

对氯汞苯甲酸钠诱发的豚鼠心室乳头状肌迟发性后去极化¹

董琍雯、刘泰柱 (北京大学生物系生理学教研室, 北京 100871)

提要 巯基抑制剂 PCMB 60 $\mu\text{mol/L}$, 使豚鼠心室乳头状肌的 RP 降低, APA 减小, APD 缩短, V_{max} 下降并产生 DAD. 在 PCMB 存在下加入 Ti^+ 至 2 mmol/L 或将 K^+ 浓度由原来的 3 增至 6 mmol/L, 能使 DAD 幅度减小或消失. 由于 PCMB 所诱发的 DAD 可被钠泵的激动作用所抵消, 提示这种 DAD 可能是钠泵高度受抑制所引起.

关键词 巯基试剂; 对氯高汞苯甲酸钠; 乳头状肌; 膜电位; 动作电位

迟发性后去极化(delayed afterdepolarization, DAD)是发生在动作电位复极化终止后的瞬时性或振荡性去极化. DAD 可在心脏的特殊纤维或工作细胞上由多种因素引起⁽¹⁻⁴⁾. 一般认为, 原因之一是中毒剂量的强心甙抑制了心肌细胞膜上的钠钾泵($\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$). 其可能的机理已由钱永佑等进行了讨论^(5,6).

对氯汞苯甲酸盐(*p*-chloromercuribenzoate, PCMB) 20 $\mu\text{mol/L}$ 能使豚鼠离体左心房产生明显的正性肌力作用^(7,8), 相似浓度的 PCMB 能明显抑制钠负荷的心室肌薄片对哇巴因敏感的 ^{86}Rb 的摄取⁽⁷⁾, 因此认为 PCMB 的正性肌力作用与钠泵的抑制作用有关.

本文研究中毒剂量的 PCMB 诱发 DAD 的可能性以及钠泵激动剂 K^+ , Ti^+ 对 DAD 的影响.

方 法

豚鼠 20 只, 体重 $319 \pm \text{SD } 47 \text{ g}$, $\text{♀} \text{♂}$ 不拘. 击昏后取心, 在通有 95% $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ 的台氏液中分离出右心室乳头状肌, 将其固定在容量为 2 ml 的浴槽中, 台氏液成分 (mmol/L) 如下: $\text{NaCl } 137$, $\text{KCl } 3$, $\text{MgCl}_2 \text{ } 0.5$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \text{ } 1.8$, $\text{NaHCO}_3 \text{ } 12$, $\text{CaCl}_2 \text{ } 2.7$, 葡萄糖 11, 溶液 pH 为 7.2-7.4, 浴温 $36.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 灌流速度约 10 ml/min, 稳定 1 h 后开始实验.

用波宽为 1 ms 的方波作单极刺激, 强度为阈强度的 1.5 倍, 刺激基础周长(basic cycle length, BCL)为 1000 ms. 当观察后电位时, 每 10 次刺激后停止 3 s. 在部分实验中观察了不同的 BCL (1000, 500, 200 ms) 对后电位的影响.

用充以 $\text{KCl } 3 \text{ mol/L}$ 的玻璃微电极(电阻值为 20-50 $\text{M}\Omega$) 插入心肌细胞, 电信号经微电极放大器(日本光电 MEZ-8201) 放大后输到示波器(SBR-1) 显示, 同时输到磁带记录器(FE-30 A-20, SONY) 记录, 所得结果用信号处理

1987年3月10日收稿 1987年8月30日接受

¹ 国家自然科学基金资助项目 No 94

机(7 T 17-S, NEC, San-ei)进行测量和计算。

对氯汞苯甲酸(*p*-chloromercuric benzoic acid, PCMB)系联邦德国 Carl Roth 公司生产,溶于少量 0.1 mol/L NaOH 中,加蒸馏水配成 3 mmol/L 备用,实验时用台氏液稀释至所需浓度。

