

牛磺酸对低钙环境下豚鼠心室肌细胞 I_{Ca} 的影响

王丽娟¹, 王勇¹, 刘晓辉², 李金鸣³ (1. 天津商学院制药工程系药理学教研室, 天津 300134; 2. 沈阳市兴华医院, 辽宁 沈阳 110023; 3. 中国医科大学药理学教研室, 辽宁 沈阳 110001)

摘要:目的 观察在低钙环境下,牛磺酸对豚鼠单一心室肌细胞钙离子电流(I_{Ca})的影响。方法 应用全细胞膜片钳制技术。结果 低钙状态下,豚鼠心室肌细胞 I_{Ca} 减小,此时牛磺酸可促进 Ca^{2+} 内流,使 I_{Ca} 增加($P < 0.01$),此作用具有电压依赖性,对反转电位无明显影响。此作用随细胞外 Ca^{2+} 浓度的降低而有所增强,并且是可逆的。结论 牛磺酸能增加低钙状态下的心室肌细胞 Ca^{2+} 内流。

关键词:牛磺酸;膜片钳制技术;钙离子电流(I_{Ca})

中图分类号:R977.4;R972 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2003)06-0456-02

The effect of taurine on inward calcium current in low calcium condition in single ventricular cells of guinea pigs

WANG Lijuan, WANG Yong, LIU Xiaohui, LI Jinming (Department of Pharmacology, Qiqihaer Medical College, Qiqihaer 161042, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To investigate the effect of taurine on slow inward calcium current in single ventricular cells in Tyrod's solution of low calcium ion. **METHOD** The whole-cell patch clamp method was used. **RESULTS** At the Tyrod's solution of low calcium concentration, I_{Ca} decreased, and taurine increased I_{Ca} in a concentration- and voltage-dependent manner, but had little effect on reversal potential. **CONCLUSION** In the condition of low calcium concentration, taurine can increase I_{Ca} .

KEY WORDS:taurine; patch clamp technique; calcium current(I_{Ca})

牛磺酸广泛存在于脊椎动物体内,是心肌组织中含量较高的一种氨基酸。它具有解热、镇痛、抗惊厥等作用,并在治疗心功能不全方面取得了一定的疗效^[1]。据文献报道,牛磺酸对大鼠心肌细胞内的 Ca^{2+} 具有双向调节作用^[2],以往的研究也证明了牛磺酸可抑制心肌细胞的钙离子内流,并认为此作用可能与其抗心律失常作用有关^[3]。但在低钙状态下,牛磺酸对心肌细胞钙离子电流(I_{Ca})的影响笔者尚未见报道。本实验应用全细胞膜片钳制技术观察了在低钙的环境下,牛磺酸对豚鼠心室肌细胞 I_{Ca} 的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞分离

豚鼠,体重(308 ± 22)g,雌雄兼用。用戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后开胸,在人工呼吸机辅助下行主动脉搏管,迅速取出心脏,置于 Langandoff 灌流装置上,在 37℃恒温及供氧条件下,先后用普通台氏液、无钙台氏液进行灌流,然后换成含胶原酶(Yakult, Japan, 4 mg/40 mL)的无钙台氏液循环灌流 10~20 min,再用 KB 液冲洗终止消化。取下心脏,剪碎心室肌并稍加振荡,经滤过、离心、弃去上清液,便制得单一心室肌细胞,将制得的单一心室肌细胞置于 KB 液中保存备用。

1.2 溶液及药品

台氏液(mmol/L):NaCl 143, KCl 5.4, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 0.5, NaH₂PO₄ 0.25, HEPES 5, Glucose 5, NaOH 24.4。无钙台氏液是将台氏液中的 CaCl₂去除而得。KB液(mmol/L):KOH 70, L-Glutamic Acid 50, KCl 40, Taurine 20, KH₂PO₄ 20, MgCl₂ 3, Glucose 10, HEPES 10, GEDTA 0.5。细胞内液组成(mmol/L):K-aspartate 49.89, KCl 30.07, KH₂PO₄ 25, HEPES 20.12, GEDTA 0.99, KOH 29.95, MgCl₂ 1, CaCl₂ 0.2, ATP-Na₂ 6.8。含 Cs⁺台氏液:加 CsCl 于台氏液中,使其浓度为 3 mmol/L。牛磺酸(湖州生物化学厂,批号 970703)配成 10⁻¹ mol/L 的母液备用。

