

· 基础研究 ·

大蒜素对大鼠心力衰竭模型心室肌细胞迟后除极和触发活动的作用

汪晶晶, 王蔚然, 董颖, 李彬, 李洁, 白婧, 刘传斌, 林琨, 陈韵岱, 李泱*

(解放军总医院第一医学中心心血管内科, 北京 100853)

【摘要】目的 观察大蒜素对大鼠心力衰竭模型细胞迟后除极(DAD)、触发活动(TA)和离子流的作用及机制。**方法** 选取20只SD大鼠利用腹主动脉结扎法制备大鼠心力衰竭模型(模型组),另选取10只SD大鼠制作假手术组作为对照。采用酶解法急性分离2组大鼠心室肌细胞。根据实验设计对模型组是否给以大蒜素干预分为心力衰竭组(未给药)及给药组(200.0 μmol/L大蒜素)。膜片钳技术观察心力衰竭组、给药组及对照组细胞DAD和TA的发生,并记录相关离子流(I_{ti} , $I_{\text{Ca,L}}$, I_{NCX})的改变,以Flou-4AM荧光技术检测细胞内钙离子浓度变化。采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。组间比较采用ANOVA分析及SNK-*q*检验。**结果** (1)对照组、心力衰竭组及给药组细胞上DAD和TA发生率依次为[13.3%(2/15), 0.0%(0/15)], [60.0%(9/15), 26.7%(4/15)]和[40.0%(6/15), 13.3%(2/15)]。与对照组比较,心力衰竭组细胞DAD和TA发生率显著增加;与心力衰竭组比较,给药组细胞上DAD和TA发生率显著下降,下降幅度分别为20.0%和13.4%,差异均有统计学意义($n=15, P<0.01$)。(2)与对照组比较,心力衰竭组心室肌细胞上 $I_{\text{Ca,L}}$ 、 I_{ti} 和 I_{NCX} 电流密度均增加,而与心力衰竭组比较,给药组上述电流均减少,其中 I_{ti} 内向峰电流密度从(-1.05±0.06) pA/pF降至(-0.53±0.05) pA/pF($n=10, P<0.01$), I_{NCX} 内向电流密度从(-5.8±0.7) pA/pF降至(-4.2±0.4) pA/pF($n=10, P<0.01$)。同时,给药组通过大蒜素加速通道电流的稳态失活过程,降低 $I_{\text{Ca,L}}$ 、 $I_{\text{Ca,L}}$ 的峰电流密度由(-17.2±0.9) pA/pF降为(-13.5±1.0) pA/pF($n=15, P<0.01$)。(3)与对照组比较,心力衰竭组细胞静息态钙浓度、钙瞬变幅度和胞内钙最高50%的时间等参数显著升高;与心力衰竭组比较,上述参数在给药组细胞中均显著降低($n=15, P<0.01$)。心力衰竭组细胞内钙瞬变衰减速率与对照组比较显著下降,而应用大蒜素后,得到显著恢复($P<0.05$)。**结论** 大蒜素可能通过减少心力衰竭大鼠心室肌细胞内的钙离子,阻滞 I_{ti} 和 I_{NCX} 电流,从而降低心力衰竭后DAD和TA的发生。

【关键词】 大蒜素;心力衰竭;迟后除极;触发活动;离子流**【中图分类号】** R541**【文献标志码】** A**【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2019.05.075**Effect of allicin on delayed afterdepolarization and triggered activity in ventricular myocytes of rats with heart failure**

WANG Jing-Jing, WANG Wei-Ran, DONG Ying, LI Bin, LI Jie, BAI Jing, LIU Chuan-Bin, LIN Kun, CHEN Yun-Dai, LI Yang*

(Department of Cardiology, First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of allicin (All) on the delayed afterdepolarization (DAD), triggered activity (TA) and ion currents in the ventricular myocytes of rats with heart failure and the related mechanism. **Methods** Heart failure models were established in 20 SD rats by abdominal aortic ligation, and sham operation was performed in 10 SD rats as control. Enzymic digestion was used to isolate ventricular myocytes in the 2 groups. According to the experimental design, the model cells were divided into heart failure group (without administration, HF) and administration group (200.0 μmol/L All, HF + All). Patch clamp technique was used to observe the occurrence of DAD and TA and to record the associated changes of ion currents [the transient inward current (I_{ti}), L-type calcium current ($I_{\text{Ca,L}}$) and sodium-calcium exchanger current (I_{NCX})] in the 3 groups. Flou-4AM fluorescence technique was used to detect the changes of intracellular calcium concentration. SPSS statistics 17.0 was used for statistical analysis. ANOVA and SNK-*q* test were used for comparison among groups. **Results** (1) The incidences of DAD and TA in the control group, HF group and HF + All group were [13.3%(2/15), 0.0%(0/15)], [60.0%(9/15), 26.7%(4/15)] and [40.0%(6/15), 13.3%(2/15)] respectively. Compared with the control group, the incidences of DAD and TA in the HF group increased significantly. Compared with the HF group, the incidences of DAD and TA in the HF+All group decreased significantly by 20.0% and 13.4% respectively ($n=15, P<0.01$). (2) Compared with control group, I_{ti} , I_{NCX} and $I_{\text{Ca,L}}$ density increased in the HF group, but compared with

