

• 论 著 •

# 丹参酮抑制钙调蛋白信号传导系统在心肌梗死后恶性心律失常中的作用<sup>\*</sup>

卢庭婷

(广西卫生职业技术学院检验系,广西南宁 530021)

**摘要:**目的 观察丹参酮对心肌梗死家兔模型恶性心律失常的作用,并探讨丹参酮导致的钙调蛋白(CaM)信号传导系统改变与恶性心律失常发生率降低之间的关系。方法 选取健康大耳家兔共 90 只,随机分为 3 组:心肌梗死模型家兔(无干预组)、心肌梗死丹参酮干预家兔(干预组)和假手术对照家兔(对照组),每组 30 只。对 3 组家兔恶性心律失常发生率、CaM、钙调蛋白激酶Ⅱ(CaMK-Ⅱ)活性、跨室壁复极离散度(TDR)、心肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度进行统计并比较。结果 对照组未发生恶性心肌梗死,无干预组和干预组恶性心律失常发生率均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );无干预组恶性心律失常率(60.0%)高于干预组(10.0%),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。无干预组和干预组家兔的 CaM 蛋白水平分别是对照组家兔的 1.483 倍和 1.321 倍,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );无干预组家兔 CaM 蛋白水平高于干预组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。3 组间 CaMKⅡ 的活性比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。无干预组血清钙离子水平高于对照组和干预组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );干预组低于无干预组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。干预组 TDR 低于无干预组,这两组 TDR 均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。干预组梗死心肌单细胞水平胞内钙浓度低于无干预组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 CaM 信号传导系统的相关信号因子的水平对心肌梗死后恶性心律失常有提示作用。丹参酮可以通过抑制 CaM 信号传导系统而在预防心肌梗死后恶性心律失常中发挥重要作用。

**关键词:**钙调蛋白信号传导系统; 丹参酮; 心肌梗死; 恶性心律失常

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)03-0355-03

## The effects of tanshinone inhibiting calmodulin signal system on malignant arrhythmias after myocardial infarction<sup>\*</sup>

Lu Tingting

(In spection Department, Guangxi Medical College, Nanning, Guangxi 530021, China)

**Abstract:** Objective To observe the effects of tanshinone on malignant arrhythmias which occurred in rabbit model of myocardial infarction, and explore the relationship between tanshinone induced calmodulin(CaM) signal system changes and the incidence of malignant arrhythmias after myocardial infarction. **Methods** A total of 90 healthy big ear rabbits were selected and randomly divided into 3 groups: myocardial infarction model rabbits(non-intervention group) and myocardial infarction model rabbits with tanshinone intervention(intervention group) and sham operated rabbits(control group), 30 rats in each group. The incidence of malignant arrhythmias, calmodulin(CaM), calmodulin kinase Ⅱ(CaMK Ⅱ), transmural dispersity of repolarization(TDR) and the concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  in myocardial cells were statistically analysed and compared among the 3 groups. **Results** The control group did not undergo malignant myocardial infarction, in non-intervention group and intervention group, malignant arrhythmia incidence was higher than that in control group( $P<0.05$ ); in non-intervention group, malignant arrhythmia rate(60.00%) was higher than that in intervention group(10%)( $P<0.05$ ). The CaM concentration in non-intervention and intervention group rabbits were 1.483 and 1.321 times of control group rabbits respectively, the difference was statistically significant( $P<0.05$ ); CaM protein levels of non-intervention group was higher than that of intervention group( $P<0.05$ ). No statistical significance of CaMKⅡ activity among the 3 groups were observed( $P>0.05$ ). Serum  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in non-intervention group was higher than that in control group and intervention group( $P<0.05$ ); serum  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in control group was lower than that in intervention group( $P<0.05$ ). The TDR of intervention group is lower than that of non-intervention group, the two groups' TDR were both higher than that of control group( $P<0.05$ ). At single cell level, the intracellular calcium concentration of intervention group was lower than that of non-intervention group( $P<0.05$ ). **Conclusion** The relevant signal factors of CaM signal transduction system have implications on malignant arrhythmia after myocardial infarction. Tanshinone can inhibit CaM signaling system and play an important role in the prevention of malignant arrhythmia after myocardial infarction.

