

研究论文

## 严重烫伤延长大鼠心室肌细胞动作电位时程的机制

邓建新, 刘杰\*

南方医科大学病理生理学教研室, 广东省休克微循环重点实验室, 广州 510515

**摘要:** 严重烫伤引起心肌细胞动作电位时程(action potential duration, APD)延长, 通过加重烫伤心肌细胞钙紊乱和诱发室性心律失常, 促进烫伤心功能障碍的发生, 但 APD 延长的机制尚不清楚。通过制作约 40% 体表面积(total body surface area, TBSA) III 度烫伤大鼠模型, 在伤后 12 h 大鼠心功能明显减弱时分离其心肌细胞, 采用膜片钳技术观察心肌细胞 APD 以及动作电位复极化相关的重要离子通道电流, 包括瞬间外向钾电流(transient outward  $K^+$  current,  $I_{to}$ ), L-型钙电流(L-type  $Ca^{2+}$  current,  $I_{Ca-L}$ )和内向整流钾电流(inward rectifier  $K^+$  current,  $I_{K1}$ )。结果显示, 烫伤后 12 h 单个心肌细胞 APD 明显延长, APD<sub>50</sub> 和 APD<sub>90</sub> 在烫伤组分别为(46.02±3.78) ms、(123.24±12.48) ms ( $n=19$ ), 明显长于对照组的(23.28±4.85) ms、(72.12±3.57) ms ( $n=17$ )( $P<0.01$ )。烫伤引起  $I_{to}$  电流密度降低, +60 mV 下烫伤组的电流密度(20.39±1.98) pA/pF ( $n=25$ )明显低于对照组的(34.15±3.78) pA/pF ( $n=20$ ,  $P<0.01$ ); 烫伤组在 -120 至 -80 mV 电压刺激下所产生的  $I_{K1}$  电流密度显著低于对照组; 而两组之间  $I_{Ca-L}$  电流密度、电压依赖性的激活和失活无显著性差异。结果提示, 烫伤引起心肌细胞 APD 延长的机制与瞬间外向钾通道和内向整流钾通道功能下调有关。

**关键词:** 烫伤; 动作电位; 瞬间外向钾电流; 内向整流钾电流; L-型钙通道

**中图分类号:** R 644

## Underlying mechanism for prolongation of action potential duration in ventricular cardiomyocytes of rats suffered from thermal injury

DENG Jian-Xin, LIU Jie\*

Department of Pathophysiology, Key Laboratory of Shock and Microcirculation of Guangdong Province, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

**Abstract:** Severe thermal injury causes prolongation of action potential duration (APD) in cardiomyocytes, which results in cardiac dysfunction by inducing disturbance of calcium dyshomeostasis in cardiac myocytes. However, the underlying mechanism for APD prolongation remains unclear. In the present study, we examined the major action potential repolarization-related ion channel currents in rat ventricular cardiomyocytes, including transient outward potassium current ( $I_{to}$ ), inward rectifier potassium current ( $I_{K1}$ ) and L-type  $Ca^{2+}$  current ( $I_{Ca-L}$ ) to investigate the alterations of these currents, which might account for the pathogenesis of APD prolongation induced by thermal injury. Twelve hours after approximately 40% of the total body surface area, full-thickness (third-degree) cutaneous thermal injury was produced in rats, ventricular cardiomyocytes were isolated from the hearts with systolic and diastolic dysfunction. APD was found to be markedly prolonged, while APD<sub>50</sub> and APD<sub>90</sub> in ventricular cardiomyocytes from rats with thermal injury were (46.02±3.78) ms and (123.24±12.48) ms ( $n=19$ ), respectively, significantly longer than (23.28±4.85) ms and (72.12±3.57) ms ( $n=17$ ,  $P<0.01$ ) in ventricular cardiomyocytes from sham rats. Thermal injury remarkably suppressed  $I_{to}$  density in ventricular cardiomyocytes.  $I_{to}$  density at +60 mV was decreased from (34.15±3.78) pA/pF ( $n=20$ ) in sham group to (20.39±1.98) pA/pF ( $n=25$ ,  $P<0.01$ ) in thermal injury group, and the decrease extended from -30 to +60 mV. Similarly, current densities of  $I_{K1}$  from -120 to -80 mV in thermal injury group were also significantly lower than that in sham group. In contrast, we failed to detect any alterations in  $I_{Ca-L}$  density, and voltage-dependence of activation and inactivation in thermal injury group, compared with that in sham group. Taken together, our data suggest that thermal injury results in function downregulation of transient outward potassium channels and inward

Received 2006-12-04 Accepted 2007-04-15

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30570418, 30570940).

\*Corresponding author. Tel: +86-20-61648465; E-mail: jieliu@fimmu.com

rectifier potassium channels, which contributes, at least in part, to APD prolongation and subsequent cardiac dysfunction.

