

# 温胆宁心颗粒调控舒张期钙泄漏相关蛋白改善炎症相关房颤易感性的机制

尚碧月<sup>1</sup>, 朱婷婷<sup>1</sup>, 吕顺新<sup>1</sup>, 张芷唯<sup>1</sup>, 王雨霏<sup>2</sup>, 崔向宁<sup>1\*</sup>, 路迎冬<sup>1\*</sup>  
(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

**[摘要]** 目的:探讨温胆宁心颗粒对炎症损伤小鼠心房颤动易感性的保护作用及机制。方法:100只C57BL/6小鼠,分为空白组、模型组,温胆宁心低(2.34 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、高(4.68 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)剂量组,胺碘酮组(0.091 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>),每组20只。除空白组外,其余小鼠腹腔注射脂多糖(LPS)构建炎症损伤模型。治疗组连续灌胃给药干预4周,第4周治疗组给药同时给予脂多糖(LPS)腹腔注射;空白组及模型组给予蒸馏水(10 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)灌胃,每组灌胃容积为10 mL·kg<sup>-1</sup>,每日1次。采用苏木素-伊红染色(HE)、天狼猩红染色(Sirius red)观察小鼠心房组织形态及纤维化程度;免疫组化评估小鼠心房组织 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)表达;电生理检测以多通道电生理检测仪测定小鼠心房颤动诱发率、心房颤动持续时间、心房有效不应期(AERP),以高分辨荧光检测仪测量动作电位时程(APD)离散度、兴奋传导不均匀指数及钙瞬变(CaT)离散度;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测小鼠心房舒张期钙泄漏相关蛋白钙/钙调蛋白依赖性激酶 II (CaMK II)、兰尼碱受体 2(RyR2)、钙离子 ATP 酶(SERCA)、钠-钙交换通道(NCX)的 mRNA 表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测各组心肌组织 CaMK II、RyR2、SERCA、NCX 蛋白表达;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清炎症因子白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平。结果:病理染色结果显示,与空白组比较,模型组心房组织结构破坏,炎症细胞浸润,心房组织纤维化,心房间质中可见大量棕褐色的 $\alpha$ -SMA阳性细胞弥漫性浸润( $P<0.01$ ),电刺激下可诱发心房颤动且持续时间较长,AERP缩短,APD离散度、兴奋传导不均匀指数及CaT离散度显著升高( $P<0.01$ ),舒张期钙泄漏相关蛋白CaMK II、RyR2、NCX1的mRNA及蛋白表达升高,SERCA2a mRNA及蛋白表达明显降低( $P<0.05$ ),血清炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,温胆宁心颗粒干预后,小鼠心脏结构破坏有所缓解,炎症细胞浸润减少,心房组织纤维化有所改善, $\alpha$ -SMA阳性细胞弥漫性浸润显著减轻( $P<0.01$ ),电刺激下心房颤动诱发率及心房颤动持续时间明显缩短( $P<0.05$ ),AERP明显延长( $P<0.05$ ),舒张期钙泄漏相关蛋白CaMK II、RyR2、NCX1的mRNA及蛋白表达明显降低,SERCA2a的mRNA及蛋白表达明显升高( $P<0.05$ ),血清炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平显著降低( $P<0.01$ )。结论:温胆宁心低、高剂量均可有效降低炎症损伤相关心房颤动易感性,温胆宁心颗粒降低心房颤动易感性的作用机制可能与调控肌浆网舒张期钙泄漏相关蛋白改善心脏电重构,减轻炎症反应引起的心肌纤维化从而改善心脏结构重构有关。

**[关键词]** 温胆宁心颗粒; 十味温胆汤; 温胆汤; 心房颤动; 炎症; 心房颤动易感性; 钙; 电生理

**[中图分类号]** R242;R541;R256.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)11-0133-11

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20261092

**[网络出版地址]** <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20260302.1109.004>

**[网络出版日期]** 2026-03-02 14:10:19



## Mechanism of Wendan Ningxin Granules in Modulating Diastolic Calcium Leakage-related Proteins to Improve Inflammation-associated Atrial Fibrillation Susceptibility

SHANG Biyue<sup>1</sup>, ZHU Tingting<sup>1</sup>, LYU Shunxin<sup>1</sup>, ZHANG Zhiwei<sup>1</sup>, WANG Yufei<sup>2</sup>,  
CUI Xiangning<sup>1\*</sup>, LU Yingdong<sup>1</sup>

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;

**[收稿日期]** 2025-12-08

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82305016);中国中医科学院优秀青年科技人才培养专项(ZZ18-YQ-015)

**[第一作者]** 尚碧月,在读博士,从事中西医结合防治心血管疾病研究,E-mail:sby207@126.com

**[通信作者]** \* 崔向宁,博士生导师,从事中西医结合防治心血管疾病研究,Tel:010-88001018,E-mail:cuixiangning163@163.com;

\* 路迎冬,硕士,主管技师,从事中西医结合防治心血管疾病研究,E-mail:yingdonglu1988@126.com

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the protective effect and mechanism of Wendan Ningxin granules (WNG) on susceptibility to atrial fibrillation (AF) in mice with inflammatory injury. **Methods:** 100 C57BL/6 mice were divided into a blank control group, a model group, a low-dose WNG group ( $2.34 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), a high-dose WNG group ( $4.68 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), and an amiodarone positive control group ( $0.091 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), with 20 mice in each group. Except for the blank control group, mice in other groups received intraperitoneal injections of lipopolysaccharide (LPS) to establish an inflammatory injury model. Treatment groups received continuous intragastric administration of their respective interventions for four weeks. During the fourth week, the treatment groups received LPS injections concurrently with their treatments. The blank control and model groups received distilled water ( $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) by gavage, with a gavage volume of  $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$  for all groups, once daily. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Sirius red staining were used to observe atrial tissue morphology and fibrosis degree. Immunohistochemistry was used to assess the expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in mouse atrial tissue. Electrophysiological detection was performed using a multi-channel electrophysiology mapping system to measure AF inducibility, AF duration, and atrial effective refractory period (AERP). High-resolution optical mapping was used to measure action potential duration (APD) dispersion, conduction heterogeneity index, and calcium transient (CaT) dispersion. Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to detect mRNA expression of proteins related to diastolic calcium leakage in mouse atria:  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II), ryanodine receptor 2 (RyR2), sarco/endoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (SERCA), and sodium-calcium exchanger (NCX). Western blot analysis was performed to detect the expression of CaMKII, RyR2, SERCA, and NCX proteins in myocardial tissue from each group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure serum levels of inflammatory factors interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). **Results:** Pathological staining results showed that compared with the blank control group, the model group exhibited disrupted atrial tissue structure, inflammatory cell infiltration, atrial fibrosis, and diffuse infiltration of numerous brown  $\alpha$ -SMA positive cells in the atrial interstitium ( $P<0.01$ ). AF could be induced by electrical stimulation with a longer duration. AERP was shortened, while APD dispersion, conduction heterogeneity index, and CaT dispersion were increased ( $P<0.01$ ). The expression of proteins associated with diastolic calcium leakage, including CaMK II, RyR2, and NCX1, showed elevated mRNA and protein levels, whereas SERCA2a mRNA and protein expression decreased ( $P<0.05$ ). Serum levels of inflammatory factors IL- $1\beta$  and TNF- $\alpha$  were elevated ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, intervention with WNG alleviated cardiac structural damage, reduced inflammatory cell infiltration, improved atrial fibrosis, and reduced the diffuse infiltration of  $\alpha$ -SMA positive cells ( $P<0.01$ ). AF inducibility and AF duration upon electrical stimulation were significantly reduced ( $P<0.05$ ), AERP was prolonged ( $P<0.05$ ), mRNA and protein expression of CaMK II, RyR2, and NCX1-proteins associated with diastolic calcium leakage-were reduced, whilst mRNA and protein expression of SERCA2a increased ( $P<0.05$ ), and serum levels of IL- $1\beta$  and TNF- $\alpha$  were decreased ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** Both low- and high-dose WNG can effectively reduce susceptibility to inflammation-related AF. The mechanism by which WNG reduce AF susceptibility may be related to regulating proteins involved in sarcoplasmic reticulum diastolic calcium leak, thereby improving cardiac electrical remodeling, and alleviating inflammation-induced myocardial fibrosis, thus improving cardiac structural remodeling.

