DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0430 **文章编号** 1671-8852(2025)04-0438-08

人参皂苷Rb1缺血后处理对急性缺血再灌注室性心律失常的影响及其机制探讨

杜 勤[1] 柴 红[1] 李小红[2] 黄雪渊[2] 周承智[2] 詹 娜[1,3]
[1]武汉大学人民医院护理部 湖北 武汉 430060；
[2]华中科技大学同济医学院病理生理学系 湖北 武汉 430030；
[3]石首市人民医院病理科 湖北 石首 434400

摘要 目的：探讨人参皂苷Rb1缺血后处理（Rb1-IPost）对急性缺血再灌注（I/R）室性心律失常的影响及其机制。方法：将SPF级SD雄性大鼠分为对照组（Control组，n=15）、急性缺血再灌注（I/R组，n=15）和Rb1-IPost组（Rb1-IPost组，n=15）。利用Langendorff心脏灌流系统建立大鼠离体心脏急性I/R模型，通过记录左室发展压（LVDP）和冠状动脉压，测定心脏左室发展压的恢复和再灌注痉挛度，观察心跳状态特征，评价心功能变化；记录左心室游离壁单相动作电位（MAP），观察MAP主要参数的幅度（APA）、最大上升速率（$Max_{dv/dt}$）、复极化恢复到10%、20%、50%、90%时间（APD_{10}、APD_{20}、APD_{50}、APD_{90}），以及复极化时程三角测量值（Triangulation）差异；应用短阵快速刺激，记录诱发室性心律失常的刺激周长（BCL）、发生率和持续时间；酶解法分离单个心室肌细胞，全细胞膜片钳技术记录心室肌细胞膜上L-型钙电流（$I_{Ca\text{-}L}$）大小和动力学特征改变。结果：与I/R组比较，Rb1-IPost组LVDP的恢复显著回升[(22.82±4.97)% *vs* (90.04±11.61)%]，再灌注痉挛度明显降低[(93.81±8.05) *vs* (20.08±8.47) mmHg]（均P<0.01）。I/R后心脏跳动波形变得高翘、耸起，心跳参差不齐，心律失常显著增多，但经Rb1-IPost处理后，缺血后心脏跳动逐步恢复至规则、平稳，心律失常诱发减少直至恢复正常；而且，Rb1-IPost组大鼠心脏出现明显的APA增加，$Max_{dv/dt}$增快，以及APD_{10}、APD_{20}、APD_{50}、APD_{90}和Triangulation均显著缩短（均P<0.01）；另外，缺血心脏经过Rb1-IPost作用，被诱发室性心律失常的BCL和持续时间明显缩短、诱发率显著下降（均P<0.01），Rb1-IPost组心脏能经受显著缩短的刺激周长，且仅能被诱发传导时间明显缩短的短阵局部触发电活动并很快转为正常。最后，在钳制电压下，Rb1-IPost组心室肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$在各钳制电压下均明显减少，当钳制电压为+20 mV时，其$I_{Ca\text{-}L}$电流密度由(11.06±0.51)pA/pF减小为(6.09±0.23)pA/pF（P<0.01），降低幅度超过57%。且Rb1-IPost组心室肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$的I-V曲线显著抬高，明显高出I/R组$I_{Ca\text{-}L}$的I-V曲线。结论：Rb1-IPost能显著改善I/R心脏的心功能，纠正电重构，具有抗I/R损伤及其室性心律失常作用，其电生理机制可能与Rb1-IPost明显减少心室肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$大小，防治Ca^{2+}超载，从而降低I/R室性心律失常的易感性密切相关。

关键词 人参皂苷Rb1缺血后处理；抗急性缺血再灌注室性心律失常；电重构；L-型钙电流；钙超载；心律失常易感性

中图分类号 R541.7

文献标识码 A

开放科学（资源服务）标识码（OSID）：

Effects and mechanism of Ginsenoside Rb1-ischaemia postconditioning on ventricular arrhythmias induced by acute ischemia-reperfusion in rats

DU Qin[1], CHAI Hong[1], LI Xiaohong[2], HUANG Xueyuan[2], ZHOU Chengzhi[2], ZHAN Na[1,3]
[1]Dept. of Nursing, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China;

课题来源：2024武汉大学教学科研项目（编号：2024YB23）
作者简介：杜勤，女，1976—，主管护师，主要从事冠心病和心律失常防治相关的基础与临床研究，E-mail: 2430398435@qq.com
通信作者：柴红，女，1973—，医学硕士，副主任护师，主要从事冠心病防治的基础与临床研究，Email:chaihong128@126.com；詹娜，女，1977—，医学博士，副主任医师，主要从事冠心病和心律失常防治相关的病理生理学研究，E-mail: 11093479@qq.com

[2]*Dept. of Pathophysiology, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei, China;*
[3]*Dept. of Pathology, Shishou People's Hospital, Shishou 434400, Hubei, China*

