

# 急、慢性抑制 CaMK II 的活性对心衰小鼠心功能和心力储备的影响

徐陵琦<sup>1</sup>, 陈慧娟<sup>2</sup>

1. 岳阳职业技术学院附属医院 岳阳爱康医院心血管内科, 湖南 岳阳 414000;

2. 长沙市第一医院心血管内科, 湖南 长沙 410005

**摘要:** **目的** 探讨急、慢性抑制钙/钙调素依赖蛋白激酶 II (CaMK II) 的活性对心衰小鼠心功能和心力储备的影响。**方法** 选择 24 只 C57BL6 小鼠, 随机分为假手术组、心衰模型组、CaMK II 急性抑制组及 CaMK II 慢性抑制组, 每组 6 只。假手术组只行开胸术, 不行升主动脉缩窄术; 其余三组均采用升主动脉缩窄术建立心衰模型。术后 15 d, 假手术组与心衰模型组小鼠腹腔注射 0.1 ml 生理盐水一次, CaMK II 急性抑制组与 CaMK II 慢性抑制组小鼠分别腹腔注射同样剂量的 KN93 (CaMK II 抑制剂) 一次及连续 1 周。采用小动物超声心动图仪和左心室压力-容积导管分别测量各组小鼠基础状态下和异丙肾上腺素 (ISO) 后心功能和心力储备, 包括左心室射血分数 (LVEF)、左心室短轴缩短率 (LVFS)、纵向应变 (LS)、纵向应变率 (LSR)、收缩末期压力容积关系 (ESPVR)、左室内压最大上升速度-舒张末期左室容积关系 (dp/dtmax-EDV)、每搏功-舒张末期容积关系即前负荷可补充的心室搏出功 (PRSW)、左室内压最大下降速度 (dp/dtmin)、左心室松弛时间常数 (Tau)、舒张末期压力容积关系 (EDPVR) 等指标。**结果** 与假手术组相比, 心衰模型组小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV、PRSW 和 dp/dtmin 均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 而 Tau 和 EDPVR 显著升高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。急性抑制 CaMK II 的活性对心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV 和 PRSW 无显著影响, 但能显著降低 dp/dtmin ( $P < 0.05$ ), 增大 Tau 和 EDPVR ( $P$  均  $< 0.05$ )。同时, 急性抑制 CaMK II 的活性也不能增加 ISO 作用后心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV 和 PRSW 值。慢性抑制 CaMK II 的活性能显著增加心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV 和 PRSW 值 ( $P$  均  $< 0.05$ ), 但对 dp/dtmin、Tau 和 EDPVR 无显著影响。同时, 慢性抑制 CaMK II 的活性可显著增加 ISO 作用后心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV 和 PRSW 值 ( $P$  均  $< 0.05$ )。**结论** 急性抑制 CaMK II 的活性非但不能恢复心衰小鼠心脏收缩功能及其对 ISO 的反应性, 还会导致舒张功能的进一步降低, 而慢性抑制 CaMK II 的活性既能显著改善心衰小鼠的心功能, 又能改善心衰小鼠对 ISO 的反应性, 即恢复其对  $\beta_1$  肾上腺素受体的敏感性。

**关键词:** 钙/钙调素依赖蛋白激酶 II;  $\beta_1$  肾上腺素受体; 心力衰竭; 心功能; 心力储备; 超声心动图

**中图分类号:** R 541 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2018)02-0158-05

## Impact of acute and chronic inhibition of CaMK II activity on cardiac function and cardiac reserve in heart failure mice

XU Ling-qi\*, CHEN Hui-juan

\* Department of Cardiovascular Medicine, Affiliated Hospital of Yueyang Vocational Technical College

