

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.16.002

低硒对大鼠心电图的影响及补硒后的变化*

邢玉洁 刘仲伟 高登峰 魏 瑾 牛小麟[△]

(西安交通大学医学院第二附属医院心内科 陕西 西安 710004)

摘要 目的:探讨低硒对大鼠心电图的影响及补硒后心电图的变化。**方法:**将 30 只 SD 大鼠随机分为对照组、低硒组及补硒组,每组各 10 只,对照组喂养标准饲料,低硒组喂养低硒饲料,补硒组喂养低硒饲料 14 周后再给予亚硒酸钠补硒 3 周,各组喂养 17 周后,检测大鼠的血硒、血清谷胱甘肽过氧化物酶及心电图的变化。**结果:**低硒组大鼠血硒水平和血清谷胱甘肽过氧化物酶水平与对照组相比明显降低($P<0.05$),补硒后两者又明显增加($P<0.05$)。正常对照组大鼠心电图大部分正常,低硒组大鼠心电图多数为异常心电图,主要表现为室性早搏、室性心动过速、交界性房性早搏、T 波低平等,补硒组大鼠心电图大部分恢复正常心电图,仅有少部分表现为异常心电图。**结论:**低硒可导致大鼠谷胱甘肽过氧化物酶活性减低,低硒饮食后,大鼠心电图明显发生异常,多表现为室性心律失常,补硒可使低硒所致的心电图变化多数恢复正常。

关键词:低硒;心电图;补硒

中图分类号:R540.41;Q95-3 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2015)16-3006-04

Effects of Low Selenium on ECG in Rats and the Changes after Selenium Supplement*

XING Yu-jie, LIU Zhong-wei, GAO Deng-feng, WEI Jin, NIU Xiao-lin[△]

(Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital, Xi'an Jiaotong University School of Medicine,
Xi'an, Shaanxi, 710004, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects of low selenium on ECG in rats and the changes after selenium supplement. **Methods:** 30 SD rats were randomly divided into control group, low selenium group and selenium supplement group, with 10 rats in each group. Rats in the control group were fed with standard diet, rats in the low selenium group were fed with low selenium diet and rats in selenium supplement group were fed with low selenium diet for 14 weeks and then sodium selenite for 3 weeks. Seventeen weeks later, blood selenium, serum glutathione peroxidase and electrocardiograph (ECG) were detected. **Results:** The levels of blood selenium and serum glutathione peroxidase in low selenium group decreased significantly, compared with that in the control group ($P<0.05$), but after selenium supplement, both of them increased significantly ($P<0.05$). The vast majority of ECG of rats in the control group was normal. However, ECG of rats in low selenium group were mostly abnormal, mainly manifested as the ventricular premature beat, ventricular tachycardia, junctional premature atrial contraction, and low equality of T wave. After selenium supplement, most of ECG returned to normal, and only a small part were abnormal. **Conclusion:** Low selenium can lead to the reduction of glutathione peroxidase activity of rats. Rats with low selenium diet showed significantly abnormal ECG, and more performance for the ventricular arrhythmia. Selenium supplement can make the ECG changes caused by low selenium come back to normal.

Key words: Low selenium; Electrocardiogram; Selenium supplement

Chinese Library Classification (CLC): R540.41; Q95-3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)16-3006-04

前言

克山病(Keshan disease, KD)是一种原因不明的地方性心脏病,1935 年发现于黑龙江省克山县,遂以地名命名为克山病,其病变主要累及心肌,表现为严重的变性、坏死及疤痕形成^[1]。此病发病机制尚不清楚,目前认为其病因中很重要的一条就是饮食中微量元素硒的缺乏^[2]。众所周知,硒是细胞生长必需

的微量元素,在机体中发挥着重要的作用,它不仅影响 DNA 甲基化、细胞增殖、激素分泌、血管生成^[3],还能够刺激机体的免疫反应、抗氧化损伤、调节肿瘤代谢等^[4,5],其中在抗氧化损伤方面硒主要是通过谷胱甘肽过氧化物酶和其他硒蛋白而发挥作用^[6,7]。克山病的发生则与硒元素的缺乏密切相关,人体血硒含量长期低于 0.1 ppm 可引起心肌损害^[8]。目前关于硒与克山病的研究比较多,但是低硒对心电图的影响方面未见相关

* 基金项目:国家自然科学基金项目(30972557)