Abstract

Objective: To investigate the effects and mechanism of Ginsenoside Rb1-ischaemia postconditioning (Rb1-IPost) on ventricular arrhythmias induced by acute ischemia-reperfusion (I/R) in rat hearts *in vitro*. **Methods:** The SPF male Sprague-Dawley rats were randomly divided into the control group (Control group, n=15), acute ischemia-reperfusion group (I/R group, n=15), and Ginsenoside Rb1-ischaemia postconditioning group (Rb1-IPost group, n=15). The acute I/R heart models were setup by using the Langendorff-perfusion heart system in rats *in vitro*. To record left ventricular developed pressure (LVDP) and coronary artery pressure as well as heart heat status, the myocardiac function was evaluated by measuring recovery of LVDP and contractural magnitude of reperfusion as well as observing the characteristics of heart heat status. The main electrical parameters in 3 groups were recorded such as APA, $Max_{dv/dt}$, APD_{10}, APD_{20}, APD_{50}, APD_{90} and Triangulation from recording of monophasic action potential (MAP), as well as basic cycle lenth (BCL), incidence and duration of ventrucular arrhythmias induced by burst-pacing in left ventricualar tissue of rats *in vivo*. The L-type calcium channel ($I_{Ca\text{-}L}$) and its current-voltage curve (I-V curve) were recorded via whole-cell patch clamp technique in enzymatically dissociated single rats's ventricular myocytes. **Results:** Compared with those in I/R group, the recovery of LVDP was significantly upgraded, as (22.82±4.97)% *vs* (90.04±11.61)%, and the contractural magnitude of reperfusion was obviously reduced as (93.81±8.05) *vs* (20.08±8.47) mmHg, in rat hearts of Rb1-IPost group (all P<0.01, respectively). The heartbeat waveform becomes elevated and protruding after I/R, with irregular and uneven heartbeats and a significant increase in arrhythmias. However, after treatment with Rb1-IPost, the post-ischemic heartbeats gradually return to a regular and stable pattern, and the induction of arrhythmias is reduced until normalcy is restored. Furthermore, Rb1-IPost could significantly increase APA and $Max_{dV/dt}$, as well as shorten APD_{10}, APD_{20}, APD_{50}, APD_{90}, and Triangulation in rat hearts of Rb1-IPost group i*n vitro* (all P<0.01, respectively). Otherwise, Rb1-IPost could markedly shorten BCL and persistence time, as well as decrease the inducing rate of ventricular arrhythmias with burst-pacing in Rb1-IPost group in rat hearts *in vitro* (all P<0.01, respectively). Finally, with the voltage clamp model, Rb1-IPost in ventricular myocytes of Rb1-IPost group could significantly decrease the value of $I_{Ca\text{-}L}$ at different command potential in rats. At the +20 mV of command potential from −40 mV of voltage clamp, the current densities of $I_{Ca\text{-}L}$ were significantly decreased from (11.06±0.51) pA/pF in I/R group to (6.09±0.23) pA/pF (P<0.01), and the amplitude of reducing could amount to 57% in Rb1-IPost group in rats. Moreover, Rb1-IPost could completely elevate the I-V curve of $I_{Ca\text{-}L}$ upwards other goups without altering the I-V curve direction in ventricular myocytes of Rb1-IPost group in rats. **Conclusion:** Rb1-IPost could significantly improve the cardiac performance and rectify the electrical remodeling so that to provide the effects of anti-acute I/R ventricular arrhythmias of inducing by myocardial I/R injury in rat hearts. It was suggested that the mechanism of Rb1-IPost inhibiting acute I/R ventricular arrhythmias might attribute to that Rb1-IPost could markedly decrease influx of $I_{Ca\text{-}L}$ and provent to Ca^{2+} overload, which to contricute to diminishing the susceptibility of ventricular arrhythmia induced by acute I/R hurt.

Key Words　Ginsenoside Rb1 Ischaemia Postconditioning; Anti-Acute Ischemia-Reperfusion

Ventricular Arrhythmias; Electrical Remodeling; L-Type Calcium Current; Calcium Overload; Susceptibility of Arrhythmias

急性心肌梗死是导致心脏病患者死亡率居高不下的主要病症之一。目前,临床上常采用急性床边冠状动脉内溶栓和介入导管搭桥等再灌注治疗方法。这些方法虽能及时恢复心肌梗死区域的血液供应,挽救存活心肌,但也可能引发一系列问题。例如,心肌收缩和舒张功能可能显著下降,室性心律失常的发生风险增加,进而导致心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischaemia-reperfusion injury, MIRI)。其中,MIRI是急性心肌梗死患者再灌注后出现心力衰竭及死亡的直接诱因之一[1]。当缺血心室肌经历缺血再灌注(ischaemia-reperfusion, I/R)后,原有的病理生理状态被重建,心室肌细胞发生显著的结构重构和电重构。其中,电重构表现为心室肌细胞动作电位的主要钙离子(Ca^{2+})通过L型钙通道((L-type calcium channel, $I_{Ca\text{-}L}$)进出细胞的电流密度和动力学特征发生改变。这种改变加剧了心肌缺血再灌注损伤(MIRI),并显著增加了室性心律失常的发生风险[2]。为防治其发生,药物后处理通过激活机体内源性物质引发应激性反应,高效起到抗MIRI及其诱发室性心律失常[3]。药物后处理以可控性、操作性强,能够减少因缺血后处理带来的微血栓并发症,成为治疗急性MIRI及其诱发室性心律失常的新手段[4]。