1.3 I_{Ca} 的记录

采用全细胞方式膜片钳制方法记录 I_{Ca} 。用含 3 mmol/L CsCl 的台氏液进行灌流,将心肌细胞放于浴槽内,静置 10 min 后用尖端直径 2~3 μm 的膜片电极进行千兆封接,并形成全细胞记录方式,用 CEZ-2200 膜片钳放大器使保持电位为 -30 mV,用 SEN-7103 电子刺激器使刺激时间为 300 ms,刺激间隔 6s;用 S-8300 步阶脉冲发生器使指令电位为 -20 mV ~ +60 mV,间隔 10 mV。观察并用 PLG-6201 连续摄影机摄影记录,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,通过 t 检验比较给药

基金项目:黑龙江省教育厅资助项目(9541078)

作者简介:王丽娟,女,40岁,药理学硕士,教授。主要研究方向是心血管药理。

前后 I_{Ca} 变化的显著性。

2 结果

2.1 心肌细胞 I_{Ca} 与细胞外 Ca^{2+} 浓度的关系

在上述条件下引出一慢内向离子电流,此电流可被 nifedipine 所阻断,证明其为 I_{Ca} 。实验中以 Cs^+ 阻断 I_K ,观察到 Ca^{2+} 通道在 -20 mV 时已经被激活,在 0 mV 时达到最大值,其反转电位约为 $+60\text{ mV}$ 。在指令电位 0 mV 时,降低细胞外液 Ca^{2+} 浓度,则 I_{Ca} 减小,并且有浓度-效应关系,见图 1。

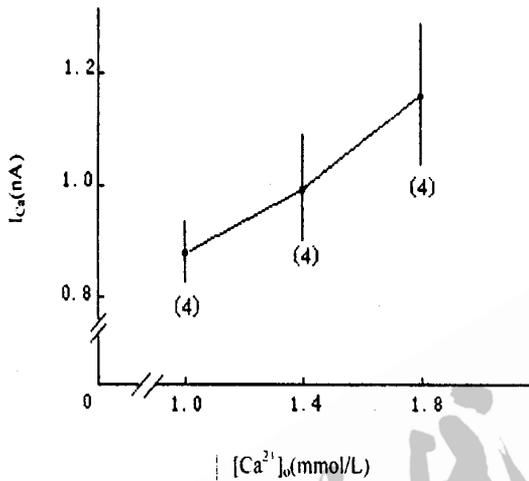


图 1 心肌细胞 I_{Ca} 与 $[Ca^{2+}]_o$ 的关系

Fig 1 $[Ca^{2+}]_o$ - I_{Ca} relationship in ventricular cells

2.2 牛磺酸对低钙状态下心肌细胞 I_{Ca} 的影响

在指令电位 0 mV 时,改变细胞外液 Ca^{2+} 浓度从 $1.8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 至 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,则 I_{Ca} 从 $(1.13 \pm 0.28)\text{ nA}$ 减小到 $(0.85 \pm 0.20)\text{ nA}$ ($n=6, P<0.01$),在 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 浓度时, $10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 牛磺酸使 I_{Ca} 从 $(0.75 \pm 0.10)\text{ nA}$ 增加到 $(0.90 \pm 0.14)\text{ nA}$ ($n=4, 0.01 < P < 0.05$), $10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 牛磺酸则使 I_{Ca} 从 $(0.85 \pm 0.20)\text{ nA}$ 增加到 $(1.08 \pm 0.21)\text{ nA}$ ($n=6, P<0.01$; 与普通台氏液时比较, $P>0.05$)。图 2 为其中一例的电流轨迹。

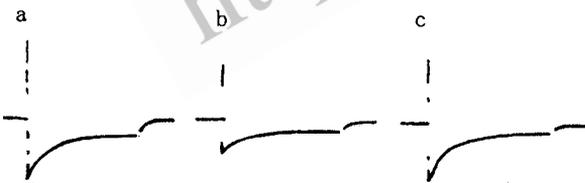


图 2 牛磺酸对心肌细胞 I_{Ca} 的影响

Fig 2 Effect of taurine on I_{Ca}

a: control; b: $[Ca^{2+}]_o 1.0\text{ mmol/L}$; c: $[Ca^{2+}]_o 1.0\text{ mmol/L}$ + 牛磺酸
a: control; b: $[Ca^{2+}]_o 1.0\text{ mmol/L}$; c: $[Ca^{2+}]_o 1.0\text{ mmol/L}$ and taurine

