

# 常咯啉、利多卡因、胺碘达隆对培养大鼠搏动心肌细胞的毒性作用

杨英珍、杨学义、郭 棋、金佩英、陈娟如

(上海市心血管病研究所, 上海医科大学附属中山医院, 上海 200032)

陈维洲 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 常咯啉(CRL) 100  $\mu\text{g/ml}$ , 使培养大鼠心肌细胞搏动近乎消失, 细胞变圆、团缩、结构改变, 细胞内AST释放增多; 50  $\mu\text{g/ml}$ , 仅有细胞浆内颗粒增多, 空泡形成;  $\leq 25 \mu\text{g/ml}$ , 则细胞搏动良好, 形态或AST无改变。同样实验条件下, CRL对心肌细胞的毒性较Lid约高10倍, 较Ami约低4倍。实验提示: CRL的临床有效血药浓度( $2.6 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$ ), 对心肌细胞

无毒性作用。

**关键词** 常咯啉; 利多卡因; 胺碘达隆; 培养大鼠搏动心肌细胞; 天冬氨酸氨基转移酶

常咯啉(changrolin, CRL)为一种新型的抗心律失常药物。不论是口服<sup>(1,2)</sup>或静脉<sup>(3)</sup>给药, 对各型室性早搏都具有明显疗效。从麻醉犬

的心脏血流动力学的研究表明, CRL对心肌收缩性具有抑制作用,但这种作用是可逆的<sup>(4)</sup>。在心律失常病人静脉滴注CRL后,也出现负性肌力作用<sup>(5)</sup>。这些效应是功能性改变,是否对心肌细胞有损害还缺少研究。为此,本文从细胞水平观察CRL对培养大鼠搏动心肌细胞中的致毒性浓度,了解CRL的负性肌力作用与致毒性浓度的关系,并与利多卡因(lidocaine, Lid)及胺碘达隆(amiodarone, Ami)相比较。

### 材料及方法

出生1-3 d的Sprague-Dawley大鼠心脏,用0.1%胰蛋白酶溶液分次消化细胞,细胞制备同前文<sup>(6)</sup>。生长液用含20%小牛血清的MEM Eagles液<sup>(7)</sup>。CRL注射液(50 mg/ml),上海天丰制药厂生产,利多卡因及胺碘达隆均系上海海普药厂注射剂。

**对细胞搏动%及形态学的影响** 在16孔塑料培养板(上海塑料三厂)上,各孔加入 $5 \times 10^5$ 细胞/ml,置37°C于5%CO<sub>2</sub>培育48 h,细胞单层贴壁生长,以80-100 bpm规则地搏动,弃上清液,用生长液洗涤一次,然后分别加入含不同浓度的CRL, Lid, 或 Ami的生长液各

1 ml/孔。每药各种浓度加入4孔,每板各有4孔单加生长液作为对照,在倒置相差显微镜下每日观察细胞及形态学改变。毒性观察的指标4+:表示心肌细胞形态及结构都已完全破坏,细胞变圆,无搏动,几乎不贴壁;3+:细胞形态尚完整,但内部细微结构明显破坏,包括细胞核、肌纤维等,且停止搏动;2+:与3+相似,但程度较轻;1+:细胞形态及内部结构尚完整,但胞浆内出现毒性颗粒或同时有空泡形成。

**心肌细胞酶测定** 心肌细胞培养48 h加入药物后1,2,4 d,各孔取0.5 ml上清液,测天冬氨酸氨基转移酶(AST)。试剂用Gilford Diagnostic药箱,在SBA 300自动分析仪(Corning Co)检测。

### 结果

心肌细胞培养48 h,加入CRL 100 µg/ml, d 1细胞即开始停止搏动,4次实验中除1次在加药后d 2-4尚有20%细胞搏动外,其他3次实验均无搏动,并出现细胞变圆、团缩,类内皮细胞隐约可见(图1, B见图版1)。测上清液中AST较正常对照组明显增高( $p < 0.01$ ),见表1。CRL 50 µg/ml孔,虽见细胞仍搏动,

