

## 脂蟾毒配基对人和犬心肌细胞膜反应性与后电位的影响\*

解景田\*\*, N Belic, J McCullough, D H Singer

(Reingold ECG Center, Northwestern University Medical School, Chicago IL 60611, USA)

**提要** 用每8个基础刺激插入一个间断刺激的方法, 测量其激活电位和  $\dot{V}_{max}$ , 获得膜反应曲线。结果表明, RBG可使犬PF的膜反应曲线稳定地向右、下偏移, 提示RBG可降低膜的反应性能, 减慢兴奋的传导, 具有抗心律失常的某些电生理特性。另外, RBG

可诱发犬PF和人心房肌纤维的后电位, 包括DAD和OAP。提示在一定条件下, RBG可能引起某些心律失常。

**关键词** 脂蟾毒配基; 动作电位; 抗心律失常药; 人心房; 两栖动物毒; 心肌; 细胞膜; 电生理; 膜电位; 犬浦肯野氏纤维

1984年1月25日收稿 1984年11月1日修回

\* 部分内容在1983年芝加哥心脏学会上以poster形式公布。

\*\* 现在南开大学生物系生理组

脂蟾毒配基(resibufogenin, RBG)不仅能降低犬心肌细胞动作电位(AP)各参数, 且可

缩短其有效不应期,增加舒张期去极化的斜率,有时甚至诱发自发节律<sup>(1)</sup>。这些结果提示, RBG 可能对心肌细胞的传导性和自律性有一定影响。为此,作者进一步测定 RBG 对膜反应性的影响,并观察了它诱发后电位的作用。

## 方 法

基本方法和药物同前文<sup>(1)</sup>

在测定 10 犬浦肯野氏纤维(PF)膜反应性的实验中应用两种刺激,在每 8 次基础刺激之后插入一个 3 倍阈值的间断刺激,逐渐调节间断刺激与基础刺激的间隔时间,使其落入前一个 AP 3 相期的不同时间内,直至间断刺激不再引起可扩布 AP 为止,如此反复 3-4 次。测量其激活电位(activation potential, 即可被激活的膜电位)和间断刺激所驱动的 AP 最大上升速率( $\dot{V}_{max}$ ),以获得膜反应曲线(MRC),并比较给药前后的曲线偏移情况。RBG 的浓度为  $0.6 \mu M$ ,部分实验使用  $0.3$  和  $0.15 \mu M$ 。

在诱发后电位的实验中,基本刺激周期为 800 ms。在观察后电位时,需于连续刺激之后停止刺激 5 s。在部分实验中,观察了不同刺激周期(1000, 800, 630, 500, 400, 300, 250 ms)对后电位的影响。实验中除用犬 PF ( $n=19$ )以外,还观察了 RBG 诱发 14 人的心房肌纤维(AF)后电位的作用。AF 标本由 Northwestern University Medical School 附属 Memorial Hospital 心脏科提供。

## 结 果

**RBG 对于膜反应性的影响** 在 RBG  $0.6 \mu M$  灌流犬 PF 标本后 50 min, 观察并记录膜的反应性变化,测量激活电位与  $\dot{V}_{max}$  图 1 是一个典型的膜反应曲线(MRC)。可见,犬 PF 的 MRC 呈“S”型(图 1 中实线所示),它表明膜的激活电位与  $\dot{V}_{max}$  的函数关系。这与 Weidmann<sup>(4)</sup>首次作出的 MRC 完全一致。另外, RBG 可使“S”型曲线平行地向右向下偏移(图 1),表明在同样大小的激活电位时给予一个间断刺激,给药后 AP 的  $\dot{V}_{max}$  比给药前明

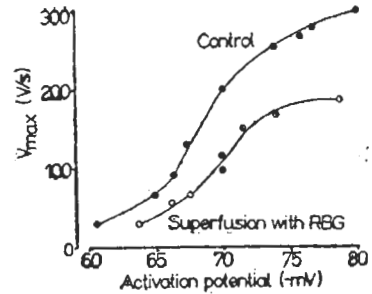


Fig 1. A membrane responsiveness curve from a canine Purkinje fiber superfused with RBG  $0.6 \mu M$  for 50 min.

显下降。提示膜对刺激的反应性能降低,传导速度减慢。在全部实验中均可看到 RBG 的这种作用。

在部分实验中,于同一标本上先后用 RBG  $0.6$ ,  $0.3$  和  $0.15 \mu M$ , 均可使 MRC 稳定地向右下移位,偏移的大小随浓度而异。结果提示, RBG 使膜的反应性降低。

