A, Pahor M. Electrophysiological mechanisms for the antiarrhythmic action of mexiletine on digitalis-, reperfusion- and reoxygenation-induced arrhythmias.
Br J Pharmacol 1985; **86**: 805－15.

3 Singh BN, Vaughan Willams EM. Investigations of the model of action of a new antidysrhythmic drug, KO 1173.
Br J Pharmacol 1972; **44**: 1－9.

4 Alexander GJ, Kopeloff LM, Alexander RB, Chatterjie N. Mexiletine: biphasic action on convulsive seizures in rodents.
Neurobehav Toxicol Teratol 1986; **8**: 231－5.

5 Nishiyama K, Shimizu J, Takeda K, Sakuta M. Remarkable effect of class Ib Na channel blocker on painful alcoholic neuropathy.
Clin Neurol (Tokyo) 1990; **30**: 1140－2.

6 Dong LP, Wang TY, Xiu LX, Zhang L. The protective effect of mexiletine and phenytoin against hypoxia and cerebral ischemia in mice.
Chin J Neurosurg 1990; **6** Suppl: 26－8.

7 Zhang XS, Wang TY. Hypoxic injury time determined by the disappearance of presynaptic fiber volleys in hippocampal slices and an example of its application.
Chin J Appl Physiol 1992; **8**: 313－7.

8 Sick TJ, Solow EL, Roberts EL Jr. Extracellular potassium ion activity and electrophysiology in the hippocampal slice: paradoxical recovery of synaptic transmission.
Brain Res 1987; **418**: 227－34.

9 Hansen AJ. Effect of anoxia on ion distribution in the brain. *Physiol Rev* 1985; **65**: 101－48.

10 Courtney KR. Comparative actions of mexiletine on sodium channels in nerve, skeletal and cardiac muscle.
Eur J Pharmcol 1981; **74**: 9－18.

11 Manolis AS, Deering TF, Cameron J, Estes NA. Mexiletine: pharmacology and therapeutic use.
Clin Cardiol 1990; **13**: 349－59.

12 Lucas LF, West CA, Rigor BM, Schurr A. Protection against cerebral hypoxia by local anesthetics: a study using brain slices.
J Neurosci Methods 1989; **28**: 47－50.

《国外医学期刊投稿指南》出版

由乔汉臣、潘伯荣、刘雪立主编的《国外医学期刊投稿指南》一书已于1993年6月由天津科技翻译出版公司出版，是国内唯一的有关国外医学期刊投稿的工具书. 全书35万字，定价8.40元. 欲购者请汇款9.50元(含包装费及邮费)至 453003 河南省新乡市新乡医学院学报编辑部 刘雪立.