

胥良,牛思泉,袁义强,等. MD1 的缺失通过激活 TLR4/MyD88 信号通路增加肥胖小鼠室性心律失常的易感性 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(6): 76-82.

Xu L, Niu SQ, Yuan YQ, et al. MD1 deficiency increases the susceptibility to ventricular arrhythmia in obese mice by activating the TLR4/MyD88 signaling pathway [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(6): 76-82.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.06.011

MD1 的缺失通过激活 TLR4/MyD88 信号通路增加肥胖小鼠室性心律失常的易感性

胥 良,牛思泉,袁义强,杨少华,赵育洁*

(郑州市第七人民医院心血管内科,郑州 450000)

【摘要】 目的 探讨髓样分化蛋白 1(MD1)的缺失通过激活 Toll 样受体 4(TLR4)/髓样分化因子(MyD88)信号通路增加肥胖小鼠室性心律失常的易感性。**方法** 对 MD1 基因敲出小鼠 16 只和雄性 WT 小鼠 16 只进行分组,分别为 WT 正常组、MD1-ko⁻正常组、WT 高脂组、MD1-ko⁻高脂组。WT 高脂组和 MD1-ko⁻高脂组小鼠喂养 20 周高脂肪食物(含 60%的脂肪),WT 正常组和 MD1-ko⁻正常组正常饲料(含 10%的脂肪)喂养。测量小鼠的体重(BW)、血糖值、总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平、HW/BW 的比值。通过心电图和超声心动图测量 RR 间距、PR 间距、QRS 持续时间、QTc 间期、LVEDd、LVEDs、LVFS 和 LVEF。采用 Western blot 检测对分析 TLR4、MyD88、P-CAMKII、CollagenI、CollagenIII 和 TGF-β1 蛋白水平。通过 HE 染色和 PSR 染色观察小鼠心肌肥大和纤维化。**结果** MD1-ko⁻高脂组中的体指数、血糖值、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、QTc 间期、LVEDd、LVEDs、LVFS、LVEF 明显高于 WT 高脂组(均 $P<0.05$);MD1-ko⁻高脂组的动作点位时程(APD20、APD50、APD90)显著高于 WT 高脂组($P<0.05$);MD1-ko⁻高脂组 APD 交替阈值显著高于 WT 高脂组($P<0.05$);MD1-ko⁻高脂组心律失常比例显著高于 WT 高脂组($P<0.05$);MD1-ko⁻高脂组中 TLR4、MyD88 和 P-CAMKII 蛋白的表达明显高于 WT 高脂组(均 $P<0.05$);MD1-ko⁻高脂组 HW/BW 比值(7.59 ± 0.78)明显高于 WT 高脂组(6.07 ± 0.58)($P<0.05$)。MD1-ko⁻高脂组小鼠心肌细胞横截面积(381.23 ± 35.76) μm^2 明显高于 WT 高脂组(190.15 ± 25.23) μm^2 ($P<0.05$);MD1-ko⁻高脂组的 CollagenI、CollagenIII 和 TGF-β1 的蛋白明显高于 WT 高脂组($P<0.05$)。**结论** MD1 缺乏增加了高脂饮食诱导的心律失常的易感性,主要原因是由于 TLR4/MyD88 信号通路的激活增强,导致左心室的肥厚和纤维化,增加了 TLR4/MyD88 信号通路相关蛋白的表达。

【关键词】 VA;MD1;TLR4/MyD88;易感性;HW/BW 比值

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 06-0076-07

MD1 deficiency increases the susceptibility to ventricular arrhythmia in obese mice by activating the TLR4/MyD88 signaling pathway

XU Liang, NIU Siqun, YUAN Yiqiang, YANG Shaohua, ZHAO Yujie*
(Department of Cardiology, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou 450000, China)

【Abstract】 Objective To investigate effects of MD1 deficiency on the susceptibility of obese mice to ventricular arrhythmias and the mechanism involved. **Methods** Sixteen MD1-knockout (KO) mice and 16 male wild type (WT) mice

