

## 地尔硫萘对兔房室结与希氏束细胞动作电位的影响

高天礼<sup>1</sup>, Jochen SENGES

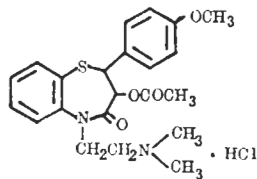
(Department of Cardiology, University of Heidelberg, 6900 Heidelberg, FR Germany)

**提要** 用微电极技术研究钙通道阻断剂地尔硫萘(diltiazem)对离体兔 AVN-His 束细胞的电生理效应。diltiazem(0.28-1.12  $\mu\text{mol/L}$ )使 AVN 自搏频率下降, 使 AVN 自律恢复时间增加, 并使 AN 细胞 ERP 延长。对 NH 细胞, diltiazem 使  $\dot{V}_{\text{max}}$  下降、APD<sub>50</sub> 与 APD<sub>95</sub> 缩短、ERP 与 A-H 延长。在 3 例标本用 S<sub>2</sub> 诱发了 AP 的快速自动发放, 经 diltiazem 灌注后皆被压制。

**关键词** 地尔硫萘; 房室结; 希氏束; 动作电位; 不应期

钙通道阻断剂地尔硫萘(diltiazem)为冠脉扩张剂<sup>(1)</sup>, 临床用来治疗高血压、缺血性心脏病和心律失常<sup>(2-4)</sup>。在犬、兔窦房结与房室结标本, diltiazem 能降低窦率<sup>(5)</sup>, 延长房室结区传导时间和不应期<sup>(6)</sup>。临床上 diltiazem 对房室结区折返兴奋以及 A-V 附加通路所致室

上性心动过速有显著疗效<sup>(7)</sup>, 而迄今尚缺乏在离体房室结标本上进行更深入研究。本文报道 diltiazem 对兔房室结与希氏束细胞电生理活动的影响, 并探讨此药克服房室结区折返性心动过速的机制。



### 方 法

兔, 体重  $2.5 \pm \text{SD } 0.5 \text{ kg}$ , 击昏, 取心脏, 置于改良台氏液中<sup>(8)</sup>, 通以  $95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ , pH 7.4,  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 。制备房室结 (AVN) 和希氏束 (His 束) 标本<sup>(9)</sup>。刺激电极置于冠状窦右侧残余界嵴。以 2 倍基强度、频率 100/min, 波

1985年5月6日收稿 1986年3月3日修回

<sup>1</sup> 北京大学生物学系动物生理教研室

宽 2 ms 的方波( $S_1$ )驱动标本。期前刺激( $S_2$ )为 4 倍基强度,每隔 8 个基本刺激施加 1 次以测试不应期。采用两根玻璃微电极(10–20 M $\Omega$ )同时记录上部房室结(AN)细胞和结-希区(NH)细胞的跨膜动作电位(AP)。用双极表面电极记录 His 束电图。

在  $S_1$  驱动下,测量、记录如下电生理指标:刺激阈值(ST)、动作电位振幅(APA)、0 相至复极 50%和 95%时程(APD<sub>50</sub>, APD<sub>95</sub>)、有效不应期(ERP)、0 相最大除极速度( $\dot{V}_{max}$ )、校正的 AVN 恢复时间(CART)、AN 细胞 AP 4 相自动除极速度(slope)、以及心房 His 束传导时间(A-H)。4 相最大自动除极电位减阈电位除以 4 相持续时间即为 slope 值。测定 CART 时,加快驱动频率(2.5 Hz)刺激 1 min,停止刺激经一定时间 AVN 自动节律恢复,此时间与 AVN 自动节律周期之差即 CART 值。在 His 束电图上测量心房肌电位至 His 束电位的间隔即 A-H 传导时间。测定 AVN 自动频率(AR)时,停止驱动。