**[Keywords]** Wendan Ningxin granules; Shiwei Wendan decoction; Wendan Tang; atrial fibrillation; inflammation; atrial fibrillation susceptibility; calcium; electrophysiology

心房颤动(以下简称“房颤”),是临床最常见的持续性心律失常。由于心房失去正常节律和收缩功能,合并心室快速频率和不规则节律,表现出不规则心率、心悸、头晕、气短及疲劳等症状,导致心功能受损,易伴发心房内血栓形成,增高心力衰竭、缺血性卒中及心脏性猝死的发生率<sup>[1]</sup>。房颤患病率持续上升,我国成人房颤标准化患病率为1.6%,男性(1.7%)高于女性(1.4%),并存在地域差异,由此带来巨大的公共卫生负担<sup>[2]</sup>。过去20年在房颤风险预测与筛查诊断、卒中预防、节律控制、导管消融和综合管理等方面取得了一系列突破性进展,但目前可用的房颤药物治疗起源于20世纪60年代,靶向离子通道,这些药物并不直接针对诱发房颤的分

子机制,所以约85%的患者房颤发作或进展无法预防<sup>[3-4]</sup>。除此之外一些房颤非药物疗法,主要包括导管消融术、外科手术、电复律、左心耳封堵或切除等,对维持房颤患者的窦性心律效果显著,能有效减轻心律失常相关症状,提升患者生活质量,但存在血栓栓塞、出血、感染等并发症,患者易房颤复发<sup>[5]</sup>。因此亟需探索新的安全有效方案。

房颤的发病机制复杂且涉及诸多因素,越来越多的研究证实,炎症及其相关的免疫反应在引起房颤发作及病情进展中起关键作用。炎症促使房颤患者心房电重构和结构重构,而心房重构又进一步促进炎症反应,炎症参与房颤的启动和维持,可能是潜在的房颤治疗靶点<sup>[6]</sup>。

房颤属于中医学“心悸”“怔忡”疾病范畴。心胆以经络相通,生理病理上联系密切,故心悸病位虽在心,亦与胆腑密切相关。明代李梃在《医学入门》中明确提出“心与胆相通,心病怔忡,宜温胆为主”,为心悸的治疗提供了新的切入点。温胆宁心颗粒化裁于元代《世医得效方》之十味温胆汤,原方主治“心虚胆怯,气郁生涎,短气悸乏”,在心律失常、冠心病等治疗中疗效显著,可降低心率变异性、改善心功能<sup>[7]</sup>。首都国医名师高荣林主任结合现代人体质及生活环境的变化,在十味温胆汤基础上去滋腻、酸敛之熟地黄和五味子,易以竹茹、石菖蒲、龙骨、牡蛎成温胆宁心颗粒,用于治疗心胆气虚之心悸怔忡、胸闷气短、失眠等具有良好的临床疗效<sup>[8-11]</sup>。然而,温胆宁心颗粒是否能通过减轻炎症反应,改善心房组织结构重构及电重构,从而降低房颤易感性的机制尚未阐明。因此本研究拟以炎症小鼠模型为研究对象,研究温胆宁心颗粒改善房颤的作用机制,以期为目前房颤药物治疗提供中医基础研究证据。

## 1 材料

**1.1 动物** 100只SPF级C57BL/6雄性小鼠,6~8周龄,体质量(20±2)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2021-0006,动物使用许可证号SYXK(京)2022-0020。饲养环境室内温度20~25℃、相对湿度40%~60%,昼夜对半循环照明,动物自由摄食饮水。

**1.2 伦理** 本研究已通过中国中医科学院广安门医院实验动物福利与伦理审查委员会批准,批准文号IACUC-GAMH-2025-040。

**1.3 药物与试剂** 脂多糖(LPS,美国Sigma公司,货号L3023),纯水配置质量浓度为0.1g·L<sup>-1</sup>的药液;温胆宁心颗粒组成为酸枣仁50g、党参12g、法半夏9g、陈皮10g、竹茹10g、枳实10g、茯苓10g、石菖蒲10g、远志10g、龙骨30g、牡蛎30g、炙甘草6g,由中国中医科学院广安门医院制剂中心提供,京药制字Z20063191,生产批号20240107,每袋6g,均符合2020年版《中华人民共和国药典》规定,并由中国中医科学院广安门医院中药师陈海铮鉴定符合标准。将颗粒剂加入纯净水溶解,配制成质量浓度为0.234g·mL<sup>-1</sup>混悬液。盐酸胺碘酮片(赛诺菲公司,国药准字HJ20181243,生产批号GA1350,0.2g/片),将盐酸胺碘酮片使用纯水配置成3.9g·L<sup>-1</sup>的混悬液。肝素钠注射液(常州千红生化制药股份有限公司,批号1524060824,2mL:12500单位);天狼猩红染色液试剂盒(珠海贝索生

物技术有限公司,货号BA4079A);苏木素-伊红染色(HE)试剂盒、4%组织细胞固定液、2.5%戊二醛固定液(北京索莱宝科技有限公司,货号分别为G1120、P1110、P1126);机械收缩解偶联剂Blebbistatin、钙指示剂Rhod-2AM、钙/钙调蛋白依赖性激酶II(CaMKII)抗体、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)抗体、 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(英国Abcam公司,货号分别为ab120425、ab142780、ab52476、ab5694、ab119952);穿孔剂Fluoronic(F-127,美国赛默飞世尔科技有限公司,货号P3000MP);电压敏感染料Rh237(上海Chemcruz生物技术有限公司,货号Sc-499456);兰尼碱受体2(RyR2)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号19765-1-AP);钙离子ATP酶2a(SERCA2a)抗体(美国Selleck公司,货号A5708);钠-钙交换通道(NCX1)抗体(美国Proteintech公司,货号28447-1-AP);总RNA提取试剂盒、cDNA第一链合成预混试剂、快速荧光定量聚合酶链式反应(PCR)预混试剂[天根生化科技(北京)有限公司,货号分别为DP451、KR118、FP217];白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )测定试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号分别为E-EL-M0037、E-EL-M3063)。

**1.4 仪器** EG1150型包埋机、SM2010R型病理切片机(德国Leica公司);BX53型光学显微镜、VanoxDM-10AD型奥林巴斯病理图文采集系统(日本Olympus公司);EMS64-USB-1003型矩阵式多通道电生理标测系统、OMS-PCIE-2002型高分辨荧光心脏电生理标测系统(英国MappingLab公司);Pump 11 elite型微量注射泵(美国Harvard Bioscience公司);LightCycler<sup>®</sup> 480 II型实时荧光定量PCR(Real-time PCR)仪(瑞士Roche公司);BY-R20型高速离心机(北京白洋医疗器械有限公司);Milli-Q Advantage A10型超纯水系统(美国Millipore公司);Mini-sub cell GT 1704406型水平电泳仪、The trans-blot turbo1704150型全能型蛋白转膜仪(美国Bio-Rad公司)。

