

牛磺酸镁配合物对获得性长QT综合征亚型8模型下L型钙通道作用研究

安梦瑶^{1,2}, 葛 鹏², 滕晋莹², 姜建石^{3*}

1. 天津大学 化工学院制药工程, 天津 300072

2. 天津天诚新药评价有限公司, 天津 300462

3. 天津医科大学 基础医学院药理学系, 天津 300070

摘要: 目的 观察不同浓度牛磺酸镁配合物(TMCC)对获得性长QT综合征亚型8的抗心律失常机制。方法 采用Langendorff逆行主动脉灌注酶解法,急性分离获得豚鼠单个心室肌细胞;建立表达CACNA1C基因的HEK293细胞模型。BayK 8644 (10 nmol/L)用来建立LQT8模型,采用全细胞膜片钳技术记录TMCC (0.01、0.10、1.00 mol/L)对对照和LQT8模型下HEK293细胞L型钙通道(LTCC)电流、豚鼠心室肌细胞动作电位的影响。结果 在HEK293细胞细胞中,与对照组比较,0.1、1 mol/L TMCC组 $I_{Ca,L}$ 电流密度显著减弱,差异有统计学意义($P < 0.05$ 、0.01)。与对照组比较,BayK 8644组 $I_{Ca,L}$ 的电流-电压(I-V)曲线显著下移,电流密度显著增强($P < 0.01$),使半数激活电压明显升高3.23倍,激活曲线左移,激活加快。TMCC (0.01、0.1、1 mol/L)可明显减弱BayK 8644对 $I_{Ca,L}$ 电流的增强作用,使下移的I-V曲线上移,0.1、1 mol/L浓度组差异有统计学意义($P < 0.05$ 、0.01);TMCC各浓度组均明显降低半数激活电压($P < 0.05$ 、0.01),恢复左移的激活曲线,使激活减慢。在豚鼠心室肌细胞中,与对照组比较,BayK 8644显著延长30%、50%和90%复极化动作电位持续时间(APD₃₀、APD₅₀和APD₉₀)($P < 0.01$);0.01、0.1、1 mmol/L TMCC均可以减弱BayK 8644对APD₃₀、APD₅₀和APD₉₀的延长作用,0.1、1 mmol/L浓度组差异显著($P < 0.05$ 、0.01)。结论 TMCC通过缩短动作电位时程,减弱被增强的 $I_{Ca,L}$ 电流,发挥一定的抗LQT8的作用。

关键词: 长QT综合征;牛磺酸镁配合物;全细胞膜片钳技术;L型钙通道;Bay-K 8644;心律失常

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2021) 02-0322-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.02.010

Effects of Taurine-Magnesium Coordination Compound on L-type calcium current in model of type 8 long QT syndrome

AN Mengyao^{1,2}, GE Peng², TENG Jinying², LOU Jianshi³

1. Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2. Tianjin Tiancheng New Drug Evaluation Research Co., Ltd., Tianjin 300462, China

3. Department of Pharmacology, College of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, 300070 Tianjin, China

Abstract: Objective In this study, the anti-arrhythmic effect of Taurine-Magnesium Coordination Compound (TMCC) was assessed on the model of type 8 long QT syndrome (LQT8). **Methods** BayK 8644 (10 nmol/L) was used to establish the LQT8 model in guinea pig ventricular myocytes and to enhance HEK293 cells stably expressing $I_{Ca,L}$ channels. All cells were incubated for 24 h in the absence and presence of drugs. The $I_{Ca,L}$ current and action potentials were recorded by using the whole-cell patch-clamp technique. **Results** In HEK293 cells, compared with control group, the $I_{Ca,L}$ current density of TMCC 0.1 and 1 mol/L groups was significantly decreased ($P < 0.05$ and 0.01). Compared with control group, the current voltage (I-V) curve of $I_{Ca,L}$ in BayK 8644 group decreased significantly, the current density increased significantly ($P < 0.01$), the half activation voltage increased 3.23 times, the activation curve shifted to the left, and the activation accelerated. TMCC (0.01, 0.1, 1 mol/L) significantly reduced the enhancement of $I_{Ca,L}$ current by BayK 8644, and made the downward I-V curve move up, with significant difference between 0.1, 1 mol/L concentration groups ($P < 0.05$ and 0.01). All TMCC concentration groups significantly reduced the half activation voltage

收稿日期: 2020-11-11

基金项目: 天津市教委科研计划项目(2017KJ224)

第一作者: 安梦瑶,女,博士,研究方向为药理研究工作。E-mail: amymengyao@126.com

*通信作者: 姜建石,男,教授,博士生导师,研究方向为心血管药理和临床药理。Tel: (022)83336860 E-mail: jianshilou@163.com

($P < 0.05$ and 0.01), restored the left activation curve, and slowed down the activation. In guinea pig ventricular myocytes, BayK 8644 significantly prolonged the duration of repolarization action potential (APD_{30} , APD_{50} and APD_{90}) compared with control group ($P < 0.01$). 0.01 , 0.1 and 1 mmol/L TMCC could attenuate the prolongation of APD_{30} , APD_{50} and APD_{90} by BayK 8644, with significant differences between 0.1 and 1 mmol/L TMCC groups ($P < 0.05$ and 0.01). **Conclusion** It was suggested that TMCC have anti-arrhythmic effect on LQT8 through shortening the action potential duration and inhibiting the increased $I_{Ca,L}$ current.