Diltiazem-HCl 系结晶粉末,西德 Gödecke AG 厂出品,为苯并地尔硫草的衍生物。根据

临床应用 diltiazem 的血浆浓度<sup>(6)</sup>,将药物配成 3 种浓度的台氏液:0.28, 0.56 和 1.12  $\mu\text{mol/L}$ ,先以台氏液灌流标本,平衡 1 h 记录 AP 各指标作为对照。然后由低浓度至高浓度用药物台氏液灌流,每个浓度灌流 0.5 h。在各次实验中,只有微电极始终保持在同一细胞内所得到的记录方被采用。对 AP 各参数作统计学处理,用  $t$  测验求出给药前后差异的显著性。

## 结 果

**对 AVN 细胞的作用** 上部 AVN 细胞(AN 细胞)的 AP 波形见图 1 A(对照期)和 B(给药后)的上方描记,可见 AN 波形给药后无变化。在 3 种浓度的 diltiazem 分别依次作用下,AVN 自动频率及 AN 细胞 AP 各指标的变化归纳于表 1。

由表 1 可见,3 种浓度的 diltiazem 对 APA 与  $\dot{V}_{max}$  皆未发生影响,却提高刺激阈值(ST)并抑制自搏频率(AR)。刺激阈值在浓度 0.56 和 1.12  $\mu\text{mol/L}$  灌流后分别提高 36 和 73%。AR 的下降%随浓度加大而增加,0.28,

Tab 1. Effects of diltiazem on action potentials of atrioventricular node and bundle of His cells in rabbit heart. ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ )

	Cells	Control	0.28 $\mu\text{mol/L}$	0.56 $\mu\text{mol/L}$	1.12 $\mu\text{mol/L}$
AN cells					
AR(bpm)	6	90 $\pm$ 5	75 $\pm$ 10(-17%)**	70 $\pm$ 10(-22%)***	60 $\pm$ 10(-33%)***
ST(mA)	6	0.11 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.02*	0.16 $\pm$ 0.02(+36%)***	0.19 $\pm$ 0.03(+73%)***
Slope(mV/s)	6	13.6 $\pm$ 2.6	13.3 $\pm$ 3.6*	14.6 $\pm$ 3.8*	14.7 $\pm$ 2.8*
CART(ms)	6	246 $\pm$ 47	344 $\pm$ 72(+40%)**	418 $\pm$ 91(+70%)***	552 $\pm$ 118(+124%)***
APA(mV)	9	93 $\pm$ 10	93 $\pm$ 10*	93 $\pm$ 11*	90 $\pm$ 8*
$\dot{V}_{max}$ (V/s)	8	37 $\pm$ 15	40 $\pm$ 15*	38 $\pm$ 10*	35 $\pm$ 10*
APD <sub>95</sub> (ms)	9	128 $\pm$ 18	129 $\pm$ 18*	129 $\pm$ 18*	125 $\pm$ 14*
ERP(ms)	10	97 $\pm$ 19	111 $\pm$ 20*	121 $\pm$ 26(+23%)**	141 $\pm$ 46(+45%)***
NH cell					
APA(mV)	11	104 $\pm$ 7	104 $\pm$ 11*	102 $\pm$ 12*	99 $\pm$ 10*
$\dot{V}_{max}$ (V/s)	8	82 $\pm$ 16	76 $\pm$ 12*	68 $\pm$ 15(-17%)**	65 $\pm$ 15(-20%)**
APD <sub>50</sub> (ms)	11	128 $\pm$ 11	127 $\pm$ 9*	118 $\pm$ 10(-8%)**	107 $\pm$ 12(-16%)***
APD <sub>95</sub> (ms)	11	192 $\pm$ 21	193 $\pm$ 16*	180 $\pm$ 7(-6%)**	165 $\pm$ 15(-14%)***
ERP(ms)	6	108 $\pm$ 15	116 $\pm$ 14(+7%)**	143 $\pm$ 23(+32%)***	177 $\pm$ 40(+66%)***
A-H(ms)	7	35 $\pm$ 9	40 $\pm$ 7(+14%)**	46 $\pm$ 9(+32%)***	53 $\pm$ 11(+51%)***

