

氯化铜对心肌慢反应电活动和哇巴因诱发的振荡后电位的影响¹

张社团、李孝光 (西安医科大学医学电子工程研究室, 西安 710033)

提要 用常规微电极技术,发现 CuCl_2 10-100 $\mu\text{mol/L}$ 使兔窦房结动作电位 APA 、 V_{max} 和 SP_4 减小, APD 缩短, SCL 延长; 使高 K^+ 除极慢反应动作电位 APA 、 V_{max} 降低, APD 缩短; 使哇巴因诱发 OAP 的阈浓度从对照的 $0.53 \pm 0.06 \mu\text{mol/L}$ 增大至 $1.76 \pm 0.25 \mu\text{mol/L}$, 并抑制哇巴因诱发的豚鼠乳头状肌自发电活动和 OAP 振幅。说明 Cu^{2+} 对心肌慢内向电流

有抑制作用。

关键词 氯化铜, 窦房结, 乳头状肌, 动作电位, 哇巴因

Cu^{2+} 可对抗由前列腺素引起的离体大鼠心脏心律失常⁽¹⁾, 口服铜盐可治疗室性早搏⁽²⁾。离体实验证明, Cu^{2+} 可抑制豚鼠窦房

1987年9月22日收稿 1988年4月12日接受

¹国家自然科学基金资助课题 No414

结自律性及心肌收缩力, 延长功能不应期, 缩短动作电位时程(待发表资料), 提示其可能阻滞 Ca^{2+} 通道。本文利用常规微电极技术, 观察 CuCl_2 对心肌慢反应电活动和哇巴因诱发的振荡后电位(OAP)的影响, 分析 Cu^{2+} 对慢通道的作用。

材 料 和 方 法

兔, 体重 $2.4 \pm \text{SD } 0.4 \text{ kg}$, ♀♂不拘, 击头致昏, 开胸取心, 在饱和氧的台氏液中制备窦房结标本⁽³⁾, 标本内膜面朝上, 用不锈钢针固定于容量为 3 ml 的灌流槽中, 用充氧台氏液循环灌流, 槽温 $36-37^\circ\text{C}$ 。

豚鼠, 体重 $276 \pm 22 \text{ g}$, ♀♂不拘, 击头处死, 开胸取心, 在饱和氧的台氏液中制备右心室乳头状肌标本, 固定于 3 ml 槽中, 以含 KCl 25 mmol/L 的充氧台氏液循环灌流, 向灌流液中加入 BaCl_2 0.5 mmol/L, 稳定 20 min 后, 即可引导慢反应电位。

动作电位(AP)记录采用玻璃微电极, 尖端直径 $< 0.5 \mu\text{m}$, 内充 KCl 3 mol/L, 电阻 10-30 M Ω 。AP 信号经 FW-2 型微电极放大器输入示波器上线, 其下线记录 AP 零相最大上升速率(V_{max})。在同一细胞内完成对照和药物作用的观察, 实验结果照相记录, 所得资料用配对 *t* 检验统计学处理。

氯化铜($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)由西安化学试剂厂生产, AR, 用蒸馏水配成 100 mmol/L 溶液。哇巴因(ouabain)由西德 Serva 公司生产。

结 果

CuCl_2 对兔窦房结电活动的影响 标本稳定 1 h 后, 按文献(4)方法找出优势起搏细胞, 待电位稳定后, 照相记录 AP 及其微分作为对照, 然后向灌流液中加 CuCl_2 10 $\mu\text{mol/L}$, 20 min 后, 窦房结搏动频率变慢, 动作电位振幅(APA), V_{max} 降低, 动作电位时程(APD)缩短, 4 相去极速率(SP_4)减小(表 1)。继续观察至 1 h, 7 例标本中 1 例搏动频率逐渐减慢,

AP 逐渐变小, 最后消失。4 例标本 1 h 后 AP 各参数与 20 min 时比较差异不显著。其余 2 例标本在 CuCl_2 作用 20 min 后改用正常台氏液灌流, 1 h 后 AP 各参数仅有部分恢复。 CuCl_2 50 $\mu\text{mol/L}$ 灌流标本时, 窦房结的自律性在 15 min 内完全消失。图 1 是 CuCl_2 对窦房结影响的一个实例。

Tab 1. Effects of CuCl_2 on action potentials of isolated rabbit sinoatrial node preparations and on Ca^{2+} -mediated action potentials of guinea pig papillary muscles in KCl-rich solution. $\bar{x} \pm \text{SD}$. *** $p < 0.01$

CuCl_2 (mmol/L)	Sinoatrial nodes (n=7)		Papillary muscles (n=9)	
	0	0.01	0	0.1
APA(mV)	62 ± 6	43 ± 9 ***	68 ± 7	42 ± 4 ***
APD ₅₀ (ms)	85 ± 4	68 ± 6 ***	184 ± 16	141 ± 12 ***
APD ₉₀ (ms)	—	—	265 ± 24	208 ± 19 ***
APD ₁₀₀ (ms)	177 ± 10	151 ± 8 ***	—	—
V_{max} (V/s)	1.9 ± 0.3	1.0 ± 0.3 ***	12 ± 4	5 ± 1 ***
SP_4 (mV/s)	58 ± 4	49 ± 3 ***	—	—
SCL(ms)	476 ± 27	529 ± 24 ***	—	—

