

烟酰胺对豚鼠窦房结细胞及部分除极乳头状肌细胞动作电位的影响

王岱远、王洪占、周承明、张克锦 (新疆医学院药理教研室, 乌鲁木齐 830054)

提要 用细胞内微电极技术,发现Nic 3.3 mmol/L使窦房结细胞 AP 之舒张期自动除极斜率增加 43%; \dot{V}_{max} 及部分除极乳头状肌细胞 AP 之 \dot{V}_{maxs} 无显著影响, 而 \dot{V}_{maxf} 下降 21%; 乳头状肌细胞之 APD 缩短 10%; 明显抑制其兴奋性; 提示: 1) 窦房结细胞 AP 之 4 相与其 0 相和部分除极乳头状肌细胞 AP 之 0 相的 i_{Na} 对 Nic 的反应不同; 2) Nic 降低心肌兴奋性可能与其抑制快 Na^+ 通道有关。

关键词 烟酰胺; 窦房结; 乳头状肌; 动作电位; 异丙基肾上腺素; 维拉帕米

本实验室曾根据烟酰胺(nicotinamide, Nic)具有强心、改善维拉帕米(verapamil, Ver)所致房室传导阻滞和窦性心动过缓作用, 提出 Nic 可能为一慢通道激活剂的设想⁽¹⁻³⁾。最近在家兔窦房结细胞动作电位(AP)实验中, 发现 Nic 在加速 AP 的 4 相自发除极(SP_4)的同时, 并不增加 AP 之 0 相除极速率(SP_0), 表明窦房结细胞 AP 之 0 相与 4 相对 Nic 的反应有差异⁽⁴⁾。为此, 本文利用豚鼠窦房结、乳头状肌及部分除极乳头状肌标本进一步探讨 Nic 对不同类型心肌细胞 AP 的作用特性。

方 法

体重 $0.42 \pm SD 0.09$ kg 豚鼠, ♀♂不拘。制备窦房结标本及灌流方法见前文⁽⁴⁾。从右心室乳头状肌根部及瓣膜处剪下乳头状肌, 用不锈钢针固定于浴槽底部的硅胶片上。灌流方法同窦房结。

用玻璃微电极(内充 KCl 3 mol/L, 直径 $0.5 \mu m$, 阻抗 15-40 M Ω)引出生物电讯号, 经铂丝由微电极放大器(MEZ-8201, 日本光电

公司)输至示波器(SBR-1)广东汕头超声电子仪器厂), 并由微电极放大器输至微分器(BME-1 电子微分器, 江苏丹阳无线电一厂)以观察生物电讯号的瞬时变化率, 摄影记录结果。

标本稳定 30 min。在窦房结实验中, 首先探查优势起搏细胞⁽⁴⁾。在正常台氏液中加入 KCl 使 K^+ 浓度达 15.4 mmol/L。用此液体灌流乳头肌标本 15 min 后, 细胞的静息电位由 -82 ± 3 mV 降至约 -56 mV 左右。其 AP 之 0 相分为快、慢两相。0 相微分波亦相应分为快相(\dot{V}_{maxf})和慢相(\dot{V}_{maxs})两部分。其中 \dot{V}_{maxf} 反映了被抑制的快 Na^+ 内流, \dot{V}_{maxs} 则反映慢 Ca^{++} 内流^(5,6)。此部分除极 AP 形态在 1.5 h 内保持不变(图 1)。

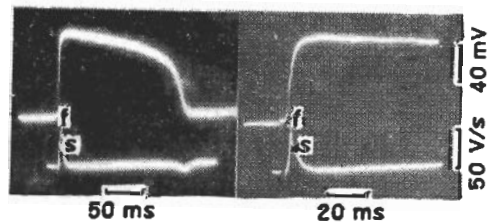


Fig 1. Action potential and differentiation of its phase 0 of guinea pig ventricular papillary muscle cells perfused in 15.4 mmol/L K^+ Tyrode's solution. Upper tracing, action potentials; lower tracing, first derivatives of the upstroke phase of action potentials (\dot{V}_{max}). "f" is \dot{V}_{maxf} , fast; "s" is \dot{V}_{maxs} , slow.

部分除极及正常乳头状肌标本均由刺激器经双极电极驱动。前者刺激频率为 0.1 Hz, 后者的刺激频率为 1 Hz。

实验分三组: 1. 窦房结组: 观察 Nic, Ver, Iso 对窦房结细胞 AP 的影响。测定 5 个参数: SP_4 ; \dot{V}_{max} ; 窦性周长; AP 自 0 相起点

至 AP 复极到 90% 所需时间 (APD_{90}); AP 幅度 (APA); 2. 部分除极乳头状肌组: 观察 Nic, Ver, Iso 对 AP 的影响. 测定 5 个参数 \dot{V}_{maxf} ; \dot{V}_{maxs} ; APA; APD_{50} ; APD_{90} ; 3. 正常乳头状肌组: 观察 Nic 对 AP 的 \dot{V}_{max} ; APA; APD_{50} ; APD_{90} 的影响. 用药前后资料均在同一细胞内取得, 经放大后测量. 数据处理采用配对 t 检验.