(Yueyang Aikang Hospital), Yueyang, Hunan 414000, China

**Abstract: Objective** To investigate the impact of acute and chronic inhibition of  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II (CaMK II) activity on cardiac function and cardiac reserve in heart failure mice. **Methods** Twenty-four C57BL6 mice were randomly divided sham-surgery group, heart failure model group, CaMK II acute inhibition group and CaMK II chronic inhibition group ( $n = 6$  each). In sham-surgery group, thoracotomy was performed only and without ascending aorta coarctation operation. In the other three groups, the pressure load heart failure models were established by ascending aorta coarctation method. At 15-day after operation, 0.1 ml normal saline was administered by intraperitoneal injection in sham-surgery group and heart failure model group for one time, and KN93 (CaMK II inhibitor) of same dose was administered by intraperitoneal injection in CaMK II acute inhibition group (one time) and CaMK II chronic inhibition group (one week),

respectively. The small animal echocardiograph and left ventricular pressure-volume catheter were used to respectively detect the cardiac functions and cardiac reserve in the basic state and in the state stimulated by isoproterenol (ISO), including left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS), longitudinal strain (LS), longitudinal strain rate (LSR), end-systolic pressure-volume relation (ESPVR), the relationship between maximum rising speed of left intraventricular pressure and end-diastolic left ventricular volume (dp/dtmax-EDV), the relationship between stroke work and end-diastolic volume, namely the preload recruitable stroke work (PRSW), maximum descending speed of left intraventricular pressure (dp/dtmin), left ventricular relaxation time constant (Tau) and end-diastolic pressure-volume relation (EDPVR). **Results** Compared with sham-surgery group, LVEF, LVFS, LS, LSR, ESPVR, dp/dtmax-EDV, PRSW and dp/dtmin decreased significantly (all  $P < 0.05$ ), while Tau and EDPVR increased significantly in cardiac failure model group mice (all  $P < 0.05$ ). Acute inhibition of CaMK II activity didn't significantly impact the levels of LVEF, LVFS, LS, LSR, ESPVR, dp/dtmax-EDV and PRSW, but can significantly decrease dp/dtmin level ( $P < 0.05$ ) and increase Tau and EDPVR levels (all  $P < 0.05$ ). Meanwhile, acute inhibition of CaMK II activity didn't increase the levels of LVEF, LVFS, LS, LSR, ESPVR, dp/dtmax-EDV and PRSW after stimulation of ISO in heart failure mice. Chronic inhibition of CaMK II activity can significantly increase the levels of LVEF, LVFS, LS, LSR, ESPVR, dp/dtmax-EDV and PRSW (all  $P < 0.05$ ), but didn't significantly impact the levels of dp/dtmin, Tau and EDPVR. Meanwhile, chronic inhibition of CaMK II activity can significantly increase the levels of LVEF, LVFS, LS, LSR, ESPVR, dp/dtmax-EDV and PRSW after stimulation of ISO (all  $P < 0.05$ ). **Conclusions** The acute inhibition of CaMK II activity not only dose not restore the heart systolic functions and the reactivity to ISO, but also will lead to a further reduction of diastolic functions in heart failure mice. The chronic inhibition of CaMK II activity not only significantly improves cardiac functions of heart failure mice but also improves the reactivity of heart failure mice to ISO, namely, restores the mice susceptibility to  $\beta 1$ -adrenergic receptor.

**Key words:**  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II;  $\beta 1$ -adrenergic receptor; Heart failure; Cardiac function; Cardiac reserve; Echocardiograph

考虑到抑制钙/钙调素依赖蛋白激酶 II ( $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II, CaMK II) 的活性可能恢复心肌细胞内钙稳态, 恢复交感神经对心衰心脏的调节作用, 抑制心衰相关心律失常的发生。由此, 我们推测 CaMK II 有望作为心衰治疗的新靶点, 目前并未见相关文献报道在心衰动物整体水平上抑制 CaMK II 的活性对动物心功能的影响。本文旨在探讨急慢性抑制 CaMK II 的活性对心衰小鼠心功能及心力储备的影响。该研究有望为心衰的临床治疗探索一个新的有效手段。

