

蟾酥对豚鼠心脏电生理的影响

蒋洁君, 周 婧, 马宏跃, 吕高虹, 喻 斌, 段金廛, 张军峰, 詹 臻, 许惠琴
(南京中医药大学药学院江苏省方剂研究重点实验室, 江苏 南京 210046)

摘要:目的 探讨蟾酥对豚鼠心脏的急性毒性。方法 豚鼠一次性 ig 给予蟾酥 125 和 250 mg·kg⁻¹, 记录心电图并监测左心室内压力上升最大速率(dp/dt_{max}), 最大收缩压(P_{max}), 心率血压乘积(RPP)和心室最小舒张压(P_{min})。结果 蟾酥使豚鼠心电图发生显著改变;与正常对照组 P-R 间期(27.8 ± 5.1)ms 相比, 蟾酥 125 和 250 mg·kg⁻¹组显著延长, 分别为 44.5 ± 7.2 和(57.1 ± 8.9)ms(P < 0.01);蟾酥也引起心电图 QRS 时程增宽和心率加快;dp/dt_{max}, P_{max} 和 RPP 显著下降以及 P_{min} 显著升高(P < 0.05)。与阳性对照地高辛 300 mg·kg⁻¹ 相比, 蟾酥组 P-R 间期, QRS 时程, dp/dt_{max}, P_{max}, RPP 和 P_{min} 无显著性差异, 但心率显著增快(P < 0.01)。结论 蟾酥导致豚鼠心律失常和心功能下降。

关键词: 蟾酥; 心脏毒性; 心律失常; 心功能

中图分类号: R285.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)03-0307-03

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.03.017

蟾酥(Chansu, toad venom, *Venenum Bufonis* Cantor)是我国传统名贵中药,性味辛、温,具有清热解毒、消肿止痛和开窍醒神的功效,人日用剂量为 15~30 mg,治疗痈疽疔疮及其他无名肿毒(感染性疾病)外用、内服皆有良效。近年来临床还广泛用于心血管、肿瘤等疾病的治疗,疗效确切^[1-2]。蟾酥具有毒性,其所含活性物质蟾蜍甙(强心苷类)作用心脏可诱发心律失常。本课题组前期对蟾酥的量-效关系研究表明^[3],口服蟾酥抗炎的人体等效剂量(human equivalent dose, HED)为 9.8~39.2 mg·d⁻¹,抗肿瘤活性 HED 为 53.6~219.0 mg·d⁻¹,HED > 292.7 mg·d⁻¹ 则易产生毒性反应,说明其安全治疗范围窄。临床也有患者误服蟾酥 1.5, 3 和 6 g 引起心脏中毒而死亡^[4-5]。本研究以心电图和心功能为指标,观察了蟾酥对豚鼠心脏的毒性作用。

1 材料与方法

1.1 药物和主要仪器

蟾酥为新鲜制备中华大蟾蜍(*Bufo bufo*

gargarizans Cantor)的耳后腺分泌物的干燥物(南京中医药大学吴启南教授馈赠)。采用高效液相法对所用蟾酥进行分析,主要含有蟾蜍甙:脂蟾毒配基 0.82%, 华蟾毒配基 2.42%, 蟾毒灵 1.54%, 蟾毒他灵 2.42% 和远华蟾毒精 2.01%。地高辛片(杭州制药有限公司),经甲醇:二氯甲烷(1:1)回流提取 2 次,过滤,减压浓缩,干燥备用^[6]。实验前采用 0.4% 吐温 80 水溶液配制成蟾酥生药混悬液和地高辛溶液。MPA2000 多道生物信号分析系统(上海奥尔科特生物科技有限公司)。