\* $p > 0.05$ ; \*\* $p < 0.05$ ; \*\*\* $p < 0.01$

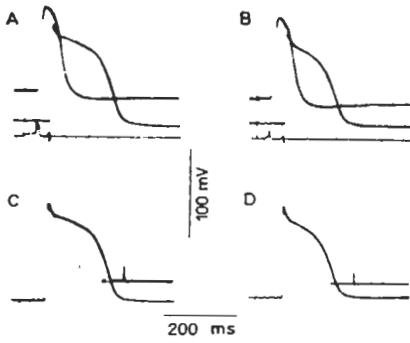


Fig 1. Effect of diltiazem on action potential configuration of upper atrioventricular nodal (AN) cell and nodal-His (NH) cell. A,B) upper tracing; AN cell; middle tracing; NH cell; lower tracing; His bundle electrogram. C,D) left tracing; NH cell; right tracing;  $\dot{V}_{max}$ . A,C) control; B,D) after diltiazem ( $1.12 \mu\text{mol/L}$ ).

0.56 和  $1.12 \mu\text{mol/L}$  分别增加 17, 22 和 33%。4 相 slope 及  $\text{APD}_{95}$  在 3 个浓度药物灌流后均未发生明显变化。CART 则随药物浓度增加而显著延长在 0.28 和  $1.12 \mu\text{mol/L}$  作用下较对照分别增加 40 和 124%。图 2 为测定 CART 的一次实验记录, diltiazem  $0.28 \mu\text{mol/L}$  作用后 AVN 自律恢复时间即显著延长。而 ERP 在 0.56 和  $1.12 \mu\text{mol/L}$  作用下分别延长 23 和 45%。后者的 ERP 甚至超过  $\text{APD}_{95}$  值, 表现明显的复极后不应性。

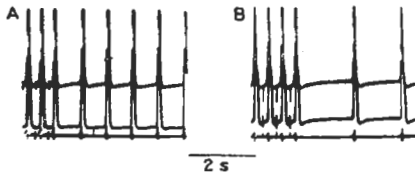


Fig 2. Effect of diltiazem on corrected atrioventricular nodal recovery time (CART). upper tracing; AN cell; middle tracing; NH cell; lower tracing; His bundle electrogram. A) control; B) after diltiazem ( $0.28 \mu\text{mol/L}$ ).

**对 NH 细胞的作用** 用第二根微电极记录了 AVN 与 His 束交界处 NH 细胞的 AP。图 1 A,B 的中间描记以及 C,D 的描记为 NH 细胞典型 AP 波形。图 1 左侧(A,C)为对照期, 右

侧(B,D)为给药后描记。在 3 种浓度 diltiazem 的依次作用下, A-H 传导时间以及 NH 细胞 AP 各指标的变化归纳于表 1。diltiazem 作用后, 与对照组比较 APA 未发生改变。 $\dot{V}_{max}$  在 0.56 和  $1.12 \mu\text{mol/L}$  时明显下降分别为 17% 和 20%。 $\text{APD}_{50}$  和  $\text{APD}_{95}$  都从  $0.56 \mu\text{mol/L}$  时开始减小, 两者的下降%率相近。将图 1 的描记 D 与 C 比较, 也可看出 APD 缩短的趋势。ERP 与 A-H 传导时间的增加在所有指标中最为明显, 而且都是浓度依赖性的。与对照期相比, 浓度为 0.28, 0.56 和  $1.12 \mu\text{mol/L}$  时, 使 ERP 分别增加 7, 32 和 66%, A-H 分别增加 14, 32 和 51%。 $1.12 \mu\text{mol/L}$  时 ERP 超过  $\text{APD}_{95}$  值, 也表现明显的复极后不应性。

**对 AVN 区细胞 AP 快速自动发放的作用** 测定 ERP 时,  $S_1-S_2$  间隔逐渐缩短至接近 AN 细胞 AP 的易损期, 可在少数 AVN 标本上用单个  $S_2$  诱发 AP 的快速自动发放。共在 3 个标本上诱发了这种自动发放。 $S_1-S_2$  的间隔为  $105 \pm 15 \text{ ms}$ , 自动发放频率为  $233 \pm 26 \text{ bpm}$ , 持续时间从数十 s 至数 min。图 3 是