## 1 材料与方法

1.1 材料 动物来源: 雄性 C57BL6 小鼠购自四川大学动物实验中心, 体重 ( $17.5 \pm 1.2$ ) g。小鼠在实验期间均于本院动物实验中心动物室饲养, 室温 ( $17 \pm 3$ )  $^{\circ}C$ , 饮水、摄食不限。主要试剂: 异丙肾上腺素购自美国 Sigma 公司; KN93 购自美国 Sigma 公司; Gluturon 组织粘附液购自美国 Abbott Laboratories 公司; Aquasonic 超声耦合剂购自美国 Parker Laboratories 公司; Tergazyme 清洗酶购自美国 Alconox 公司。

### 1.2 方法

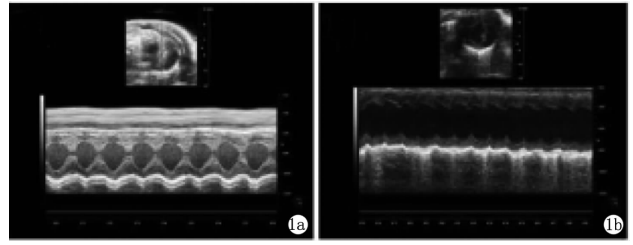
1.2.1 构建压力负荷心衰小鼠模型及实验动物分组 选择 6 周龄的雄性 C57BL6 小鼠, 术前禁食 12 h, 不禁水。称取小鼠体重, 戊巴比妥钠 80 mg/kg 对小

鼠进行腹腔内注射麻醉, 通过呼吸频率、呼吸深浅、角膜反射、足趾刺激反射和肌肉紧张度等判断其麻醉深度。采用开胸行升主动脉缩窄术, 建立压力负荷心衰小鼠模型。24 只 6 周龄的雄性 C57BL6 小鼠随机分为假手术组 ( $n = 6$ ), 心衰模型组 ( $n = 6$ ), CaMK II 急性抑制组 ( $n = 6$ ), CaMK II 慢性抑制组 ( $n = 6$ )。假手术组: 只行开胸术, 不行升主动脉缩窄术, 术后第 15 天腹腔注射生理盐水 0.1 ml。心衰模型组: 开胸行升主动脉缩窄术, 建立心衰模型, 术后第 15 天腹腔注射生理盐水 0.1 ml。CaMK II 急性抑制组: 开胸行升主动脉缩窄术, 建立心衰模型, 术后第 15 天腹腔注射 KN93 (CaMK II 抑制剂) 溶液 1 mg/kg (约 0.1 ml) 1 次。CaMK II 慢性抑制组: 开胸行升主动脉缩窄术, 建立心衰模型, 术后第 15 天开始腹腔注射 KN93 溶液 1 mg/kg (约 0.1 ml), 每日 1 次, 连续注射 1 周。

1.2.2 心功能测定 采用小动物超声心动图仪和左心室压力-容积导管分别测量各组小鼠基础状态下和异丙肾上腺素 (Iso) 刺激状态下的心功能, 包括左室射血分数 (LVEF)、左室短轴缩短率 (LVFS)、纵向应变 (LS)、纵向应变率 (LSR)、收缩末期压力容积关系 (ESPVR)、左室内压最大上升速度-舒张末期左室容积关系 (dp/dtmax-EDV)、每搏功-舒张末期容积关系 (PRSW, 即前负荷可补充的心室搏出功)、左室内压最大下降速度 (dp/dtmin)、左室松弛时间常数