**Key words:** thermal injury; action potential; transient outward potassium current; inward rectifier potassium current; L-type calcium channel

心功能障碍是严重烧伤病人常常面临的危及生命的并发症,但其发生机制至今尚未阐明<sup>[1,2]</sup>。严重烧伤引起的一个重要病理改变是心肌细胞动作电位时程(action potential duration, APD)延长,心电图表现为QT间期离散(QT dispersion)<sup>[3]</sup>。APD延长一方面可能通过增加Ca<sup>2+</sup>内流,加重烧伤心肌细胞的钙超载<sup>[4]</sup>,促进烧伤心功能障碍;另外,APD延长可能诱发室性心律失常,损害心脏功能<sup>[5-7]</sup>。因此,临床发现QT间期离散的程度与烧伤病人病情的严重程度呈正相关<sup>[3]</sup>。

对烫伤时心肌细胞APD延长的发生机制目前研究不多,且主要采用烫伤淋巴液和烫伤血清作为刺激物,实验模型未能直接、准确地反映受神经体液以及心脏本身结构功能影响的伤后心功能障碍的动态变化过程。例如,Yatani等用烫伤肠系膜淋巴液刺激正常大鼠心肌细胞,发现APD延长,并伴有瞬间外向钾电流(transient outward K<sup>+</sup> current,  $I_{to}$ )减小,但对L-型钙电流(L-type Ca<sup>2+</sup> current,  $I_{Ca-L}$ )和内向整流钾电流(inward rectifier K<sup>+</sup> current,  $I_{K1}$ )无影响,因此认为 $I_{to}$ 功能下调是APD延长的重要原因<sup>[8]</sup>。但在同一研究中,烫伤淋巴液引起单个心肌细胞收缩功能增强,与在体心功能减弱的结果相反<sup>[8]</sup>。另外,对于烫伤时离子通道功能,尤其是 $I_{Ca-L}$ 的功能变化文献报道也有矛盾<sup>[8,21]</sup>。

本工作直接分离严重烫伤大鼠的心肌细胞,检测单个心肌细胞APD的变化,并观察对大鼠心肌细胞动作电位(action potential, AP)复极化贡献最大的几种离子通道电流 $I_{to}$ 、 $I_{Ca-L}$ 和 $I_{K1}$ 的变化,探讨烫伤引起心电活动异常和心功能障碍的机制。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂** Tetrodotoxin (TTX)、HEPES、protease XIV、EGTA、K<sub>2</sub>ATP、MgATP、TEA-Cl、CdCl<sub>2</sub>、aspartic acid、CsOH、CsCl购于Sigma公司, collagenase II购于Worthington公司,其余为国产分析纯。

**1.2 烫伤模型的复制和左心功能检测** Sprague-Dawley (SD)大鼠37只,180~230 g,雌雄不拘。随机分成对照组和烫伤组。实验前大鼠禁食12 h,

乌拉坦麻醉(85 mg/100 g),在无菌条件下行右颈总动脉插管(PE-50)至左心室,采用生理记录仪(RM6240,成都仪器厂)监测左心室最大收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左心室舒张末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、左心室压力最大上升/下降速率( $\pm dp/dt_{max}$ )。烫伤模型的复制采用Zhao等建立的方法<sup>[1]</sup>,将大鼠髂前上棘以下部位浸于92 °C水中18 s,造成约40%全身体表面积(total body surface area, TBSA) III度烫伤模型,迅速擦干烫伤部位,腹腔补充林格氏液(4 mL/kg×1% TBSA),伤后立即补充一半的量,8 h后补充剩余的量。对照组用37 °C水浴代替92 °C水浴,除不补充液体外,其余处理相同。

**1.3 心肌细胞分离** 采用已往报道的心肌细胞分离方法<sup>[10]</sup>。开胸后迅速取出心脏置于4 °C、5% CO<sub>2</sub>和95% O<sub>2</sub>混合气饱和的无钙台氏液(mmol/L: NaCl 137, KCl 5.4, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, MgCl<sub>2</sub> 1.2, glucose 10, HEPES 20, taurine 10, pH 7.4)中,挤出残血,用Langendorff灌流装置经主动脉逆行灌流心脏。无钙台氏液灌流大约2 min后换成含collagenase II 0.5 mg/mL、protease XIV 0.05 mg/mL、牛血清白蛋白1.5 mg/mL的无钙台氏液,循环灌流直到整个心脏变软,取左心室剪碎,在不含蛋白酶的消化液里继续消化至细胞分离出来。细胞复钙后保存在含1 mmol/L Ca<sup>2+</sup>的台氏液中备用。

