

[6] 叶立新, 王继红, 黄华利. 桑寄生对肾性高血压大鼠血浆 β -内啡肽浓度影响的量效作用[J]. 中国临床康复, 2005, 9(27): 84-85.

[7] 朱开昕, 卢 栋, 裴河欢, 等. 桑寄生在广西的分布及其寄主状况调查[J]. 广西中医药, 2010, 33(2): 59-61.

[8] 梁·陶弘景编. 本草经集注[M]. 尚志钧等辑校. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 254-255.

[9] 阿布来提·阿布力孜, 麦麦提·艾麦提. 降压中药的研究进展[J]. 海峡药学, 2014, 26(2): 108-110.

[10] 唐家玲. 桑寄生治疗高血压[J]. 中医杂志, 2002, 43(11): 813.

[11] 马 钰, 华德民, 秦建国, 等. 郭维琴教授辨证治疗高血压病经验[J]. 现代中医临床, 2016, 23(5): 14-16, 23.

[12] 陈 斌, 魏丹霞, 顾力华, 等. 陆家龙主任医师治疗高血压病用药规律探析及典型医案[J]. 云南中医中药杂志, 2016, 37(9): 1-3.

[13] 刘丽娟, 周 诚. 复方桑寄生钩藤颗粒对高血脂大鼠血压、血脂的影响[J]. 中国药业, 2011, 20(19): 5-6.

[14] Pacher R, Stanek B, Hülsmann M, *et al.* Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1996, 27(3): 633-641.

[15] 冯建章. 当代心脏病学[M]. 广州: 广东教育出版社, 2000: 19, 69-70.

[16] Liao D F, JenniferL D, Guenter D, *et al.* Angiotensin II stimulates MAP kinase Kinase Kinase activity in vascular smooth muscle cells: Role of Raf[J]. *Circ Res*, 1996, 79(5): 1007-1014.

金丝桃苷预处理对心肌缺血再灌注性心律失常大鼠心肌 ATP 酶活性和 Cx43、Kir2.1 表达的影响

张春燕, 杨 倩*
(日照市中医医院, 山东 日照 276800)

摘要: **目的** 金丝桃苷具有抗脑缺血、降低心肌梗死面积等作用, 通过构建大鼠心肌缺血再灌注(I/R)模型, 进行金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠室性心律的影响以及相应作用机制的研究。**方法** 选择雄性 SD 大鼠, 随机分为假手术组、模型组、金丝桃苷(50 mg/kg)组($n=15$), 结扎冠状动脉左前降支缺血 30 min 恢复灌注构建 I/R 模型, 金丝桃苷组于缺血前 10 min 腹腔注射金丝桃苷 50 mg/kg, 记录缺血前 10 min、后 30 min, 再灌注 30、60、120 min (T_0 、 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4) 大鼠心率(HR)、平均动脉压(MAP)、心率收缩压乘积(RPP), 观察心律失常情况, ELISA 法测定血清肌酸激酶-同工酶(CK-MB)和肌钙蛋白(cTnI)水平, 分光光度法测定 Na^+-K^+-ATP 酶和 $Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶水平, HE 染色观察心肌组织变化, 免疫组化法测定心肌缝隙连接蛋白(Cx43)表达, Western blot 测定 Kir2.1 蛋白表达。**结果** 在 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 , 模型组 HR、MAP、RPP 显著低于假手术组, 金丝桃苷组 HR、MAP、RPP 高于模型组($P<0.05$); 模型组、金丝桃苷组心律失常评分、CK-MB、cTnI 高于假手术组, Na^+-K^+-ATP 酶和 $Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶活性、Cx43 和 Kir2.1 蛋白表达低于假手术组($P<0.05$), 金丝桃苷组心律失常评分、CK-MB 和 cTnI 水平低于模型组, Na^+-K^+-ATP 酶和 $Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶水平、Cx43 和 Kir2.1 蛋白表达高于模型组($P<0.05$)。**结论** 金丝桃苷有减轻 I/R 大鼠室性心律失常的作用, 其作用可能与增加 Na^+-K^+-ATP 酶和 $Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP$ 酶活性, 上调 Cx43 和 Kir2.1 蛋白表达有关。

关键词: 金丝桃苷; 室性心律失常; Cx43; Kir2.1

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)02-0254-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.02.002

收稿日期: 2017-09-15

作者简介: 张春燕(1971—), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向为心脑血管病的中医治疗。Tel: 15906330176, E-mail: zcyrzy@163.com

