DOI:10.16016/j.1000-5404.1986.s1.010

印防己毒素对离体蛙心心率、收缩力和心室肌动作电位的影响

85大队课外科研组* 张问德 毕晓宁 王余俊△（生理教研室）

提 要 中枢内抑制性递质—r-氨基丁酸对抗剂印防己毒在体时对大鼠、猫等的血压和心率有双相性影响，即，用药之初，使血压和心率降低，继而又高于正常水平。迄今尚无文献报道印防己毒对离体蛙心有无直接作用。行离体蛙心插管，经换能器输入生理多导仪，记录心率和收缩力；悬浮式玻璃微电极记录心室肌动作电位，用微机实时分析。印防己毒剂量为1.5，3.0，6.0，和12.0 mg/kg。用给药前后自身对比行t检验。

结果表明，印防己毒对离体蛙心有直接作用。1）对心脏的特殊传导系统有抑制的作用，表现为完全性传导阻滞和部分传导阻滞。敏感的部位是房室结和静脉窦。2）减心率作用，使窦性心率明显减慢，但没有在体情况时的双相性变化。3）使心脏的收缩力下降，提示可能影响动作电位期间钙内流。4）使动作电位幅度下降，但对最大去极速度无明显影响，提示印防己毒可能影响休止电位的水平，但对零期没有影响。

关键词 印防己毒素；心率；心脏收缩力；心室肌动作电位；心脏传导系统

印防己毒素（picrotoxin，简称PTX，又名苦味毒）是由印防己果实中提取得到的中性成分，白色结晶体，在水中溶解度为0.3%。在中枢神经系统中为抑制性递质—r-氨基丁酸（GABA）的人工对抗剂。主要兴奋中脑和延髓，较大剂量时，对脊髓和大脑亦有兴奋作用。临床上适用于巴比妥类药物和水合氯醛中毒，但对酒精中毒无效。禁用于吗啡中毒，这是因为PTX能增强吗啡的脊髓兴奋作用，有引起惊厥的危险[1]。目前，PTX作为呼吸中枢的兴奋剂已甚少使用，但作为r-氨基丁酸的对抗剂则广为应用。Dimicco等[2]向麻醉猫静脉注射GABA受体阻断剂PTX，引起动脉血压和心率发生双相反应，即，首先心率减慢和血压降低，继而心率加快和血压升高；动物在去大脑后，对第一相反应无影响，第二相反应则消失。该作者等[3]向猫椎动脉注射受体阻断剂PTX和荷包牡丹碱，可使血压降低和心率减慢。最近，J Wible和J Dimicco[4]静脉注射PTX给大鼠，引起大鼠血压和心率的双相变化，认为在中枢神经系统不同水平存在有GABA的抑制机制，其作用是通过对迷走神经（而不是交感神经）的中介而起作用的。但PTX对心脏是否有直接作用？如果有作用，作用的环节和机制何在？至今未见国内外文献报道。为此，我们用经典的离体蛙心灌注法来观察PTX对离体心脏的心肌收缩力和心率的影响，继而用微型电子计算机实时分析PTX对蛙心动作电位的影响，以初步观察PTX对心血管影响的外周环节，为进一步研究GABA的外周作用机制打下基础。

材料和方法

动物用50～100 g体重的蟾蜍200只，雌雄不拘。统计分析表明，蟾蜍整体体重和离体心脏体重之比为50:1，即，50 g体重的蟾蜍，其心脏重1 g，加上灌流液2 ml，相当于2 g重，计算出每公斤体重所需0.3%PTX的毫升数。用蛙前24小时放蛙于实验室。室温保持在15～18℃。每次所用的器具在清洁液中浸泡、清洗后方能使用。行常规蛙心插管

* 原学军、徐晋、史洪涛、白晓东、胡晓红、李瑞华、王晔、周强；△黔南医专进修生

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

术和离体蛙心灌注，稳定半小时后正式记录。分别用1.5mg/kg、3.0mg/kg、6.0mg/kg和12.0mg/kg体重的剂量作为用药量。蛙心的心率和收缩力经换能器输入生理二导记录仪。用南京无线电厂的Apple-Ⅰ微机和南京医学院生理教研室叶定忠编制的Doctor 85-1软件程序实时记录分析心室肌细胞的动作电位。采用悬浮式微电极法，玻璃电极尖端在1μm左右，用KCl3M充灌，电极电阻在7～15兆欧。用Apple-Ⅰ微机进行统计处理。统计对照记录十分钟和给予PTX后每5分钟平均心率、收缩力和心肌细胞动作电位的均差百分比（用PTX后的值减去用PTX前的差值作分子，用PTX前的数值作分母，再乘以百分之百），行t检验其相差显著性。