人参皂苷Rb1(Ginsenoside Rb1, Rb1)是一种被临床上常用来治疗冠心病和急性心肌梗死患者的药物,具有增强心肌细胞耐缺氧能力和抗化学性损伤,调控心肌细胞胞质中Ca^{2+}水平,起到显著改善患者心功能和降低心力衰竭死亡率[5]。此外,人参皂苷Rb1还能保护存活心肌组织,减少急性心肌梗死面积,起到抗急性MIRI作用[6]。但把Rb1作为缺血后处理(Rb1-ischaemia postconditioning, Rb1-IPost)用于防治MIRI及其诱发室性心律失常鲜有报道,尤其有关抗急性MIRI诱发室性心律失常的电生理特征及其作用机制仍需进一步阐明。本文为此进行了探讨,旨在为临床应用Rb1防治急性MIRI诱发的室性心律失常提供理论基础和实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 本实验选取SPF级SD雄性大鼠45只,购于北京生物制品实验动物中心,鼠龄6周,体质量200~300 g,购回后饲养于武汉大学人民医院SPF级动验动物中心,且随机分为对照组(Control组)、急性缺血再灌注组(I/R组)、人参皂苷Rb1缺血后处理组(Rb1-IPost组),每组15只,适应性饲养2周后开始实验。

1.2 主要试剂和溶液 试剂:Ⅰ型胶原酶、蛋白酶E、小牛血清白蛋白(BSA)、HEPES、氯化胆碱、EGTA、咖啡因、Na_2ATP、CsCl、CsOH均购自Sigma公司,其他化学试剂为国产分析纯。溶液:正常Tyrode液成分/mmol·L^{-1}:NaCl 135.0, KCl 5.4, $CaCl_2$ 1.8, $MgCl_2$ 1.0, NaH_2PO_4 0.3, HEPES 10.0, Glucose 10.0,用NaOH调至pH7.4;无Ca^{2+}和0.2 mmol·L^{-1} Ca^{2+}的Tyrode液分别为Tyrode液中无$CaCl_2$或仅加0.2 mmol·L^{-1} $CaCl_2$。记录$I_{Ca\text{-}L}$电极外液成分(mmol·L^{-1}):氯化胆碱140.0, CsCl 5.0, Glucose 5.0, HEPS 5.0, $MgCl_2$ 0.5, $CaCl_2$ 1.8, pH用CsOH调至7.4。记录$I_{Ca\text{-}L}$电极内液成分/mmol·L^{-1}:CsCl 10.0, EGTA 10.0, HEPES 10.0, $MgCl_2$ 5.0, Na_2ATP 4.0, pH用CsOH调至7.2。实验用的Rb1购于中国食品药品检定研究院,为国家药品标准物质。实验前把Rb1溶于加热的Tyrode液中,实验终浓度为15 μmol·L^{-1}。

1.3 主要仪器和数据分析系统 仪器:Langendorff灌流装置(Power Lab/4sp,埃德公司,澳大利亚)、刺激器(Grass S88,美国)、蠕动泵(miniplus 3, Gilson公司,法国)、接触式双极铂金微电极(WPI公司,美国)、倒置显微镜(IX70-122, Olympus公司,日本)、膜片钳放大器(EPC-9, HEKA公司,德国);分析系统:16导电生理数据记录和分析模块(LabChart Pro V7,埃德公司,澳大利亚)、膜片钳系统自带Pulse+Pulsefit软件(version8.31, HEKA公司,德国)、Igor Pro分析软件(version 3.31,美国)、Origin统计软件(Microcal 6.0,美国)。

1.4 方法

1.4.1 急性I/R模型建立及各组处理方法 SD雄性大鼠经腹腔注射肝素钠(500 IU·kg^{-1})5 min抗凝,苯巴比妥钠(500 mg·kg^{-1})麻醉后迅速开胸、剪取心脏置于冰冻100% O_2饱和的生理盐水中,洗净残血,插入主动脉套管,上Langendorff灌流装置,以正常Tyrode液经主动脉逆行灌流心脏,灌流速度为12~15 mL·min^{-1},液体以100%O_2饱和,温度为

37 ℃。当心脏被灌流后,破坏窦房结,经刺激器对心脏起搏,频率为 5 Hz。然后,剪去左心房,插入自制球囊于左心室腔,向球囊注入 5 mL 水扩张球囊,通过与球囊连接的压力换能器,经相连的各压力、流量、温度等桥式放大器把监测到的信号经数模转换变成图形,储存到计算机。监测心脏冠状动脉流量达到 10～18 mL•min^{-1},左室发展压(left ventricular developed pressure, LVDP)达到 90～120 mmHg 后被认为是正常的跳动,适合进行下一步实验。I/R 模型组建:先使用蠕动泵向心脏泵入正常 Tyrode 液 30 min,然后停止灌流心脏 30 min,但依然保持对心脏进行 5 Hz 起搏,并通过控温系统和实验台的隔热罩给心脏所处环境进行加热并保持在 37 ℃,该过程完成后,停止给环境加热,启动蠕动泵再用正常 Tyrode 液给心脏再灌注 30 min,完成 I/R 过程。Control 组:是直接用正常 Tyrode 液灌流 90 min,中间不作缺血处理,其他条件同 I/R 组。Rb1-IPost 组建:在心脏缺血 30 min 之后,先用含 Rb1(15 μmol•L^{-1})的正常 Tyrode 液再灌注 10 min,再改换正常 Tyrode 液再灌注 20 min 完成 Rb1-IPost 过程。各组心功能数据的采集是通过系统自带记录和分析模块完成,保存于计算机供分析统计。心功能变化是以 LVDP 的恢复(recovery of LVDP)和再灌注痉挛度(contractural magnitude of reperfusion)评价,同时观察心脏收缩舒张,以及跳动状态特征。具体计算方法:LVDP 的恢复是以再灌注 30 min 的平均 LVDP 占缺血前的 LVDP 的百分比(%);再灌注痉挛度是指再灌注过程中最大左室舒张压与缺血期末左室舒张压的差值(mmHg)。各组大鼠心脏完成心功能数据采集后,均继续进行随后各部分实验数据记录过程。