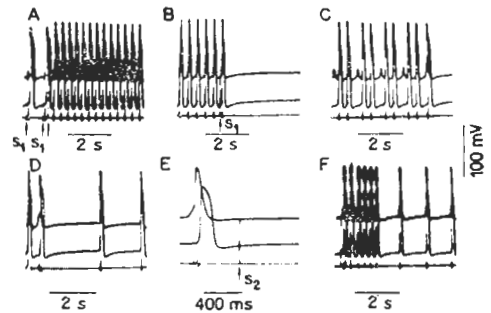


Fig 3. Effect of diltiazem on rapid automatic discharge of AP in AVN-His bundle area. upper tracing; AN cell; middle tracing; NH cell; lower tracing; His bundle electrogram. A) control, automatic discharges of AP induced by  $S_2$ . B) control, automatic discharges ceased by a single shock of  $S_1$ . C) control, automatic discharges stopped spontaneously. D,E) after diltiazem ( $1.12 \mu\text{mol/L}$ ) automatic discharges are no longer induced by  $S_2$ . F) after washout 90 min, automatic discharges can be re-induced by  $S_2$  but lasting only a few impulses.

是一只标本上自动发放记录。A为在对照期用 $S_2$ 诱发的自动发放,第1,2个箭头所指为驱动刺激 $S_1$ ,第3个箭头为 $S_2$ 。给单个 $S_2$ 后立即停止 $S_1$ 驱动,可见AP的快速发放自动进行。快速发放波及AN细胞(图3上方描记)、NH细胞(中间描记)以及AVN-His束附近的心房肌(下方心房His束电图)。这种发放可用单个 $S_1$ 中断(图3B),也可自动停止(图3C)。Diltiazem能够有效地制止这种自动发放,图3,D和E是 $1.12\mu\text{mol/L}$ 作用后用 $S_2$ 测试不再诱发自动发放的记录。用台氏液冲洗标本90min,用 $S_2$ 测试仍可引起自动发放,但持续数个脉冲即转正常AVN节律(图3F),说明有残存药效。冲洗120min后能再诱发较长时间的快速发放。说明自动发放的制止是药物的作用,不是标本疲劳。上述3例自动发放经diltiazem灌流后皆被制止。

## 讨 论

前人证明<sup>(6,9)</sup>diltiazem能延长犬和兔AVN的ERP与A-V传导时间,至于对AVN细胞AP其它参数的影响尚未见报道。Diltiazem不仅降低人和兔窦房结自搏频率<sup>(8,9)</sup>,本实验证明,无窦房结控制时还降低兔AVN自搏频率。虽然AN细胞4相slope未相应减小,但AVN的刺激阈值却从 $0.56\mu\text{mol/L}$ 灌流后明显升高(表1),可能是自搏频率降低的因素之一。CART的延长则更为明显, $0.28\mu\text{mol/L}$ 即比对照延长40%,至 $1.12\mu\text{mol/L}$ 可高达124%。高频驱动后CART的延长,是由于自律细胞内 $[\text{Na}^+]_i$ 和 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的积聚和内源性ACh的释放等因素综合造成<sup>(10)</sup>,diltiazem加强了这些因素的作用,导致AVN自律性的明显降低。

AN细胞的ERP $0.56\mu\text{mol/L}$ 已显著延长,但并不伴有 $\text{APD}_{95}$ 的延长。 $1.12\mu\text{mol/L}$ 作用后 $\text{ERP} > \text{APD}_{95}$ ,表现明显复极后不应性。从图3E中可清楚看出, $S_2$ 作用时复极早已完成,但不引起反应。说明复极虽已完成但