## 2 方法

### 2.1 造模制备、分组及给药

**2.1.1 动物分组** 100只SPF级C57BL/6J小鼠适应性饲养1周后,将小鼠随机分为5组(空白组,模型组,温胆宁心低、高剂量组,胺碘酮组),每组20只。

**2.1.2 模型制备** 空白组腹腔注射生理盐水,其余各组通过连续腹腔注射LPS(1.2mg·kg<sup>-1</sup>)7d构建炎

症损伤模型<sup>[12]</sup>。腹腔注射造模方法:拇指食指捏住小鼠颈后侧皮肤,无名指小指固定小鼠尾巴,使小鼠腹部朝上固定,消毒注射区域后注射器刺入腹腔,轻轻回抽无任何液体被抽出后,缓慢均匀注射LPS,注射完毕后平稳拔出针头。

**2.1.3 动物给药** 参照《药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算》中人与小鼠体表面积等效剂量换算系数为9.1<sup>[13]</sup>,小鼠等效给药量( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )= $9.1\times$ 人给药量( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ),得出温胆宁心颗粒混悬液小鼠灌服的同等给药剂量即低剂量为 $2.34\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,高剂量为低剂量的2倍即 $4.68\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,胺碘酮混悬液灌服同等给药剂量为 $0.091\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,空白组和模型组给予蒸馏水灌胃( $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。总实验周期为4周,1~4周连续药物灌胃干预(温胆宁心颗粒及胺碘酮混悬液均为预防性给药),1次/d。第4周药物灌胃同时给予连续7 d LPS腹腔注射,空白组连续7 d腹腔注射等体积生理盐水。

**2.2 样本取材及处理** 给药4周后,每组取10只小鼠经异氟烷麻醉(将小鼠置于气体麻醉箱中,诱导麻醉体积分数4%~5%,维持麻醉体积分数1.5%~2%,氧流量 $1.0\sim 1.5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ )后眼球取血处死;每组摘取3只小鼠心脏,分离小鼠心房,生理盐水冲洗后放置于装有4%多聚甲醛溶液的试管中固定,室温备用;摘取剩余小鼠心脏,分离心房,生理盐水冲洗后放入冻存管在液氮速冻后,放置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冻存备用。

**2.3 HE、天狼猩红染色观察心房结构及纤维化病理改变** 取出室温下于4%多聚甲醛溶液中固定过夜后的小鼠心房组织,将标本进行修剪脱水、浸蜡包埋,切成 $4\text{ }\mu\text{m}$ 厚的横切面,脱蜡脱水;HE染色:Harris苏木素染5~20 min,去离子水洗,分化液分化30 s,自来水浸泡15 min,伊红染液中染色1~3 min,自来水冲洗;自来水浸泡2~5 min;切片脱水、透明、风干,中性树脂封片,显微镜下观察心房肌组织病理改变。天狼猩红染色:常规对切片脱蜡至水,依次放入二甲苯I、II-无水乙醇I、II-95%乙醇-80%乙醇-流水冲洗;浸入苏木素染液对细胞核染色;浸入1%盐酸乙醇分化;流水冲洗返蓝;浸入天狼星红染色液染色;用无水乙醇快速冲洗2次快速分化;迅速通过无水乙醇I、II-二甲苯I、II脱水透明;中性树脂胶封片;在显微镜下观察心房组织纤维化程度并采集图像,胶原纤维呈鲜红色,细胞核呈蓝黑色,背景为黄色。

**2.4 免疫组化检测小鼠左心房组织 $\alpha$ -SMA蛋白表达** 小鼠取材,将心房固定,心房组织切片进行免

疫组化染色。经脱蜡、水化及抗原修复后,3% $\text{H}_2\text{O}_2$ 灭活内源性过氧化物酶,3%牛血清白蛋白(BSA)封闭后 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育一抗 $\alpha$ -SMA(1:200)过夜。磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后加生物素二抗(1:100)室温孵育50 min, DAB显色后苏木精复染。经梯度乙醇脱水、二甲苯透明及中性树脂胶封片,光镜下观察胞浆棕黄色为阳性,使用Image J软件分析阳性表达率。

**2.5 离体心脏电生理检测** 每组10只小鼠进行电生理检测,实验中需要摘取心脏上机进行检测,并在实验过程中确保心脏保持正常生理活性。

**2.5.1 离体心脏多通道电生理标测检测房颤诱发率、房颤持续时间、心房有效不应期(AERP)评估房颤易感性** 每组5只小鼠进行电生理标测检测。操作方法:麻醉前20 min小鼠称质量并肝素化(腹腔注射肝素钠溶液, $5\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ,腹腔注射操作方法同2.1项)。异氟烷麻醉小鼠(麻醉浓度同2.2项)后,将小鼠放置于操作台上维持麻醉,腹部朝上,胸部喷洒75%乙醇消毒。左手持镊提起胸前皮肤,右手持剪刀剪开胸部皮肤使剑突暴露,用镊子夹起剑突,沿左、右肋中部剪开胸腔,充分暴露心脏。用镊子夹起肺组织,提起心脏沿肺组织后部快速剪下心脏,立刻置于装有含氧KH液的器皿中保持心脏活性。冷光源下快速找到心脏主动脉并剪去多余肺组织及胸腺,迅速将主动脉连接到灌流针上,并用缝线紧紧结扎,防止心脏在灌流中掉落。取下灌流针连接到Langendorff灌流管路上(灌流管路提前排空气泡)用含氧KH液逆行灌注,行心脏肺静脉插管(内径0.6 mm,外径0.95 mm),并用缝线将肺静脉插管与左心房周围结缔组织固定,使心脏泵出残余血液并充满含氧KH液。观察心脏状态,待离体心脏稳定跳动无残血泵出后,循环灌流反应罐中含氧KH液。将2个ECG电极分别放置于心房及心室,接地电极置于灌流针上,在实验过程中持续记录心脏心电图(ECG)监测心脏状态。

**2.5.1.1 房颤诱发率及房颤持续时间测定** 刺激电极放置于心房高位。采用S1S1递减短阵起搏刺激模式测定,S1S1刺激周长由80 ms逐步递减至20 ms,每簇刺激以10 ms递减,每簇间隔2 s以诱发房颤。房颤定义为出现超过1 s的快速、不规则心房节律;房颤诱发率为诱发的房颤次数与总刺激次数(每只小鼠离体心脏电刺激10次)的百分比。房颤持续时间定义为每只小鼠诱发房颤持续时间的平均时长。使用EMS64-USB-1003 MappingLab电标测系统检测,使用EMapScope软件进行数据归纳。

**2.5.1.2 AERP检测** 刺激电极放置于心房高位。采用S1S2刺激模式测定,连续8个180 ms周长的S1刺激,伴随1个周长连续减小的S2刺激,每簇刺激间隔2 s至心房不应。AERP定义为未能夺获心房的最长S1S2间期,检测仪器及分析软件同2.5.1.1项。