(Tau)、舒张末期压力容积关系(EDPVR)等指标。见图 1。(1)小鼠心脏超声测量心功能:正式测量清醒小鼠心功能前先对小鼠进行适应性训练,以减少小鼠因为紧张而影响心功能测量的准确性。若小鼠心率超过 800 次/min 或低于 500 次/min,则让小鼠休息片刻,恢复正常后再次进行测量。使用 Visualsonics-Vevo 2100 型高分辨率小动物超声仪,连接 MS 400 超声探头,探头频率为 30 MHz,接受超声波速度为 1 540 m/s。在 B 型超声引导下于二尖瓣腱索水平将 M 型超声取样线垂直于室间隔和左心室后壁,获得 M 型超声心动图,记录数个心动周期图像。在 B 型超声模式下记录数个心动周期动态图像,然后将模式调整至 M 型超声模式。在 B 型超声引导下于乳头肌水平将 M 型超声取样线垂直于室间隔和左心室后壁,尽量避开乳头肌,获得 M 型超声心动图,记录数个心动周期图像。图像采集完毕,擦净探头和小鼠身上的耦合剂。将做完心脏超声的小鼠放回笼里,随后开始分析测量数据。对记录的数据采用 Vevo 2100 软件进行分析。使用 VevoStrain 模块进行应变和应变率分析。(2)小鼠压力-容积导管测量:在正式测量清醒小鼠心功能之前先对小鼠进行适应性训练,以减少小鼠因为紧张而影响心功能测量的准确性。若小鼠心率超过 800 次/min 或低于 500 次/min,则让小鼠休息片刻,恢复正常后再次进行测量。打开 PowerLab 数据采集分析系统、LabChart 软件,连接好压力-容积导管,开始压力和容积定标。压力定标方法采用两点法,即 0 mm Hg 和 150 mm Hg,以水银血压计作为参考。容积定标采用五点法,有专用的已知具体容积的微型容器可供使用。在微型容器的前 5 个孔中加入肝素化的预热的鲜小鼠血液,将微型容器置于加热板上。将压力-容积导管置于孔的中央,并使其前端的电极完全浸没。在孔中稳定 10~20 s 后换下一个孔,直至测完 5 个小孔,记录并作图,将容积单位由相对价值单位(RVU)转换为  $\mu\text{l}$ 。定标完成后将压力-容积导管在生理盐水中浸泡 30 min。压力-容积导管可通过颈动脉或心尖置入小鼠左心室,待压力、容积信号稳定 10~15 min 后,记录稳定状态下的基线信号。记录不同状态下压力、容积信号时,均需要暂时关闭呼吸机,以免对信号造成干扰。待容积信号回落稳定后再重复高渗盐水矫正 2~3 次,以求平均值。见图 1。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件对实验数据进行统计学分析,以  $\bar{x} \pm s$  表示。所有数据首先采用 Shapiro-Wilk 检验进行正态性检验,若为正态分布资料,则采用方差分析或 *t* 检验;非正态分布则采用非



注:1a:正常小鼠;1b:心衰小鼠。

图 1 正常小鼠与心衰小鼠的 M 型超声心动图图像

参数检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 压力负荷型心衰小鼠模型的建立 压力负荷型心衰小鼠模型通过升主动脉缩窄的方法构建,约 50% 的小鼠在术后第 1 周内死亡。心衰通常在术后第 2 周形成,心衰小鼠的临床表现包括嗜睡、活动减少和水肿,伴随着心脏体重比、肺体重比及左室舒张末容积的明显增加。

2.2 急慢性抑制 CaMK II 活性对心衰小鼠基础状态下心功能的影响 如表 1 所示,与假手术组相比,心衰模型组小鼠的 LVEF、LVFS、LS 和 LSR 均显著降低( $P$  均  $< 0.05$ ),而急性抑制 CaMK II 活性(KN93 注射 1 次)不能提高心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS 和 LSR, CaMK II 慢性抑制组能显著改善心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS 和 LSR( $P$  均  $< 0.05$ )。如表 2 所示,与假手术组相比,心衰小鼠的 ESPVR、dp/dtmax-EDV、PRSW、dp/dtmin 显著降低( $P$  均  $< 0.05$ ),而 Tau 和 ED-PVR 显著升高。CaMK II 急性抑制组对心衰小鼠的 ESPVR、dp/dtmax-EDV、PRSW 无明显影响,但能显著降低 dp/dtmin,增加 Tau 和 EDPVR( $P$  均  $< 0.05$ )。CaMK II 慢性抑制组显著改善 ESPVR、dp/dtmax-EDV、PRSW( $P$  均  $< 0.05$ ),但对 dp/dtmin、Tau 和 EDPVR 无明显影响。

