

丹参酮II_A通过PKC/Cx43通路减轻大鼠心肌缺血再灌注致心律失常

周 露, 李冰艳, 顾霞飞, 徐敏钦, 唐广胜*

南京医科大学 康达学院, 江苏 连云港 222000

摘要: 目的 探讨丹参酮II_A (TA) 对再灌注致心律失常的改善作用及机制。方法 取60只SD大鼠随机分为6组: 对照组, 模型组, TA低、高剂量(10、20 mg·kg⁻¹)组, 蛋白激酶C(PKC)激活剂PMA(5 mg·kg⁻¹)组, TA(20 mg·kg⁻¹)联合PKC抑制剂Rottlerin(5 mg·kg⁻¹)组, 每组10只。构建SD大鼠心肌缺血再灌注(I/R)模型, 缺血30 min再灌注30 min; 再灌注期间记录各组小鼠II导联心电图并对再灌注后心律失常严重性进行评分; 再灌注结束后, 取颈静脉血采用试剂盒检测心肌损伤指标肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、天冬氨酸转氨酶(AST)和心肌肌钙蛋白(cTnT)水平; 取左心室心脏组织, 使用试剂盒检测丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性, 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测PKC、缝隙连接蛋白43(Cx43) mRNA表达, Western blotting法检测PKC、Cx43蛋白表达水平和磷酸化水平。结果 与模型组比较, TA 2个剂量组和PKC激活剂PMA组CK-MB、LDH、AST、cTnT、MDA水平均显著降低, SOD活性显著升高, 室性早搏(PVB)次数、室性心动过速(VT)次数和持续时间以及心室颤动(VF)次数和持续时间显著减少, 心律失常评分显著降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05, 0.01, 0.001$); 而TA联合PKC抑制剂组显著削弱TA的作用($P < 0.05, 0.01, 0.001$); 与模型组相比, TA 2个剂量组和PMA组Cx43 mRNA表达和磷酸化水平显著升高($P < 0.01, 0.001$), 而PKC抑制剂使TA的作用显著减弱($P < 0.05, 0.001$)。结论 TA通过激活PKC调控Cx43表达和磷酸化而改善再灌注后心律失常, 减轻心肌I/R损伤。

关键词: 心肌缺血再灌注; 心律失常; 丹参酮II_A; 缝隙连接蛋白43(Cx43); 蛋白激酶C(PKC)

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)12-2617-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.12.016

Tanshinone II_A attenuates myocardial ischemia-reperfusion induced arrhythmias in rats via PKC/CX43 pathway

ZHOU Lu, LI Bingyan, GU Xiafei, XU Minqin, TANG Guangsheng

Kangda College of Nanjing Medical University, Lianyungang 222000, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of tanshinone II_A (TA) on reperfusion arrhythmia. **Methods** Totally 60 SD rats were randomly divided into six groups: control group, model group, TA low and high dose (10 and 20 mg·kg⁻¹) group, PKC activator group PMA (5 mg·kg⁻¹) and TA (20 mg·kg⁻¹) combined with PKC inhibitor Rottlerin (5 mg·kg⁻¹) group, 10 in each group. The model of myocardial ischemia/reperfusion (I/R) was established in SD rats, which lasted for 30 min and 30 min respectively. Recorded the lead II electrocardiogram of each group of mice during reperfusion and scored the severity of arrhythmia after reperfusion. At the end of reperfusion, the levels of creatine kinase isoenzyme (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), and cardiac troponin (cTnT) in the jugular vein blood were measured by Elisa kit. The contents of malondialdehyde (MDA) and the activity of superoxide dismutase superoxide dismutase (SOD) were detected by kit. The mRNA levels of protein kinase C (PKC), and gap junction protein 43 (Cx43) were detected by real time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). The protein levels of PKC, phosphorylated PKC, Cx43 and phosphorylated Cx43 were detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the contents of CK-MB, LDH, AST, cTnT and MDA in TA two dose groups and PKC activator group were significantly decreased, while the activity of SOD was increased, the frequency of premature ventricular beats

