

氯化铜对心肌细胞电机械活动的影响¹

张社团、李孝光、刘传皓 (西安医科大学电生理研究室, 西安 710061, 中国)

Effects of copper chloride on electro-mechanical activities of myocardial cells¹

ZHANG She-Tuan, LI Xiao-Guang, LIU Chuan-Hao

(Research Laboratory of Electrophysiology, Xi'an Medical University, Xi'an 710061, China)

ABSTRACT The effects of copper chloride (CuCl_2) on action potentials and contractile forces of guinea pig papillary muscles and cultured myocardial cells from neonatal rats were studied by means of an intracellular microelectrode and transducers. The results showed CuCl_2 50 $\mu\text{mol/L}$ reduced action potential amplitude (APA) and maximal depolarization rate of 0 phase (V_{max}), shortened action potential duration at 50% (APD_{50}) and at 90% (APD_{90}) repolarization, prolonged effective refractory period (ERP), inhibited contractile force of guinea pig papillary muscles. The effect of CuCl_2 on AP of cultured myocardial cells was similar to those of guinea pig papillary muscles. The beating rate and contractile amplitude of cultured myocardial cells were decreased by CuCl_2 50 $\mu\text{mol/L}$ from 102 ± 44 bpm to 58 ± 21 bpm and from 100% to $69 \pm 17\%$ respectively. These suggest that CuCl_2 may be an anti-arrhythmic element.

KEY WORDS copper; action potentials; papillary muscles; myocardium; cultured cells

摘要 CuCl_2 50 $\mu\text{mol/L}$ 降低豚鼠乳头状肌细胞和培养的大鼠乳鼠心室肌细胞动作电位振幅(APA), 缩短动作电位时程(APD), 延长有效不应期(ERP), 抑制豚鼠乳头状肌收缩力(F_e), 使培养心肌细胞搏动频率从 102 ± 44 bpm 减慢至 58 ± 21 bpm, 搏动振幅减小到原来的 $69 \pm 17\%$ 。提示 Cu^{2+} 可能具有抗心律失常作用和心肌负性变力作用。

Received 1989 Apr 29 Accepted 1989 Oct 19

¹Project supported by the National Natural Science Fund, No 414

关键词 铜; 动作电位; 乳头状肌; 心肌; 培养的细胞

心肌梗塞病人血清铜显著增高⁽¹⁾, 增高的血铜对心肌会产生什么样的影响是一个值得注意的问题。本文利用常规微电极技术和心肌细胞培养技术, 观察 CuCl_2 对豚鼠乳头状肌和培养大鼠乳鼠心室肌细胞动作电位(AP)的影响, 并观察 CuCl_2 对豚鼠乳头状肌收缩力及培养大鼠乳鼠心肌细胞搏动的影响, 旨在探讨血铜增高在心肌梗塞中的意义。

MATERIALS AND METHODS

氯化铜($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)由西安化学试剂厂生产, AR, 用蒸馏水配成 100 mmol/L 溶液。Eagle 最低必需培养基由中国科学院生物物理所生化厂生产。

豚鼠, 体重 $272 \pm \text{SD } 24$ g, ♀♂不拘, 击头处死, 开胸取心, 在充氧台氏液中制备右心室乳头状肌标本, 置于 3 ml ($36 \pm 0.5^\circ\text{C}$) 浴槽中, 以充氧台氏液循环灌流, 乳头状肌根部用不锈钢针固定, 腱索端连接肌力换能器, 电信号经前级放大器输入 SBR-1 型示波器, 显示乳头状肌收缩力(F_e)。

心肌细胞培养采用新生 2-4 d 的 SD 大鼠, ♀♂不拘, 取心尖部组织, 0.06% 胰蛋白酶消化分离后, 制成细胞悬液(pH 7.2)分装于培养瓶, 直 37°C 的培养箱内 4-7 d 后实验。培养液用 Eagle 最低必需培养基(MEM)加 20% 小牛血清。

培养心肌细胞搏动观察用双目倒置显微镜, 在一目镜上安装光敏换能器并连接于心电图机, 观察并描记心肌细胞搏动的幅度和频率。

Tab 1. Effects of CuCl_2 on the action potentials and contractile force of guinea pig papillary muscles. $n = 8$, $\bar{x} \pm \text{SD}$. ** $P < 0.05$. *** $P < 0.01$ vs cont rol.