**RBG 诱发犬 PF 的后电位** RBG  $0.15 \mu M$

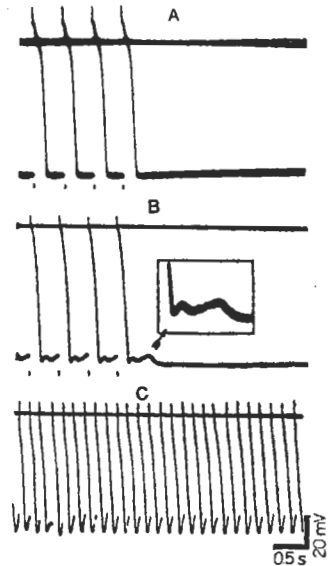
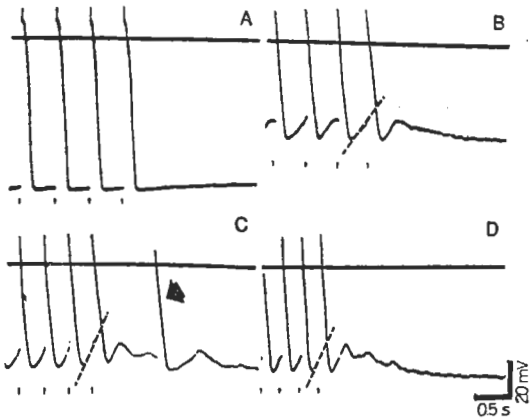


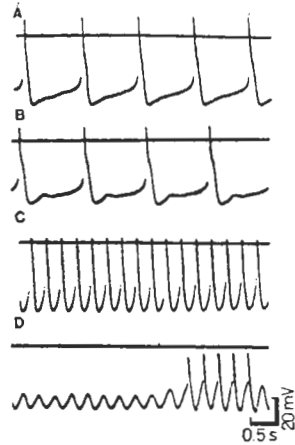
Fig 2. RBG-induced afterpotential. A) Control. B) Superfusion with RBG  $0.6 \mu M$  for 50 min. A delayed afterdepolarization occurred after repolarization was completed. During the pause in stimulation, an oscillatory afterpotential coupled to the delayed afterdepolarization occurred. C) After 70 min of RBG superfusion, OAPs reached the threshold giving rise to a sustained firing at a cycle length of 167 ms.

时,未见后电位的出现;  $0.3\mu\text{M}$  时,偶见振幅较低的后电位,这种后电位未能达到阈值而出现自发节律;  $0.6\mu\text{M}$  时,常见后电位的诱发(图 2)。图 2 A 为对照,在刺激停止以后,4 相期呈现水平直线,观察不到任何电位变化。图 2 B 为灌流 RBG 后 50 min,在每个 AP 后的 4 相期出现振幅较低的电位变化,此为延时性后去极化(delayed afterdepolarization, DAD)。刺激停止后,在上述 DAD 之后又出现第二个振幅稍高的后电位,有时可出现多个类似于正弦波的上述电位变化,此为振荡后电位(oscillatory afterpotential, OAP)。如 OAP 的振幅逐渐增大达到阈电位则引起快速的自发节律(图 2 C, 频率为 360 bpm)。

**不同刺激周期对后电位的影响** 灌流 RBG  $0.6\mu\text{M}$  后 50 min, 改变刺激周期(分别为 1000, 800, 630, 500, 400, 300 和 250 ms),



**Fig 3.** Effects of different cycle lengths on RBG-induced delayed afterdepolarization. Purkinje fiber before (A) and after 50 min (B-D) of superfusion with RBG  $0.6\mu\text{M}$ . The first 4 complexes in each panel were paced. A) Control, CL = 800 ms. B) CL = 800 ms, a single DAD was noted upon cessation of pacing. C) CL = 630 ms, at least 2 DADs were noted after cessation of pacing. A single spontaneous beat originating elsewhere in the tissue (arrow) was also followed by a DAD. D) CL = 500 ms, OAP followed the last paced beat. The amplitude, number, and repetition rate of OAP all increased with the increase of pacing rate. The dashed lines in B-D were tangent to the slope of DAD.



**Fig 4.** Effect of RBG  $2.9\mu\text{M}$  on spontaneous firing of a human atrial cell. A) Control, spontaneous firing at CL = 970 ms. B) Superfusion with RBG for 10 min, CL = 1000 ms. C) Superfusion with RBG for 20 min. The DADs reached threshold potential resulting in rapid spontaneous firing, CL = 270 ms. D) Superfusion with RBG for 30 min. The cell was further depolarized and DADs only intermittently reached the threshold. CL = 330 ms.

以观察不同刺激周期对后电位振幅及其斜率的影响。图 3 为一典型的实验记录,随着刺激周期的缩短, DAD 的振幅逐渐增高,如刺激周期为 800 ms 时, DAD 振幅为 10 mV(图 3 B),而周期为 500 ms 时,其振幅增至 12 mV,并出现 OAP(图 3 D)。另外也观察到,随着刺激周期的缩短, DAD 的去极化斜率也逐渐增加(图 3 中虚线表示 DAD 去极化斜率)。提示刺激频率愈高,后电位的振幅愈大,愈容易形成自发节律。

**RBG 诱发人心房肌纤维的后电位** 为了观察药物诱发心律失常的毒性作用,实验使用了较高浓度 RBG  $2.9\mu\text{M}$  和 14 人的心房肌标本。图 4 可见,给药后 10 min 即出现低振幅的 DAD(图 4 B)。到 20 min 时, DAD 的振幅达到阈电位而产生快速的自发节律,其频率由对照的 62 bpm 增至 222 bpm(图 4 C)。给药 30 min 以后,这种快速的自发节律与振荡后电位(图 4 D 低振幅电位变化)间断地出现,有时可循环数次。