**1.4 单个心肌细胞收缩性测量** 细胞收缩性测量采用Wang等所报告的方法<sup>[11,12]</sup>。分离的心肌细胞与钙荧光指示剂fluo-4 AM(终浓度5 μmol/L)(Molecular Probes, Inc.)共同孵育10 min后洗去染料。加载荧光染料的细胞便于边界的观察,并可同步观察钙瞬变。将细胞滴在Pertri皿自然沉降,将皿置于Zeiss LSM-510倒置共聚焦显微镜的载物台上,用含1 mmol/L Ca<sup>2+</sup>的台式液(mmol/L: NaCl 137, KCl 5.4, CaCl<sub>2</sub> 1.0, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, MgCl<sub>2</sub> 1.2, glucose 10, HEPES 20, pH 7.4)灌流细胞。采用YC-2型电子刺激器(成都仪器厂),给予细胞1 Hz、10 V的场刺激,40倍油镜下,观察到细胞随刺激节律收缩。采用线扫描方式采集图像信号,扫描线穿过细胞长轴纵向正中切面(避开细胞核,可以最好地反映细胞的长

度), 激发波长 488 nm, 收集大于 505 nm 波长的发射光(fluo-4 AM 的发射波长为 515 nm)。分辨率为径向 0.4 μm, 轴向 0.4 μm。采样速率(即时间分辨率)为每条线 3.07 ms, 同一条线重复扫描 1 000 次, 可以清晰地显示细胞在该扫描线的两端边界(它们之间的距离即为细胞长度)随扫描时间的变化。用 IDL (interactive data language, Research Systems, Inc.) 自编程序跟踪边界(以与背景的荧光差来确定边界)的变化测量细胞长度, 以刺激引起长度缩短的最大值( $\Delta l_{\max} = l_{\text{pre-contraction}} - l_{\text{maximal contraction}}$ )与收缩前  $l_{\text{pre-contraction}}$  的比值计算出单个心肌细胞收缩性。

**1.5 电生理实验** 应用德国 HEKA 公司膜片钳放大器 EPC 10.0, 采用全细胞记录方法记录电流以及 AP。细胞灌流液采用含 1 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  的台式液, AP 和钾电流记录的电极液为(mmol/L): KOH 120、aspartic acid 120、KCl 20、 $\text{K}_2\text{ATP}$  10、EGTA 10、HEPES 10、 $\text{MgCl}_2$  1, KOH 调整 pH 至 7.4。记录钾电流时灌流液中加入 0.3 mmol/L  $\text{CdCl}_2$  和 20 μmol/L TTX 分别阻断钙电流和钠电流<sup>[13]</sup>。 $I_{\text{Ca-L}}$  记录的电极液为(mmol/L): CsCl 120、 $\text{CaCl}_2$  1.0、 $\text{MgCl}_2$  1.0、 $\text{MgATP}$  4.0、EGTA 4.0、HEPES 10、TEA-Cl 20、TTX 0.02, CsOH 调 pH 至 7.4<sup>[14]</sup>。电极充灌电极液入水后阻抗为 2~5 MΩ。在室温下(22~25 °C) 采集通道电流储存于电脑作脱机分析。

**1.6 统计学分析** 数据分析采用 IDL 自编程序和 SigmaPlot、Excel 等软件分析处理。数据用 means±SEM 表示, 采用 *t* 检验比较组间差异, 以  $P < 0.05$  作为显著差异指标。

## 2 结果

### 2.1 严重烫伤减弱心脏功能和单个心肌细胞收缩性

表 1 显示烫伤 12 h 后, 反映左心室收缩功能的指标 LVSP 和  $+dp/dt_{\max}$  在烫伤组的绝对值明显低于对照组; 而反映左心室舒张功能的指标  $-dp/dt_{\max}$  的绝对值则明显低于对照组( $P < 0.01$ )。结果提示, 烫伤 12 h 大鼠心脏收缩和舒张功能均明显下降。分离此时的心肌细胞, 用场刺激引起单个细胞收缩, 与静息时细胞长度相比, 对照组心肌细胞长度缩短的绝对值为(13.58±0.56) μm, 收缩百分比为(11.83±0.49)% ( $n=70$  cells from 4 rats); 烫伤组心肌细胞长度缩短的绝对值为(6.32±0.29) μm, 收缩百分比为(5.45±0.25)% ( $n=77$  cells from 4 rats), 后者明显低于前者

表 1. 烫伤大鼠和对照大鼠在体心脏功能和单个心肌细胞收缩性的比较

Table 1. Comparison of cardiac function *in vivo* and cardiac contractility in single ventricular cardiomyocytes between sham and thermally injured rats

	Sham	Thermal injury
LVSP (mmHg)	134.0±13.37	69.70±8.91**
LVEDP (mmHg)	0.95±1.02	0.81±1.91
+dp/dt <sub>max</sub> (mmHg/s)	4 209±938	1 238±340**
-dp/dt <sub>max</sub> (mmHg/s)	3 767±715	1 036±173**
Contraction (%)	11.83±0.49	5.45±0.25**

LVSP, left ventricular systolic pressure; LVEDP, left ventricular end-diastolic pressure. \*\* $P < 0.01$  vs sham.

