

# 替米沙坦对心房颤动患者心房肌细胞钾通道和 Cx40 表达的影响

尹遇冬<sup>1</sup>, 何飞<sup>2</sup>(1.焦作市人民医院心内二区, 河南 焦作 454000; 2.郑州大学第一附属医院心血管内科, 郑州 450052)

**摘要:**目的 探讨替米沙坦对心房颤动(atrial fibrillation, AF)患者心房肌细胞钾通道和缝隙连接蛋白 40(Connexin 40, Cx40)表达的影响。方法 选取 11 例 AF 患者为研究对象, 心脏手术中建立体外循环并切除患者右心耳组织。采用急性酶分离法获取单个心房肌细胞, 将心房肌细胞分为 4 组: 对照组、低剂量组(10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦)、中剂量组(30  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦)和高剂量组(100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦)。采用 CCK-8 法检测各组心房肌细胞活力; qRT-PCR 检测钾通道相关基因 Kir2.1、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5 及 Cx40 mRNA 表达水平; Western blotting 检测 Kir2.1、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5、Cx40 蛋白表达情况。结果 与对照组相比, 替米沙坦不同剂量组心房肌细胞存活率、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5 mRNA 及蛋白表达水平均显著升高( $P<0.05$ ), 高剂量组显著高于中、低剂量组( $P<0.05$ ); 心房肌细胞中 Kir2.1、Cx40 mRNA 及蛋白表达水平均显著降低( $P<0.05$ ), 且高剂量组显著低于中、低剂量组( $P<0.05$ )。结论 替米沙坦可能通过影响钾通道相关基因表达及下调心房肌细胞 Cx40 表达进而拮抗 AF 患者心房重构。

**关键词:** 心房颤动; 替米沙坦; 钾通道; 缝隙连接蛋白 40

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)06-0708-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.06.014

引用本文: 尹遇冬, 何飞. 替米沙坦对心房颤动患者心房肌细胞钾通道和 Cx40 表达的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(6): 708-713.

## Effects of Telmisartan on Expressions of Potassium Channel and Cx40 in Atrial Myocytes of Patients with Atrial Fibrillation

YIN Yudong<sup>1</sup>, HE Fei<sup>2</sup>(1.Department of Medicine, Jiaozuo People's Hospital, Jiaozuo 454000, China; 2.Department of Medicine, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the effects of telmisartan on the expression of potassium channel and Connexin 40(Cx40) in atrial myocytes of patients with atrial fibrillation(AF). **METHODS** Eleven patients with AF were selected as the study subjects, cardiopulmonary bypass was established during cardiac surgery and the right atrial appendage tissues were excised. Acute enzymatic isolation was used to obtain single atrial myocytes, atrial myocytes were divided into four groups: control group(untreated), low dose group(10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  telmisartan), medium dose group(30  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  telmisartan), and high dose group(100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  telmisartan). CCK-8 method was used to detect the viability of atrial myocytes in each group; qRT-PCR was used to detect the expressions of potassium channels related genes Kir2.1, Kir3.4, Kv4.3, Kv1.5, and Cx40 mRNA; the expressions of Kir2.1, Kir3.4, Kv4.3, Kv1.5 and Cx40 proteins were detected by Western blotting. **RESULTS** Compared with the control group, the survival rate of atrial myocytes, Kir3.4, Kv4.3, and Kv1.5 mRNAs and proteins expression levels in different doses of telmisartan were significantly increased( $P<0.05$ ), the high dose group was significantly higher than the middle and low dose groups( $P<0.05$ ); the expression levels of Kir2.1 and Cx40 mRNAs and proteins in atrial myocytes were significantly decreased( $P<0.05$ ), the high dose group was significantly lower than the middle and low dose groups( $P<0.05$ ). **CONCLUSION** Telmisartan may antagonize atrial remodeling in AF patients by affecting the expression of potassium channel-related genes and down-regulating the expression of Cx40 in atrial myocytes.

