

烟碱对豚鼠和兔乳头状肌动作电位的影响

王庆山、尹京湘、刘泰峰¹ (张家口医学院, 张家口 075000; ¹北京大学, 北京 100871, 中国)

Effects of nicotine on action potentials of guinea pig and rabbit papillary muscles

WANG Qing-Shan, YIN Jing-Xiang, LIU Tai-Feng¹ (*Department of Physiology, Zhangjiakou Medical College, Zhangjiakou 075000; ¹Department of Biology, Peking University, Beijing 100871, China*)

ABSTRACT The electrophysiological action of nicotine was studied by microelectrode technique on isolated guinea pig and rabbit papillary muscles. Nicotine had no significant effect on RP, APA and V_{max} ; but its biphasic effect on APD_{35} , APD_{90} and ERP were observed in different concentrations, ie: high concentration (604 $\mu\text{mol/L}$) Prolonged APD_{35} , APD_{90} and ERP by 27.3, 26.0 and 26.1% respectively, whereas low concentration (0.6 $\mu\text{mol/L}$) shortened them by 49.6, 40.0 and 27.6%, respectively. It is suggested that high concentration of nicotine may enhance the calcium influx, but low concentration decrease it.

KEY WORDS nicotine; papillary muscles; neurologic refractory period; action potentials

提要 烟碱对豚鼠及兔乳头状肌电活动的 RP, APA 和 V_{max} 无明显影响; 但对其复极时程则因浓度不同而呈延长或缩短双相效应。高浓度烟碱 (604 $\mu\text{mol/L}$)

使 APD_{35} , APD_{90} 和 ERP 分别延长 27.0, 26.0 及 26.1%; 而低浓度 (0.6 $\mu\text{mol/L}$) 使三者分别缩短 49.6, 40.0 和 27.6%。烟碱对慢电位的影响表明, 高浓度烟碱可能促进 Ca^{2+} 内流; 低浓度则抑制 Ca^{2+} 内流。

关键词 烟碱; 乳头状肌; 神经性不应期; 动作电位

烟碱 (nicotine, 尼古丁) 可加快心率、提高血压^(1,2), 高浓度则可抑制心功能⁽³⁾引起早搏、导致心律失常。吸烟可诱发心肌梗塞、提高冠心病患者的猝死率^(4,5)。烟碱对心脏的危害已众所周知, 但其机理不详, 一些研究结果也不一致, Greenspan 等认为, 烟碱 617 $\mu\text{mol/L}$ 使犬乳头状肌动作电位 (action potential, AP) 时程缩短⁽⁶⁾; 而 Brasch 等则认为, 烟碱 20 $\mu\text{mol/L}$ 可使豚鼠乳头状肌 AP 时程延长⁽⁷⁾。为探讨烟碱危害心脏功能的机理, 本文用豚鼠和兔乳头状肌研究烟碱对 AP 的影响。

MATERIALS AND METHODS

豚鼠 27 只, 体重 $230 \pm \text{SD } 80 \text{ g}$; 兔 10 只, 体重 $2.4 \pm 0.6 \text{ kg}$, ♀♂不拘, 击头致死, 取心置于 O_2 饱和的改良 Locke 液⁽¹⁾ 中, 摘出右心室乳头状肌, 用不锈钢针固定于浴槽内硅橡胶上, 以充 O_2 饱和、温度为 $34 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 的

Locke 液灌流标本, 速度为 5 ml/min, 经稳定 40 min 后, 用 JSD-731 型刺激器, 以波宽为 0.2 ms, 频率为 1 Hz, 强度为 2 倍基强度的方波, 经光电隔离器刺激标本, 用玻璃微电极 (阻抗 10-30 M Ω) 引导 AP, 经 DF 微分器微分后输入下线, 显示最大除极速度 (V_{max})。用示波器照像机在给药前, 给药后 2, 4, 6, 9, 12 和 15 min 时, 以及恢复 15 min 时分别照像记录 AP, 并测量每一时刻的静息电位 (RP), 动作电位幅度 (APA), 有效不应期 (ERP), 复极至 35, 50 和 90% 的时程 (APD_{35} , APD_{50} 和 APD_{90})。

