

2 型糖尿病病人血清 MMP9 和 PI3K 水平与心房颤动的相关性研究

王伟杰¹, 高琦¹, 孙正宇¹, 王聪¹, 丁洋洋¹, 黄浩东¹, 康品方^{1,2}, 唐碧¹

[摘要] 目的:探讨血清基质金属蛋白酶 9(MMP9)和磷脂酰肌醇-3-羟激酶(PI3K)水平变化与 2 型糖尿病病人(T2DM)心房颤动(AF)发生、发展的关系。方法:收集 200 例心电图提示 AF 的 T2DM 病人,其中阵发性房颤(PaAF)62 例,持续性房颤(PeAF)70 例,永久性房颤(PerAF)68 例。并选择 90 例单纯性 T2DM 病人作为对照组。ELISA 和 Western blotting 法分别测定血清中 MMP9、PI3K 水平及蛋白表达情况,并分别与已测得的左心房内径(LAD)进行相关性分析。纳入 MMP9、PI3K 和 LAD 行 Pearson 相关分析和二元 logistics 回归分析,得出影响 AF 的因素。结果:与对照组相比,PaAF、PeAF 与 PerAF 组 MMP9 表达水平升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平降低($P < 0.01$)。与 PaAF 组相比,PeAF 组与 PerAF 组 MMP9 表达水平升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平降低($P < 0.01$)。与 PeAF 组相比,PerAF 组 MMP9 表达水平升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平降低($P < 0.01$)。Western blotting 检测显示 MMP9 存在上调趋势,PI3K 存在下调趋势。Pearson 法对 MMP9、PI3K 与 LAD 进行相关性分析,结果显示在所有实验组中 MMP9 水平与 LAD 呈正相关关系($r = 0.842, P < 0.01$);PI3K 与 LAD 呈负相关关系($r = 0.868, P < 0.01$)。二元 logistics 回归分析显示 MMP9、PI3K、LAD 是 AF 的危险因素($P < 0.05$)。结论:T2DM 合并 AF 病人血清中 MMP9 表达水平明显升高,PI3K 表达水平明显降低,且与 LAD 有一定的相关性,MMP9、PI3K 的激活与表达与 T2DM 病人 AF 的发生可能有关。

[关键词] 心房颤动;基质金属蛋白酶 9;磷脂酰肌醇-3-羟激酶

[中图分类号] R 541.75 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2023.01.019

Relationship between serum MMP9 and PI3K levels and atrial fibrillation in type 2 diabetes

WANG Wei-jie¹, GAO Qi¹, SUN Zheng-yu¹, WANG Cong¹, DING Yang-yang¹, HUANG Hao-dong¹, KANG Pin-fang^{1,2}, TANG Bi¹

(1. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004; 2. Key Laboratory of Basic and Clinical Medicine of Cardiovascular And Cerebrovascular Diseases, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the relationship between the changes of serum matrix metalloproteinase-9 (MMP9) and phosphatidylinositol-3-hydroxykinase (PI3K) levels mediated by oxidative stress and the occurrence and maintenance of atrial fibrillation (AF) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods:** Two hundred T2DM patients with AF were collected, including 62 cases of paroxysmal atrial fibrillation (PaAF), 70 cases of persistent atrial fibrillation (PeAF) and 68 cases of permanent atrial fibrillation (PerAF). Ninety patients with simple T2DM were selected as control group. The levels of MMP9, PI3K and protein expression in serum were measured by ELISA and Western blotting methods, and the correlation with the measured LAD was analyzed. MMP9, PI3K and LAD were included in Pearson correlation analysis and binary logistics regression analysis, and the factors affecting AF were obtained by binary Logistics regression analysis. **Results:** Compared with control group, the expression of MMP9 increased and the expression of PI3K decreased in PaAF, PeAF and PerAF groups. Compared with PaAF group, the expression of MMP9 in PeAF group and PerAF group increased and the expression of PI3K

[收稿日期] 2022-12-20 **[修回日期]** 2023-01-06

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81970313);安徽省自然科学基金项目(1908085QH353);蚌埠医学院研究生创新课题(Bycx21065)

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 心血管科,安徽蚌埠 233004; 2. 蚌埠医学院 心脑血管基础与临床重点实验室,安徽蚌埠 233030

[作者简介] 王伟杰(1995-),女,硕士研究生。

[通信作者] 唐碧,主任医师,教授。E-mail: bitang2000@163.com; 康品方,副主任医师。E-mail: kangpinfang.1016@163.com

[25] SATADRU KL, ANN PQ, BENOIT SC, *et al.* Nuclear localization of a novel calpain-2 mediated junctophilin-2 C-terminal cleavage peptide promotes cardiomyocyte remodeling [J]. Basic Res Cardiol, 2020, 115: 49.

[26] LAHIR SK, QUICK AP, SAMSON-COUTERIE B, *et al.* Nuclear localization of a novel calpain-2 mediated junctophilin-2 C-terminal cleavage peptide promotes cardiomyocyte remodeling

[J]. Basic Res Cardiol, 2020, 115(4): 49.

