

## 尼卡地平对兔窦房结细胞自律性的影响

王庆山<sup>1</sup>、孙伟、贾长青<sup>2</sup>、刘泰捷<sup>3</sup>

(张家口医学院, <sup>2</sup>张家口东风制药厂, 张家口 075000, <sup>3</sup>北京大学, 北京 100871, 中国)

### Effects of nicardipine on automaticity of sinoatrial node in rabbit heart

WANG Qing-Shan<sup>1</sup>, SUN Wei, JIA Chang-Qing<sup>2</sup>, LIU Tai-Feng<sup>3</sup>

(Department of Physiology, Zhangjiakou Medical College; <sup>2</sup>Zhangjiakou Dong Feng Pharmaceutical Factory, Zhangjiakou 075000; <sup>3</sup>Department of Biology, Beijing University, Beijing 100871, China)

**ABSTRACT** The dual effects of nicardipine (Nic) on the automatic activity of sinoatrial (SA) node cell in rabbit heart had been observed using intracellular microelectrodes. Superfused with Nic 0.1, 0.5, 1.0, and 5.0  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  for 10 min, the spontaneous rate was decreased by 32%, 42%, 47%, and 69%, respectively. However, by superfusing with Nic 0.05  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , the spontaneous rate and the amplitude of action potentials were increased by 12% and 13% respectively. Nic 5.0  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  inhibited the positive chronotropic effects of isoproterenol and nicotine. The results suggest that Nic may block the calcium influx in SA node cells.

**KEY WORDS** nicardipine; isoproterenol; nicotine; sinoatrial node; action potentials

**摘要** 用微电极技术研究表明, 尼卡地平(Nic)对兔心窦房结细胞自发电活动有抑制和兴奋双相效应。当 Nic (0.1, 0.5, 1.0 和 5.0  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 灌流 10 min 后, 其 SR 分别降低 32%, 42%, 47% 和 69%, APA 降低 4%, 32%, 41% 和 78%; 然而, Nic 为 0.05  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, SR 却增加 12%, APA 增加 13%。Nic (5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 可抑制 Iso 和烟碱对窦房结细胞的阳性变时效应。提示, Nic 能阻滞起搏细胞的  $\text{Ca}^{2+}$  内流。

**关键词** 尼卡地平; 异丙肾上腺素; 烟碱; 窦房结; 动作电位

Received 1989 Aug 1

Accepted 1991 Jun 11

<sup>1</sup> Now in Department of Physiology, Shijiazhuang Medical College, Shijiazhuang 050031, China

尼卡地平(nicardipine, Nic)是新型钙拮抗剂, 它能扩张脑血管<sup>(1)</sup>、降低血压、增加冠脉血流量、缓解心绞痛、对抗长期应用普萘洛尔所致的副作用<sup>(2,3)</sup>, 但长期给犬 Nic, 可致心动过缓、传导阻滞<sup>(4)</sup>, Nic 还明显抑制培养心肌细胞的搏动<sup>(5)</sup>, 它对起搏细胞电节律影响的实验研究未见报道。本文用常规玻璃微电极技术, 观察了 Nic 对兔心窦房结细胞(sinoatrial node cell, SANC)自发电活动的影响。

### MATERIALS AND METHODS

Nic (张家口东风制药厂, 纯度 99.67%, 批号 870801), 异丙肾上腺素(isoproterenol, Iso, 北京制药厂产品, 纯度 1.0 mg/2 ml, 批号 8610121), 烟碱(98%, Merck 产品)。

兔 39 只, 体重  $2.1 \pm \text{SD } 0.8 \text{ kg}$ , ♀ ♂ 不拘, 击头致死, 取心, 置于  $\text{O}_2$  饱和的改良 Locke 液中, 制作窦房结标本, 固定于  $35 \pm 0.3^\circ\text{C}$  浴槽内, 以 Locke 液  $5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  灌流标本, 用  $\text{KCl } 3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  充灌的玻璃微电极引导 SANC 的动作电位(AP), 输入 SBR-1 双线示波器, 用示波器像机拍片, 计测 SANC 的自发电节律的频率, 方法同前文<sup>(6)</sup>。