**2.5.2 离体心脏高分辨荧光电生理标测测定动作电位及钙瞬变指标** 该操作通过在心脏组织上装载荧光染料,通过高速相机记录荧光变化来反映心脏组织中电压或者各种离子浓度的变化,可同步记录心脏动作电位与钙信号。实验中每组采用5只小鼠进行检测,小鼠肝素化、麻醉及摘取心脏灌流方法同2.5.1项,待离体心脏稳定跳动10 min后进行染色。染色过程全程避光,实验过程中的离体心脏循环灌流含氧KH液。染色步骤:520 nm激发光下,依次在50 mL KH液中加入blebbistatin 150  $\mu$ L观察心脏逐渐减少运动伪迹,直至心脏停跳后,blebbistatin继续循环10 min;加入F-127 15  $\mu$ L使细胞膜穿孔,持续循环10 min;60  $\mu$ L钙指示剂Rhod-2AM混合KH液稀释成1 mL,利用微量注射泵从给药口缓慢给药进行细胞内钙染色,循环15 min;将100  $\mu$ L电压敏感染料RH237用KH液稀释成1 mL,利用微量注射泵从给药口缓慢给药进行膜电压染色,循环10 min。染色结束后,将负载染料完成的心脏移至温控浴槽中,将激发光聚焦在心脏上,调整双LED灯与心脏之间的距离,以获得最佳激发效果,高速相机对焦实时预览心脏,调整镜头直至视野清晰,框选观察心脏区域,结束对焦。在心房高位处放置刺激电极进行电刺激。在特定电刺激频率下测量心房动作电位时程(APD)离散度、兴奋传导不均匀指数、钙瞬变(CaT)离散度。使用MappingLab高分辨荧光心脏电生理标测系统进行检测,使用OMS-PCIE-2002 OMapScope软件进行数据采集,使用SPSS 26.0进行数据分析。

**2.6 Real-time PCR检测小鼠心房组织CaMK II、RyR2、SERCA、NCX的mRNA转录水平** 使用总RNA提取试剂盒、cDNA第一链合成预混试剂、快速荧光定量PCR预混试剂进行Real-time PCR检测,按照试剂盒说明操作。提取心房组织RNA后,在42  $^{\circ}$ C反应15 min,95  $^{\circ}$ C反应3 min将RNA逆转录为cDNA产物。使用此cDNA模板进行检测,PCR反应体系为95  $^{\circ}$ C预变性2 min、95  $^{\circ}$ C变性5 s、50~60  $^{\circ}$ C退火10 s、72  $^{\circ}$ C延伸15 s,40个循环,结束后将反应体系置于Real-time PCR仪中开始反应。

$\beta$ -actin为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析指标mRNA相对表达量。引物由北京天一辉远生物科技有限公司合成,引物序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
CaMK II	上游 TCTGCTCCGACAGTCCACTA	20
	下游 GGTGCTCTCAGAAGATTCCTTCA	23
RyR2	上游 AGGTGGCAGATGGCTCTCTA	20
	下游 TTGAGGATGTTCCACCAGGC	20
SERCA2a	上游 GAACCTTTGCCGCTCATT	20
	下游 AGGCTGCACACACTCTTTACC	21
NCX1	上游 AGACGGCTTGACAGAGGTTG	20
	下游 AACAAAGAGAGCCACCAGAGC	20
$\beta$ -actin	上游 TATAAAACCCGGCGGCGCA	20
	下游 GTCATCCATGGCGAACTGGTG	20

**2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测心肌组织CaMK II、RyR2、SERCA2a、NCX1蛋白表达水平** 使用蛋白裂解液提取小鼠心脏组织总蛋白,用蛋白定量法(BCA)测蛋白浓度,并将各组蛋白浓度调至一致,水浴变性后加入loading buffer。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳后,电转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上。用5%脱脂奶粉-TBST溶液室温封闭1 h后,加入一抗CaMK II(1:2 000)、RyR2(1:3 000)、SERCA2a(1:2 500)、NCX1(1:2 000)、 $\beta$ -actin(1:2 000),4  $^{\circ}$ C冰箱过夜。次日加入二抗(1:1 000),室温孵育1 h后,加入增强化学发光法(ECL)发光液显影。并设 $\beta$ -actin为内参,使用Image J软件分析蛋白条带。

**2.8 血清炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平检测** 小鼠异氟烷麻醉(麻醉浓度同2.2项)后眼球取血,1.5 mL促凝管收集小鼠血液,室温静置1 h后以1 200 $\times$ g离心15 min(离心半径10 cm),收集血清转移至-80  $^{\circ}$ C冰箱中冻存储存,检测时严格按照酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒说明书分别检测IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 。

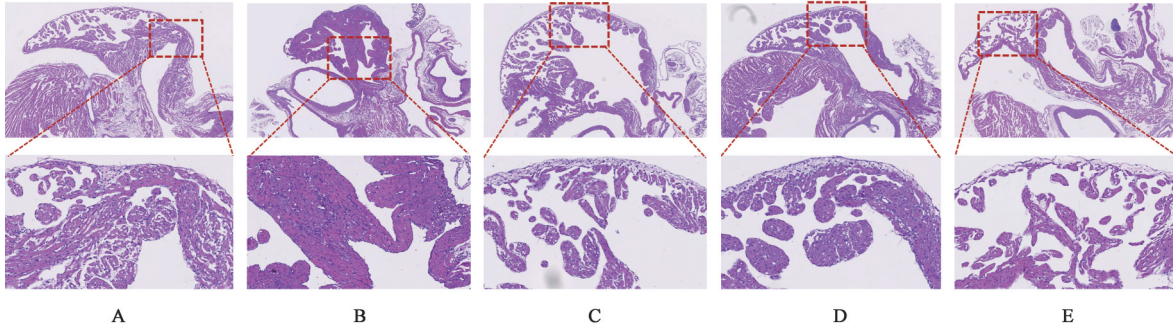
**2.9 统计学方法** 采用SPSS 26.0软件分析,所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。计量资料采用完全随机资料的方差分析(ANOVA),计数资料采用卡方检验或Fisher精确检验。所有统计检验均采取双侧检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 温胆宁心颗粒对炎症损伤小鼠心房组织结构的影响** HE染色显示,空白组心房肌纤维束排列

整齐、走向一致、间隙正常、心房肌细胞大小均一、分布均匀,无炎症浸润,心房组织结构形态正常;模型组心房肌纤维束排列紊乱、断裂、呈波浪状或涡

旋状、核深染、炎症细胞浸润;温胆宁心低、高剂量组及胺碘酮组组织结构破坏减轻,炎症浸润减少,表明可改善心房组织病理损伤。见图1。



注:A.空白组;B.模型组;C.温胆宁心低剂量组;D.温胆宁心高剂量组;E.胺碘酮组(图2-图6同)

图1 温胆宁心颗粒对炎症损伤小鼠心房组织结构的影响(HE,×20,×200)

Fig. 1 Effect of Wendan Ningxin granules on structural integrity of atrial tissue in inflammatory-damaged mice (HE,×20,×200)

3.2 温胆宁心颗粒对炎症损伤小鼠心房纤维化的影响 天狼猩红染色显示,与空白组比较,模型组心房组织可见大量致密红色胶原纤维沉积,心肌束结构破坏,心房组织出现广泛间质纤维化;免疫组化染色显示,与空白组比较,模型组心房间质中可

见大量棕褐色的 $\alpha$ -SMA阳性细胞弥漫性浸润( $P<0.01$ )。与模型组比较温胆宁心低、高剂量组及胺碘酮组的天狼猩红染色、 $\alpha$ -SMA免疫组化染色均显示可不同程度抑制心房组织纤维化( $P<0.01$ )。见图2、图3、表2。