收稿日期: 2023-10-02

基金项目: 江苏省高等学校基础科学(自然科学)面上基金资助项目(21KJB310001); 南京医科大学科技发展基金资助项目(NMUB2020039); 连云港市重点研发计划基金资助项目(SF2249)

第一作者: 周 露(1990—), 女, 江苏省邳州市, 硕士研究生, 讲师, 研究方向为心血管药理学。E-mail: lu86366662@njmu.edu.cn

*通信作者: 唐广胜(1991—), 男, 江苏省连云港市, 硕士研究生, 讲师, 研究方向为数字解剖。E-mail: tanggs@njmu.edu.cn

(PVB), the frequency and duration of ventricular tachycardia (VT) and ventricular fibrillation (VF) were significantly reduced, the differences were statistically significant ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). TA combined with PKC inhibitor could weaken the above-mentioned effects of TA ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Compared with the model group, the levels of Cx43 mRNA and phosphorylated Cx43 were increased in the two TA dose groups ($P < 0.01, 0.001$), but the effect was attenuated by PKC inhibitor ($P < 0.05, 0.001$).

Conclusion TA ameliorates reperfusion arrhythmia and myocardial I/R injury by activating PKC to regulate CX43 expression and phosphorylation.

Key words: myocardial ischemia-reperfusion; arrhythmias; tanshinone II_A; gap junction protein 43 (Cx43); protein kinase C (PKC)

缺血性心脏病主要是由于冠状动脉粥样硬化造成供血不足而引起心肌缺血的疾病,其发病率和死亡率位居心血管疾病前列^[1]。目前,治疗缺血性心脏病最直接有效的方法是经溶栓、冠状动脉介入治疗术或冠状动脉旁路移植术恢复缺血区血供,而恢复缺血区血供会进一步加重心肌损伤、扩大梗死面积,被称为缺血再灌注(I/R)损伤。I/R引起的室性心律失常是引起再灌注患者猝死的主要原因^[2],80%以上的急性心肌梗死患者在再灌注后发生心律失常,包括致死性的室性心动过速(VT)和心室颤动(VF)。然而,目前尚无有效的策略来预防I/R损伤以及再灌注后心律失常。

丹参酮II_A(TA)是丹参主要活性成分之一,在临床上广泛应用于心血管疾病的治疗,如冠心病、心绞痛、心肌梗死等。研究表明,TA具有抗炎、抗氧化应激、保护血管内皮、减轻心肌I/R损伤的作用^[3-4]。但TA改善再灌注后心律失常的作用及机制研究甚少。心律失常的发生与缝隙连接蛋白43(Cx43)密切相关,在心律失常发生时,Cx43的分布、表达以及磷酸化水平都会发生改变^[5]。本研究旨在通过构建大鼠心肌I/R模型探讨TA对再灌注后心律失常的作用并以Cx43为中心探讨其机制,以期为临床减轻I/R损伤及预防再灌注后心律失常提供新的实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级雄性SD大鼠,体质量220~240 g,购自南京医科大学实验动物中心,实验动物生产许可证号SCXK(苏)2002-0031。本实验经南京医科大学实验动物福利伦理委员会批准(批准文号IACUC-2202043)。

1.2 药物及主要试剂

TA(成都德斯特生物技术有限公司,货号DD0011,质量分数 $\geq 98\%$);蛋白激酶C(PKC)激活剂PMA(Sigma公司,货号79346,质量分数 $\geq 98\%$);PKC抑制剂Rottlerin(Sigma公司,货号557370,质

量分数 $\geq 98\%$);心肌损伤指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)检测试剂盒(美国R&D公司);心肌肌钙蛋白(cTnT)检测试剂盒(瑞士Roche公司);蛋白浓度(BCA法)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);实时荧光定量PCR(RT-PCR)检测试剂盒(日本Takara公司);GAPDH、Cx43、p-Cx43^{ser368}、PKC、p-PKC^{thr514}抗体(英国Abcam公司)。

1.3 实验仪器

小动物生物机能实验系统(BL-420F型,成都泰盟科技有限公司);小动物呼吸肌(HX-100E型,成都泰盟科技有限公司);酶标仪(美国BioTek公司);垂直电泳装置及转膜装置(美国Bio-Rad公司);凝胶成像系统,(Kodak Image Station 4000R型,美国Kodak公司);荧光定量PCR仪(ABI Prism 7300型,美国AB公司)。