收稿日期: 2019-01-09; 接受日期: 2019-03-05

基金项目: 国家自然科学基金(N81870249)

通信作者: 李泱, E-mail: liyangbsh@163.com

HF group, they decreased in the HF+All group, in which $I_{\text{Ca,L}}$ peak inward current density decreased from $(-1.05 \pm 0.06) \text{ pA/pF}$ to $(-0.53 \pm 0.05) \text{ pA/pF}$ ($n=10, P<0.01$) and I_{NCX} inward current density from $(-5.8 \pm 0.7) \text{ pA/pF}$ to $(-4.2 \pm 0.4) \text{ pA/pF}$ ($n=10, P<0.01$). At the same time, All accelerated the steady-state inactivation of channel currents and decreased the peak current density of $I_{\text{Ca,L}}$ from $(-17.2 \pm 0.9) \text{ pA/pF}$ to $(-13.5 \pm 1.0) \text{ pA/pF}$ ($n=15, P<0.01$). (3) Compared with the control group, the resting calcium concentration, transient calcium amplitude and time for intracellular calcium concentrations to reach 50% of maximum value in the HF group were significantly higher, but those parameters were significantly lower in the HF + All group than in the HF group ($n=15, P<0.01$). The intracellular calcium transient attenuation rate in the HF group was significantly lower than that in the control group, but it recovered significantly after the application of All ($P<0.05$). **Conclusion** All may reduce the occurrence of DAD and TA by reducing intracellular calcium and blocking $I_{\text{Ca,L}}$ and I_{NCX} currents in ventricular myocytes of rats with heart failure.

【Key words】 allicin; heart failure; delayed afterdepolarization; triggered activity; ion currents

This work was supported by National Natural Science Foundation of China(N81870249).

Corresponding author: LI Yang, E-mail: liyangbsh@163.com

心源性猝死(sudden cardiac death, SCD)最常见原因是恶性室性心律失常,其与慢性心力衰竭有非常紧密的关系。Framingham 研究显示,心力衰竭患者猝死率是普通人群的6~9倍^[1]。心力衰竭时心肌发生显著的电重构,在长期病理学因素作用下,心肌电活动出现多种形式的适应性改变,这在一定程度上能代偿和缓解心功能损害,但同时也成为致心律失常的因素^[2]。已有研究证实,心力衰竭后迟后除极(delayed afterdepolarization, DAD)及其引起的触发活动(triggered activity, TA)在SCD发生中起着重要的作用^[3]。大蒜素(allicin, All)是一种从大蒜鳞茎中分离提取的有效成分,是具有多种生物学活性的化合物。研究发现,All对多种离子流均有作用,可发挥抗心律失常的效应。我们的前期研究显示,All可减少原发性高血压大鼠血管平滑肌细胞和心力衰竭后心室肌细胞上的L型钙通道电流(L-type calcium current, $I_{\text{Ca,L}}$)^[4-7]。但尚不可知其是否对心力衰竭后细胞内钙离子及DAD有作用,并进而引起TA。本文选择心力衰竭大鼠的心室肌细胞,用全细胞膜片钳技术观察All对大鼠心室肌细胞DAD和TA发生的影响,进一步探讨其可能的离子流机制,旨在寻找新的治疗心力衰竭后抗恶性心律失常的药物。

1 材料与方 法

1.1 材料

Sprague-Dawley (SD)大鼠30只,体质量180~220 g,雌雄各半。胶原酶II、胰蛋白酶、FBS胎牛血清、HEPES缓冲液、L-谷氨酸、4-氨基吡啶(4-aminopyridine, 4AP)、河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)和CsCl购自美国Sigma公司;依他酸(Egtazic acid, EGTA)购自美国Fluka Biochemika公司。All购自索莱宝试剂公司。细胞分离液(mmol/L):

CaCl₂ 1.5, KCl 5, NaCl 110.0, MgCl₂ 1.2, HEPES缓冲液10,葡萄糖10, pH值用NaOH调至7.4;无钙分离液为分离液中不加CaCl₂但增加EGTA 10 mmol/L。细胞外液:同细胞分离液,为排除干扰电流,加入5 mmol/L的4AP阻断瞬时外向钾电流(transient outward potassium current, I_{to}),加入100 μmol/L的TTX阻断钠通道电流(I_{Na})。细胞内液(mmol/L):氯化四乙基铵(tetraethylammonium chloride, TEA-Cl)20、CsCl 100、EGTA 10、Na₂ATP 5、HEPES缓冲液10, pH调至7.2。KB液(mmol/L):L-谷氨酸50, KCl 30, KOH 80, KH₂PO₄ 30, 牛磺酸20, HEPES 10, 葡萄糖10, MgSO₄ 3, EGTA 0.5, KOH调pH值至7.4。