* 通信作者: 杨 倩(1987—), 女, 博士生, 主管药师, 研究方向为中药药理学。Tel: 18063310626, E-mail: yangqian629@163.com

Effects of hyperoside on the myocardial activities of ATPases and expressions of Cx43 and Kir2. 1 in arrhythmia rats induced by ischemia-reperfusion

ZHANG Chun-yan, YANG Qian*

(Rizhao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Rizhao 276800, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of hyperoside, an anti-arrhythmic agent capable of reducing myocardial infarct size, on arrhythmic rats induced by ischemia-reperfusion (I/R) and the corresponding mechanism. **METHODS** Male SD rats were randomly assigned to sham operation group, model group and hyperoside group (50 mg/kg, $n = 15$). The I/R model was reconstructed by the ligation of left anterior descending coronary artery for 30 min ischemia. Rats in the hyperoside group were injected with 50 mg/kg hyperoside intraperitoneally 10 min before ischemia. Heart rate, mean arterial pressure (MAP) and heart rate systolic blood pressure product (RPP) at time points of 10 min before ischemia (T_0), 30 min after ischemia (T_1), 30 min (T_2), 60 min (T_3), 120 min (T_4) after reperfusion were recorded. ELISA method was used to determine serum CK-MB and cTnI, spectrophotometry to measure $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ levels, HE staining to observe myocardial tissue changes, immunohistochemistry to investigate Cx43 protein, and Western blot to detect Kir2. 1 protein expression. **RESULTS** At T_1 , T_2 , T_3 and T_4 , the model group demonstrated significantly lower HR, MAP and RPP than those in the sham operation group ($P < 0.05$), whereas the hyperoside group had higher HR, MAP and RPP than the model group. Both hyperoside group and the model group shared significantly higher arrhythmia score, levels of CK-MB and cTnI than the sham operation group ($P < 0.05$) while their lower activities of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$, protein expressions of Cx43 and Kir2. 1 than the sham operation group were noticed as well. But the hyperoside group displayed its lower arrhythmia score, levels of CK-MB and cTnI, and yet higher activities of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$, protein expressions of Cx43 and Kir2. 1 than the model group ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Hyperoside in improving ventricular arrhythmia of I/R rats may contribute to the activity restoration of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$, and the up-regulation of Cx43 and Kir2. 1 protein expressions.

KEY WORDS: hyperoside; ventricular arrhythmia; Cx43; Kir2. 1

急性心肌梗死为导致心源性猝死的重要原因，早期急性心肌缺血及心肌损伤导致心脏不稳定电活动与心室复极，引发恶性心律失常及猝死^[1-2]。心肌缺血后快速有效恢复冠脉血流为拯救心肌缺血有效方法，但心肌缺血再灌注（I/R）可加重缺血导致的心功能障碍与心肌细胞损伤，导致细胞内钙超载、细胞凋亡、炎症反应等，引发心肌细胞损伤，阐明其作用机理对于预防心肌 I/R 损伤具有重要作用。金丝桃苷为黄酮苷类成分，具有较好的抗氧化能力及保护心血管系统作用，可通过抗氧化、减轻钙超载、抑制心肌细胞凋亡等途径发挥抗心肌缺血再灌注损伤作用，金丝桃苷可减轻 I/R 大鼠心肌梗死面积，抑制钙离子内流，抗 NO 自由基形成，发挥心肌保护作用^[3-4]，目前关于金丝桃苷抗心肌 I/R 损伤的相关作用机制研究尚未完全阐明。细胞内钙超载为诱发心律失常的重要原因，在维持细胞

内钙稳态方面 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 酶及 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 酶具有重要作用，心律失常患者心肌组织 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 酶与 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 酶活性下降^[5-6]。心肌组织动作电位扩布的主要物质基础为心肌细胞中缝隙连接，其在细胞间电偶联与冲动传导中有重要作用，主要依赖于缝隙连接蛋白变化调节缝隙连接功能^[7-8]，心室工作肌细胞表达的缝隙连接蛋白主要为 Cx43，心脏病理状态下体液因子水平异常，从而影响缝隙连接蛋白的表达、转运及其分布，改变缝隙连接结构与功能，扰乱心肌细胞间通讯功能，增加心肌电位失偶联几率，诱发心律失常^[9-10]。本研究通过构建大鼠 I/R 性心律失常模型，研究金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠室性心律、ATP 酶活性、心肌缝隙连接蛋白（Cx43）表达影响，从分子水平探讨其减轻心律失常的作用机制，为心律失常临床治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 选择健康雄性 10 周龄 SD 大鼠, 体重 350 ~ 400 g, (中国医学科学院动物实验中心, 许可证号 SYXK-2013-0025), SPF 级动物实验室, 饮食进水均符合实验动物标准。随机分为假手术组、模型组、金丝桃苷 (50 mg/kg) 组 ($n=15$), 金丝桃苷组于缺血前 10 min 腹腔注射金丝桃苷 50 mg/kg, 假手术、模型组给予等体积生理盐水。