2 方法

2.1 动物分组及I/R模型构建

选取60只SD大鼠随机分为6组:对照组,模型组,TA低、高剂量(10、20 mg·kg⁻¹)组,PKC激活剂PMA(5 mg·kg⁻¹)组,TA(20 mg·kg⁻¹)联合PKC抑制剂Rottlerin(5 mg·kg⁻¹)组,每组10只。给予TA各组小鼠ig TA,其余组ig等量0.9%氯化钠溶液,每天1次,连续给药7 d。末次给药4 h后,各组小鼠ip 1%戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)进行麻醉,激活剂和联合抑制剂组于造模前15 min尾iv PMA或Rottlerin。除对照组只穿线不结扎外,其余各组小鼠按文献方法^[6]结扎冠脉左前降支建立I/R模型。以心电图ST段抬高、结扎线以下组织变色为心肌缺血标志,缺血30 min后松开结扎线,以抬高的ST段逐渐回落为I/R造模成功的标志。再灌注30 min后,钝性分离颈静脉并插管取血,进行心肌损伤指标检测,处死小鼠取左心室组织。

2.2 再灌注心律失常监测

手术全程记录大鼠II导联心电图,记录和分析

各组大鼠再灌注后30 min内室性早搏(PVB)的次数、室性心动过速(VT)次数和持续时间以及心室颤动(VF)次数和持续时间,按照《心脏组织学图谱》^[7]中心律失常评分标准进行评分:PVB数<5计0分;PVB数≥5计1分;VT仅1次<60 s计2分;高频次VT,整体持续时间<60 s,或仅1次VT持续时间≥60 s计3分;高频次VT,且持续时间≥60 s计4分;VF可恢复计5分;VF无法恢复计6分。

2.3 血清中心肌损伤指标检测

各组血液样本静置后,3 000 r·min⁻¹离心15 min后,取血清,根据试剂盒说明书测定心肌损伤标志物CK-MB、LDH、AST和cTnT水平。

2.4 心肌氧化应激水平检测

取再灌注30 min后大鼠左心室组织,加入组织裂解液匀浆、离心,提取蛋白质,BCA法检测各组蛋白浓度后,按照试剂盒说明书检测MDA水平和SOD活性。

2.5 qRT-PCR法检测PKC、Cx43 mRNA表达水平

取各组大鼠左心室组织采用Trizol法提取总RNA,测定浓度后,按照逆转录试剂盒说明书合成cDNA。qRT-PCR反应体系为SYBER Green PCR Master Mix 10 μL、cDNA 2 μL、上下游引物(10 pmol·L⁻¹)混合液 2 μL、ddH₂O 6 μL。反应条件为95 °C、10 min,95 °C、15 s,60 °C、1 min,共40个循环。以β-actin为内参基因,使用2^{-ΔΔCt}法定量PKC、Cx43 mRNA转录水平,相对表达量由PCR扩增产量与内参β-actin比值得出。引物序列见表1。

2.6 Western blotting检测Cx43、PKC蛋白表达和磷酸化水平

取各组大鼠左心室心脏组织加入裂解液匀浆、离心,提取蛋白质,采用BCA法进行蛋白定量后加入SDS上样缓冲液,99 °C加热样品5 min后冷冻保存。取50 μg蛋白上样,进行SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、封闭,依次加入相应蛋白一抗、二抗,加发光

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列(5'→3')	
PKC	上游	CCGCCTCTACTTTGTGAT
	下游	CCTTGCGTTTCGAGTTTCT
Cx43	上游	GAAGGCGTGAGGAAAGTA
	下游	GTGGAAATGGCAAAGACA
β-actin	上游	CTATCGGCAATGAGCGGTTCC
	下游	TGTGTTGGCATAGAGGTCTTTACG

液后在显影仪上显影,使用Image J软件对条带进行灰度分析检测PKC、Cx43和p-Cx43的蛋白表达水平。

2.7 统计分析

采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析,各组计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey检验。

