

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.16.014

稳心颗粒对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者循环微小 RNA-4 表达的影响

王虹^{*}, 程文功, 黎欣欣, 梁凯琴

广西壮族自治区人民医院, 广西壮族自治区南宁市桃源路 6 号, 530021

摘要 目的 探讨稳心颗粒对急性 ST 段抬高型心肌梗死 (STEMI) 患者循环微小 RNA-4 (miR-4) 表达及室性心律失常发生率、存活率、心功能情况的影响。方法 98 例 STEMI 患者随机分为治疗组和对照组各 49 例。两组患者均接受包括急诊经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 在内的常规治疗, 治疗组加服稳心颗粒, 每次 9 g, 每日 3 次。两组疗程均为 3 个月。比较两组患者治疗前后循环 miR-4 表达, 以及室性心律失常发生率、病死率、心功能 [包括左室射血分数 (LVEF)、舒张末期左室前后径 (LVd)、收缩末期左室前后径 (LVs)] 情况。结果 两组治疗后循环 miR-4 表达水平均明显降低 ($P < 0.05$), 治疗后治疗组循环 miR-4 表达水平明显低于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后两组患者的 LVEF 均较治疗前明显升高, LVd、LVs 均较治疗前明显降低 ($P < 0.05$), 且治疗组患者较对照组改善更明显 ($P < 0.05$)。治疗组治疗后室性心律失常发生率为 16.33%, 对照组为 24.49%, 治疗组明显低于对照组 ($P < 0.05$)。治疗组 3 个月随访时病死率为 10.2%, 对照组病死率为 18.4%, 两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 PCI 术后联合西药及稳心颗粒治疗可进一步降低 STEMI 患者循环 miR-4 表达, 改善心功能, 降低室性心律失常发生率。

关键词 微小 RNA-4; 急性 ST 段抬高型心肌梗死; 经皮冠状动脉介入术; 稳心颗粒; 心功能; 心律失常

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 在全球是主要死亡原因之一^[1]。目前, 临床治疗 AMI 患者最有效的方式是恢复梗死区血运, 然而血流再通后可能出现缺血/再灌注损伤 (IRI)。再灌注性心律失常 (RA) 是心肌 IRI 最重要的临床表现, 是目前临床判断血流恢复的指标之一, 但同时恶性 RA 也是导致患者预后不良, 甚至死亡的重要原因^[2-3]。研究^[4-5]发现, 微小 RNA-4 (miR-4) 可以作为诊断 AMI 的独立生物学指标, 而且与 AMI 后心力衰竭、猝死以及心律失常的发生有密切关系。稳心颗粒对 AMI 后 RA 尤其是室性心律失常有较好治疗和预防作用^[6]。本研究主要观察 ST 段抬高型急性心肌梗死 (STEMI) 患者经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 后, 稳心颗粒对其循环 miR-4 表达及预后的影响。本研究经广西壮族自治区人民医院伦理委员会批准 (KY-SY-2017-4 号)。

1 临床资料

1.1 诊断标准

西医诊断标准参照《急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南》^[7]。

1.2 纳入标准

1) 符合以上西医诊断标准, 发病 12 h 内接受 PCI 治疗; 2) 年龄 > 18 岁; 3) 患者签署知情同意书。

1.3 排除标准

合并 1 型糖尿病、恶性肿瘤、炎症者; 有急性出血或输血史及促红细胞生成素使用者; 绝经前妇女。

1.4 一般资料

纳入 2010 年 3 月至 2018 年 3 月在广西壮族自治区人民医院内科住院的 STEMI 患者 98 例, 其中男性 67 例, 女性 31 例。所有患者均在发病 12 h 内接受 PCI 治疗, 其中 14 例行血栓抽吸术之后行支架植入术。入组病例使用 SPSS 17.0 软件产生随机表, 患者根据随机数字表法分为治疗组和对照组各 49 例。治疗组中男 36 例, 女 13 例; 年龄 33 ~