实验用药品: Nic 北京化工厂产; Iso 北京制药厂产; Ver 芬兰 ORI 产.

结 果

Nic、Iso 及 Ver 对窦房结细胞 AP 的影响

1. 标本以 Nic 33 mmol/L 灌流 15 min 后, 与用药前相比, SP_4 增加 43% ($p < 0.001$); APD_{90} 缩短 5% ($p < 0.01$); 窦性周长缩短 15% ($p < 0.01$); \dot{V}_{max} 和 APA 无显著变化 (图 2, 表 1).

2. 标本以 Iso 0.15 mmol/g 灌流 5 min 后, 与用药前相比, SP_4 增加 55% ($p < 0.05$); APD_{90} 缩短 29% ($p < 0.05$); 窦性周长缩短 41% ($p < 0.05$); \dot{V}_{max} 增加 114% ($p < 0.05$); APA 无显著变化 (图 2, 表 1)

3. 标本以 Ver 0.22 μ mol/L 灌流 10 min 后, 与用药前相比, SP_4 下降 44% ($p < 0.05$); APD_{90} 延长 35% ($p < 0.05$); 窦性周长延长 33% ($p < 0.05$); \dot{V}_{max} 下降 80% ($p < 0.05$); APA 下降 41% ($p < 0.01$) (图 2, 表 1)

Tab 1. Effects of nicotinamide, isoprenaline and verapamil on slope of phase 4, sinus cycle length, action potential duration at 90% repolarization, action potential amplitude, and \dot{V}_{max} of phase 0 of action potential of SA node cells. $\bar{x} \pm SD$, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

	n	SP_4 (mV/s)	SCL (ms)	APD_{90} (ms)	APA (mV)	\dot{V}_{max} (V/s)	
Nic	control	7	58 \pm 17	464 \pm 72	171 \pm 9	63 \pm 8	8 \pm 4
	15 min	7	83 \pm 23***	394 \pm 54***	163 \pm 17***	60 \pm 9*	7 \pm 3*
Iso	control	4	75 \pm 8	435 \pm 76	170 \pm 25	64 \pm 9	7 \pm 4
	5 min	4	116 \pm 20**	257 \pm 19**	121 \pm 22**	67 \pm 9*	15 \pm 9**
Ver	control	5	78 \pm 13	413 \pm 59	178 \pm 19	56 \pm 9	5 \pm 4
	10 min	5	44 \pm 17**	550 \pm 125**	240 \pm 17**	33 \pm 12***	1 \pm 0.3**

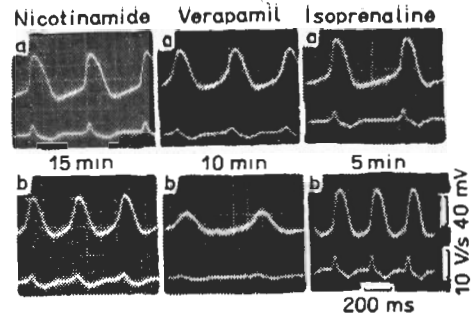


Fig 2. Effects of nicotinamide, verapamil and isoprenaline on action potentials of SA node cells. a) control, b) after drugs.

Nic, Iso, Ver 对部分除极乳头状肌 AP 的影响

1. 标本以 Nic 33 mmol/L 灌流 30 min 后, 与用药前相比, \dot{V}_{maxf} 下降 21% ($p < 0.01$); APD_{50} 延长 4% ($p < 0.05$); APD_{90} 延长 4% ($p < 0.05$); \dot{V}_{maxs} 及 APA 无显著变化 (图 3, 表 2).

用 Nic 后, 标本的兴奋阈值从 2-3 V 升高至 10-24 V, 用 Nic 66 mmol/L 灌流 5 min 后, 60 V 的刺激强度也不能使之兴奋.