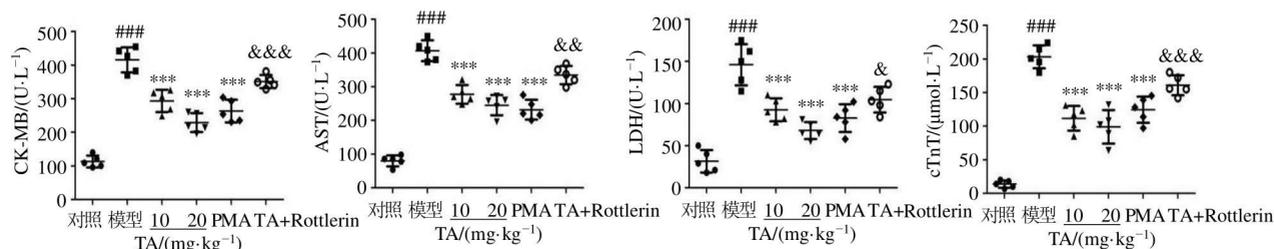
3 结果

3.1 各组大鼠心肌组织损伤情况

如图1所示,再灌注30 min后,与对照组相比,模型组心肌损伤指标CK-MB、cTnT、AST和LDH水平均显著升高($P < 0.001$),I/R过程造成了心肌损伤。与模型组相比,给予TA后,心肌损伤指标均显著降低($P < 0.05, 0.001$),TA 2个剂量组之间无显著差异,PKC激活剂PMA引起相似的心肌损伤改善作用($P < 0.001$)。与TA(20 mg·kg⁻¹)组比较,TA联合PKC抑制剂Rottlerin组大鼠心肌损伤指标显著升高($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。结果说明,TA可以改善心肌损伤,且这一作用与PKC有关。

3.2 各组大鼠氧化应激指标水平

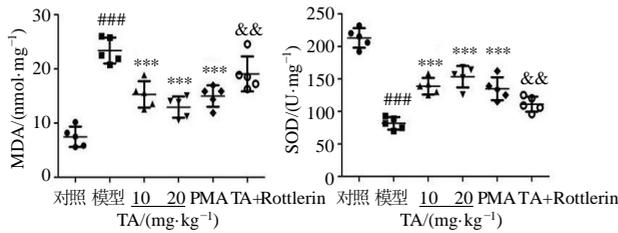
如图2所示,再灌注后,与对照组相比,模型组大鼠MDA水平显著升高而SOD水平显著降低($P < 0.001$),说明I/R引起氧化应激。与模型组相比,TA 2个剂量组和PMA组均显著降低MDA水平、升高SOD水平($P < 0.001$),从而降低I/R引起的氧化应



与对照组比较:### $P < 0.001$;与模型组比较:*** $P < 0.001$;与TA(20 mg·kg⁻¹)组比较:& $P < 0.05$ && $P < 0.01$ &&& $P < 0.001$
 #### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs model group; & $P < 0.05$ && $P < 0.01$ &&& $P < 0.001$ vs TA (20 mg·kg⁻¹) group

图1 各组大鼠血清中CK-MB、AST、LDH和cTnT水平($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 1 Contents of CK-MB, AST, LDH and cTnT in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=5$)



与对照组比较:### $P < 0.001$;与模型组比较:*** $P < 0.001$;与 TA (20 mg·kg⁻¹) 组比较:&& $P < 0.01$
$P < 0.001$ vs control group;*** $P < 0.001$ vs model group;&& $P < 0.01$ vs TA (20 mg·kg⁻¹) group

图 2 各组大鼠心脏组织中 MDA、SOD 水平($\bar{x} \pm s, n=5$)
Fig. 2 Levels of MDA and SOD in heart tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=5$)