Concn ($\mu\text{mol/L}$)	APA (mV)	APD ₅₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)	ERP (ms)	V_{max} (V/s)	F_c (%)
Control	120 ± 5	185 ± 25	230 ± 21	257 ± 29	187 ± 24	100
10	117 ± 9	179 ± 23	222 ± 19	262 ± 31	176 ± 22	92 ± 11
50	113 ± 10**	169 ± 22	211 ± 19**	268 ± 31**	153 ± 20**	80 ± 24**
100	111 ± 8**	163 ± 19**	206 ± 18**	274 ± 33***	139 ± 31**	58 ± 20***
500	94 ± 15***	154 ± 21***	191 ± 19***	286 ± 36***	89 ± 36***	33 ± 15***
1000	75 ± 17***	145 ± 25***	179 ± 25***	314 ± 31***	59 ± 28***	16 ± 7***

APA = action potential amplitude; APD₅₀ = action potential duration at 50% repolarization; APD₉₀ = action potential duration at 90% repolarization; ERP = effective refractory period; V_{max} = maximal depolarization rate of 0 phase; F_c = contractile force.

AP 记录用玻璃微电极, 尖端直径 $< 0.5 \mu\text{m}$, 内充 KCl 3 mol/L, 电阻 10-40 M Ω , AP 信号经 FW-2 型微电极放大器输入示波器上线, 其下线记录 AP 零相最大上升速率 (V_{max}). 离体乳头状肌 AP 记录, 在同一细胞内完成对照和药物作用的观察, 实验结果照相记录, 所得资料用配对 t 检验统计学处理. 培养心肌细胞 AP 记录在倒置显微镜下进行⁽²⁾, 对照组 20 瓶细胞, 实验组 17 瓶细胞, 两组实验交叉进行, 每瓶记录 5 个不同细胞的 AP, 取平均值作为一个样本, 所得资料用组间 t 检验统计学处理.

RESULTS

CuCl_2 对豚鼠乳头状肌动作电位及收缩力的影响 记录出稳定的 AP 和 F_c 后, 采用累积给药法, 观察了 CuCl_2 10, 50, 100, 500, 1000 $\mu\text{mol/L}$ 对豚鼠乳头状肌 AP 和 F_c 的影响, 每次给药后观察 15 min, 结果, CuCl_2 10 $\mu\text{mol/L}$ 对 AP 和 F_c 各项指标无显著性影响. CuCl_2 50 $\mu\text{mol/L}$ 使动作电位振幅 (APA), V_{max} 降低, 动作电位时程 (APD) 缩短, 有效不应期 (ERP) 延长, F_c 下降. 在 50-1000 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, 随着药物浓度的增大, 上述作用更加明显, 呈现剂量依赖性改变 (Tab 1). CuCl_2 使 ERP 显著延长, APD₉₀ 显著缩短, 因而 ERP/APD₉₀ 比值明显增大. Fig 1 是 CuCl_2 对 V_{max} , APD₅₀, ERP, F_c 影响的量-效曲线.

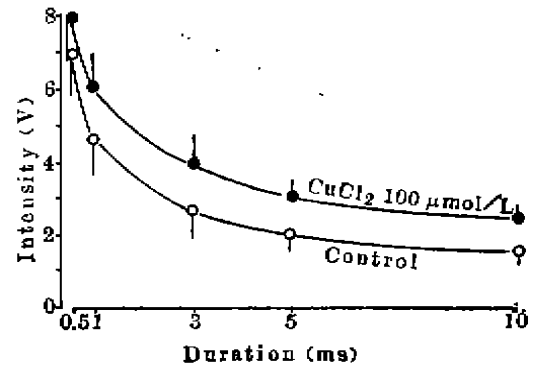


Fig 1. Effects of CuCl_2 on ERP, APD₅₀, V_{max} and F_c in guinea pig papillary muscles.

CuCl_2 对豚鼠乳头状肌兴奋性的影响 给药前以波宽分别为 0.5, 1, 3, 5, 10 ms 的方波电刺激测得恰能引起乳头状肌收缩的最小

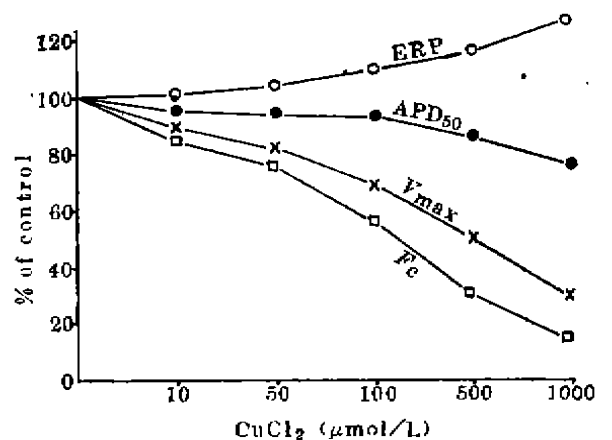


Fig 2. Influence of CuCl_2 on the excitability of guinea pig papillary muscles, $\bar{x} \pm \text{SD}$.

