

535-537

蝙蝠葛碱对豚鼠心室乳头状肌动作电位及慢内向离子流的影响

李胜男¹, 张克义 (中国医科大学药理教研室, 沈阳 110001, 中国)

12972.2

Effects of dauricine on action potentials and slow inward currents of guinea pig ventricular papillary muscles

关键词 蝙蝠葛碱; 乳头状肌; 异丙肾上腺素; 动作电位; 离子通道; 电生理学

LI Sheng-Nan¹, ZHANG Ke-Yi
(Department of Pharmacology, China Medical University, Shenyang 110001, China)

ABSTRACT Effects of dauricine (Dau) on the action potentials (AP), the slow action potentials (SAP), and the slow inward currents (I_{si}) of guinea pig ventricular papillary muscles were observed by means of intracellular microelectrode and single sucrose gap voltage clamp technique. In the early stage, Dau shortened action potential duration 100 (APD₁₀₀) and effective refractory period (ERP) (ERP/APD < 1; $P < 0.01$), but did not affect APD₂₀ and other parameters. In the late stage, Dau prolonged APD₁₀₀, ERP, and APD₂₀, significantly decreased action potential amplitude (APA), maximum velocity (V_{max}), and overshoot (OS) (ERP/APD > 1; $P < 0.01$), greatly diminished APA and OS of SAP induced by isoprenaline ($P < 0.01$), and remarkably inhibited I_{si} ($P < 0.01$). The results suggested that Dau exerted an inhibitory effect on Na⁺, Ca²⁺, and K⁺ channels.

KEY WORDS dauricine; papillary muscles; isoproterenol; action potentials; ion channels; electrophysiology

摘要 本文用胞内微电极技术及单蔗糖间隙电压钳制技术综合观察了 Dau 对豚鼠心室乳头状肌电生理的影响。结果发现, Dau 使 APA 和 V_{max} 分别从 125 ± 11 mV 和 137 ± 38 V · s⁻¹ 减至 117 ± 9 mV 和 79 ± 28 V · s⁻¹, 对 APA 及 ERP 先缩短后延长; 使 SAP 幅度从 63 ± 12 mV 降至 11 ± 8 mV, 使 I_{si} 值减小了 $63 \pm 12\%$ 。结果确证了 Dau 的快、慢通道阻滞特性。

蝙蝠葛碱 (dauricine, Dau) 已试用于临床, 有较好的抗心律失常作用⁽¹⁾, 从 Dau 对豚鼠心室乳头状肌细胞动作电位(AP)的影响推论, Dau 为一广谱抗心律失常药, 对多种离子通道都有抑制作用⁽²⁾。为了探明 Dau 抗心律失常机制, 除观察 Dau 对 AP 的影响外, 还单独观察它对慢反应动作电位(SAP)的影响, 用单蔗糖间隙电压钳制技术研究它对较纯通道(慢通道)的作用。

MATERIALS AND METHODS

AP 实验 将 223 ± 19 g 豚鼠(♀♂不拘)击昏后取心, 在通 O₂ 台氏液中, 剪开左、右心室, 取下乳头状肌, 固定于通 O₂ 台氏液循环灌流的浴槽, 给予 1 ms, 1 Hz, 150% 阈强度的方波刺激, 稳定 1 h, 启动微电极推进器, 将内充 KCl 3 mol · L⁻¹ 的玻璃微电极插入细胞内, 引出 AP, 示波器监测, 连续相机记录。

SAP 实验 标本及方法同上, 引出 AP, 将台氏液中 K⁺ 浓度抬高至 25 mmol · L⁻¹, Na⁺ 浓度相应降低, 待除极至 -45 mV 左右且稳定之时, 用异丙肾上腺素(isoproterenol, Iso)诱发出 SAP, 监测记录同上。

单蔗糖间隙电压钳制技术 豚鼠处置办法同上, 剪开左、右心室, 寻找尖端直径 0.5 mm 以下, 根部直径 1 mm 以下, 无分枝的乳头状肌作为标本, 使其贯穿钳制浴池的左、中、右三个池, 并用钢针固定于右池, 三池均用通 O₂ 台氏液灌流, 给予 1 ms, 1 Hz, 150% 阈强度的方波刺激, 稳定 1 h 后, 将左、中池灌流液分别换为高 K⁺ 台氏液和蔗糖液, 右池不变, 同时监测跨膜间隙电位(V_g)变化, 待其达到最大值(约 60-90 mV)且稳定时启动 PF-5-1 型微电极推

Received 1990-10-13

Accepted 1992-07-01

¹ Now in Department of Pharmacology, Jiangxi Medical College, Nanchang 330006, China.

进器, 将玻璃微电极插入右池中的肌细胞内, 记录稳定状态下的 AP. 置保持电位(E_h)为-40 mV, 指令电位(E_c)为-20 mV, 钳制时间(T_c)为 500 ms, RLG-6201 型相机记录.

