

# 参松养心胶囊对大鼠心室肌细胞L型钙电流和瞬时外向钾电流的抑制作用

高慧燕<sup>1\*</sup>, 李学文<sup>2</sup>(1.晋中市第二人民医院心内科,山西 晋中 030800;2.山西医学科学院山西大医院心内科,太原 030032)

中图分类号 R285;R972 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2128-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.06

**摘要** 目的:研究参松养心胶囊对大鼠心室肌细胞L型钙电流( $I_{Ca-L}$ )和瞬时外向钾电流( $I_{to}$ )的抑制作用。方法:20只SD大鼠随机均分为对照(等容生理盐水)组与参松养心胶囊(0.5 g/kg)组,灌胃给药,每天1次,连续2周。采用全细胞膜片钳技术记录大鼠心室肌细胞的 $I_{Ca-L}$ 与 $I_{to}$ 。结果:与对照组比较,参松养心胶囊组大鼠 $I_{Ca-L}$ 电流密度降低,峰值降低, $I_{Ca-L}$ 电流-电压(I-V)曲线上移, $I_{to}$ 电流密度降低,峰值降低, $I_{to}$  I-V曲线下移。结论:参松养心胶囊可抑制大鼠心室肌 $I_{Ca-L}$ 与 $I_{to}$ ,可能是其抗心律失常的重要机制。  
**关键词** 参松养心胶囊;抗心律失常;L-型钙电流;瞬时外向钾电流

## Inhibitory Effect of Shensong Yangxin Capsules on L-type Calcium Current and Transient Outward Potassium Current in Rat Ventricular Myocytes

GAO Hui-yan<sup>1</sup>, LI Xue-wen<sup>2</sup>(1.Dept. of Cardiology, Jinzhong Second People's Hospital, Shanxi Jinzhong 030800, China; 2.Dept. of Cardiology, Shanxi Academy of Medical Sciences, Shanxi Dayi Hospital, Taiyuan 030032, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the inhibitory effect of Shensong yangxin capsules on L-type calcium current ( $I_{Ca-L}$ ) and transient outward potassium current ( $I_{to}$ ) in rat ventricular myocytes. METHODS: 20 SD rats were randomized into control group (constant volume of normal saline) and Shensong yangxin capsules group (0.5 g/kg). They were given relevant medicine intragastrically once a day for consecutive 2 weeks. Whole-cell patch clamp technique was used to record  $I_{Ca-L}$  and  $I_{to}$  of rat ventricular myocytes. RESULTS: Compared with control group, current density and peak value of  $I_{Ca-L}$  were decreased in Shensong yangxin capsule group, so that I-V curve of  $I_{Ca-L}$  shifted up; current density and peak value of  $I_{to}$  were decreased, so that I-V curve of  $I_{to}$  shifted down. CONCLUSIONS: Shensong yangxin capsules could inhibit  $I_{Ca-L}$  and  $I_{to}$  of ventricular myocytes, which probably is the main antiarrhythmic mechanism.  
**KEYWORDS** Shensong yangxin capsules; Antiarrhythmia; L-type calcium current; Transient outward potassium current

参松养心胶囊由人参、麦冬、山茱萸、南五味子、丹参、赤芍、黄连等12味中药组成,为已上市复方中成药制剂,具有益气养阴、活血通络、清心安神之功,用于治疗气阴两虚,心络瘀阻引起的冠心病室性早搏等<sup>[1]</sup>。循证医学系统评价了参松养心胶囊抗心律失常的疗效,结果显示,参松养心胶囊抗心律失常疗效与目前常用的化学药相当,并且不良反应较低<sup>[2-3]</sup>。但是,对于参松养心胶囊抗心律失常的确切机制尚不是十分明确。钙通道在机体各组织细胞中广泛存在,类型多样,是心肌细胞膜上最重要的膜蛋白之一。由L型钙通道( $I_{Ca-L}$ )的开放及钙离子内流而产生的 $I_{Ca-L}$ 决定平台期的长短和动作电位时程;并且 $I_{Ca-L}$ 是工作细胞及特殊分化细胞动作电位2相的主要离子流,在心肌细胞动作电位复极和兴奋-收缩耦联过程中起重要作用<sup>[4]</sup>。病理情况下,多种心律失常如早后除极化和晚后除极化的发生均与 $I_{Ca-L}$ 的异常活动有关。近年来研究表明,瞬时外向钾电流 $I_{to}$ 是一种产生外向电流的电压依赖性钾通道<sup>[5]</sup>,具有快激活和失活特征,对动作电位1期的形成有重要的作用,也是导致跨室壁复极不均一性的主要电流。 $I_{to}$ 电流幅度和动