作者简介:邢玉洁,博士研究生, E-mail: xyujie@aliyun.com

[△] 通讯作者:牛小麟,教授,博士研究生导师, E-mail: niuxiaolin1@163.com, 电话: 029-87679770

(收稿日期: 2014-12-11 接受日期: 2014-12-30)

报道,因此本研究建立低硒大鼠模型,探索低硒对心电图的影响及补硒后的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物与饲料配方

1.1.1 实验动物 30 只纯系断乳 SD 大鼠(3 周龄),随机分为

3 组,每组各 10 只,分别为对照组(Control)、低硒组(low selenium group, LS)及补硒组(selenium supplement group, SS)。

1.1.2 饲料配方 本研分别究采用 AIN-93 标准及 AIN-93M (低硒)配方配制大鼠标准纯化饲料及低硒饲料,具体配方详见表 1。

Table 1 Formula of AIN-93 standard feed and AIN-93M (low selenium) feed

Ingredient(g/Kg feed)	AIN-93 standard feed	AIN-93M (low selenium) feed
Sucrose	599.5	599.5
Torula Yeast	300	300
AIN-93 mineral mixture (low selenium) A	30	35
AIN-93 mineral mixture (including selenium) B	5	0
DL-methionine	3	3
Menhaden Oil	0	40
Lard	40	0
Corn Oil	10	10
Choline	2.5	2.5

注: A 代表不含硒的 AIN-93 矿物质混合物;B 代表含有 0.5mg/Kg 饲料终浓度硒的 AIN-93 矿物质混合物。

Note: A represents AIN-93 mineral mixture without selenium; B represents AIN-93 mineral mixture with concentration of 0.5 mg/Kg in final feed.

1.2 方法

1.2.1 低硒大鼠模型制作 对照组给予 AIN-93 标准饲料喂养,LS 组及 SS 组均给予上述 AIN-93M(低硒)饲料喂养,3 组均进行 14 周喂养。对于 SS 组,在接受低硒饲料喂养后给予 0.05 mg/Kg·d 亚硒酸钠溶液腹腔注射,连续注射 21 d 以进行硒补充;对于对照组及 LS 组,则给予相同剂量生理盐水腹腔注射,同样进行 21 d 以资对照。

1.2.2 血硒测定 在第 17 周,取对照组、低硒组和补硒组大鼠各 3 只,从眼球取血,采用 2,3-二氨基萘荧光法进行血硒的测定。

1.2.3 血清谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPX) 检测 采用二硫代二硝基苯甲酸(DNTB)法测定血清谷胱甘肽过氧化物酶。

1.2.4 心电图检测 模型建立成功后,对三组动物进行心电图检测。选择洁净、室内温度比较恒定、无噪声的实验室,接通心电图机电源,打开机器预热 5 min,调好基线,待稳定后将大鼠称重后,以碘伏对大鼠下腹部进行消毒,配制 10%水合氯醛溶液,以 0.03 mL/Kg 的剂量对大鼠进行腹腔注射麻醉。注射 10 min 后,确认大鼠对外界刺激无反应后,将大鼠四肢固定于操作台上,使之呈仰卧位,电极连线分为红色(R)右上肢、黄色(L)左上肢、黑色(RF)右下肢,将针电极分别刺入其四肢皮下,接入 Powerlab 4/25 生物分析系统(AD Instrument)对标 II 导联心电图进行观察。大鼠心脏传导情况采用 15 min 内室性心律失常发生次数(number of ventricular arrhythmic events, VAEs)这一指标进行评估。

1.3 统计学处理

采用 SPSS15.0 统计软件包进行统计学分析。所有数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差

异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清硒检测结果

低硒组血清硒水平较对照组明显降低($P < 0.05$),补硒后血清硒水平上升,且与低硒组比较有差异显著,有统计学意义($P < 0.05$)(见图 1)。

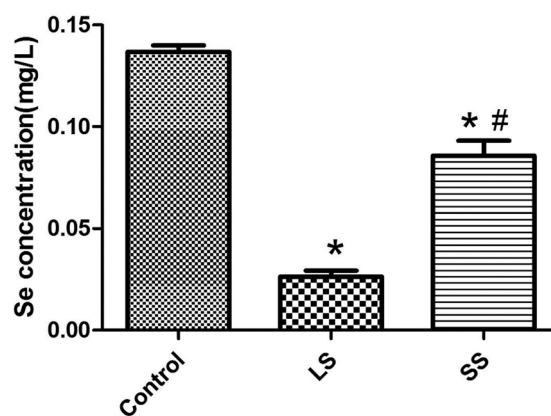


图 1 血清硒含量

Fig.1 The content of selenium in serum

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与低硒组比较,# $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$ vs. Control group; # $P < 0.05$ vs. LS group.