[基金项目] 郑州市科技计划项目(20130502)。

[作者简介] 胥良(1983—),男,硕士研究生,研究内科学方面。E-mail:jilijuan1111@sina.com

[通信作者] 赵育洁(1974—),女,硕士研究生,主任医师,研究心血管内科方面。

were divided into WT normal group, MD1-ko⁻ normal group, WT high fat group and MD1-ko⁻ high fat group. The high fat groups were fed a high-fat diet (fat energy accounted for 60%) for 20 weeks, and the normal groups were fed a normal diet (fat energy accounted for 10%). The body weight (BW), heart weight (HW), blood glucose level, total cholesterol, triglyceride and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels, and HW/BW ratio of the mice were measured. RR spacing, PR spacing, QRS duration, QTc interval, LVEDd, LVEDs, LVFS, and LVEF were measured by electrocardiography and echocardiography. Western blot was used to analyze TLR4, MyD88, P-CAMKII, Collagen I, Collagen III and TGF- β 1 protein levels. Cardiac hypertrophy and fibrosis were observed in mice by HE staining and PSR staining. **Results** The body index, blood glucose, total cholesterol, triglyceride, LDL cholesterol, QTc interval, LVEDd, LVEDs, LVFS, and LVEF were significantly higher in the MD1-ko⁻ high fat group than in the WT high fat group ($P < 0.05$). Furthermore, the action potential duration (APD20, APD50, APD90) of the MD1-ko⁻ high fat group was significantly higher than that of the WT high fat group ($P < 0.05$), and the APD alternating threshold of the MD1-ko⁻ high fat group was significantly higher than that of the WT high fat group ($P < 0.05$). The arrhythmia ratio of the MD1-ko⁻ high fat group was significantly higher than that of the WT high fat group ($P < 0.05$). The expression of TLR4, MyD88, and P-CAMKII in the MD1-ko⁻ high fat group was significantly higher than that in the WT high fat group ($P < 0.05$). The HW/BW ratio in the MD1-ko⁻ high fat group (7.59 ± 0.78) was significantly higher than that in the WT high fat group (6.07 ± 0.58 ; $P < 0.05$). The Gross hearts of the MD1-ko⁻ high fat group (381.23 ± 35.76) μm^2 was significantly higher than that of the WT high fat group (190.15 ± 25.23) μm^2 ; $P < 0.05$). Finally, the protein expression of Collagen I, Collagen III, and TGF- β 1 in the MD1-ko⁻ high fat group was significantly higher than that in the WT high fat group ($P < 0.05$). **Conclusions** MD1 deficiency increases the susceptibility to high-fat-diet-induced arrhythmias, mainly because of enhanced activation of the TLR4/MyD88 signaling pathway, leading to left ventricular hypertrophy and fibrosis, which increases the expression of TLR4/MyD88 signaling pathway-related proteins.

[Keywords] ventricular arrhythmia; MD1; TLR4/MyD88; susceptibility; HW/BW ratio

肥胖可导致代谢综合征,也可以导致人体和动物的心脏结构和功能紊乱,已有研究证明,肥胖可增加室性心律失常(ventricular arrhythmia, VA)和心肌猝死的风险^[1]。此外,据报道,在 VA 病理和生理学中肥胖与该病的发病机制相互关联^[2],一方面,肥胖可引起心肌肥厚、心室纤维化,并且损害左心室的收缩和舒张功能。另一方面,肥胖后离子通道整体水平的稳态调节会引起细胞离子通道重构,导致电流综合特性电位的变化,从而影响心肌功能。上述两种机制均能增加 VA 发病的风险,但目前肥胖的 VA 的治疗手段有限,所以需要寻找与肥胖诱导 VA 相关的关键因子。toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 是一种同源性识别体,TLR4 的通路被认为是肥胖诱导的炎症反应主要因素之一^[3]。TLR4/MyD88 能够激活蛋白激酶 2,在肥胖相关的心脏重构中起着重要作用^[4]。因此说明 TLR4/MyD88 的通路在肥胖导致的心室重构中起着至关重要的调控作用,可能是肥胖导致 VA 的关键通路。骨髓分化因子 1 (myeloid differentiation 1, MD1) 是 TLR4/MyD88 信号通路生理负调控因子,MD1 在心脏中广泛表达,在慢性压力超负荷的情况下,MD1

缺失会加重心脏重构^[5]。此外我们还发现了,MD1 缺失会增加肥胖小鼠的心肌扩张能力,增加心房颤动的易感性。因此,本研究主要探讨高脂饮食诱导的 VA 的相关机制,为 MD1 在高脂饮食诱导的 VA 发生发展中提供了可靠依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性鼠 MD1 基因敲出 C57BL/6J 小鼠 (MD1-ko⁻) 16 只,4~6 周,SPF 级,体重在 17~20 g。SPF 级 4~6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 16 只,体重在 17~20 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [SCXK(湘)2018-0009],饲养在郑州大学实验动物中心 [SYXK(豫)2018-007],光照周期为 12 d,在 IVC 笼内饲养,每个笼子 5~6 只,所有小鼠在温度为 21℃~25℃,湿度在 40%~55% 条件下。在动物实验的过程中严格贯彻 3R 原则,动物使用的伦理审批号 (IACUC-20180809)。共计分为 4 组,每组 8 只,分别为 WT 正常组、MD1-ko⁻ 正常组、WT 高脂组、MD1-ko⁻ 高脂组。WT 高脂组和 MD1-ko⁻ 高脂组小鼠喂养 20 周高脂肪食物(含 60% 的脂肪,购自美