烟碱 (Merck 产品) 分别用 Locke 液稀释成 604, 60.4, 6.0, 0.6 和 0.06 $\mu\text{mol/L}$ 5 种浓度 (每支烟含烟碱约 2 mg, 如每天吸 2 支至 2 盒烟, 则进入体液的累积含量约为 6-124 $\mu\text{mol/L}$), 调节营养液的 pH 至 7.3-7.4, 灌流 15 min, 观察烟碱对同一细胞电活动的影响。

RESULTS

烟碱对豚鼠乳头状肌 AP 的影响 在 5 种浓度烟碱作用的 34 个乳头状肌标本中, 其 RP, APA 和 V_{max} 无明显变化; 但对复极过程则因烟碱浓度不同而显示不同效应。烟碱 604 $\mu\text{mol/L}$

使复极延缓, 时程延长; 而低浓度 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 则相反, 复极加速, 时程缩短。604 $\mu\text{mol/L}$ 灌流 15 min 后, 其 APD_{90} 由 198 ± 21 ms 延长至 231 ± 25 ms; 而 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 组却缩短至 123 ± 20 ms (Fig 1, Tab 1)。

烟碱对豚鼠乳头状肌 AP 平台期的影响 APD_{35} 可作为 2 相平台期时程的指标⁽⁸⁾。烟碱浓度不同, 对平台期的影响不一。604 $\mu\text{mol/L}$ 使平台期由 129 ± 19 ms 延长至 164 ± 28 ms ($n=6$, $p<0.05$); 而 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 则使其明显缩短 (Fig 1, Tab 1)。60.4 $\mu\text{mol/L}$ 组亦使其延长。0.06 $\mu\text{mol/L}$ 则对平台期无显著影响 (Fig 2)。

烟碱对豚鼠乳头状肌 AP 之 ERP 的影响 在 20 份标本上测得, 经烟碱 604 $\mu\text{mol/L}$ 灌流后, ERP 由 190 ± 36 ms 增至 217 ± 34 ms, 延长 37 ± 15 ms, 而 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 组则由 192 ± 34 ms 减至 139 ± 15 ms, 缩短 53 ± 25 ms ($n=20$, $P<0.01$, 0.01)。其 ERP/ APD_{90} 比值, 604 $\mu\text{mol/L}$ 组灌流前、后分别为 97.6 和 97.3%; 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 组由 96.8 变为 97.6%。由此说明, 烟碱对 ERP 和 APD_{90} 的影响相似, 即高浓度烟碱 (604 $\mu\text{mol/L}$) 可使两者延长; 而低浓度 (0.6 $\mu\text{mol/L}$) 则使两者均缩短。