( $P < 0.01$ )。

### 2.2 严重烫伤延长心肌细胞 APD

图 1A 为对照组和烫伤组代表性的 AP 曲线。烫伤组 APD 明显延长。对照组 APD<sub>50</sub> (复极 50%) 和 APD<sub>90</sub> (复极 90%) 分别为(23.28±4.85) ms 和(72.12±3.57) ms ( $n=17$  cells from 5 rats), 烫伤组 APD<sub>50</sub> 和 APD<sub>90</sub> 较对照组明显延长, 分别为(46.02±3.78) ms 和(123.24±12.48) ms ( $n=19$  cells from 5 rats)。两组

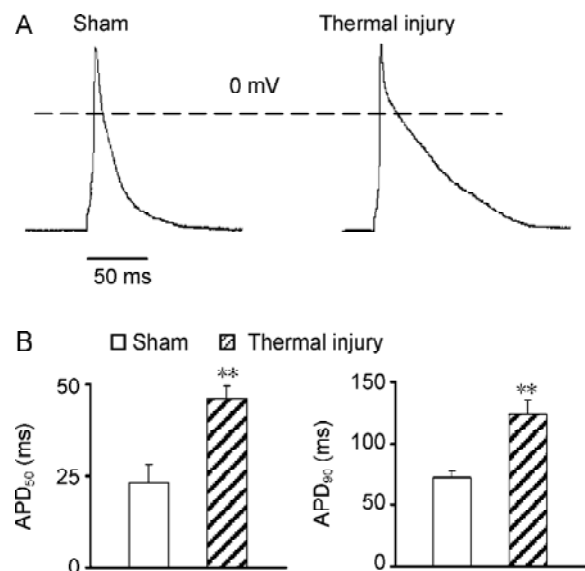


图 1. 烫伤延长大鼠心肌细胞动作电位时程

Fig.1. Thermal injury prolonged action potential duration (APD) in rat ventricular cardiomyocytes. A: Representative action potential traces recorded in ventricular cardiomyocytes from sham and thermally traumatized rats. B: Statistics of 50% of repolarization of APD (APD<sub>50</sub>) and 90% of repolarization of APD (APD<sub>90</sub>). \*\* $P < 0.01$  vs sham.

APD<sub>50</sub> 和 APD<sub>90</sub> 相比均有显著性差异( $P<0.01$ ) (图 1B)。而静息膜电位(resting membrane potential, RMP)和 AP 超射值(overshoot, OS)没有明显改变, 对照组 RMP 和 OS 分别为(-70.81±1.80) mV、(43.26±3.12) mV, 烫伤组分别为(-73.14±0.85) mV、(43.32±3.37) mV。

### 2.3 严重烫伤下调心肌细胞 $I_{to}$

细胞钳制在 -80 mV, 给予细胞 250 ms、从 -50 mV 开始以 10 mV 递增至 +60 mV 的电压刺激, 记录各电压下  $I_{to}$  电流幅度(pA), 将电流幅度除以细胞电容(pF)得出电流密度(pA/pF)。图 2A 显示对照组和烫伤组典型的  $I_{to}$ , 图 2B 为  $I_{to}$  电流-电压( $I$ - $V$ )曲线。结果表明, 烫伤组  $I_{to}$  电流密度在 -30~+60 mV 的电压范围内均明显低于对照组( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。+60 mV 时对照组和烫伤组  $I_{to}$  电流密度分别为(34.15±3.78) pA/pF ( $n=20$  cells from 5 rats)、(20.39±1.98) pA/pF ( $n=25$  cells from 5 rats), 后者明显低于前者( $P<0.01$ )。

### 2.4 严重烫伤不改变心肌细胞 $I_{Ca-L}$

细胞钳制在 -40 mV (失活钠通道), 给予 300 ms、从 -30 mV 开始以 10 mV 递增至 +60 mV 的电压刺激, 记录不同电压下的内向电流。该电流能完全被 300  $\mu$ mol/L 的 CdCl<sub>2</sub> 阻断, 证明其为钙电流。以电压为横坐标, 各电压下测得的钙电流峰值为纵坐标, 绘制  $I_{Ca-L}$  的  $I$ - $V$  曲线。在 -40~+60 mV 电压范围内,  $I$ - $V$  曲线呈倒钟型, +10 mV 时通道电流达到最大值, 对照组和烫伤组  $I$ - $V$  曲线基本重叠(图