1.2 动物分组和电生理记录

20 只健康豚鼠,雄性,体质量 250~300 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物许可证号:SCXK(沪)2007-0005。以蟾酥临床人中毒量 1.5~3 g 为实验剂量设计依据,经体表面积法折算豚鼠等效剂量为 125~250 mg·kg⁻¹。豚鼠分为 4 组,每组 5 只。正常对照组 ig 给予 0.4% 吐温 80 水溶液,蟾酥组豚鼠 ig 给予蟾酥 125 和 250 mg·kg⁻¹,阳性对照组豚鼠 ip 给予地高辛 300 mg·kg⁻¹。给药后豚鼠 ip 给予 3.5% 水合氯醛麻醉。颈中切口分离左侧颈总动脉,经颈总动脉向左心室插入心室导管,肝素抗凝,连接压力换能器,同时连接肢导联,采用 MPA2000 多道生物信号分析系统记录豚鼠的在体心电图和心室内压。监测给药后 20 min 的 P-R 间期、QRS 时程、心率(heart rate, HR)、左心室内压力上升最大速率(the maximum rate of rise of left ventricular pressure, dp/dt_{max})、最大收缩压(the maximum systolic pressure, P_{max})、心率血压乘积

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(30901894);教育部博士点基金新教师类(20093237120013);江苏省中医药科技项目(LZ09017);教育部霍英东教育基金会第十二届青年教师基金(121044)

作者简介: 蒋洁君(1986-),女,在读硕士研究生,主要从事中药配伍研究。

通讯作者: 马宏跃, E-mail: hongyuema@126.com, Tel: (025)85811625; 许惠琴, E-mail: xhq@njutcm.edu.cn, Tel: (025)85811933

(rate-pressure product, RPP) 和最小舒张压 (the minimum diastolic pressure, P_{\min})。

1.3 统计学分析

实验结果数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Excel 进行 t 检验统计处理。

2 结果

2.1 蟾酥对豚鼠心电图 P-R 间期, QRS 时程和心率的影响

表 1 结果显示, 与正常对照组相比, 蟾酥 125 和 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组心电图 P-R 间期显著延长, 分别从 (27.8 \pm 5.1) ms 增加至 (44.5 \pm 7.2) 和 (57.1 \pm 8.9) ms ($P < 0.01$), 表明房室传导阻滞; 蟾酥 125 和 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组心电图 QRS 时程显著增宽, 从 (42.0 \pm 18.7) ms 分别增宽至 (63.3 \pm 5.0) 和 (79.4 \pm 15.4) ms ($P < 0.01$), 表明室性心律失常。蟾酥组心率较正常对照组显著增加 ($P < 0.05$), 表明心动过速。与阳性对照地高辛比较, 蟾酥组心率显著增快 ($P < 0.01$), 但 P-R 间期和 QRS 时程无显著性差异。

表 1 蟾酥对豚鼠心电图 P-R 间期, QRS 时程和心率的影响
Tab.1 Effect of Chansu on P-R, QRS and heart rate in guinea-pigs

组别	P-R 间期/ms	QRS 时程/ms	心率/min ⁻¹
正常对照	27.8 \pm 5.1	42.0 \pm 18.7	240 \pm 17
蟾酥 125	44.5 \pm 7.2**	63.3 \pm 5.0**	276 \pm 13*
250	57.1 \pm 8.9**	79.4 \pm 15.4**	340 \pm 32**
地高辛 300	40.2 \pm 5.1*	68.3 \pm 8.9**	248 \pm 25##

按照分组豚鼠一次性 ig 给予 0.4% 吐温 80, 蟾酥 125 和 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 地高辛 300 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. $\bar{x} \pm s, n = 5$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; ## $P < 0.01$, 与蟾酥 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组比较。