1.2 方法

1.2.1 心力衰竭模型制作 参考文献[8]采用腹主动脉结扎法选取SD大鼠20只,体质量180~220 g,雌雄各半。10%水合氯醛腹腔麻醉,于剑突下腹正中切口,分层打开腹腔,在肾动脉分支上方0.5 cm处钝性游离腹主动脉,将8号注射器针头磨钝平行置于腹主动脉上,用4号手术丝线将腹主动脉和注射器针头一同结扎,然后缓慢将注射器针头撤出,关腹,分层缝合(模型组)。另外取10只SD大鼠,除不结扎之外,其他步骤与模型组相同(假手术组)。2组大鼠于术后予青霉素4万U每只,腹腔注射6 d,预防感染。饲养至8周。

1.2.2 大鼠心室肌细胞的分离 采用改进的酶解法制备大鼠心室肌单细胞。每组大鼠首先肝素化(腹腔注射100 IU/ml),用20%乌拉坦(1.00 mg/kg)麻醉,后迅速取其心脏,在37℃和通氧条件下行Langendorff灌流:用无Ca²⁺ Tyrode's液灌流3~5 min,用含胶原酶II 70 mg、胰蛋白酶12 mg的无Ca²⁺ Tyrode's液(50 ml)灌流20~25 min。沿房室沟取心室肌,剪碎入KB液中并吹打使细胞脱落,-4℃保存,1 h后进行实验。

1.2.3 细胞分组 37℃环境下,取模型组细胞保存液加于1 ml 灌流槽中,待细胞贴壁后,给予200.0 μmol/L 终浓度的 All,于倒置显微镜下选择边缘整齐、表面无颗粒、横纹清晰、无收缩的心室肌细胞进行检测(给药组)。其给药方式为:将 All 用二甲基亚砷溶解,并制备成储备液,细胞外液稀释成200.0 μmol/L 终浓度;采用局部灌流装置于细胞外恒流灌流方式对给药组进行给药,为确保药物效应的一致性,待平衡5 min 后方可记录电流^[7]。同样取模型组细胞(不给药,心力衰竭组)或假手术组细胞(对照组)加于灌流槽中,除不加药外,其余步骤均与给药组一致。根据检测指标不同,分别选取不同个数细胞进行观察。

1.2.4 全细胞膜片钳记录 数据记录采用软件(pCLAMP 10.2)。采用全细胞膜片钳记录方法,在电压钳制下记录电流。将 Axon-700B 膜片钳放大器(Sunnyvale,美国)同计算机连接,刺激信号及电压输入信号应用 Digidata 1440A 数模转换器(Sunnyvale,美国)收集。GG-17 玻璃毛坯经 pp-83 微电极控制仪(Narishige 公司,日本)拉制成电阻为2.0~5.5 MΩ 的电极。调节三维操纵器进行封接,使封接电阻达1 GΩ 以上,吸破细胞膜形成全细胞记录模式。测定电容时,施以0.4 V/s 的斜坡刺激,按方程 $C_m = I/(dV/dt)$ 计算(C_m 为膜电容, I 为电流值, dV/dt 即电压斜率)。为消除细胞间的误差, I 值以电流密度(pA/pF)表示。信号经截止频率为1 kHz 的四阶贝塞尔低通滤波器滤波,采样率为5 kHz。串联电阻补偿90%~95%以消除电压偏差,液接电位补偿校正至<2 mV,慢电容补偿约为85%~90%,以消除膜电容的充放电影响。

1.2.5 指标检测及参数设置 (1) DAD 和 TA。电流钳模式下,钳制电位0 mV,1 500 pA 持续10 ms 的20个串刺激,频率4.0 Hz,记录动作电位。DAD 被定义为在4期紧接着正常动作电位后出现的去极化幅度>5 mV、持续时间>10 ms 的自动去极化波形;TA 被定义为在DAD 的基础上出现的一个自发性动作电位,其特征是0相有明显自发性除极^[9]。(2) $I_{Ca,L}$ 电流及门控机制。稳态激活曲线:保持电位-40 mV,施予150 ms,阶跃10 mV,-40 mV~+40 mV 的系列去极化脉冲,记录 $I_{Ca,L}$ 和 $I_{Ca,L,max}$ 。标准化各电流幅值,以相对电流对各膜电位作图得稳态激活曲线(电流-电压图)。稳态失活曲线:保持电位-40 mV,施予500 ms,阶跃10 mV,-70 mV~+40 mV 的系列去极化脉冲,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,记录 $I_{Ca,L}$ 和

$I_{Ca,L,max}$, 用 Boltzmann 方程 $I_{Ca}/I_{Ca,max} = 1/\{1 + \exp[(V_m - V_{1/2})/k]\}$ 拟合求半数失活电压 $V_{1/2,inaet}$ 。(3) 瞬时内向电流(transient inward current, I_{ti})。在电压钳方式下,给予20个方波预刺激,-80 mV~+50 mV,150 ms,每组刺激间隔100 ms,之后给予2 000 ms、-100 mV~+200 mV 的测试刺激,引出 I_{ti} 。 I_{ti} 被定义为:波峰与电流基线之间的差值,按第一个出现的波形进行分析。(4) Na^+/Ca^+ 交换电流(Na^+/Ca^+ exchange current, I_{NCX})。在电压钳方式下,采用斜坡刺激的模式引出 I_{NCX} 电流。钳制电位为-60 mV,去极化至+80 mV,持续400 ms,以90 V/s 的速率复极并超极化至-120 mV,此后恢复到-60 mV。(5) 钙瞬变。取急性分离好的心室肌细胞500 μl 于新的试管中,应用BSA 混悬液稀释至1 ml,加入Fluo 4-AM 钙荧光染料(1:500 稀释),水平摇床上反应20 min。试管中加入台式液至8 ml,离心机10 000 转/min 离心20~200 s,倾去上清液,应用BSA 混悬液重悬细胞。取100 μl 染色的心室肌细胞悬液加入备好的共聚焦小皿中,静置1 h,待细胞贴壁稳定后,将共聚焦小皿放置共聚焦显微镜上,刺激电极放置共聚焦小皿中,没入台式液,给予不同频率刺激,观察钙瞬变和钙离子浓度等指标。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0 软件进行统计学分析。数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用ANOVA 分析,两两比较采用SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组大鼠心室肌细胞DAD和TA发生率比较

