

IHC-66 对犬心室肌和浦顷野纤维的电生理作用

高明堂*, 刘青¹

(兰州医学院药理教研室, 兰州 730000; ¹ 甘肃省妇幼保健院, 兰州 730050)

摘要 目的:观察 IHC-66(3,6-dimethylaminodibenzopyridonium of ferric EDTA)对离体犬心室肌与浦顷野纤维的电生理影响。方法:采用心肌细胞内玻璃微电极技术。结果:IHC-66可缩短犬心室肌动作电位复极20%和50%的时程,降低动作电位零相最大除极速率,缩短浦顷野纤维 APD₅₀。在较高浓度时,IHC-66还降低犬心室肌与浦顷野纤维动作电位振幅和延长动作电位 APD₉₀。结论:IHC-66对犬心室肌细胞 APD₂₀和 V_{max}的抑制作用明显较浦顷野纤维强,对浦顷野纤维动作电位 V_{max}呈现频率依赖性抑制作用。

关键词 IHC-66; 心肌; 浦顷野纤维; 动作电位

IHC-66(3,6-dimethylaminodibenzopyridonium of ferric EDTA)有抗心律失常和对培养的大鼠心肌细胞缺氧后再给氧损伤有保护作用^[1,2]。据报道^[3],心肌传导纤维在心律失常发生的病因学上发挥主导作用。然而许多抗心律失常药物对心室肌与传导纤维表现出明显不同的电生理学作用^[4,5]。为进一步探讨 IHC-66 抗心律失常的电生理机理,本实验用犬心室肌与浦顷野纤维为标本,观察了不同浓度 IHC-66 对犬心室肌与浦顷野纤维的电生理作用,并在不同的频率刺激下观察对浦顷野纤维 V_{max} 的频率依赖性抑制作用。

材料与方 法

IHC-66 由兰州大学化学系合成提供,批号 901101,纯度 99.8%,于实验前溶于稍加热的重蒸水中。杂种犬,♀♂兼用,体重 10~20 kg,由兰州医学院实验动物中心提供。

标本制做与动作电位记录 戊巴比妥钠 50 mg·kg⁻¹ ip 麻醉。开胸,摘出心脏,分离出右心室肌和左心室浦顷野纤维。置于 3 mL 小槽中固定。营养液由如下成分组成(mmol·L⁻¹): 140 NaCl, 5.4 KCl, 1.8 CaCl₂, 0.5 MgCl₂, 11 葡萄糖, 5.04 HEPES。用 NaOH 将 pH 调至 7.4。50 mL 100%氧饱和的营养液循环灌流标本,温度恒定在 37℃,持续通 100% O₂,标本给予 1 Hz, 2 ms, 2 倍阈电压矩

形脉冲刺激。标本稳定 30 min 后,插入固定玻璃微电极(内充 3 mol·L⁻¹ KCl,电阻 15~20 MΩ),引出心肌细胞动作电位,经微电极放大器(MEZ-7101, Nihon Kohden 产)输至示波器(SBR-1 型,广东汕头产)上线,同时经微分器(上海市卢湾红旗仪表厂)后输至示波器下线。同步显示动作电位(AP)及零相除极最大速率(V_{max})以累积给药法观察药物的作用。各浓度作用时间 15 min。结果均照相记录。在研究药物的频率依赖性电生理实验中,观察了 IHC-66 30 μmol·L⁻¹在 5 组不同刺激频率时,对犬左心室浦顷野纤维 V_{max} 的影响。每组刺激频率持续 30 s,频率间隔 5 min 的静息,以确保 V_{max} 达到稳定与完全恢复状态。