快速钠通道可能仍处于失活状态,未进入备用状态,不易被激活。

NH细胞AP波形类似浦氏纤维,都有坪期,主要由 $\text{Ca}^{2+}$ 缓慢内流造成。在diltiazem作用下 $\text{APD}_{50}$ 显著缩短,说明 $\text{Ca}^{2+}$ 内流受阻。此外 $\text{APD}_{95}$ 的缩短可能也受 $\text{APD}_{50}$ 缩短的影响。同样浓度的diltiazem使NH细胞的 $\dot{V}_{\text{max}}$ 明显下降而未足以使AN细胞的 $\dot{V}_{\text{max}}$ 下降。一方面可能浓度不够,另一方面提示NH细胞AP快速 $\text{Na}^+$ 通道对diltiazem有特殊敏感性。我们用同样浓度diltiazem在狗心室肌与浦氏纤维上未观察到 $\dot{V}_{\text{max}}$ 的降低(未发表资料),更说明近端His束细胞的这一特性。文献报道<sup>(11)</sup>,verapamil与bepridil对豚鼠乳头状肌与浦氏纤维AP的快速 $\text{Na}^+$ 通道也有抑制作用,diltiazem和nifedipine则无作用。至于这些 $\text{Ca}^{2+}$ 阻断剂对NH细胞快速 $\text{Na}^+$ 通道的影响如何,迄今未见报道。由于diltiazem明显降低NH细胞的 $\dot{V}_{\text{max}}$ ,又由于 $\text{Ca}^{2+}$ 阻断剂对各种 $\text{K}^+$ 通道无作用<sup>(11)</sup>,则APD的缩短不仅因 $\text{Ca}^{2+}$ 内流受阻,还可能包括坪期对TTX敏感的 $\text{Na}^+$ 窗流(window current)<sup>(12)</sup>的受抑。

在diltiazem作用下,NH细胞ERP延长在 $0.28\mu\text{mol/L}$ 灌流时即已出现,此时AN细胞ERP尚未有明显变化。在ERP测试过程,NH细胞先AN细胞进入不应期,药物作用后此效应更为明显(图4,B,E)。

比较表1AN和NH的数据,AN细胞8项指标有4项受diltiazem影响,而NH细胞6项指标有5项发生变化。可以认为,在 $0.28\text{--}1.12\mu\text{mol/L}$ diltiazem作用下,NH细胞AP各参数较AN细胞更为敏感。此点值得引起用药者注意,临床上应用此类药物(如verapamil,diltiazem)剂量过大时易发生房室传导阻滞,可能与NH细胞机能活动首先受损有关。

兔AVN机能性双重传导通路的存在<sup>(13)</sup>,使此区呈现传导不均匀性,用适宜期前刺激可在少数标本上诱发折返性电发放。这种自动发

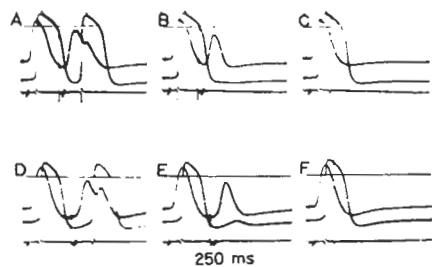


Fig 4. Effect of diltiazem on ERP of AN and NH cells. A to C) control; S<sub>1</sub>-S<sub>2</sub>: A = 150 ms; B = 140 ms; C = 100 ms. D to F after diltiazem (0.56 μmol/L); S<sub>1</sub>-S<sub>2</sub>: D = 200 ms; E = 188 ms; F = 105 ms.

放较正常自搏频率约快 2-3 倍, 乃是 AVN 区室上性心动过速的电生理基础。在正常台氏液灌流条件下, 这种自动发放的诱发并不多见。本实验用 S<sub>1</sub>-S<sub>2</sub> 间隔适宜的 S<sub>2</sub> 在 3 例 AVN 标本诱发了 AP 的快速自动发放。经 1.12 μmol/L diltiazem 灌流后, 皆被制止, 其机制可能由于 diltiazem 显著延长 ERP 与 A-H 传导时间, 缩小了 AVN 区的传导不均匀性, 使来自心房的期前刺激落在 AVN 和 His 束的不应期, 从而阻断折返通路, 制止自动发放的产生。临床上 diltiazem 有效控制 AVN 区折返性心动过速的细胞电生理机制可能就在于此。

### 参 考 文 献

- 1 Peter T, Fujimoto T, Hamamoto H, McCullen A, Mendel WJ. Electrophysiologic Effect of diltiazem in canine myocardium, with special reference to conduction delay during ischemia. *Am J Cardiol* 1982; 49 : 602
- 2 Rozenthal S, Ginsburg R, Lanb I, Baim D, Schroeder J. Efficacy of diltiazem for control