每组选取15个细胞进行检测。对照组、心力衰竭组及给药组细胞上DAD和TA发生率依次为[13.3%(2/15), 0.0%(0/15)]、[60.0%(9/15), 26.7%(4/15)]和[40.0%(6/15), 13.3%(2/15)]。与对照组比较,心力衰竭组细胞DAD和TA发生率显著增加;与心力衰竭组比较,给药组细胞上DAD和TA发生率显著下降,下降幅度分别为20.0%和13.4%,差异均有统计学意义($P < 0.01$;图1)。说明All对心力衰竭大鼠心室肌细胞的DAD和TA均有一定抑制效应。

2.2 3组大鼠心室肌细胞 $I_{Ca,L}$ 变化比较

每组选取15个细胞进行观察。与对照组比较,心力衰竭组细胞膜上的 $I_{Ca,L}$ 密度显著增大;与心力衰竭组比较,给药组 $I_{Ca,L}$ 密度显著减小,差异均有统计学意义($P < 0.01$;图2A,B)。在刺激电位为0 mV

时,与对照组(-11.5 ± 0.4) pA/pF 比较,心力衰竭组细胞 $I_{Ca,L}$ 的电流密度增加至(-17.2 ± 0.9) pA/pF;与心力衰竭组比较,给药组细胞电流密度则降低为(-13.5 ± 1.0) pA/pF,差异均有统计学意义($P < 0.01$;图 2C)。但3组稳态激活曲线比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。与对照组[(-26.5 ± 3.9) mV]比较,心力衰竭组细胞钙电流的 $V_{1/2,inact}$ 移向更正的

电位为(-7.2 ± 1.9) mV ($P < 0.01$);与心力衰竭组比较,给药组细胞钙电流的 $V_{1/2,inact}$ 恢复至(-18.5 ± 2.5) mV ($P < 0.01$)。且3组稳态失活曲线比较差异有统计学意义($P < 0.01$;图 2D)。以上结果提示心力衰竭时钙电流增加,主要可能通过稳态失活曲线向去极化电位移动,导致相同电位刺激时通道失活速率减慢,而应用 All 可以抑制此现象。

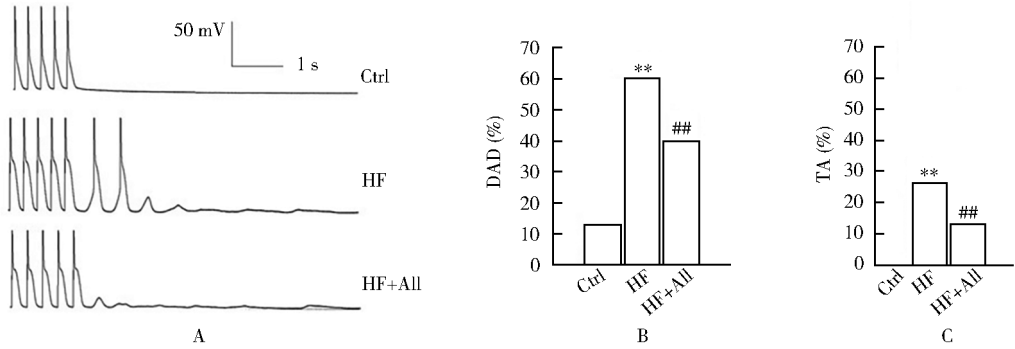


图 1 3组大鼠心室肌细胞 DAD 和 TA 发生率比较

Figure 1 Effects of alliin on DAD and TA in ventricular myocytes of heart failure rats

A: the original recording diagram of DAD and TA in ventricular myocytes; B: histogram of DAD incidence; C: histogram of TA incidence.

Ctrl: control group; HF: heart failure group; All: alliin; DAD: delayed afterdepolarization; TA: triggered activity.

Compared with control group, ** $P < 0.01$; compared with heart failure group, ### $P < 0.01$.