基金项目: 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目 (S2017077); 南宁市青秀区科学研究与技术开发计划项目 (2014S06)

* 通讯作者: iriswh@163.com, (0771) 2186155

95 岁, 平均 (63.17 ± 12.35) 岁, 其中年龄 ≥ 75 岁 12 例 (24.5%); 合并高血压病 25 例 (51.0%), 合并高脂血症 10 例 (20.4%), 合并 2 型糖尿病 12 例 (24.5%), 入院时合并心源性休克 4 例 (8.2%); 有吸烟史 18 例 (36.7%), 冠心病家族史 5 例 (10.2%), 既往有 PCI 史或 AMI 史 10 例 (20.4%)。对照组中男 31 例, 女 18 例; 33 ~ 84 岁, 平均 (62.56 ± 10.74) 岁, 其中年龄 ≥ 75 岁 14 例 (28.6%); 合并高血压病 28 例 (57.1%), 合并高脂血症 9 例 (18.4%), 合并 2 型糖尿病 10 例 (20.4%), 入院时合并心源性休克 2 例 (4.1%); 有吸烟史 17 例 (34.7%), 冠心病家族史 7 例 (14.3%), 既往有 PCI 史或 AMI 史 11 例 (22.4%)。两组患者一般临床资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

2 方法

2.1 治疗方法

两组患者均在急诊 PCI 术后给予西药治疗, 包括应用肠溶阿司匹林、氯吡格雷、血管紧张素转化酶抑制剂 (ACEI) 或选择性阻断血管紧张素 II 受体 (ARB) 类药物、 β 受体阻滞剂、他汀类药物、单硝酸异山梨酯 (根据患者病情酌情使用)。

在此基础上, 治疗组加服稳心颗粒 (由党参、黄精、三七、琥珀、甘松组成, 山东步长制药股份有限公司生产, 每袋 9g, 批号: 121117, 1309045, 1411018, 1510106, 1609078, 1711092), 每次 1 袋, 每日 3 次。

两组疗程均为 3 个月。

2.2 观察指标和方法

2.2.1 外周血单核细胞 (PBMCs) 的分离 患者入院后即时取血测定循环 miR-1。并于治疗 3 个月后再次采血测定循环 miR-1。抽取患者外周静脉血 10 ml, 与等量含肝素的 PBS 混匀后, 加入密度为 1.077 g/ml 的 Ficoll-Paque (细胞梯度分离液, 美国 Sigma 公司, 批号 GE17544202), 室温 2200 r/min 离心 20 min, 半径 15 cm, 吸取中间界面的白色絮状单核细胞层, 加入 PBS 离心 (2200 r/min 离心 20 min, 半径 15 cm), 去除残留的 Ficoll-Paque 分离液。用流式细胞仪 (美国 BD 公司, 型号 FACSCanto II) 检测证实单核细胞纯度 > 92%。

2.2.2 总 RNA 提取 将 PBMCs 加入 TRIzol (美国 invitrogen 公司, 批号: 252612) 裂解, 按产品说明书一步法抽提总 RNA (tRNA)。

2.2.3 逆转录及实时 PCR 检测 miR-1 使用 All-

in-One miRNA Q-PCR 检测试剂盒 (美国 Gene Copoeia 公司, 批号: A22WP1501), 按说明书进行。每例样本均经双孔重复。hsA-miR-1 基因引物 (美国 GeneCopoeia 公司) 序列为 5'-UGGAAU-GUAAAGAAGUAUGUAU-3', U6 序列为 5'-CAAG-GATGACACGCAAATTCG-3', 产物经溶解曲线单峰验证, 于 T 阶段采集信号获得 Ct 值, 以上由经验丰富的 PCR 实验技师专人操作, 采用双盲法, 计算测试基因与内参基因 snRNA U6 (美国 Gene Copoeia 公司) 比值, 作相对量分析。