国 Research Diets 公司)。WT 正常组和 MD1-ko⁻ 正常组正常饲料(含 10% 的脂肪,购自美国 Research Diets 公司)喂养。每组小鼠每周称重,检测并记录 20 周后小鼠的体重(BW)、血糖值、总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平,麻醉后处死,检测小鼠的心脏重量(HW),计算小鼠 HW/BW 的比值。

1.2 主要试剂与仪器

蛋白定量试剂盒(批号 S20060042),购自 Thermo 公司;苏木素伊红(HE)染色试剂盒(批号 C0105),购自碧云天生物技术;天狼星红染色试剂(批号 YM-S1459),购自上海经科化学科技有限公司;使用以下抗体:Anti-TLR4 (CST, #1053)、Anti-MyD88 (CST, # 7832)、Anti-P-CAMKII (CST, # 5632)、Anti-TGF- β 1 (CST, #4630)、Anti-CollagenI (CST, # 6549)、Anti-CollagenIII (CST, # 7643)、Anti-GAPDH (CST, # 3821),购自美国 Cell Signaling 公司。赛多利斯 Quintix612 型号的动态电子天平,购自赛多利斯公司;瑞沃德 R450 小动物麻醉机,购自深圳市瑞沃德生命科技有限公司;TDZ5-WS 型台式低速离心机,购自湘仪离心机仪器有限公司;RM2016 轮转石蜡切片机,购自德国徕卡公司。

1.3 实验方法

1.3.1 小鼠心电图和超声心动图分析

小鼠喂养 20 周后,吸入浓度为 2% 的异氟醚 1.5 μ L,麻醉后,采用日本心电图十二导联同步心电图检查仪,按照常规进行操作,把电极放置于皮下,接近心电图表面导联,记录小鼠心率,主要包括 RR 间距、PR 间距、QRS 持续时间、QTc 间期。在使用飞利浦公司生产的彩色多普勒显像仪,15MZ 探头对麻醉小鼠的左心室功能进行超声心动图评估,测量左心室舒张末期内径(LVEDd)、左心室收缩末期内径(LVEDs)、左室短轴缩短率(LVFS)、左心室射血分数(LVEF)。

1.3.2 Western blot 检测

对 WT 正常组、MD1-ko⁻ 正常组、WT 高脂组、MD1-ko⁻高脂组鼠的心肌组织培养 72 h,加入裂解液裂解 20 min,常规凝胶电泳,采用 90 V 电压将蛋白转印在 NC 膜上,5% 的牛血清白蛋白封闭,加入一抗 TLR4、MyD88、P-CAMKII、CollagenI、CollagenIII

和 TGF- β 1(1:500 稀释),GAPDH(1:1000 稀释)作为参照,再加入二抗(1:1000 稀释)过夜,滴加显示液,采用 Bio-Rad 成像分析软件进行扫描,GAPDH 作为内参,分析 TLR4、MyD88、P-CAMKII、CollagenI、CollagenIII 和 TGF- β 1 蛋白水平。

1.3.3 HE 染色

小鼠麻醉后,取左心室组织标本放在 4% 的多聚甲醛中固定 24 h,石蜡包埋切片,切成 4~5 mm 的切片,55℃ 下烘烤 30 min,二甲苯浸泡 5 min,更换 3 次,分别放在无水乙醇、95% 的乙醇、70% 的乙醇中各 1 min。蒸馏水 1~2 min,滤纸上去掉水分,进行苏木素染色 5 min,清水冲洗,伊红溶液 5 min,二甲苯 2 min,封片,应用 Image-Pro Plus 6.0 软件测量细胞面积。

1.3.4 PSR 染色

小鼠麻醉后,取左心室组织标本放在 4% 的多聚甲醛中固定 24 h,石蜡包埋切片,切成 4~5 mm 的切片,55℃ 下烘烤 30 min,二甲苯浸泡 2 min,更换 3 次,别放在无水乙醇、95% 的乙醇、70% 的乙醇中各 1 min,清水冲洗 10 min,在放入双蒸水和 0.2% 磷钼酸中浸泡 2 min,在放入 0.1% 天狼猩红苦味酸溶液滴于染色组织上,置于湿盒中染色 60 min,弃残液,二甲苯 2 min,封片,吹干,放于切片盒,显微镜观察心肌组织纤维化的过程。

1.4 统计学方法

实验数据采用 SPSS 21.0 软件处理,数据以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,并使用 Fisher 精确校验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肥胖模型特征