结　果

灌注液内加PTX按1.5mg/kg、3.0mg/kg、6.0mg/kg和12.0mg/kg体重来计算剂量，反应最明显的剂量是6.0mg/kg体重。总的表现出量-效依赖关系。加药后5分钟开始出现反应，25～30分钟时最为明显。反应呈现的形式有传导阻滞，心率减慢，收缩力减弱和细胞内记录的心室肌动作电位的改变等。

1．传导阻滞：PTX影响心脏的特殊传导系统，但其敏感程度不同，最为敏感的是房室结，表现为静脉窦和心房有搏动，而心室的搏动减少，甚至完全无搏动，房室阻滞呈现完全性传导阻滞和部分性传导阻滞。部分传导阻滞的形式有2∶1、3∶1、4∶1、5∶1、6∶1等，或则递增性阻滞，或则不规则的房室阻滞（图4～图8）。静脉窦和心房传导系统与房室结相比，就没有那么敏感，它们总是后于心室搏动停止。

2．心率：PTX对心率的影响较为明显，表现为减心率的作用（图1和图9），但无双相性变化。

3．PTX对心室肌收缩力的影响：PTX有减弱心室肌收缩力的作用。表现在随着药物作用时间的延伸，心室肌收缩幅度逐渐降低，甚者完全停止在舒张状态（图2和图3）。

4．PTX对心室肌动作电位的影响：PTX使心室肌细胞动作电位的幅度降低，心率变慢，但对去极化最大速度无明显影响（图9）。

讨　论

PTX在中枢神经系统的作用是对抗中枢抑制性递质——GABA。目前将PTX作为GABA受体阻断剂而广为应用。国外的文献表明，PTX静脉、椎动脉或侧脑室注射后发挥作用的环节在中枢神经系统，调节迷走神经和交感神经冲动的输出，从而影响窦性心率和动脉血压[2][3][4][5]。至今未见报道PTX对离体心脏的作用。离体心脏除去了神经和体液因素的影响，此时灌注液中的PTX的作用是直接对心脏的作用，并不通过迷走和交感神经而起作用。本研究的事实说明，PTX对心脏的特殊传导系统有直接的作用，作用的部位相应于静脉窦和房室结。对房室结的阻滞程度不等，有的是完全性房室传导阻滞，表现为心室完全停跳，但静脉窦和心房仍在跳，冲洗去PTX，更换成新的任氏液，心室复跳；有的则部分阻滞，从而出现静脉窦和心房收缩，而心室不收缩的脱失现象，表现为2∶1，3∶1，4∶1，5∶1等各种脱失；PTX对蛙心起步点——静脉窦有直接的抑制作用，从而使心率变慢，甚者，整个心脏停跳于舒张状态。

PTX亦影响心脏的收缩力，表现为收缩的幅度渐降。究其原因，可能是PTX使钙的内流受阻，使兴奋-收缩耦连受到影响。

为了从细胞水平研究PTX作用的机制，我们用心肌细胞内记录的方法及微型电子计算机实时处理实验数据，得出如下结论：PTX对心室肌细胞的休止电位有影响，使之复极化不完全，膜电位的绝对值减小，从而使动作电位的幅度减少，与正常对照组相比，相差显著或非常显著，但对零期去极化的速度则无影响，因为最大去极化速度与正常对照组相比，相差不显著（$P>0.05$），说明PTX对Na^+通道无影响。有文献报道[5]，GABA在中枢神经系统的作用是促进Cl^-的内流，使细胞出现超极化，而PTX则能取消此作用。由此而联想到，PTX对心室肌细胞也有类似的作用，结果使Cl^-内流减少，休止电位绝对值变小。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

