

镍对豚鼠心室肌收缩活动及慢反应电位的影响

刘北英, 钮伟真, 曹敬清, 韩大英

(首都医科大学心血管研究室, 北京 100054)

摘要 应用微张力换能及微电极方法观察了镍离子(Ni^{2+})对豚鼠心室肌收缩活动及慢反应电位的影响。结果显示: ① NiCl_2 $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 有增加收缩活动的倾向, 而在大于 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 收缩活动呈剂量依赖性下降。② Ni^{2+} 能明显抑制正阶梯现象及静息后增强效应, 但未使正阶梯现象翻转。③ Ni^{2+} 使慢反应电位的幅度及0期最大上升速率(\dot{V}_{\max})降低。④高浓度 Ni^{2+} 对收缩活动的抑制作用强而持久, 且对活动心肌的影响更加明显。上述结果表明: Ni^{2+} 通过多种途径拮抗 Ca^{2+} 而影响心肌的收缩活动, 它是一种非特异性的 Ca^{2+} 拮抗剂。而低浓度 Ni^{2+} 增加收缩活动的现象, 则提示 Ni^{2+} 对心肌收缩活动的影响可能存在不同的机理。

关键词 镍; 心肌收缩; 动作电位

中图分类号: Q445

文献标识码: A

文章编号: 1000-300X(2001)01-0031-04

临床上早有报道, 当心肌梗死和高血压发生时, 血清镍离子(Ni^{2+})浓度有明显增加, 表明有内源性 Ni^{2+} 的释放^[1,2]。这种异常的 Ni^{2+} 浓度升高可能反过来影响心血管的正常活动, 并造成损害。作为二价阳离子, Ni^{2+} 已在心肌的研究中有不少应用, 特别是对心肌细胞 Ca^{2+} 的跨膜转运、细胞内 Ca^{2+} 浓度及收缩活动的影响。但所报道的结果不尽相同^[3~7]。作者在离体动物心脏蒲肯野纤维及游离小梁的研究发现, Ni^{2+} 有抑制心肌钠泵活动的作用^[8]; 初步观察到 Ni^{2+} 可增加动作电位幅度, 随灌流时间先后出现动作电位平台和时程的不同变化^[9], 并见到 Ni^{2+}

有增加和降低心肌收缩活动的双重影响。结合他人的工作, 提示 Ni^{2+} 在心脏不同部位及组织、细胞等不同水平的研究结果可能存在着差异, 并可能导致对结果分析的不一致。鉴于上述原因, 本工作在豚鼠心室肌标本, 进一步观察和分析了 Ni^{2+} 对心室肌收缩活动及慢反应电位的作用及作用机理, 取得了一些有益的实验资料。

1 材料和方法

1.1 试剂及动物

NiCl_2 (分析纯, 北京红星化工厂)。

豚鼠, ♀♂兼用, 体重200~250 g, 本校动物科学部提供。

1.2 实验方法

全部实验按本室建立的方法进行^[10]。取豚鼠心室内直径在0.2~0.5 mm的游离小梁, 固定于灌流槽内。以纯 O_2 饱和的台氏液($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$: NaCl 150.0, KCl 4.0, CaCl_2 1.8, MgCl_2 0.5, HEPES 2.5, 葡萄糖 5.0, pH 7.4), 恒温(37°C), 恒速($2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$)灌流。

调节微张力换能器(IFTS-1, 航空航天工业部634所)应变梁, 使游离小梁处于最适初长。记录和测量电驱动下的主动收缩张力(active tension, T_A), 最大舒张张力(maximal diastolic tension, T_D , 即收缩标本的最大舒张水平基线), 及无刺激时的静息张力(resting tension, T_R)。

用普通玻璃微电极经微电极放大器(ISE-1, 中科院上海生理研究所)引导出快反应动作电位后, 以高 K^+ ($18 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl)台氏液获得慢反应动作电位(slow action potential, SAP), 记录并测量不同浓度 NiCl_2 作用前后SAP的幅度(APA)及0期最大上升速率(\dot{V}_{\max})。