统计 数据均表示为 $\bar{x} \pm s$, 资料用微软 worksheet program, Excel 进行均数间的配对 t 检验统计学处理。

结 果

1 IHC-66 对犬心室肌细胞膜电位的影响

IHC-66 对犬心室肌细胞跨膜 AP 的影响如表 1。实验结果显示,IHC-66 对犬心室肌细胞 AP 各参数的影响呈浓度依赖性。在 1 μmol·L⁻¹时对 AP 参数无明显影响,在 5 μmol·L⁻¹ IHC-66 作用下,首先表现出缩短动作电位复极 20%和 50%的时程(APD₂₀, APD₅₀), V_{max} 受抑制。随着浓度增加至 30 μmol·L⁻¹以上,AP 振幅(APA)降低,动作电位复极 90%时程(APD₉₀) 延长。但在此浓度范围内对静息电位无明显作用(表 1)。

Tab 1 Effect of IHC-66 on the action potentials of canine ventricular muscles

| IHC-66/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | APA/ mV | RP/ mV | APD ₂₀ / ms | APD ₅₀ / ms | APD ₉₀ / ms | V _{max} / $\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$ |
|--|------------|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--|
| 0 | 110 ± 7 | 84 ± 4 | 144 ± 28 | 216 ± 24 | 275 ± 24 | 225 ± 19 |
| 1 | 112 ± 7 | 84 ± 3 | 145 ± 26 | 220 ± 19 | 275 ± 22 | 224 ± 14 |
| 5 | 111 ± 5 | 84 ± 2 | 110 ± 20* | 190 ± 18** | 280 ± 20 | 180 ± 20** |
| 10 | 110 ± 5 | 84 ± 4 | 109 ± 18* | 180 ± 20** | 282 ± 24* | 179 ± 14** |
| 30 | 100 ± 5** | 81 ± 2 | 90 ± 16** | 144 ± 16** | 286 ± 23* | 100 ± 20** |
| 50 | 96 ± 8** | 80 ± 4 | 74 ± 18** | 142 ± 19** | 290 ± 24** | 74 ± 10** |
| Wash | 112 ± 8 | 84 ± 4 | 150 ± 14 | 230 ± 20 | 280 ± 18 | 220 ± 20 |

Using myocardium intracellular microelectrode techniques in isolated canine cardiac ventricular muscles *in vitro*. Multiple concentrations ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) of IHC-66 were added in tissue bath cumulatively at intervals of 15 min. The stimulation frequency was 1 Hz. IHC-66: 3,6-dimethylaminodibenzopyridonium of ferric EDTA. APA: action potential amplitude; RP: resting potential; APD₂₀, APD₅₀ and APD₉₀: 20%, 50% and 90% action potential duration. V_{max}: the maximal depolarization rate of action potential of phase 0. $\bar{x} \pm s$, $n = 8$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with values of 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ by paired t test.

2 IHC-66 对犬浦顷野纤维跨膜电位的影响

IHC-66 对犬浦顷野纤维 AP 的影响与对心室肌的作用有所不同。在低浓度(5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)时,首先表现为缩短 APD₅₀, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, APD₂₀ 也出

现较为显著的缩短,而对 V_{max} 并无显著的影响,此与对心室肌的作用有所不同。30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 出现抑制 V_{max}, 降低 APA 及延长 APD₉₀。在此浓度范围内对静息电位也无明显作用(表 2)。

Tab 2 Effect of IHC-66 on action potentials of canine Purkinje fibers

| IHC-66/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | APA/ mV | RP/ mV | APD ₂₀ / ms | APD ₅₀ / ms | APD ₉₀ / ms | V _{max} / $\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$ |
|--|------------|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--|
| 0 | 120 ± 2 | 84 ± 2 | 209 ± 12 | 275 ± 10 | 370 ± 14 | 595 ± 24 |
| 1 | 119 ± 1 | 84 ± 2 | 210 ± 15 | 274 ± 8 | 367 ± 12 | 602 ± 25 |
| 5 | 118 ± 1 | 83 ± 1 | 210 ± 20 | 250 ± 6** | 362 ± 12 | 597 ± 32 |
| 10 | 118 ± 1 | 83 ± 2 | 175 ± 17** | 248 ± 8** | 366 ± 12 | 590 ± 28 |
| 30 | 114 ± 2** | 82 ± 1 | 174 ± 16** | 212 ± 7** | 390 ± 14** | 525 ± 10** |
| 50 | 100 ± 1** | 82 ± 1 | 165 ± 23** | 200 ± 8** | 400 ± 18** | 385 ± 22** |
| Wash | 120 ± 1 | 84 ± 4 | 198 ± 18 | 210 ± 10 | 382 ± 10 | 595 ± 30 |