烟碱对兔乳头状肌 AP 的影响 在 10 只

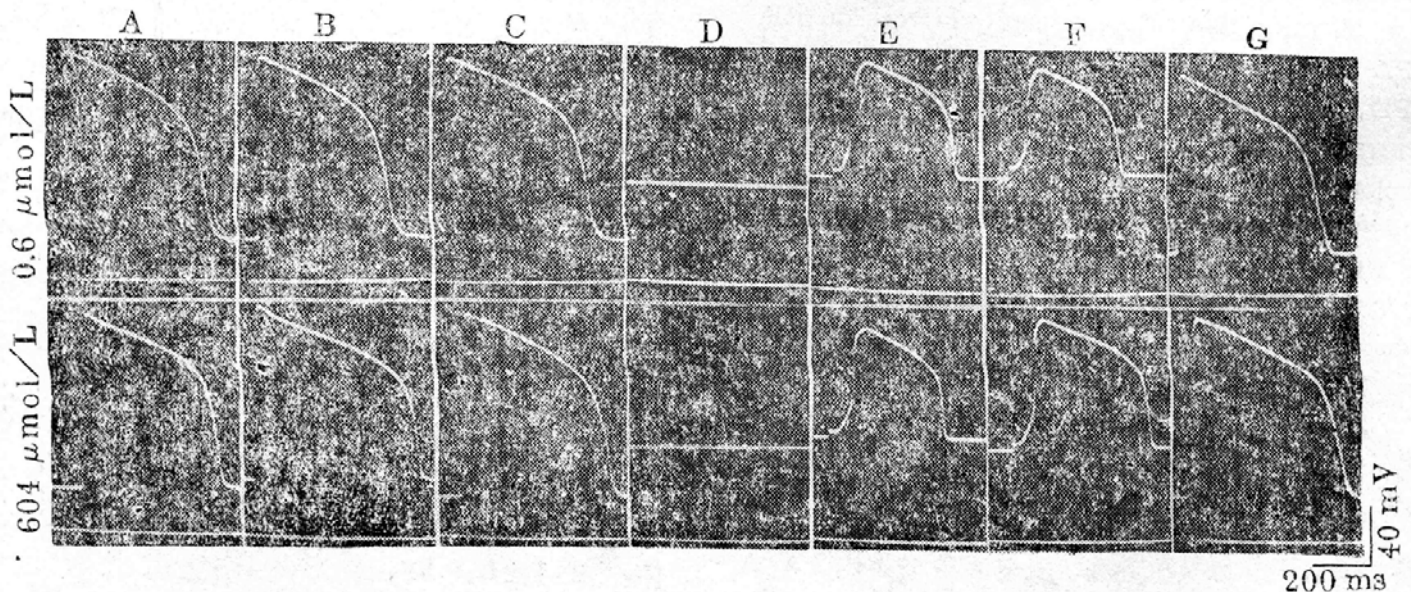


Fig 1. Effects of nicotine on action potentials of guinea pig papillary muscles. Upper tracing in each panel: action potential; Lower tracing: V_{max} . A) Control; B) After 15 min perfusion with nicotine; C) Recovery; D) High K (27 mmol/L); E) High K and histamine (4.5 $\mu\text{mol/L}$); F) High K, histamine and nicotine after 10 min perfusion; G) recovery.

Tab 1. Effects of nicotine 0.6 $\mu\text{mol/L}$ on action potentials of papillary muscles of guinea pigs. $n = 8$ cells, $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$.

Parameters	Control	2	4	6	9	12 min
APA(mV)	113 \pm 7	116 \pm 5*	117 \pm 4*	115 \pm 4*	114 \pm 5*	114 \pm 6*
V_{max} (V/s)	230 \pm 45	232 \pm 37*	228 \pm 39*	227 \pm 35*	230 \pm 40*	226 \pm 39*
RP(mV)	86 \pm 5	87 \pm 4*	84 \pm 6*	85 \pm 3*	86 \pm 4*	83 \pm 5*
ERP(ms)	192 \pm 22	178 \pm 24*	150 \pm 25**	145 \pm 32**	145 \pm 25**	139 \pm 28**
APD ₃₅ (ms)	143 \pm 31	130 \pm 33**	103 \pm 30**	79 \pm 34***	72 \pm 30***	72 \pm 21***
APD ₅₀ (ms)	168 \pm 26	144 \pm 26**	119 \pm 34***	109 \pm 30***	106 \pm 25***	105 \pm 31***
APD ₉₀ (ms)	207 \pm 25	168 \pm 25**	128 \pm 37***	131 \pm 29***	128 \pm 30***	124 \pm 20***