2.3 急慢性抑制 CaMK II 活性对心衰小鼠 Iso 刺激状态下心功能的影响 假手术组小鼠对 Iso 有明显反应性,Iso 作用后 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV、PRSW 均显著升高( $P$  均  $< 0.05$ )。心衰小鼠对 Iso 的反应性显著降低( $P$  均  $< 0.05$ ),而急性抑制 CaMK II 活性不能恢复心衰小鼠对 Iso 的反应性,Iso 作用后 LVEF、LVFS、LS、LSR 无显著升高,同时 ESPVR、dp/dtmax-EDV、PRSW 也无显著变化。而慢性抑制 CaMK II 活性能恢复心衰小鼠对 Iso 的反应性,Iso 作用后 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV、PRSW 均显著升高( $P$  均  $< 0.05$ )。见表 3、表 4。

表 1 急性抑制 CaMK II 活性对心衰小鼠基础状态下心功能的影响 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	LVEF (%)	LVFS (%)	LS (%)	LSR (% · S <sup>-1</sup> )
假手术组	75.95 ± 5.83	48.49 ± 4.90	21.62 ± 2.31	9.35 ± 0.97
心衰模型组	44.98 ± 3.64*	25.51 ± 2.21*	14.40 ± 1.43*	5.23 ± 0.75*
CaMK II 急性抑制组	48.17 ± 3.95*	27.22 ± 2.29*	15.38 ± 1.81*	4.63 ± 0.66*
CaMK II 慢性抑制组	68.89 ± 3.38 <sup>#</sup>	35.69 ± 4.39 <sup>#</sup>	19.41 ± 2.38 <sup>#</sup>	9.60 ± 1.43 <sup>#</sup>

注:与假手术组相比, \* $P < 0.05$ ;与心衰模型组相比, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

表 2 急性抑制 CaMK II 活性对心衰小鼠基础状态下心功能的影响 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	ESPVR (mm Hg/ $\mu$ l)	dp/dtmax-EDV (mm Hg · s <sup>-1</sup> · ml <sup>-1</sup> )	PRSW (mm Hg)	dp/dtmin (mm Hg/s)	Tau (ms)	EDPVR (mm Hg/ $\mu$ l)
假手术组	9.09 ± 1.47	298.71 ± 22.84	71.48 ± 5.53	7214.70 ± 736.27	11.13 ± 1.15	0.19 ± 0.02
心衰模型组	6.49 ± 1.06*	243.93 ± 20.71*	48.93 ± 3.45*	5545.98 ± 619.89*	15.06 ± 1.38*	0.31 ± 0.03*
CaMK II 急性抑制组	7.07 ± 0.82*	248.12 ± 19.47*	50.37 ± 4.01*	4632.05 ± 606.03* <sup>#</sup>	16.93 ± 1.57* <sup>#</sup>	0.36 ± 0.03* <sup>#</sup>
CaMK II 慢性抑制组	8.78 ± 1.08 <sup>#</sup>	296.32 ± 18.93 <sup>#</sup>	72.17 ± 5.14 <sup>#</sup>	6247.36 ± 652.44	14.25 ± 1.03	0.27 ± 0.02

注:与假手术组相比, \* $P < 0.05$ ;与心衰模型组相比, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 急性抑制 CaMK II 活性对心衰小鼠 Iso 刺激状态下心功能的影响 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	LVEF (%)	LVFS (%)	LS (%)	LSR (% · S <sup>-1</sup> )
假手术组	81.29 ± 6.14	53.71 ± 5.03	26.44 ± 2.39	12.59 ± 1.18
心衰模型组	48.87 ± 5.86*	28.91 ± 3.26*	15.24 ± 1.67*	4.24 ± 0.58*
CaMK II 急性抑制组	48.17 ± 3.95*	27.22 ± 2.29*	15.38 ± 1.81*	4.63 ± 0.66*
CaMK II 慢性抑制组	52.41 ± 3.88 <sup>#</sup>	36.39 ± 3.55 <sup>#</sup>	23.21 ± 2.87 <sup>#</sup>	11.63 ± 1.91 <sup>#</sup>