Key words: long QT syndrome; Taurine-Magnesium Coordination Compound; whole-cell patch clamp; L-type calcium current; arrhythmia

电压门控L型钙通道(LTCC, Cav1.2)主要在心房和心室肌细胞的肌膜中表达。在兴奋-收缩耦联过程中, Cav1.2在激活内质网释放 Ca^{2+} 中起着至关重要的作用,其电流的大小和时程决定了心脏动作电位(Action potential, AP)的波形^[1]。因此, Cav1.2通道功能的改变可能对心脏兴奋-收缩耦联产生深远影响。CACNA1C基因编码Cav1.2通道的核心 α -1亚基,最近的研究发现, Cav1.2中的单个氨基酸取代(G406R)与“Timothy综合征”(Timothy syndrome, TS)相关。TS最初是由Splawski等^[2-3]在2004年发现的一种新型钙通道疾病,由CACNA1C基因外显子8的特异变体(p.G402S和p.G406R)和交替拼接8A(p.G406R)引发, CACNA1C基因突变会损害LTCC的失活,导致在动作电位平台阶段持续的 Ca^{2+} 内向电流^[4], APD延长, L-型钙通道电流($I_{Ca,L}$)增加,此疾病首次定义为长QT综合征亚型8(LQT8)。LQT8是一种罕见的全身性疾病,多发生于幼儿和青少年,涉及多个器官系统,包括并指(趾)、面部畸形、先天性心脏病、免疫缺陷、中枢神经系统综合征、代谢异常、发育迟缓以及严重的QT延长,并且使猝死的风险增加^[5]。

植入式心脏复律除颤器(Implantable cardioverter defibrillator, ICD)可有效地终止心室颤动^[6],然而在TS患病的儿童中,因为较小的身体和特别容易感染引起的自身免疫缺陷,高发的并发症已抵消了ICD的疗效。因此,研发一种治疗TS的替代药物已成为临床急需。

本实验室合成了牛磺酸镁配合物(taurine-magnesium coordination compound, TMCC),其分子式为 $Mg(NH_2CH_2CH_2SO_3)_2 \cdot H_2O$ (相对分子质量为290.04),如图1。前期的实验结果表明, TMCC对氯化铯、哇巴因、乌头碱、肾上腺素以及缺氧复氧条件下诱导的和获得性长QT综合征亚型1(LQT1)、短QT综合征亚型2(SQT2)等心律失常模型有肯定的防治效果,并且可以影响多个离子通道^[7-10],但对LQT8型心律失常是否有作用效果还未做探讨。

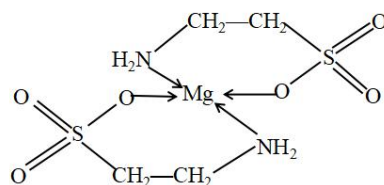


图1 牛磺酸镁(TMCC)分子结构

Fig. 1 Structure of TMCC

Sicouri等^[11]曾报道BayK 8644可增强 Ca^{2+} 内流来模拟TS中 $I_{Ca,L}$ 电流增强,延长心室复极,并导致延迟后的去极化,引发室性心律失常。本实验在细胞水平通过BayK 8644诱导获得性LQT8模型,观察TMCC对豚鼠心室肌细胞动作电位和HEK293细胞 $I_{Ca,L}$ 通道的影响,旨在深入探讨其抗心律失常的可能机制。

1 材料

1.1 实验动物及细胞

健康成年雄性豚鼠, SPF级, 体质量250~300 g, 购于中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所实验动物中心, 实验动物质量合格许可证号SCXK-2014-0012。根据中国动物实验控制和监督委员会的指导方针饲养动物。实验方案由天津医科大学实验动物护理和使用伦理委员会批准, 并遵循由美国国家卫生研究院出版的“实验动物护理和使用指南”(NIH Publication No. 852-3, 1996年修订)。

稳定表达 $I_{Ca,L}$ 电流的HEK293细胞系购自ICE Bioscience Co., Ltd.。

1.2 药物与主要试剂

TMCC, 批号100031, 本实验室合成, 质量分数95%; Bay K8644, 批号P154, Sigma Aldrich, USA; 戊巴比妥钠, 批号P3761, Sigma Aldrich, USA。

