论著

文章编号:1000-5404(2005)08-0740-02

兔心肌梗死后心室肌细胞钙电流变化及比索洛尔的影响

刘 兵,张荣庆,王海昌,郭文怡,程何祥,徐 凯,贾国良 (第四军医大学西京医院心血管内科,西安 710032)

提 要: 目的 本研究观察心肌梗死(myocardial infarction, MI)后3周,兔心室肌细胞L型钙电流($I_{Ca\text{-}L}$)的改变及比索洛尔的影响。**方法** 采用Langendoff灌流法获得单个心室肌细胞,利用膜片钳技术全细胞记录模式,记录心室肌细胞L型钙电流($I_{Ca\text{-}L}$)。**结果** 本实验记录了3组心室肌细胞的$I_{Ca\text{-}L}$的电流的变化。MI组$I_{Ca\text{-}L}$电流峰值显著高于伪手术组(Sham组)(2.19±0.84) nA *vs* (1.57±0.56) nA、($P<0.05$),比索洛尔组(β-B组)(1.78±0.53) nA与Sham组间无显著差异。但经膜电容标化后,$I_{Ca\text{-}L}$电流密度3组间无显著差异[MI组(12.60±3.74) pA/pF、β-B组(12.57±2.69) pA/pF、Sham组(12.49±4.21) pA/pF],Ⅰ~Ⅴ曲线呈典型"铃型"曲线。**结论** 比索洛尔可减轻MI非梗塞区心室肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$的变化。

关键词: 心肌梗死;L型钙电流($I_{Ca\text{-}L}$);比索洛尔

中图法分类号: R337.5; R542.220.2; R971.94 **文献标识码**: A

Changes and bisoprolol effects on Ca^{2+} current of ventricular myocytes after myocardial infarction in rabbit

LIU Bing, ZHANG Rong-qing, WANG Hai-chang, GUO Wen-yi, CHENG He-xiang, XU Kai, JIA Guo-liang (Department of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of L-type Ca^{2+} current ($I_{Ca\text{-}L}$) of ventricular myocytes after 3-week myocardial infarction and effects of bisoprolol. **Methods** Sixty-five healthy rabbits, weighing 1.8 – 2.5 kg, were divided into 3 groups: myocardial infarction (MI), bisoprolol (β-B), and sham operation (Sham). Single ventricular myocytes from rabbits of 3 groups were isolated using modified Langendoff perfusion and soaked with collagenase. $I_{Ca\text{-}L}$ of isolated rabbit ventricular myocytes was investigated by using whole-cell path-clamp technique. **Results** The peak level of $I_{Ca\text{-}L}$ in MI group was significantly higher than sham group (2.19±0.84 *vs* 1.57±0.56, $P<0.05$). There was of no significant different between sham group and β-B group (1.78±0.53). After the current was normalized to membrane capacitance, the average current density was no significantly difference among 3 groups. The Ⅰ – Ⅴ curves showed a typical bell-shaped configuration. **Conclusion** Bisoprolol could reduce the changes of $I_{Ca\text{-}L}$ of ventricular myocytes from noninfarcted region.

Key words: myocardial infarction; L-type Ca^{2+} current; bisoprolol

心肌梗死(myocardial infarction, MI)后室性心律失常是严重的心血管事件,梗死后心肌缺血程度不一致,导致心肌电生理特征出现明显差异,对它的研究报道较多[1],但对长期MI后非梗死心肌细胞的离子流研究不多见。国外已有学者关注长期MI后非梗死心肌细胞的离子流与室性心律失常的研究。本研究利用膜片钳技术全细胞记录模式,记录心室肌细胞内向性$I_{Ca\text{-}L}$,观察$I_{Ca\text{-}L}$的变化及比索洛尔的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型及分组

1.1.1 动物模型 健康家兔65只(第四军医大学实验动物中心提供),体质量1.8~2.5 kg,雌雄不拘。3%戊巴比妥(30 mg/kg)耳缘静脉注射麻醉动物,碘弗消毒皮肤,沿胸骨左缘第3、4肋间依次剪开皮肤、肌肉及肋骨开胸,剪开心包膜,用心包拉钩制作心包吊床,在左心耳缘下0.5~1.0 cm处用0号线缝扎冠状动脉左室支,逐层关胸。送回动物房饲养3周。