小鼠经过 20 周的高脂饲料喂养后,WT 高脂组中的体指数、血糖值、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、QTc 间期、LVEDd、LVEDs、LVFS、LVEF 明显高于 WT 正常组(均 $P < 0.05$);MD1-ko⁻高脂组中的体指数、血糖值、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、QTc 间期、LVEDd、LVEDs、LVFS、LVEF 明显高于 WT 高脂组(均 $P < 0.05$),其他指标各组间比较无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 MD1 缺失增加了 VA 的易感性

WT 高脂组动作点位时程 (APD20、APD50、APD90) 明显高于 WT 正常组和 MD1-ko⁻ 正常组 ($P<0.05$), MD1-ko⁻ 高脂组的动作点位时程 (APD20、APD50、APD90) 显著高于 WT 高脂组 ($P<0.05$); WT 高脂组 APD 交替阈值明显高于 WT 正常组和 MD1-ko⁻ 正常组 ($P<0.05$), MD1-ko⁻ 高脂组 APD 交替阈值显著高于 WT 高脂组 ($P<0.05$); WT 高脂组 VA 比例明显高于 WT 正常组和 MD1-ko⁻ 正常组 ($P<0.05$), MD1-ko⁻ 高脂组 VA 比例显著高于 WT 高脂组 ($P<0.05$), 见图 1。

2.3 MD1 对 TLR4/MyD88 信号通路的影响

通过 Western blot 检测发现, WT 高脂组中 TLR4、MyD88 和 P-CAMKII 蛋白的表达明显高于 WT 正常组和 MD1-ko⁻ 正常组 (均 $P<0.05$), MD1-ko⁻ 高脂组中 TLR4、MyD88 和 P-CAMKII 蛋白的表达明显高于 WT 高脂组 (均 $P<0.05$), 见图 2。

2.4 MD1 缺失激活 TLR4/MyD88 信号增加了小鼠心肌肥大

WT 高脂组 HW/BW 比值 (6.07 ± 0.58) 显著高于 WT 正常组 (4.35 ± 0.38) 和 MD1-ko⁻ 正常组 (4.37 ± 0.36) (均 $P<0.05$); MD1-ko⁻ 高脂组 HW/BW 比值 (7.59 ± 0.78) 明显高于 WT 高脂组 ($P<$

0.05)。WT 高脂组小鼠心肌细胞横截面积 (190.15 ± 25.23) μm^2 显著高于 WT 正常组 (194.63 ± 27.29) μm^2 和 MD1-ko⁻ 正常组 (324.19 ± 33.54) μm^2 (均 $P<0.05$); MD1-ko⁻ 高脂组小鼠心肌细胞横截面积 (381.23 ± 35.76) μm^2 明显高于 WT 高脂组 ($P<0.05$)。HE 染色发现, WT 高脂组和 MD1-ko⁻ 高脂组较 WT 正常组、MD1-ko⁻ 正常组相比, 肌丝排列混乱, 心肌细胞体积明显增大, 细胞核深染, 体积增大, 见图 3。