1.3 主要仪器

微电极拉制仪(P97, Sutter Instruments); 毛细玻璃管(BF150-86-10, Sutter Instruments); EPC-10放大器(HEKA); PatchMaster软件(HEKA); 倒置显微镜(IX71, Olympus); 微电极操纵仪(MP285, Sutter

Instruments)。

2 方法

2.1 液体配制

K-H 溶液 (Krebs-Henseleit solution)、KB 溶液 (Kraft-Brühe solution)、Buffer A 缓冲液、酶液、记录动作电位电极外液和电极内液的配制方法参照文献报道^[12]。

记录 $I_{Ca,L}$ 电流的细胞外液: 140 mmol/L TEA-Cl、2 mmol/L $MgCl_2$ 、10 mmol/L $CaCl_2$ 、10 mmol/L HEPES、5 mmol/L 葡萄糖 (TEA-OH 调至 pH 为 7.4)。

记录 $I_{Ca,L}$ 电流的细胞内液: 120 mmol/L CsCl、1 mmol/L $MgCl_2$ 、10 mmol/L HEPES、4 mmol/L Na-ATP、10 mmol/L EGTA、0.3 mmol/L Na_2 -GTP (CsOH 调至 pH 7.2)。

药物母液: BayK 8644 (10 nmol/L) 由 DMSO 溶解配成; TMCC (0.01、0.1、1 mmol/L) 由纯水溶解配成。K-H 灌流液中 DMSO 体积分数不能超过 0.1%。溶液中 DMSO 不影响结果测定。

2.2 细胞培养

豚鼠心室肌细胞分离, 方法参照文献^[12]; 稳定表达 $I_{Ca,L}$ 电流的 HEK293 细胞系, 膜片钳检测合格, 将 5×10^3 个细胞铺到盖玻片上, 在 24 孔板中培养 (最终体积 500 μ L), 孵育 24 h 后, 进行实验检测。为维持细胞的电生理活性, 细胞密度必须不能超过 80%。

2.3 分组给药

2.3.1 HEK293 细胞 $I_{Ca,L}$ 电流检测 HEK293 细胞分为: 对照组, BayK 8644 (10 nmol/L) 组, TMCC 0.01、0.1、1 mmol/L 组, BayK 8644 (10 nmol/L) + 0.01、0.1、1 mmol/L TMCC 组。TMCC 浓度梯度参照前期研究结果^[12]。各组细胞孵育 TMCC 24 h 后, 进行全细胞膜片钳电流检测。

2.3.2 豚鼠心室肌细胞动作电位检测 豚鼠心室肌细胞分为: 对照组, BayK 8644 (10 nmol/L) 组, BayK 8644 (10 nmol/L) + 0.01、0.1、1 mmol/L TMCC 组。各组细胞孵育 TMCC 24 h 后, 进行动作电位检测。

2.4 电生理记录

在倒置显微镜下使用标准全细胞膜片钳技术记录 $I_{Ca,L}$ 电流。电流-电压 (I-V) 曲线电压刺激方案如下: 当形成全细胞封接后, 细胞膜电压钳制在 -60 mV。钳制电压由 -60 mV 除极至 +60 mV 维持 5 s, 然后迅速保持在 -60 mV 维持 5 s, 脉冲持续时间 500 ms, 在此激励电压模式下测量 $I_{Ca,L}$ 电流。失活曲线电压

刺激方案如下: 细胞膜电压钳制在 -80 mV, 在 -60 mV ~ 80 mV 的电压脉冲持续时间 2 000 ms, 步阶 10 mV, 以使 $I_{Ca,L}$ 电流失活。每隔 20 s 重复采集数据, 观察药物对 $I_{Ca,L}$ 电流的作用。实验数据由 EPC-10 放大器 (HEKA) 进行采集并储存于 PatchMaster (HEKA) 软件中。

用微电极拉制仪将毛细玻璃管拉制成记录电极, 玻璃微电极分两步拉制而成。在倒置显微镜下操纵微电极操纵仪将记录电极接触到细胞上, 给予负压抽吸, 形成 2~4 G Ω 封接后进行快速电容补偿, 然后继续给予负压, 吸破细胞膜, 形成全细胞记录模式。进行慢速电容的补偿并记录膜电容及串联电阻, 不给予漏电补偿。

当全细胞记录的电流稳定后开始给予含 BayK 8644 (10 nmol/L) 的细胞外液, 体积流量 2 mL/min, 每组细胞作用至 5 min (或者电流至稳定) 后检测下一个。将铺有细胞的盖玻片置于倒置显微镜中的记录浴槽中, 分别测试各给药组 $I_{Ca,L}$ 电流。独立重复检测多个细胞。所有电生理实验在室温下进行。