表 2 各组大鼠再灌注期间 PVB 次数、VT 次数和持续时间($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Number of PVB, number and duration of VT during reperfusion in each group ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	PVB 次数	VT 次数	VT 持续时间/s	VF 次数	VF 持续时间/s	心律失常评分
对照	—	3.60±1.95	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40±0.55
模型	—	63.20±6.46 ^{###}	4.80±1.30 ^{###}	49.18±10.82 ^{###}	0.80±0.45 ^{##}	4.26±2.62 [#]	8.20±1.79 ^{###}
TA	10	37.00±4.64 ^{***}	1.40±0.89 ^{***}	20.90±13.70 ^{**}	0.00 ^{**}	0.00 [*]	3.20±1.30 ^{***}
	20	34.20±3.63 ^{***}	1.00±0.00 ^{***}	14.74±13.81 ^{***}	0.00 ^{**}	0.00 [*]	2.60±1.52 ^{***}
PMA	5	34.00±4.06 ^{***}	1.60±0.55 ^{***}	17.44±5.61 ^{***}	0.00 ^{**}	0.00 [*]	3.60±0.55 ^{**}
TA+Rottlerin	20+5	48.00±4.87 ^{&}	3.00±0.71 ^{&}	34.46±3.67 ^{&}	0.60±0.55 ^{&}	3.72±3.63 ^{&}	7.00±2.74 ^{&&}

与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$;与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$;与 TA (20 mg·kg⁻¹) 组比较: & $P < 0.05$ && $P < 0.01$ &&& $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; & $P < 0.05$ && $P < 0.01$ &&& $P < 0.001$ vs TA (20 mg·kg⁻¹) group

0.05、0.01)。结果说明,TA 和 PMA 具有改善再灌注后心律失常的作用,而 TA 的这一作用可被 PKC 抑制剂部分阻断。

3.4 各组大鼠 PKC、Cx43 mRNA 表达水平

如图 3 所示,与对照组相比,模型组 Cx43 和 PKC mRNA 表达水平显著降低($P < 0.001$);与模型组相比,TA 2 个剂量组和 PMA 组的 PKC mRNA 表达没有显著差异,Cx43 mRNA 表达显著升高($P < 0.01$ 、0.001);TA 联合 Rottlerin 组较 TA (20 mg·kg⁻¹) 组 Cx43 mRNA 表达降低,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。结果表明,TA 可以通过调控 Cx43 mRNA 表达,从而降低 I/R 引起的氧化应激和心肌损伤,改善心律失常。

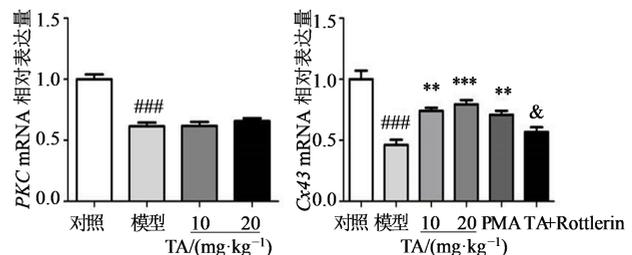
3.5 各组大鼠 PKC、Cx43 蛋白质表达和磷酸化水平

各组大鼠心脏组织的 PKC、p-PKC 和 Cx43 蛋白表达水平没有显著差异,而 p-Cx43 水平有显著差异。与对照组相比,模型组 p-Cx43 水平显著降低($P < 0.001$);与模型组比较,给予 TA 后,p-Cx43 表达水平明显回升($P < 0.001$);与 TA (20 mg·kg⁻¹)

组比较,Rottlerin 部分逆转了 p-Cx43 表达水平的回升($P < 0.001$),PMA 具有和 TA 相似的作用。见图 4。

3.3 各组大鼠心律失常发生情况

如表 2 所示,各组大鼠进行造模之前,均未出现 VT 和 VF。与对照组相比,模型组 PVB 出现的次数、VT 和 VF 出现的次数及持续时间均明显增加,心律失常评分显著增加($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。与模型组比较,给予 TA 或 PMA 后,PVB 出现次数、VT 和 VF 出现的次数显著降低,持续时间显著缩短,心律失常评分显著降低($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。与 TA (20 mg·kg⁻¹) 组比较,TA 联合 Rottlerin 组心律失常各项指标均明显升高($P <$