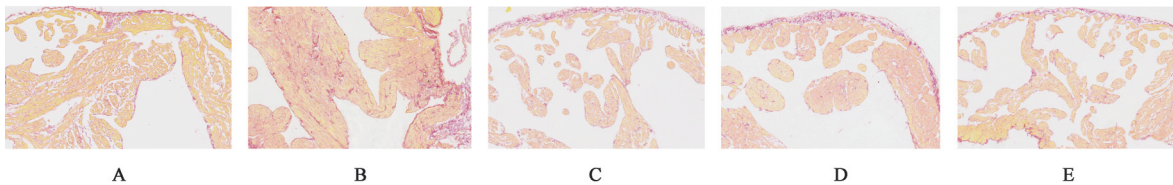


图2 温胆宁心颗粒对炎症损伤小鼠心房纤维化的影响(天狼猩红,×200)

Fig. 2 Effect of Wendan Ningxin granules on atrial fibrosis in inflammatory-damaged mice (Sirius red,×200)

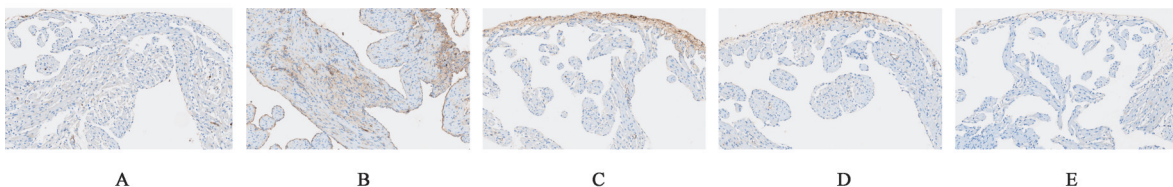


图3 温胆宁心颗粒对炎症损伤小鼠心房纤维化的影响(免疫组化,×200)

Fig. 3 Effect of Wendan Ningxin granules on atrial fibrosis in inflammatory-damaged mice (IHC,×200)

表2 温胆宁心颗粒对小鼠心房 $\alpha$ -SMA表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 2 Effect of Wendan Ningxin granules on  $\alpha$ -SMA expression in mice atrial ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\alpha$ -SMA
空白组		1.47±0.28
模型组		12.69±1.66 <sup>2)</sup>
温胆宁心低剂量组	2.34	2.39±1.03 <sup>4)</sup>
温胆宁心高剂量组	4.68	2.30±0.26 <sup>4)</sup>
胺碘酮组	0.091	2.11±0.24 <sup>4)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ ,<sup>4)</sup> $P<0.01$ (表3-表7同)

3.3 温胆宁心颗粒对小鼠心房电生理的影响

3.3.1 温胆宁心颗粒对心房电传导及传导方向的影响 心房电传导图中红色代表电兴奋发起,传导过程中颜色渐变,蓝色代表电兴奋冷却。空白组小鼠心房电传导均匀,方向一致;模型组小鼠心房电传导紊乱,方向离散,可见异常起搏点;与模型组比较,温胆宁心低、高剂量组及胺碘酮组电传导、传导方向的一致性均有改善。见图4。

3.3.2 温胆宁心颗粒对小鼠房颤易感性的影响

8 Hz电刺激频率下记录小鼠房颤诱发情况,记录

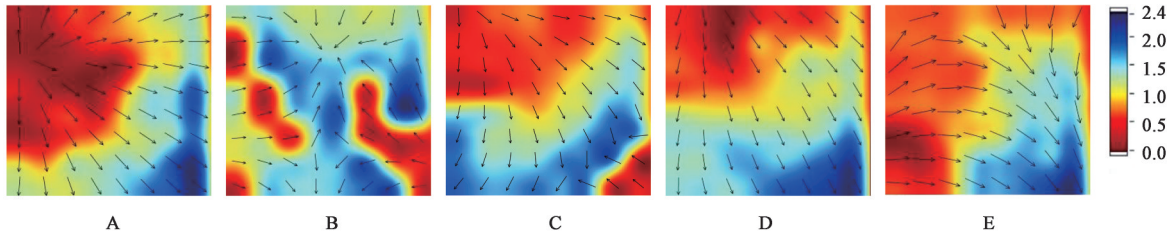


图4 温胆宁心颗粒对小鼠心房电传导及传导方向的影响

Fig. 4 Effect of Wendan Ningxin granules on electrical conduction and conduction direction in mice atrial

时间均>15 s。结果显示,空白组未诱发出房颤;与空白组比较,模型组可诱发出房颤,房颤诱发率、房颤持续时间显著升高( $P<0.01$ ),AERP显著缩短( $P<0.01$ ),具有房颤易感性。与模型组比较,温胆宁心低、高剂量组及胺碘酮组虽诱发出房颤,房颤诱发率、持续时间显著减少( $P<0.01$ ),可较快恢复窦律,AERP明显延长( $P<0.05, P<0.01$ ),房颤易感性降低。见图5、表3。

**3.3.3 温胆宁心颗粒对心房动作电位时程及钙瞬变的影响** 与空白组比较,模型组APD离散度、兴奋传导不均匀指数及CaT离散度显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,温胆宁心低、高剂量组及胺碘酮组可明显降低上述指标水平( $P<0.05, P<0.01$ ),但温胆宁心低剂量组APD离散度降低不明显,表明可改善心肌细胞复极及钙处理的均一性,减少异位触发活动,从而降低房颤易感性。见表4。

**3.4 温胆宁心颗粒对心房肌细胞舒张期肌浆网钙离子泄漏相关蛋白CaMK II、RyR2、SERCA2a、NCX1 mRNA转录的影响** 结果显示,与空白组比

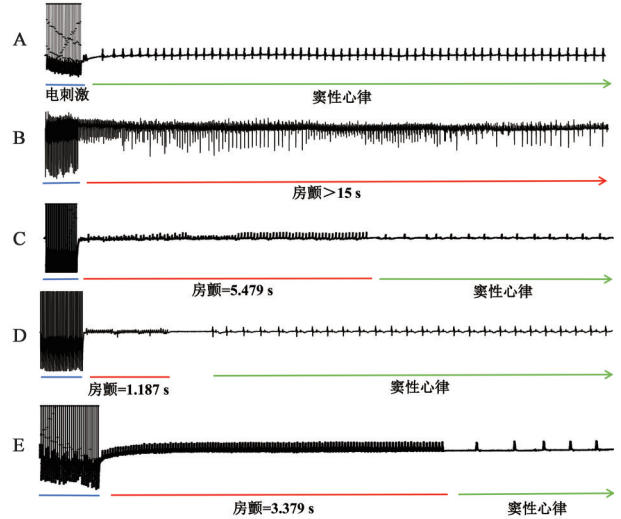


图5 各组小鼠代表性房颤诱发图

Fig. 5 Representative AF induction diagrams for each group of mice

较,模型组CaMK II、RyR2、NCX1表达明显上调( $P<0.05, P<0.01$ ),SERCA2a表达显著下调( $P<0.01$ )。与模型组比较,温胆宁心低、高剂量组CaMK II、RyR2、NCX1表达明显下调( $P<0.05, P<$

表3 温胆宁心颗粒对小鼠房颤易感性的影响( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

Table 3 Effect of Wendan Ningxin granules on AF susceptibility in mice ( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	房颤诱发率/%	房颤持续时间/s	AERP/ms
空白组		0.00±0.00	0.00±0.00	23.60±4.10
模型组		0.66±0.13 <sup>2)</sup>	12.02±0.65 <sup>2)</sup>	16.80±1.79 <sup>2)</sup>
温胆宁心低剂量组	2.34	0.26±0.18 <sup>4)</sup>	5.15±0.23 <sup>4)</sup>	20.80±0.03 <sup>3)</sup>
温胆宁心高剂量组	4.68	0.18±0.11 <sup>4)</sup>	2.03±0.14 <sup>4)</sup>	21.60±1.67 <sup>3)</sup>
胺碘酮组	0.091	0.14±0.11 <sup>4)</sup>	3.65±0.15 <sup>4)</sup>	22.40±2.61 <sup>4)</sup>