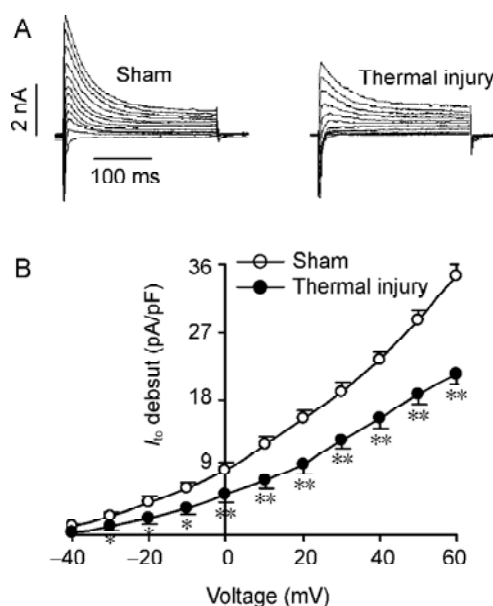


图 2. 烫伤下调大鼠心室肌细胞  $I_{to}$  电流密度  
Fig.2. Thermal injury decreased  $I_{to}$  density in rat ventricular cardiomyocytes. A: Representative  $I_{to}$  current traces in ventricular cardiomyocytes from sham and thermal-traumatized rats. B: Voltage-dependence of  $I_{to}$  density in sham and thermal injury groups. \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs sham.

3B), 提示两组间无电压依赖性的激活和失活差异。对照组和烫伤组在 +10 mV 时电流密度分别为(7.98±0.73) pA/pF ( $n=39$  cells from 6 rats)和(7.73±0.62) pA/pF ( $n=48$  cells from 6 rats), 两组相比无显著性差异。

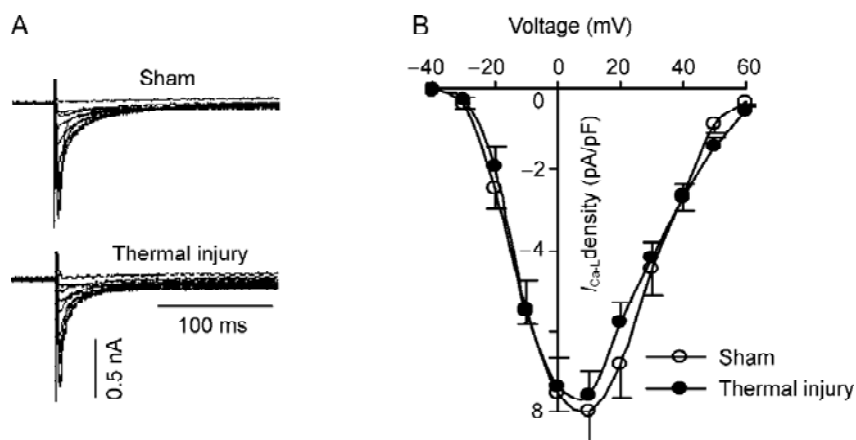


图 3. 烫伤对大鼠心室肌细胞 L-型钙通道电流影响

Fig.3. Effects of thermal injury on  $I_{Ca-L}$  in rat ventricular cardiomyocytes. A: Representative  $I_{Ca-L}$  current traces in ventricular cardiomyocytes from sham and thermally traumatized rats. B: Current-voltage ( $I$ - $V$ ) relationships for  $I_{Ca-L}$  in sham and thermal injury groups.

### 2.5 严重烫伤对心肌细胞 $I_{K1}$ 的影响

细胞钳制于  $-80$  mV，给予细胞  $500$  ms、从  $0$  mV 至  $-120$  mV，以  $10$  mV 递减的电压刺激，测定每一电压刺激下稳定状态电流，该电流为  $I_{K1}$ 。从  $I_{K1}$  的  $I-V$  曲线(图 4)可见，其反转电位大约为  $-80$  mV，在负于反转电位时呈现内向电流，且与电位呈线性关系；正于反转电位时呈外向电流，表现整流特性，这是典型的  $I_{K1}$  电流特性。烫伤不改变  $I_{K1}$  的反转电位和整流特性，但在  $-120$  mV 至  $-90$  mV 电压范围，烫伤组  $I_{K1}$  ( $n=11$  cells from 3 rats) 电流密度较对照组 ( $n=9$  cells from 3 rats) 低，有显著性差异 ( $P<0.01$ )。

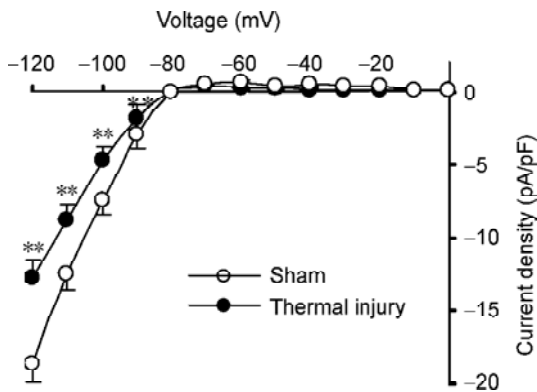


图 4. 烫伤组和对照组  $I_{K1}$  电流 - 电压 ( $I-V$ ) 曲线比较  
Fig.4. Comparison of current-voltage ( $I-V$ ) relationships for  $I_{K1}$  between sham and thermal injury groups. \*\* $P<0.01$  vs sham.