1.1.2 试验药物与试剂 金丝桃苷 (纯度 $\geq 98\%$, 南京泽朗农业科技发展有限公司, 批号 111521-200303); 乌拉坦 (日本 Sigma 公司); CK-MB (肌酸磷酸酶-同工酶)、cTnI (肌钙蛋白) 试剂盒、大鼠 Cx43 免疫组化试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司); 兔抗大鼠 Kir2.1 单克隆抗体、二抗、DAB 试剂盒由武汉博士德生物工程公司提供; $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP 酶}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP 酶}$ 试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型制备 参考文献[11]方法建立大鼠缺血再灌注模型, 20% 乌拉坦 (0.5 mL/100 g) 腹腔麻醉, 仰位固定, 记录心电图 II 导联, 心电图异常大鼠剔除。颈部气管切开置管连接小动物呼吸机 (潮气量 8 mL/kg, 呼吸频率 70 次/min, 吸呼比 1:2), 分离左颈总动脉, 将硬膜外麻醉导管插入连接电生理信号记录仪, 左冠状动脉前降支根部穿结扎线, 假手术组只穿线不结扎, 其余各组均缺血 30 min 后, 再灌注 2 h, 记录心电图变化。缺血模型判断: 左冠状动脉前降支结扎 5 min 后, II 导联 ST 抬高或 QRS 波群振幅增加、增宽与 T 波融合; 动脉血压降低 >20 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 结扎血管支配区室壁紫绀。再灌注模型判断: 缺血区紫绀消失, 再灌注 30 min 后抬高 ST 段降低 $>50\%$, 排除再灌注前严重房室传导阻滞, 结扎前平均动脉压 <60 mmHg。记录 T_0 、 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 (缺血前 10 min、后 30 min, 再灌注 30、60、120 min)、大鼠 HR (心率)、MAP (平均动脉压)、RPP (心率收缩压乘积), 观察心律失常情况。按照 Lambeth 会议标准进行心律失常评分^[12], 无心律失常为 0 分, 偶发室性早搏 (3 次/min 以下) 为 1 分, 频发室性早搏 (3 次/min 或以上) 为 2 分, 偶发室性心动过速 (3 次/min 以下) 为 3 分, 频发室性心动过速 (3 次/min 或以上) 或偶发性室性纤颤

(3 次/min 以下) 为 4 分, 频发室性纤颤 (3 次/min 或以上) 或死亡为 5 分。

1.2.2 分光光度法测定心肌组织 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP 酶}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP 酶}$ 取心肌组织制备匀浆, 考马斯亮蓝法测定蛋白水平, 比色定磷法测定, 按照试剂盒说明书测定心肌组织 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP 酶}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP 酶}$ 。

1.2.3 ELISA 法测定血清 CK-MB、cTnI 水平 按照试剂盒说明书测定, 酶标仪测定吸光度 A 值 (波长为 450 nm)。

1.2.4 HE 染色观察 取心肌组织置于多聚甲醛中浸泡, 石蜡切片 (5 μm) 包埋, 苏木精-伊红染色, 封片后光镜下观察。

1.2.5 免疫组化法测定心肌 Cx43 表达 大鼠处死后, 取心肌组织置于多聚甲醛中浸泡, 石蜡切片 (5 μm), 脱蜡, 抗原修复, 加 H_2O_2 , 加一抗 (Cx43 1:100), 加聚合物增强剂, 加酶标抗鼠/兔聚合物, DAB 染色, 复染, 脱水透明, 封固后观察, Image-pro plus 图像分析, 400 倍镜下选取瘤组织周围区域 5 个不同视野, 记录视野内阳性表达细胞数, 求均值。