1.4.2　左心室单相动作电位(monophasic action potential, MAP)及其心律失常诱发　用接触式双极铂金微电极记录自律心率下左心室前壁靠近心尖部 MAP,记录心电信号经 MAP 膜电位放大器放大,后经数模转换器转换和滤波(0.3 Hz～1 kHz),形成动作电位,保存到计算机,后用分析软件测量、分析和统计。获取 MAP 主要参数:静息膜电位(RMP)、动作电位幅度(APA)、动作电位最大上升速率($Max_{dv/dt}$)、动作电位复极化恢复 10%、20%、50%、90% 时间(APD_{10}、APD_{20}、APD_{50}、APD_{90}),动作电位复极化时程三角测量值(Triangulation=$APD_{90}-APD_{40}$)。室性心律失常诱发采用短阵快速起搏法(Burst-pacing),刺激波宽 2 ms,刺激周长(basic cycle lengths, BCL)从 200 ms 到 20 ms,每次持续时间 10 s,观察各组被诱发室性心律失常情况,包括室性早搏、室性心动过速或心室颤动,以及观察室性心律失常形态变化和持续时间长短的电生理特征,数据存于计算机,后用分析软件测量和分析诱发室性心律失常的 BCL、室性心律失常诱发率和持续时间。

1.4.3　心室肌细胞的分离　当各组大鼠心脏完成上述心功能和电生理数据采集后,用无 Ca^{2+} Tyrode 液灌流心脏 10 min,再改用含Ⅰ型胶原酶(0.33 mmol•L^{-1})、蛋白酶 E(0.25 mmol•L^{-1})和小牛血清白蛋白(BSA,0.25 g•L^{-1})无 Ca^{2+} Tyrode 液循环灌流心脏 15 min,最后改换无 Ca^{2+} Tyrode 液灌流心脏 5 min。取下心脏去除心房肌、乳头肌和浦肯野纤维等组织,留取心室肌置于含 0.2 mmol•L^{-1} Ca^{2+} Tyrode 液烧杯中剪碎、振荡,孵育 5 min 后,反复 3 次后留取上液,以 500 r•min^{-1} 低速离心 10 min,弃上清液,用含 0.25 mg•mL^{-1} BSA 和 200 μmol•mL^{-1} 氨苄青霉素 Tyrode 液稀释,得到含单个心室肌细胞悬液,静置 1 h 后进行膜片钳实验。

1.4.4　记录心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 及其电流-电压(I-V)曲线　分别将各组分离细胞悬液加入到倒置显微镜载物台上细胞记录槽中,等细胞静置沉底贴壁,用记录 $I_{Ca\text{-}L}$ 细胞外液循环灌流 10 min,然后进行全细胞膜片钳实验。指令电压和电流信号由 Pulse+Pulsefit 软件发放和采集,中间经膜片钳放大器放大,通过 Ag-AgCl 电极丝和填充记录 $I_{Ca\text{-}L}$ 电极内液的玻璃微电极(电阻为 2.5～3.5 MΩ)导入细胞,玻璃微电极与细胞封接直到电阻达 1 GΩ 以上,补偿快电容,施加负压吸破细胞膜并作慢电容和漏电容补偿,形成膜片钳记录模式。记录 $I_{Ca\text{-}L}$ 的过程是在细胞外液中加入 50 μmol•L^{-1} TTX 阻断 I_{Na},电极内液中加入 EGTA 和外液中加入 $BaCl_2$(100 μmol•L^{-1})阻断 I_{K1}。加入 EGTA 和 Na_2ATP 可防止在长时间记录 $I_{Ca,L}$ 过程中出现衰减(Run-down)现象。在电压钳制方式下,钳制电位 −40 mV,指令电位由 −40 mV 去极化到 +60 mV,跃阶 10 mV。持续时间 200 ms,记录到一缓慢的内向电流,该电流在 −30 mV 开始缓慢激活,并随钳制电压增加,逐渐增大,在 +20 mV 左右达到最大,之后随着钳制电压增加开始减小,此电流能被 20 μmol•L^{-1} 的钙通道阻滞剂维拉帕米阻断,表明此电流为 $I_{Ca\text{-}L}$。各组记录 $I_{Ca\text{-}L}$ 数据经 Pulse 软件采集并存储于计算机,后用 Igor Pro 软件对实验数据进行拟合分析。为消除每个细

胞大小对统计结果造成误差,电流大小用电流密度(pA/pF)表示。$I_{Ca\text{-}L}$的I-V曲线绘制是以各自指令电位为横坐标,相对应的电流密度为纵坐标完成。