注:与假手术组相比, \* $P < 0.05$ ;与心衰模型组相比, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

表 4 急性抑制 CaMK II 活性对心衰小鼠 Iso 刺激状态下心功能的影响 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	ESPVR (mm Hg/ $\mu$ l)	dp/dtmax-EDV (mm Hg · s <sup>-1</sup> · ml <sup>-1</sup> )	PRSW (mm Hg)
假手术组	11.45 ± 1.14	331.47 ± 26.98	78.45 ± 6.16
心衰模型组	7.24 ± 1.09*	254.93 ± 21.74*	49.06 ± 4.82*
CaMK II 急性抑制组	7.07 ± 0.82*	248.12 ± 19.47*	50.37 ± 4.01*
CaMK II 慢性抑制组	10.13 ± 0.95 <sup>#</sup>	323.59 ± 26.79 <sup>#</sup>	77.28 ± 5.43 <sup>#</sup>

注:与假手术组相比, \* $P < 0.05$ ;与心衰模型组相比, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

心衰是各种心脏结构或功能性疾病导致心室充盈及(或)射血能力受损而引起的一组综合征,是各种心血管疾病的终末阶段。心衰发病率高,有临床症状的心衰患者 5 年生存率与恶性肿瘤相仿,且近期内慢性心衰的发病率将呈持续增长趋势<sup>[1-2]</sup>。有研究表明  $\beta$  肾上腺素受体 ( $\beta$ -AR) 阻滞剂能降低收缩性心衰患者病死率和心衰相关再住院率<sup>[3]</sup>,且  $\beta$ -AR 阻滞剂作为心衰的一线治疗药物已在临床广泛使用。但值得重新仔细思考的是,  $\beta_1$  肾上腺素受体 ( $\beta_1$ -AR) 阻断剂虽然可以抑制心肌重构和心律失常而改善预后,但有明显的负性肌力作用和进一步削弱交感神经对心功能的调节能力,从而加重急性期心衰症状、进一步削弱心衰患者的应急能力与运动耐量。随着对 CaMK II 在心衰发生发展中所起关键作用的认识逐步深入,近期研究提出 CaMK II 可能作为心衰治疗的新靶点<sup>[4]</sup>。因此,选择性抑制  $\beta_1$ -AR 的下游通

路 CaMK II 或许比直接阻断  $\beta_1$ -AR 本身更有利。

大量研究表明,心衰时 CaMK II 被过度激活,原因是多方面的。如心衰时心肌细胞内发生钙超载和氧自由基增多,二者可分别通过钙离子激活和氧化激活两种途径活化 CaMK II。同时,心肌细胞膜 Ito 通道在 CaMK II 活性调节中也起着重要的作用。心衰时瞬时外向钾电流 Ito 的减少导致动作电位时程延长、细胞内钙离子浓度升高,从而增加细胞内 CaMK II 总活性。近期研究发现, Ito 通道亚基 Kv4.3 和 CaMK II 结合于细胞膜,并抑制胞膜 CaMK II 的活性,即 Kv4.3 是 CaMK II 的内源性抑制剂<sup>[5]</sup>。心衰时下调的 Kv4.3 使 CaMK II 从 Kv4.3-CaMK II 复合体离解出来,从而被细胞内的钙离子激活。细胞膜局部的 CaMK II 活化后磷酸化多种参与钙转运的蛋白,进一步促进细胞内钙稳态失衡。再者,心衰时交感神经系统持续激活,此时持续兴奋的  $\beta_1$ -AR 可激活 CaMK II<sup>[6]</sup>,可能的机制包括:(1)  $\beta_1$ -AR 激动会同增加电压门控钙通道(LTCC)的 Ca<sup>2+</sup>内流和内质网(SR)的 Ca<sup>2+</sup>释放,使 SR 和 L 通道连接处局部 Ca<sup>2+</sup>浓度增高而激活 CaMK II<sup>[7]</sup>。(2) 依赖于鸟嘌呤核苷酸交换蛋白(Epac)的 CaMK II 激活:近期研究表明基础状态下  $\beta$  抑制蛋白 ( $\beta$ -arrestin)、Epac 和 CaMK II 三者可在细胞浆内结合,形成不稳定的复合物<sup>[8]</sup>。激动剂与  $\beta_1$ -AR 的结合导致  $\beta_1$ -AR 发生磷酸化,磷酸化的  $\beta_1$ -AR 与  $\beta$ -arrestin 结合并将其牵引至细胞膜。由于该过程中  $\beta$ -arrestin 的构象发生了改变,因而  $\beta$ -arrestin-