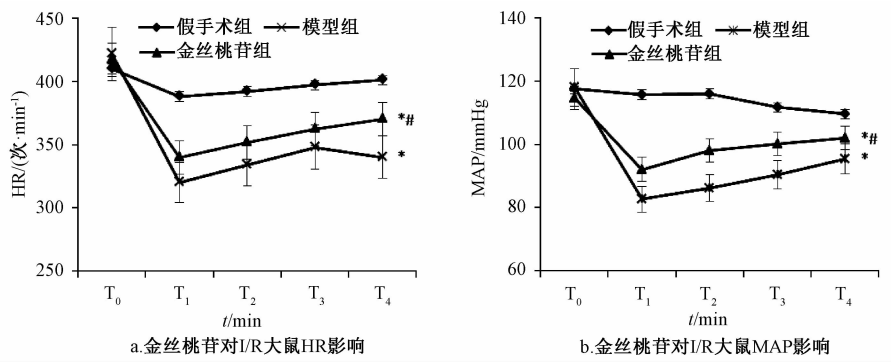
1.2.6 Western blot 法测定 Kir2.1 蛋白表达 细胞提取总蛋白, 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 聚偏二氟乙烯转模, 脱脂奶粉封闭, 加 Kir2.1 蛋白单克隆抗体 (稀释度 1:500), GAPDH 一抗稀释度为 1:1000, 孵育过夜, TBST 漂洗, 加二抗 (稀释度为 1:2000) 孵育 1 h, 应用发光试剂显色, 暗室曝光, 采用 Quantity One 图像分析软件对显色条带进行分析。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 进行统计分析, 计量资料先行正态性检验, 用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 组内两两比较采用 LSD 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

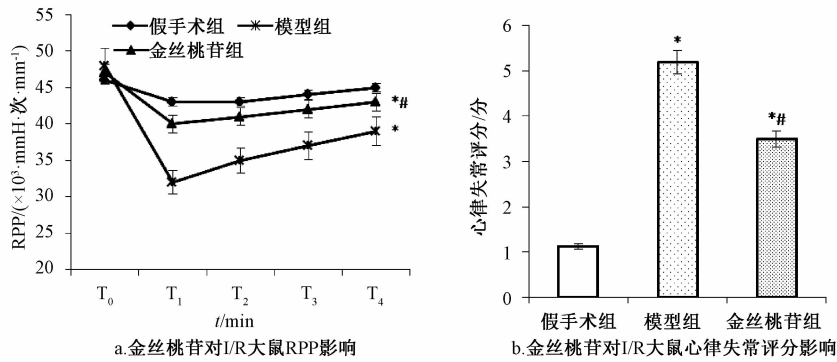
2.1 金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠血流动力学及心律失常评分影响 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 模型组、金丝桃苷组 HR、MAP、RPP 呈现降低趋势, T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 模型组 HR、MAP、RPP 显著低于假手术组, 金丝桃苷组 HR、MAP、RPP 高于模型组 ($P < 0.05$); 模型组、金丝桃苷组心律失常评分高于假手术组, 金丝桃苷组心律失常评分低于模型组 ($P < 0.05$), 见图 1 ~ 2。

2.2 金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠血清 CK-MB 和



注：T₀ 缺血前 10 min，T₁ 缺血后 30 min，T₂ 再灌注 30 min，T₃ 再灌注 60 min，T₄ 再灌注 120 min，HR 心率，MAP 平均动脉压；与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$

图 1 金丝桃苷对 I/R 大鼠 HR、MAP 影响 (n=15)
Fig. 1 Effect of hyperoside on HR and MAP in I/R rats (n=15)

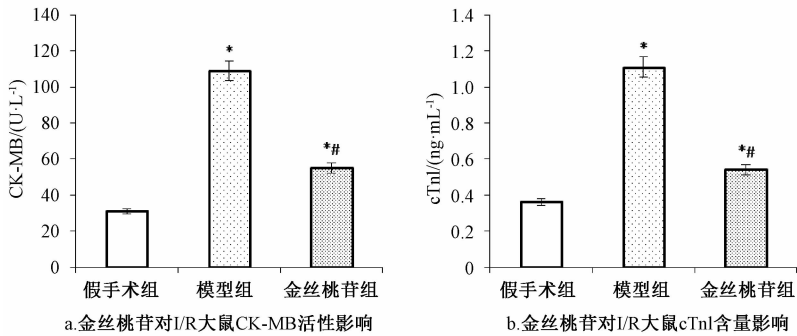


注：T₀ 缺血前 10 min，T₁ 缺血后 30 min，T₂ 再灌注 30 min，T₃ 再灌注 60，T₄ 再灌注 120 min，RPP 心率收缩压乘积；与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$