Tab 1. Effects of changrolin, lidocaine, and amiodarone on cultured rat beating heart cells.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Drug	Concn (µg/ml)	Beating %			Pathological changes			AST(U/L) d 4
		d 1	d 2	d 4	d 1	d 2	d 4	
Control	0	100	100	100	—	—	—	48 ± 11
	100	20 ± 40	5 ± 10	5 ± 10	2+~3+	3+~4+	3+~4+	61 ± 14***
	50	100	100	100	1+	1+	1+	50 ± 12*
	25	100	100	100	—	—	—	44 ± 9*
	12.5	100	100	100	—	—	—	46 ± 9*
Changrolin	6.3	100	100	100	—	—	—	47 ± 8*
	1000	0	0	0	4+	4+	4+	61 ± 5***
	500	100	100	100	1+	1+	1+	44 ± 9*
	250	100	100	100	—	—	—	44 ± 8*
	125	100	100	100	—	—	—	44 ± 8*
Lidocaine	62.5	100	100	100	—	—	—	42 ± 9*
	50	0	0	0	4+	4+	4+	55 ± 8*
	25	30 ± 48	0	0	1+~3+	3+	3+	61 ± 10**
	12.5	100	100	100	1+	1+	1+	54 ± 14*
	6.3	100	100	100	—	—	—	48 ± 8*
Aminodarone	50	0	0	0	4+	4+	4+	55 ± 8*
	25	30 ± 48	0	0	1+~3+	3+	3+	61 ± 10**
	12.5	100	100	100	1+	1+	1+	54 ± 14*
	6.3	100	100	100	—	—	—	48 ± 8*

4+, nearly all of myocytes turned round, and hyaline-like, no beating. 3+, configuration of myocytes was almost in its integrity, but the fine structures showed destroyed. 2+, similar as 3+, but mild in degree. 1+, no change in configuration, but cytotoxic particles or with vacuoles in cytoplasm.

AST较正常组无明显增高,但在细胞浆内出现类似毒性反应的颗粒及空泡形成,细胞搏动较弱。Lid在1000  $\mu\text{g/ml}$ 时心肌细胞停止搏动(图1, D),并出现类似CRL 100  $\mu\text{g/ml}$ 时毒性改变,而Ami 50  $\mu\text{g/ml}$ 时所致心肌细胞的毒性改变较CRL(50  $\mu\text{g/ml}$ )更明显,细胞小而呈脱落状(图1, F),Ami在25  $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,有明显AST的释放增加,12.5  $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,虽心肌细胞仍均搏动,但搏动力较弱,且细胞浆内出现毒性颗粒,所用Lid及Ami剂量在出现细胞浆内毒性颗粒时,无明显空泡形成。三种药物发生严重形态改变时均系不可逆性。

## 讨 论

临床上,早搏患者恒速静脉滴注CRL 3.3 mg/kg, 60 min的平均峰浓度为 $3.6 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$ ,产生显效时的有效血药浓度一般为 $2.6 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$ <sup>(3)</sup>。本实验发现CRL在出现早期毒性反应时,有胞浆内形态改变及心肌收缩力轻度减弱,在25  $\mu\text{g/ml}$ 时,对培养心肌细胞不论在形态、细胞搏动%、搏动频率及强度,以及AST释放均无影响。所以,它的有效血药浓度与产生细胞毒性的安全范围较大,约在10倍左右。提示临床上使用一般常用治疗剂量对心肌细胞似无毒性。但在临床上出现明显负性肌力作用时,要注意可能有心肌毒性存在。Lid在培养心肌细胞中的毒性作用较CRL小10倍左右。因此,一般严重室性心律失常或急性心肌梗塞出现室性心律失常需静脉给药时,使用Lid是安全的,但CRL亦不失为一种有效而安全的抗心律失常药物,尤其在临床上使用Lid无效的病人,使用CRL仍可奏效。为了抢救严重室性心律失常患者的生命,值得推广使用。