力学特征的改变能间接影响其离子通道的活性,从而影响动作电位性状、时程及有效不应期,最终导致心律失常<sup>[6]</sup>。因此,抑制 $I_{to}$ 将减少跨室壁复极不均一性,减少跨室壁折返微环路的形成,抑制2相折返,避免尖端扭转型室性心动过速等心律失常的发生<sup>[7]</sup>。本次采用全细胞膜片钳方法研究参松养心胶囊对大鼠心室肌 $I_{Ca-L}$ 和 $I_{to}$ 的抑制作用,以探讨参松养心胶囊抗心律失常的作用机制。

## 1 材料

### 1.1 仪器

IX71型倒置显微镜(日本Olympus公司);微操纵器(日本Narishige公司);pClamp 6.0程序膜片钳软件系统、膜片钳放大器(美国Axon公司);AD/DA转换器(美国Digidata公司)。

### 1.2 药品与试剂

参松养心胶囊(北京以岭药业有限公司,批号:20103032);II型胶原酶、胰蛋白酶E(美国Sigma公司);其余试剂均为分析纯。

### 1.3 动物

SPF级SD大鼠20只,♀♂兼半,体质量200~250 g,由山西医科大学动物实验中心提供[实验动物使用许可证号:SCXK(晋)2009-0001]。

\* 副主任医师,硕士。研究方向:心脏电生理及起搏。E-mail: rosegao\_1968@163.com

## 2 方法

### 2.1 溶液的制备

2.1.1 无钙台氏液的制备 无钙台氏液成分(mmol/L):氯化钠 136.0,氯化钾 5.4,氯化镁 1.0,磷酸氢钠 0.33,HEPES 缓冲液 10.0,葡萄糖 10.0,共溶,用氢氧化钠调pH至7.40。

2.1.2 KB液的制备 KB液成分(mmol/L):L-谷氨酸 50.0,氯化钾 25.0,氨基乙磺酸 20.0,磷酸氢钾 10.0,氯化镁 3.0,EGTA 0.5,HEPES 缓冲液 10.0,葡萄糖 10.0,共溶,用氢氧化钾调pH至7.40。

2.1.3  $I_{Ca-L}$ 细胞外液的制备  $I_{Ca-L}$ 细胞外液成分(mmol/L):氯化胆碱 140.0,氯化镁 1.0,氯化钙 2.0,HEPES 缓冲液 5.0,葡萄糖 10.0,氯化铯 4.6,氯化四乙胺 10.0,共溶,用氢氧化铯调pH至7.40。

2.1.4  $I_{Ca-L}$ 电极内液的制备  $I_{Ca-L}$ 电极内液成分(mmol/L):氯化铯 120.0,氯化镁 1.0,MgATP 5.0,EGTA 10.0,HEPES 缓冲液 10.0,共溶,用氢氧化铯调pH至7.30。

2.1.5  $I_{to}$ 细胞外液的制备  $I_{to}$ 细胞外液成分(mmol/L):氯化胆碱 136.0,氯化镁 1.2,氯化钾 5.4,磷酸氢钠 0.33,氯化钙 1.8,氯化铬 0.15,HEPES 缓冲液 10.0,葡萄糖 10.0,共溶,用氢氧化铯调pH至7.40。