图 2 金丝桃苷对 I/R 大鼠 RPP、心律失常评分影响 (n=15)
Fig. 2 Effects of hyperoside on RPP and arrhythmia scores in I/R rats (n=15)

cTnI 水平影响 模型组、金丝桃苷组 CK-MB 和 cTnI 水平高于假手术组，金丝桃苷组 CK-MB 和 cTnI 水平低于模型组 ($P < 0.05$)，见图 3。

丝桃苷组 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶水平低于假手术组 ($P < 0.05$)，金丝桃苷组 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶水平高于模型组

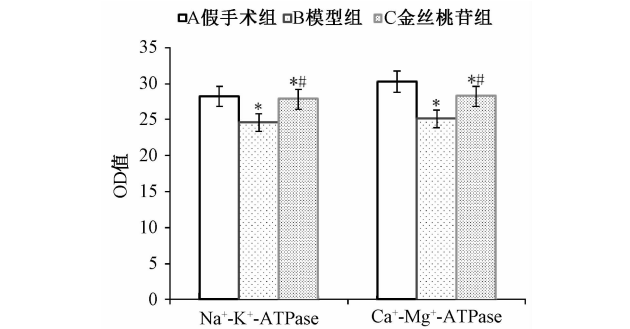


注：CK-MB 同工酶肌酸激酶，cTnI 肌钙蛋白；与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$

图 3 金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠血清 CK-MB 和 cTnI 水平影响 (n=15)
Fig. 3 Effect of hyperoside on CK-MB and cTnI in I/R rats (n=15)

2.3 金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠心肌组织中 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶水平影响 B、金

($P < 0.05$)，见图 4。
2.4 各组大鼠心肌组织病理形态学变化 假手术



注：与假手术组比较，**P* < 0.05；与模型组比较，#*P* < 0.05

图 4 金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶水平影响 (n = 15)

Fig. 4 Effect of hyperoside on Na⁺-K⁺-ATPase and Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase in I/R rats (n = 15)

组心肌组织未见异常，心肌纤维排列整齐，模型组心肌纤维排列紊乱，心肌间质出现炎性细胞浸润，黑染心肌纤维成片状分布，金丝桃苷组心肌组织较模型组有明显改善，见图 5。

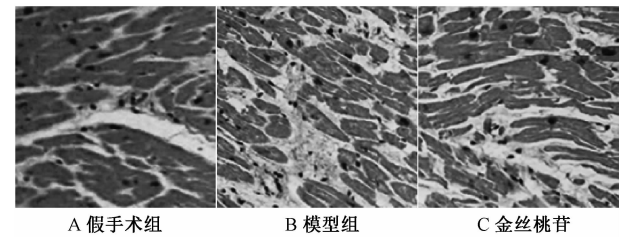


图 5 各组大鼠心肌组织病理形态学变化 (HE 染色, ×400)

Fig. 5 Pathological changes of myocardial tissue in each group (HE staining, ×400)

2.5 金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠 Cx43 和 Kir2.1 蛋白表达影响 Cx43 蛋白假手术组呈强阳性表达，均匀规律条带状分布，模型组 Cx43 表达降低，弥散点状分布，散乱无规律；模型组、金丝桃苷组 Cx43 和 Kir2.1 蛋白表达低于假手术组 (*P* < 0.05)，金丝桃苷组 Cx43 和 Kir2.1 蛋白表达高于模型组 (*P* < 0.05)，见图 6~8。

3 讨论

金丝桃苷广泛存在于多种药用植物中，对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用，临床心血宁片、心安胶囊等以金丝桃苷为主要活性物质的药物主要用于治疗心绞痛，金丝桃苷具有多种生物活性，其作用机制涉及抗氧化、抗 NO 自由基形成、抑制钙离子内流、调控磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路等^[13-14]，对于其抗心肌缺血再灌注及抗脑缺血再灌注损伤的作用及相关机制研究较多，但不够充分，本研究观察了金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠室

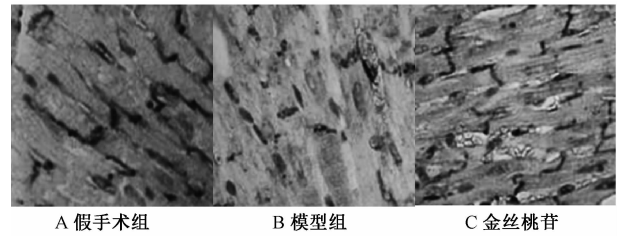


图 6 心肌组织 Cx43 免疫组化染色 (×400)

Fig. 6 Immunohistochemical staining of Cx43 in myocardial tissue (×400)