**KEYWORDS:** atrial fibrillation; telmisartan; potassium channels; Connexin 40

心房颤动(atrial fibrillation, AF)是一种常见的心律失常疾病, 其具有较高的发病率且常发生于任何年龄人群, AF 还可诱发充血性心力衰竭进而增加血管栓塞性脑卒中发生的风险<sup>[1]</sup>。因而寻找安全有效的药物治疗 AF 具有重要意义。替米沙坦是血管紧张素 II 受体拮抗剂类药物, 可通过提高脂

联素表达进而保护心脏<sup>[2]</sup>。电重构可能是 AF 发病机制, 研究显示心房快速起搏、心房动作电位(action potential duration, APD)、有效不应期(effective refractive period, ERP)缩短等均对 AF 发生及发展产生重要影响<sup>[3]</sup>。还有研究表明, 心房电重构细胞电生理基础较为复杂, 而 AF 患者不同时

基金项目: 2017 年河南省科技攻关项目(182102310160)

作者简介: 尹遇冬, 男, 主治医师 Tel: 13839117087 E-mail: wangxiaoyun197901@163.com

期各种离子流发生变化可引起电重构,其中瞬间外向钾通道(transient out  $K^+$  channels,  $I_{tol}$ )、内向整流性钾通道(inward rectifying potassium channel,  $I_{Kir}$ )、乙酰胆碱敏感性钾通道(Acetylcholine-sensitive  $K^+$  channel,  $I_{KAch}$ )对 AF 发生过程中至关重要<sup>[4]</sup>。相关研究表明缝隙连接蛋白 40(connexin 40, Cx40)重构与房性心律失常及血管紧张素 II 含量有关<sup>[5]</sup>。关于替米沙坦治疗 AF 的效果及可能作用机制研究相对较少,本研究探讨替米沙坦对 AF 患者心房肌细胞  $K_1$  通道  $Kir2.1$ 、 $KACH$  通道  $Kir3.4$ 、 $Tol$  通道  $Kv4.3$ 、 $Kv1.5$  及 Cx40 表达的影响,为临床合理用药提供理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验对象

选取焦作市人民医院收治的 11 例 AF 患者为研究对象,所有患者均符合相关诊断标准<sup>[6]</sup>,男 8 例,女 3 例,年龄为 44~55 岁,平均为(50.16±4.32)岁,所有 AF 患者病程均>1 年,均接受心脏外科手术,根据心功能分级均为 II 级<sup>[7]</sup>。排除标准:风湿性疾病患者;近期服用抗菌药物者;代谢性疾病患者;严重肝肾功能不全者。本研究经伦理委员会批准,患者知情且签署同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 试剂与仪器** 替米沙坦(京万生药业有限责任公司,批号:H201502036;规格:40 mg×7 片),溶于羟甲基纤维素钠(0.5%);KB 溶液(北京中诺泰安科技有限公司);5'-溴-2'-脱氧尿苷(5-Bromo-2'-deoxyuridine, 5-BrdU,武汉艾美捷科技有限公司);DMEM 培养基、胎牛血清均购自大连美仑生物技术有限公司;细胞计数试剂盒 8(CCK8,武汉默沙克生物科技有限公司,批号:PC0020);蛋白裂解液、BCA 试剂盒(批号:2395266)均购自北京索莱宝科技有限公司; $Kir2.1$ 、 $Kir3.4$ 、 $Kv4.3$ 、 $Kv1.5$ 、Cx40 抗体均购自美国 CST 公司(批号分别为 PA5-37452, PA5-53594, PA5-77583, PA5-77650, 36-4900);Trizol、SYBR Green 及反转录试剂盒均购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司(批号分别为 10296021, S-7567, 12574012)。酶标仪、蛋白凝胶成像仪均购自赛默飞世尔科技公司;实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);倒置显微镜(日本奥林巴斯)。