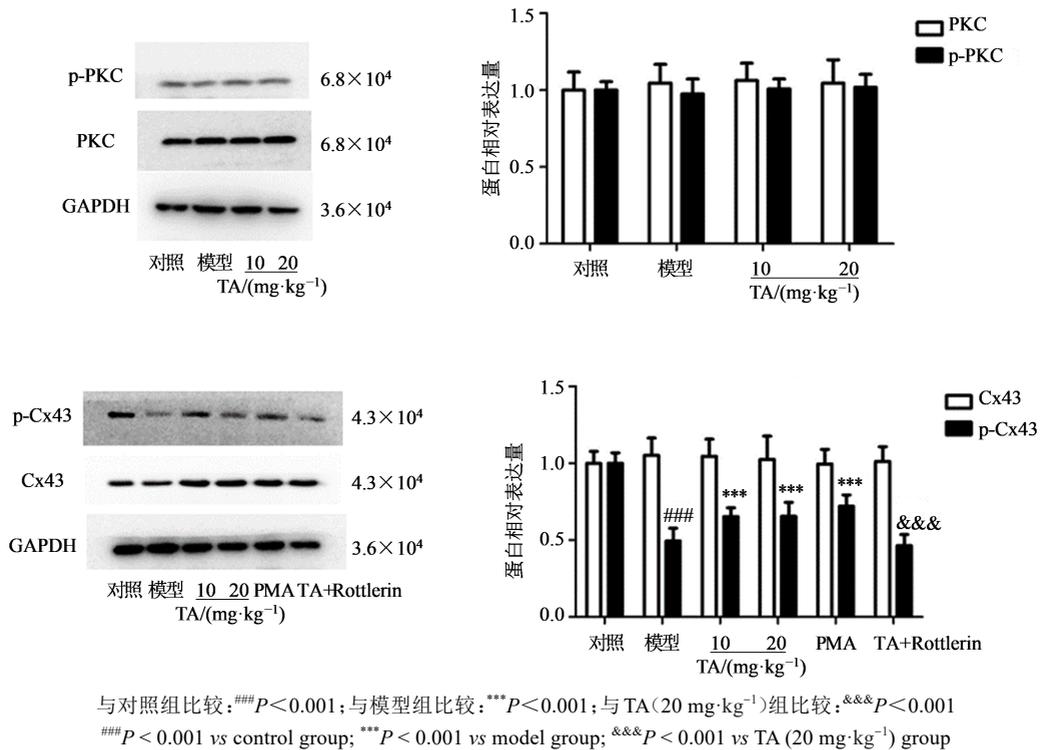
与对照组比较:### $P < 0.001$;与模型组比较:** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$;与 TA (20 mg·kg⁻¹) 组比较:& $P < 0.05$
$P < 0.001$ vs control group; ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; & $P < 0.05$ vs TA (20 mg·kg⁻¹) group

图 3 各组大鼠 PKC、Cx43 mRNA 表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 3 Expression levels of PKC and Cx43 mRNA in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组比较,Rottlerin 部分逆转了 p-Cx43 表达水平的回升($P < 0.001$),PMA 具有和 TA 相似的作用。见图 4。

4 讨论

TA 是我国传统中药材丹参中的主要活性成分之一,其注射液制剂在临床上被广泛应用于冠心病、心绞痛、心肌梗死等疾病的治疗。TA 的药理学

图4 各组大鼠PKC、Cx43蛋白质表达和磷酸化水平($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 4 Protein expression and phosphorylation of PKC and Cx43 in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

特性也被广泛研究,目前发现TA具有抗炎、减轻氧化应激、扩张血管、保护缺血心肌细胞的作用。TA减轻I/R损伤的作用被多项研究证实,Zhang等^[8]发现TA可以通过PI3K/AKT通路减轻糖尿病大鼠I/R损伤,王松等^[9]证实TA纳米胶束可以减轻I/R损伤氧化应激、减少梗死。本研究发现TA可以减轻I/R心肌损伤和氧化应激,这与以上研究结果一致。此外,本研究还发现TA改善再灌注后心律失常,其机制与PKC/Cx43通路有关。