有些作者[6]注意到GABA在原发性高血压中可能有作用，如果在这方面进行深入研究，可能有助于揭示原发性高血压发病机制。

综上所述，PTX对心脏有直接作用，可以不通过中枢神经系统对迷走或交感神经的中介，这与目前国外文献不同。它可以直接作用于心脏的特殊传导系统，亦可作用于心脏本身。

（本实验部分技术工作有赵邦云和侯岷参加，特此致谢！）

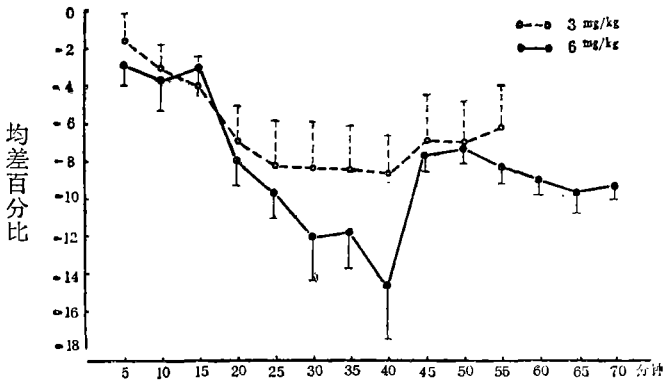


图1　PTX对离体蛙心心率的影响

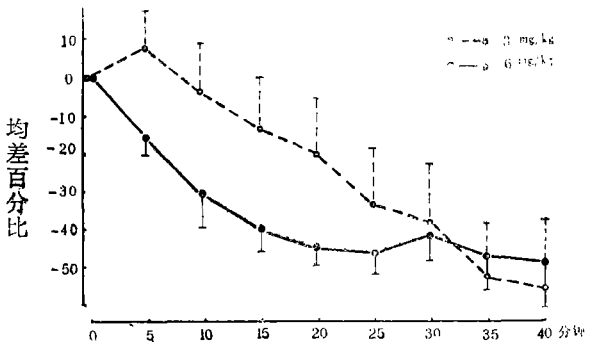


图2　PTX对离体蛙心收缩力的影响

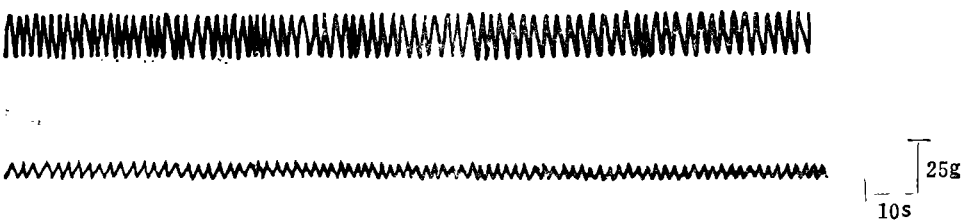


图3　正常离体蛙心收缩力和频率(上图)和灌注 PTX6.0mg/kg 20分钟后的收缩力和频率(下图)