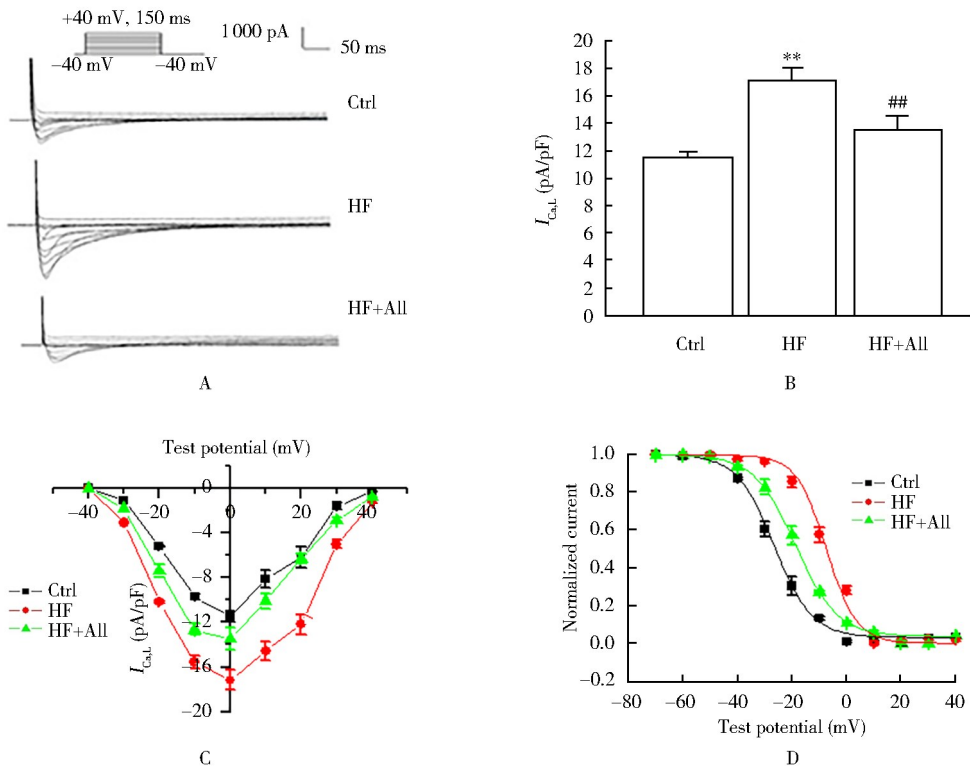


图 2 3组大鼠心室肌细胞 $I_{Ca,L}$ 变化比较

Figure 2 Comparison of $I_{Ca,L}$ in ventricular myocytes among three groups

A: original recording diagram of peak calcium current in ventricular myocytes; B: changes in peak $I_{Ca,L}$ density; C: current-voltage curve of $I_{Ca,L}$;

D: homeostasis inactivation curve of $I_{Ca,L}$. Ctrl: control group; HF: heart failure group; All: alliin. Compared with control group, ** $P < 0.01$;

compared with heart failure group, ### $P < 0.01$.

2.3 3组大鼠心室肌细胞 I_{ii} 变化比较

每组选取 10 个细胞进行观察。与对照组比较,心力衰竭组细胞 I_{ii} 电流密度显著增加;与心力衰竭组比较,给药组细胞 I_{ii} 电流密度又显著下降 ($P<0.01$;图 3A,B)。电流-电压图(图 3C)显示,在 -50 mV 去极化时,对照组的内向峰电流密度为 $(-0.23\pm0.01)\text{ pA/pF}$,而心力衰竭组细胞显著增加至 $(-1.05\pm0.06)\text{ pA/pF}$;与心力衰竭组比较,给药组则又显著降低为 $(-0.53\pm0.05)\text{ pA/pF}$,差异均有统计学意义 ($P<0.01$)。 I_{ii} 电流在 -50 mV 去极化时最大,在更负或更正的刺激电位时,电流幅值均减少。其中心力衰竭组电流密度在 $-90\text{ mV}\sim+10\text{ mV}$ 刺激下增加最为明显,而在 $+20\text{ mV}$ 以上电位刺激时, I_{ii} 呈现出外向电流特征。

2.4 3组大鼠心室肌细胞 I_{NCX} 变化比较

每组选取 10 个细胞进行观察。 I_{NCX} 分为内向

(顺向)和外向(逆向)电流。其中内向电流为 3 个钠离子内流及一个钙离子外排所致,外向电流反之。与对照组比较,心力衰竭组内向电流密度从 $(-3.2\pm0.1)\text{ pA/pF}$ 显著增加至 $(-5.8\pm0.7)\text{ pA/pF}$ ($P<0.01$);而与心力衰竭组比较,给药组电流密度则显著恢复至 $(-4.2\pm0.4)\text{ pA/pF}$ ($P<0.01$;图 4)。外相电流变化不大。

2.5 3组大鼠心室肌细胞内钙瞬变和钙离子浓度比较

每组选取 15 个细胞进行观察。与对照组比较,心力衰竭组细胞静息态钙浓度、钙瞬变幅度和胞内钙峰值 50%的时间等参数显著升高 ($P<0.01$);与心力衰竭组比较,上述参数在给药组细胞中均显著降低 ($P<0.01$;图 5A,B,图 6A,B,C)。心力衰竭后大鼠心室肌细胞内钙瞬变衰减速率与对照组比较显著下降,而应用 All 后,得到显著恢复 ($P<0.05$;图 6D)。