2. 标本以 Iso 0.15 mmol/L 灌流 15 min 后, 与用药前相比 \dot{V}_{maxs} 增加 82% ($p < 0.01$); APD_{50} 延长 16% ($p < 0.01$); APD_{90} 延长 15% ($p < 0.05$); APA 增加 11% ($p < 0.01$); \dot{V}_{maxf} 无显著变化 (图 3, 表 2)

3. 标本以 Ver 0.22 mmol/L 灌流 30 min 后, 与用药前相比, \dot{V}_{maxs} 下降 23% ($p < 0.01$); APD_{50} 缩短 7% ($p < 0.01$); APD_{90} 缩短 6%

Tab 2. Effects of nicotinamide, isoprenaline and verapamil in \dot{V}_{max} of fast phase and slow phase in phase 0, action potential durations at 50% and 90% repolarization, and action potential amplitude of action potential of papillary muscle cells depolarized by high K^+ . $\bar{x} \pm SD$, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

		n	\dot{V}_{maxf} (V/s)	\dot{V}_{maxs} (V/s)	APD ₅₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)	APA (mV)
Nic	control	10	70 ± 22	19 ± 6	158 ± 17	172 ± 16	83 ± 4
	30 min	10	55 ± 18***	19 ± 5*	165 ± 12**	179 ± 11**	85 ± 2*
Iso	control	7	54 ± 11	22 ± 4	160 ± 14	170 ± 16	83 ± 3
	15 min	7	61 ± 11*	40 ± 7***	186 ± 25**	196 ± 25**	92 ± 5***
Ver	control	10	72 ± 13	22 ± 6	163 ± 8	176 ± 18	87 ± 4
	30 min	10	74 ± 18*	17 ± 4***	152 ± 18***	166 ± 19***	85 ± 5*

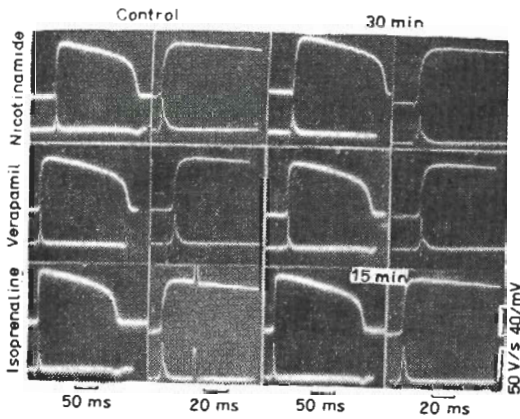


Fig 3. Effects of nicotinamide, verapamil and isoprenaline on action potentials of guinea pig ventricular papillary muscle cells perfused in K^+ 15.4 mmol/L Tyrode's solution.

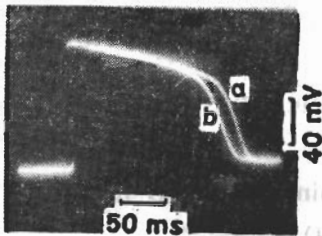


Fig 4. Effects of nicotinamide on action potential of normal guinea pig papillary muscle cell. a) control, b) 15 min after nicotinamide.

($p < 0.01$); \dot{V}_{maxf} 及 APA 无显著变化(图 3, 表 2)。

Nic 对正常豚鼠乳头状肌 AP 的影响 标本以 Nic 33 mmol/L 灌流 15 min 后, APD₆₀

缩短 11% ($p < 0.01$); APD₉₀ 缩短 10% ($p < 0.01$); APA 及 \dot{V}_{max} 无显著变化(图 4)。

讨 论

电压钳制实验证明, 缓慢内向电流(I_{si})是窦房结优势起搏细胞 AP 之 0 相中唯一的内向电流, 亦为构成 4 相自发除极的重要成分⁽⁷⁻⁹⁾。在部分除极乳头状肌细胞 AP 中, I_{si} 决定了 \dot{V}_{maxs} 的高度^(5,6)。在本实验中, 促进 I_{si} 的 Iso 显著增加窦房结细胞 AP 之 SP₄, 0 相 \dot{V}_{max} 和部分除极乳头状肌细胞 \dot{V}_{maxs} 的高度。慢通道阻滞剂 Ver 则使三者显著降低。已有实验证明 Nic 的强心作用和增加 SP₄ 的作用可被 Ver 所拮抗⁽⁵⁾。但本实验中 Nic 在增加窦房结细胞 AP 之 SP₄ 时, 对其 0 相 \dot{V}_{max} 及部分除极乳头状肌之 \dot{V}_{maxs} 无显著影响, 提示窦房结优势起搏细胞 AP 之 4 相、0 相以及部分除极乳头状肌 AP 中的 I_{si} 可能存在着差异。

文献报道 I_{si} 是由 $I_{Ca,f}$ 、 $I_{Na,Ca}$ 和 $I_{Ca,s}$ 三种成份组成。它们的激活和失活时间、电压范围、电流强度以及与环境中的离子的依存关系均不相同。它们在 AP 各时相中的作用尚未完全阐明⁽¹⁰⁾。因此 Nic 是否对其中某成分有选择作用, 有待进一步研究。此外, 心肌细胞 AP 各时相是各种内向和外向离子流的综合表现, 上述 Nic 的作用差异亦不能排除其影响其他离子流的可能性。