由于全细胞构型下所测得的电流是宏膜电流即整个细胞电流总和, 细胞体积越大其总电流就越大, 为了消除细胞间体积的差异而使结果具有可比性, 应用电流密度作为指标来表示膜电流的大小。

2.5 动作电位记录

选择横纹清晰、边缘清楚、表面清洁的单个心肌细胞进行膜片钳检测。将各组细胞悬液加入细胞池 (容积 0.8 mL), 置于倒置显微镜工作台上。室温下灌流 BayK 8644 (10 nmol/L), 体积流量 2 mL/min。细胞贴壁后, 利用微操纵器移动电极, 并轻压在细胞表面, 稍加负压即可形成 2~4 G Ω 水平的高阻封接, 再用较大负压吸破细胞膜形成全细胞记录形式。信号经银/氯化银电极引导, 由膜片钳放大器放大, 采用 Patchmaster 软件 (HEKA) 储存。

形成全细胞记录模式后, 在电流钳模式下记录动作电位。将细胞保持在 0 pA 并且步进至 1 nA 持续 10 ms 以激发动作电位。动作电位记录程序刺激方案为首先电流钳制在 0 pA, 随后向细胞内注入 2 000 pA 的电流, 时间维持在 3 ms, 最后再落回 0 pA, 频率设定在 1 Hz 进行采集记录, 稳定记录 10 min 后, 以此记录 BayK 8644 对各组细胞作用的效果, 每一组记录 10 min 以上。记录静息膜电位 (Resting membrane potential, RMP)、动作电位振幅 (Action potential amplitude, APA)、30%、50% 和 90% 复极化动作电位持续时间 (APD₃₀、APD₅₀ 和 APD₉₀) 等参数。

2.6 数据分析

使用 Clampfit 10.1 软件将所记录的原始数据进行处理分析。所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, n 表示研究的细胞或心脏的数量。使用 GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, LA Jolla, CA) 进行数据分析。使用 OriginPro 8.0 和 Inkscape 0.48.4.0 软件进行图形绘制。运用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析, 两两比较采用配对 t 检验; 多组比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 方差齐时, 采用 LSD 法、SNK 法检验; 方差不齐时, 采用 Dunnett T_3 检验。

3 结果

3.1 TMCC对 $I_{Ca,L}$ 电流的作用

与对照组比较, TMCC 各剂量组 I-V 曲线均上移。与对照组比较, 0.1、1 mol/L TMCC 组 $I_{Ca,L}$ 电流密度显著减弱, 差异有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01$); 与 TMCC 0.01 mol/L 组比较, TMCC 1 mol/L 组 $I_{Ca,L}$ 电流密度显著减弱 ($P < 0.05$), 说明 TMCC 作用呈浓

度相关性。结果见图2。

3.2 TMCC对LQT8模型 $I_{Ca,L}$ 电流的作用

与对照组比较, BayK 8644 组 $I_{Ca,L}$ 的 I-V 曲线显著下移, 电流密度显著增强 ($P < 0.01$); TMCC (0.01、0.1、1 mol/L) 可明显减弱 BayK 8644 对 $I_{Ca,L}$ 电流的增强作用, 使下移的 I-V 曲线上移, 峰值下降, 且表现出浓度相关性, 0.1、1 mol/L 浓度组差异有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01$)。结果见图3。

3.3 TMCC、BayK 8644对 $I_{Ca,L}$ 通道稳态激活动力学的影响

将 $I_{Ca,L}$ I-V 曲线的结果转化为膜电导 (G), 对条件刺激电压作图, 然后采用 Boltzman 方程 $G/G_{\max} = 1/[1 + e^{(V - V_{1/2})/K}]$ 进行拟合, 得到 $I_{Ca,L}$ 稳态激活曲线, 式中 $G_{\max}$ 为最大膜电导, $V_{1/2}$ 为半数激活电压, K 为斜率参数, 见图4-A~D。各浓度 TMCC 及 BayK 8644 作用后钙通道半数激活电位变化见图4-E。与对照组比较, BayK 8644 使半数激活电压明显升高 3.23