1.1.2 分组 将动物随机分为3组:①心肌梗死组(MI组)21只:结扎冠状动脉,饲养3周。②比索洛尔组(β-B组)20只:手术同MI组,术后24 h内给予比索洛尔(德国MERCK康可5 mg/片)口服(第1周1.25 mg,第2周2.5 mg,第3周5 mg)3周。

作者简介:刘 兵(1966-),女,河北省深县人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事心律失常方面的研究。电话:(029)83375183

收稿日期:2004-10-30;修回日期:2005-01-03

③伪手术组（Sham 组）20 只：手术方式同 MI 组，但冠状动脉穿线，不结扎，饲养 3 周。

1.2　单个心室肌细胞的分离

参照文献[2]报道的方法。

1.3　溶液

用于细胞分离的无钙 Tyrode 液的组成为（mmol/L）：NaCl 143，KCl 5.4，$MgCl_2$ 0.5，NaH_2PO_4 3，葡萄糖 5.5，HEPES 5，用 NaOH 调 pH 至 7.4。有钙 Tyrode 液组成（mmol/L）：NaCl 143，KCl 5.4，$MgCl_2$ 0.5，NaH_2PO_4 3，HEPES 5，葡萄糖 5.5，$CaCl_2$ 1.8，用 NaOH 调 pH 至 7.4。用于细胞保护的细胞保护液（KB 液，mmol/L）：KCl 40.0，KH_2PO_4 20.0，葡萄糖 10.0，L-谷氨酸 50.0，牛磺酸 20.0，EGTA 0.5，$MgCl_2$ 5，HEPES 10.0，用 KOH 调 pH 至 7.4。用于记录钙电流的细胞外液的组成为（mmol/L）：NaCl 135，CsCl 4.6，$MgCl_2$ 0.5，$CaCl_2$ 1.8，glucose 10，HEPES 5，用 CsOH 调 pH 至 7.4。用于记录钙电流的电极内液组成为（mmol/L）：CsCl 140，$MgCl_2$ 0.5，EGTA 1，Na_2ATP 4，HEPES 5，glucose 5.5，用 CsOH 调 pH 至 7.2。

1.4　L 型钙电流的测定

$I_{Ca\text{-}L}$是在常规全细胞电压钳制下测定的。钳制心室肌细胞膜电位于 -40 mV，以 10 mV 递增幅度使之去极化至不同膜电位水平（-40 mV ~ +50 mV），持续时间为 300 ms。此测定过程中，由于心室肌细胞膜电位被钳制于 -40 mV 时 Na^+ 通道处于失活状态，因此记录结果不包括 Na^+ 电流。K^+ 通道电流由加入到细胞外液的 CsCl 阻断。$I_{Ca\text{-}L}$的大小测量为各电位除极水平时的电流峰值与除极终末的该电流水平之差，$I_{Ca\text{-}L}$的大小除以该细胞的电容标化为 $I_{Ca\text{-}L}$的电流密度。

1.5　实验数据的采集

实验中所获得的电生理资料经膜片钳放大器（美国 Axopatch-200B）2 kHz 滤波放大后储存于 Philips 兼容计算机内，采用 PClamp 8.0 和 Clampex 8.0 软件在同一计算机上进行分析。

1.6　统计学处理

各类数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较采用组间 t 检验。

2　结果

本实验记录了 3 组心室肌细胞的 $I_{Ca\text{-}L}$的电流的变化，MI 组 $I_{Ca\text{-}L}$电流峰值显著高于 Sham 组[（2.19 ± 0.84）nA *vs*（1.57 ± 0.56）nA，（$P < 0.05$）]，β-B 组（1.78 ± 0.53）nA 与 Sham 组间无显著差异。但经膜电容标化后，$I_{Ca\text{-}L}$电流密度 3 组间无显著差异[MI 组（12.60 ± 3.74）pA/pF、β-B 组（12.57 ± 2.69）pA/pF、Sham 组（12.49 ± 4.21）pA/pF]，Ⅰ ~ Ⅴ曲线呈典型"铃型"曲线。