1.5 统计学处理 计量数据符合正态分布和方差齐性以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组数据比较用单因素方差分析(One-way ANOVA),两两比较采用t检验;计数资料以率/百分比表示,两组间率的比较采用χ^2检验;采用Origin统计软件对各组数据进行分析,以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Rb1-IPost对急性I/R心功能及其心跳变化的影响 与I/R组比较,Rb1-IPost组LVDP的恢复显著回升[(22.82±4.97)% *vs* (90.04±11.61)%],再灌注痉挛度明显降低[(93.81±8.05) mmHg *vs* (20.08±8.47) mmHg](均$P<0.01$, $n=10$ hearts),分别接近Control组心脏LVDP的恢复和再灌注痉挛度值[二者分别为(98.25±8.31)%和(14.85±3.76) mmHg](均$P>0.05$, $n=10$ hearts)。另外,心脏经正常Tyrode液灌流,其跳动和顺应性规则、均匀,少有心律失常诱发;但I/R后,反映心脏跳动波形变得高翘、耸起,心跳参差不齐,心律失常显著增多;后经Rb1-IPost作用,缺血后心脏跳动逐步恢复至规则、平稳,心律失常诱发逐步变少,甚至消失,跳动传导恢复正常(图1)。

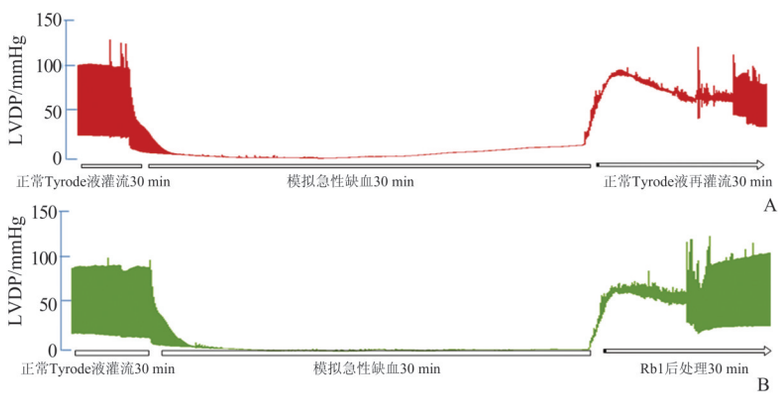


图1 Rb1-IPost对急性I/R心功能及其心跳变化影响

A. I/R组;B. Rb1-IPost组

2.2 Rb1-IPost对急性I/R的MAP主要参数的影响 与I/R组比较,Rb1-IPost组大鼠心脏出现APA增加,$Max_{dv/dt}$增快,APD_{10}、APD_{20}、APD_{50}、APD_{90}和Triangulation均缩短,差异有统计学意义(均$P<0.01$, $n=10$ herts);且与Control组比较,上述各观察值稍有差距,但差异无统计学意义(均$P>0.05$)。另外,各组RMP变化不显著,差异均无统计学意义(均$P>0.05$)(表1)。

表1 Rb1-IPost对急性I/R的MAP主要参数影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	RMP /mV	APA /mV	$Max_{dv/dt}$ /mV•s^{-1}	APD_{10} /ms	APD_{20} /ms	APD_{50} /ms	APD_{90} /ms	Triangulation /ms
Control组	−22.16±4.08	39.32±8.04	4 981.97±315.29	54.63±12.48	89.16±20.74	111.93±22.57	142.23±25.79	37.57±11.65
I/R组	−18.81±2.97	25.01±5.49	3 569.16±236.76	87.19±15.28	119.63±25.57	159.36±27.93	198.04±29.23	55.09±13.37
Rb1-IPost组	−20.09±5.67	36.63±7.47$^{*\#}$	4 709.46±289.26$^{*\#}$	60.54±13.71$^{*\#}$	106.35±23.72$^{*\#}$	125.57±25.69$^{*\#}$	160.06±27.74$^{*\#}$	41.47±10.54$^{*\#}$

与I/R组比较,$^{*}P<0.01$;与Control组比较,$^{\#}P>0.05$

2.3 Rb1-IPost对急性I/R诱发室性心律失常的影响 与I/R组比较,Rb1-IPost组出现诱发室性心律失常的BCL明显缩短、呈诱发率和持续时间下降和缩短趋势(均$P<0.01$, $n=10$ herts),且与Control组比较,上述大部分观察值接近正常值范围(均$P>0.05$)。记录典型图形发现,急性I/R心脏即使经受低频率刺激,亦能显著诱发持续传导时间长的成串触发电活动,但经Rb1-IPost作用的急性I/R心脏,虽遭受高频率刺激,仅能诱发传导时间明显变短的短阵局部触发电活动,且很快转为正常传导的MAP(表2,图2)。

表 2　Rb1-IPost 对急性 I/R 诱发室性心律失常影响（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	诱发心律失常的 BCL/ms	心律失常诱发率/%	不同心律失常持续时间的分布/例			
			无反应	＜10 s	10～30 s	＞30 s
Control 组	45.68±9.35	20	8	2	0	0
I/R 组	170.27±17.43	90	1	4	3	2
Rb1-IPost 组	65.49±12.05*#	40*#	6*#	2*#	2	0*#