本文中Ami浓度在50  $\mu\text{g/ml}$ 时,虽细胞停止搏动,有明显形态学改变,而AST增高不明显,此与AST检测时间有关。因在此浓度时,给药后d 1心肌细胞即已全部坏死呈脱落状,因此d 4测酶时,AST含量已下降,此现象在100  $\mu\text{g/ml}$ 时更为明显。一般讲,细胞搏动%与细胞形态的毒性改变,AST的释放增高呈负相关,Ami的有效血浓度为0.54-2.07  $\mu\text{g/ml}$ ,如高于3.4  $\mu\text{g/ml}$ ,常有严重心脏毒性反应<sup>(8)</sup>,与培养的心肌细胞中所示毒性较大相吻合。因此,临床上用Ami静脉给药时,需加谨慎。由于在光镜下,三种药物对心肌细胞所致毒性改变的形态有所不同,很可能他们在毒性剂量时着重破坏心肌细胞的不同细微结构部分,尚待作电镜检查予以肯定。

## 参 考 文 献

- 1 常咯啉临床研究协作组. 抗心律失常药——常咯啉的临床观察. 中华医学杂志 1978; 58 : 84
- 2 陈维洲、李良泉. 抗心律失常新药——常咯啉. 新药与临床 1982; 1 : 16
- 3 陈维洲、汪长根、杨学义、蔡迺绳、诸骏仁. 抗心律失常药常咯啉的临床药代动力学. 药理学学报 1985; 20 : 505
- 4 沈幼棠、吴培明、万粉娣、陈维洲、董月丽. 抗心律失常药常咯啉对麻醉狗心肌力学的影响. 中国药理学报 1981; 2 : 23
- 5 沈幼棠、许乃珊、顾双林、吴培明、陈维洲. 静脉滴注常咯啉对心律失常病人心脏功能的影响. 同上 1983; 4 : 251
- 6 Yang YZ, Dyke JW. Cocksackie B-2 virus infection in rat beating heart cell culture. J Virol Methods 1985; 12 : 217
- 7 杨美珍、郭棋、金佩英,等. 大鼠搏动心肌细胞培养感染Cocksackie B-2病毒后超微结构研究. 中华医学杂志 1985; 65 : 524
- 8 许美龄、陶寿洪、傅如南,等. 乙胺碘呋酮治疗中血清药物浓度和反T<sub>3</sub>测定的临床意义. 中华心血管病杂志 1985; 13 : 1

## Cytotoxic effects of changrolin, lidocaine and amiodarone on cultured rat beating heart cells

YANG Ying-Zhen, YANG Xue-Yi, GUO Qi, JIN Pei-Ying, CHEN Juan-Ru  
(Shanghai Institute of Cardiovascular Diseases, Zhong-shan Hospital, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

CHEN Wei-Zhou

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** The effects of changrolin (CRL), lidocaine, amiodarone on cultured rat beating heart cells were observed. In CRL 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , the myocytes almost stopped beating, the configuration and fine structures of heart cells were destroyed and aspartate aminotransferase (AST) was higher than the control ( $p < 0.01$ ). No changes in configuration of myocytes and SGOT release were noticed but cytotoxic particles and vacuoles in cytoplasm were demonstrated during CRL 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . There was no cytotoxic effect including morpho-

logical examination and AST release on cultured heart cells in case CRL concentration was 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The cytotoxic effect of CRL was nearly 10 times higher than lidocaine, but 4 times lower than amiodarone. These results indicate that the CRL dosage generally used for anti-arrhythmia caused no harm to myocytes.