**1.2.2 采集标本** 体外循环手术插管前切取右心

耳组织(100 mg),清理血液及脂肪组织,置于氧饱和和低温无钙液(配方参照文献[8])中,保温温度为 37 ℃,5~10 min 内送入实验室进行试验研究。

**1.2.3 心房肌细胞分离** 采用急性酶分离法分离单个心房肌细胞,称取心房肌组织,剪碎,清洗后放入含有 II 型胶原酶(150~200  $U \cdot mL^{-1}$ )牛血清白蛋白的无钙液,孵育 30 min,温度为 37 ℃,弃上清,剩余组织块放入 10 mL 含 I 型胶原酶的消化液中,36.5 ℃水浴锅内消化 45 min,接着放入 10 mL 含 II 型胶原酶的新鲜酶溶液内继续孵育 45 min,消化过程中每隔 10 min 显微镜下观察细胞状况,当出现横纹清晰、杆状细胞后,加入 10 mL 含 20%胎牛血清培养液,终止消化;采用 200 目钢筛过滤消化液中未消化组织,以 12 000  $r \cdot min^{-1}$  离心 5 min,除去酶液,弃上清,置于无钙液中,加入 KB 溶液置于 4 ℃冰箱内保存,收集心房肌细胞<sup>[8]</sup>。

**1.2.4 心房肌细胞鉴定** 采用差速贴壁法、5-BrdU 纯化心房肌细胞,放入含有 10%胎牛血清的 DMEM 培养基,置于  $CO_2$  培养箱(37 ℃、5% $CO_2$ )内进行培养,40 h 后更换为无血清培养基,继续培养 24 h,采用细胞免疫荧光法鉴定心房肌细胞<sup>[9]</sup>。

**1.2.5 试验分组** 试验分为 4 组,对照组:未经任何处理的心房肌细胞;低剂量组:替米沙坦置于二甲基亚砷中配制成浓度为 10  $mmol \cdot L^{-1}$  的母液,稀释成终浓度为 10  $\mu mol \cdot L^{-1}$  替米沙坦预处理心房肌细胞;中剂量组:终浓度为 30  $\mu mol \cdot L^{-1}$  替米沙坦预处理心房肌细胞;高剂量组:终浓度为 100  $\mu mol \cdot L^{-1}$  替米沙坦预处理心房肌细胞<sup>[10]</sup>,处理后各组细胞继续培养 24 h 进行后续测定。

**1.2.6 CCK-8 法检测各组心房肌细胞活力** 取各组心房肌细胞接种于 96 孔板( $1 \times 10^4 mL^{-1}$ ),继续培养 24 h 后分别加入 CCK-8 溶液(每孔 10  $\mu L$ ),继续培养 2 h,收集细胞,应用全自动酶标仪于 450 nm 处检测各孔细胞吸光度,细胞存活率(%)=实验组吸光值/对照组吸光值×100%。每个浓度设置 3 个重复,实验重复 3 次。

**1.2.7 qRT-PCR 检测  $Kir2.1$ 、 $Kir3.4$ 、 $Kv4.3$ 、 $Kv1.5$ 、Cx40 mRNA 表达水平** 收集各组心房肌细胞,采用 Trizol 法提取细胞总 RNA,RNA 反转录为 cDNA。合成各基因引物见表 1,引物均由上海生物工程股份有限公司合成。参照 SYBR 试剂盒进

行 qRT-PCR 反应,反应体系为 20  $\mu$ L: SYBR Green Premix 6  $\mu$ L, cDNA 1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 8  $\mu$ L, 上下游引物各 0.5  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 4  $\mu$ L。反应程序: 95  $^{\circ}$ C 60 s, 95  $^{\circ}$ C 10 s, 60  $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 次循环。Kir2.1、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5、Cx40 均以 GADPH 为内参基因, 采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算其相对表达量。

表 1 各基因引物序列

Tab. 1 Sequence of each gene primer

| 基因          |    | 引物序列                      |
|-------------|----|---------------------------|
| K1/Kir2.1   | 正向 | GACCTGGAGACGGACGAC        |
|             | 反向 | AGCCTGGAGTCTGTCAAAGTC     |
| KAch/Kir3.4 | 正向 | TTTTCCAACAACGCAGTCA       |
|             | 反向 | CACAACCTCAAACCTCTTC       |
| Tol/Kv4.3   | 正向 | CTGCCCTTCTCAACCCCAAATACTC |
|             | 反向 | ACCGCTTCAAAACACCAGGACTC   |
| Tol/Kv1.5   | 正向 | GGGGCAAGATCGTGGGTTC       |
|             | 反向 | CCTGCTCCTCGTGGTCTGTCT     |
| Cx40        | 正向 | GCACACTGTGCGCATGCAGG      |
|             | 反向 | TGCTGGCCTTACTAAGGCG       |
| GADPH       | 正向 | CCCATCACCATCTTCCAGGAGCG   |
|             | 反向 | GGCAGGGATGATGTTCTGGAGAGCC |