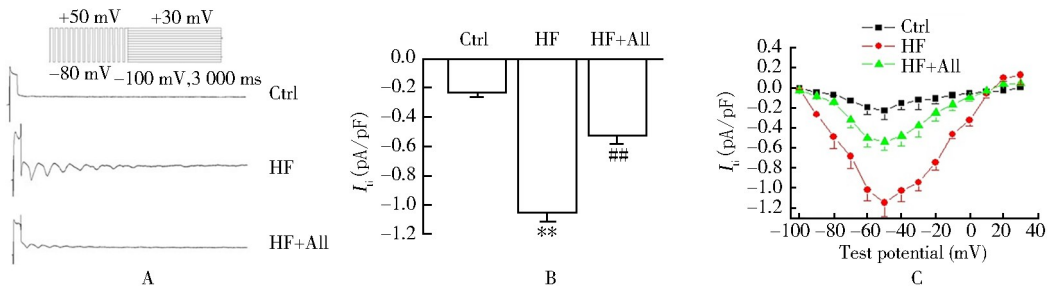


图 3 3组大鼠心室肌细胞 I_{ii} 变化比较

Figure 3 Comparison of I_{ii} in ventricular myocytes among three groups

A: original recording diagram of I_{ii} in ventricular myocytes; B: changes in peak I_{ii} density; C: current-voltage curve of I_{ii} . Ctrl: control group; HF: heart failure group; All: allicin. Compared with control group, $**P<0.01$; compared with heart failure group, $##P<0.01$.

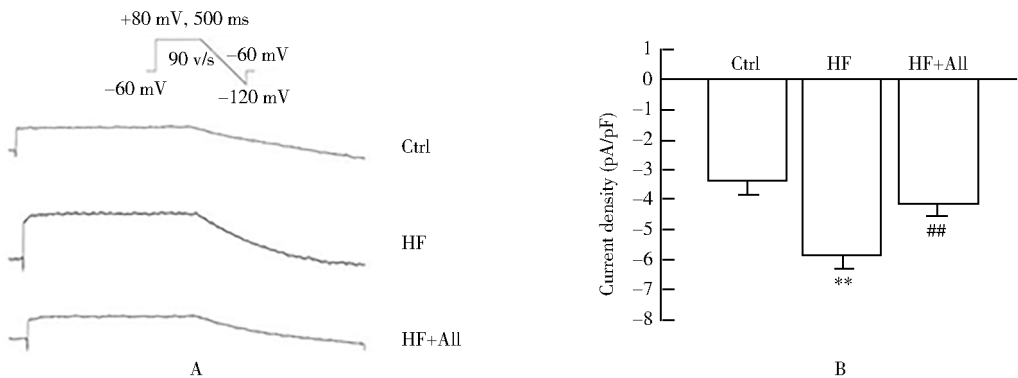


图 4 3组大鼠心室肌细胞 I_{NCX} 变化比较

Figure 4 Comparison of I_{NCX} in ventricular myocytes among three groups

A: original recording of I_{NCX} in ventricular myocytes; B: changes in peak I_{NCX} density. Ctrl: control group; HF: heart failure group; All: allicin. Compared with control group, $**P<0.01$; compared with heart failure group, $##P<0.01$.

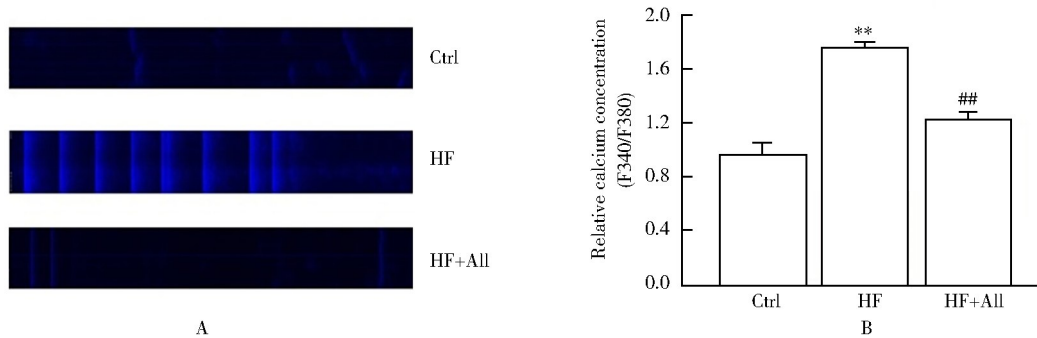


图5 3组大鼠心室肌细胞内钙浓度的比较

Figure 5 Comparison of calcium concentration in ventricular myocytes among three groups

A: fluorescence image of the calcium ions in ventricular myocytes; B: intracellular calcium ion concentration in resting state. Ctrl: control group; HF: heart failure group; All: allicin. Compared with control group, ** $P < 0.01$; compared with heart failure group, ## $P < 0.01$.