将 Nic 粉剂溶解在 Tween 80 中, 然后稀释成含 Nic 为 5.0, 1.0, 0.5, 0.1, 0.05 和  $0.02 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的营养液, 经微量泵给 Nic 获得浓度作用曲线。每个标本先用 Tween 80 稀释液灌流 10 min 作对照, 然后改换 Nic 溶液灌流 10 min。在 Nic 作用时间内, 每隔 1 min 照像, 底片经放大 10 倍, 计测自发节律的频率(SR), 动作电位的幅度(APA), 4 相自动除

RESULTS

**Nic 对兔 SANC 自发节律的影响** 在 9 份标本上记录了窦房结自发节律, 其节律匀齐, 频率为  $159 \pm 26$  bpm. 标本稳定 40 min 后, SR 基本不变. 用 Tween 80 稀释液灌流 10 min, 其 SR 为  $168 \pm 27$  bpm, 灌流前为  $161 \pm 25$  bpm ( $n=8$ ,  $P>0.05$ ), 然后改换含不同浓度的 Nic 营养液. 因其浓度不同, 效应不一. 当用含 Nic  $5.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  灌流 10 min 后, 其 APA 逐渐降低;  $dV/dt$  变小, SR 减慢(Fig 1A). SR 平均减慢 69% ( $n=5$ ,  $P<0.01$ ). 当 Nic 为  $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, SR 反而逐渐增加, 经灌流 10 min 后, SR 增至  $180 \pm 27$  bpm (12%) ( $n=6$ ,  $P<0.05$ ).  $0.02 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对 SR 无明显影响. SCL 与 SR 呈相反方向变化.  $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  组使 SCL 缩短; 而 5.0, 1.0, 0.5,  $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  则使其延长(Fig 1, 2), 同时, SR,  $dV/dt$  和 APA 均逐渐降低(Tab 1).

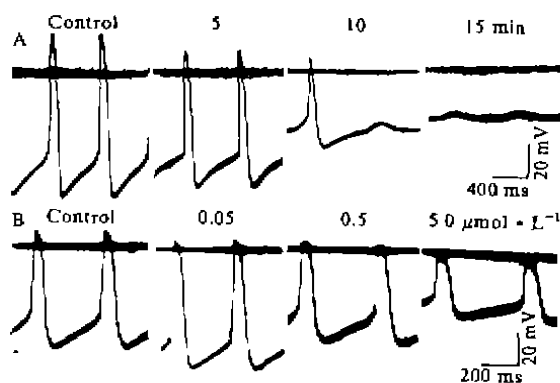


Fig 1. Effects of nifedipine on action potential of sinoatrial node cells in rabbit heart. A) Perfusing periods and action potentials with nifedipine  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in the same cell. B) Concentrations and action potentials after an equal perfusing period of 10 min in same cell.

**Nic 对 SANC 的 APA 的影响** 正常灌流条件下, 其 APA 为  $60 \pm 8$  mV. Tween 80 灌

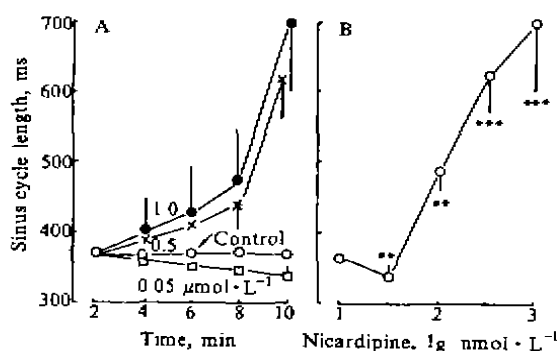


Fig 2. A) Sinus cycle lengths of sinoatrial node cells after 10 min perfusion with nifedipine ( $\bullet$ ,  $n=9$ ;  $\times$ ,  $n=6$ ;  $\square$ ,  $n=8$ ;  $\circ$ ,  $n=23$ ). B) The changes of sinus cycle lengths at 10 min after perfused with concentrations of nifedipine (20, 50, 100, 500, and  $1000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