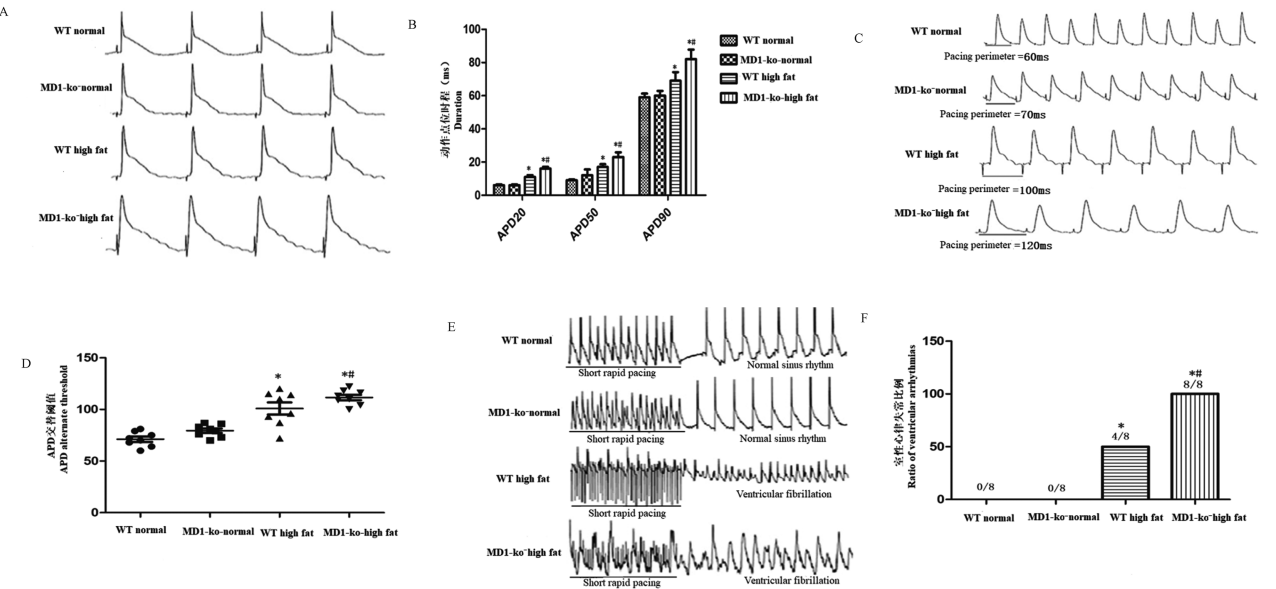
2.5 MD1 缺失激活 TLR4/MyD88 信号增加了小鼠心肌纤维化

经 PSR 染色发现, WT 正常组的组织间隙和血管周围组织排列正常, 未出现心肌纤维化和炎症浸润产生; MD1-ko⁻ 正常组的组织间隙和血管周围组织有少量炎性细胞浸润, 组织排列正常; WT 高脂组的组织间隙和血管周围组织排列紊乱, 心肌细胞出现少量坏死, 心肌基本完整; MD1-ko⁻ 高脂组的组织间隙和血管周围组织大量炎症细胞浸润, 心肌纤维出现大部分断裂, 心肌细胞坏死严重, 心肌纤维化产生。另外 WT 高脂组的 CollagenI、CollagenIII 和 TGF- β 1 的蛋白明显高于 WT 正常组和 MD1-ko⁻ 正常组 (均 $P<0.05$) MD1-ko⁻ 高脂组的 CollagenI、CollagenIII 和 TGF- β 1 的蛋白明显高于 WT 高脂组 ($P<0.05$), 见图 4。

表 1 小鼠肥胖的模型的基本特征
Table 1 Basic characteristics of obesity model in mice

参数 Parameter	WT 正常组 WT normal group	MD1-ko ⁻ 正常组 MD1-ko ⁻ normal group	WT 高脂组 WT high fat group	MD1-ko ⁻ 高脂组 MD1-ko ⁻ high fat group
体重(g) BWI	28.42±0.31	31.08±0.25	35.33±0.29 [*]	45.41±0.44 ^{*#}
血糖值 (mmol/L) Glucose	6.32±0.14	6.35±0.12	7.42±0.14 [*]	9.78±0.27 ^{*#}
总胆固醇 (mmol/L) TC	1.98±0.17	1.92±0.05	3.81±0.18 [*]	5.12±0.19 ^{*#}
甘油三酯 (mmol/L) TG	0.64±0.06	0.71±0.04	1.41±0.11 [*]	1.94±0.27 ^{*#}
低密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L) LDL-c	0.83±0.06	0.79±0.04	1.69±0.07 [*]	1.93±0.08 ^{*#}
RR 间距 (ms) RR interval	132.37±9.19	132.97±6.72	140.03±8.91	153.83±7.21
PR 间距 (ms) PR interval	39.67±0.87	39.57±0.70	39.29±0.67	40.57±1.92
QRS 持续时间 (ms) QRS duration	9.96±0.27	10.49±0.49	10.37±0.38	10.69±0.27
QTc 间期 (ms) QTc interval	42.39±0.28	43.29±1.28	51.03±1.03 [*]	56.92±2.13 ^{*#}
左心室舒张末期内径 (mm) LVEDd	3.76±0.28	3.78±0.22	4.17±0.14 [*]	4.59±0.16 ^{*#}
左心室收缩末期内径 (mm) LVEDs	1.87±0.19	1.91±0.14	2.35±0.17 [*]	3.03±0.29 ^{*#}
左室短轴缩短率 (%) LVFS	50.22±0.62	48.63±1.89	42.06±0.57 [*]	35.27±1.73 ^{*#}
左心室射血分数 (%) LVEF	77.33±3.89	76.13±2.62	79.16±2.32	75.61±4.71

注:与 WT 正常组相比, ^{*} $P<0.05$;与 WT 高脂组相比, [#] $P<0.05$ 。
Note. Compared with WT normal group, ^{*} $P<0.05$. Compared with WT high fat group, [#] $P<0.05$.



注: WT normal; WT 正常组; MD1-ko⁻ normal; MD1-ko⁻ 正常组; WT high fat; WT 高脂组; MD1-ko⁻ high fat; MD1-ko⁻ 高脂组。与 WT 正常组相比, * $P < 0.05$; 与 WT 高脂组相比, # $P < 0.05$ 。

图 1 动作电位、APD 的阈值和心率失常比例的表达

Note. WT normal, WT normal group. MD1-ko⁻ normal, MD1-ko⁻ normal group. WT high fat, WT high fat group. MD1-ko⁻ high fat, MD1-ko⁻ high fat group. Compared with WT normal group, * $P < 0.05$. Compared with WT high fat group, # $P < 0.05$. The same as below.