与 I/R 组比较，*$P<0.01$；与 Control 组比较，#$P>0.05$

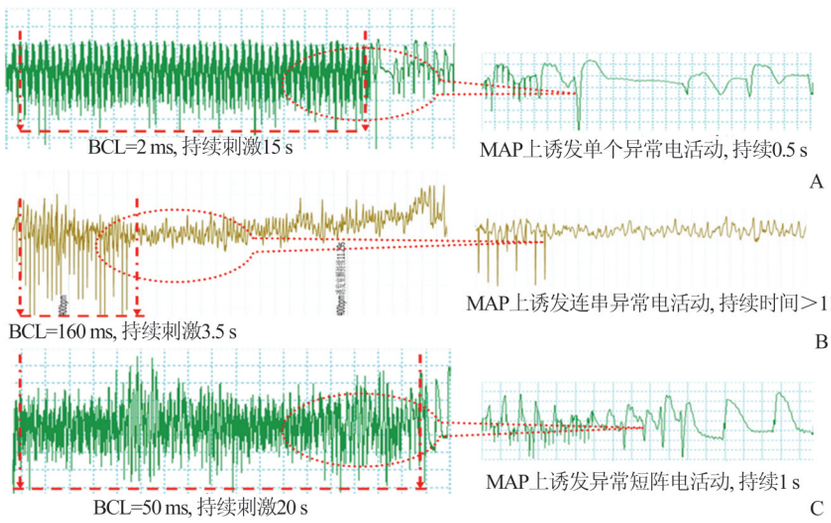


图 2　Rb1-IPost 对急性 I/R 诱发室性心律失常影响

A. Control 组；B. I/R 组；C. Rb1-IPost 组

2.4　Rb1-IPost 对急性 I/R 心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 及其 I-V 曲线影响　与 I/R 组比较，Rb1-IPost 组心室肌细胞在钳制电位为－30 mV 至＋60 mV 时，各引出的 $I_{Ca\text{-}L}$ 电流密度均明显减少（均 $P<0.05$ 或 0.01，$n=10$ cells），当钳制电压为＋20 mV 时，其 $I_{Ca\text{-}L}$ 电流密度由（11.06±0.51）pA/pF 减小为（6.09±0.23）pA/pF（$P<0.01$，$n=10$ cells），降低幅度超过 57%，甚至略小于 Control 组心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 电流密度［（7.15±0.33）pA/pF］（$P>0.05$，$n=10$ cells），且三组心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 最大电流密度在＋20 mV 附近。另外，比较三组心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 的 I-V 曲线，Rb1-IPost 组心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 的 I-V 曲线显著抬高，处于最上部，明显高出 I/R 组 $I_{Ca\text{-}L}$ 的 I-V 曲线，甚至稍高出 Control 组，而 I/R 组心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 的 I-V 曲线处于最底部。当然，三组心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 的 I-V 曲线形态没有发生明显改变和偏移，提示记录条件的稳定性和可靠性（图 3）。

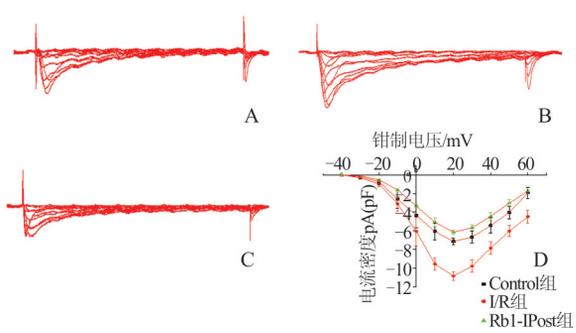


图 3　Rb1-IPost 对急性 I/R 心室肌细胞 $I_{Ca\text{-}L}$ 及其 I-V 曲线影响

A. Control 组；B. I/R 组；C. Rb1-IPost 组；D. 三组 $I_{Ca\text{-}L}$ 的 I-V 曲线

3　讨论

临床上对急性心肌梗死患者实施紧急再灌注治疗术，可使冠心病患者死亡率减少一半，但由此亦容易引起患者出现严重心功能下降，室性心律失常频发以及电风暴（arrhythmic storms）突起的 MIRI，这是急性心肌梗死患者接受再灌注治疗过程中死亡的主要病因。而为了防治 MIRI 及其诱发室性心律失常，药物后处理是在缺血预处理和后处理基础上延伸和发展出一种有效抗 I/R 室性心律失常新措施而被积极利用推广[7]。人参是我国传统医食两用的养生珍品，善入肺、脾、心经，具有大补元气，安神益智，补脾生津之功，备受历代医家推崇。其中有效皂苷类物质是防治心血管系统疾病的主要活性成分，诸如人参皂苷 Rh2 具有抑制血管平滑肌细胞增殖以及由分化型向合成型转化[8]；Rb1 具有

降低肾素血管紧张素水平、改善因心力衰竭诱发心律失常、防治冠状动脉血栓形成、抵抗MIRI和急性心肌梗死造成的左心室重构等功效[9]。而在本实验中作为药物后处理作用急性I/R心脏,则显示Rb1-IPost能够使I/R过程中的左室发展压恢复得到显著回升,心脏收缩舒张的痉挛度明显降低,缺血过程中出现的心律不齐状态恢复至规则平稳、诱发的心律失常显著减少直至正常。这说明Rb1-IPost能够明显改善心脏在急性I/R中发生的心功能受损程度,保护心肌梗死周围心肌细胞因缺血受到连带损伤,恢复心脏收缩和舒张的顺应性,而这可能与Rb1-IPost改善血流动力学,升高左室内压和±dp/dtmax,降低左室舒张末期压力,增强心肌收缩和舒张能力,及时有效清除自由基,防止心肌细胞过氧化损伤所造成左心室细胞以及血管内皮细胞凋亡密切相关。同时,Rb1-IPost更能减少心脏跳动紊乱节律,纠正因缺血引起的心室肌电活动紊乱,起到抗心肌MIRI,改善I/R心功能和心肌电重构功效[10]。