再灌注后心律失常是I/R损伤常见的临床表现,常发生在再灌注早期,其中VT和VF是导致心源性休克、心脏骤停猝死的主要原因,因此减轻再灌注后心律失常至关重要。再灌注后心律失常发病机制复杂,炎症反应、氧化应激、细胞凋亡都是引起再灌注后心律失常的病理基础^[10-12]。近年来,越来越多的研究认为Cx43与心律失常的发生密切相关^[13-14]。缝隙连接蛋白家族是一类位于细胞表面的半通道组成蛋白,介导细胞间的信息交流和物质交换^[15]。其中,在心脏中表达量最高并且与心脏传导密切相关的分子是Cx43^[16],含有Cx43的缝隙连接电耦联心肌细胞,使电脉冲传播,从而协调心肌同步收缩。研究表明,再灌注后心律失常的发生发展与Cx43的表达减少、分布紊乱和磷酸化水平下降等

改变相关,而增加Cx43的表达或磷酸化具有减轻I/R损伤、改善再灌注后心律失常的作用^[16-17]。本研究中,I/R引起Cx43 mRNA表达水平和磷酸化水平降低,TA使Cx43 mRNA表达水平和磷酸化水平回升,再灌注心律失常和I/R心肌损伤减轻,但蛋白质表达没有明显变化,可能与再灌注时间尚短,不足以引起蛋白质水平改变有关。

Cx43的磷酸化在调控缝隙连接蛋白的功能中发挥重要作用。人类心脏组织中的Cx43至少有21个磷酸化位点,受多种蛋白激酶的磷酸化,包括丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、酪蛋白激酶1(CK1)、蛋白激酶B(PKB)和PKC等^[18-19]。不同蛋白激酶使Cx43的不同位点磷酸化,研究表明,PKC可直接磷酸化Cx43 ser368位点,使半通道闭合,缝隙连接蛋白功能快速降低,从而使缝隙连接的通透性和传导性降低^[20-21]。发生I/R后,Cx43大量降解、去磷酸化,使缝隙连接功能异常,造成细胞通透性、传导性增高,心肌细胞间互相传递,最终导致大范围钙超载、氧化应激和电传导异常,引发心律失常。此外,Cx43在I/R过程中会发生闰盘重构,即由闰盘向细胞侧膜移位,这个现象加剧缝隙连接的损伤,同时也使心肌组织电传导速率降低,可能引起严重的传导阻滞,诱发折返性心律失常^[22]。研究发现,激活

PKC,可以增加Cx43磷酸化水平,减轻I/R心肌损伤并对抗心律失常,而PKC抑制剂则加重心律失常^[17,23-24]。本研究中,PKC激活剂升高Cx43 mRNA表达水平和ser368位磷酸化水平,发挥类似TA改善再灌注心律失常、减轻心肌损伤的保护作用,这一结果与上述研究一致。而TA联合PKC抑制剂使TA回升的Cx43 mRNA表达水平和磷酸化水平降低,说明TA可通过激活PKC促进Cx43 mRNA表达和磷酸化,改善缝隙连接功能,从而减轻再灌注心律失常和心肌损伤。