### 3 讨论

以往对烧伤延长心肌细胞 APD 的认识是建立在烧伤血清或烧伤淋巴液对正常细胞 AP 和相关离子通道作用的基础上。但由于烧伤是一个复杂的病理过程，体液因子改变只是其中一部分，其作用不能完全反映在体心肌细胞的变化。此外，这种体外的瞬时刺激不能体现长时间病理刺激对细胞基因和蛋白表达等的影响。并且，长期处于烧伤病理刺激的心肌细胞对体液有害因子的反应与正常细胞可能并不完全一致。多种原因造成目前烧伤研究中出现一些矛盾结果。例如，对烧伤心肌细胞钙转运蛋白表达的定量分析发现，钠-钙交换蛋白(sodium-calcium exchanger, NCX)表达量降低，提示其功能下降<sup>[15]</sup>，但烫伤肠系膜淋巴液的瞬时作用并不引起 NCX 的功能改变<sup>[8]</sup>。最近在分离的烧伤心肌细胞发现收缩期

钙瞬态和收缩性降低<sup>[16]</sup>，但烫伤肠系膜淋巴液却引起正常心肌细胞钙瞬态和收缩性增强<sup>[8]</sup>。因此，直接对烫伤大鼠心肌细胞 AP 和相关离子通道的研究，有利于加深对烫伤所致心电特性改变的理解。

本研究发现，严重烫伤(40% TBSA, III 度) 12 h 后大鼠心功能明显降低，虽然随后心功能会进一步下降，但由于部分动物在伤后 12~24 h 死亡，所以我们选取伤后 12 h 这一时间点。取出心脏分离心肌细胞，我们发现没有神经体液调节的单个心肌细胞的收缩性也明显下降。此时心肌细胞 AP 发生了明显的改变，表现为 APD 延长(烫伤组 APD<sub>50</sub>、APD<sub>90</sub> 均显著高于对照组)，而 RMP 和 OS 没有改变，与烫伤淋巴液作用相似。提示参与 AP 形成的离子通道发生了功能和 / 或结构的异常。

在大鼠 AP 的形成中，由于缺乏延迟整流钾电流 (delayed rectifier current,  $I_K$ )， $I_{to}$  是主要的复极化钾电流，对 APD 贡献最大。以往我们通过外源转染表达  $I_{to}$  的 HEK293 细胞发现，烧伤血清刺激能引起该通道电流密度降低<sup>[17]</sup>；Yatani 等<sup>[8]</sup>用烫伤大鼠肠系膜淋巴液刺激大鼠心肌细胞，得到同样的结果。本实验直接在烫伤大鼠心肌细胞检测到  $I_{to}$  电流密度明显降低，证明  $I_{to}$  确实在 APD 延长机制中起重要作用。同时，分离的烫伤心肌细胞对  $I_{to}$  改变的这种“记忆”效应提示瞬间外向钾通道蛋白表达水平或结构可能发生了改变。已知瞬间外向钾通道由  $\alpha$  亚基(在大鼠心外膜主要为 Kv4.2)和  $\beta$  亚基(主要为钾通道相关蛋白 KChIP)组成，虽然  $\beta$  亚基本身不具有通道功能，但能增加  $\alpha$  亚基电流密度，改变其门控动力学<sup>[18,19]</sup>，目前已逐渐认识到  $\beta$  亚基在疾病心脏瞬间外向钾通道功能下调中起重要作用。例如，在发生心肌梗死的狗心肌细胞发现瞬间外向钾通道功能下调，引起这种效应的分子基础是 KChIP 表达减少<sup>[20]</sup>。此外，对  $\alpha$  亚基的磷酸化和自由基的氧化修饰作用均能改变瞬间外向钾通道的功能<sup>[21]</sup>，而烫伤时机体磷酸化水平和自由基的生成明显增强<sup>[22,23]</sup>。组成瞬间外向钾通道的  $\alpha$ 、 $\beta$  亚基的表达水平和被修饰状况在其功能下调机制中的可能作用是我们进一步的研究目标。

虽然大鼠心肌细胞 AP 没有明显的平台期，但  $I_{Ca-L}$  形成的内向电流对 APD 也有一定的贡献， $I_{Ca-L}$  增大将延长 APD，反之则缩短 APD。目前对烧伤时  $I_{Ca-L}$  变化的报道很不一致。例如，沈洪兴等报道烧伤血清可使钙离子通道的开放活动增强<sup>[24]</sup>；而