Using myocardium intracellular microelectrode techniques in isolated canine cardiac Purkinje fibers *in vitro*. Multiple concentrations ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) of IHC-66 were added in tissue bath cumulatively at intervals of 15 min. The stimulation frequency was 1 Hz. IHC-66: 3,6-dimethylaminodibenzopyridonium of ferric EDTA. APA: action potential amplitude; RP: resting potential; APD₂₀, APD₅₀ and APD₉₀: 20%, 50% and 90% action potential duration. V_{max}: the maximal depolarization rate of action potential of phase 0. $\bar{x} \pm s$, $n = 8$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with values of 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ by paired t test.

3 IHC-66 对犬浦顷野纤维 AP Vmax 频率依赖性的影响

采用不同的刺激频率,观察了 IHC-66 对 5 例犬心室浦顷野纤维 AP V_{max} 的影响。结果表明, IHC-66 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 在刺激频率分别为 0.3, 0.5, 1, 2 和 5 Hz 时,使犬心室浦顷野纤维 AP V_{max} 分别较给药前(601 ± 1.67/ $\text{V}\cdot\text{L}^{-1}$) 抑制了 1.3% ± 0.5% ($P > 0.05$), 3.4% ± 0.6% ($P < 0.05$), 8.3% ± 1.6% ($P < 0.01$), 16.9% ± 2.1% ($P < 0.01$) 和 24.5% ± 4.3% ($P < 0.01$), 呈现出明显的频率依赖性抑制犬心室浦顷野纤维 AP V_{max}。

讨 论

实验结果表明, IHC-66 可浓度依赖性的缩短犬心室肌与心肌浦顷野纤维动作电位 APD₂₀, APD₅₀, 降低 V_{max}, 延长 APD₉₀。对犬心室浦顷野纤维 AP V_{max} 还呈现出明显的频率依赖性抑制作用。目前认为, 细胞 AP 平台期的缩短是由于: (1) 减少了慢内向 Ca^{2+} 内流; (2) 抑制了 Na^+ 内向背景电流^[6,7]。IHC-66 在 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 首先表现为缩短心室肌 APD₂₀, APD₅₀, 降低 V_{max} 和缩短浦顷野纤维的 APD₅₀。随着浓度的增加, 对浦顷野纤维

APD₂₀和 V_{max} 也呈现明显的抑制作用,表明其缩短 APD₂₀和 APD₅₀的作用主要与抑制慢 Ca²⁺或 Na⁺内向背景电流内流有关。而降低 V_{max}的作用则与其抑制快 Na⁺内流有关。当药物浓度增加至 30 μmol·L⁻¹时,IHC-66 还明显延长心室肌与浦顷野纤维 APD₉₀,这可能与抑制钾外向电流有关。现已证实,对心肌细胞 AP V_{max} 呈现频率依赖性的作用是具有 Na⁺离子通道阻滞作用的抗心律失常药的一个重要电生理特征^[8,9]。从 IHC-66 对犬浦顷野纤维 AP V_{max} 呈现出明显的频率依赖性抑制也进一步表明其具有阻滞 Na⁺内流的作用。而在同一低浓度(5 μmol·L⁻¹)作用下,IHC-66 对心室肌细胞 APD₂₀和 V_{max}的抑制作用明显较浦顷野纤维强,提示 IHC-66 可能对心室肌细胞有较高的选择性。总之,根据本实验的结果,尚不能阐明 IHC-66影响的离子通道,但 IHC-66 可明显缩短 AP 平台期,降低 V_{max},并对浦顷野纤维 AP V_{max} 呈现出明显的频率依赖性抑制作用,表明 IHC-66 对慢 Ca²⁺与快 Na⁺内流的阻滞作用是其抗心律失常作用的主要电生理学基础。

