

氯化铜对心肌细胞电机械活动的影响<sup>1</sup>

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 cells<sup>1</sup>**

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 ( $\text{CuCl}_2$ ) 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  $\text{CuCl}_2$  50  $\mu\text{mol/L}$  reduced action potential amplitude (APA) and maximal depolarization rate of 0 phase ( $V_{\text{max}}$ ), shortened action potential duration at 50% ( $\text{APD}_{50}$ ) and at 90% ( $\text{APD}_{90}$ ) repolarization, prolonged effective refractory period (ERP), inhibited contractile force of guinea pig papillary muscles. The effect of  $\text{CuCl}_2$  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  $\text{CuCl}_2$  50  $\mu\text{mol/L}$  from  $102 \pm 44$  bpm to  $58 \pm 21$  bpm and from 100% to  $69 \pm 17\%$  respectively. These suggest that  $\text{CuCl}_2$  may be an anti-arrhythmic element.

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

**摘要**  $\text{CuCl}_2$  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 ( $F_c$ ), 使培养心肌细胞搏动频率从  $102 \pm 44$  bpm 减慢至  $58 \pm 21$  bpm, 搏动振幅减小到原来的  $69 \pm 17\%$ 。提示  $\text{Cu}^{2+}$  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

<sup>1</sup>Project 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<sup>(1)</sup>, 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  $\text{CuCl}_2$  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  $\text{CuCl}_2$  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 ( $F_c$ )。

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  $37^\circ\text{C}$  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  $\text{CuCl}_2$  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 <sub>50</sub> (ms)	APD <sub>90</sub> (ms)	ERP (ms)	$V_{\text{max}}$ (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; APD<sub>50</sub> = action potential duration at 50% repolarization; APD<sub>90</sub> = action potential duration at 90% repolarization; ERP = effective refractory period;  $V_{\text{max}}$  = 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  $\text{KCl}$  3 mol/L, 电阻 10-40 M $\Omega$ , 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 ( $V_{\text{max}}$ ). 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<sup>(2)</sup>, 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

**$\text{CuCl}_2$  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  $\text{CuCl}_2$  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,  $\text{CuCl}_2$  10  $\mu\text{mol/L}$  对 AP 和  $F_c$  各项指标无显著性影响.  $\text{CuCl}_2$  50  $\mu\text{mol/L}$  使动作电位振幅 (APA),  $V_{\text{max}}$  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).  $\text{CuCl}_2$  使 ERP 显著延长, APD<sub>90</sub> 显著缩短, 因而 ERP/APD<sub>90</sub> 比值明显增大. Fig 1 是  $\text{CuCl}_2$  对  $V_{\text{max}}$ , APD<sub>50</sub>, ERP,  $F_c$  影响的量-效曲线.

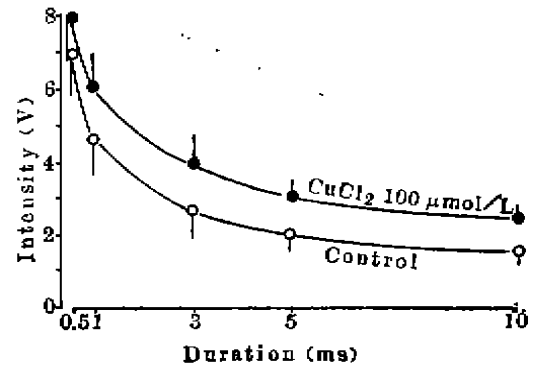


Fig 1. Effects of  $\text{CuCl}_2$  on ERP, APD<sub>50</sub>,  $V_{\text{max}}$  and  $F_c$  in guinea pig papillary muscles.

**$\text{CuCl}_2$  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

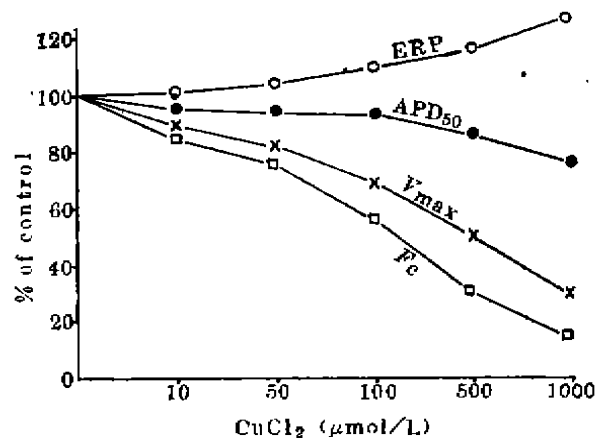


Fig 2. Influence of  $\text{CuCl}_2$  on the excitability of guinea pig papillary muscles,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ .

电压,以电压为纵坐标,波宽为横坐标,绘制强度-时间曲线。 $\text{CuCl}_2$  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  $\text{CuCl}_2$  使乳头状肌的兴奋性下降。

**$\text{CuCl}_2$  对培养心肌细胞 AP 的影响**  $\text{CuCl}_2$  50  $\mu\text{mol/L}$  作用30 min,使培养心肌细胞 APA,  $V_{\text{max}}$  明显降低, APD 显著缩短(Tab 2)。

Tab 2. Effect of  $\text{CuCl}_2$  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 <sub>50</sub> (ms)	APD <sub>90</sub> (ms)	$V_{\text{max}}$ (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***

**$\text{CuCl}_2$  对培养心肌细胞搏动的影响**  $\text{CuCl}_2$  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

$\text{CuCl}_2$  对培养心肌细胞自发搏动影响的实验结果与  $\text{CuCl}_2$  抑制乳头状肌收缩力及减慢窦房结搏动频率<sup>(3)</sup>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  $V_{\text{max}}$  常被看作是衡量  $\text{Na}^+$  内流( $I_{\text{Na}}$ )和影响组织兴奋性的客观指标。 $\text{CuCl}_2$  减小 APA、 $V_{\text{max}}$ ,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  $I_{\text{Na}}$  有关。

心肌收缩力的强弱与载  $\text{Ca}^{2+}$  系统密切相关,可间接反映  $\text{Ca}^{2+}$  通道的情况。动作电位平台期与  $\text{Ca}^{2+}$  内流有关,  $\text{Ca}^{2+}$  通道阻滞剂缩短 APD,这主要由于平台期的缩短所致<sup>(4)</sup>。 $\text{CuCl}_2$  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<sup>(5)</sup>,说明其可能抑制  $\text{Ca}^{2+}$  内流。

低铜摄入可增加心脏病死亡的危险性<sup>(6)</sup>,心肌梗塞死亡者心肌中铜含量低于非心肌梗塞死亡者<sup>(6)</sup>,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<sup>(7)</sup>,说明铜对维持心脏正常活动具有重要意义。研究证明<sup>(8)</sup>,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  $\text{Cu}^{2+}$  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