电压,以电压为纵坐标,波宽为横坐标,绘制强度-时间曲线。 CuCl_2 100 $\mu\text{mol/L}$ 作用20 min后,曲线明显向右上方移位($n=15$, $P<0.01$, Fig 2)。表明 CuCl_2 使乳头状肌的兴奋性下降。

CuCl_2 对培养心肌细胞 AP 的影响 CuCl_2 50 $\mu\text{mol/L}$ 作用30 min,使培养心肌细胞 APA, V_{max} 明显降低, APD 显著缩短(Tab 2)。

Tab 2. Effect of CuCl_2 on action potentials of cultured myocardial cells from neonatal rats. $\bar{x} \pm \text{SD}$, *** $P<0.01$ vs control.

Concn ($\mu\text{mol/L}$)	n	APA (mV)	APD ₅₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)	V_{max} (V/s)
Control	20	86 \pm 10	55 \pm 9	87 \pm 9	17 \pm 3
50	17	64 \pm 7***	43 \pm 6***	67 \pm 8***	9 \pm 3***

CuCl_2 对培养心肌细胞搏动的影响 CuCl_2 50 $\mu\text{mol/L}$ 作用30 min,明显抑制心肌细胞自发搏动的频率和幅度,使频率由对照的102 \pm 44 bpm 减慢为58 \pm 21 bpm,幅度抑制到原来的69 \pm 17% ($n=18$, $P<0.01$)。

DISCUSSION

CuCl_2 对培养心肌细胞自发搏动影响的实验结果与 CuCl_2 抑制乳头状肌收缩力及减慢窦房结搏动频率⁽³⁾相一致,但剂量偏小,说明培养细胞对药物作用更为敏感。

心肌快反应动作电位的 V_{max} 常被看作是衡量 Na^+ 内流(I_{Na})和影响组织兴奋性的客观指标。 CuCl_2 减小 APA、 V_{max} ,且呈剂量依赖性改变,使 APD 缩短而 ERP 延长,ERP/APD 比值明显增大,形成复极后不应状态,使乳头状肌兴奋性下降,可能与其抑制 I_{Na} 有关。

心肌收缩力的强弱与载 Ca^{2+} 系统密切相关,可间接反映 Ca^{2+} 通道的情况。动作电位平台期与 Ca^{2+} 内流有关, Ca^{2+} 通道阻滞剂缩短 APD,这主要由于平台期的缩短所致⁽⁴⁾。 CuCl_2 抑制乳头状肌收缩力,缩短 APD,对慢反应电

位及哇巴因诱发的振荡后电位有抑制作用⁽⁵⁾,说明其可能抑制 Ca^{2+} 内流。

低铜摄入可增加心脏病死亡的危险性⁽⁶⁾,心肌梗塞死亡者心肌中铜含量低于非心肌梗塞死亡者⁽⁶⁾,缺铜饲料喂养的大鼠出现心电图异常,如异常的 ST 段,室性早搏,室性心动过速等,补充铜可以使心电图恢复正常,并延长大鼠寿命⁽⁷⁾,说明铜对维持心脏正常活动具有重要意义。研究证明⁽⁸⁾,人类心肌缺血时,冠脉窦血浆中的前列腺素浓度升高3倍,约为2 nmol/L,用此浓度的前列腺素作用于离体大鼠心脏,则引起心律失常,而 Cu^{2+} 2 $\mu\text{mol/L}$ 可立即使之终止。因此,心肌梗塞时血铜增高可能是机体对抗心律失常发生的一种应激反应。

REFERENCES

- 1 Versieck J, Barbier F, Speecke A, Hoste J. Influence of myocardial infarction on serum manganese, copper, and zinc concentrations. *Clin Chem* 1975; 21: 578
- 2 Li XG, Zang WJ, Wu J, Li GY, Ren YY. The influence of molybdenum on electrical activity of cultured cardiac cell from neonatal rats. *Chin Pharmacol Bull* 1986; 2(6): 34
- 3 Zhang ST, Li XG. Effects of copper chloride on the slow response action potential and oscillatory afterpotential induced by ouabain. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9: 415
- 4 Dangman KH, Hoffman BF. Effects of nifedipine on electrical activity of cardiac cells. *Am J Cardiol* 1980; 46: 1059
- 5 Klevay LM. Coronary heart disease: the zinc/copper hypothesis. *Am J Clin Nutr* 1975; 28: 764
- 6 Wester PO. Trace elements in human myocardial infarction determined by neutron activation analysis. *Acta Med Scand* 1965; 178: 765
- 7 Klevay LM, Viestenz KE. Abnormal electrocardiograms in rats deficient in copper. *Am J Physiol* 1981; 240: H 185
- 8 Swift A, Karmazyn M, Horrobin DF, et al. Low prostaglandin concentrations cause cardiac rhythm disturbances. Effect reversed by low levels of copper or chloroquine. *Prostaglandins* 1978; 15: 651