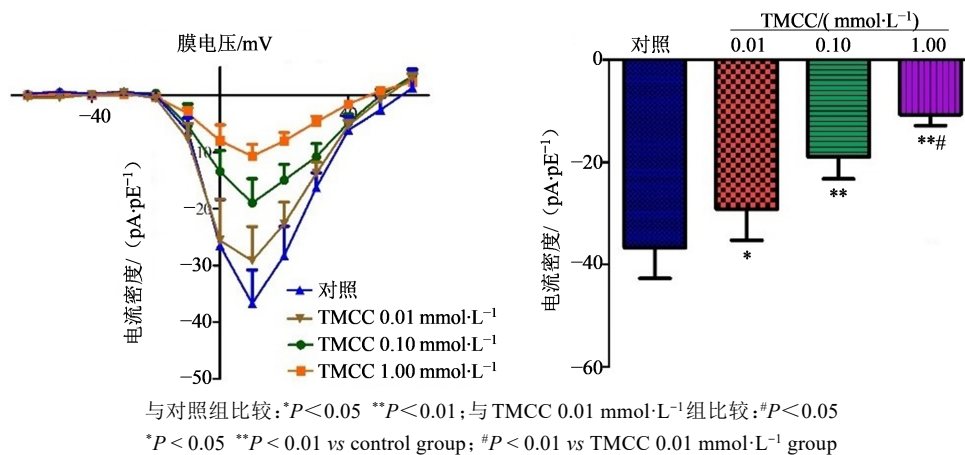


图2 TMCC对HEK293细胞 $I_{Ca,L}$ 电流密度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 2 Effects of TMCC on $I_{Ca,L}$ current density ($\bar{x} \pm s, n=6$)

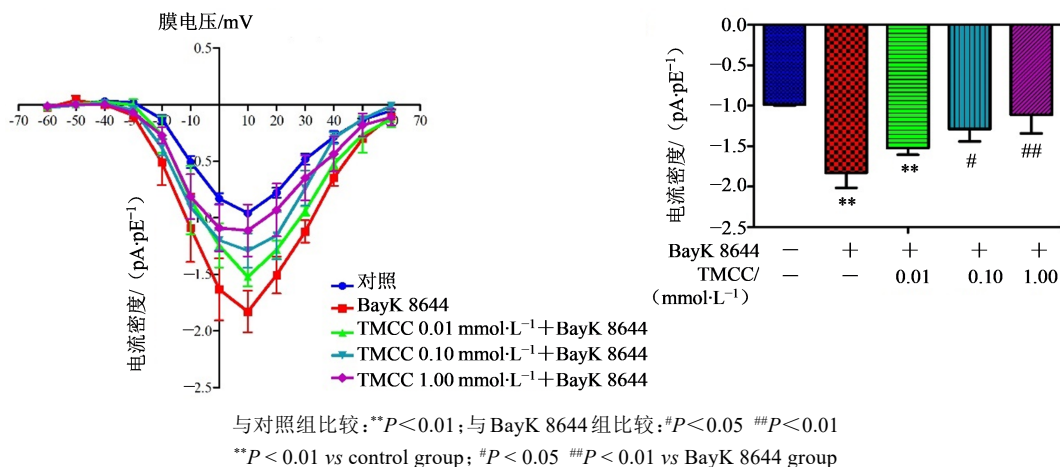
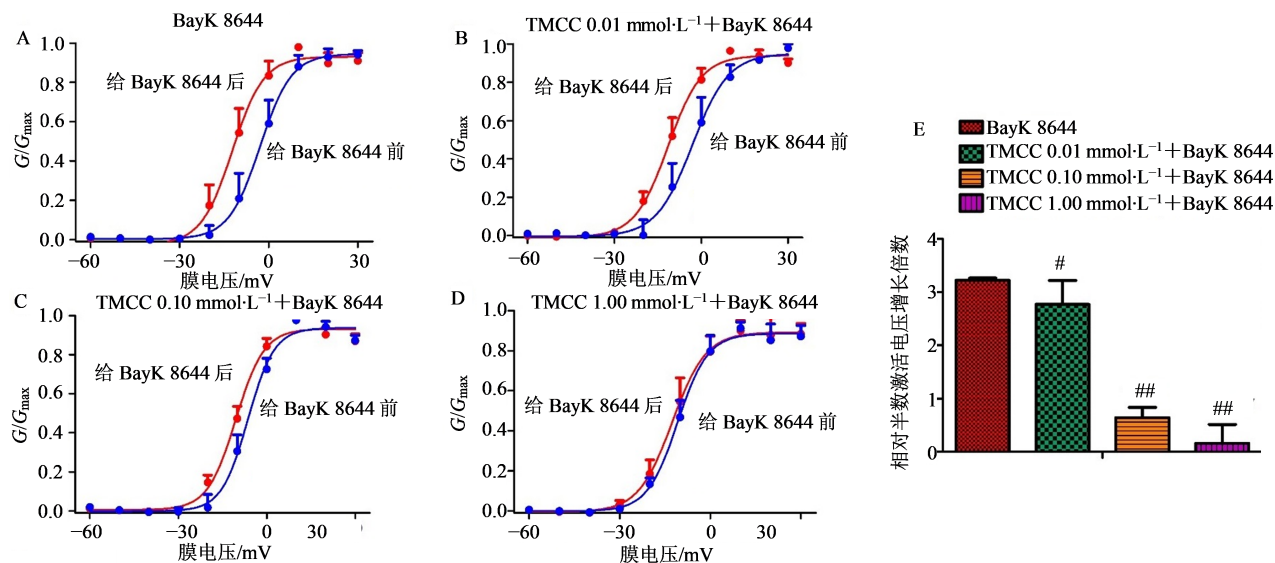