Yatani 等<sup>[8]</sup>报道烫伤肠系膜淋巴液对  $I_{Ca-L}$  无影响。我们对烫伤 12 h 后大鼠的心肌细胞进行研究发现,  $I_{Ca-L}$  无论是电流密度还是电压依赖性的激活和失活都没有明显改变, 这与 Horton 等报道的 L-型钙通道蛋白表达水平在烧伤后 4~24 h 与正常水平无明显差异的结果一致<sup>[15]</sup>。本实验结果提示,  $I_{Ca-L}$  在烫伤心肌细胞 APD 延长中不起作用。虽然  $I_{Ca-L}$  未发生改变, 但是由于 APD 延长, AP 刺激引起  $Ca^{2+}$  通过 L-型钙通道内流的量增加。在正常心肌细胞钙内流增加引起收缩期钙瞬态增加, 增强心肌收缩力, 这也是烧伤肠系膜淋巴液引起钙瞬态和心肌收缩力增高的原因<sup>[8]</sup>。但在烧伤心肌细胞, 钙超载是心肌细胞收缩功能障碍的一个重要机制, 细胞内钙离子增高造成心肌细胞损伤, 减弱心肌收缩功能<sup>[25]</sup>。因此, 烫伤引起的 APD 延长可能通过使钙内流增加进一步加重细胞内钙紊乱, 从而促进心功能障碍的发生。

$I_{K1}$  在保持心肌细胞 RMP 中起重要作用, 它同时是 AP 复极化末期的重要钾电流。Kir2.1 是内向整流钾通道的主要  $\alpha$  亚基, 编码 Kir2.1 的基因 KCNJ2 突变引起心肌细胞 AP 复极化末期延长, 导致长 QT 综合症<sup>[26]</sup>。本实验发现,  $I_{K1}$  在不同电压下所产生的内向电流和外向电流均减小, 但以 -120~-90 mV 之间产生的内向电流减小更为明显, 较对照组有显著差异, 提示内向整流钾通道功能下调在烫伤心肌 APD 延长中起重要作用。Yatani 等<sup>[8]</sup>用烫伤肠系膜淋巴液刺激正常心肌细胞并不引起  $I_{K1}$  改变, 说明烫伤体液因子瞬时的效应并不能完全反映烫伤心肌细胞的改变。

综上所述, 严重烫伤引起大鼠心室肌细胞瞬间外向钾通道和内向整流钾通道的功能下调, 它们是导致 APD 延长的重要原因。结果提示, 靶向提高瞬间外向钾通道和内向整流钾通道的功能对于恢复烫伤所致的 APD 延长和改善烫伤心脏功能具有潜在的临床意义。

### 参考文献

- Zhao KS (赵克森), Zhu ZJ, Wu KY, Huang XL. Importance of enhancing cardiac function in the treatment of burn shock-effect of crystal NO<sub>4</sub> of polygonum cuspidatum. In: Sheng CY ed. *Advances in Burns*. International Academic Publishers, 1992; 31-38 (Chinese).
- Huang YS, Yang ZC, Yan BG, Hu XC, Li AN, Crowther RS. Improvement of early postburn cardiac function by use of Panax notoginseng and immediate total eschar excision in one operation. *Burns* 1999; 25(1): 35-41.
- Suzuki M, Aoki K, Sekine K, Aikawa N. Correlation between QT dispersion and burn severity. *Burns* 2002; 28(5): 481-485.
- White DJ, Maass DL, Sanders B, Horton JW. Cardiomyocyte intracellular calcium and cardiac dysfunction after burn trauma. *Crit Care Med* 2002; 30(1): 14-22.
- Khan IA. Long QT syndrome: diagnosis and management. *Am Heart J* 2002; 143(1): 7-14.
- Sanguinetti MC. Dysfunction of delayed rectifier potassium channels in an inherited cardiac arrhythmia. *Ann NY Acad Sci* 1999; 868: 406.
- Bru-Mercier G, Deroubaix E, Rousseau D, Coulombe A, Renaud JF. Depressed transient outward potassium current density in catecholamine depleted rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282(4): H1237-H1247.
- Yatani A, Xu DZ, Kim SJ, Vatner SF, Deitch EA. Mesenteric lymph from rats with thermal injury prolongs the action potential and increases  $Ca^{2+}$  transient in rat ventricular myocytes. *Shock* 2003; 20(5): 458-464.
- Horton JW, Garcia NM, White DJ, Keffer J. Postburn cardiac contractile function and biochemical markers of postburn cardiac injury. *J Am Coll Surg* 1995; 181(4): 289-298.
- Moore RL, Yelamarty RV, Misawa H, Scaduto RC Jr, Pawlusch DG, Elensky M, Cheung JY. Altered  $Ca^{2+}$  dynamics in single cardiac myocytes from renovascular hypertensive rats. *Am J Physiol* 1991; 260 (2 Pt 1): C327-C337.
- Wang W, Zhu W, Wang S, Yang D, Crow MT, Xiao RP, Cheng H. Sustained  $\beta$ 1-adrenergic stimulation modulates cardiac contractility by  $Ca^{2+}$ /calmodulin kinase signaling pathway. *Circ Res* 2004; 95: 798-806.
- Xu X, Yang D, Ding JH, Wang W, Chu PH, Dalton ND, Wang HY, Bermingham JR, Ye Z, Liu F, Rosenfeld MG, Manley JL, Ross J, Chen J, Xiao RP, Cheng H, Fu XD. ASF/SF2-regulated CaMKII $\delta$  alternative splicing temporally reprograms excitation-contraction coupling in cardiac muscle. *Cell* 2005; 120: 59-72.
- Liu XS, Jiang M, Zhang M, Tang D, Clemon HF, Higgins RS, Tseng GN. Electrical remodeling in canine model of ischemic cardiomyopathy. *Am J Physiol* 2007; 292: H560-H571.
- Song LS, Pi Y, Kim SJ, Yatani A, Guatimosim S, Kudej RK, Zhang Q, Cheng H, Hittinger L, Ghaleh B, Vatner DE, Lederer WJ, Vatner SF. Paradoxical cellular  $Ca^{2+}$ -signaling in severe but compensated canine left ventricular hypertrophy. *Circ Res* 2005; 97: 456-464.
- Ballard-Croft C, Carlson D, Maass DL, Horton JW. Burn trauma alters calcium transporter protein expression in the heart. *J Appl Physiol* 2004; 97(4): 1470-1476.
- Kawai K, Kawai T, Samboll JT, Xu DZ, Yuan Z, Caputo F,