**1.2.8 Western blotting 检测 Kir2.1、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5、Cx40 蛋白表达情况** 收集各组心房肌细胞, RIPA 裂解液提取蛋白, BCA 定量各蛋白浓度。取 30  $\mu$ g 蛋白样品与加样缓冲液混匀后进行 SDS-PAGE 反应分离蛋白, 电转至 PVDF 膜, 脱脂奶粉(5%)室温封闭 90 min, 分别加入兔抗鼠 Kir2.1、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5、Cx40 单克隆抗体(稀释比均为 1:300), 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 清洗, 加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(稀释比为 1:3000), 室温孵育 90 min, TBST 清洗后进行 ECL 显色反应, 应用 Quantity One4.6.2 凝胶成像分析系统进行定量分析, 蛋白相对表达量=目的蛋白条带积分光密度值/内参照条带积分光密度值。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件 SPSS 22.0 分析试验数据, 计量资料符合正态分布的数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用  $t$  检验, 各组数据均以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 心房肌细胞培养与鉴定

细胞培养 24 h 后置于倒置显微镜下观察细胞形态, 结果显示大部分细胞呈梭形、多边形, 部分细胞, 48 h 后呈多边形、三角形、梭形, 不规

则细胞则伸出伪足, 采用抗横纹肌  $\alpha$ -actin 抗体鉴定心肌细胞, 结果显示心肌细胞纯度为 95%, 见图 1。

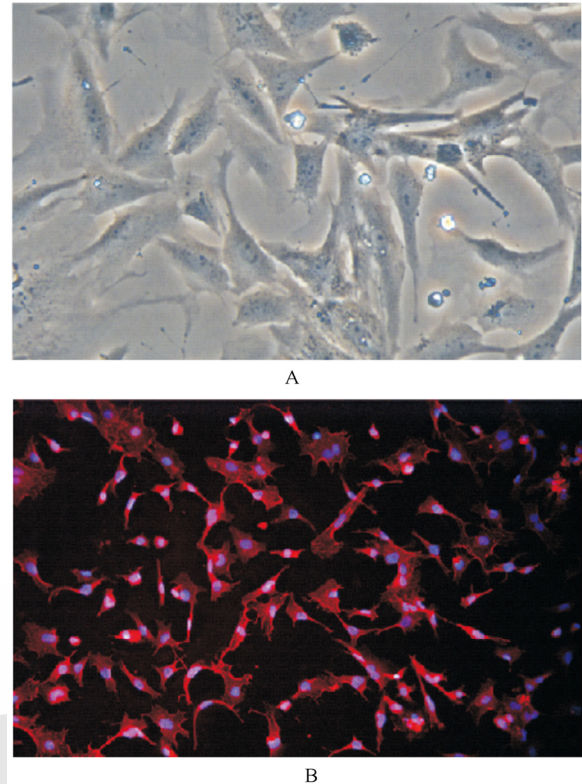


图 1 细胞形态与免疫荧光染色结果(400 $\times$ )

A-细胞形态; B-原代培养心房肌细胞免疫荧光染色。

Fig. 1 Cell morphology and the immunofluorescence staining(400 $\times$ )

A-cell morphology; B-immunofluorescence staining of primary cultured atrial myocytes.

### 2.2 不同浓度替米沙坦对 AF 患者心房肌细胞存活率的影响

替米沙坦低剂量组、中剂量组、高剂量组及对照组心房肌细胞存活率分别为(55.47 $\pm$ 8.49)%, (56.12 $\pm$ 9.36)%, (67.48 $\pm$ 8.26)%, (35.49 $\pm$ 5.92)%, 替米沙坦不同剂量组心房肌细胞存活率均显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 高剂量组显著高于中、低剂量组( $P < 0.05$ )。