## 讨 论

**膜反应性** 实验证明, RBG 可使 MRC 稳定地向右向下偏移(图 1)。曲线下移提示通道的最大钠电导下降, 即静息电位正常的心肌细胞内发生冲动的传播减慢, 曲线右移还提示在同一激活电位水平, 给药后的  $\dot{V}_{max}$  比对照降低, 因此使冲动的传导减慢。如果期前冲动发生在未完全复极的纤维内,  $\dot{V}_{max}$  的降低就使冲动在这种纤维内的传播困难, 从而发挥其抗心律失常作用。目前认为, MRC 表明  $Na^+$  通道效率的电压依存关系, 它反映心肌细胞膜传导冲动的快慢, 是衡量传导性能的指标。因此, 膜反应性已作为某些抗心律失常药电生理学特性所描述<sup>(2-7)</sup>。RBG 的这种电生理学的特性为临床治疗某些心律失常提供了实验依据。

不同浓度 RBG 对 MRC 的影响表明, 膜反应性的降低具有浓度依赖性。在一定范围内, RBG 浓度愈大, 膜反应性的降低愈甚。

**后电位** 后电位多为单个心肌纤维 AP 一定相期中所出现的呈节律性活动的阈下跨膜电位。目前命名尚不统一<sup>(7,8)</sup>。根据后电位出现的部位与电位的性质, Cranefield 把后电位分为早期后去极化 (early afterdepolarization), 早期后超极化 (early afterhyperpolarization), 迟时性后去极化 (DAD) 和振荡后电位 (OAP)。当某种后电位达到阈电位时, 便可形成期前

AP 和/或快速自发节律。所以后电位是形成异位节律的重要机制<sup>(8)</sup>。在一定条件下, RBG 可诱发犬 PF 和人 AF 产生 DAD 及 OAP, 并继发出自发节律, 表现了 RBG 的毒性作用。临床使用时应警惕某些心律失常的发生, 特别是连续用药时, 应监护早搏和心动过速的出现。实验还表明, RBG 诱发 DAD 时, 其振幅随刺激周期的减小而增加, 提示 DAD 的大小具有频率依赖性, RBG 的这一作用与乙酰毒毛旋花子甙原及哇巴因的作用完全一致<sup>(9,10)</sup>。

**致谢** 实验过程中得到 D Leonard, D Goldfarb, M J Cohn and H Jamie 的帮助。

## 参 考 文 献

- 1 解景田, Belic N, McCullough J, Singer DH 中国药理学报 1985; 6: 169
- 2 Singer DH, Baumgarten CM, Ten Eick RE. *Prog Cardiovasc Dis* 1981; 24: 97
- 3 Rosen MR, Wit AL, Hoffman BF. *Am Heart J* 1974; 88: 380
- 4 Weidmann S. *J Physiol (Lond)* 1955; 127: 213
- 5 Hoffman BF, Cao CY, Suckling EE. *Am J Physiol* 1957; 190: 473
- 6 Levine HJ. Antiarrhythmic agents. In: Levine HJ, ed. *Clinical cardiovascular physiology*. 1st ed. NY: Grune & Stratton, 1976: 324-6
- 7 Cranefield PF. *Circ Res* 1977; 41: 415
- 8 Ferrier GR. *Prog Cardiovasc Dis* 1977; 19: 459
- 9 Ferrier GR, Moe GK. *Circ Res* 1973; 33: 508
- 10 Davis LD. *Ibid* 1973; 32: 206

*Acta Pharmacologica Sinica* 1985 Dec; 6 (4): 254-258

## EFFECTS OF RESIBUFOGENIN ON MEMBRANE RESPONSIVENESS AND AFTERPOTENTIAL OF HUMAN AND CANINE MYOCARDIAL CELLS

XIE Jing-tian, N Belic, J McCullough, D H Singer

(Reingold ECG Center, Northwestern University Medical School, Chicago IL 60611, USA)

**ABSTRACT** The membrane responsiveness curve was obtained from measuring the activation potential and  $\dot{V}_{max}$  with each intermittent

stimulus in every 8 basic stimuli. Ten experiments indicated that RBG shifted the membrane responsiveness curve of canine Purkinje fibers

to the right and suggested that RBG decreased the membrane responsiveness and slowed down the impulse conduction and possessed some antiarrhythmic properties. In addition, RBG induced the afterpotentials, including delayed afterdepolarization and oscillatory afterpotential, in canine PF ( $n = 19$ ) and human atrial fibers ( $n = 14$ ). The results suggested that RBG might cause some arrhythmias under certain conditions.

**KEY WORDS** resibufogenin; action potentials; anti-arrhythmia agents; human heart atrium; amphibian venoms; myocardium; cell membrane; electrophysiology; membrane potentials; canine Purkinje fibers

**ACKNOWLEDGMENTS** The authors express their thanks to Mr D Leonard, Ms D Goldfarb, Ms MJ Cohn and Ms H Jamie for making microelectrodes, solutions, etc.

\* \* \* \* \*