表4 温胆宁心颗粒对心房动作电位时程及钙瞬变的影响( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

Table 4 Effect of Wendan Ningxin granules on atrial action potentials duration and calcium transient ( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	APD离散度/ms	APD兴奋传导不均匀指数	CaT离散度/ms
空白组		8.32±4.65	5.60±1.31	3.27±1.53
模型组		52.31±10.03 <sup>2)</sup>	38.09±4.76 <sup>2)</sup>	44.04±4.90 <sup>2)</sup>
温胆宁心低剂量组	2.34	43.43±13.60	22.10±7.96 <sup>4)</sup>	37.05±5.36 <sup>3)</sup>
温胆宁心高剂量组	4.68	34.02±6.05 <sup>4)</sup>	20.92±5.78 <sup>4)</sup>	33.11±5.42 <sup>4)</sup>
胺碘酮组	0.091	26.60±7.13 <sup>4)</sup>	17.91±4.60 <sup>4)</sup>	30.94±6.83 <sup>4)</sup>

0.01), SERCA2a表达显著上调,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。见表5。

表5 温胆宁心颗粒对心房肌细胞舒张期肌浆网钙离子泄漏相关蛋白CaMK II、RyR2、SERCA2a、NCX1 mRNA转录的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of Wendan Ningxin granules on mRNA transcription of CaMK II, RyR2, SERCA2a, NCX1 associated with calcium leakage from sarcoplasmic reticulum during diastolic phase of atrial myocytes ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	CaMK II	RyR2	SERCA2a	NCX1
空白组		0.95±0.49	1.00±0.05	1.75±0.02	0.81±0.22
模型组		1.72±0.19 <sup>1)</sup>	1.82±0.49 <sup>2)</sup>	0.94±0.04 <sup>2)</sup>	1.68±0.45 <sup>2)</sup>
温胆宁心低剂量组	2.34	1.07±0.09 <sup>3)</sup>	1.01±0.16 <sup>4)</sup>	1.19±0.05 <sup>4)</sup>	1.03±0.34 <sup>3)</sup>
温胆宁心高剂量组	4.68	1.03±0.28 <sup>3)</sup>	1.02±0.23 <sup>4)</sup>	1.20±0.02 <sup>4)</sup>	1.05±0.54 <sup>3)</sup>
胺碘酮组	0.091	1.03±0.37 <sup>3)</sup>	1.03±0.26 <sup>4)</sup>	1.26±0.28 <sup>4)</sup>	1.07±0.14 <sup>3)</sup>

3.5 温胆宁心颗粒对心房肌细胞舒张期肌浆网钙离子泄漏相关蛋白CaMK II、RyR2、SERCA2a、NCX1蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组CaMK II、RyR2、NCX1蛋白表达显著升高( $P<$

0.01), SERCA2a显著下调( $P<0.01$ );与模型组比较,温胆宁心高剂量组和胺碘酮组CaMK II、RyR2、NCX1蛋白表达显著降低( $P<0.01$ ),SERCA2a表达水平明显增加( $P<0.05$ )。见表6、图6。

表6 温胆宁心颗粒对心房肌细胞舒张期肌浆网钙离子泄漏相关蛋白CaMK II、RyR2、SERCA2a、NCX1的蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 6 Effect of Wendan Ningxin granules on expression of proteins of CaMK II, RyR2, SERCA2a, and NCX1 that associated with calcium leakage from sarcoplasmic reticulum during diastole in atrial myocytes ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	CaMK II/ $\beta$ -actin	RyR2/ $\beta$ -actin	SERCA2a/ $\beta$ -actin	NCX1/ $\beta$ -actin
空白组		0.36±0.03	0.48±0.07	1.03±0.19	0.70±0.17
模型组		1.09±0.04 <sup>2)</sup>	1.13±0.07 <sup>2)</sup>	0.55±0.07 <sup>1)</sup>	1.52±0.18 <sup>2)</sup>
温胆宁心低剂量组	2.34	0.68±0.05 <sup>4)</sup>	0.91±0.12 <sup>4)</sup>	0.61±0.07	1.35±0.11
温胆宁心高剂量组	4.68	0.63±0.04 <sup>4)</sup>	0.58±0.08 <sup>4)</sup>	0.91±0.10 <sup>3)</sup>	1.02±0.18 <sup>4)</sup>
胺碘酮组	0.091	0.67±0.06 <sup>4)</sup>	0.64±0.06 <sup>4)</sup>	1.02±0.34 <sup>3)</sup>	0.97±0.13 <sup>4)</sup>

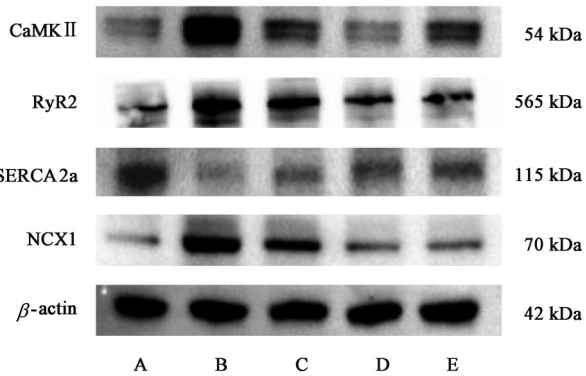


图6 心房肌细胞舒张期肌浆网钙离子泄漏相关蛋白CaMK II、RyR2、SERCA2a、NCX1的蛋白表达电泳

Fig. 6 Electrophoresis of proteins expression of CaMK II, RyR2, SERCA2a, and NCX1 that associated with calcium leakage from sarcoplasmic reticulum during diastole in atrial myocytes

3.6 温胆宁心颗粒对小鼠血清炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平的影响 结果显示,与空白组比较,模型组血清炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,温胆宁心低、高剂量组和胺碘酮组血清炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平显著降低( $P<0.01$ )。见表7。

表7 温胆宁心颗粒对小鼠血清炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 7 Effect of Wendan Ningxin granules on levels of serum inflammatory factors IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in mice ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$
空白组		0.23±0.15	10.69±0.08
模型组		1.66±0.52 <sup>2)</sup>	19.23±2.66 <sup>2)</sup>
温胆宁心低剂量组	2.34	0.78±0.23 <sup>4)</sup>	12.87±1.86 <sup>4)</sup>
温胆宁心高剂量组	4.68	0.62±0.10 <sup>4)</sup>	11.94±1.55 <sup>4)</sup>
胺碘酮组	0.091	0.54±0.11 <sup>4)</sup>	11.19±0.81 <sup>4)</sup>

#### 4 讨论

温胆宁心颗粒基于《证治准绳》中十味温胆汤化裁,并结合首都名中医高荣林主任多年临床经验所得,全方温胆益气、宁心安神。温胆宁心颗粒方中酸枣仁养心安神补肝,与党参益气养血共为君,合用宁心定志、温胆安神;半夏、陈皮、竹茹、枳实为臣,共奏理气健脾、散痞消积、燥湿化痰;陈皮、半夏与枳实、竹茹配伍,一温一凉互为制约;佐以龙牡镇静安神,茯苓安神,石菖蒲、远志开窍醒神,甘草益