参 考 文 献

- 1 Gao MT, Zhao GSh. Effects of IHC-66 on experimental arrhythmia. *Northwest Pharm J*, 1988, **4**: 25
- 2 Gao MT, Liu Q. Effects of IHC-66 on culture myocardial cell anoxia/reoxygenation injures. *Chin J Pathol*, 1998, **14**: 457
- 3 Hoffman BF, Rosen MR. Cellular mechanisms for cardiac arrhythmias. *Circ Res*, 1981, **49**: 1
- 4 Bigger JT, Mandel WJ. Effect of lidocaine on the electrophysiological properties of ventricular muscle and Purkinje fibers. *J Clin Invest*, 1970, **49**: 62
- 5 Ikeda N, Singh BN. Effects of flecainide on the electrophysiological properties of isolated canine and rabbit myocardial fibers. *J Am Coll Cardiol*, 1985, **5**: 303
- 6 Kyosue T, Arita M. Late sodium current and its contribution to action potential configuration in guinea-pig ventricular myocytes. *Circ Res*, 1989, **64**: 389
- 7 Coraboeuf E. Effect of tetrodotoxin on action potential of the conducting system in the dog heart. *Am J Physiol*, 1979, **236**: H561
- 8 Campbell TJ, Vaughan Williams EM. Voltage and time dependent depression of maximum rate of depolarization of guinea-pig ventricular action potential by two new antiarrhythmic drugs. *Cardiovasc Res*, 1983, **17**: 241
- 9 Hondeghem LM, Katzung BG. Time- and voltage-dependent interactions of antiarrhythmic drugs with cardiac sodium channels. *Biochim Biophys Acta*, 1977, **69**: 497

ELECTROPHYSIOLOGICAL EFFECT OF IHC-66 ON ISOLATED CANINE VENTRICULAR MUSCLES AND PURKINJE FIBERS

Gao Mingtang and Liu Qing

(Department of Pharmacology, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000)

ABSTRACT **AIM:** To observe the cellular electrophysiological effect of 3, 6-dimethylamino-dibenzopyridonium of ferric EDTA(IHC-66, 1 ~ 50 μmol·L⁻¹). **METHODS:** Using myocardium intracellular microelectrode techniques in isolated canine cardiac Purkinje fibers and ventricular muscles. **RESULTS:** The initial effects of IHC-66 consisted of shortening of the duration of action potential measured at 20%(APD₂₀) and 50%(APD₅₀) of repolarization while the maximal depolarization rate of action potential of phase 0 (V_{max}) was decreased in isolated ventricular muscles and APD₅₀ was shortened in isolated canine cardiac Purkinje fibers when the preparation was superfused with bath solution containing IHC-66 5 μmol·L⁻¹ for 15 min. The inhibition effects of APD₂₀ and V_{max} were also observed in Purkinje fibers with increasing drug concentration (10 and 30 μmol·L⁻¹). At higher concentration (30 μmol·L⁻¹ and above), IHC-66 decreased the amplitude of action potential and prolonged the duration of action potential measured at 90%(APD₉₀) of repolarization in isolated ventricular muscles of canine cardiac Purkinje fibers but without any significant effect on the resting potential. IHC-66 30 μmol·L⁻¹ produced a frequency-dependent depression of V_{max} while altering stimulating frequency between 0.3 ~ 5 Hz in isolated Purkinje fibers. **CONCLUSION:** The inhibition effects of IHC-66 on action potentials in isolated canine cardiac muscles were more powerful than that in isolated canine cardiac Purkinje fibers. IHC-66(30 μmol·L⁻¹) produced a frequency-dependent depression of V_{max}.

KEY WORDS IHC-66; myocardium; Purkinje fibers; action potentials