CaMK II-Epac 三者能形成稳定的复合物并定位于细胞膜。同时,激动剂与  $\beta 1$ -AR 的结合导致细胞内环磷酸腺苷(cAMP)的含量增加,直接激活交换蛋白 Epac。活化的 Epac 可通过 Rap-PLC $\epsilon$ -PKC $\epsilon$  途径增加 CaMK II 的活性。而在小鼠中过表达 CaMK II  $\delta c$  可直接导致心衰的发生<sup>[9]</sup>,这就证实 CaMK II 在心衰的发生发展中的确发挥了至关重要的作用。

因此,CaMK II 有望成为心衰治疗的新靶点。本研究试验分为急性 CaMK II 抑制试验和慢性抑制试验两部分,旨在探讨抑制 CaMK II 活性对心衰小鼠心功能及心力储备的影响。本研究结果显示,急性抑制 CaMK II 的活性对心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV 和 PRSW 无显著影响,但能显著降低 dp/dtmin,增大 Tau 和 EDPVR。同时,急性抑制 CaMK II 的活性也不能增加 Iso 作用后心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV 和 PRSW 值。提示急性抑制 CaMK II 活性非但不能恢复心衰小鼠心脏收缩功能及其对 Iso 的反应性,还会进一步导致舒张功能的恶化。慢性抑制 CaMK II 的活性能显著增加心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV 和 PRSW 值,但对 dp/dtmin、Tau 和 EDPVR 无显著影响。同时,慢性抑制 CaMK II 的活性可显著增加 Iso 作用后心衰小鼠的 LVEF、LVFS、LS、LSR、ESPVR、dp/dtmax-EDV 和 PRSW 值,提示慢性抑制 CaMK II 活性既能显著改善心衰小鼠的心功能,又能改善心衰小鼠对 Iso 的反应性。这可能与急性抑制时流经 L 型钙通道的钙内流减少、舒张期钙渗漏减少、收缩期 SR 钙外流增多、SERCA/去磷酸化受磷蛋白(PLB)的比例减小、肌丝对钙离子敏感性增高有关<sup>[10-12]</sup>。而慢性抑制时除了发生上述变化, $\beta 1$ -AR 的敏感性也有足够时间来恢复。研究表明,心衰时交感神经活性持续升高,但心脏对交感神经的反应性降低<sup>[13]</sup>,这与心肌细胞膜上  $\beta 1$ -AR 数量减少有关( $\beta 1$ -AR 失敏感)。近期研究结果表明,抑制心衰心肌 CaMK II 的活性可显著增加  $\beta 1$ -AR 的蛋白水平<sup>[14]</sup>,提示 CaMK II 在心衰心肌中的过度激活可能参与了  $\beta 1$ -AR 失敏感的过程。研究表明,G 蛋白偶联受体激酶和蛋白激酶 A(PKA)均能介导  $\beta 1$ -AR 的磷酸化,从而导致  $\beta 1$ -AR 发生内化<sup>[15]</sup>。G 蛋白偶联受体激酶介导的磷酸化主要通过网格蛋白小窝途径引起  $\beta 1$ -AR 发生内化,而 PKA 介导的磷酸化主要通过小窝蛋白途径完成。CaMK II 可能借助于 G 蛋白偶联受体激酶或 PKA 引起  $\beta 1$ -AR 的磷酸化和内化,甚至 CaMK II 能直接磷酸化  $\beta 1$ -AR 并使其发生