2.2 蟾酥对豚鼠心功能影响

如表 2 所示, 蟾酥 125 和 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 使豚鼠左

表 2 蟾酥对豚鼠心功能的影响

Tab.2 Effect of Chansu on cardiac function in guinea-pigs

组别	P_{\max} /kPa	RPP/kPa	dp/dt_{\max} /kPa \cdot s ⁻¹	P_{\min} /kPa
正常对照	75 \pm 10	18207 \pm 3210	207 \pm 63	5 \pm 3
蟾酥 125	56 \pm 18*	8618 \pm 2187**	112 \pm 39**	14 \pm 5**
250	53 \pm 9*	8210 \pm 1671**	108 \pm 38**	11 \pm 6*
地高辛 300	51 \pm 12*	8683 \pm 1987**	155 \pm 30*	13 \pm 6**

动物分组处理见表 1. P_{\max} : 最大收缩压; RPP: 心率血压乘积; dp/dt_{\max} : 左心室内压力上升最大速率; P_{\min} : 最小舒张压. $\bar{x} \pm s, n = 5$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较。

心室功能发生显著变化, 与正常对照组相比, dp/dt_{\max} 降至 112.3 \pm 38.6 和 (107.7 \pm 38.5) $\text{kPa} \cdot \text{s}^{-1}$, 显著下降 ($P < 0.01$), P_{\max} 和 RPP 显著降低 ($P < 0.05$); 地高辛也诱导豚鼠 dp/dt_{\max} , P_{\max} 和 RPP 的下降。蟾酥组与地高辛组比较无显著性差异。说明蟾酥抑制豚鼠心功能, 具有负性肌力的毒性作用。与正常对照组相比, 蟾酥 125 和 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组 P_{\min} 分别为 14.1 \pm 4.9 和 (10.7 \pm 5.7) kPa 显著升高 ($P < 0.05$), 说明蟾酥中毒豚鼠的心室舒张功能显著下降。蟾酥组 P_{\min} 与地高辛组比较无显著差异。

3 讨论

强心苷类物质的活性和毒性存在明显种属差异^[7]。本研究选择较大鼠和小鼠更为敏感的豚鼠, 给予蟾酥诱发心脏中毒。中毒豚鼠发生室性早搏, 产生宽大 QRS 波及异常的 T 波。蟾酥诱导的心电触发效应也引起房室传导阻滞。蟾酥心脏毒性主要表现为心律失常, 心电图监测是反映蟾酥毒性的有效手段。本研究结果表明, 心功能在出现致死性心律失常时, 豚鼠心脏舒张压显著升高且收缩压下降, 表现负性肌力的毒性作用。因此, 心功能下降是蟾酥心脏毒性的一种表现, 常发生于早期心律失常之后, 是中毒进一步恶化且致死性的表现。

强心苷能直接抑制心肌 Na^+/K^+ -ATPase, 使 Na^+ 从心肌排除减少, 通过 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换引起胞内 Ca^{2+} 超载, 诱发瞬间性内向离子流, 以及减少细胞内 K^+ , 使最大舒张电位与阈电位的距离缩小, 引起心律失常等反应^[8-9]。蟾酥中毒时, 可能以类似方式改变心肌电生理, 通过抑制钠泵减少 K^+ 摄入, 造成心肌提前去极化, 引起舒张压升高, 表现为心肌不能有效“休息”; 另一方面, 持续的钙超载, 可能使心肌对钙离子的敏感性下降, 收缩压下降, 毒性表现为心肌的“收缩乏力”。以往研究显示, 毒性剂量蟾酥

引起小鼠剧烈抽搐和角弓反张,表现出急性神经毒性^[2]。文献曾报道,强心苷能间接兴奋迷走神经并抑制交感神经,使房室传导减慢;吗啡或脊髓切断能显著降低地高辛的心脏毒性,说明强心苷可通过神经系统加剧其心脏毒性^[9]。

综上所述,致死量蟾酥可诱导豚鼠出现心律失常,随心律失常的发生,蟾酥的强心效应转变为抑制心功能的毒性作用。

参考文献:

- [1] 马宏跃,寇俊萍,余伯阳. 蟾酥抗链球菌感染的活性物质基础研究[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(4): 47-50.
- [2] Ma H, Zhou J, Jiang J, Duan J, Xu H, Tang Y, *et al.* The novel antidote Bezoar Bovis prevents the cardiotoxicity of Toad (*Bufo bufo gargarizans* Cantor) Venom in mice[J/OL]. [2010-10-07]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S09402.99310001703>.
- [3] 马宏跃,段金殿,周婧,唐于平,潘苏华,丁安伟. 基于人体等效剂量的蟾酥量-效关系探讨[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14(6):655-658.
- [4] 魏仲南,陈莫京. 急性蟾酥中毒 1 例[J]. 福建中医药, 1993, 24(2):15.
- [5] 周月芳,刘瑞林. 急性蟾酥中毒致心的损害一例报告[J]. 青海医药杂志, 1998, (6):57-68.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 2005 版. 北京: 化学工业出版社, 2005:181-182.
- [7] Numazawa S, Inoue N, Nakura H, Sugiyama T, Fujino E, Shinoki M, *et al.* A cardiotoxic steroid bufalin-induced differentiation of THP-1 cells. Involvement of Na^+ , K^+ -ATPase inhibition in the early changes in proto-oncogene expression[J]. *Biochem Pharmacol*, 1996, 52(2):321-329.
- [8] Qi YJ, Su SW, Li JX, Li JH, Guo F, Wang YL. Different Na^+/K^+ -ATPase signal pathways were involved in the increase of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ induced by strophanthidin in normal and failing isolated guinea pig ventricular myocytes[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29(11):1313-1318.
- [9] Rabkin SW. The interrelationship of morphine and the parasympathetic nervous system in digoxin-induced arrhythmias in the guinea-pig[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1988, 15(8):565-573.

Toxic effect of Chansu on cardiac electrophysiology in guinea-pigs

JIANG Jie-jun, ZHOU Jing, MA Hong-yue, LÜ Gao-hong, YU Bin, DUAN Jin-ao,
ZHANG Jun-feng, ZHAN Zhen, XU Hui-qin

(*Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China*)

Abstract: **OBJECTIVE** To study the effect of Chansu (toad venom, *Venenum Bufonis*) on the cardiac electrical activity and function. **METHODS** After guinea-pigs were ig given a single dose of Chansu 125 and 250 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, electrocardiography and cardiac function were monitored. The cardiac function was evaluated by measuring the maximum rate of rise of left ventricular pressure ($\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$), the maximum systolic pressure (P_{max}), rate-pressure product (RPP) and the minimum diastolic pressure (P_{min}). **RESULTS** Compared with normal control group, the P-R interval in Chansu 150 and 250 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ groups significantly increased from (27.8 ± 5.1) ms to 44.5 ± 7.2 and (57.1 ± 8.9) ms ($P < 0.01$). Chansu also induced wide QRS complex and rapid heart rate, markedly increased P_{min} ($P < 0.05$), but decreased P_{max} , RPP and $\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ ($P < 0.05$). No significant difference in P-R interval, QRS complex, $\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$, P_{max} , RPP and P_{min} was observed between Chansu and digoxin 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, but Chansu induced faster heart rate than digoxin. **CONCLUSION** Chansu poisoning can induce arrhythmias and cardiac dysfunction.

Key words: Chansu; cardiotoxicity; arrhythmias; cardiac function

Foundation item: The project supported by the National Science Fund for Distinguished Young Scholars (30901894); Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (20093237120013); Science Fund of Jiangsu Administration of TCM (LZ09017); and Fok Ying Tung Education Foundation for Youth Scholars (121044)

Corresponding author: MA Hong-yue, E-mail: hongyue@126.com, Tel: (025) 85811625; XU Hui-qin, E-mail: xhq@njutcm.edu.cn, Tel: (025) 85811933

(收稿日期: 2010-07-29 接受日期: 2010-12-27)

(本文编辑: 乔虹)