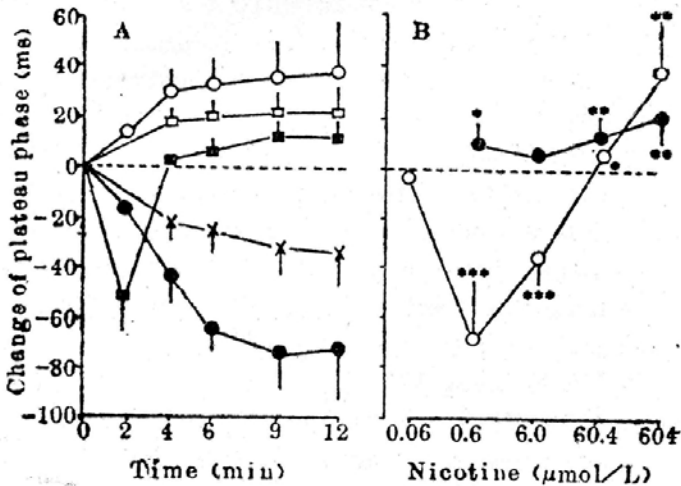


Fig 2. A) The plateau phase of action potential of guinea pig and rabbit papillary muscles after 12 min perfusion with nicotine 604 $\mu\text{mol/L}$ (\circ , $n = 6$ guinea pigs; \square , $n = 6$ rabbits), 0.6 $\mu\text{mol/L}$ (\bullet , $n = 8$ guinea pigs; \blacksquare , $n = 6$ rabbits) and 6.0 $\mu\text{mol/L}$ (\times , $n = 6$ guinea pigs). B) The changes between the plateau phase of guinea pig (\circ) and rabbit (\bullet) papillary muscles in nicotine during 12 min perfusion. $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$.

兔心, 共 24 个右室乳头状肌标本上, 用上述前 4 个浓度组的烟碱分别灌流, 其 AP 的变化与豚鼠 AP 的改变基本相似, 但兔对烟碱不及豚鼠敏感。在低浓度组(6.0 和 0.6 $\mu\text{mol/L}$), 6 min 之内复极时程缩短, 6 min 后逐渐延长。在同一细胞呈双相效应(Fig 2 A)。

烟碱对豚鼠乳头状肌慢电位的影响 在标本用含烟碱的营养液灌流后, 经冲洗恢复正常, 然后换以含 KCl 27 mmol/L 的 Locke 液, 由于钾除极作用, 致使 RP 逐渐降低, 最后稳定在 43 ± 2 mV; 同时, 因 RP 降低超过阈电位,

快 Na^+ 通道失活, APA 随之变小, 最后消失。此结果和文献⁽⁹⁾相符。后加入组织胺(上海第一制药厂)4.5 $\mu\text{mol/L}$, 减慢刺激频率(0.2 Hz), 增加波宽(2 ms), 加大刺激强度, 随之出现慢电位。其幅度 60 ± 11 mV, 时程 168 ± 12 ms, V_{max} 14 ± 8 V/s. 经稳定 10 min, 用烟碱 604 $\mu\text{mol/L}$ 处理时, 其幅度平均增加 11 ± 2 mV, 时程延长 32 ± 13 ms, V_{max} 增至 5.2 ± 1.5 V/s($n = 6$, $P < 0.05$, 0.01); 而当用 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 处理时, 幅度降低 12 ± 3 mV, 时程缩短 47 ± 13 ms, V_{max} 降低 7 ± 3 V/s, 换以正常 Locke 液后, 恢复正常($n = 6$, $P < 0.05$, 0.01) (Fig 1)。

烟碱 604 $\mu\text{mol/L}$ 组使慢反应 AP 轨迹下包围面积(ACSAPT, 将图放大绘于硫酸纸上, 沿 AP 剪下, 称重, 据比例法求面积)由 8612 ± 1942 mV \cdot ms 增至 11203 ± 2899 mV \cdot ms, 平均增加 30.1%; 而烟碱 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 灌流后, 则降至 5974 ± 1672 mV \cdot ms 减少 30.6% ($n = 6$, $P < 0.05$, 0.05)。

DISCUSSION

实验结果表明, 烟碱似不影响 AP 的除极过程, 但可影响复极过程, 且因浓度不同效应不一。本文烟碱最高浓度 604 $\mu\text{mol/L}$ 与 Greenspar 等使用的浓度(617 $\mu\text{mol/L}$)⁽⁶⁾ 相近, 但结果不一致, 这可能是因动物种属、实验条件及钙浓度不同所致。烟碱的豚鼠乳头状肌 AP 平台期浓度-效应曲线表明, 高浓度 604, 60.4 $\mu\text{mol/L}$ 使平台期延长这与 Brasch