结 果

PCMB 对豚鼠乳头状肌膜电位的影响 用含有 PCMB 60 $\mu\text{mol/L}$ 的台氏液灌流标本,5 min 后即引起 RP 和 APA 的明显降低。10 min 后,APD 明显缩短,其中 APD₃₀ 和 APD₅₀ 的变化更为显著。20 min 后,一切参数均有非常显著的变化,见表 1。

PCMB 诱发豚鼠乳头状肌产生 DAD 用 PCMB 60 $\mu\text{mol/L}$ 灌流时,随着 RP 的逐渐降低,在动作电位复极化后可产生振荡性的 DAD,其发展过程见图 1。据 20 个标本统计,DAD 的发生率在 5 min 后为 20%,10 min 后为 40%,20 min 后为 80%,30 min 后为 95%。DAD 发生时的静息电位水平为 $-75 \pm 9 \text{ mV}$ ($n=19$)。

PCMB 诱发的 DAD 与刺激周长(BCL)有关,即当 BCL 降低时,DAD 的幅度增大。当 DAD 的幅度达到阈电位水平时,可引起一个触发冲动,后面仍跟随有阈下的 DAD,见图 2。

用 PCMB 60 $\mu\text{mol/L}$ 灌流 20 min 的 10 次结果表明,当 BCL = 1000 ms 时,DAD 的幅度

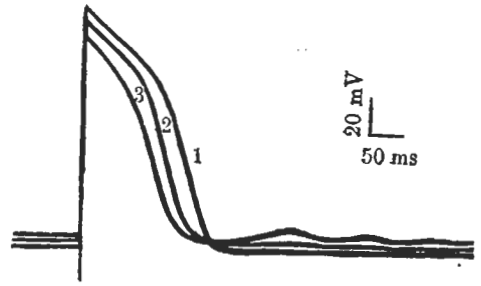


Fig 1. Development of delayed afterdepolarization induced by PCMB 60 $\mu\text{mol/L}$ in a guinea pig papillary muscle cell. 1) Control; 2) After 10 min showing reductions of RP, APA, and APD; 3) After 20 min showing further reductions of RP, APA and APD, and the DAD appeared finally.

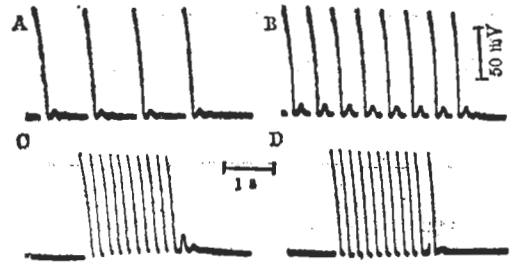


Fig 2. Effect of basic cycle length (BCL) on amplitude of DAD. A) BCL = 1000 ms, DAD = 7.5 mV; B) BCL = 500 ms, DAD = 9.3 mV; C) BCL = 200 ms, DAD = 15 mV; D) BCL = 200 ms, DAD reached the threshold and a nondriven (triggered) impulse arose.

为 $5.8 \pm 2.3 \text{ mV}$; BCL = 500 ms 时, DAD 的幅度为 $7.9 \pm 3.6 \text{ mV}$; BCL = 200 ms 时,有 40% 达到阈值而引起触发冲动。

Tab 1. Effects of sodium *p*-chloromercuribenzoate (PCMB) 60 $\mu\text{mol/L}$ on membrane potentials of guinea pig papillary muscles. $\bar{x} \pm \text{SD}$, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