细胞内 Ca^{++} 浓度增加可使 K^+ 外流加速⁽¹¹⁾、Iso 缩短 APD 即可能与之促进 I_{si} 而致 I_x 外流增加有关。因此, Nic 缩短 APD 亦支持其促进 Ca^{++} 内流的设想。但在部分除极乳头状肌细胞上, Nic 可使 APD 延长, 其原因尚不清楚。

已有文献报道, Nic 可降低心肌对电刺激的反应性^(12,13)。在本实验中, Nic 显著抑制部分除极乳头状肌细胞 AP 之 \dot{V}_{maxf} , 并使其兴奋阈值提高数倍。提示 Nic 对心肌兴奋性的抑制作用可能与其抑制快通道有关。

致谢 实验技术承本院生理教研室 同竞民副教授和朱保林技师指导与帮助。

参 考 文 献

- 1 张克锦、周承明、王岱远。烟酰胺改善心脏传导作用机制初步分析。药学通报 1981; 16 : 52
- 2 周承明、张克锦。烟酰胺对家兔窦房结功能及房室传导的影响。中华心血管病杂志 1983; 11 : 65
- 3 金向楨、周承明、张克锦。烟酰胺对家兔房室传导的影响。中国药理学报 1984; 5 : 177
- 4 王洪占、王岱远、周承明、张克锦。烟酰胺对家兔窦房结动作电位的影响及其机制探讨。药学

- 学报 1985; 20 : 344
- 5 Arita M, Kiyosue T. Modification of "depressed fast channel dependent slow conduction" by lidocaine and verapamil in the presence of absence of catecholamines. *Jpn Circ J* 1983; 47 : 68
- 6 Fleckenstein A. History of calcium antagonists. *Circ Res* 1983; 52 : 1
- 7 Brown HF. Electrophysiology of the sinoatrial node. *Physiol Rev* 1982; 62 : 505
- 8 Yanagihara K. Ionic current and pacemaker activity of the S-A node cells. *Jpn Circ J* 1980; 44 : 531
- 9 Files W, Shibata E. Autonomic transmitter actions on cardiac pacemaker tissue: a brief review. *Fed Proc* 1981; 40 : 2618
- 10 Noble D. The surprising heart: a review of recent progress in cardiac electrophysiology. *J Physiol (Lond)* 1984; 353 : 1
- 11 Isenberg G. Cardiac purkinje fibres. Resting, action and pacemaker potential under the influences of $[Ca^{2+}]_i$ as modified by intracellular injection techniques. *Pflugers Arch* 1977; 371 : 51
- 12 李锐松、陈维洲、张月芳、丁光生。常咯啉对猫心乳头肌的收缩性和兴奋性的影响。中国药理学报 1984; 5 : 26
- 13 顾崇刚、陈维洲、董月丽、丁光生。常咯啉和烟酰胺合用的抗心律失常作用。同上 1984; 5 : 173

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Sep; 7 (5) : 429-433

Effects of nicotinamide on action potentials of sinoatrial node cell and depolarized papillary muscle cell of guinea pig

WANG Dai-yuan, WANG Hong-zhan, ZHOU Cheng-ming, ZHANG Ke-jin
(Dept Pharmacology, Xinjiang Medical College, Wulumuqi 830054)

ABSTRACT The effects of nicotinamide (Nic) on action potentials (AP) of guinea pig SA node cell, normal papillary muscle cell and papillary muscle cell depolarized by high K^+ were studied. Nic 33 mmol/L increased the slope of phase 4 of AP of SA

node cell by 43 %; APD_{90} of normal papillary muscle cell was shortened by 10 %; \dot{V}_{maxs} of phase 0 of AP of depolarized papillary muscle cell was not much changed; \dot{V}_{maxf} of phase 0 of AP of depolarized papillary muscle cell was decreased by 21 %;

excitability of the depolarized papillary muscle was inhibited. Verapamil $0.22 \mu\text{mol/L}$ decreased the slope of phase 4 and \dot{V}_{max} of AP of SA node cell respectively by 44 % and 80 %; \dot{V}_{maxs} of AP of the depolarized papillary muscle cell was decreased by 23%; \dot{V}_{maxf} was not significantly changed.

The results suggest: 1) There may be a difference between I_{s1} in the phase 4 of SA node AP and I_{s1} in the phase 0 of SA

mode AP and \dot{V}_{maxs} of AP of the partially depolarized papillary muscle cell; 2) The inhibition of Nic on excitability of myocardium may be related to the effect on Na^+ channel.

KEY WORDS nicotinamide; isoproterenol; verapamil; sinoatrial node; papillary muscles; action potentials

* * * * *