**Key words:** calmodulin signal system; tanshinone; myocardial infarction; malignant arrhythmia

钙调蛋白(CaM)是一种导致心律失常的信号分子,可以作为预防心肌梗死后恶性心律失常药物的作用靶点。而丹参酮是治疗心肌缺血的传统药物,具有抑制 CaM 表达和减少钙内

流的特性<sup>[1]</sup>。本研究从在体心脏、离体心脏和心肌条块等不同层面结合电生理和分子生物学技术,旨在探讨心肌梗死后心肌细胞 CaM 活性与恶性心律失常发生之间的关系,以及丹参酮

<sup>\*</sup> 基金项目:广西卫生职业技术学院项目(WZ2014JA08)。 作者简介:卢庭婷,女,讲师,主要从事生物化学与分子生物学研究。

抑制该靶点对减少心肌梗死后恶性心律失常发生的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 90 只健康长耳大白兔购自广西医科大学实验动物中心,雌雄各半,对其进行编号,采用数字随机表法分为 3 组(每组 30 只):(1)心肌梗死模型组(无干预组),体质量为(4.2±0.5)kg,雌兔 14 只、雄兔 16 只;(2)心肌梗死丹参酮干预组(干预组),体质量为(4.3±0.5)kg,雌兔 15 只,雄兔 15 只;(3)假手术对照组(对照组),体质量为(4.3±0.6)kg,雌兔 15 只,雄兔 15 只。3 组家兔的体质量、雌雄比例比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 心肌梗死模型的制作 按照实验动物的分组,分别对 3 组家兔进行不同处理。无干预组和干预组家兔予以开胸并结扎冠状动脉左室支,建立心肌梗死模型;对照组只开胸不结扎冠状动脉左室支。

1.2.2 体内研究 以双极电极基础步长为 1 000 ms,刺激起搏心肌块内膜,心肌块连续起搏直至电生理稳定后(通常稳定 1 h),干预组灌流含 30 g/mL 丹参酮ⅡA 磺酸钠的台式液预处理 30 min,无干预组灌流台式液 30 min。随后,无干预组和干预组停灌 30 min 造成心肌缺血,此时程序性刺激诱发室性心率失常,给予刺激的强度为 2 倍舒张期阈值,刺激信号的脉宽为 1 ms。停灌 40 min 后,无干预组复灌台式液,干预组复灌含 30 g/mL 丹参酮ⅡA 磺酸钠的台式液,而对照组持续灌流台式液,对照组与干预、无干预两组在相对应的时间进行程序性诱发室性心率失常。利用长程心电图技术记录急性心肌梗死后恶性心律失常的发生情况,同期应用分子生物学技术测定 CaM 钙调蛋白激酶Ⅱ(CaMKⅡ)的活性。测定流程为:将样品和反应液充分反应,再在 1 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ 、10  $\mu\text{g/mL}$  CaM 存在的条件下测定;非  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性活性在 5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  螯合剂 EGTA 存在的环境下测定;混合液于 30  $^{\circ}\text{C}$  孵育 5 min,取 20  $\mu\text{L}$  反应液滴至滤膜上,用磷酸洗 3 次,晾干滤纸,采用液闪仪测定放射性活性。

1.2.3 心肌组织块水平的研究 建立兔心肌梗死心肌楔形块的灌流模型,采用浮置玻璃电极法同步记录跨室壁复极离散度(TDR),荧光探针 Fura-2/AM 负载/共聚焦显微镜测定跨室壁三层心肌细胞内钙浓度的变化。

1.2.4 单细胞水平研究 使用酶解法分别获得心肌梗死后兔左心室,采用单细胞 RT-PCR 膜片钳技术、膜片钳结合荧光跟踪细胞内钙技术,测定梗死心肌单细胞水平胞内钙浓度变化。

1.3 观察指标 对 3 组家兔发生恶性心律失常率、CaM、CaMKⅡ的活性、TDR、心肌细胞内钙浓度的变化情况进行统计并比较。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行分析。计量资料均值的组间比较采用方差分析;计数资料以百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组家兔心肌梗死后诱发恶性心律失常发生率比较 对照组无恶性心肌梗死发生,无干预组和干预组恶性心律失常发生率分别为 60.0%(18/30)和 10.0%(3/30),均高于对照组( $P<0.05$ ),无干预组高于干预组( $P<0.05$ )。

2.2 3 组家兔 CaM 水平、CaMKⅡ活性及  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的比较

以对照组 CaM 水平为内参,测得无干预组和干预组 CaM 水平分别是对照组的 1.483 倍和 1.321 倍,无干预组 CaM 水平高于干预组( $P<0.05$ )。3 组家兔 CaMKⅡ的活性比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。无干预组家兔血清  $\text{Ca}^{2+}$  浓度高于对照组和干预组,干预组高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 3 组家兔 CaM 蛋白水平和 CaMKⅡ的活性变化及  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的比较