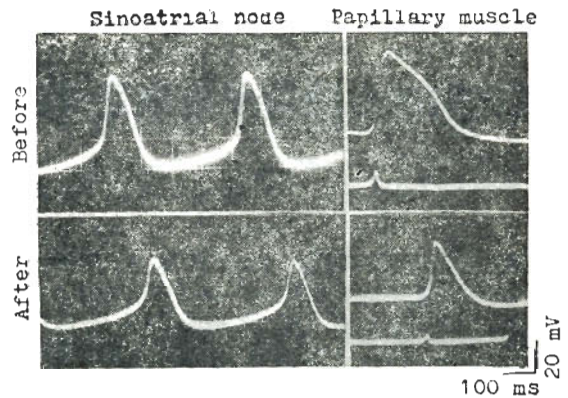


Fig 1. Action potentials of rabbit sinoatrial node and slow response action potentials of guinea pig papillary muscle before and 20 min after perfusion of CuCl_2 , 10 or 100 $\mu\text{mol/L}$.

CuCl₂ 对豚鼠乳头状肌慢反应动作电位的影响 在正常台氏液中,以频率 1 Hz 的刺激驱动标本,待标本稳定后,换以含 KCl 25 mmol/L 的台氏液灌注,10-30 min 后细胞静息电位(RP)降至约 -40 mV,此时,刺激不能引起 AP. 向灌流液中加入 BaCl₂ 0.5 mmol/L,10-20 min 后,观察到典型的慢反应电位,其 V_{max} 较小,APA 较低. 待电位稳定 30 min 后,向灌流液中加入 CuCl₂ 0.1 mmol/L,20 min 后,动作电位 APA 和 V_{max} 显著降低,APD₅₀、APD₉₀ 明显缩短(表 1). 在 7 例标本中,观察了 CuCl₂ 0.1 mmol/L 对高 K⁺ 除极慢反应细胞 RP 的影响,结果加 CuCl₂ 前 RP 为 -40±4 mV,加 CuCl₂ 后为 -37±4 mV,无显著性差别. 说明 CuCl₂ 作用下慢反应心肌细胞 AP 各参数的改变不是由于 RP 改变引起的继发结果. 图 1 是 CuCl₂ 对慢反应动作电位影响的一个实例.

CuCl₂ 对哇巴因诱发的豚鼠心室肌振荡后电位(oscillatory afterpotential, OAP)的影响 记录出稳定的 AP 后,向灌流液中加入哇巴因 0.43-1 μmol/L,10-20 min 后,在 19 例标本中,7 例出现高频率的自发电活动,12 例出现 OAP,表现为 AP 4 相不稳定,出现低振幅的无规律波动. CuCl₂ 0.1 mmol/L 可立即使高

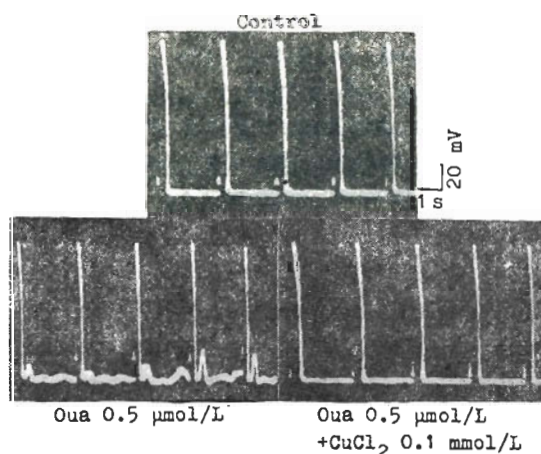


Fig 2. Effects of CuCl₂ 0.1 mmol/L on oscillatory afterpotentials induced by ouabain in isolated guinea pig papillary muscles.

频自发电活动停止,7 例标本中 CuCl₂ 均有效. CuCl₂ 0.1-0.5 mmol/L 作用 20 min 后,可明显抑制 OAP 的幅度,12 例标本中 4 例 OAP 消失(图 2).

在不给 CuCl₂ 的对照情况下,OAP 可持续存在 2 h 以上,预先给予 CuCl₂ 0.1 mmol/L,20 min 后加入哇巴因,计算引起 OAP 的用量,结果用量由对照的 0.53±0.06 μmol/L 增大至 1.76±0.25 μmol/L (n=15,p<0.001). 15 例标本中无 1 例出现自发电活动. 说明 Cu²⁺ 显著提高了哇巴因引起 OAP 的阈浓度.