2.1.6  $I_{to}$ 电极内液的制备  $I_{to}$ 电极内液成分(mmol/L):氯化钾 20.0,氯化镁 1.0,天门冬氨酸钾 120.0,磷酸肌酸二钠 5.0, $K_2$ ATP 4.0,EGTA 10(HEPES)缓冲液 5.0,共溶,用氢氧化钾调至7.40。

### 2.2 分组与给药

20只SD大鼠随机均分为对照(等容生理盐水)组、参松养心胶囊(0.5 g/kg)组,ig给药,每天1次,连续2周。

### 2.3 大鼠心肌细胞的分离

末次给药1 h后,大鼠ip苯巴比妥钠麻醉,迅速取出心脏置于4℃无钙台氏液,分离周围组织后连接在Langendorff灌流装置上,经主动脉逆向灌流无钙台氏液至心脏停搏,再以含0.4 mg/ml II型胶原酶和胰蛋白酶E 0.04 mg/ml低钙台氏液( $Ca^{2+}$  0.05 mmol/l)灌流10 min至心脏膨松变大变软,最后用KB液灌注冲洗心脏5 min。将心室肌剪碎后置于37℃KB液温育10~15 min,经尼龙网过滤后于KB液中25℃下静置1 h,复钙至1.8 mmol/L进行实验。

### 2.4 膜片钳全细胞记录

将细胞悬液滴于细胞浴槽中,待细胞沉降贴壁,用细胞外液进行恒速灌流。于倒置显微镜下选择表面光洁、横纹清晰、柱状无收缩和附壁良好的细胞为观察对象。采用微操纵器使内充电极内液的玻璃微电极下移进入液面,贴近并接触细胞表面,以持续的负压吸引形成高阻抗封接。以瞬时电流击破细胞膜,补偿电容电流和电极串联电阻。在电压钳模式下,设定保持电位为-40 mV,使膜电位由-40 mV逐步去极化至+70 mV,持续时间500 ms,数字信号由pClamp 6.0程序膜片钳软件系统进行控制,信号经AD/DA转换器及膜片钳放大器使电极内形成钳制电压,电流信号 $I_{Ca-L}$ 经A/D转换后存储于计算机硬盘。保持电位于-40 mV,施予40 mV、20 ms的预刺激失活钠通道,同法记录到 $I_{to}$ 。

### 2.5 统计学方法

以每个大鼠的单个心肌细胞作为统计单位,采用SPSS13.0软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间

单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以LSD法进行统计。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 参松养心胶囊对大鼠心肌细胞 $I_{Ca-L}$ 的影响

在全细胞膜模式记录到大鼠心室肌细胞 $I_{Ca-L}$ 在-40 mV左右开始激活,10 mV左右达到最大值。ig参松养心胶囊2周后,大鼠心肌细胞 $I_{Ca-L}$ 电流减少, $I_{Ca-L}$ 电流密度峰值由 $(-10.80 \pm 1.55)$  pA/pF降至 $(-8.63 \pm 1.37)$  pA/pF,抑制率约为20%。膜电位由-40 mV逐步去极化至+70 mV,持续时间500 ms,参松养心胶囊可使 $I_{Ca-L}$ 电流-电压(I-V)曲线上移。参松养心胶囊对大鼠心肌细胞 $I_{Ca-L}$ 的影响见图1;参松养心胶囊对大鼠心肌细胞 $I_{Ca-L}$  I-V曲线的影响见图2。

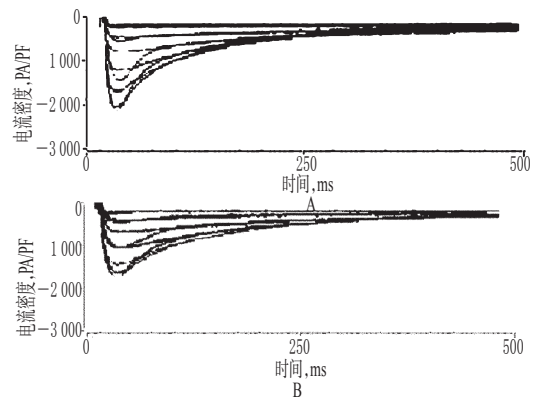


图1 参松养心胶囊对大鼠心肌 $I_{Ca-L}$ 的影响( $n=10$ )