组别	<i>n</i>	CaM 蛋白 水平变化	CaMKⅡ的 活性变化	$\text{Ca}^{2+}$ (nmol/L, $\bar{x}\pm s$ )
无干预组	30	1.483	1.103	167.3±12.5
干预组	30	1.321	1.014	112.8±9.4
对照组	30	1.000	1.000	89.6±5.7
<i>F</i>	—	4.682	1.367	6.364
<i>P</i>	—	<0.05	>0.05	<0.05

—:无数据。

2.3 3 组家兔 TDR 及梗死心肌单细胞  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的比较 干预组 TDR 低于无干预组,且这两组 TDR 均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );干预组梗死心肌单细胞水平胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度低于无干预组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

表 2 3 组 TDR 及梗死心肌单细胞  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的比较

组别	<i>n</i>	TDR(ms)	$\text{Ca}^{2+}$ (nmol/L)
无干预组	30	71.3±4.2	148.5±10.2
干预组	30	56.4±2.7	108.2±6.7
对照组	30	47.1±2.3	—
<i>F</i>		4.692	6.794
<i>P</i>		<0.05	<0.05

—:无数据

3 讨 论

心肌梗死后发生恶性心律失常往往是导致心肌梗死患者死亡的重要原因之一。恶性心律失常疾病本身具有较高的猝死危险性。恶性心律失常患者均伴随着心脏的器质性病变。该病发病急,患者常呈危象,目前临床尚无有效的手段对恶性心律失常患者进行有效治疗<sup>[2]</sup>。恶性心律失常其发生的机制目前尚无明确结论,就目前的研究数据显示,恶性心律失常涉及的机制较多,其中钙超载机制是所有研究均认可的一种,因此钙超载被大家所认可<sup>[3-4]</sup>。心肌细胞内的  $\text{Ca}^{2+}$  超载使得多种胞内信号传导系统被激活,蛋白磷酸化和去磷酸化系统的激活导致分子信号调节共同通路打开,从而使多种机制参与对心肌离子通道的调节中来,因此,蛋白磷酸化是绝大多数心肌离子通道调节的主要方式和共同途径<sup>[5]</sup>。钙超载后心肌细胞结构、离子通道发生异质性改变,而对离子通道产生抑制作用,抑制内向  $\text{Ca}^{2+}$  电流,但缺血能增加外向  $\text{K}^{+}$  电流,因此引起心肌细胞动作电位复极至 90%的时间(APD90)缩短,心外膜心肌细胞的 APD90 缩短更为明显,从而使缺血性心肌 TDR 明显增大,易产生折返环和促发活动,为心律失常的发生提供了基础<sup>[6-7]</sup>。

(下转第 359 页)

对肠道菌群有普遍的杀灭作用,但对合并细菌感染性疾病的婴儿肠道菌群改变的影响是有限的。感染性腹泻患儿因感染导致肠道生物屏障的破坏,抵抗细菌肠道定植的能力减弱,肠道正常的菌群结构被扰乱。合理的使用  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物在治疗感染的同时可以使临床症状得到缓解,让肠道环境逐步改善。本研究显示,合并细菌感染性疾病的患儿治愈后 7 天肠道中益生菌的数量已经与健康婴儿已基本接近。同时,未使用  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的患儿,肠道微生物环境的恢复明显快于使用了  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的患儿,这也提示临床治疗中,应积极考虑调整患儿肠道微生态环境,以利于疾病的恢复。

婴儿疾病治疗中广谱抗菌药物  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的使用存在诸多争议,在治疗中应尽可能以病原学和药敏试验为基础,严格掌握  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的应用指标,结合婴儿肠道微生态特点,及时、合理应用微生态制剂,改善  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物造成的菌群失调,增强宿主适应性,在确保抗感染疗效的同时及时纠正肠道微生态失衡对婴儿的生长发育带来的不良影响。

## 参考文献

- [1] Kelly P. Nutrition, intestinal defence and the microbiome[J]. Proc Nutr Soc, 2010, 69(2): 261-268.
- [2] van der Waaij D. Colonization pattern of the digestive tract by potentially pathogenic microorganisms: colonization-controlling mechanisms and consequences for antibiotic treatment[J]. Infection, 1983, 11(Suppl 2): S90-92.