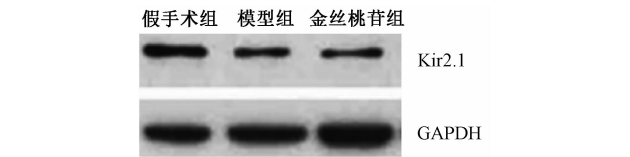


图 7 心肌组织 Kir2.1 蛋白表达

Fig. 7 Protein expression of myocardial Kir2.1

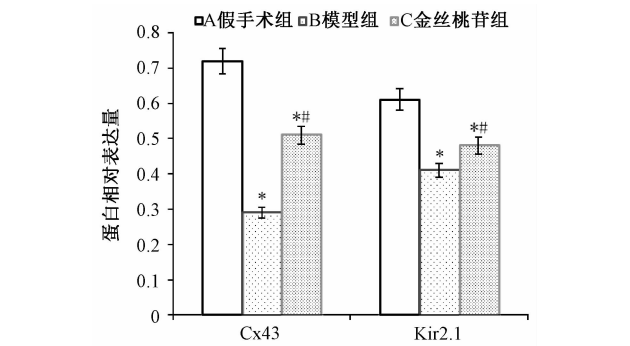


图 8 金丝桃苷预处理对 I/R 大鼠 Cx43、Kir2.1 蛋白表达影响 (n = 15)

Fig. 8 Effect of hyperoside on Cx43 and Kir2.1 protein expression in I/R Rats (n = 15)

性心律 ATP 酶活性及 Cx43 和 Kir2.1 蛋白表达影响，从分子水平探讨其减轻心律失常的作用机制。

心肌缺血时心肌细胞发生变性、坏死溶解，再灌注损伤增加心肌细胞膜通透性，血液中心肌损伤标志物水平升高，心肌细胞损伤程度与 CK-MB、cTnI 水平相关^[15]，本研究结果中缺血再灌注模型组的大鼠血清 CK-MB、cTnI 水平明显高于对照组，金丝桃苷预处理组 CK-MB、cTnI 水平明显降低，HE 染色结果也证实金丝桃苷预处理组心肌损伤较模型组减轻，提示金丝桃苷预处理可减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤。心律失常发病机制研究目前尚未完全阐明，有研究表明其与传导纤维及自律细胞退行性病变、离子通道异常、迷走神经张力异常、心肌细胞两侧离子转运有关^[16]。Na⁺-K⁺-ATP 酶作

为细胞膜上普遍存在的离子驱动泵, 主要功能为跨膜转运 Na^+ 、 K^+ , 在水解 ATP 的同时, 能够对抗细胞膜两侧的电化学梯度, 维持膜内外 Na^+ 、 K^+ 浓度差, Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶的主要功能为跨细胞膜主动转运 Ca^{2+} 到细胞外以及从胞质主动摄取 Ca^{2+} 进入肌浆网, 由于钙池内 Ca^{2+} 释放出现障碍, 肌浆网膜对于 Ca^{2+} 的通透性下降, 钙内流减少, 导致窦房结起搏细胞自动去极化减慢, 诱发缓慢性心律失常, Na^+ - K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶参与心肌细胞膜离子通道与离子转运^[17], 心肌细胞膜两侧离子转运是动作电位形成基础, 由于细胞膜通透性的影响, 与离子通道有关, 心脏离子通道异常是缓慢性心律失常形成主要原因^[18]。本研究结果表明, 金丝桃苷预处理可显著提高心肌缺血再灌注心律失常大鼠心肌组织 Na^+ - K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性, 维持细胞内外正常离子浓度梯度与电化学梯度, 保持细胞正常能量代谢。