1.3 统计学处理

全部实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并经配对 t 检验作统计学分析。

收稿日期: 1999-12-28 接受日期: 2000-06-23

作者简介 刘北英(1955-), 男, 辽宁省丹东市人, 副教授, 硕士, 主要从事心血管生理及药理学研究; 钮伟真(1947-), 男, 山东省淄博市人, 教授, 硕士, 主要从事心血管生理及药理学研究; 韩大英(1940-), 女, 北京市人, 教授, 博士, 主要从事心血管生理及心肌电生理学研究。

2 结果

2.1 Ni²⁺对豚鼠心室肌主动收缩张力,静息张力和最大舒张张力的影响

在累积加入 0.05,0.1,0.5,1.0 mmol·L⁻¹ NiCl₂ 的台氏液灌流下,T_A 的幅度由对照(100%)分别变化为(110±11)% (72±14)% (21±9)%和(2.1±2.0)% (表 1). 由上述结果可见,在低浓度(0.05 mmol·L⁻¹)Ni²⁺ 的作用下,T_A 有增加的趋势. 实际上在 22 例标本中,存在着 T_A 增加,下降和无变化 3 种情况,而 T_A 增加的占 14/22. 从 0.1 mmol·L⁻¹ 开始,T_A 随 Ni²⁺ 浓度的增加而下降. 在高浓度(1.0 mmol·L⁻¹)时,有 7 例已不能产生 T_A. 上述变化一般在给予 Ni²⁺ 灌流后 6~10 min 达稳定. 在重新给予正常台氏液灌流后,T_A 可恢复. 但在高浓度(1.0 mmol·L⁻¹)时,恢复过程减慢,曾在部分标本持续观察 1~2 h 未见恢复至前对照水平.

比较了 Ni²⁺ 对静息标本的 T_R 及 1 Hz 电刺激标本的 T_D 的影响. 由表 1 结果可见,在给予 0.05 和 0.1 mmol·L⁻¹ NiCl₂ 灌流时,T_R 和 T_D 均无变化. 而在 Ni²⁺ 浓度大于 0.5 mmol·L⁻¹ 时,T_R 和 T_D 均有所下降,其中 T_D 的变化更明显(图 1),表明 Ni²⁺ 对活动心肌的舒张程度影响较大.

Tab 1. Effects of Ni²⁺ on active tension(T_A),resting tension(T_R) and maximal diastolic tension(T_D) in guinea pig ventricular myocardium

NiCl ₂ /mmol·L ⁻¹	T _A /mg	T _R /mg	T _D /mg
0	12.4±1.5	0	0
0.05	13.6±2.1 *	0	0
0.1	9.1±2.3 ***	-0.4±0.2	-0.5±0.2
0.5	2.7±1.3 ***	-1.2±0.6	-2.5±1.2 *
1.0	0.3±0.2 ***	-1.7±1.0	-6.5±1.9 ***

NiCl₂ was accumulatively administrated. $\bar{x} \pm s$, $n = 22$ (T_A), 8 (T_R, T_D). * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, compared with control (0 mmol·L⁻¹ NiCl₂) by paired t test.

2.2 Ni²⁺对心肌静息后增强效应(post-rest potentiation , PRP)的影响

心肌在静息一段时间后再给予阈上刺激时,所

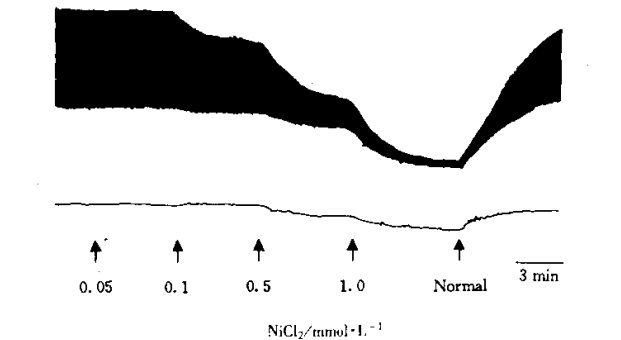


Fig 1. An illustration of effects of Ni²⁺ on resting tension and maximal diastolic tension in guinea pig ventricular myocardium. Upper trace :T_D. Lower trace :T_R. NiCl₂ was accumulatively administrated. Normal : normal Tyrode's solution.