2.2.4 荧光定量实时 PCR 结果分析 结合扩增曲线及溶解曲线分析, 排除不合适的扩增样本, 将符合要求的 miR-1 及 U6 荧光定量实时 PCR 原始数据 (采用系统自动分析获取 Ct 值), 取两次重复的平均值, 用 $2^{-\Delta Ct}$ 法计算 miR-1 的表达量。

2.2.5 心功能检查 急诊 PCI 术后 24 h 内、3 个月时, 两组均用 GE Vivid 7 Dimension 型彩色多普勒超声检测仪 (美国 GE 公司) 检测心功能指标左室射血分数 (LVEF)、舒张末期左室前后径 (LVd)、收缩末期左室前后径 (LVs)。

2.2.6 心律失常情况 治疗后 3 个月检测 24 h 动态心电图 (动态心电图记录器 dms 300-3A 迪姆软件 (北京) 有限公司), 所录数据经分析系统中的计算机软件 (DMS 动态心电图分析软件 Cardio Scan 12 Top 版) 处理, 记录心律失常情况。

2.2.7 病死率 记录患者治疗期间的全因死亡情况。

2.3 统计学方法

使用 SPSS 17.0 进行统计分析, 计数资料用例数 (%) 表示, χ^2 检验, 计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 F 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 两组患者治疗前后循环 miR-1 表达及心功能指标比较

表 1 示, 两组治疗后循环 miR-1 表达水平均明显降低 ($P < 0.05$), 治疗后治疗组循环 miR-1 表达水平明显低于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后两组患者的 LVEF 较前明显升高, LVd、LVs 均较前明显降低 (均 $P < 0.05$), 且治疗组患者较对照组改善更明显 ($P < 0.05$)。

3.2 两组患者治疗 3 个月后室性心律失常发生率比较

治疗组 8 例患者 (16.33%) 发生了室性心律

表 1 两组急性 ST 段抬高型心肌梗死患者治疗前后循环 miR-1 表达及心功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	miR-1	LVEF (%)	LVd (mm)	LVs (mm)
治疗组	治疗前	49	3.84 ± 2.93	41.3 ± 4.4	55.3 ± 4.3	41.6 ± 5.8
	治疗后	44	2.20 ± 0.91 ^{*△}	47.1 ± 5.8 ^{*△}	51.5 ± 9.6 ^{*△}	30.8 ± 4.3 ^{*△}
对照组	治疗前	49	3.62 ± 2.80	40.8 ± 3.8	56.8 ± 5.9	39.6 ± 6.1
	治疗后	40	2.79 ± 2.04 [*]	44.6 ± 3.3 [*]	52.4 ± 8.8 [*]	32.4 ± 3.7 [*]

注: miR-1, 循环微小 RNA-1; LVEF, 左室射血分数; LVd, 舒张末期左室前后径; LVs, 收缩末期左室前后径; 与本组治疗前比较, * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较, $\Delta P < 0.05$

失常, 对照组有 12 例患者 (24.49%) 发生室性心律失常, 治疗组明显低于对照组 ($P < 0.05$)。

3.3 两组患者治疗后病死率比较

治疗组 3 个月随访时死亡 5 例 (病死率为 10.2%), 对照组死亡 9 例 (病死率为 18.4%), 两组病死率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

4 讨论

AMI 患者存在高风险的潜在致命性心律失常。研究发现, miR-1 对于 AMI 的鉴别诊断及预测 AMI 所导致的心源性猝死有高度的特异性和敏感性^[6,9]。miR-1 可以通过影响兰尼碱受体 2 (RyR2) 作用于蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 及 PP2A 组成亚基 B56α, 并调控靶基因 Stx6 的表达, 影响 L 型钙离子通道的活性从而使静息时钙离子内流增加; 调节兰尼碱受体 (RyR) 磷酸化, RyR 过度磷酸化可以增加其对钙离子敏感性, 引起钙离子紊乱, 从而参与 AMI 后心律失常的发生及转归^[6,9]。稳心颗粒中党参补中益气、安神止悸为君药; 黄精补中气、滋心阴, 辅助党参益气养血为臣药; 佐以三七、琥珀活血化瘀, 平肝安神; 使以甘松开郁散滞, 疏肝理脾。诸药合用, 共奏益气养阴、定悸复脉、活血化瘀之功^[10]。稳心颗粒能有效抑制心室肌细胞钠离子通道与 L 型钙离子通道, 继而抑制整流钾电流和瞬时外向钾电流, 提高心肌膜电位稳定性^[11]。