人体组织中的缝隙连接蛋白主要有 Cx40、Cx43、Cx45 3 种, Cx43 为心肌细胞间主要的连接蛋白, 6 号染色体上存在 Cx43 功能基因, Cx43 基因主要由 GJA1 基因编码, 于心肌细胞连接处呈簇状分布, 维持细胞之间通讯、能量交换及化学信息传递, Cx43 表达下降可致使细胞电失耦联, 延长动作电位时程与复极化进程, 导致传导阻滞, Cx43 在维持心脏正常发育、心脏整体电活动的同步性及协调性分泌具有重要作用^[19-20]。Cx43 异常表达及分布导致电传导耦联与细胞间传导减低, 诱发折返性心律失常, 纯合子小鼠敲除 Cx43 基因, 心脏结构与收缩功能正常, 但于 2 个月时均自发室性心律失常致死, 采用基因疗法增加 Cx43 表达可发挥对致死性心律失常的保护作用^[20]。Kir2.1 蛋白主要由 17 号染色体 KCNJ₂ 基因编码产生, Kir2.1 蛋白介导的 IK1 电流可维持静息膜电位稳定, Kir2.1 蛋白功能减退或者表达降低可减小动作电位 3 期快速复极化的电流强度, 延长 QT 间期与动作电位时程, 产生心律失常^[21-22]。本研究结果表明, 模型组的大鼠心肌组织 Cx43、Kir2.1 蛋白表达水平下降, 金丝桃苷预处理组心肌组织 Cx43、Kir2.1 蛋白表达明显升高, 可能是金丝桃苷减缓缺血再灌注大鼠心律失常的作用机制之一, Cx43、Kir2.1 蛋白表达上调与编码 Cx43、Kir2.1 蛋白的靶基因 GJA1、KCNJ₂ 基因表达有关。缝隙连接通道开闭与多种因素有关, 如细胞内 Ca^{2+} 水平、细胞内胞液 pH、跨通道电压、缝隙蛋白磷酸化状态

等, 细胞内 Ca^{2+} 水平下降, 缝隙连接通道的电传导降低, 可呈现剂量依赖性, 金丝桃苷增加 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶维持心脏离子通道, 上调 Cx43 蛋白表达, 发挥抗心律失常作用。

金丝桃苷预处理减缓心肌缺血再灌注大鼠心律失常作用机制可能与提高 Na^+ - K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性, 上调 Cx43 和 Kir2.1 蛋白表达水平有关, 通过上调缝隙连接或离子通道基因、蛋白表达, 恢复细胞间缝隙连接蛋白功能与 IK1 电流, 纠正动作电位与 P-R 间期及 QRS 时间、胞间传导速度等, 抑制心律失常产生, 其调节 Cx43、Kir2.1 蛋白表达的具体机制可能与 GJA1、KCNJ₂ 基因有关, 有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Fanton Y, Robic B, Rummens J L, *et al.* Cardiac atrial appendage stem cells engraft and differentiate into cardiomyocytes *in vivo*: A new tool for cardiac repair after MI[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 201: 10-19.

[2] Horvat D, Vincelj J. Impact of reperfusion therapy and infarct localization on frequency of premature ventricular beats in acute myocardial infarction [J]. *Med Glas (Zenica)*, 2015, 12 (2): 139-143.

[3] Li Z L, Hu J, Li Y L, *et al.* The effect of hyperoside on the functional recovery of the ischemic/reperfused isolated rat heart: potential involvement of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 57: 132-140.

[4] Hou J Y, Liu Y, Liu L, *et al.* Protective effect of hyperoside on cardiac ischemia reperfusion injury through inhibition of ER stress and activation of Nrf2 signaling[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(1): 76-80.

[5] Ni M, Ruan L, Zhang C. Antiarrhythmic peptide AAP10 prevents arrhythmias induced by protein kinase C activation in rabbit left ventricular wedges[J]. *Int Heart J*, 2015, 56(2): 234-238.

[6] Aiba T, Noda T, Hidaka I, *et al.* Acetylcholine suppresses ventricular arrhythmias and improves conduction and connexin-43 properties during myocardial ischemia in isolated rabbit hearts [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2015, 26 (6): 678-685.

[7] Zhao G, Zhang W, Li L, *et al.* Pinocembrin protects the brain against ischemia-reperfusion injury and reverses the autophagy dysfunction in the penumbra area[J]. *Molecules*, 2014, 19 (10): 15786-15798.

[8] Gao J, Zhao Y, Wang Y, *et al.* Anti-arrhythmic effect of acupuncture pretreatment in rats subjected to simulative global ischemia and reperfusion—involvement of intracellular Ca^{2+} and connexin 43[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15: 5.

[9] Rampazzo A, Calore M, van Hengel J, *et al.* Intercalated discs

and arrhythmogenic cardiomyopathy[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2014, 7(6): 930-940.

[10] Kohl P. Structural and functional recoupling of atrial and ventricular myocardium: new conduits for electrical flow[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 64(24): 2586-2588.

[11] Patil K D, Halperin H R, Becker L B. Cardiac arrest: resuscitation and reperfusion [J]. *Circ Res*, 2015, 116 (12): 2041-2049.

[12] Curtis M J, Walker M J. Quantification of arrhythmias using scoring systems; an examination of seven scores in an *in vivo* model of regional myocardial ischaemia [J]. *Cardiovasc Res*, 1988, 22(9): 656-665.