产生的第一个收缩最大,这种现象为 PRP^[11]. 本实验在 8 例标本给予 0.5 mmol·L⁻¹ NiCl₂ 灌流后,PRP 下降至给药前的(74±22)%($P < 0.01$).

2.3 Ni²⁺对心肌正阶梯现象(positive staircase phenomena , PSP)的影响

在 12 例标本观察了 0.5 mmol·L⁻¹ NiCl₂ 对 PSP 的影响^[11]. 由图 2 可见,Ni²⁺ 能明显抑制 PSP,但未出现 PSP 翻转.

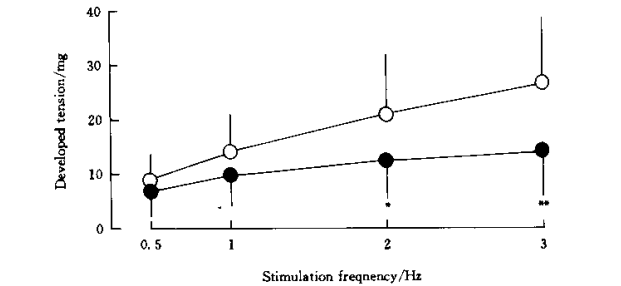


Fig 2. Effect of Ni²⁺ on positive staircase phenomena(PSP) in guinea pig ventricular myocardium. (○) control (Ni²⁺ free), (●) 0.5 mmol·L⁻¹ NiCl₂. $\bar{x} \pm s$, $n = 12$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control by paired t test.

2.4 Ni²⁺ 对心肌细胞慢反应动作电位的影响

9 例标本在引出典型的 SAP 后 ,累积给予 0.1 , 0.5 及 1.0 mmol·L⁻¹ NiCl₂ 的台氏液灌流 .由表 2 和图 3 可见 ,Ni²⁺ 使 SAP 的 \dot{V}_{max} 和 APA 明显下降 ,呈剂量依赖性 .

Tab 2. Effects of Ni²⁺ on high K⁺ -depolarized slow action potentials (SAP) in guinea pig ventricular myocardium

NiCl ₂ /mmol·L ⁻¹	$\dot{V}_{max}/V\cdot s^{-1}$	APA/mV
0	9.5 ± 5.8	69 ± 10
0.1	7.3 ± 4.4	69 ± 11
0.5	4.2 ± 2.6 *	57 ± 11 *
1.0	3.0 ± 2.3 * *	50 ± 11 * * *

\dot{V}_{max} : maximal upstroke velocity of SAP. APA : amplitude of SAP. SAPs were induced by 18 mmol·L⁻¹ KCl. NiCl₂ was accumulatively administrated. $\bar{x} \pm s$, $n=9$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, compared with control(0 mmol·L⁻¹ NiCl₂) by paired t test.

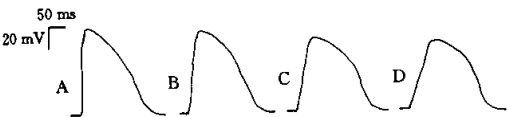


Fig 3. An illustration of effect of Ni²⁺ on slow action potentials in guinea pig ventricular myocardium. SAPs were induced by 18 mmol·L⁻¹ KCl. NiCl₂ was accumulatively administrated. A ,B ,C ,D : NiCl₂ 0 ,0.1 ,0.5 and 1.0 mmol·L⁻¹ , respectively .