Tab 1. Effects of nifedipine ( $1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on spontaneous rate (SR) and slope of 4 phase spontaneous depolarization ( $dV/dt$ ) and amplitude of action potential (APA) of rabbit sinoatrial node cells.  $n=9$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ , \* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$  vs control.

Time, min	SR, bpm	$dV/dt$ , $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$	APA, mV
Control	$159 \pm 26$	$48 \pm 17$	$60 \pm 9$
2	$156 \pm 27^*$	$39 \pm 17^*$	$56 \pm 8^*$
4	$146 \pm 25^{**}$	$32 \pm 12^{**}$	$50 \pm 16^{**}$
6	$138 \pm 28^{***}$	$25 \pm 11^{**}$	$47 \pm 20^{**}$
8	$129 \pm 29^{***}$	$18 \pm 9^{***}$	$41 \pm 19^{**}$
10	$85 \pm 28^{***}$	$9 \pm 5^{***}$	$34 \pm 18^{**}$

流 10 min 后, 幅度基本不变, 而改换 Nic 稀释液后, 在 4 个浓度组 28 份标本中, SR 均逐渐变慢, 同时, 其最大舒张电位水平上移, APA 降低(Fig 1), 其中 5 个标本(5.0 和 1.0 两浓度组各 2 个标本, 0.5 浓度组 1 个)均停止在静息电位.  $5.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  组灌流 10 min 后 APA 平均降低 78% ( $n=5$ ,  $P<0.01$ ). 而  $1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  组降低 41% ( $n=9$ ,  $P<0.01$ ); 但是  $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  组却增加到  $68 \pm 3$  mV ( $n=6$ ,  $P<0.05$ ) (Fig 1B).

**Nic 对 Iso 阳性变时效应的影响** 标本稳定 40 min 其 SR 和 APA 不变后, 首先用含

Iso  $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的营养液灌流 10 min 后, 改换 Iso 和 Nic  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  混合液处理 12 min, 然后再用 Iso 灌流 10 min, 最后用正常 Locke 液冲洗. 仅用 Iso 其 SANC 之 APA 增加; SR 增快(Fig 3). SR 增加值随 Iso 浓度增加而增加(Fig 4). 当 Iso 为  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  灌流 3 min 后, 其 SR 平均增加 64% ( $n=6$ ,  $P<0.05$ ), 然而改换与 Nic 的混合液灌流 3 min 后, SR 仅增加 23% ( $P<0.05$ ), 以后其 SR 和 APA 均逐渐减小, 其中仍有 5 个标本停搏. 用 Nic 分别与不同浓度的 Iso ( $0.05$ ,  $0.5$ ,  $5.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )混合液分别灌流, 不同时间 SR 的变化情况如 Fig 4. 用 Nic 处理过的标本, 再用正常 Locke 液冲洗 15 min, 其 SR 和 APA 仅恢复到正常值的 56% 和 63%.

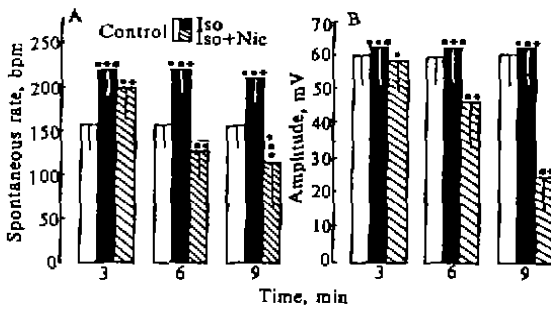


Fig 3. Changes of spontaneous rate (A,  $n=6$ ) and action potential amplitude (B,  $n=6$ ) in sinoatrial node cells after 3, 6, and 9 min perfusing with isoproterenol alone ( $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), and with both isoproterenol and nifedipine ( $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). \* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$ .