(上接第 356 页)

丹参酮是中药丹参的主要有效成分,丹参对改善心脑血管循环具有确切的疗效,临床大量使用丹参制成的各种中成药治疗心脑血管疾病,最为广泛应用的是丹参注射液、香丹注射液、丹参滴丸等<sup>[8]</sup>。叶勇等<sup>[9]</sup>研究了丹参酮对 CaM 血管生成影响实验,结果显示,丹参酮可促进 CaM 血管增生,具有一定的促血管新生作用。

本研究从在体、心肌组织块、离体心肌单细胞水平三个角度分析了 CaM 传导系统在心肌梗死后恶性心律失常发生中的作用,结果表明,无干预组和干预组家兔的 CaM 蛋白水平分别是对照组的 1.483 倍和 1.321 倍,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );无干预组 CaM 水平高于干预组( $P < 0.05$ );无干预组血清  $Ca^{2+}$  水平高于对照组和干预组( $P < 0.05$ ),对照组低于干预组( $P < 0.05$ );干预组 TDR 低于无干预组家兔,两者 TDR 均高于对照组( $P < 0.05$ );干预组梗死心肌单细胞水平胞内钙浓度低于无干预组( $P < 0.05$ ),说明 CaM 可作为预防心肌梗死后恶性心律失常新靶点。丹参酮以 CaM 信号传导系统为靶点,可有效预防心肌梗死后恶性心律失常的发生,为开发传统中药的新用途和减少心肌梗死后心律失常的发生奠定理论基础<sup>[10]</sup>。

综上所述,CaM 信号传导系统中信号因子的改变对心肌梗死后恶性心律失常有提示作用。丹参酮可以通过抑制 CaM 信号传导系统,在预防心肌梗死后恶性心律失常中发挥重要作用。

## 参考文献

- [1] 王文广,张存泰,吴杰,等. 钙调蛋白抑制剂对陈旧性心肌梗死兔

- [3] 杨美芬,王玉明,黄永坤,等. 用细菌 16S rRNA 荧光定量 PCR 法检测肠道菌群的变化[J]. 中国微生物学杂志, 2006, 18(4): 266-269.
- [4] Behar A, Yuval B, Jurkevitch E. Enterobacteria-mediated Nitrogen fixation in natural populations of the fruit fly *Ceratitis capitata* [J]. Mol Ecol, 2005, 14(9): 2637-2643.
- [5] Matsuki T, Watanabe K, Fujimoto J, et al. Use of 16S rRNA gene-targeted group-specific primers for real-time PCR analysis of predominant bacteria in human feces[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(12): 7220-7228.
- [6] Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome[J]. Science, 2006, 312(5778): 1355-1359.
- [7] 张小贤,钱香,楼正青,等. 16SrRNA 实时荧光定量 PCR 检测肠道菌群的研究[J]. 中国高等医学教育, 2010, 24(6): 128.
- [8] 贾志红,吕秀美. 肠道优势耐药菌造成肠源性感染的实验结果讨论[J]. 中华医院感染学杂志, 1999, 9(3): 63-64.
- [9] 张延霞,袁康,陆龙. 难辨梭菌性腹泻分析及预防措施[J]. 中华医院感染学杂志, 2000, 10(2): 39-40.
- [10] 王凤科. 广谱抗生素对感染性疾病患者肠道微生态的影响[J]. 吉林医学, 2010, 31(32): 5726-5728.
- [11] 康白. 双歧杆菌的微生态学及临床意义[J]. 中华儿科杂志, 1999, 37(5): 54-56.

(收稿日期: 2014-11-10)

室性心律失常的影响[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2005, 19(1): 60-62.

- [2] 肖志超,张存泰,马业新,等. 厄贝沙坦对兔肥厚心肌钙调蛋白激酶活性及室性心律失常发生的影响[J]. 临床心血管病杂志, 2006, 22(8): 478-480.
- [3] 王文广,吴杰,张存泰,等. 心肌缺血时钙调蛋白信号转导途径的变化与对心脏的影响[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2005, 19(4): 313-315.
- [4] 黄鑫,李莉. 钙调蛋白/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 和心律失常的关系[J]. 中国医师进修杂志, 2006, 29(15): 76-78.
- [5] 王湛,李东阳,曹宇,等. 钙调蛋白与肥厚心肌的心律失常[J]. 解剖科学进展, 2010, 16(4): 364-366.
- [6] 刘善红,李景东.  $Ca^{2+}$ /钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 在心脏重构中的信号转导作用[J]. 心血管病学进展, 2009, 30(4): 685-689.
- [7] 李喆. 缺血再灌注致心律失常大鼠模型钙调蛋白介导的 L 型离子通道电流的变化[J]. 海南医学院学报, 2013, 19(12): 1627-1630.
- [8] 赵妍. 钙/钙调蛋白激酶 II 信号系统与心血管疾病[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2011, 31(4): 310-314.
- [9] 叶勇,杨丹丹,涂乾. 丹参酮 II A 对 CAM 血管生成影响的实验研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 2(2): 61-67.
- [10] 吴蔚,张存泰. 钙调蛋白激酶和心律失常[J]. 中华心律失常学杂志, 2006, 10(4): 301-302.

(收稿日期: 2014-12-10)