3 讨论

以往在心血管系统对 Ni²⁺ 的实验研究中 ,主要注重的是 Ni²⁺ 对 Ca²⁺ 跨膜运动的影响 ,因而视其为 Ca²⁺ 拮抗剂 ,并有不少实验依据 .然而近 10 年来 ,一些实验研究及临床报道却显示 Ni²⁺ 除了其 Ca²⁺ 拮抗作用外 ,还存在着多方面的生物学作用^[2,8,12~14] .即便是对 Ca²⁺ 流也可能并非单一的拮抗作用^[2,3] .本室先前的工作亦支持这一观点^[9] .

本实验从心肌收缩活动的不同角度观察到 ,

Ni²⁺ 在大于 0.1 mmol·L⁻¹ 浓度时对心肌主动收缩张力呈剂量依赖性抑制作用 ,可明显抑制 PRP 及 PSP ,并观察到慢反应动作电位的 \dot{V}_{max} 和 APA 明显减小 .这些结果均表明 Ni²⁺ 的 Ca²⁺ 拮抗作用 ,即其不但对跨膜 Ca²⁺ 流有阻滞作用 ,而且还对胞内的钙库释放有抑制作用 .本实验还发现 Ni²⁺ 不能翻转 PSP ,则表明 Ni²⁺ 是一种非特异性的 Ca²⁺ 拮抗剂 .

本实验显示低浓度的 Ni²⁺ 有增加心肌收缩的倾向 ,这显然不是 Ni²⁺ 的 Ca²⁺ 拮抗作用 .考虑到心肌收缩活动除了 Ca²⁺ 的跨膜流动外 ,还与胞内 Ca²⁺ 浓度的瞬变 ,收缩蛋白等因素有关 .因而不能排除低浓度的 Ni²⁺ 可能通过某种与收缩有关的机理促进收缩活动 .已有报道 ,Ni²⁺ 可明显收缩血管^[2] ,本室先前的工作还见到 Ni²⁺ 对离体血管条的张力具有双相作用^[9] ,这与低浓度的 Ni²⁺ 增加心肌收缩作用是否有相同之处 ,还有待进一步研究 .

此外 ,本实验还发现 ,Ni²⁺ 在较高浓度(如大于 1.0 mmol·L⁻¹)时对心肌收缩活动的抑制作用强而持久 ,不易洗脱 ,而且这种抑制作用在活动的标本更加明显 .这些现象在镍中毒及长期大量接触镍的人群应予以足够的重视 .

4 参考文献 :

[1] McNeely MD , Sunderman FW Jr , Nechay MW , Levine H. Abnormal concentrations of nickel in serum in cases of myocardial infarction , stroke , burns , hepatic cirrhosis , and uremia[J]. *Clin Chem* , 1971 , **17** (11) :1123 - 1128 .
[2] Rubanyi G , Ligeti L , Koller A. Nickel is released from the ischemic myocardium and contracts coronary vessels by a Ca-dependent mechanism[J]. *J Mol Cell Cardiol* , 1981 , **13** (11) :1023 - 1026 .
[3] Brommundt G , Kavalier F. La³⁺ , Mn²⁺ , and Ni²⁺ effects on Ca²⁺ pump and on Na⁺ -Ca²⁺ exchange in bullfrog ventricle[J]. *Am J Physiol* , 1987 , **253** (1 Pt 1) :C45 - C51 .
[4] Ravens U , Steinmann E , Ziegler A. Effects of gallopamil , nifedipine , Ni²⁺ , and La³⁺ in guinea pig atria after a sudden increase in extracellular Ca²⁺ concentration[J]. *J Cardiovasc Pharmacol* , 1987 , **10** (4) :462 - 473 .
[5] Hayashi H , Satoh H , Noda N , Terada H , Hirano M , Yamashita Y , et al . Simultaneous measurement of intracellular Na⁺ and Ca²⁺ during K⁺ -free perfusion in isolated myocyte[J]. *Am J Physiol* , 1994 , **266** (2 Pt 1) :C416 - C422 .
[6] Kihara Y , Sasayama S , Inoko M , Morgan JP. Sodium/cal-