**KEY WORDS** changrolin, lidocaine, amiodarone, cultured rat beating myocardial cells, aspartate aminotransferase

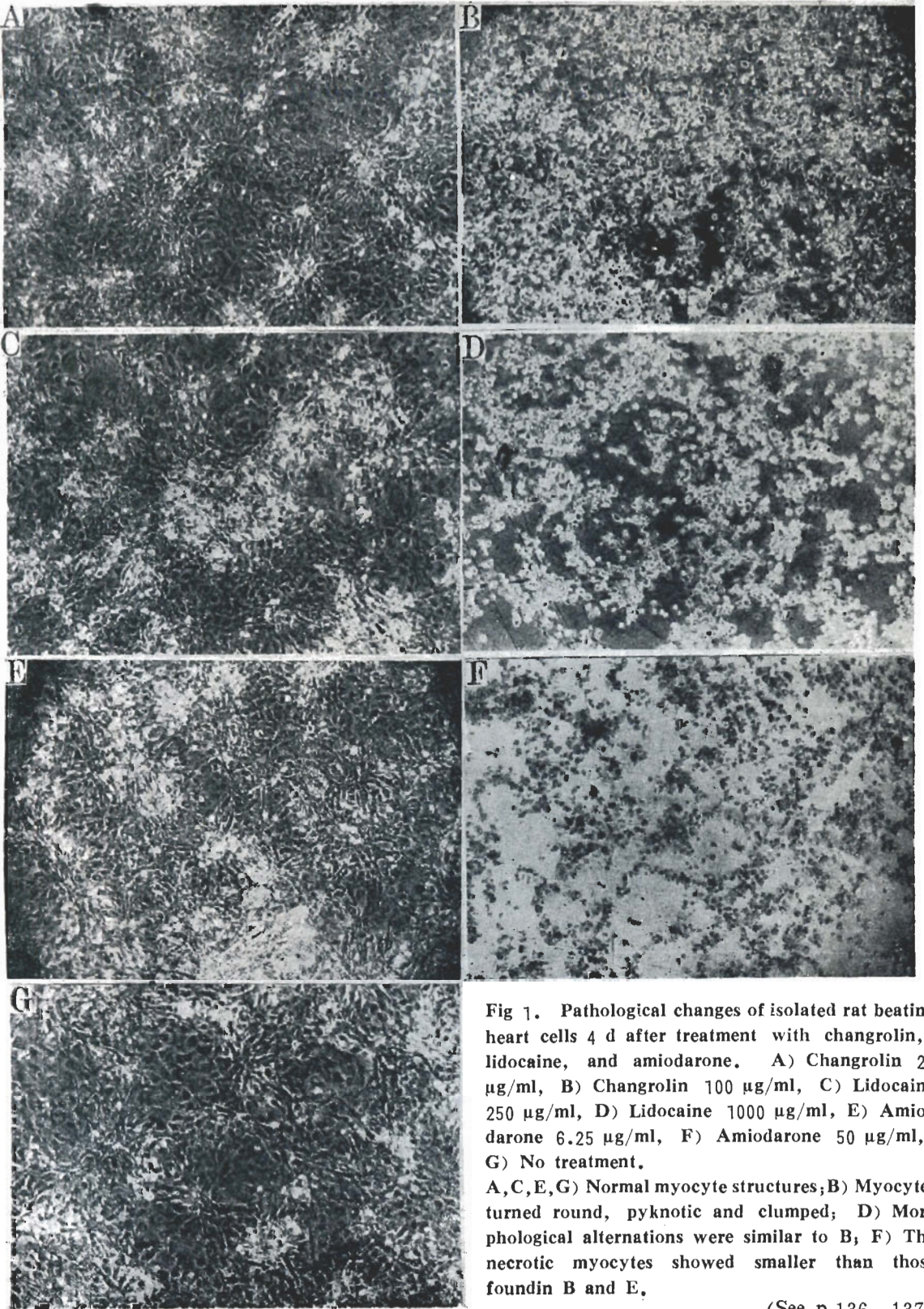


Fig 1. Pathological changes of isolated rat beating heart cells 4 d after treatment with changrolin, lidocaine, and amiodarone. A) Changrolin 25  $\mu\text{g/ml}$ , B) Changrolin 100  $\mu\text{g/ml}$ , C) Lidocaine 250  $\mu\text{g/ml}$ , D) Lidocaine 1000  $\mu\text{g/ml}$ , E) Amiodarone 6.25  $\mu\text{g/ml}$ , F) Amiodarone 50  $\mu\text{g/ml}$ , G) No treatment.

A, C, E, G) Normal myocyte structures, B) Myocytes turned round, pyknotic and clumped; D) Morphological alternations were similar to B; F) The necrotic myocytes showed smaller than those found in B and E.

(See p 136, 137)