	Control (n = 20)	5 min (n = 12)	10 min (n = 13)	20 min (n = 17)	30 min (n = 13)
APA(mV)	126 \pm 8	119 \pm 9**	116 \pm 13***	110 \pm 11***	105 \pm 11***
RP(mV)	-87 \pm 5	-83 \pm 6**	-82 \pm 8**	-76 \pm 9***	-76 \pm 8***
\dot{V}_{max} (V/s)	104 \pm 21	95 \pm 17*	95 \pm 23*	83 \pm 18***	82 \pm 15***
APD ₃₀ (ms)	114 \pm 31	95 \pm 19*	84 \pm 21***	72 \pm 16***	58 \pm 22***
APD ₅₀ (ms)	149 \pm 36	126 \pm 24*	115 \pm 24***	105 \pm 18***	92 \pm 25***
APD ₇₀ (ms)	172 \pm 39	151 \pm 29*	141 \pm 22**	133 \pm 20***	124 \pm 27***
APD ₉₀ (ms)	191 \pm 40	173 \pm 32*	164 \pm 20**	157 \pm 22***	153 \pm 26***

用不含 PCMB 的台氏液冲洗, 经 45 min 至 1 h 后, DAD 消失。

Tl⁺ 和 K⁺ 对 PCMB 诱发的 DAD 的影响
在 5 次实验中试验了 Tl⁺ 对 DAD 的影响, 在 PCMB 存在下加入 TINO₃ 至 2 mmol/L, 5 min 后, DAD 的幅度可降低 50-80%, 10 min 后 DAD 消失(图 3)。在 4 次实验中试验了 K⁺ 对 DAD 的影响, 溶液中的 K⁺ 浓度由原来的 3 mmol/L 增到 6 mmol/L 后, 10 min 可使 DAD 幅度降低 34-50%, 其中两例在 15 min 后 DAD 消失(图 3)。

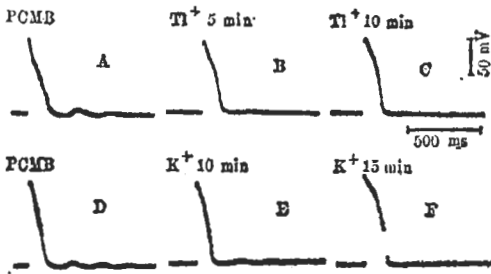


Fig 3. Effects of Tl⁺ and K⁺ on PCMB-induced DAD of guinea pig papillary muscles. A) 30 min after PCMB 60 μmol/L, B, C) After TINO₃ 2 mmol/L; D) 30 min after PCMB 60 μmol/L, E, F) After elevating KCl from 3 to 6 mmol/L.

讨 论

PCMB 是一种巯基抑制剂, 它能与蛋白质的巯基相结合而影响细胞膜上酶的功能⁽⁹⁾。PCMB 的正性肌力作用不是由于它促进了内源性去甲肾上腺素的释放, 而是由于它抑制了心肌细胞膜上的 Na⁺, K⁺ 泵^(7,8)。这一点与强心甙的作用相似。

本研究表明, 高浓度的 PCMB 也与中毒剂量的强心甙一样能诱发豚鼠心室乳头状肌产生 DAD, 这可能是由于 Na⁺ 泵高度受抑制所引起。

生电性的 Na⁺ 逐出可能在触发活动的自动终止中起重要作用⁽¹⁰⁾。本研究表明在 Na⁺ 泵受抑制的情况下加入 Na⁺ 泵激动剂(Tl⁺, K⁺)能使 DAD 的幅度降低或消失。

细胞外的 K⁺ 浓度能影响 Na⁺ 泵的活

性⁽¹¹⁾, 但位于细胞膜外表面的 K⁺ 结合点不完全只对 K⁺ 有选择性, 其它离子如 Tl⁺, Rb⁺, Cs⁺, NH₄⁺ 和 Li⁺ 等都能起激活作用, 其中 Tl⁺ 的作用较强^(12,13)。本实验的结果表明 Tl⁺ (2 mmol/L) 对 DAD 的抑制作用比 K⁺ (3 mmol/L) 所起的作用更强。