### 2.3 不同浓度替米沙坦对 AF 患者心房肌细胞钾通道的影响

替米沙坦不同剂量组心房肌细胞中 Kir2.1 mRNA 及蛋白表达水平均显著低于对照组( $P < 0.05$ ), 且高剂量组显著低于中、低剂量组( $P < 0.05$ ); 而 Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5 mRNA 及蛋白表达水平均显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 见表 2~3 和图 2。

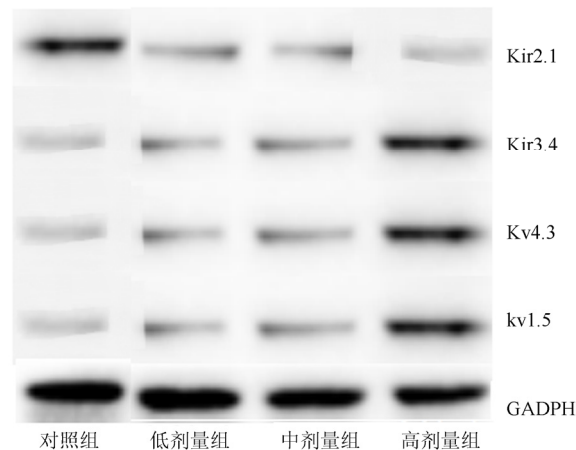
**表 2** 钾通道中 Kir2.1、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5 mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab. 2** Comparison of mRNA expression levels of Kir2.1, Kir3.4, Kv4.3 and Kv1.5 in potassium channels( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | Kir2.1 mRNA               | Kir3.4 mRNA               | Kv4.3 mRNA                | Kv1.5 mRNA                |
|------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组  | 1.00±0.02                 | 0.98±0.05                 | 1.00±0.03                 | 0.99±0.05                 |
| 低剂量组 | 0.86±0.34 <sup>1)2)</sup> | 1.08±0.13 <sup>1)2)</sup> | 1.01±0.17 <sup>1)2)</sup> | 1.10±0.31 <sup>1)2)</sup> |
| 中剂量组 | 0.74±0.18 <sup>1)2)</sup> | 1.15±0.28 <sup>1)2)</sup> | 1.27±0.36 <sup>1)2)</sup> | 1.14±0.38 <sup>1)2)</sup> |
| 高剂量组 | 0.62±0.21 <sup>1)</sup>   | 1.22±0.23 <sup>1)</sup>   | 1.35±0.23 <sup>1)</sup>   | 1.53±0.26 <sup>1)</sup>   |

注: 与对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; 与高剂量组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; compared with the high dose group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ .



**图 2** 各组钾通道中 Kir2.1、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5 蛋白表达情况

**Fig. 2** Protein expression of Kir2.1, Kir3.4, Kv4.3 and Kv1.5 proteins in potassium channels of each group

**表 3** 钾通道中 Kir2.1、Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5 蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab.3** Comparison of expression levels of Kir2.1, Kir3.4, Kv4.3 and Kv1.5 proteins in potassium channels( $\bar{x} \pm s$ )

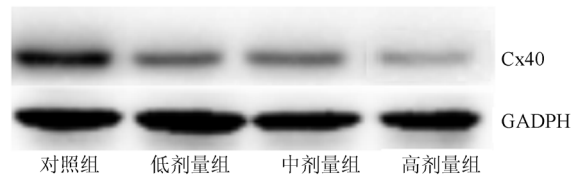
| 组别   | Kir2.1                    | Kir3.4                    | Kv4.3                     | Kv1.5                     |
|------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组  | 1.42±0.47                 | 0.47±0.16                 | 0.67±0.22                 | 0.55±0.09                 |
| 低剂量组 | 0.95±0.19 <sup>1)2)</sup> | 0.87±0.15 <sup>1)2)</sup> | 1.10±0.32 <sup>1)2)</sup> | 0.76±0.13 <sup>1)2)</sup> |
| 中剂量组 | 0.86±0.29 <sup>1)2)</sup> | 1.14±0.19 <sup>1)2)</sup> | 1.18±0.39 <sup>1)2)</sup> | 0.88±0.18 <sup>1)2)</sup> |
| 高剂量组 | 0.34±0.11 <sup>1)</sup>   | 1.42±0.23 <sup>1)</sup>   | 1.65±0.31 <sup>1)</sup>   | 1.29±0.22 <sup>1)</sup>   |

注: 与对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; 与高剂量组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; compared with the high dose group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ .

## 2.4 不同浓度替米沙坦对 AF 患者心房肌细胞 Cx40 表达的影响

替米沙坦不同剂量组心房肌细胞中 Cx40 mRNA 及蛋白表达水平均显著低于对照组 ( $P<0.05$ ), 且高剂量组显著低于中剂量组、低剂量组 ( $P<0.05$ ), 见图 3 和表 4。



**图 3** 各组心房肌细胞 Cx40 蛋白表达情况

**Fig. 3** Cx40 protein expression in atrial myocytes of each group

**表 4** AF 患者心房肌细胞 Cx40 mRNA 及蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab.4** Comparison of Cx40 mRNA and protein expression levels in atrial myocytes of patients with AF( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | Cx40 mRNA                 | Cx40 蛋白                   |
|------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组  | 1.00±0.06                 | 1.25±0.21                 |
| 低剂量组 | 0.80±0.08 <sup>1)2)</sup> | 1.02±0.10 <sup>1)2)</sup> |
| 中剂量组 | 0.75±0.07 <sup>1)2)</sup> | 0.97±0.12 <sup>1)2)</sup> |
| 高剂量组 | 0.53±0.18 <sup>1)</sup>   | 0.41±0.07 <sup>1)</sup>   |

注: 与对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; 与高剂量组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; compared with the high dose group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ .

## 3 讨论

AF 可引发心力衰竭等并发症, 且严重降低患者生活质量, 临床采用射频消融术等方法阻止心房颤动, 但由于手术复杂、术后易复发等原因限制其广泛应用。研究显示心肌细胞动作电位复极过程中的主要电流为 Kv1.5 钾通道电流, 通过阻断 Kv1.5 钾通道可延长心房肌细胞动作电位时程及 ERP, 可作为心房颤动治疗靶点<sup>[11]</sup>。替米沙坦可通过抑制炎症因子等释放并促进心肌细胞分泌脂联素进而保护心肌细胞<sup>[12]</sup>。关于替米沙坦与 AF 患者钾通道的相关研究相对较少, 因此本研究通过原代培养 AF 患者心房肌细胞并初步分析替米沙坦对其钾通道及 Cx40 的影响, 试图揭示其可能作用机制。

替米沙坦可有效治疗冠心病合并高血压患者, 并可改善患者血管内皮功能及抑制动脉粥样硬化病变<sup>[13]</sup>。替米沙坦可能通过抑制血凝素样氧化低密度脂蛋白受体-1 及肿瘤坏死因子- $\alpha$  表达进而抑制心肌成纤维细胞增殖, 同时还可能通过激活 ERK 信号通路进而逆转心肌肥厚<sup>[14-15]</sup>。本研究结果显示, 替米沙坦不同剂量组心房肌细胞存活率均显著高于对照组, 高剂量组显著高于中、低剂量组, 说明替米沙坦可有效保护 AF 患者心房肌细胞且呈剂量依赖效应。但需进一步分析其可能通过哪些通道发挥作用。Kir2.1 是  $I_{K1}/I_{Kir}$  主要编码

基因, 研究表明 Kir2.1 mRNA 表达水平升高可促使 AF 患者心房肌  $I_{K1}/I_{Kir}$  上调进而参与 AF 电重构 ERP 缩短过程<sup>[16]</sup>。本研究结果显示, 替米沙坦不同剂量组心房肌细胞中 Kir2.1 mRNA 及蛋白表达水平均显著低于对照组, 且高剂量组显著低于中、低剂量组, 说明替米沙坦可有效降低 Kir2.1 表达且呈剂量依赖性, 提示替米沙坦可能通过降低 Kir2.1 表达进而延长 ERP 时程。 $I_{KACh}$  是由 Kir3.4 编码钾通道介导, 持续性心房颤动患者中 Kir3.4 表达水平显著降低导致心房肌细胞 APD、ERP 缩短<sup>[17]</sup>。本研究结果显示替米沙坦不同剂量组心房肌细胞中 Kir3.4 mRNA 及蛋白表达水平均显著高于对照组, 且高剂量组显著高于中、低剂量组, 说明替米沙坦可有效上调 Kir3.4 表达。提示替米沙坦可能通过上调 Kir3.4 进而延长 APD、ERP。AF 时  $I_{tol}$  改变主要是由 Kv4.3、Kv1.5 介导, 研究显示 AF 患者  $I_{tol}$  通道持续激活导致 Kv4.3、Kv1.5 基因表达降低并与 ERP 复极异常等有关, 而钾通道阻滞剂治疗后可有效延长 APD、ERP<sup>[18-19]</sup>。本研究结果显示, 替米沙坦不同剂量组心房肌细胞中 Kv4.3、Kv1.5 mRNA 及蛋白表达水平均显著高于对照组, 且高剂量组显著高于中、低剂量组, 说明替米沙坦可有效上调 Kv4.3、Kv1.5 表达, 且呈剂量依赖效应。提示替米沙坦可能通过上调 Kv4.3、Kv1.5 表达并促使 AF 患者心房肌细胞 APD、ERP 延长进而缓解心房颤动。