图3 TMCC减弱BayK 8644增大 $I_{Ca,L}$ 电流的作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Effects of TMCC on $I_{Ca,L}$ current density in BayK 8644-induced LQT8 model of HEK293 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)



A-D: $I_{Ca,L}$ 稳态激活曲线; E: 半数激活电压; 与 BayK 8644 组比较: $^{\#}P < 0.05$ $^{##}P < 0.01$
A-D: Steady-state activation curve of $I_{Ca,L}$; E: Half activation potential; $^{\#}P < 0.05$ $^{##}P < 0.01$ vs BayK 8644 group

图4 TMCC、BayK 8644 对 $I_{Ca,L}$ 通道稳态激活动力学的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Effects of TMCC and BayK 8644 on $I_{Ca,L}$ steady-state activation kinetics on HEK 293 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

倍, 激活曲线左移, 激活加快。TMCC (0.01、0.10、1.00 mol/L) 可使增大的半数激活电位降低, 恢复左移的激活曲线, 使激活减慢, 且呈浓度相关性, 差异有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01$)。

3.4 TMCC、BayK 8644 对 $I_{Ca,L}$ 通道稳态失活动力学的影响

当形成全细胞封接后, 细胞膜电压钳制于 -60 mV, 持续时间为 2 000 ms, 步阶为 10 mV, -40~20 mV 系列条件脉冲刺激, 在每一条件脉冲后紧跟一固定去极化至 0 mV, 150 ms 的测试脉冲。以电流的相对值 (I/I_{max}) 对条件脉冲电压作图, 得出 $I_{Ca,L}$ 的失活曲线。根据 Boltzman 方程 $I/I_{max} = 1/[1 + e^{(V - V_{1/2})/K}]$ 进行拟合。式中 I_{max} 为最大膜电流, $V_{1/2}$ 为半数失活电压, K 为斜率参数。结果表明, 与对照组比较, BayK 8644 及 TMCC 对 $I_{Ca,L}$ 失活曲线的影响无统计学意义。

3.5 TMCC 对 LQT8 模型中豚鼠心室肌细胞动作电位的影响

本课题组前期已研究 TMCC 对正常豚鼠心室肌细胞动作电位的作用, TMCC (0.01、0.1、1 mol/L) 均对 APA 无影响, 可以显著升高 RMP, 显著缩短 APD₅₀ 和 APD₉₀。本实验结果显示, BayK 8644 组和 BayK 8644+TMCC 组, RMP 和 APA 在给药前后均没有显著性变化。与对照组比较, BayK 8644 显著延长 APD₃₀、APD₅₀、APD₉₀ ($P < 0.01$), 分别延长 29.78%、64.00% 和 54.40%。0.01、0.1、1 mmol/L

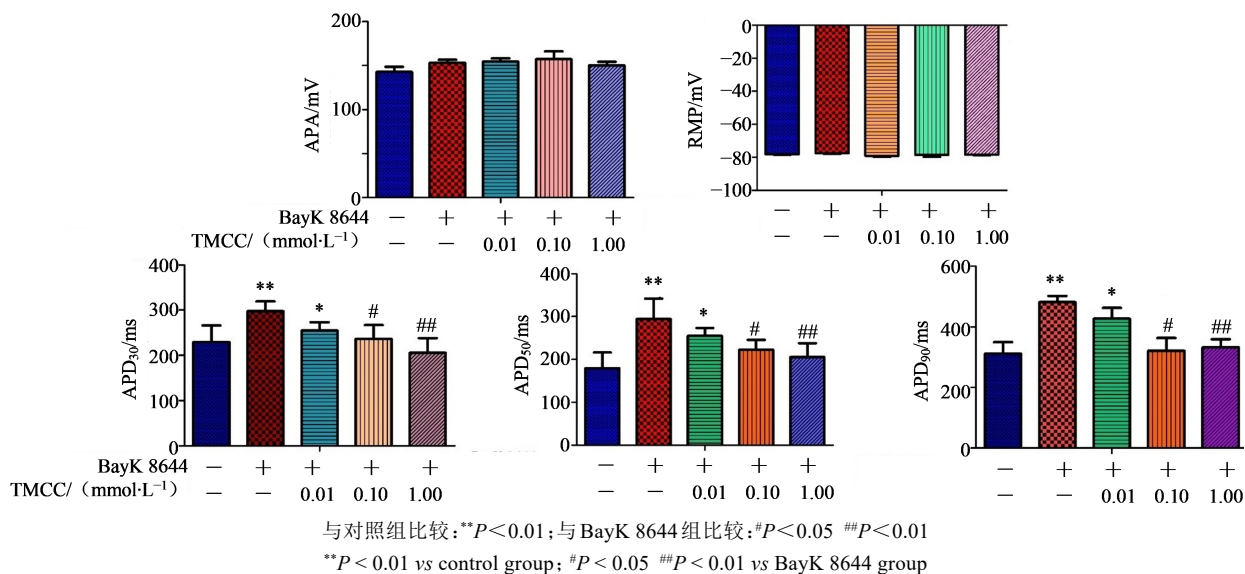
TMCC 均可以减弱 BayK 8644 对豚鼠心室肌细胞 APD₃₀、APD₅₀ 和 APD₉₀ 的延长作用, 0.1、1 mmol/L 浓度组差异显著 ($P < 0.05, 0.01$)。结果表明, TMCC 可以减弱 BayK 8644 对豚鼠心室肌细胞动作电位的延长作用, 从而产生一定的抗 LQT8 作用, 结果见图 5。