2.3 牛磺酸对 I_{Ca} 作用的 I-V 关系

在低 $[Ca^{2+}]_o$ 状态下,牛磺酸可使 I_{Ca} 增加,并且随指令电压的变化而发生规律性的变化,在峰电流电压下作用最明显,对反转电位无明显影响,见图 3。

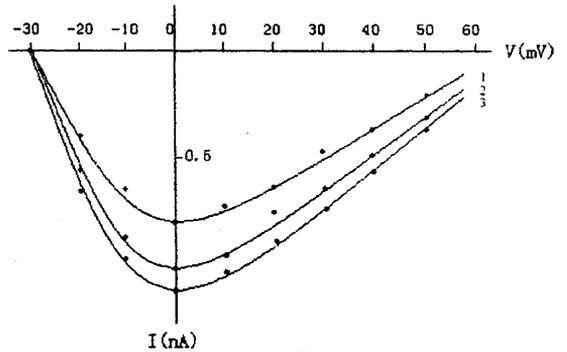


图 3 牛磺酸对 I_{Ca} 作用的 I-V 关系

Fig 3 I-V Relationship

1: 低钙台氏液; 2: 牛磺酸 + 低钙台氏液; 3: 正常

1: $[Ca^{2+}]_o 1.0\text{ mmol/L}$; 2: $[Ca^{2+}]_o 1.0\text{ mmol/L}$ and taurine 0.1 mmol/L ; 3: control

2.4 牛磺酸对 I_{Ca} 作用的可复性

牛磺酸在低 Ca^{2+} 状态下可使 I_{Ca} 增加,这一作用具有可逆性。在指令电位 0 mV 时,细胞外液 Ca^{2+} 浓度由正常改为 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, I_{Ca} 从 $(1.2 \pm 0.1)\text{ nA}$ 减少到 $(0.83 \pm 0.06)\text{ nA}$,当加入 $10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 牛磺酸, I_{Ca} 则增加至 $(1.1 \pm 0.1)\text{ nA}$,经 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低钙台氏液冲洗,则 I_{Ca} 再次减小至 $(0.6 \pm 0.06)\text{ nA}$,说明低 Ca^{2+} 状态下,牛磺酸对 I_{Ca} 的作用具有可恢复性。

3 讨论

实验中以 Cs^+ 阻断 I_K ,并将保持电位钳制在 -30 mV ,记录到 I_{Ca} 。结果表明,随细胞外液 Ca^{2+} 浓度的降低,心肌细胞的 Ca^{2+} 内流减少, I_{Ca} 减小,并具有浓度依赖关系。

钙离子内流有经钙通道内流和经钠钙交换体内流两条途径, Ca^{2+} 通道分“膜电压依赖性” Ca^{2+} 通道和“受体调控性” Ca^{2+} 通道。前者受膜电压调控,后者受 β 受体和某些激素调控。在多种原因导致血 Ca^{2+} 降低时, Ca^{2+} 内流减少,使细胞内 Ca^{2+} 浓度降低,可导致心肌兴奋-收缩耦联障碍,导致心肌收缩力减弱,从而可引起心功能不全;另一方面,细胞内 Ca^{2+} 浓度降低还能使心肌的兴奋性、传导性提高,从而可诱发心律失常。本实验结果表明:在低 Ca^{2+} 环境下,牛磺酸可促进心肌细胞的 Ca^{2+} 内流,增加细胞内 Ca^{2+} 浓度,故可使心功能得到改善,对于防治心力衰竭及心律失常将有重要的意义。从目前的实验结果分析,牛磺酸可能影响的是电压依赖性 Ca^{2+} 通道,牛磺酸对 I_{Ca} 的影响有无其他机制尚待进一步研究。

参考文献

- [1] Takihara K, Azuma J, Awata N, et al. Beneficial effect of taurine in rabbits with chronic congestive heart failure[J]. Am Heart J, 1986, 112:1278.
- [2] 康毅,李萍,王国祥.牛磺酸对大鼠心肌 Ca^{2+} 作用的研究[J]. 中国药理学通报, 1991, 7(4):263.
- [3] 王丽娟,李金鸣,常天辉,等.牛磺酸对豚鼠单一心肌细胞钙离子电流的作用[J]. 中国海洋药物, 1995, 14(4):1.

收稿日期:2002-10-16