miR-1 调控心肌组织中内向整流钾通道 2.1 (Kir 2.1) 及抑制心肌连接蛋白 43 (Cx 43) 的表达而引发室性心律失常^[12]。研究发现, 在梗死的心肌中 miR-1 表达上调使编码内向整流钾通道的核心亚基 kir 2.1 (KCNJ2) 表达下调, 能够抑制 GJA1 (编码 Cx 43) 导致心律失常的发生^[13-14]。研究发现, 稳心颗粒可以通过调控 miR-1 表达, 影响其目标蛋白 Cx 43 的表达及蛋白激酶 C 介导的信号传导, 从而使 AMI 后室颤阈值明显提高^[15]。本研究结果显示, STEMI 患者在接受同样的 PCI、优化药物治疗基础上, 增加服用稳心颗粒 3 个月后较对照组患者循环 miR-1 表达下调, 显示稳心颗粒降

低 STEMI 病例循环 miR-1 表达, 且室性心律失常发生率降低。其原因可能与稳心颗粒通过调节锋值钠电流 (INa)、晚钠电流 (INaL)、瞬间外向钾电流 (Itto)、L-型钙电流 (ICaL)、起搏电流 (If) 减少心律失常的发生, 改善心律失常的严重程度^[16]有关, 进而改善患者预后。

miR-1 在心脏中调控心肌细胞形态、心电传导及细胞周期^[17], 还可以通过外泌体介导转运至骨髓单个核细胞, 从而调控趋化因子受体 4 的表达, 影响循环祖细胞数量, 进而使机体对心肌细胞的损失作出系统性反应, 影响心肌修复^[17]。本研究显示, miR-1 表达水平低的治疗组心肌梗死 3 个月后存活概率高于高水平表达的对照组, 且心功能改善程度更高, 再次证明循环 miR-1 表达水平可能与 STEMI 疗效及预后存在相关。

本研究显示, 稳心颗粒可进一步降低 STEMI 患者的循环 miR-1 表达, 改善心室重构及心功能, 且无不良反应, 为中西医结合治疗冠心病提供一定的理论依据。由于本研究为单中心、小样本研究, 结论尚需进一步研究证实。

参考文献

- [1] World Health Organization. Regions for health network in Europe: actions towards health equity [R/OI]. (2005-11-24) [2019-12-03]. <http://www.euro.who.int/document/e89941.pdf>.
- [2] DONATO M, EVELSON P, GELPI RJ, et al. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning [J]. Curr Opin Cardiol, 2017, 32(6): 784-790.
- [3] WRONSKA A, KURKOWSKA-JASTRZEBSKA I, SANTULLI G, et al. Application of microRNAs in diagnosis and treatment of cardiovascular disease [J]. Acta Physiol (Oxf), 2015, 213(1): 60-83.
- [4] QIN R, MURAKOSHI N, XU D, et al. Exercise training reduces ventricular arrhythmias through restoring calcium handling and sympathetic tone in myocardial infarction mice [J]. Physiol Rep, 2019, 7(4): e13972.
- [5] HALUSHKA PV, GOODWIN AJ, HALUSHKA MK.