3　讨论

室性心律失常是 MI 后严重的心血管事件，电生理异常是室性心律失常发生的基础。本研究采用全细胞膜片钳技术，对冠脉结扎后 3 周的兔左室非梗塞区心肌细胞的研究显示 MI 组膜电容显著大于 Sham 组；$I_{Ca\text{-}L}$电流峰值显著高于 Sham 组，但 $I_{Ca\text{-}L}$电流密度与 Sham 组间无显著差异；这些电生理异常是心律失常产生的潜在因素[3,4]。

近年来，MI 后长期存活者心室重构的重要性已得以充分认识[5]，动作电位复极过程的延长易于产生复极离散及后除极，进而易诱发各类心律失常[6]。兔心室肌细胞动作电位动作电位（AP）复极相时程决定心室肌细胞 APD 及 ERP 的长短[1]。AP 复极相时程的长短则取决于内向性电流与外向性电流的平衡和失平衡的过程，除 K^+ 电流的减小外，$I_{Ca\text{-}L}$失活的减慢可能是平台期内向电流改变的致心律失常基础。从致心律失常观点分析，异常延迟的复极增加了不应期的离散及产生折返性心律失常的倾向，或由早期后除极（EAD）引发的心动过缓依赖性的触发活动[7]。$I_{Ca\text{-}L}$是复极期主要的内向电流，肥厚心肌中 $I_{Ca\text{-}L}$密度的增加和/或 $I_{Ca\text{-}L}$失活的减慢可以解释其 APD 的延长。但在不同肥厚模型中，$I_{Ca\text{-}L}$密度的报道有所不同[8]。本实验中比索洛尔治疗 3 周后，$I_{Ca\text{-}L}$峰值较 MI 组减小，经膜电容标化后，$I_{Ca\text{-}L}$电流密度 3 组间无显著差异。但比索洛尔对离子流影响的机制尚不清楚，考虑除 β-阻滞剂通过对儿茶酚胺的作用对心肌电生理特性的影响外，还与 β-阻滞剂在体内可通过多种综合途径影响离子通道蛋白的表达有关。

参考文献：

[1] Qi X Y, Shi W B, Wang H H, *et al*. A study on the electrophysiological heterogeneity of rabbit ventricular myocytes---the effect of ischemia on action potentials and potassium currents[J]. Acta Physiologica Sinica, 2000, 52(5): 360 - 364.

[2] 刘　兵，贾国良，张荣庆，等. 心肌梗死后心室肌细胞内钙离子浓度变化及比索洛尔对其的影响[J]. 第四军医大学学报，2001，22(21)：1936 - 1939.

[3] Aimond F, Alvarez J L, Rauzier J M, *et al*. Ionic basis of ventricular arrhythmias in remodeled rat heart during long-term myocardial infarction[J]. Cardiovasc Res, 1999, 42(2): 402 - 415.

[4] Qin D, Zhang Z H, Caref E B, *et al*. Cellular and ionic basis of arrhythmias in postinfarction remodeled ventricular myocardium[J]. Circ Res, 1996, 79(3): 461 - 473.

[5] Pfeffer M A, Braunwald E, Moye L A, *et al*. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators[J]. N Engl J Med, 1992, 327(10): 669 - 677.

[6] Aronson R S, Ming Z. Cellular mechanisms of arrhythmias in hypertrophied and failing myocardium[J]. Circulation, 1993, 87(Suppl Ⅶ): 76 - 83.

[7] Rozanski G J, Xu Z, Whitney R T, *et al*. Electrophysiology of rabbit ventricular myocytes following sustained rapid ventricular pacing[J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29(2): 721 - 732.

[8] Hart G. Cellular electrophysiology in cardiac hypertrophy and failure[J]. Cardiovasc Res, 1994, 28(7): 933 - 946.

（编辑　薛国文）