A.对照组;B.参松养心胶囊组

Fig 1 Effects of Shensong yangxin capsules on  $I_{Ca-L}$  of rat ventricular myocytes ( $n=10$ )

A. control group; B. Shensong yangxin capsule group

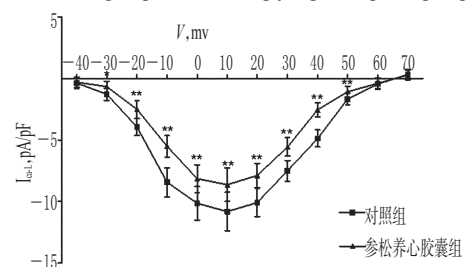


图2 参松养心胶囊对大鼠心肌细胞 $I_{Ca-L}$  I-V曲线的影响( $n=10$ )

Fig 2 Effects of Shensong yangxin capsules on I-V curve of  $I_{Ca-L}$  in rat ventricular myocytes ( $n=10$ )

### 3.2 参松养心胶囊对大鼠心肌细胞 $I_{to}$ 的影响

ig大鼠参松养心胶囊2周后,大鼠心肌细胞瞬时外向 $I_{to}$ 电流减少,使 $I_{to}$ 电流峰值由 $(27.63 \pm 3.69)$  pA/pF降至 $(18.69 \pm 3.33)$  pA/pF,抑制率约为30%。膜电位由-40 mV逐步去极化至+70 mV,持续时间500 ms,参松养心胶囊可使 $I_{to}$  I-V曲线下移。参松养心胶囊对大鼠心肌 $I_{to}$ 的影响见图3;参松养心胶囊对大鼠心肌细胞 $I_{to}$  I-V曲线的影响见图4。

## 4 讨论

参松养心组方由人参、五味子、麦门冬、酸枣仁、山茱萸等12味药组成,除了对房性心律失常有显著疗效外,对室性心律失常有明显的疗效,可减少器质性或非器质性心脏病患者室性早搏的发作及相关症状的发生<sup>[8]</sup>。已有研究显示,参松养心

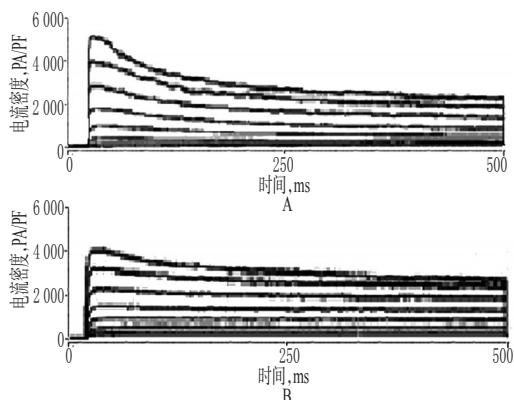


图3 参松养心胶囊对大鼠心肌 $I_{to}$ 的影响( $n=10$ )  
A.对照组;B.参松养心胶囊组

Fig 3 Effects of Shensong yangxin capsules on  $I_{to}$  of rat ventricular myocytes ( $n=10$ )

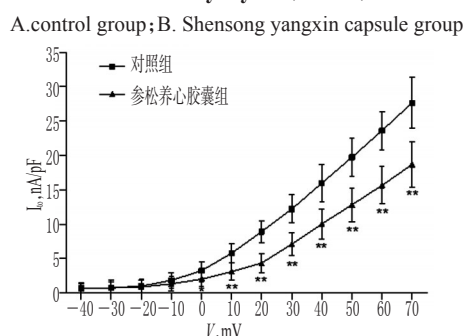


图4 参松养心胶囊对大鼠心肌细胞 $I_{to}$  I-V曲线的影响( $n=10$ )