2.2 谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)检测结果

低硒组 GPX 水平较对照组明显降低($P < 0.05$),补硒后 GPX 水平又上升,且较低硒组比较差异显著,有统计学意义($P < 0.05$)(见图 2)。

2.3 心电图检测结果

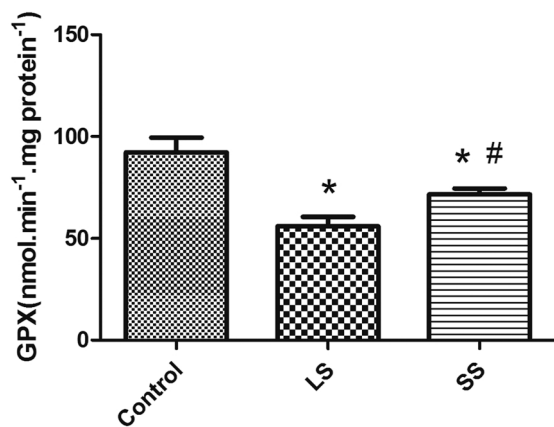


图2 血清谷胱甘肽过氧化物酶含量

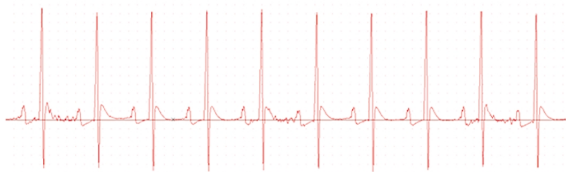
Fig.2 The content of glutathione peroxidase in serum

注:与对照组比较,*P<0.05;与低硒组比较,#P<0.05。

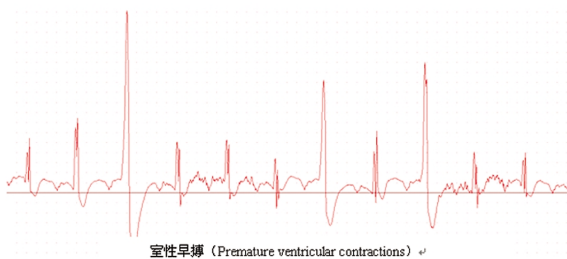
Note:*P<0.05 vs. Control group; #P<0.05 vs. LS group.

心电图检测结果可见正常对照组大鼠心电图大部分正常(见图3A),低硒组大鼠心电图表现差异比较大,少部分为正常心电图,多数为异常心电图,表现为室性早搏、交界性房性早搏、T波低平等(见图3B),补硒组大鼠心电图大部分恢复正常心电图(见图3C),但仍有少部分表现为异常心电图,其中LS组VAEs(ventricular arrhythmic events)显著多于Control组(P<0.05),而进行补硒处理后的SS组VAEs次数较LS组显著减少(P<0.05)(见图3D)。

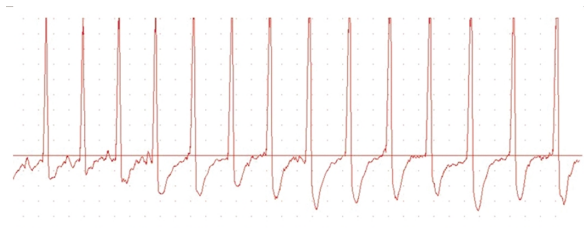
A. 正常对照心电图 (ECG in control group)



B. 低硒组心电图 (ECG in low-selenium group)



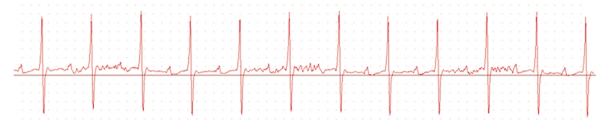
室性早搏 (Premature ventricular contractions)



室性心动过速 (Ventricular tachycardia)



交界性房性早搏 (Junctional premature atrial contraction)



T波低平 (Lowering of T-wave)

C: 补硒组心电图 (ECG in selenium supplement group)



D: 各组 VAEs 比较 (Comparison of VAEs in each group)