内化。但该过程的具体机制较复杂,还需进一步实验证实。

综上所述,急性抑制 CaMK II 的活性非但不能恢复心衰小鼠心脏收缩功能及其对 Iso 的反应性,还会进一步导致舒张功能的恶化。而慢性抑制 CaMK II 活性既能显著改善心衰小鼠的心功能,又能改善心衰小鼠对 Iso 的反应性,即恢复  $\beta 1$ -AR 的敏感性。

## 参考文献

- [1] 康玉明,李祥,李宏宝.心力衰竭中枢发病机制的研究进展[J].西安交通大学学报(医学版),2017,38(2):157-160.
- [2] 杨菲菲,智光,王秋霜.肺部超声在心力衰竭应用中的研究进展[J].中华老年心脑血管病杂志,2017,19(3):325-327.
- [3] 周昌清,倪黎,关红菁,等. $\beta 1$ -AR 持久兴奋通过 CaMK II  $\delta$ -内质网应激凋亡通路导致心力衰竭的机制[J].中国分子心脏病学杂志,2008,8(6):319-327.
- [4] 刘小丽,邢晓为,黄利华,等. $\beta 1$  肾上腺素受体与心衰、高血压和心肌纤维化之间的关系研究进展[J].中国药理学通报,2013,29(12):1640-1644.
- [5] El-Haou S, Balse E, Neyroud N, et al. Kv4 potassium channels form a tripartite complex with the anchoring protein SAP97 and CaMK II in cardiac myocytes[J]. Circ Res, 2009, 104(6):758-769.
- [6] Lundby A, Jespersen T, Schmitt N, et al. Effect of the I(to) activator NS5806 on cloned K(V)4 channels depends on the accessory protein KChIP2[J]. Br J Pharmacol, 2010, 160(8):2028-2044.
- [7] Chen X, Zhang X, Kubo H, et al. Ca<sup>2+</sup> influx-induced sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> overload causes mitochondrial-dependent apoptosis in ventricular myocytes[J]. Circ Res, 2005, 97(10):1009-1017.
- [8] 戴翠莲,张赞,姜黔峰. MuRF-1 在大鼠心肌梗死后慢性心脏中的表达变化及其分子机制的探讨[J].中国病理生理杂志,2011,27(2):215-222.
- [9] Anderson ME, Brown JH, Bers DM. CaMK II in myocardial hypertrophy and heart failure[J]. J Mol Cell Cardiol, 2011, 51(4):468.
- [10] 罗集,李艳.运动训练对 2 型糖尿病大鼠心肌 Ca<sup>2+</sup>-CaMK II 信号调节的能量代谢转换的影响[J].药学研究,2013,32(6):321.
- [11] 林运.钙调蛋白激酶与心律失常[J].中华心脏与心律电子杂志,2014(4):282-286.
- [12] 常荣,格日力. CaMK II 在细胞钙稳态维持及心肌保护中作用的研究进展[J].生理科学进展,2011,42(1):55-58.
- [13] 陈平安,罗仪山,阳军,等.慢性心力衰竭犬肾交感神经活性与心衰严重程度关系[J].中国医师杂志,2015,17(3):354-356.
- [14] Nadin BM, Pfaffinger PJ. Dipeptidyl peptidase-like protein 6 is required for normal electrophysiological properties of cerebellar granule cells[J]. J Neurosci, 2010, 30(25):8551-8565.
- [15] Keskanokwong T, Lim HJ, Zhang P, et al. Dynamic Kv4.3-CaMK II unit in heart; an intrinsic negative regulator for CaMK II activation[J]. Eur Heart J, 2011, 32(3):305-315.