Fig 4 Effects of Shensong yangxin capsules on I-V curve of  $I_{to}$  in rat ventricular myocytes ( $n=10$ )

胶囊的抗室性心律失常效应,与其改善心功能,缩短室室动作电位时程和有效不应期,降低心房间不同部位动作电位时程的离散,增加室颤阈值有关<sup>[9-11]</sup>。心脏正常电位活动基础由组成心脏的每一个细胞动作电位活动的整体来协调,而每一个细胞的动作电位又取决于细胞的各种跨膜电流。本次采用全细胞膜片钳方法研究参松养心胶囊对大鼠心肌 $I_{Ca-L}$ 和 $I_{to}$ 的抑制作用,以进一步探讨参松养心胶囊的抗心律失常的作用机制。ig参松养心胶囊2周可抑制大鼠心肌细胞 $I_{Ca-L}$ 电流的产生,可使 $I_{Ca-L}$  I-V曲线上移,因此推测参松养心胶囊可能通过抑制 $I_{Ca-L}$ 电流降低心肌细胞内钙超载而发挥心肌保护作用。此外,ig参松养心胶囊2周可抑制大鼠心肌细胞 $I_{to}$ 电流的产生,可使 $I_{to}$  I-V曲线上移,因此推测参松养心胶囊通过抑制 $I_{to}$ ,并且缩短室室动作电位时程和有效不应期,从而发挥抗心律失常作用。总之,参松养心胶囊可抑制心肌细胞的 $I_{Ca-L}$ 和

$I_{to}$ ,可能是参松养心胶囊抗心律失常的重要机制。

## 参考文献

- [1] 陈玉平,黄开毅,王曙宾.RP-HPLC法同时测定参松养心胶囊中4种主要成分的含量[J].北京中医药大学学报,2010,33(12):848.
- [2] 胡昊,唐海沁,李洁华,等.参松养心胶囊抗心律失常的疗效和安全性系统评价[J].中国循证医学杂志,2011,11(2):168.
- [3] 赵金生,李刚,高青华,等.17 $\beta$ -雌二醇对豚鼠心室肌细胞L型钙电流的抑制作用[J].中国药理学通报,2013,29(3):351.
- [4] 孙小霞,周筠,兰燕平,等.稳心颗粒对家兔3层心室肌细胞瞬时外向钾电流的影响[J].西安交通大学学报:医学版,2011,32(5):561.
- [5] Niwa N, Jeanne M, Nerbonne Y, *et al.* Molecular determinants of cardiac transient outward potassium current ( $I_{to}$ ) expression and regulation[J]. *Mol Cell Cardiol*, 2010,48(1):12.
- [6] 裴娟慧,张银辉,陈敬洲,等.人参皂苷Rb1对大鼠心室肌细胞L型钙电流和瞬时外向钾电流的调控作用[J].中国分子心脏病学杂志,2011,11(4):230.
- [7] 胡发明,黄知秀.参松养心胶囊治疗冠心病心律失常有效性与安全性Meta分析[J].医药导报,2012,31(5):671.
- [8] Zou J, Zhang J, Jia Z, *et al.* Evaluation of the traditional Chinese medicine Shensongyangxin capsule on treating premature ventricular contractions: a randomized, double-blind, controlled multi-center trial[J]. *Chin Med J*, 2011,124(1):76.
- [9] 王晞,段慧楠,胡娟,等.参松养心胶囊对心功能及心脏电生理影响的实验研究[J].中华心律失常学杂志,2012,6(6):417.
- [10] Feng L, Gong J, Jin Z, *et al.* Electrophysiological effects of Chinese medicine Shen song Yang Xin(SSYX) on Chinese miniature swine heart and isolated guinea pig ventricular myocytes[J]. *Chin Med J*, 2009,122(13):1539.
- [11] 柴松波,王硕仁,姚立芳,等.参松养心胶囊对大鼠心肌梗后心肌重构和室颤阈值影响的研究[J].中国中药杂志,2009,34(16):2101.

(收稿日期:2014-04-29 修回日期:2014-05-07)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