Dau 由鞍山第一制药厂提供; 以上仪器均为日本光电公司生产.

RESULTS

Dau 对豚鼠心室乳头状肌细胞 AP 的影响

Dau $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 使 APA, OS 及 V_{max} 明显减小; 并显著延长 APD 和 ERP, 但作用早期一过性缩短 APD 及 ERP (Fig 1, Tab 1), 不影响其它参数.

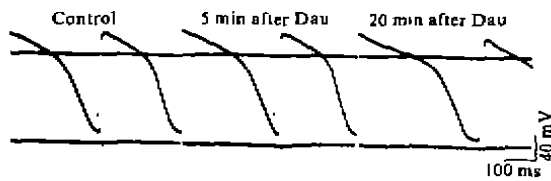


Fig 1. Effects of dauricine $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on action potentials of guinea pig ventricular papillary muscles. Upper tracing: O potential, Middle: AP, Lower: V_{max} .

Dau 对豚鼠心室乳头状肌细胞 SAP 的影响

用高 K^+ (KCl $25 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 台氏液使细胞除极至 -45 mV 左右, 然后用 Iso $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 诱发出 SAP, 其特点为 O 相幅度

小, 斜度大, 静息电位绝对值小. Dau $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用 20 min 时明显抑制 SAP, 5 min 时无明显作用 (Tab 1, Fig 2).

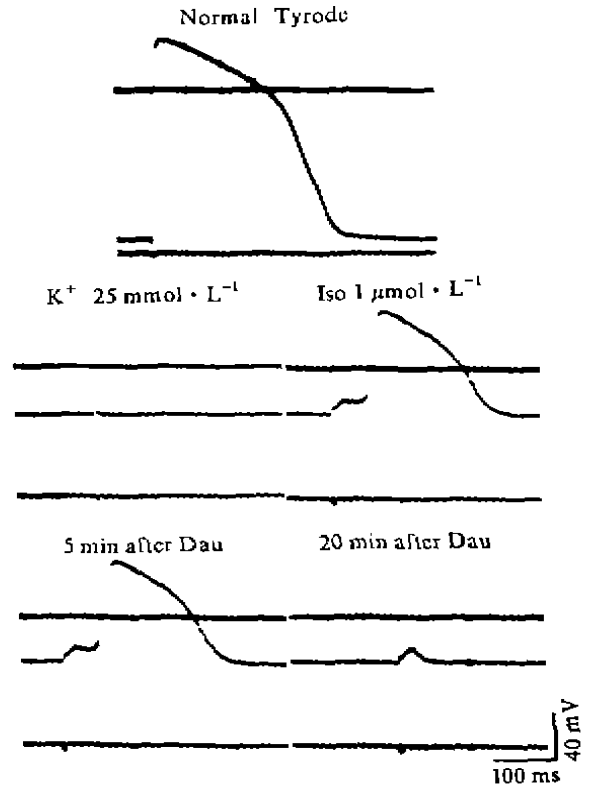


Fig 2. Effects of dauricine $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on slow action potentials of guinea pig ventricular papillary muscles. Upper tracing: O potential, Middle: AP, Lower: V_{max} , Iso: isoproterenol.

Tab 1. Effects of dauricine $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on the action potentials and the slow action potentials of guinea pig ventricular papillary muscles. $\bar{x} \pm s$. * $P > 0.05$, *** $P < 0.01$ vs control.

	Action potentials (n=13)			Slow action potentials (n=7)		
	Control	5 min	20 min	Control	5 min	20 min
RP/mV	87 ± 5	$88 \pm 5^*$	$88 \pm 6^*$	42 ± 7	$41 \pm 8^*$	$42 \pm 7^*$
OS/mV	34 ± 4	$34 \pm 5^*$	$29 \pm 5^{***}$	21 ± 11	$22 \pm 8^*$	0^{***}
APA/mV	125 ± 11	$122 \pm 6^*$	$117 \pm 9^{***}$	63 ± 12	$63 \pm 10^*$	$11 \pm 8^{***}$
$V_{\text{max}}/V \cdot s^{-1}$	137 ± 38	$130 \pm 41^*$	$79 \pm 28^{***}$			
ERP/ms	263 ± 28	$245 \pm 33^{***}$	$322 \pm 55^{**}$			
APD ₂₀ /ms	63 ± 17	$62 \pm 17^*$	$75 \pm 20^{**}$			
APD ₁₀₀ /ms	285 ± 34	$274 \pm 34^{**}$	$328 \pm 52^{**}$	240 ± 20	$239 \pm 22^*$	$40 \pm 5^{***}$
ERP/APD	1	0.96	1.07			

Dau 对豚鼠心室乳头状肌细胞慢内向离子流的影响 用 Dau $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 灌流标本, 20 min 时 I_{si} 值减小了 $63 \pm 12\%$, 5 min 时无明显改变(Fig 3).