[27] ZHAO Y, CUI GM, ZHOU NN, *et al.* Calpain-calcineurin-nuclear factor signaling and the development of atrial fibrillation in patients with valvular heart disease and diabetes [J]. J Diabetes Res, 2016, 2016: 4639654.

(本文编辑 刘璐)

decreased ($P < 0.01$). Compared with PeAF group, the expression level of MMP9 in PerAF group increased and the expression level of PI3K decreased. Western blotting showed and there was an up-regulation trend in MMP9 and a down-regulation trend in PI3K. Pearson method was used to analyze the correlation between MMP9, PI3K and LAD. The results showed that in all experimental groups, the concentration of MMP9 was positively correlated with LAD ($r = 0.842$), and PI3K was negatively correlated with LAD ($r = 0.868$). Binary logistics regression analysis showed that MMP9, PI3K and LAD were risk factors for AF. **Conclusions:** The expression of MMP9 in serum of patients with T2DM complicated with AF is significantly increased, while the expression of PI3K is significantly decreased, and there is a certain correlation between MMP9 and LAD. The activation and expression of MMP9 and PI3K may be related to the occurrence of AF in patients with T2DM.

[**Key words**] atrial fibrillation; matrix metalloproteinase-9; phosphatidylinositol 3-hydroxykinase

心房颤动 (atrial fibrillation, AF) 是临床上最常见的心律失常类型之一,随着人口老龄化的发展,其发病率呈逐年上升的趋势。AF 是导致心血管疾病的主要危险因素,其通过损害心脏功能显著增加病人心力衰竭、卒中和血栓栓塞的发病率和死亡率。AF 可分为阵发性 AF (paroxysmal atrial fibrillation, PaAF)、持续性 AF (persistent atrial fibrillation, PeAF) 和永久性 AF (permanent atrial fibrillation, PerAF)。AF 发生的确切原因和机制尚不十分清楚,是目前研究的热点。

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是导致 AF 发生的主要危险因素之一,2 型 DM (T2DM) 是 DM 中最常见的类型,占 DM 病人 90% 以上,先前有研究表明,T2DM 病人通过氧化应激或炎症反应介导心房的结构重构和电重构,继而导致 AF 的发生^[1]。血清基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 活性或表达增高会导致氧化应激或炎症反应^[2]。MMP 增生、沉积是心肌纤维化的重要进程^[3]。动物试验表明,DM 大鼠通过促进心房纤维化、延长房间传导时间,从而增加 AF 易感性^[4]。因此,MMP9 在 T2DM 病人 AF 的发生发展中可能有着重要作用。另外,有证据表明,抗氧化剂可通过激活磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K) 活性及其相关的信号通路,减轻 DM 大鼠的心房重构,降低其 AF 的易感性^[1]。可见 PI3K 在 T2DM 和 AF 之间的关系中可能起着非常重要的作用。

MMP9 水平升高、PI3K 水平降低均可介导不同程度的氧化应激和炎症反应^[2]。目前对 MMP9、PI3K 的研究在 T2DM 病人 AF 疾病中的作用尚未有明确报道。左心房内径 (LAD) 作为描述以心脏大小及几何形态改变为特征的心房结构重构指标,已证实其与 AF 的发生发展有关,因此可以将 LAD 增大作为 AF 发生的独立危险因素。本研究通过测定血清中 MMP9 和 PI3K 的水平,探讨血清 MMP9 和 PI3K 与已知预测因子 LAD 之间的关系,探索 MMP9 及 PI3K 在 AF 发生发展过程中的作用,为 AF 的诊

断和预后评估提供一定的参考价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 - 2021 年蚌埠医学院第一附属医院住院 T2DM 病人 290 例,其中 200 例为 T2DM 的 AF 病人,将 AF 病人分为 3 组,PaAF 组 62 例,PeAF 组 70 例,PerAF 组 68 例。另外 90 例为心电图正常的 T2DM 病人,称为单纯性 DM 组,作为对照组。病人入选标准:经心电图、24 h 动态心电图、心电事件记录仪等明确记录到 AF 发作;AF 的分类依据 2010 年欧洲心脏病学会 (ESC) AF 治疗指南^[5]。排除 T2DM 病人中合并各种感染性疾病、风湿性心脏病、高血压、心肌病、冠心病、甲状腺功能亢进及严重肝肾疾病。各组在性别、年龄、基础疾病等因素上相互匹配。所有受试者签署知情同意书,并获得蚌埠医学院第一附属医院伦理委员会批准 (2019KY023)。

1.2 样本准备 标本准备:通宵禁食后的早上采集所有病人的外周血置于 EDTA 抗凝管中,2 h 内以 2 000 r/min 离心 10 min,取离心后的上层血浆,血浆置于 -80 °C 冰箱保存。

1.3 ELISA 法检测各组病人血清中 MMP9 及 PI3K 水平 使用 Human MMP9、PI3K 检测试剂盒,按 ELISA 厂家检测说明,测定人血清 MMP9、PI3K 表达水平。操作步骤均严格遵循试剂自带说明书执行。检测中严格质控。