Nic 对烟碱的阳性变时效应的影响 烟碱对兔 SANC 有阳性变时效应<sup>(6)</sup>. 标本稳定后, 首先用含烟碱  $60.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  液处理 5 min, 然后改换其与 Nic  $5.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的混合液冲灌 10 min, 仅用烟碱处理 2 min 后, 其节律由  $159 \pm 21$  bpm 增至  $202 \pm 32$  bpm, 平均增加 42 bpm (26%) ( $n=6$ ,  $P<0.05$ ); 而用混合液灌流 2 min 后, 其 SR 变为  $147 \pm 13$  bpm, 减少 7.5%, 10 min 后则减少 43% (69

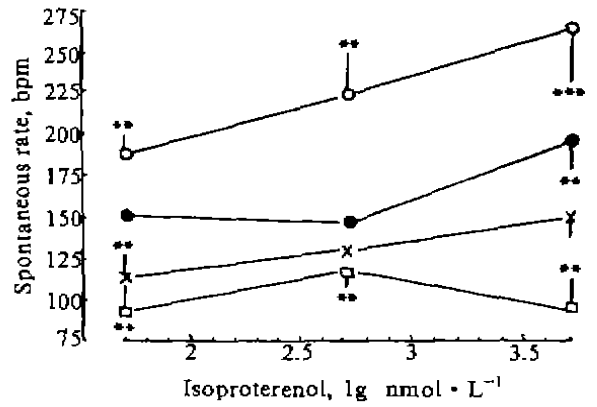


Fig 4. Spontaneous rate of sinoatrial node cells at 10 min after being perfused with isoproterenol (○, 50, 500, and 5000  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and at 3 (●), 6 (×), and 9 (□) min after being perfused with both isoproterenol and nifedipine.  $n=18$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ , \* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$ .

bpm) ( $P<0.01$ ), 再用烟碱灌流 10 min, 甚至更长时间, 其 SR 和 APA 均未恢复到正常水平, 分别为正常值的 58% 和 67%.

DISCUSSION

实验结果表明, 高浓度 Nic 能抑制兔 SANC 的自发电活动. 该效应与助溶剂 Tween 80 无关<sup>(7)</sup>. Nic 对 SANC 的抑制作用, 与其对培养的心肌细胞<sup>(5)</sup>, 或者 verpamic 对犬窦房结的作用<sup>(8)</sup>相同.

Iso 和烟碱均能增加心肌细胞钙电流<sup>(6,9)</sup>, 致使起搏细胞自发电节律增加. 本实验证明, Nic 能降低 Iso 和烟碱的阳性变时效应. 提示, Nic 可关闭钙通道, 因而  $\text{Ca}^{2+}$  内流减少, SANC 的 4 相自动除极斜率降低, SR 减慢, APA 降低. 由此说明, Nic 不仅是血管平滑肌钙拮抗剂<sup>(10)</sup>, 而且也是心肌钙拮抗剂, Nic 和 nisodipine 相似, 在高浓度(大于  $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )时可抑制心脏活动, 其机制可能是, 它们能使心肌细胞的 L 型钙通道全部失活, 使 T 型钙通道失活 50%<sup>(11)</sup>.