[13] 李 冀, 闫 东, 潘若凡, 等. 乌腺金丝桃抗快速型心律失常活性成分作用机制研究[J]. 中医药学报, 2013, 41 (1): 9-10.

[14] 韩 军, 宣佳利, 胡浩然, 等. 金丝桃苷预处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤作用与 PI3K/Akt 信号通路的关系 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(1): 118-123.

[15] Irfan A, Reichlin T, Twerenbold R, *et al.* Cardiomyocyte injury induced by hemodynamic cardiac stress: Differential release of cardiac biomarkers [J]. *Clin Biochem*, 2015, 48 (18): 1225-1229.

[16] Dong Q, Li J, Wu Q F, *et al.* Blockage of transient receptor potential vanilloid 4 alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury in mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42678.

[17] Randhawa P K, Jaggi A S. Investigating the involvement of TRPV. sub. 1 ion channels in remote hind limb preconditioning-induced cardioprotection in rats [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2017, 390(2): 117-126.

[18] Lu T, Jiang B, Wang X L, *et al.* Coronary arterial BK channel dysfunction exacerbates ischemia/reperfusion-induced myocardial injury in diabetic mice[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2016, 41(9): 992-1001.

[19] Wu T, Wu D, Wu Q, *et al.* Effect and mechanism of Irbesartan on occurrence of ventricular arrhythmias in rats with myocardial ischemia through connexin43 (cx43) [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(10): 1007-1012.

[20] Grippo A J, Moffitt J A, Henry M K, *et al.* Altered Connexin 43 and Connexin 45 protein expression in the heart as a function of social and environmental stress in the prairie vole[J]. *Stress*, 2015, 18(1): 107-114.

[21] Santos-Almeida F M, Girão H, da Silva C A, *et al.* Cholinergic stimulation with pyridostigmine protects myocardial infarcted rats against ischemic-induced arrhythmias and preserves connexin43 protein[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 308(2): H101-H107.

[22] Shin S Y, Jo W M, Min T J, *et al.* Gap junction remodelling by chronic pressure overload is related to the increased susceptibility to atrial fibrillation in rat heart [J]. *Europace*, 2015, 17 (4): 655-663.

清肝二十七味丸对酒精性肝损伤小鼠的保护作用

齐 欣, 李洪清*
(内蒙古民族大学临床医学院消化科, 内蒙古 通辽 028000)

摘要: **目的** 探讨清肝二十七味丸(寒水石、红花、石膏,等)对酒精性肝损伤(ALD)小鼠的保护作用。**方法** 60 只小鼠随机分为正常组,模型组,清肝二十七味丸高、中、低剂量组及联苯双酯组;模型组及各给药组小鼠均以白酒 [10 mL/(kg·d)]、吡唑 [25 mL/(kg·d)]、玉米油 [2 mL/(kg·d)]混合物灌胃,早晚各 1 次;在 2 次灌胃间隔期间,灌胃给予清肝二十七味丸 [1.6、0.8、0.4 g/(kg·d)] 及联苯双酯 [0.15 g/(kg·d)],造模周期为 12 周;检测谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、羟脯氨酸 (Hyp)、层粘连蛋白 (LN)、透明质酸 (HA)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、Wnt 及 β-连环蛋白 (β-catenin) 水平。**结果** 与模型组比较,清肝二十七味丸高、中、低剂量组的血清 ALT、AST、LN、HA 水平及高、中剂量组的 Hyp 水平均显著性降低 ($P<0.05$)。清肝二十七味丸组肝组织 MDA 水平显著降低, SOD 及 GSH-Px 水平显著升高 ($P<0.05$), 各给药组肝组织 Wnt 及 β-catenin 蛋白的相对表达量均显著降低 ($P<0.05$)。**结论** 清肝二十七味丸对酒精性肝损伤小鼠具有保护作用,该作用与其具有的抗氧化及抑制 Wnt/β-catenin 信号通路激活作用有关。**关键词:** 清肝二十七味丸;酒精性肝损伤;氧化应激;Wnt/β-catenin 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)02-0260-06

收稿日期: 2017-04-19

作者简介: 齐 欣 (1984—), 女, 硕士, 主治医师, 从事消化系统炎症相关性肿瘤的诊断及治疗研究。Tel: 15247537377, E-mail: 2475774343@qq.com

* **通信作者:** 李洪清 (1967—), 女, 蒙古族, 硕士, 主任医师, 从事消化系统炎症相关性肿瘤的诊断及治疗研究。Tel: 15848652161, E-mail: qx624615@163.com

260