Figure 1 Expression of action potential, APD threshold and ratio of arrhythmia

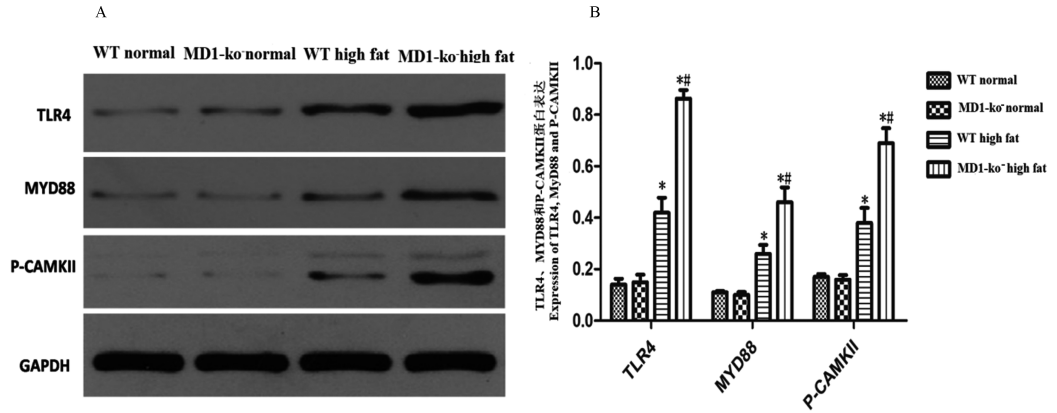


图 2 TLR4、MyD88 和 P-CAMKII 蛋白的表达

Figure 2 Expression of TLR4, MyD88 and P-CAMKII proteins

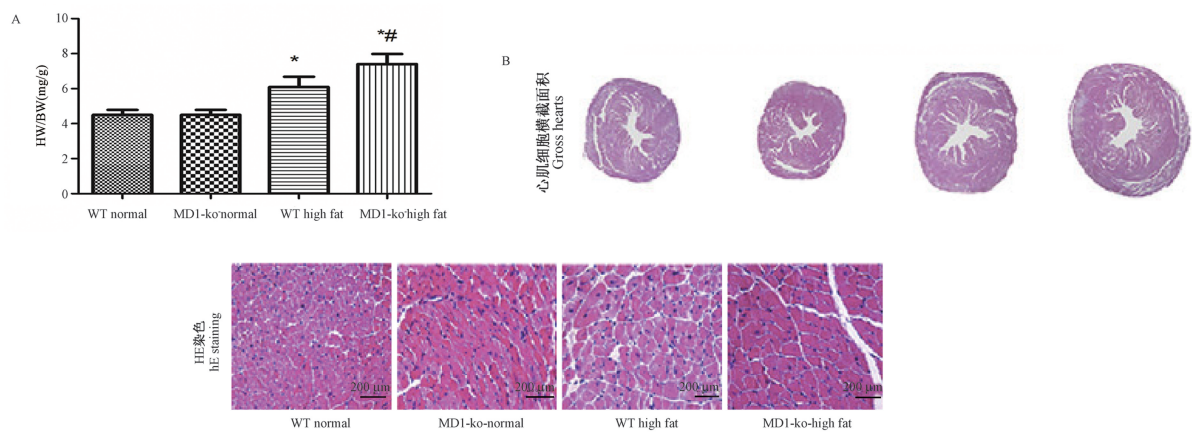
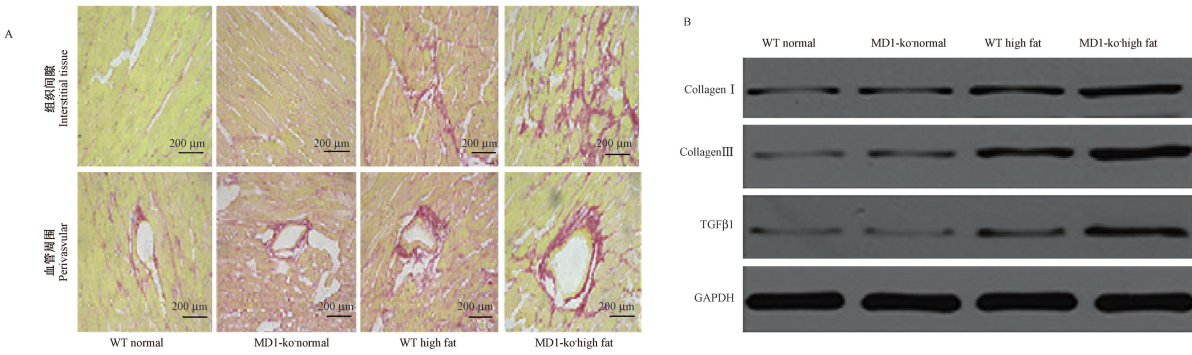