用 Nic 处理过的标本, 虽然经正常 Locke 液冲洗, 但其兴奋性一般不易恢复至正常状态, 这可能是由于 Nic 进入细胞<sup>(12)</sup>, 使钙通道长时间稳定于静息态所致<sup>(13)</sup>。

低浓度 Nic 与高浓度作用相反, 可使兔 SANC 自发节律加快, 呈现兴奋效应, 该作用符合二氢吡啶类钙拮抗剂对心脏的双相作用规律, 低剂量表现为兴奋, 高剂量则抑制。

本研究表明, Nic 可影响离体兔心 SANC 的自发电活动, 因其浓度不同呈现兴奋和抑制的双相效应, 其机制可能与细胞膜受体不同<sup>(14)</sup>有关, 尚需研究。

ACKNOWLEDGMENT 杨魁元同志协助摄影。

REFERENCES

1 Wei JY, Su ML, Duan MJ, Chen YH, Liu XM. Effects of nicardipine on vertebral vascular resistance in anesthetized dogs and spontaneous activity in mice. *Acta Pharmacol Sin* 1983; 4 : 97

2 Thomassen A, Bagger JP, Nielsen TT, Henningsen P. Metabolic and hemodynamic effects of nicardipine during pacing-induced angina pectoris. *Am J Cardiol* 1987; 59 : 219

3 Rocha P, Zannier D, Baron B, Pathe M, David D, Kahn J-C. Acute hemodynamic effects of intravenous nicardipine in patients treated chronically with propranolol for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1987; 59 : 775

4 Ribeiro LGT, Brandon TA, Debauche TL, Maroko PR, Miller RR. Antiarrhythmic and hemodynamic effects of calcium channel blocking agents during coronary arterial reperfusion. *Am J*

*Cardiol* 1981; 48 : 69

5 Yang JC, Yu CL. Effects of nicardipine on beating rates of cultured myocardial cells. *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11 : 150

6 Wang QS, Yin JX, Liu TF. Effects of nicotine on automaticity of sinoatrial node in rabbit heart. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10 : 325

7 曹贵云, 程雨时, 周远鹏, 张丽英. 吐温的药理作用. *中草药通讯* 1978; (9) : 43

8 Zipes DP, Fischer JC. Effects of agents which inhibit the slow channel on sinus node automaticity and atrioventricular conduction in the dog. *Circ Res* 1974; 34 : 184

9 Gisbert M-P, Fischmeister R. Atrial natriuretic factor regulates the calcium current in frog isolated cardiac cells. *Circ Res* 1988; 62 : 660

10 Terai M, Takenaka T, Maeno H. Inhibition of calcium influx in rabbit aorta by nicardipine hydrochloride (YC-93). *Biochem Pharmacol* 1981; 30 : 375

11 Tseng G-N, Boyden PA. Multiple types of Ca<sup>2+</sup> currents in single canine Purkinje cells. *Circ Res* 1989; 65 : 1735

12 Sperelakis N. Cyclic AMP and phosphorylation in regulation of Ca<sup>2+</sup> influx into myocardial cells and blockade by calcium antagonistic drugs. *Am Heart J* 1984; 107 : 347

13 Hess P, Lansman JB, Tsien RW. Different modes of Ca channel gating behaviour favoured by dihydropyridine Ca agonists and antagonists. *Nature* 1984; 311 : 538

14 Dubé GP, Baik YH, Schwartz A. Effects of a novel calcium channel agonist dihydropyridine analogue, Bay k 8644, on pig coronary artery: biphasic mechanical response and paradoxical potentiation of contraction by diltiazem and nimodipine. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 : 377

《心脏生理药理与临床》征订启事

《心脏生理药理与临床》为俞德章教授积五十年教学和科研经验, 集国内连续三十年(1960-1990)心脏生理学和药理学的专题评论编著而成, 全书分十章, 共 28 万余字, 图表约 120 幅, 为国内少有的汇集心脏生理、药理最新进展的参考书。定价: 平装本每册 4.50 元, 外加邮费 0.50 元。欢迎订购。邮局汇款, 请汇杭州浙江医科大学金承夏。银行汇款, 浙江医科大学, 邮政编码: 310006。开户, 杭州西湖办事处, 帐号 20408900383。