图4　灌注PTX12.0mg/kg15分钟后出现收缩力下降和2:1房室传导阻滞

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

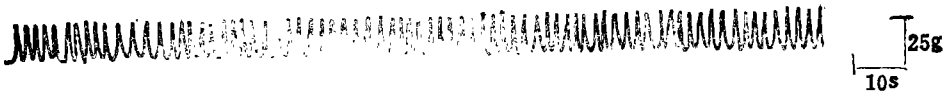


图5　灌注PTX3.0mg/kg25分钟后离体蛙心出现4:1，5:1和6:1房室传导阻滞

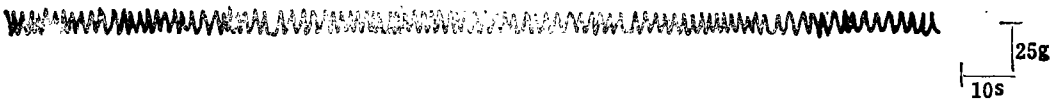


图6　灌注PTX3.0mg/kg30分钟后离体蛙心出现不规则的房室传导阻滞



图7　不规则的房室传导阻滞



图8　递增性房室传导阻滞

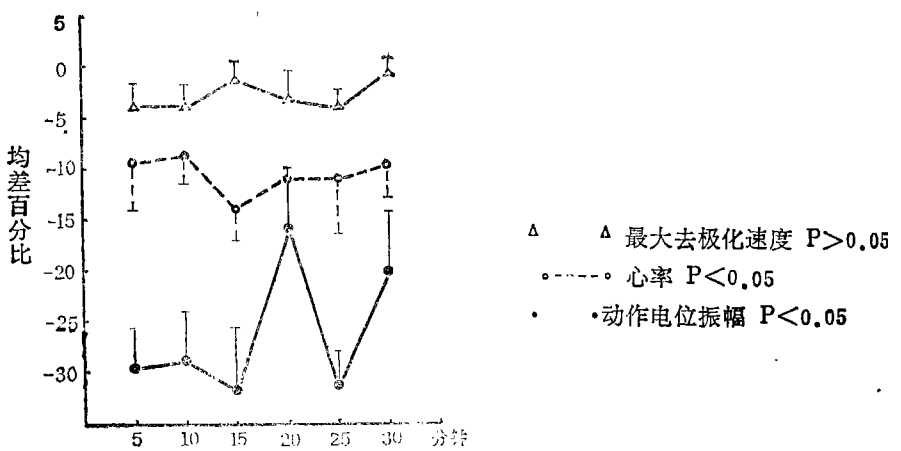


图9　灌注PTX6.0mg/kg后与正常对照组心室肌动作电位幅度、心率和最大去极化速度均差百分比

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

参 考 文 献

1. 陈新谦编著. 新编药物学。人民卫生出版社 1962:61
2. Dimicco JA, et al. Central Nervous System Sites Involved in the Cardiovascular Effects of Picrotoxin. J Pharmac Exp Ther 1977; 203:64
3. Dimicco JA, Gillis RA. Neuro-cardio vascular Effects Produced by Bicuculline in the Cat. J Pharmac Exp Ther 1979:210 :1～6
4. Jamesh N, Wible Jr and Josepha Dimicco. Biphasic Effect of Systemically Administered GABA antagonist on Cardial Vagal Activity. Brain Research 1986: 363: 279～289
5. Daniel J Williford, et al. Central Nervous System Mechanisms Involving GABA Influence Arterial Pressure and Heart Rate in the Cat. Circulation Research 1980; 47(1):80～87
6. Rotiroti D, et al. Evidence That Gabargic mechanism Influences the Development of Doca-salt Hyperlension in the Rat. European Journal of Pharmacology 1982; 83:153～154

Effects of Picrotoxin on the Rate, Contractility and Action Potential of Isolated Frog Heart

Extracurricular Research Team, Grade '85 Students(Third Military Medical College)

Zhang Wende, et al (Department of Physiology, Third Military Medical College)

Picrotoxin is an anatagninst of gamma-aminobutyric acid, which is an internal inhibition-transmitter in the central nervous system. Picrotoxin exerts a biphasic action on the blood pressure and heart rate in rats and cats in vivo. That is to say, in the initial stage, picrotoxin can lower the blood pressure and heart rate, and then an elevation of these two even above the original level can be observed. up to the present, from the authors limited literature, there has been no report dealing with the problem whether picrotoxin can act on an isolated heart directly.

In this study, the heart of a frog was isolated and routine intubation of the heart was done for its perfusion. Physiological polyconduction instrument was inserted through a mechanical transducer to record the heart rate and myocardial contractility. A suspending glass microelectrode coupling with a microamplifier is used to record the action potential of the ventricular myocardium. Real time analysis of all the data was accomplished with a microcomputer. The dosages of picrotoxin used were 1.5, 3.0, 6.0, and 12.0 mg per kilogram of body weight.

It was found that picrotcxin can directly act on the isolated frog heart.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

The results were as follows:

1) Picrotoxin exerts inhibition on the special conduction system of the heart, and the A-V node and venous sinus are very sensitive. Complete or partial transmission block can be induced.

2) It can elicit clearly a fall of the heart rate but no biphasic action can be revealed.

3) It can reduce the myocardial contractility, suggesting that the calcium inflow during the functioning period of the action potential is effected.

4) It can reduce the amplitude of the action potential but no effect on the maximal depolarization speed is observed, suggesting that picrotoxin is likely to affect the level of resting potential but not the action potential in the depolarized period.

Key words: Picrotoxin; Heart rate; Cardiaccontractility; Action potential of ventricular muscle; Special conduction system of heart.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net