图3 HW/BW 比值和小鼠心肌组织 HE 染色
Figure 3 HW / BW ratio and he staining of mouse myocardium



注:WT normal;WT 正常组;MD1-ko⁻ normal;MD1-ko⁻ 正常组;WT high fat;WT 高脂组;MD1-ko⁻ high fat;MD1-ko⁻ 高脂组。
图4 组织间隙和血管周围 PSR 染色和胶原纤维蛋白表达
Note. WT normal, WT normal group. MD1-ko⁻ normal, MD1-ko⁻ normal group. wt high fat, WT high fat group. MD1-ko⁻ high fat, MD1-ko⁻ high fat group.

Figure 4 PSR staining and collagen fibrin expression in interstitial and perivascular tissues

3 讨论

本研主要新发现如下:首先,高脂饮食可引起代谢紊乱、左室舒张并延长 QTc 间期。其次,MD1 的缺失的小鼠会增加高脂饮食诱导对 VA 的易感性,增强动作电位持续时间改变的阈值,使发病率大大提高。再次,MD1 缺失可以激活 TLR4/MyD88 信号通路。最后是高脂饮食喂养后,MD1 缺失激活 TLR4/MyD88 信号通路后,进一步加重了左室肥厚和纤维化。近年来,心血管疾病的持续增加,已经成为危害人类的主要疾病。所以出现肥胖,人们一定要提高警惕。本文主要研究了 MD1 的敲出后,高脂饮食对小鼠 VA 的影响。通过对 MD1 基因敲出小鼠和正常小鼠进行分组,分别进行高脂饮食和正常饮食,观察小鼠的体指数、血糖值、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、QTc 间期、LVEDd、LVEDs、LVFS、LVEF 各项指标,发现被敲出了 MD1 的小鼠上述指标均高于其他组的小鼠。说明 MD1 和小鼠的 VA 具有一定的相关性。大量的研究数据表明肥胖和心室复极有关,尤其使能够延长 QTc 间期^[6]。QTc 间期延长是心肌不良重构的重要标志,它增加了心率失常的风险。

肥胖症已成为一种流行病,是最普遍的疾病之一。大量证据表明肥胖与心室复极有关,特别是 QTc 间期延长^[7]。QTc 间期延长是异常电生理改变或不良电重构的标志,增加了 VA 的风险^[8]。我们的研究发现,WT 高脂小鼠的 QTc 间期明显增加,APD 明显延长,从而说明 QTc 间期和 APD 越长,VA 发生率就越高。先前的一项研究也表明,高脂饮食可增加 VA 的诱发率,延长 APD,提高 APD 的变化阈值^[9]。在本研究中,我们发现,WT 高脂组动作点位时程 APD 明显高于 WT 正常组和 MD1-ko⁻ 正常

组,APD 改变阈值增加 VA 发生率增加,因此,我们认为 MD1 缺乏可能加重高脂喂养后的心率失常易感性。曾有研究证明,高脂喂养增加了心率失常的诱发性,延长了 APD,提高了 APD 交替阈值^[10]。前期也有研究证明,MD1 基因敲出会加重小鼠的心房颤动的易感性^[11],与我们研究的结果相似。因此,本研究验证的 MD1 基因敲出的小鼠高脂喂养的会使心率失常的易感性进一步恶化。

临床研究表明,肥胖相关的心脏肥大、左室舒张和心肌细胞肥大都是心脏猝死的重要病理表现^[12],最近的研究也表明左室间质纤维化可显著增加高脂肪喂养小鼠的心率失常诱导率^[13]。在本研究中,高脂喂养可引起左室肥厚、纤维化、舒张,MD1 缺失可加重这些效应。因此,MD1 的丢失可能加重了高脂诱导的肥胖小鼠的左室肥厚和纤维化,从而促进了心室再通的形成,增加了心率失常的脆弱性。