人参皂苷Rb1能够提高急性心肌梗死后心功能,改善I/R后心室肌细胞电重构[11]。而本实验把人参皂苷Rb1作为药物后处理,观察到Rb1-IPost能够使I/R心室肌细胞动作电位时程明显缩短,幅度增加,传导速度增快反映出急性I/R心脏经过Rb1-IPost干预后,其动作电位的电生理特性更趋稳定,传导更趋规则,心肌细胞异常电重构得到明显修正,也促使心脏泵血变得有序增快,做功能力增强[12]。在此基础上,经Rb1-IPost治疗,急性I/R心脏被诱发室性心律失常诱发率显著降低,刺激周期和心律失常持续时间均明显缩短,说明Rb1-IPost能够改善急性I/R心脏容易诱发室性心律失常,承受快速刺激的耐受力更强。提示Rb1-IPost能显著延长I/R心脏被诱发室性心律失常窗口开放时间,使室性心律失常的易损窗口推迟打开,从而降低急性I/R心室发生触发电活动的易感性,同时也改善了诱发室性心律失常的易损性[13],使缺血后心脏收缩和舒张功能恢复到正常状态,心电活动紊乱得到了纠正,原有因I/R引起的心室肌电重构的异常电生理特征发生逆转,使得动作电位传导加快,且更趋稳定和规整,抑制了引起触发性室性心律失常发生的早期或晚期后除极,避免了提供折返性室性心律失常形成慢径条件,起到抗急性I/R室性心律失常作用[14]。

$I_{Ca\text{-}L}$是形成心室肌细胞动作电位主要离子通道,它的大小和动力学特征改变,不仅影响着心脏的收缩和舒张功能,亦可影响着心脏在不同病理生理状况下出现动作电位形态和传导速率改变以及室性心律失常诱发。受其主导,调控细胞外Ca^{2+}通过心室肌细胞膜上$I_{Ca\text{-}L}$进入细胞内达到稳态与平衡已成为心肌细胞功能代谢和防治心律失常发生的重要内环境条件和电生理机制[15]。人参皂苷Rb1能够调控心室肌细胞胞质、肌浆网及线粒体中的Ca^{2+}交换与平衡,增强心肌收缩与舒张功能。此外,人参皂苷Rb1在保护心肌免受缺血再灌注损伤(MIRI)方面也表现出显著作用。除了抑制心肌细胞的氧化应激和凋亡外,其另一关键机制在于降低心肌细胞内钙离子浓度,下调钙离子通道相关基因表达,抑制L型钙电流($I_{Ca\text{-}L}$),从而稳定心肌细胞膜电位,减少钙超载对心肌的损伤[16]。而本实验结果显示,Rb1-IPost能使I/R心室肌细胞的$I_{Ca\text{-}L}$明显减少,Ⅰ-Ⅴ曲线显著上抬,说明Rb1-IPost具有显著减少心肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$大小,减慢$I_{Ca\text{-}L}$开放速度作用。按照Rb1抗MIRI有效最佳作用剂量[17],Rb1-IPost对I/R心室肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$大小抑制作用和动力学特征改变,还稍微小于正常心室肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$电流密度,由其形成$I_{Ca\text{-}L}$的I-V曲线略微抬高正常心室肌细胞形成的$I_{Ca\text{-}L}$的I-V曲线,说明Rb1-IPost对I/R心肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$的抑制作用非常有效。提示Rb1-IPost能抑制心肌细胞膜上$I_{Ca\text{-}L}$过度开放,维持心室肌细胞内Ca^{2+}稳态平衡,防治I/R过程中心室肌细胞外过多的Ca^{2+}经$I_{Ca\text{-}L}$进入胞质,引起心室肌细胞内Ca^{2+}交换不平衡,造成Ca^{2+}超载,诱发触发性室性心律失常[2]。所以,本实验发现Rb1-IPost能显著增加心室收缩舒张功能、改善心室肌细胞电重构以及抑制诱发室性心律失常的易感性,可能与Rb1-IPost减小心室肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$大小,改善动力学特征有关,Rb1-IPost对缺血心室肌细胞$I_{Ca\text{-}L}$抑制可能成为其抗急性I/R室性心律失常的电生理机制之一[18]。当然,人参皂苷Rb1抗心律失常作用,维持窦性节律,可能是通过多个靶点发生作用,包括对心室肌细胞的钠电流和钾电流等多种离子通道产生作用,这将成为后续研究内容。总之,Rb1-IPost的合理应用可为临床防治急性I/R损伤及其室性心律失常发生提供新的视角和和认识观念,通过本实验探讨亦能为临床有效开发人参皂苷治疗急性心肌梗死病症的前景提供实验依据和理论基础。

参 考 文 献

[1] ALGOET M, JANSSENS S, HIMMELREICH U, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury and the influence of inflammation[J]. Trends Cardiovasc Med, 2023, 33(6): 357-366.