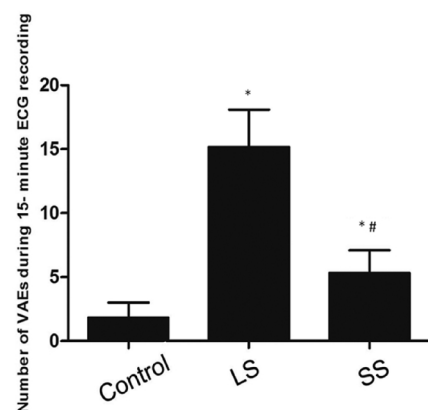


图3 各组心电图的特征及 VAEs 比较

Fig.3 The ECG characteristics and comparison of VAEs in each group

注:与对照组比较,*P<0.05;与低硒组比较,#P<0.05。

Note: *P<0.05, compared with control group; #P<0.05, compared with LS group.

3 讨论

克山病的病因迄今尚未完全明确,主要分为微生物地球化学病因和生物病因,目前流行病学研究已证实地方性克山病几

乎全部发生在低硒地带,该地区患者头发和血液中的硒明显低于非病区居民,因此认为克山病的发生与当地饮食中硒元素缺乏有关^[9],而口服亚硒酸钠后,患者病情得到了明显控制,说明补硒能够预防克山病的发生。因此,本研究采用低硒饲料喂养

断乳 3 周的大鼠构建低硒模型,同时在此基础上补充亚硒酸钠进行补硒,并以常硒饲料喂养大鼠作为对照进行观察。实验中采用 2,3-二氨基萘荧光法进行血硒的测定,结果显示:低硒组血清硒水平较对照组明显降低($P<0.05$),补硒后血清硒水平上升,且与低硒组比较有显著统计学差异($P<0.05$),验证了低硒大鼠模型的成功构建。

硒是谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的重要组成部分,通过对 cGPX-mRNA 的调控实现对 GPX 活性的调节^[10]。GPX 是机体内广泛存在的一种过氧化物分解酶,主要作用是清除脂类氢过氧化物,其次还可以清除 H_2O_2 ,减轻有机氢过氧化物对机体的损伤,参与前列腺素合成的调节^[11,12]。在进展性硒缺乏中,cGPX 的活性显著下降^[13,14]。当机体 GPX 活性减低时,ROS 在体内堆积会引发一系列级联反应,生成多种脂质过氧化物,致使生物膜氧化损伤^[15]。而谷胱甘肽过氧化物酶活性的降低与克山病的发生发展有着密切的关系^[16,17]。本实验结果显示:低硒组大鼠血清 GPX 活性显著低于对照组($P<0.05$);补硒后 GPX 水平又上升且较低硒组有显著统计学差异($P<0.05$),说明抗氧化酶 GPX 活性随着硒含量的降低而显著下降,进而引起膜抗氧化能力下降,心肌内脂质过氧化反应增强,最终导致心肌细胞生物膜结构及功能发生障碍,心肌细胞发生坏死^[18]。

众所周知,低硒所致的克山病可有多种心电图改变,其中以心脏肥大、心肌损害和心律失常最常见^[19]。心肌损害可见 ST 段上升或压低,心律失常包括异位心律和传导阻滞,异位心律常见的有室性早搏,常呈多源性、频发,其次是阵发性心动过速、心房颤动等。传导阻滞如右束支传导阻滞、左束支传导阻滞或房室传导阻滞均可见到。本实验对各组心电图进行了检测,结果显示:对照组大鼠心电图大部分正常;低硒组大鼠心电图表现差异比较大,少部分为正常心电图,多数为异常心电图,表现为室性早搏、交界性房性早搏、T 波低平等;补硒组大鼠心电图大部分恢复正常心电图,但仍有少部分表现为异常心电图,其中低硒组 VAEs 显著多于对照组($P<0.05$),而进行补硒处理后的补硒组 VAEs 次数较低硒组显著减少($P<0.05$)。低硒组室性心律失常明显增多可能原因是长期的低硒环境引起心肌灶性坏死且心脏不断扩大,从而导致心肌产生的电活动传导异常所致^[20]。