参 考 文 献

- 1 Cranefield PF. Action potentials, afterpotentials and arrhythmias. *Circ Res* 1977; 41 : 415
- 2 Rosen MR, Danilo P Jr. Digitalis-induced delayed afterdepolarizations. In: Zipes DP, Bailey JC, Elharrar V, eds. *The slow inward current and cardiac arrhythmias*. The Hague: Martinus Nijhoff, 1980 : 417-35
- 3 Karagueuzian HS, Katzung BG. Relative inotropic and arrhythmogenic effects of five cardiac steroids in ventricular myocardium: Oscillatory afterpotentials and the role of endogenous catecholamines. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 218 : 348
- 4 Hiraoka M, Okamoto Y, Sano T. Oscillatory afterpotentials in dog ventricular muscle fibers. *Circ Res* 1981; 48 : 510
- 5 Kass RS, Lederer WJ, Tsien RW, Weingart R. Role of calcium ions in transient inward currents and aftercontractions induced by strophanthidin in cardiac Purkinje fibers. *J Physiol (Lond)* 1978; 281 : 187
- 6 Tsien RW, Carpenter DO. Ionic mechanisms of pacemaker activity in cardiac Purkinje fibers. *Fed Proc* 1978; 37 : 2127
- 7 Temma K, Akera T, Ku DD, Brody TM. Sodium pump inhibition by sulfhydryl inhibitors and myocardial contractility. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1978; 302 : 63
- 8 Temma K, Akera T, Brody TM, Kondo H. Positive inotropic action of p-chloromercuribenzoate in isolated guinea pig heart: Influence of membrane stabilizing agents. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 217 : 708
- 9 Rothstein A. Sulfhydryl groups in membrane structure and function. In: Bronner F, Kleinzeller H, eds. *Current topics in membranes and transport*; vol 1. NY: Academic Press 1970 : 135-76
- 10 Wit AL, Cranefield PF, Gadsby DC. Electrogenic sodium extrusion can stop triggered

- activity in the canine coronary sinus. *Circ Res* 1981; 49 : 1029
- 11 Akera T, Brody TM. Myocardial membranes: Regulation and function of the sodium pump. *Annu Rev physiol* 1982; 44 : 375
- 12 Glitsch HG. Electrogenic Na pumping in the heart. *Ibid* 1982; 44 : 389
- 13 Eisner DA, Lederer WJ. The role of the sodium pump in the effects of potassium-depleted solutions on mammalian cardiac muscle. *J physiol (Lond)* 1979; 294 : 279

Acta Pharmacologica Sinica 1988 May; 9 (3) : 242-245

Sodium *p*-chloromercuribenzoate induced delayed after depolarizations of guinea pig papillary muscles

DONG Li-Wen, LIU Tai-Feng

(Section of physiology, Department of Biology, Peking University, Beijing 100871)

ABSTRACT Sulfhydryl inhibitor sodium *p*-chloromercuribenzoate (PCMB) 60 $\mu\text{mol/L}$ caused the reduction of resting potential (RP), action potential amplitude (APA), action potential duration (APD) and the maximal rate in rising the action potential (\dot{V}_{max}) of guinea pig papillary muscles. Finally the delayed afterdepolarization (DAD) occurred. The occurrence of DAD in 20 experiments were 20% after 5 min, 40% after 10 min, 80% after 20 min, 95% after 30 min treated with PCMB, respectively. The resting potential was $-75 \pm 9 \text{ mV}$ ($n = 19$) when the DAD occurred. The amplitude of DAD depended on the basic cycle length

(BCL), ie the amplitude of DAD enhanced by shortening the BCL. When it was large enough to bring the membrane potential to the threshold, a triggered impulse arose. Elevation of KCl from 3 to 6 mmol/L or addition of TlNO_3 2 mmol/L suppressed or abolished the DAD. Since the sodium pump activator (Tl^+ , K^+) counteracts PCMB-induced DAD, it is supposed that this DAD may be induced by severe sodium pump inhibition.

KEY WORDS sulfhydryl reagents; sodium *p*-chloromercuribenzoate; papillary muscles; membrane potentials; action potentials