讨 论

优势起搏细胞的起搏电流主要是 I_{si} 的激活⁽⁵⁾, I_{si} 由 Ca²⁺ 和 Na⁺ 携带⁽⁶⁾, CuCl₂ 抑制窦房结的自律性,降低 APA、V_{max}, 缩短 APD,提示 Cu²⁺ 可能抑制 I_{si}. 窦房结对 CuCl₂ 很敏感,如心室肌对 CuCl₂ 50 μmol/L 起反应,而窦房结在 CuCl₂ 10 μmol/L 作用下各项参数已明显发生变化,这和窦房结对抗钙剂敏感的理论⁽⁷⁾一致.

提高细胞外 K⁺ 浓度,使心肌细胞膜除极,钠通道失活⁽⁸⁾,这时的电位属慢反应电位,它在促进慢通道开放的条件下才能发生. 此时 AP 可能主要由 Ca²⁺ 荷载的慢内向电流所形成. 给予儿茶酚胺类药物或提高细胞外 Ca²⁺ 浓度都能加大这种 AP 幅度,而 Ca²⁺ 通道阻滞剂则使其降低⁽⁹⁾. CuCl₂ 能明显抑制这种慢反应电活动,显著降低 APA, V_{max}, 表明 Cu²⁺ 对 Ca²⁺ 通道有阻滞作用.

哇巴因抑制 Na⁺-K⁺-ATP 酶,使 Na⁺-Ca²⁺ 交换增加,细胞内 Ca²⁺ 超负荷,导致 OAP⁽¹⁰⁾. 提高台氏液中 Ca²⁺ 浓度可使 OAP 显著增高,而 Ca²⁺ 阻滞剂 Mn²⁺、甲氧维拉帕米等则可抑制 OAP^(10,11). CuCl₂ 抑制哇巴因诱发的高频自发电活动和 OAP 幅度,显著提高哇巴因诱发 OAP 的阈浓度,也说明 Cu²⁺ 有阻滞 Ca²⁺ 通道的作用. Cu²⁺ 抗心律失常的作用可能与其阻滞 Ca²⁺ 通道有关.

参 考 文 献

- 1 Swift A, Karmazyn M, Horrobin DF, *et al.* Low prostaglandin concentrations cause cardiac rhythm disturbances. Effect reversed by low levels of copper or chloroquine. *Prostaglandins* 1978; 15 : 651
- 2 Spencer JC. Direct relationship between the body's copper/zinc ratio, ventricular premature beats, and sudden coronary death. *Am J Clin Nutr* 1979; 32 : 1184
- 3 De Carvalho AP, De Mello WC, Hoffman BF. Electrophysiological evidence for specialized fiber types in rabbit atrium. *Am J Physiol* 1959; 196 : 483
- 4 Kreitner D. Electrophysiological study of the two main pacemaker mechanisms in the rabbit sinus node. *Cardiovasc Res* 1985; 19 : 304
- 5 Noma A, Morad M, Irisawa H. Does the "pacemaker current" generate the diastolic depolarization in the rabbit SA node cells? *Pflugers Arch* 1983; 397 : 190
- 6 Brown HF. Electrophysiology of the sinoatrial node. *Physiol Rev* 1982; 62 : 505
- 7 Carrasco HA, Fuenmayor A, Barboza JS, Gonzalez G. Effect of verapamil on normal sinoatrial node function and on sick sinus syndrome. *Am Heart J* 1978; 96 : 760
- 8 Mascher D. Electrical and mechanical responses from ventricular muscle fibers after inactivation of the sodium carrying system. *Pflugers Arch* 1970; 317 : 359
- 9 Shigenobu K, Sperelakis N. Calcium current channels induced by catecholamines in chick embryonic hearts whose fast sodium channels are blocked by tetrodotoxin or elevated potassium. *Circ Res* 1972; 31 : 932
- 10 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
- 11 Ferrier GR, Moe GK. Effect of calcium on acetylstrophanthidin-induced transient depolarizations in canine Purkinje tissue. *Circ Res* 1973; 33 : 508

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Sep, 9 (5) : 415-418

Effects of copper chloride on the slow response action potential and oscillatory afterpotential induced by ouabain¹

ZHANG She-Tuan, LI Xiao-Guang

(Research Laboratory of Medical Electronic Engineering, Xi'an Medical University, Xi'an 710033)

ABSTRACT The effects of copper chloride (CuCl_2) on slow response action potentials were studied *in vitro* by means of an intracellular microelectrode. CuCl_2 10 $\mu\text{mol/L}$ reduced the amplitude, the slope of phase 4 and shortened the duration of the action potential of the rabbit sinoatrial nodes. The effects of CuCl_2 100 $\mu\text{mol/L}$ on the slow response action potential of guinea pig papillary muscles in KCl-rich (25 mmol/L) solution were similar to those on rabbit sinoatrial nodes. CuCl_2 100 $\mu\text{mol/L}$ immediately abolished the spontaneous electrical

activity and inhibited the oscillatory afterpotential of guinea pig papillary muscles which had been induced by ouabain. The results indicate that Cu^{2+} may suppress the slow inward current of myocardial muscles.

KEY WORDS copper chloride; sinoatrial node; papillary muscles; action potential; ouabain

¹ Project supported by the National Natural Science Fund, No. 414.