- Opportunities for microRNAs in the crowded field of cardiovascular biomarkers [J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14(1): 211-238.
- [6] 梁岩, 陈聪, 徐国帆, 等. 稳心颗粒对急性心肌梗死直接经皮冠状动脉介入治疗术中再灌注心律失常的影响 [J]. *临床心血管病杂志*, 2005, 21(10): 601-602.
- [7] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2015, 43(5): 380-393.
- [8] PINCHI E, FRATI P, AROMATARIO M, et al. miR-1, miR-499 and miR-208 are sensitive markers to diagnose sudden death due to early acute myocardial infarction [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 6005-6016.
- [9] HARADA M, LUO X, MUROHARA T, et al. MicroRNA regulation and cardiac calcium signaling [J]. *Circ Res*, 2014, 114(4): 689-705.
- [10] 桑旭, 张明. 步长稳心颗粒治疗心律失常研究及应用进展概述 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2010, 12(10): 208-210.
- [11] 顾永军. 稳心颗粒治疗心律失常的有效性和安全性分析 [J]. *中国急救医学*, 2018, 38(2): 120.
- [12] YANG B, LIN H, XIAO J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. [J]. *Nat Med*, 2007, 13(4): 486-491.
- [13] WANG Y, LI J, XUAN L, et al. Astragalus Root dry extract restores connexin43 expression by targeting miR-1 in viral myocarditis. [J]. *Phytomedicine*, 2018, 46(7): 32-38.
- [14] SU X, LIANG H, WANG H, et al. Over-expression of microRNA-1 causes arrhythmia by disturbing intracellular trafficking system [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(4): 46259.
- [15] TIAN G, SUN Y, LIU S, et al. Therapeutic Effects of Wenxin Keli in cardiovascular diseases: an experimental and mechanism overview [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9(4): 1005.
- [16] ZHAO Y, RANSOM JF, LI A, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2 [J]. *Cell*, 2007, 129(2): 303-317.
- [17] CHENG M, YANG J, ZHAO X, et al. Circulating myocardial microRNAs from infarcted hearts are carried in exosomes and mobilise bone marrow progenitor cells [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 959.

Effects of *Wenxin Granule* (稳心颗粒) on the Expression of Circulating Micro RNA-1 in Patients with Acute ST-segment Elevation Myocardial Infarction

WANG Hong, CHENG Wengong, LI Xinxin, LIANG Kaiqin

People's Hospital of Guangxi Autonomous Region, Nanning, 530021

ABSTRACT Objective To investigate the influence of *Wenxin Granule* (稳心颗粒) on the expression of circulating microRNA-1 (miR-1), ventricular arrhythmia incidence, survival rate and heart function. **Methods** A total of 98 patients with STEMI were randomly into a treatment group and a control group, with 49 cases in each group. Both groups of patients were treated with conventional treatment including emergency percutaneous coronary intervention (PCI). The treatment group was added with *Wenxin Granule*, 9 g each time, 3 times a day. The course of treatment in both groups was 3 months. The circulating miR-1 expression before and after treatment between two groups of patients, as well as the incidence of ventricular arrhythmia, mortality, cardiac function indexes including left ventricular ejection fraction (LVEF), end-diastolic left ventricular anteroposterior diameter (LVd) and end-systolic left ventricle front and back diameter (LVs) were compared. **Results** After treatment, the expression level of circulating miR-1 was significantly reduced ($P < 0.05$) in both groups, and the expression level of circulating miR-1 in the treatment group was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$). After treatment, the LVEF of the both groups of patients was significantly increased, and the LVd and LVs were significantly decreased ($P < 0.05$), and patients in the treatment group improved more significantly than the control group ($P < 0.05$). The incidence of ventricular arrhythmia in the treatment group after treatment was 16.33%, and that in the control group was 24.49%. The treatment group was significantly lower than the control group ($P < 0.05$). The mortality rate of the treatment group during the 3-month follow-up was 10.2%, and that of the control group was 18.4%. There was no statistically significant difference between groups ($P > 0.05$). **Conclusion** After PCI, *Wenxin Granule* combine with conventional treatment can further reduce circulating miR-1 expression in STEMI patients, improving cardiac function, reducing the incidence of ventricular arrhythmia.

Keywords microRNA-1; acute ST-segment elevation myocardial infarction; percutaneous coronary intervention; *Wenxin Granule*; heart function; arrhythmia

(收稿日期: 2019-12-03; 修回日期: 2020-01-06)

编辑: 叶 晨