- cium exchange modulates intracellular calcium overload during posthypoxic reoxygenation in mammalian working myocardium. Evidence from aequorin-loaded ferret ventricular muscles[J]. *J Clin Invest* , 1994 , **93** (3) :1275 – 1284.
- [7] Lewartowski B , Emanuel K , Langer GA. Dibucaine displaceable sarcolemmal Ca^{2+} fraction in guinea-pig cardiac myocytes[J]. *J Physiol Pharmacol* , 1998 , **49** (2) :213 – 227.
- [8] 刘北英,韩大英,钮伟真,赵文颖. Ni^{2+} 对心肌细胞 Na^+ , K^+ 活度及膜钠泵活动的影响[J]. 中国应用生理学杂志 , 1994 , **10** (3) :250 – 253.
- [9] 刘北英,曾朴,陈孝良,韩大英. 镍对心肌细胞跨膜电位, Na^+ , K^+ 活度及血管平滑肌张力的影响[A]. 见:第十八届中国生理学大会学术论文汇编[C],第十八届中国生理学大会,上海,1989. 生理通讯,1989,增刊 :152.
- [10] 刘北英,韩大英,陈孝良,赵文颖. 心肌细胞内外离子浓度,跨膜电位,肌张力的连续记录[J]. 中国应用生理学杂志 , 1992 , **8** (4) :345 – 347.
- [11] Temma K , Akera T , Brody TM. Inotropic effects of digitoxin in isolated guinea-pig heart under conditions which alter contraction[J]. *Eur J Pharmacol* , 1981 , **76** :361 – 370.
- [12] Rubanyi G , Balogh I , Somogyi E , Kovach AG , Sotony P. Effect of nickel ions on ultrastructure of isolated perfused rat heart[J]. *J Mol Cell Cardiol* , 1980 , **12** (6) :609 – 618.
- [13] Kecskemeti V , Rubanyi G , Kelemen K. Effects of nickel ions on the transmembrane action potential of guinea-pig heart preparation[J]. *J Mol Cell Cardiol* , 1985 , **17** (5) :477 – 484.
- [14] Eyssen Hernandez R , Ladoux A , Frelin C. Differential regulation of cardiac heme oxygenase-1 and vascular endothelial growth factor mRNA expressions by hemin , heavy metals , heat shock and anoxia[J]. *FEBS Lett* , 1996 , **382** (3) :229 – 233.

Effects of Ni^{2+} on contractions and slow action potentials in guinea pig ventricular myocardium

LIU Bei-Ying , NIU Wei-Zhen , CAO Jing-Qing , HAN Da-Ying

(Department of Cardiovascular Physiology , Capital University of Medical Sciences , Beijing 100054 , China)

Abstract : The effects of Ni^{2+} on contractions and slow action potentials were studied by using micro-force transducer and microelectrode methods *in vitro* in guinea pig ventricular myocardium. The results showed :① $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NiCl}_2$ produced a positive chronotropic effect ,but in the high concentrations ($0.1 - 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) , Ni^{2+} produced a dose-dependent negative chronotropic effect. ② NiCl_2 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ inhibited post-rest potentiation and positive staircase phenomena (PSP) ,but didn't reverse PSP. ③ NiCl_2 $0.1 - 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ reduced \dot{V}_{\max} and amplitude of

slow action potentials. ④ In high concentrations ($> 0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) ,the effects of Ni^{2+} were strong and lasted long ,and were more significant in active preparations. These results suggest that Ni^{2+} inhibit myocardial contraction by many ways as Ca^{2+} antagonist , and from the event that low concentration of Ni^{2+} potentiated myocardial contraction , there be different mechanisms of its effects on myocardial contraction.

Key words : nickel ; myocardial contraction ; action potentials

(本文编辑 董立春)