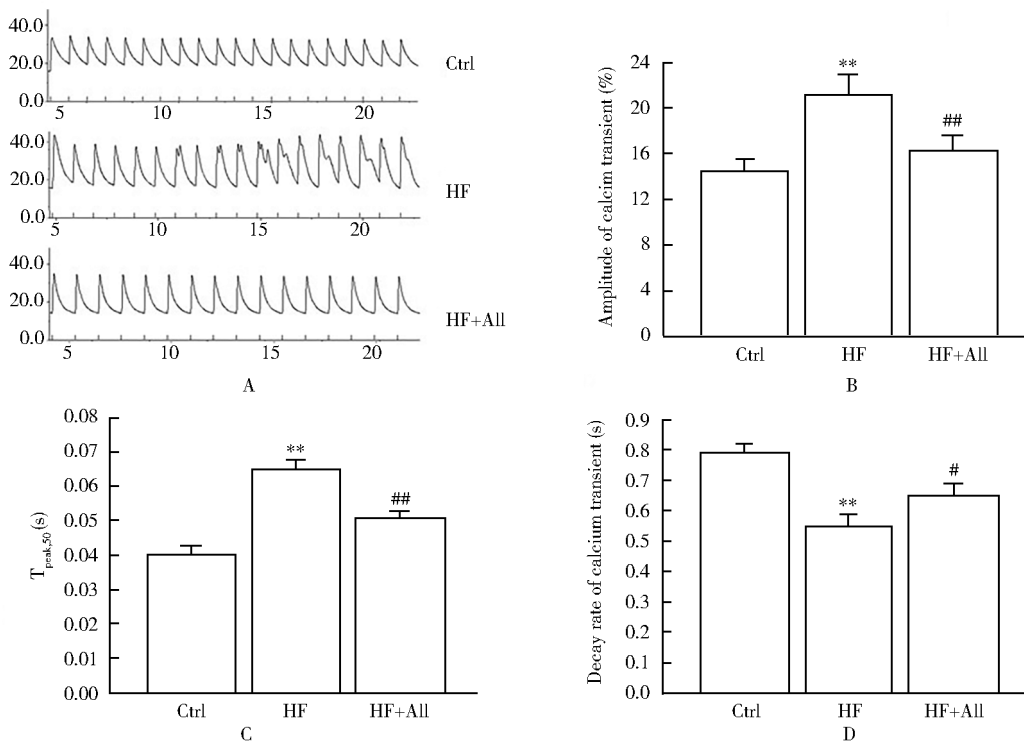


图6 3组大鼠心室肌细胞内钙瞬变的比较

Figure 6 Comparison of intracellular calcium transients in ventricular myocytes among 3 groups

A: intracellular calcium waves change of ventricular myocytes in 3 groups; B: cell calcium transient amplitude changes; C: transient time of 50% peak calcium; D: changes in the transient decay rate of calcium. Ctrl: control group; HF: heart failure group; All: allicin. Compared with control group, ** $P < 0.01$; compared with heart failure group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

3 讨论

心力衰竭致心律失常作用是电重构的不良后果,心力衰竭除心功能不全引起的血流动力学障碍外,还因心脏电重构引发恶性心律失常导致猝死。而心力衰竭后触发性心律失常则是猝死的主要原因^[10,11]。本研究显示,All可以降低心力衰竭时心室细胞DAD和由此引起的触发性心律失常的发生,使其分别降低20.0%和13.4%,这可能为心力衰竭后心律失常的防治提供新的潜在药物。

窦房结的冲动产生动作电位使整个心脏出现节律性搏动。每一动作电位末期常伴有一个缓慢的除极波。正常情况下,该波随动作电位的恢复而消失。心力衰竭时,其可增大或产生若干除极波,即DAD或振荡后电位,该电位增高达到阈值时,则发出新的动作电位,从而形成期前收缩,如此产生连续冲动,则形成心动过速,产生TA而导致触发性心律失常^[12]。DAD是诱发触发性心律失常的主要原因之一,其发生在4相复极后,主要由 I_{li} 引起。 I_{li} 电流的载流离子主要是钙离子和钠离子,直接受 I_{NCX} 和

细胞内钙离子的调控,也有少部分受钙激活氯电流($I_{Cl,Ca}$)和非选择性阳离子稳态电流(I_{sus})的影响^[13-15]。其中,细胞内钙离子超载起着关键性作用,故凡是引起细胞内 Ca^{2+} 超载的因素都可促发这一离子流,从而产生DAD或TA。反之,抑制细胞内 Ca^{2+} 超载,降低 I_{li} 电流,则可减少DAD和TA的发生^[16,17]。本研究结果显示,All可减少心力衰竭时细胞内钙瞬变,降低钠钙交换体内向电流的增加,直接或间接降低 I_{li} 电流,特别是内向电流的增加,同时缓解 $I_{Ca,L}$ 的升高。因此,All通过抑制多个离子流和细胞内钙离子的改变,减少了心力衰竭DAD及由此引发的TA的发生,为缓解心力衰竭时SCD的干预提供了可能,也为该药物的研发提供了部分实验依据。

然而,All是否影响参与心力衰竭时细胞内钙离子改变的蛋白尚未可知,也无法得知其对细胞内钙作用的分子基础,同时也未在整体动物层面就All对心力衰竭后触发性心律失常的效应进行探究,因此,本课题下一步工作需要对上述问题进行探究。

【参考文献】

[1] Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, *et al.* Executive summary: heart disease and stroke statistics — 2016 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2016, 133(4): 447-454. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000366.