- Badami C, Deitch EA, Yatani A. Cellular mechanisms of burn-related changes in contractility and its prevention by mesenteric lymph ligation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292(5): H2475-H2484.
- 17 Liu J (刘杰), Deng JX, Huang QB, Pan BX, Zhao KS. Burn rat serum suppresses transient outward potassium current ( $I_{to}$ ). *Chin J Pathophysiol (中国病理生理杂志)* 2006; 22(02): 266-269 (Chinese, English abstract).
- 18 Shibata R, Misonou H, Campomanes CR, Anderson AE, Schrader LA, Doliveira LC, Carroll KI, Sweatt JD, Rhodes KJ, Trimmer JS. A fundamental role for KChIPs in determining the molecular properties and trafficking of Kv4.2 potassium channels. *J Biol Chem* 2003; 278(38): 36445-36454.
- 19 Van Hoorick D, Raes A, Keyzers W, Mayeur E, Snyders DJ. Differential modulation of Kv4 kinetics by KChIP1 splice variants. *Mol Cell Neurosci* 2003; 24(2): 357-366.
- 20 Jiang M, Zhang M, Tang DG, Clemo HF, Liu J, Holwitt D, Kasirajan V, Pond AL, Wettwer E, Tseng GN. KCNE2 protein is expressed in ventricles of different species, and changes in its expression contribute to electrical remodeling in diseased hearts. *Circ* 2004; 109(14): 1783-1788.
- 21 Keating MT, Sanguinetti MC. Molecular and cellular mechanisms of cardiac arrhythmias. *Cell* 2001; 104(4): 569-580.
- 22 Fazal N, Al-Ghoul WM, Schmidt MJ, Choudhry MA, Sayeed MM. Lyn- and ERK-mediated vs  $Ca^{2+}$ -mediated neutrophil responses with thermal injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283(5): C1469-C1479.
- 23 Horton JW. Oxygen free radicals contribute to postburn cardiac cell membrane dysfunction. *J Surg Res* 1996; 61(1): 97-102.
- 24 Shen HX (沈洪兴), Chen YL, Liu SK, Mei YA, Huang LX, Xia ZF. The effect of burn serum on the calcium homeostasis in isolated rat myocardial cells. *Chin J Burns (中华烧伤杂志)* 2000; 16(03): 141-144 (Chinese, English abstract).
- 25 Mass DL, White J, Sanders B, Horton JW. Cardiac myocyte accumulation of calcium in burn: cause or effect of myocardial contractile dysfunction. *J Burn Care Rehabil* 2005; 26: 252-259.
- 26 Tristani-Firouzi M, Jensen JL, Donaldson MR, Sansone V, Meola G, Hahn A, Bendahhou S, Kwiecinski H, Fidzianska A, Plaster N, Fu YH, Ptacek LJ, Tawil R. Functional and clinical characterization of KCNJ2 mutations associated with LQT7 (Andersen syndrome). *J Clin Invest* 2002; 110: 381-388.