TA可以通过激活PKC促进Cx43 mRNA表达和蛋白磷酸化,从而改善再灌注心律失常,减轻I/R心肌损伤。本研究为TA治疗再灌注损伤提供了实验依据,但仅从PKC/Cx43通路初步探讨了TA心脏保护作用的机制,后续将通过特异性干预MAPK/Cx43、PKB/Cx43及CK1/Cx43等通路深入探讨TA的心脏保护作用,为TA应用于IR损伤治疗提供更多依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rezende P C, Ribas F F, Serrano C V, et al. Clinical significance of chronic myocardial ischemia in coronary artery disease patients [J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(3): 1005-1015.
- [2] Dauerman H L, Ibanez B. The edge of time in acute myocardial infarction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 77(15): 1871-1874.
- [3] Ansari M A, Khan F B, Safdari H A, et al. Prospective therapeutic potential of Tanshinone IIA: An updated overview [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 164: 105364.
- [4] Jiang Z Y. Mechanism research of *Salvia miltiorrhiza* on treating myocardial ischemia reperfusion injury according to network pharmacology combined with molecular docking technique [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(48): e28132.
- [5] Remo B F, Qu J X, Volpicelli F M, et al. Phosphatase-resistant gap junctions inhibit pathological remodeling and prevent arrhythmias [J]. *Circ Res*, 2011, 108(12): 1459-1466.
- [6] Zhao W, Wu Y Y, Ye F H, et al. Tetrandrine ameliorates myocardial ischemia reperfusion injury through miR-202-5p/TRPV2 [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 8870674.
- [7] 郭志坤. 正常心脏组织学图谱 [M]. 第3版. 郑州: 河南科学技术出版社, 2015.
- [8] Guo Z K. *Normal Heart Histological Map* [M]. 3th Ed. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 2015.
- [8] Zhang Y, Wei L, Sun D, et al. Tanshinone IIA pretreatment protects myocardium against ischaemia/reperfusion injury through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway in diabetic rats [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2010, 12(4): 316-322.
- [9] 王松, 汪茂胜, 周定荣, 等. 丹参酮II_A聚乙二醇-聚己内酯纳米胶束的制备、细胞内分布及减少心肌缺血再灌注损伤的研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(8): 2141-2150.
- [9] Wang S, Wang M S, Zhou D R, et al. Preparation, intracellular distribution and reduction of myocardial ischemia-reperfusion injury of tanshinone II_A PEG-PCL micelles [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, 51(8): 2141-2150.
- [10] He W P, Li J C, Wang G M. Effect of total flavonoids of buckwheat flower and leaf on myocardial cell apoptosis and Wnt/ β -catenin/PPAR γ pathway in arrhythmic rats [J]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2023, 48(1): 220-225.
- [11] García N, Zazueta C, Aguilera-Aguirre L. Oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 5853238.
- [12] Schirone L, Forte M, Palmerio S, et al. A review of the molecular mechanisms underlying the development and progression of cardiac remodeling [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 3920195.
- [13] Bai L, Wang T. Connexin 43 and ischemic arrhythmia [J]. *Chinese Heart Journal*, 2017, 29(5): 592-594.
- [14] Anđelova K, Egan Benova T, Szeiffova Bacova B, et al. Cardiac connexin-43 hemichannels and Pannexin1 channels: Provocative antiarrhythmic targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1): 260.
- [15] Boengler K. Stimulation of cardiac beta-adrenoceptors targets connexin 43 [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 158(1): 195-197.
- [16] He H, Li N, Zhao Z H, et al. Ischemic postconditioning improves the expression of cellular membrane connexin 43 and attenuates the reperfusion injury in rat acute myocardial infarction [J]. *Biomed Rep*, 2015, 3(5): 668-674.
- [17] Rong B, Xie F, Sun T, et al. Nitric oxide, PKC- ϵ , and connexin43 are crucial for ischemic preconditioning-induced chemical gap junction uncoupling [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(43): 69243-69255.
- [18] Zhang Q W, Bai X, Liu Y, et al. Current concepts and perspectives on Connexin43: A mini review [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2018, 19(11): 1049-1057.
- [19] Hirschhäuser C, Lissoni A, Görges P M, et al. Connexin 43 phosphorylation by casein kinase 1 is essential for the cardioprotection by ischemic preconditioning [J]. *Basic*

- Res Cardiol, 2021, 116(1): 21.
- [20] Lampe P D, Cooper C D, King T J, et al. Analysis of Connexin43 phosphorylated at S325, S328 and S330 in normoxic and ischemic heart [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119 (16): 3435-3442.
- [21] Ashleigh R, Hood, . Regulation of cardiac gap junctions by protein phosphatases [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 107: 52-57.
- [22] Himelman E, Lillo M A, Nouet J, et al. Prevention of connexin-43 remodeling protects against Duchenne muscular dystrophy cardiomyopathy [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(4): 1713-1727.
- [23] Restivo M, Kozhevnikov D O, Qu Y S. Activation of ϵ PKC reduces reperfusion arrhythmias and improves recovery from ischemia: Optical mapping of activation patterns in the isolated Guinea-pig heart [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 426(2): 237-241.
- [24] Sun B, Jiang J F, Zhao C M, et al. Effects of antiarrhythmic peptide 10 on acute ventricular arrhythmia [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2015, 8(3): 229-233.

[责任编辑 兰新新]