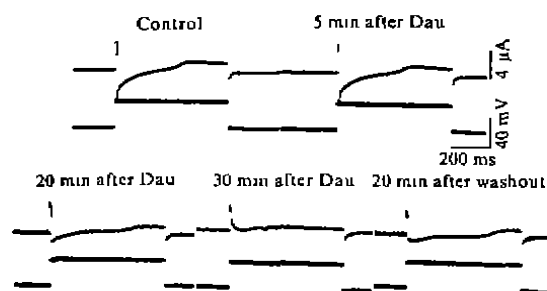


Fig 3. Effects of dauricine $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on slow inward currents of guinea pig ventricular papillary muscles. Upper tracing: I_{m} ; Lower: V_{m} ; E_{h} -40 mV , E_{c} -20 mV , T_{c} 500 ms .

DISCUSSION

AP 实验稳定, 条件易控制. 单蔗糖间隙电压钳制技术空间钳制较满意, 适合于 I_{si} 电流的准确测定⁽³⁾. 本实验精选了乳头状肌标本, 并且实验严格控制在 1-1.5 h 内完成, 明显减少了串联电阻(R_{s})和漏电流(leakage current, IL)⁽⁴⁾的影响. 本文所引出的较小内向电流波形与文献⁽⁸⁾报道的 I_{si} 相符.

本实验所用 Dau 浓度与文献⁽²⁾相近. 发现 Dau 能明显减少 APA 和 V_{max} . 心肌细胞动作电位的 O 相上升的幅度及速度主要是由 Na^+ 经快通道内流所致, 若该电流受阻, 则 APA 及 V_{max} 均降低, 因此可见 Dau 能显著抑制快通道(Na^+ 通道). 另外, Dau 明显减小 SAP 及 I_{si} , 说明 Dau 也能明显抑制 Ca^{2+} 经慢通道内流. 因为本实验将台氏液中 K^+ 浓度增高($25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 异丙肾上腺素诱发出 SAP^(5,6) 及本实验钳制条件下所引出的 I_{si} ⁽⁷⁻⁹⁾ 皆主要为 Ca^{2+} 经慢通道跨膜流动所致. 此结果可说明文献⁽²⁾报道 Dau 抑制心肌收缩力作用是与影响心肌细胞 Ca^{2+} 跨膜转运有关.

此外, 本实验发现 Dau 作用早期仅一过性缩短 APD_{100} 及 ERP, 表明 Dau 在作用早期能促进 K^+ (I_{K1}) 外流, 使复极 3 期缩短, 但随作用时间的延长却抑制 K^+ 外流导致 APD 延长, ERP 也随之延长. 同时 Dau 使 APD_{20} 明显延长, 这也与抑制 K^+ 外流有关.

综上所述, 可见 Dau 对心肌细胞膜的 Na^+ , Ca^{2+} , K^+ 的转运均有抑制作用, 这是 Dau 抗心律失常作用的基本机制.

ACKNOWLEDGMENTS 中国医科大学药理教研室李金鸣副教授和于艳凤老师给予技术上协助.

REFERENCES

- 1 Feng KY, Zhou JA, Gong PL, Chen H, Yang ZJ, Hu CJ. Clinical observation of sustained arrhythmias treated with dauricine. *Chin J Cardiol* 1984; 12: 265-7.
- 2 Zong XG, Jin MW, Zhao DY, Hu CJ, Lu FH. Effects of dauricine on electrical and mechanical activities in isolated guinea pig myocardium. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6: 30-3.
- 3 Beeler GW, Reuter H. Membrane calcium current in ventricular myocardial fibres. *J Physiol* 1970; 207: 191-209.
- 4 Beeler GW, McGuigan JAS. Voltage clamping of multicellular myocardial preparations: capabilities and limitations of existing methods. *Prog Biophys Mol Biol* 1978; 34: 219.
- 5 Sperelakis N. Properties of calcium-dependent slow action potentials, their possible role in arrhythmias. In: Opie LH, editor. *Calcium antagonists and cardiovascular disease*. NY: Raven, 1984: 277-91.
- 6 Pappano AJ. Calcium-dependent action potentials produced by catecholamines in guinea pig atrial muscle fibers depolarized by potassium. *Circ Res* 1970; 27: 379-90.
- 7 Reuter H, Scholz H. A study of the ion selectivity and the kinetic properties of the calcium dependent slow inward current in mammalian cardiac muscle. *J Physiol* 1977; 264: 17-47.
- 8 Naoki H, Rikuo O. Effect of acetylcholine on membrane currents in guinea-pig papillary muscle. *J Physiol* 1980; 307: 183-97.
- 9 Sun XD, Li JM, Tian LJ, Wang YP, Yu YF, Zhang KY. Effect of berberine on slow inward ionic current in guinea pig ventricular papillary muscle. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10: 130-4.