MD1 调控心肌重构的潜在机制可能与 TLR4/MyD88 信号通路相关,既往研究表明,TLR4 的激活可正常维持 MyD88 信号的激活,TLR4 使高脂状态下心脏 P-CAMKII 的上有信号,P-CAMKII 对心脏的重构也非常重要^[14]。本研究发现,喂养高脂食物后,WT 高脂组中 TLR4、MyD88 和 P-CAMKII 蛋白的表达明显升高,MD1-ko⁻高脂组中 TLR4、MyD88 和 P-CAMKII 蛋白的表达也明显增加。所以说明 MD1 敲出会导致信号通路 TLR4/MyD88 更明显的表达,进一步加剧了慢性压力超负荷的心脏重构能力。促进了心率失常的风险。临床研究表明,肥胖于心脏肥大、左心室扩张、心肌细胞肥大具有一定的相关性^[15]。最近一项研究表明,左心室间质纤维化的小鼠增加高脂喂养,可诱导 VA 的发生^[16]。本研究中高脂喂养,WT 高脂的小鼠 HW/BW 比值和横截面积升高;说明 MD1 基因敲出后,加重了心肌细胞的肥大,提高了 VA 的易感性。Cao 等^[17]人研究表明 MD1 基因敲出加剧了左室肥厚和纤维化,从而促进心室在形成,增加了高脂诱导肥胖小鼠 VA 的易感性。

综合上述,MD1 缺乏增加了高脂饮食诱导的 VA 易感性,主要原因是由于 TLR4/MyD88 信号通路的激活增强,导致左心室的肥厚和纤维化,降低了离子通道蛋白的表达。

参考文献:

[1] 赵明昊,姚焰. 左心室顶部起源室性心律失常的研究进展 [J]. 中国循环杂志, 2019, 34(5): 106-109.

[2] Sugiyama K, Sasano T, Kurokawa J, et al. Oxidative stress induced ventricular arrhythmia and impairment of cardiac function in Nos1ap deleted mice [J]. Int Heart J, 2016, 57 (3): 341-349

[3] 李雪琳,李青松,刘金秋. 致心律失常性右室心肌病基因学特点 [J]. 中华医学杂志, 2017, 97(13): 1035-1037.

[4] Bruegmann T, Boyle PM, Vogt CC, et al. Optogenetic defibrillation terminates ventricular arrhythmia in mouse hearts and human simulations [J]. J Clin Invest, 2016, 126(10): 3894-3904.

[5] 唐诗倩,钟江华,陆士娟. MicroRNA 与室性心律失常关系的研究进展 [J]. 山东医药, 2019, 59(11): 90-93.

[6] Van Unen WH, Hazeleger R, Weijs B. Termination of ventricular arrhythmia using acetaminophen in a nonagenarian [J]. J Am Geriatr Soc, 2016, 64(4): 914-916.

[7] 马慧慧,戴霞飞,李小平. 致心律失常性右室心肌病的遗传学研究进展 [J]. 临床心血管病杂志, 2019, 35(2): 104-108.

[8] Cheng P, Dong X. Life-threatening ventricular arrhythmia detection with personalized features [J]. IEEE Access, 2017, 17(99): 1-9.

[9] Ching S, Yue CS. A case of ventricular arrhythmia: when the right isn't right [J]. JAMA, 2016, 176(7): 1013-1015.

[10] Bhar-Amato J, Davies W, Agarwal S. Ventricular arrhythmia after acute myocardial infarction: 'the perfect storm' [J]. Arrhythm Electrophysiol Rev, 2017, 6(3): 134-139.

[11] Favarato D, Benvenuti LA. Case 1/2018-young male with heart disease expressed mainly as ventricular arrhythmia, right ventricular dysfunction and syncope [J]. Arq Bras Cardiol, 2018, 110(2): 195.

[12] Gardin JM. The value of left ventricular relative wall thickness in predicting ventricular arrhythmia and related death [J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 67(3): 313-315.

[13] Gern BH, Mehta A, Mccammond AN, et al. Case 1: vomiting and ventricular arrhythmia in a 2-year-old girl [J]. Pediatr Rev, 2018, 39(2): 91-92.

[14] Kabir RA, Doytchinova A, Liu X, et al. Crescendo skin sympathetic nerve activity and ventricular arrhythmia [J]. J Am Coll Cardiol, 2017, 70(25): 3201-3202.

[15] Smolina K, Morgan S, Mintzes B, et al. Response to "use of domperidone and risk of ventricular arrhythmia in the postpartum period: Getting to the heart of the matter [J]. Pharmacoevidemiol Drug Saf, 2017, 26(7): 865-866.

[16] Harris JR, Carlson SK, Wolfson AM, et al. Pulmonary arterial pressure sensing in a patient with left ventricular assist device during ventricular arrhythmia [J]. HeartRhythm Case Rep, 2017, 3(7): 348-351.

[17] Cao H, Wang X, Ying S, et al. AMPKα2 deficiency enhanced susceptibility to ventricular arrhythmias in mice by the role of β-adrenoceptor signaling [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2018, 243(8): 708-714.