[2] VALVERDE C A, MAZZOCCHI G, DI CARLO M N, et al. Ablation of phospholamban rescues reperfusion arrhythmias but exacerbates myocardium infarction in hearts with Ca^{2+}/calmodulin kinase Ⅱ constitutive phosphorylation of ryanodine receptors[J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(3): 556-569.

[3] DIEZ E R, SÁNCHEZ J A, PRADO N J, et al. Ischemic postconditioning reduces reperfusion arrhythmias by adenosine receptors and protein kinase C activation but is independent of K(ATP) channels or connexin 43 [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(23): 5927.

[4] WU Y S, LIU H Q, WANG X B. Cardioprotection of pharmacological postconditioning on myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Life Sci, 2021, 264: 118628.

[5] WANG S H, CUI Y M, XIONG M Q, et al. Dual activity of ginsenoside Rb1 in hypertrophic cardiomyocytes and activated macrophages: Implications for the therapeutic intervention of cardiac hypertrophy[J]. J Inflamm Res, 2021, 14: 1789-1806.

[6] 孔宏亮,赵雨婷,蒋玉昆 . 人参皂甙Rb1对心力衰竭大鼠心肌细胞钙调控的影响[J]. 岭南心血管病杂志, 2021,27(3):356-360.
KONG H L, ZHAO Y T, JIANG Y K. Effects of ginsenosides Rb1 on calcium regulation in cardiomyocytes from heart failure rat[J]. South China Journal of Cardiovascular Diseases, 2021,27(3):356-360.

[7] FERDINANDY P, ANDREADOU I, BAXTER G F, et al. Interaction of cardiovascular nonmodifiable risk factors, comorbidities and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by pharmacological treatments and ischemic conditioning[J]. Pharmacol Rev, 2023, 75(1): 159-216.

[8] 朱中生, 王相智, 李锦玉, 等 . 人参皂甙Rh2对大鼠主动脉STAT3、PCNA及SM22α表达的影响[J]. 武汉大学学报(医学版), 2019, 40(2): 218-221.
ZHU Z S, WANG X Z, LI J Y, et al. Effect of ginsenoside Rh2 on STAT3, PCNA, and SM22 alpha expression in rat aorta[J]. Med J Wuhan Univ, 2019, 40(2): 218-221.

[9] DAI S N, HOU A J, ZHAO S M, et al. Ginsenoside Rb1 ameliorates autophagy of hypoxia cardiomyocytes from neonatal rats *via* AMP-activated protein kinase pathway[J]. Chin J Integr Med, 2019, 25(7): 521-528.

[10] KRYLATOV A V, TSIBULNIKOV S Y, Mukhomedzyanov AV, et al. The role of natriuretic peptides in the regulation of cardiac tolerance to ischemia/reperfusion and postinfarction heart remodeling[J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2021, 26(2): 131-148.

[11] 张子龙, 黄樱硕, 刘梅林 . 人参皂甙Rb1、Re、Rg1及延胡索乙素治疗冠心病作用机制研究进展[J]. 临床军医杂志, 2020, 48(6): 743-745.
ZHANG Z L, HUANG Y S, LIU M L. Research progress on mechanism of ginsenoside Rb1, Re, Rg1 and tetrahydropalmatine in treating coronary heart disease[J]. Clin J Med Off, 2020, 48(6): 743-745.

[12] TOSAKI A. Arrhythmo geno pharmaco therapy[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 616.

[13] WANG T, HUANG Y, WANG Z M, et al. Consequences and mechanisms of left atrium remodeling in aging rabbits[J]. Bull Exp Biol Med, 2022, 174(2): 283-289.

[14] DERKACHEV I A, POPOV S V, MASLOV L N, et al. Angiotensin 1-7 increases cardiac tolerance to ischemia/reperfusion and mitigates adverse remodeling of the heart-The signaling mechanism[J]. Fundam Clin Pharmacol, 2024, 38(3): 489-501.

[15] FEDERICO M, VALVERDE C A, MATTIAZZI A, et al. Unbalance between sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} uptake and release: A first step toward Ca^{2+} triggered arrhythmias and cardiac damage[J]. Front Physiol, 2019, 10: 1630.

[16] LIN Z, XIE R F, ZHONG C H, et al. Recent progress (2015-2020) in the investigation of the pharmacological effects and mechanisms of ginsenoside Rb(1), a main active ingredient in *Panax ginseng* Meyer[J]. J Ginseng Res, 2022, 46(1): 39-53.

[17] 李冀, 郭钟秀, 徐佳悦, 等 . 中药干预心肌缺血再灌注损伤量效关系研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(10): 8-11.
LI J, GUO Z X, XU J Y, et al. Research progress on dose-effect relationship of traditional Chinese medicine intervention on myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2022, 40(10): 8-11.

[18] DELGADO-BETANCOURT V, CHINDA K, MESIRCA P, et al. Heart rate reduction after genetic ablation of L-type $Ca(v)_{1.3}$ channels induces cardioprotection against ischemia-reperfusion injury[J]. Front Cardiovasc Med, 2023, 10: 1134503.

(2024-06-04 收稿)
编辑　沈建国