4 讨论

在本实验中, 通过应用 BayK 8644 产生 LQT8 模型, BayK 8644 是 $I_{Ca,L}$ 通道激动剂。选择豚鼠作为 LQT8 模型的基础, 选用单独稳定表达 $I_{Ca,L}$ 电流的 HEK293 细胞系, 避免了其他电流的干扰。

在前期研究中, 本课题组发现 TMCC 可以对抗由 chromanol 293B、吡那地尔及曲匹地尔造成的 LQTS 和 SQT 模型^[9,12-13], 在不同病理条件下, TMCC 均可以使偏离了正常平衡点的 I_{Ks} 通道恢复正常或者接近正常状态, 从而发挥其抗心律失常作用。推测 TMCC 或许是一个部分抑制剂, 在不同病理模型下, 它或许会与其他模型药竞争作用靶点, 减弱模型药 (chromanol 293B, 吡那地尔以及曲匹地尔) 的药理作用, 从而发挥抗心律失常作用。为了进一步探讨 TMCC 抗 LQTS 的作用机制, 本实验在豚鼠心室肌细胞和稳定单独表达 $I_{Ca,L}$ 电流的 HEK293 细胞上, 分别进行了动作电位和 $I_{Ca,L}$ 通道电流的相关测定。

心脏钙通道功能直接影响到心肌电兴奋的传导及收缩功能, 是很多抗心律失常及抗心力衰竭药

图5 牛磺酸镁配合物对LQT8模型中豚鼠心室肌细胞动作电位的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 5 Effects of TMCC on action potentials in BayK 8644-induced LQT8 model of ventricular myocytes from guinea pig ($\bar{x} \pm s, n=6$)

物的作用对象。基础心肌细胞收缩力减弱、交感神经激素通路激活增强和肾上腺素能收缩反应减弱是人类心脏衰竭的特征^[14]。钙离子通道异常是导致心肌收缩力下降的主要原因。Cav1.2 电流密度异常是导致衰竭心肌细胞中 Ca^{2+} 功能紊乱的原因^[15]。

TS 是 LQTS 最严重的类型之一,由于感染、严重疾病或麻醉引起的心律失常使得幼龄人群具有较高死亡率。室性快速心律失常是 TS 患者死亡的主要原因。临床 TS 患者,LTCC 的 $\text{Ca}_v1.2$ 突变,其使 L 型钙通道的钙依赖和电压依赖的两种表达都丧失,结果 LTCC 几乎不能关闭,使 2 相平台期一直存在持续不断的 Ca^{2+} 内流,动作电位延长,而产生了长 QT 的心电图表现。此外,心肌细胞内 Ca^{2+} 负荷的加重使其容易发生继发性迟后除极,引起心律失常和心脏性猝死,TS 患儿很少能活到成人^[16]。本研究中,通过 BayK 8644 的正性肌力作用,显著延长心室肌细胞 APD_{30} 、 APD_{50} 和 APD_{90} ,促进电压依赖的稳态激活过程,增大 HEK 293 细胞的 $I_{\text{Ca,L}}$ 的电流密度,模拟 LQT8 的电生理特征,但未能减缓 LTCC 的失活,这与文献报道一致^[4]。

试验结果显示,TMCC(0.01、0.1、1 mol/L)预孵 24 h 后,可浓度相关性缩短心室肌细胞 APD_{30} 、 APD_{50} 和 APD_{90} ,能够明显削弱 BayK 8644 的作用,恢复加快的稳态激活过程,对抗 BayK 8644 对 $I_{\text{Ca,L}}$ 电流的增强作用。这些结果提供了电生理证据,证明 TMCC 可以缩短 APD,抑制 $I_{\text{Ca,L}}$ 电流,对抗 LQT8,