- of symptoms of coronary arterial spasm. *Ibid* 1980; 46 : 1027
- 3 Ellrodt G, Chew CYC, Singh BN. Therapeutic implications of slowchannel blockade in cardiocirculatory disorders. *Circulation* 1980; 62 : 669
- 4 Henry PD. Comparative pharmacology of calcium antagonists: nifedipine, verapamil, and diltiazem. *Am J Cardiol* 1980; 46 : 1047
- 5 Tritthart HA, Koidl B. Diltiazem effects on cardiac impulse generation. *Drug Develop Evaluat* 1983; 9 : 53
- 6 Kawai C, Konishi T, Matsuyama E. Comparative effects of three calcium antagonists, diltiazem, verapamil and nifedipine, on the sinoatrial and atrioventricular nodes. *Circulation* 1981; 63 : 1053
- 7 Rozanski JJ, Zaman L, Castellanos A. Electrophysiologic effects of diltiazem hydrochloride on supraventricular tachycardia. *Am J Cardiol* 1982; 49 : 621
- 8 Bretag A. Synthetic interstitial fluid for isolated mammalian tissue. *Life Sci* 1969; 8 : 319
- 9 Mitchell LB, Schroeder, J, Mason JW. Comparative clinical electrophysiologic effects of diltiazem, verapamil and nifedipine : a review. *Am J Cardiol* 1982; 49 : 629
- 10 吴瑞林, 颢炎平, 朱思明, 葛志恒. 兔右房超速驱动后阻抑机制的初步探讨. *生理学报* 1984; 36 : 358
- 11 Sperelakis N. Effects of calcium slow channel blockers on the slow action potentials of cardiac muscle and vascular smooth muscle. In: Sperelakis N, ed. *Calcium antagonists*. Boston: Martinus Nijhoff Publ, 1984; 21
- 12 Attwell D, Cohen I, Eisner D, Ohba M, Ojeda C. The steady state TTX-sensitive ("Window")sodium current in cardiac Purkinje fibres. *Pflügers Arch* 1979; 379 : 137
- 13 Mendez C, Moe GK. Demonstration of a dual A-V nodal conductive system in the rabbit heart. *Circ Res* 1966; 19 : 378

## Effects of diltiazem on action potentials of atrioventricular node and bundle of His cells in rabbit heart

GAO Tian-li<sup>1</sup>, Jochen SENGES

(Department of Cardiology, University of Heidelberg, 6900 Heidelberg, FR Germany)

**ABSTRACT** By microelectrode techniques, the electrophysiological effects of the calcium channel blocking agent diltiazem on isolated rabbit AV node and His bundle preparations were studied. Diltiazem (0.28 to 1.12  $\mu\text{mol/L}$ ) had no effect on APA and  $\dot{V}_{\text{max}}$  of upper AV nodal cells (AN). The drug caused a dose-dependent increase in stimulation threshold as well as corrected AVN recovery time and AVN spontaneous rate decreased. ERP of AN cell was significantly prolonged by diltiazem without any change in  $\text{APD}_{95}$  exhibiting obvious post-repolarization refractoriness.

Nodal-His (NH) cells were more sensitive to diltiazem than AN cells.  $\dot{V}_{\text{max}}$  was decreased,  $\text{APD}_{50}$  and  $\text{APD}_{95}$  were shortened, ERP and A-H conduction time were lengthened by diltiazem, while APA remained the same as control. After the action of 1.12  $\mu\text{mol/L}$  diltiazem, the pro-

longed ERP was greater than that of  $\text{APD}_{95}$ , also exhibiting post-repolarization refractoriness.

In 3 preparations, the rapid automatic discharges of AP were induced by adequate premature stimulus, thus providing the basis for AVN reentrant tachycardia. After perfusion of 1.12  $\mu\text{mol/L}$  diltiazem, the rapid automatic discharges were all suppressed for the prolongation of conductance and refractoriness in AVN and NH cells, diminished the heterogeneous conductivity and interrupted reentrant circus excitation within this area.

**KEY WORDS** diltiazem; atrioventricular node; bundle of His; action potentials; refractory period

<sup>1</sup>Now in: Section of Physiology, Department of Biology, Peking University, Beijing 100871, China.