[2] Molina CE, Abu-Taha IH, Wang Q, *et al.* Profibrotic, electrical, and calcium-handling remodeling of the atria in heart failure patients with and without atrial fibrillation [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1383. DOI: 10.3389/fphys.2018.01383.

[3] Xie Y, Sato D, Garfinkel A, *et al.* So little source, so much sink: requirements for afterdepolarizations to propagate in tissue [J]. *Biophys J*, 2010, 99(5): 1408-1415. DOI: 10.1016/j.bpj.2010.06.042.

[4] 柯俊, 李泮, 陈锋, 等. 大蒜素对心力衰竭兔心室肌细胞钙电流的作用[J]. *中华急诊医学杂志*, 2018, 27(7): 729-734. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.07.005.

Ke J, Li Y, Chen F, *et al.* The effect of allicin on the ventricular myocytes of rabbit with heart failure [J]. *Chin J Emerg Med*, 2018, 27(7): 729-734. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.07.005.

[5] 但晴, 赵颖, 吴志娟, 等. 大蒜素对自发性高血压大鼠心室肌 I_{to} 重构的影响[J]. *药学报*, 2015, 150(1): 39-44. DOI: 10.16438/j.0513-4870.2015.01.008.

Dan Q, Zhao Y, Wu ZJ, *et al.* Effect of allicin on remodeling of the transient outward potassium current of ventricular myocytes of spontaneously hypertensive rats [J]. *Acta Pharm Sin*, 2015, 150(1): 39-44. DOI: 10.16438/j.0513-4870.2015.01.008.

[6] 张建成, 林琨, 魏芝雄, 等. 大蒜素对HEK293细胞HERG电流的阻滞作用[J]. *南方医科大学学报*, 2015, 35(8): 1128-1132. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2015.08.09.

Zhang JC, Lin K, Wei ZX, *et al.* Effects of allicin on rapidly delayed rectifier potassium current in HEK293 cell line[J]. *South Med Univ*, 2015, 35(8): 1128-1132. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2015.08.09.

[7] 王瑞, 王萍, 徐斌, 等. 大蒜素对自发性高血压大鼠肠系膜动脉平滑肌细胞钙电流的作用[J]. *心脏杂志*, 2014, 26(4): 378-383. DOI: 10.13191/j.chj.2014.0037.

Wang R, Wang P, Xu B, *et al.* Effects of garlicin on L-type calcium current of mesenteric artery smooth muscle cells in spontaneously hypertensive rats[J]. *Chin Heart J*, 2014, 26(4): 378-383. DOI: 10.13191/j.chj.2014.0037.

[8] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. *药理实验方法学*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 675.

Xu SY, Bian RL, Chen X. *Pharmacological Experimental Methodology*[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991: 675.

[9] Chen YJ, Chen YC, Yeh HI, *et al.* Electrophysiology and arrhythmic activity of single cardiomyocytes from canine superior vena cava[J]. *Circulation*, 2002, 105(22): 2679-2685.

[10] Patton KK, Hellkamp AS, Lee KL, *et al.* Unexpected deviation in circadian variation of ventricular arrhythmias: the SCD-HeFT (Sudden Cardiac Death in Heart Failure Trial) [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(24): 2702-2708. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.11.072.

[11] Khoo CY, Allen JC, Chia SY, *et al.* Mortality outcome and predictive risk factors for death in patients with heart failure and reduced ejection fraction who declined implantable cardioverter defibrillator implantation in Singapore [J]. *J Arrhythm*, 2018, 34(5): 536-540. DOI: 10.1002/joa3.12106.

[12] Liu MB, Ko CY, Song Z, *et al.* A dynamical threshold for cardiac delayed afterdepolarization-mediated triggered activity [J]. *Biophys J*, 2016, 111(11): 2523-2533. DOI: 10.1016/j.bpj.2016.10.009.

[13] Hegyi B, Horváth B, Váczki K, *et al.* Ca^{2+} -activated Cl^{-} current is antiarrhythmic by reducing both spatial and temporal heterogeneity of cardiac repolarization [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 109: 27-37. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2017.06.014.

[14] Watanabe Y, Kimura J. Inhibitory effect of azimilide on Na^{+}/Ca^{2+} exchange current in Guinea-pig cardiac myocytes [J]. *J Pharmacol Sci*, 2010, 114(1): 111-114.

[15] Xu B, Fu Y, Liu L, *et al.* Effect of α -alloccryptopine on delayed afterdepolarizations and triggered activities in mice cardiomyocytes treated with isoproterenol [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 634172. DOI: 10.1155/2015/634172.

[16] Ko CY, Liu MB, Song Z, *et al.* Multiscale determinants of delayed afterdepolarization amplitude in cardiac tissue [J]. *Biophys J*, 2017, 112(9): 1949-1961. DOI: 10.1016/j.bpj.2017.03.006.

[17] Liu MB, de Lange E, Garfinkel A, *et al.* Delayed afterdepolarizations generate both triggers and a vulnerable substrate promoting reentry in cardiac tissue [J]. *Heart Rhythm*, 2015, 12(10): 2115-2124. DOI: 10.1016/j.hrthm.2015.06.019.