心房重构与重塑过程 Cx40 可发挥重要作用, 但关于其具体作用机制尚未完全阐明<sup>[20]</sup>。Cx40 是心房肌细胞缝隙连接中重要组成部分, 其可与 Nav1.3 通道共同决定心房肌电信号传导速度<sup>[21]</sup>。Cx40 形成的细胞间隙链接, 有利于电信号的传导, Cx40 表达下降可能会造成心肌传导阻滞, 表达升高可能会造成心肌异常兴奋, AF 患者心房肌 Cx40 蛋白表达量增加, 而 AF 患者心房肌 Cx40 呈低表达, 分析原因可能为检测组织部位不同导致其表达变化程度不同<sup>[22-25]</sup>。本研究结果显示, 替米沙坦处理后心房肌细胞中 Cx40 mRNA 及蛋白表达显著低于对照组, 呈量效依赖性。说明替米沙坦可下调心房肌细胞 Cx40 表达, 提示替米沙坦可能具有调节 AF 患者心房重构的作用。

综上所述, 替米沙坦可能通过下调 Kir2.1 表达并上调 Kir3.4、Kv4.3、Kv1.5 表达, 同时下调 Cx40 表达, 进而改善钾通道持续激活引起的心房

电重构, 可作为临床预防及治疗房颤提供理论基础。本研究存在一定不足, 关于替米沙坦对 AF 患者心房肌细胞钾通道的具体作用机制有待深入研究。

## REFERENCES

- [1] DONG A A, YU H Z, QIU D D, et al. Network meta-analysis of Shensong Yangxin capsules combined with amiodarone for paroxysmal atrial fibrillation [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(12): 1573-1580.
- [2] YANG R, HE C Z, WANG Y L, et al. Effect of telmisartan on protection of myocardia of mice with viral myocarditis [J]. Chin J Nosocomiol(中华医院感染学杂志), 2016, 26(6): 1319-1321.
- [3] UETAKE S, MIYAUCHI Y, HAYASHI M, et al. Electrophysiological characteristics of a left atrial anomalous muscular band in a case with paroxysmal atrial fibrillation [J]. HeartRhythm Case Rep, 2015, 1(2): 78-81.
- [4] JUHASZ V, HORNYIK T, BENAK A, et al. Comparison of the effects of IK, ACh, IKr, and INa block in conscious dogs with atrial fibrillation and on action potentials in remodeled atrial trabeculae [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2018, 96(1): 18-25.
- [5] FENG Y, SUN J, WANG L, et al. A study of the association between the connexin 40 rs35594137 polymorphism and atrial fibrillation in Xinjiang Chinese Han and Uygur populations [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4): 15705-15712.
- [6] WU Z D, SU Y G. Diagnosis and clinical significance of new-onset atrial fibrillation after pacemaker implantation [J]. Chin J Cardiac Arrhythm(中华心律失常学杂志), 2016, 20(1): 81-84.
- [7] YAN J X, LIN Q Y, XIANG J W. Investigate the changes of BNP and IL-33 levels and their clinical diagnostic values in different heart function classification of patients with heart failure [J]. Chin J Biochem Pharm(中国生化药物杂志), 2017, 37(6): 403-406.
- [8] 王胜文, 魏敏, 杜明昭, 等. 替米沙坦对慢性心房颤动患者心房肌细胞 KACh 的影响[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(21): 4644-4646.
- [9] ZHAO L, YI T T, LUO S L, et al. Eplerenone partly reverses thyroid hormone induced myocardial electrical remodeling [J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志), 2017, 33(3): 428-434.
- [10] MA X Q, CHEN J, ZHAO B X, et al. Effect of telmisartan and amlodipine on myocardial fibroblasts proliferation of neonatal rats induced by angiotensinII [J]. Chin J Evid-Bases Cardiovasc Med(中国循证心血管医学杂志), 2016, 8(8): 928-931.
- [11] GONG Y Z, LIU X X, WU J, et al. Development in atrial fibrillation and Kv1.5 potassium channel blockers research [J]. Prog Mod Biomed(现代生物医学进展), 2015, 15(12): 2386-2389.
- [12] OURA K, TADOKORO T, FUJIHARA S, et al. Telmisartan inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation *in vitro* by inducing cell cycle arrest [J]. Oncol Rep, 2017, 38(5): 2825-2835.
- [13] LAN X Y, XU S H. Effect of telmisartan on vascular endothelial function and inflammatory factors of patients with coronary heart disease and hypertension [J]. China Med Herald(中国医药导报), 2015, 12(33): 142-145.
- [14] SHANG P, LIU T, LIU W, et al. Telmisartan improves