气和调,全方尤适用于心胆气虚之心悸<sup>[14]</sup>。

房颤属于中医学“心悸”“怔忡”疾病范畴。《素问·灵兰秘典论》云:“心者,君主之官,神明出焉”。心为五脏六腑之大主,在《类经·口问篇》又曰:“悲哀忧愁则心动,心动则五脏六腑皆摇”,阐述情志致病会使心脏先受损伤,而心神受损又可影响包括胆腑在内的其他脏腑功能。正如《济生方·惊悸怔忡忘门》中:“心气安逸,胆气不怯,决断思虑,得其所也”,说明心神心气对胆腑的积极作用。心胆二者具有互相影响、相互促进的双向作用,在《素问·灵兰秘典论》曰:“胆者,中正之官,决断出焉,故凡十一脏皆取决于胆”。胆为中精之腑,精气所化为胆汁,因此胆与神的关系可概括为精与神的关系。神由精所生,精气供养神气以维系精神思维意识活动,故心虽为神之主,心主藏神,但神气赖于精气,心神取决于胆<sup>[15]</sup>。在《辨证录·怔忡门》中进一步对心胆相通所致心悸怔忡做出阐述:“夫胆属少阳,心之母也,母虚则子亦虚,胆气一虚而脏腑之气皆无所遵从,而心尤无主,故怦怦而不安者”,启示在治疗时可以治胆以摄心神。《医学入门·卷一脏腑》中对胆腑的调节提出:“心与胆相通,心病怔忡,宜温胆为主”,以温胆气调心神,从而缓解心悸不适之症。使用温胆宁心颗粒治疗心胆气虚型心悸恰对病机。

全球范围内,房颤的发病率正在不断增加,但目前房颤发生和进展的机制仍不明确<sup>[2,16]</sup>。越来越多的证据表明,房颤与炎症密切相关。炎症虽对组织损伤和感染具有保护性反应,但是持续的炎症可诱导心房纤维化、肥大和细胞凋亡,形成房颤易损基质,导致房颤发生<sup>[17]</sup>。研究证实,炎症刺激下小鼠心房组织中NOD样受体蛋白3炎症小体(NLRP3)被激活,其下游炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等表达增加,导致心房纤维化促进心房结构重构<sup>[18]</sup>。LPS是一种免疫系统有效激活剂,多用来构建炎症动物模型。腹腔注射为最常用的LPS给药方式,根据不同实验目的,小剂量多次腹腔注射LPS可诱导慢性炎症模型<sup>[12]</sup>。因此本研究构建LPS腹腔注射诱导炎症小鼠模型,在温胆宁心颗粒连续灌胃给药4周后,小鼠心脏炎症和纤维化明显改善,表明温胆宁心颗粒具有心脏保护作用。炎症亦可引起心房肌细胞钙离子通道电流和功能表达发生改变,其中大多数钙通道电流异常造成心房肌AERP的缩短,房内折返速度加快促进心房电重构,从而引起房颤<sup>[19]</sup>。如本研究多通道电生理标测结果所示,模型

组AERP缩短,房颤诱发率、房颤持续时间均增加,温胆宁心颗粒可延长AERP,抑制心房组织异常兴奋性并减少了异位电触发活动,有效减少房颤发生。APD离散度是导致折返性心律失常的主要因素<sup>[20]</sup>,本研究通过比较发现,模型组的APD离散度、兴奋传导不均一性指数以及CaT离散度明显上升,表明心房复极过程、心房肌细胞钙处理功能不一致,心房肌电信号传播速度及方向不均匀,而温胆宁心颗粒的干预可显著抑制这一现象,改善空间上不一致的电兴奋性改变,有效降低了兴奋性折返的条件从而降低房颤风险。

生理情况下,钙离子通过具有动作电位的L型钙离子通道(ICa-L)进入细胞,以主要的钙离子释放通道RyR2触发肌浆网内的钙离子释放<sup>[21]</sup>。通过这种钙离子诱导钙离子释放(CICR)方式引起心肌收缩<sup>[22]</sup>。心肌舒张时,RyR2关闭,胞浆中的钙离子一部分通过SERCA2a活化将钙离子摄回肌浆网(摄回占比63%),另一部分通过细胞膜上的NCX(排出占比37%)将钙离子排到细胞外<sup>[23]</sup>。但在炎症等病理条件下,LPS作为一种病原体相关分子模式,可直接激活心肌细胞Toll样受体,促进活化的B细胞核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)激活及NLRP3的转录上调,最终导致NLRP3炎症小体组装和激活<sup>[17]</sup>。NLRP3炎症小体可激活CaMK II<sup>[24]</sup>。被激活的CaMK II可直接调节RyR2通道活性,使心房肌细胞RyR2受体磷酸化水平异常升高,促使肌浆网中大量的钙离子流向胞浆,引起舒张期钙泄漏<sup>[25-27]</sup>。此时SERCA2a活性降低,过多的钙离子通过NCX外排,与细胞外的钠离子以1:3的比例进行交换,进而产生异常的净内向阳离子移动即瞬时内向电流,导致心肌细胞延迟后除极(DADs),一旦达到心房肌细胞兴奋的阈值,即可诱发心房肌局部的异位电触发活动,并进展为折返环维持房颤<sup>[28-31]</sup>。本研究显示,心房肌细胞舒张期肌浆网钙离子泄漏相关蛋白失调导致的细胞内钙异常可引起心房肌电重构和房颤易感性增加,而温胆宁心颗粒可显著抑制CaMK II、RyR2、NCX1表达,上调SERCA2a水平,一定程度恢复SERCA2a活性,调节心房肌细胞钙释放与回摄,减轻舒张期肌浆网钙离子泄漏。

综上所述,温胆宁心颗粒可有效改善小鼠心房肌结构重构及电重构,从而抑制房颤发生进展,且治疗效果呈剂量依赖性,温胆宁心高剂量组治疗效果更好。温胆宁心颗粒改善房颤易感性的作用机制可能与减轻炎症反应,调控心房肌细胞钙泄漏相

关蛋白转录及表达,调节心房肌动作电位时程及钙瞬变水平,从而改善心房结构重构、电重构有关,但其机制仍需进一步研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] JOGLAR J A, CHUNG M K, ARMBRUSTER A L, et al. 2023 ACC/AHA/ACCP/HRS guideline for the diagnosis and management of atrial fibrillation: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association joint committee on clinical practice guidelines [J]. *Circulation*, 2024, 149(1): e1-e156.
- [2] KARNIK A A, GOPAL D M, KO D, et al. Epidemiology of Atrial Fibrillation and Heart Failure: A growing and Important Problem [J]. *Cardiol Clin*, 2019, 37(2): 119-129.
- [3] 中华医学会心血管病学分会, 中国生物医学工程学会心律分会. 心房颤动诊断和治疗中国指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2023, 51(6): 572-618.
- Chinese Society of Cardiology of Chinese Medical Association, Chinese Society of Pacing and Electrophysiology of Chinese Society of Biomedical Engineering. Chinese Guideline for the Diagnosis and Management of Atrial Fibrillation [J]. *Chin J Cardiol*, 2023, 51(6): 572-618.
- [4] HINDRICKS G, POTPARA T, DAGRES N, et al. 2020 ESC guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The task force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(5): 373-498.
- [5] SUWALSKI P, KOWALEWSKI M, JASIŃSKI M, et al. Survival after surgical ablation for atrial fibrillation in mitral valve surgery: Analysis from the Polish National Registry of Cardiac Surgery Procedures (KROK) [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 157(3): 1007-1018. e4.
- [6] HU Y F, CHEN Y J, LIN Y J, et al. Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(4): 230-243.
- [7] 朱云霞, 崔晓敬, 李文英, 等. 十味温胆汤联合美托洛尔治疗气阴两虚兼痰浊壅盛心律失常患者心率变异性的影响 [J]. *吉林中医药*, 2021, 41(8): 1050-1053.
- ZHU Y X, CUI X J, LI W Y, et al. Effect of Shiwei Wendan decoction combined with metoprolol on heart rate variability in patients with arrhythmia of Qi-Yin deficiency phlegm-turbidity exuberance pattern [J]. *Jilin J Chin Med*, 2021, 41(8): 1050-1053.
- [8] 李桂侠, 刘艳娇, 洪兰, 等. 温胆宁心颗粒治疗原发性失眠症的临床研究 [J]. *北京中医药*, 2013, 32(10): 775-777.
- LI G X, LIU Y J, HONG L, et al. Clinical study on Wendan