产生一定的抗心律失常作用。

到目前为止还没有有效的治疗 TS 的药物。目前临床应用及文献报道,维拉帕米作为一种 L 型钙通道拮抗剂,减轻 LQT8 患者室性心律失常的负担^[17]。也有报道,雷诺拉嗪可降低 LQT8 患者心房颤动和心室颤动事件的发生概率^[6]。Gao 等^[18]表明美西律通过抑制晚期 I_{Na} 通道,缩短 QTc,减弱 QT-RR 斜率,并在 TS 患者和 TS 模型中消除 2:1 房室阻滞和 T 波电交替。本研究的 TMCC 或许为临床治疗 LQT8 提供一份参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Luo C H, Rudy Y. A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction [J]. Circ Res, 1991, 68(6): 1501-1526.
- [2] Splawski I, Timothy K W, Sharpe L M, et al. $\text{Ca(V)}1.2$ calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism [J]. Cell, 2004, 119(1): 19-31.
- [3] Splawski I, Timothy K W, Decher N, et al. Severe arrhythmia disorder caused by cardiac L-type calcium channel mutations [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(23): 8089-8096.
- [4] Yarotskyy V, Gao G F, Peterson B Z, et al. The Timothy syndrome mutation of cardiac $\text{Ca}_v1.2$ (L-type) channels: multiple altered gating mechanisms and pharmacological restoration of inactivation [J]. J Physiol, 2009, 587(3): 551-565.

- [5] Fukuyama M, Wang Q, Kato K, et al. Long QT syndrome type 8: novel CACNA1C mutations causing QT prolongation and variant phenotypes [J]. *Europace*, 2014, 16(12): 1828-1837.
- [6] Shah D P, Baez-Escudero J L, Weisberg I L, et al. Ranolazine safely decreases ventricular and atrial fibrillation in Timothy syndrome (LQT8) [J]. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2012, 35(3): 62-64.
- [7] Zhao L, Lou J S, Wu H, et al. Effects of taurine-magnesium coordination compound on ionic channels in rat ventricular myocytes of arrhythmia induced by ouabain [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2012, 147(1/2/3): 275-284.
- [8] Zhao L, Lou J S, Kang Y. Taurine-magnesium coordination compound attenuates hypoxia/reoxygenation induced ion channel dysfunction in rat ventricular myocytes [J]. *Drug Res (Stuttg)*, 2013, 63(4): 185-191.
- [9] Li Y, Sun K, An M Y, et al. Anti-arrhythmic effects of taurine-magnesium coordination compound on torsades de pointes [J]. *Chin J Appl Physiol*, 2018, 34(2): 106-110.
- [10] Lou J S, Wu H, Wang L F, et al. Taurine-magnesium coordination compound, a potential anti-arrhythmic complex, improves aconitine-induced arrhythmias through regulation of multiple ion channels [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 356: 182-190.
- [11] Sicouri S, Timothy K W, Zygmunt A C, et al. Cellular basis for the electrocardiographic and arrhythmic manifestations of Timothy syndrome: effects of ranolazine [J]. *Heart Rhythm*, 2007, 4(5): 638-647.
- [12] An M Y, Sun K, Li Y, et al. Therapeutic effects of a taurine-magnesium coordination compound on experimental models of type 2 short QT syndrome [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(3): 382-392.
- [13] 安梦瑶, 李燕, 孙凯, 等. 牛磺酸镁配合物对获得性长QT综合征模型下抗心律失常作用研究 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(2): 314-321.
- An M Y, Li Y, Sun K, et al. Anti-arrhythmic effect of Taurine-Magnesium Coordination Compound on the model of long QT syndrome [J]. *Drug Eval Res*, 2021, 44(2): 314-321.
- [14] Houser S R, Margulies K B. Is depressed myocyte contractility centrally involved in heart failure? [J]. *Circ Res*, 2003, 92(4): 350-358.
- [15] Bodi I, Mikala G, Koch S E, et al. The L-type calcium channel in the heart: the beat goes on [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(12): 3306-3317.
- [16] Petersen O H, Michalak M, Verkhratsky A. Calcium signalling: past, present and future [J]. *Cell Calcium*, 2005, 38(3/4): 161-169.
- [17] Jacobs A, Knight B P, McDonald K T, et al. Verapamil decreases ventricular tachyarrhythmias in a patient with Timothy syndrome (LQT8) [J]. *Heart Rhythm*, 2006, 3(8): 967-970.
- [18] Gao Y F, Xue X L, Hu D Y, et al. Inhibition of late sodium current by mexiletine: a novel pharmacotherapeutical approach in Timothy syndrome [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2013, 6(3): 614-622.

[责任编辑 兰新新]