- vascular remodeling through ameliorating prooxidant and profibrotic mechanisms in hypertension via the involvement of transforming growth factor- $\beta$ 1 [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 4537-4544.
- [15] ZHANG Y, SHAO L, MA A, et al. Telmisartan delays myocardial fibrosis in rats with hypertensive left ventricular hypertrophy by TGF- $\beta$ 1/Smad signal pathway [J]. *Hypertens Res*, 2014, 37(1): 43-49.
- [16] WOO J, KIM HJ, NAM Y R, et al. Mitochondrial dysfunction reduces the activity of KIR2.1 K<sup>+</sup> channel in myoblasts via impaired oxidative phosphorylation [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2018, 22(6): 697-703.
- [17] CHENG C J, SUNG C C, WU S T, et al. Novel KCNJ5 mutations in sporadic aldosterone-producing adenoma reduce Kir3.4 membrane abundance [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(1): 155-163.
- [18] YANG Q, LV Q, FENG M, et al. Taurine prevents the electrical remodeling in Ach-CaCl<sub>2</sub> induced atrial fibrillation in rats [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 2(5): 821-830.
- [19] 黄侠. Kv1.5 钾通道和心房颤动的研究进展[J]. *中国医师杂志*, 2015, 17(9):1433-1435.
- [20] ZHANG F, BIAN Y, HUANG L, et al. Association between connexin 40 and potassium voltage-gated channel subfamily A member 5 expression in the atrial myocytes of patients with atrial fibrillation [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(5): 5170-5176.
- [21] ZHANG Y T, HU Y H, CHEN W, et al. Influence of Wenxin Granule on atrial myocytes calcium-handling Cav1.2-CaM-CaMK II signal pathway of atrial fibrillation rat [J]. *China J Tradit Chin Med(中华中医药杂志)*, 2017, 32(5): 2246-2249.
- [22] KANTHAN A, FAHMY P, RAO R, et al. Human Connexin40 mutations slow conduction and increase propensity for atrial fibrillation [J]. *Heart Lung Circ*, 2018, 27(1): 114-121.
- [23] CARBALLO S, PFENNIGER A, CARBALLO D, et al. Differential association of Cx37 and Cx40 genetic variants in atrial fibrillation with and without underlying structural heart disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): pii:295.
- [24] HOU S, LU Y, HAUNG D, et al. Association of atrial fibrillation with gene polymorphisms of connexin 40 and angiotensin II receptor type 1 in Chongming adults of Shanghai [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(7): 11803-11810.
- [25] GEMEL J, LEVY A E, SIMON A R, et al. Connexin40 abnormalities and atrial fibrillation in the human heart [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 76(5): 159-168.

收稿日期: 2019-01-03

(本文责编: 曹粤锋)