- Ningxin granules in treating primary insomnia [J]. *Beijing J Tradit Chin Med*, 2013, 32(10): 775-777.
- [9] 史华伟, 郭蓉娟, 耿东, 等. 温胆宁心颗粒联合心理疗法治疗心胆气虚型广泛性焦虑症的随机对照临床研究 [J]. *环球中医药*, 2013, 6(10): 728-732.
- SHI H W, GUO R J, GENG D, et al. A randomized controlled clinical trial of Wendan Ningxin granules combined with psychotherapy for generalized anxiety disorder with heart-gallbladder Qi deficiency pattern [J]. *Global Tradit Chin Med*, 2013, 6(10): 728-732.
- [10] 刘宗莲, 康凌. 高荣林运用温胆汤类方治疗失眠经验 [J]. *中医杂志*, 2008, 49(11): 975-976.
- LIU Z L, KANG L. GAO Ronglin's experience in using Wendan decoction and its modified formulas for treating insomnia [J]. *J Tradit Chin Med*, 2008, 49(11): 975-976.
- [11] 祁雷磊, 陈月莹, 庞然, 等. 基于数据挖掘分析高荣林教授治疗失眠的用药规律 [J]. *中国医药导报*, 2023, 20(31): 4-11.
- QI L L, CHEN Y Y, PANG R, et al. Analysis of medication rules in professor GAO Ronglin's treatment of insomnia based on data mining [J]. *China Med Herald*, 2023, 20(31): 4-11.
- [12] YIN R, ZHANG K, LI Y, et al. Lipopolysaccharide-induced depression-like model in mice: Meta-analysis and systematic evaluation [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1181973.
- [13] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- HUANG J H, HUANG X H, CHEN Z Y, et al. Equivalent dose conversion between animal species and between animals and humans in pharmacological experiments [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [14] 吕李飞, 朱婷婷, 陈琛, 等. 温胆宁心颗粒对心肌梗死合并抑郁大鼠 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 信号通路的影响研究 [J]. *海南医学院学报*, 2024, 30(11): 824-832.
- LV L F, ZHU T T, CHEN C, et al. Effect of Wendan Ningxin granules on BDNF/TrkB/PI3K/Akt signaling pathway in rats with myocardial infarction complicated by depression [J]. *J Hainan Med Univ*, 2024, 30(11): 824-832.
- [15] 沈子焕, 崔向宁. 基于“心胆相通”理论从胆论治双心疾病临床经验 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2025, 23(23): 3672-3676.
- SHEN Z H, CUI X N. Clinical experience in treating dual-heart disease from the gallbladder perspective based on the theory of "heart-gallbladder connection" [J]. *Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis*, 2025, 23(23): 3672-3676.
- [16] BRUNDEL B, AI X, HILLS M T, et al. Atrial fibrillation [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2022, 8(1): 21.
- [17] AJOOLABADY A, NATTEL S, LIP G Y H, et al. Inflammasome signaling in atrial fibrillation: JACC State-of-the-Art review [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2022, 79(23): 2349-2366.
- [18] YE T, ZHOU Y, YANG J, et al. P2X7 receptor inhibition prevents atrial fibrillation in rodent models of depression [J].

- Europace, 2024, 26(2): euac022.
- [19] KOYA T, WATANABE M, NATSUI H, et al. Pharmacological nNOS inhibition modified small-conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$  channel without altering  $Ca^{2+}$  dynamics [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2022, 323(5): H869-H878.
- [20] AVULA U, MELKI L, KUSHNER J S, et al. Theoretical models and computational analysis of action potential dispersion for cardiac arrhythmia risk stratification [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 649489.
- [21] VOIGT N, LI N, WANG Q, et al. Enhanced sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  leak and increased  $Na^{+}$ - $Ca^{2+}$  exchanger function underlie delayed afterdepolarizations in patients with chronic atrial fibrillation [J]. *Circulation*, 2012, 125(17): 2059-2070.
- [22] EISNER D A, CALDWELL J L, KISTAMAS K, et al. Calcium and excitation-contraction coupling in the heart [J]. *Circ Res*, 2017, 121(2): 181-195.
- [23] NATTEL S, HEIJMAN J, ZHOU L, et al. Molecular basis of atrial fibrillation pathophysiology and therapy: A translational perspective [J]. *Circ Res*, 2020, 127(1): 51-72.
- [24] HEIJMAN J, MUNA A P, VELEVA T, et al. Atrial myocyte NLRP3/CaMKII nexus forms a substrate for postoperative atrial fibrillation [J]. *Circ Res*, 2020, 127(8): 1036-1055.
- [25] CAMORS E, VALDIVIA H H. CaMK II regulation of cardiac ryanodine receptors and inositol triphosphate receptors [J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: 101.
- [26] YING H, GUO W, TANG X, et al. Colchicine attenuates the electrical remodeling of post-operative atrial fibrillation through inhibited expression of immune-related hub genes and stabilization of microtubules [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(9): 2934-2956.
- [27] YANG X, AN N, ZHONG C, et al. Enhanced cardiomyocyte reactive oxygen species signaling promotes ibuprofen-induced atrial fibrillation [J]. *Redox Biol*, 2020, 30: 101432.
- [28] YAN J, BARE D J, DESANTIAGO J, et al. JNK<sub>2</sub>, a newly-identified SERCA<sub>2</sub> enhancer, augments an arrhythmic  $[Ca^{2+}]_{SR}$  leak-load relationship [J]. *Circ Res*, 2021, 128(4): 455-470.
- [29] RAMOS-MONDRAGON R, LOZHKIN A, VENDROV A E, et al. NADPH oxidases and oxidative stress in the pathogenesis of atrial fibrillation [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(10): 1833.
- [30] 朱婷婷, 吕李飞, 尚碧月, 等. 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌线粒体损伤及NLRP3/GSDMD介导的细胞焦亡的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20261091.
- ZHU T T, LYU L F, SHANG B Y, et al. Effects of modified Baoyuan DECOCTION COMBINED with Linggui Zhugan decoction on ventricular remodeling and NLRP3/GSDMD-Mediated pyroptosis in rats with post-myocardial infarction heart failure [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2026, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20261091.
- [31] 张芷唯, 朱婷婷, 尚碧月, 等. 基于“虚、郁、痰、瘀”探讨心房颤动共病代谢综合征的“机-证-治” [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20261093.
- ZHANG Z W, ZHU T T, SHANG B Y, et al. Framework of atrial fibrillation comorbid with metabolic syndrome based on the theory of "deficiency, stagnation, phlegm, and blood stasis" [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2026, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20261093.

[责任编辑 王鑫]