综上所述,低硒可导致大鼠心电图发生异常,多表现为室性心律失常,这些合并多种异常的心电图往往是导致死亡的重要病理改变。因此,在克山病的防治工作中,常规心电图的检查对于预防此类患者病情恶化有着重要的作用,如果发现有上述心电图异常情况者,应该及早采取相应的治疗与管理措施,如抗心律失常药物的及时应用等,从而防止病人出现心源性猝死等恶性心血管事件,提高慢性克山病患者的生活质量及生存率。

参考文献 (References)

- [1] Chen J. An original discovery: selenium deficiency and Keshan disease (an endemic heart disease)[J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2012, 21 (3): 320-326
- [2] Loscalzo J. Keshan disease, selenium deficiency, and the selenoproteome[J]. N Engl J Med, 2014, 370(18): 1756-1760
- [3] Taylor PR, Parnes HL, Lippman SM. Science peels the onion of selenium effects on prostate carcinogenesis [J]. J Natl Cancer Inst, 2004, 96(9): 645-647
- [4] Yang G, Zhu Y, Dong X, et al. TLR2-ICAM1-Gadd45 α axis mediates the epigenetic effect of selenium on DNA methylation and gene expression in Keshan disease [J]. Biol Trace Elem Res, 2014, 159 (1-3): 69-80
- [5] Skrivanova E, Marounek M, De Smet S, et al. Influence of dietary selenium and vitamin E on quality of veal [J]. Meat Sci, 2007, 76(3): 495-500
- [6] Schomburg L, Kohrle J. On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health [J]. Mol Nutr Food Res, 2008, 52(11): 1235-1246
- [7] Dhanya BL, Swathy RP, Indira M. Selenium Downregulates Oxidative Stress-Induced Activation of Leukotriene Pathway in Experimental Rats with Diabetic Cardiac Hypertrophy [J]. Biol Trace Elem Res, 2014[Epub ahead of print]
- [8] Rayman MP. Selenium and human health [J]. Lancet, 2012, 379 (9822): 1256-1268
- [9] Medina D, Morrison DG. Current ideas on selenium as a chemopreventive agent[J]. Pathol Immunopathol Res, 1988, 7(3): 187-199
- [10] Bermanno G, Arthur JR, Hesketh JE. Role of the 3' untranslated region in the regulation of cytosolic glutathione peroxidase and phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase gene expression by selenium supply[J]. Biochem J, 1996, 320 (Pt 3): 891-895
- [11] Penglase S, Hamre K, Ellingsen S. Selenium prevents downregulation of antioxidant selenoprotein genes by methylmercury [J]. Free Radic Biol Med, 2014[Epub ahead of print]
- [12] Stringari J, Nunes AK, Franco JL, et al. Prenatal methylmercury exposure hampers glutathione antioxidant system ontogenesis and causes long-lasting oxidative stress in the mouse brain [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2008, 227(1): 147-154
- [13] Yan X, Pepper MP, Vatamaniuk MZ, et al. Dietary selenium deficiency partially rescues type 2 diabetes-like phenotypes of glutathione peroxidase-1-overexpressing male mice [J]. J Nutr, 2012, 142(11): 1975-1982
- [14] Fang W, Goldberg ML, Pohl NM, et al. Functional and physical interaction between the selenium-binding protein 1 (SBP1) and the glutathione peroxidase 1 selenoprotein [J]. Carcinogenesis, 2010, 31 (8): 1360-1366
- [15] Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease[J]. N Engl J Med, 2003, 349(17): 1605-1613
- [16] Wei HL, Pei JR, Jiang CX, et al. Analysis of glutathione peroxidase 1 gene polymorphism and Keshan disease in Heilongjiang Province, China[J]. Genet Mol Res, 2011, 10(4): 2996-3001
- [17] Lei C, Niu X, Wei J, et al. Interaction of glutathione peroxidase-1 and selenium in endemic dilated cardiomyopathy [J]. Clin Chim Acta, 2009, 399(1-2): 102-108
- [18] Oelze M, Kröller-Schön S, Steven S, et al. Glutathione peroxidase-1 deficiency potentiates dysregulatory modifications of endothelial nitric oxide synthase and vascular dysfunction in aging [J]. Hypertension, 2014, 63(2): 390-396
- [19] Xia DY. Studies of mechanocardiography in Keshan disease (author's transl) [J]. Chinese Journal of Cardiology, 1980, 8(3): 192-198
- [20] Lu YJ, Wang KL. Pathologic changes of the conduction system of the heart in 43 cases of keshan disease[J]. Chin Med J (Engl), 1964, 83: 430-440