等的结果⁽⁷⁾基本相符。此外, 本文还证明, 烟碱 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 可使 AP 时程和平台期缩短。

烟碱对豚鼠乳头状肌慢电位的影响与快电位的影响相似, 这表明烟碱 604 $\mu\text{mol/L}$ 可能促进 Ca^{2+} 内流⁽¹⁰⁾, 同时加强心肌收缩, 增加心肌耗氧量⁽¹¹⁾, 而 0.6 $\mu\text{mol/L}$ 则可能抑制 Ca^{2+} 内流, 促进 I_{ai} , 致使复极加速, 时程缩短, 平台期缩短⁽¹²⁾。不同浓度烟碱影响 Ca^{2+} 跨膜移动的机理不详。

兔乳头状肌 AP 对烟碱呈双相反应, 这可能是由烟碱在细胞内累积所致。烟碱在大鼠心脏的累积呈时间、剂量依赖性⁽¹³⁾。作用初期, 因烟碱浓度低, 表现为阻滞 Ca^{2+} 内流, 随时间延长, 累积量增多, 转为促进 Ca^{2+} 内流。

少量吸烟可使 AP 时程和 ERP 缩短; 而大量则致窦房结自发节律增快⁽¹⁾, 心室肌 AP 时程及 ERP 延长。这些可能是吸烟易引起心律失常的电生理学基础, 因而也可能是诱发心肌梗塞, 提高冠心病患者猝死率的原因之一。

致谢 王树兰、杨春花、马建伟和刘演生予以协助。

REFERENCES

- 1 Wang QS, Yin JX, Liu TF. Effects of nicotine on the automaticity of sinus node in rabbit heart. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10 : 325
- 2 Trap-Jensen J. Effects of smoking on the heart and peripheral circulation. *Am Heart J* 1988; 115 : 263
- 3 Deng QG, Chen PY, Mu LH. Effect of smoking on left ventricular performance. *Chin J Cardiol* 1985; 13 : 197
- 4 Wilhelmsen L. Coronary heart disease: epidemiology of smoking and intervention studies of smoking. *Am Heart J* 1988; 115 : 242
- 5 Kannel WB. Update on the role of cigarette smoking in coronary artery disease. *Ibid* 1981; 101 : 319
- 6 Greenspan K, Edmands RE, Knoebel SB, Fisch C. Some effects of nicotine on cardiac automaticity, conduction, and inotropy. *Arch Intern Med* 1969; 123 : 707
- 7 Brasch H, Iven H, Zetler G. Effects of simple indoles, noradrenaline, nicotine and tyramine on action potential and contractility of the isolated guinea-pig papillary muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1977; 299 : 259
- 8 Yu ZM, Tang SH, Teng AF, Xu B. The correlations between the phase 2 and the duration percent of the repolarization of the action potential in the isolated ventricular muscle of guinea pigs. *Chin J Appl Physiol* 1988; 4 : 72
- 9 Ma X, Zang WJ, Li XG and Li GR. Influence of zine sulfate on myocardial slow response electrical activity and ouabain induced oscillatory afterpotential. *Acta Pharm Sin* 1988; 26 : 401
- 10 Nayler WG. Effect of nicotine on cardiac muscle contractions and radiocalcium movement. *Am J Physiol* 1963; 205 : 890
- 11 Richard FA, James G, Dobson JR. Nicotine increases heart adenosine release, oxygen consumption, and contractility. *Ibid* 1985; 249 : 463
- 12 Kass RS. Nisoldipine : a new, more selective calcium current blocker in cardiac Purkinje fibers. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 223 : 446
- 13 Hagat B. Influence of various drugs on accumulation of ^3H -nicotine in isolated rat atria. *Eur J Pharmacol* 1970; 10 : 11