1.4 Western blotting 检测 MMP9、PI3K 蛋白在对照组和 AF 病人中的表达情况 使用已分装好的血浆,加入 RIPA 后冰上裂解 30 min,4 °C 离心机中 15 000 r/min 离心 30 min,提取血浆总蛋白,根据 BCA 蛋白定量法说明书测各组蛋白浓度,加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液,95 °C 变性 5 min,每组取 40 μg 蛋白,配置 10% SDS-PAGE 凝胶,根据计算所得体积上样后电泳 (60 V, 30 min 待 Marker 出现条带分离后,调整为 120 V, 90 min 待 15 000 相对分子

质量到达胶下缘是停止电泳);转膜(200 mA,2 h)至 PVDF 膜上;5% BSA 封闭液室温封闭 2 h;一抗 4 ℃ 孵育过夜,内参选用 β -actin;TBST 洗涤 3 次,每次 15 min;二抗室温孵育 2 h;TBST 洗涤 3 次,每次 15 min;ECL 发光试剂盒发光,凝胶成像系统获取图像。

1.5 超声心动图检查 所有受试者接受超声心动图检查。排除结构性心脏病,确定心房、心室有无血栓。测量 LAD 和左心室射血分数(LVEF)。

1.6 统计学方法 采用单因素方差分析、 q 检验、Pearson 相关性分析和二元 logistic 回归分析。ImageJ8.0 软件分析 Western blotting 条带灰度值,Graphpad-prism8.3.0 进行统计学分析。

2 结果

2.1 病人临床基线资料比较 各组研究对象的基本资料、肝肾功能、血常规、血脂等指标间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。各组研究对象 LVEF、LAD 的差异均有统计学意义($P < 0.01$) (见表 1)。

续表 1

分组	n	FBG/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL/(mmol/L)	LDL/(mmol/L)	RBC/($\times 10^{12}/L$)	WBC/($\times 10^9/L$)
对照组	90	6.34 \pm 0.35	1.69 \pm 0.36	1.23 \pm 0.18	2.60 \pm 0.22	4.44 \pm 0.16	5.79 \pm 1.29
PaAF 组	62	6.23 \pm 0.33	1.69 \pm 0.45	1.21 \pm 0.16	2.58 \pm 0.25	4.42 \pm 0.17	6.29 \pm 2.79
PeAF 组	70	6.32 \pm 0.38	1.66 \pm 0.48	1.26 \pm 0.18	2.60 \pm 0.25	4.40 \pm 0.16	6.30 \pm 2.31
PerAF 组	68	6.26 \pm 0.34	1.76 \pm 0.37	1.26 \pm 0.22	2.61 \pm 0.29	4.37 \pm 0.18	6.19 \pm 2.19
F	—	1.16	0.72	1.15	0.16	2.25	1.03
P	—	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$MS_{组内}$	—	0.12	0.171	0.034	0.063	0.029	4.589

分组	n	PLT/($\times 10^9/L$)	Scr/(μ mol/L)	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	LAD/mm	LVEF/%
对照组	90	210.29 \pm 42.01	67.10 \pm 10.79	21.64 \pm 11.01	24.39 \pm 5.79	37.43 \pm 3.11	60.19 \pm 6.54
PaAF 组	62	211.39 \pm 53.34	68.42 \pm 15.02	24.38 \pm 12.23	26.12 \pm 9.87	40.10 \pm 3.09	58.67 \pm 4.66
PeAF 组	70	210.12 \pm 40.65	70.79 \pm 16.32	24.19 \pm 12.29	26.39 \pm 8.07	42.81 \pm 2.09	55.27 \pm 4.16
PerAF 组	68	207.00 \pm 40.10	67.69 \pm 18.19	24.01 \pm 12.10	25.95 \pm 12.11	44.57 \pm 3.28	54.92 \pm 3.14
F	—	0.12	0.86	0.97	0.82	88.67	20.96
P	—	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01
$MS_{组内}$	—	1 931.395	226.117	140.363	81.277	8.620	24.426

2.3 受试者血清 MMP9、PI3K Western blotting 检测结果 Western blotting 检测结果显示,与对照组相比,PaAF、PeAF 与 PerAF 组 MMP9 表达水平升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平降低($P < 0.01$)。与 PaAF 组相比,PeAF 组与 PerAF 组 MMP9 表达水平升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平降低($P < 0.01$)。

2.2 受试者血清 MMP9 及 PI3K 水平的比较 与对照组相比,PaAF、PeAF 与 PerAF 组 MMP9 表达水平明显升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平明显降低($P < 0.01$)。与 PaAF 组相比,PeAF 组与 PerAF 组 MMP9 表达水平升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平降低($P < 0.01$)。与 PeAF 组相比,PerAF 组 MMP9 表达水平升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平降低($P < 0.01$) (见表 2)。

表 1 4 组受试者基线资料的比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	年龄/岁	男	体重指数/ (kg/m^2)	SBP/mmHg	DBP/mmHg
对照组	90	66.94 \pm 7.19	18	23.73 \pm 2.36	122.8 \pm 6.80	85.09 \pm 7.282
PaAF 组	62	66.45 \pm 6.51	16	24.10 \pm 2.28	124.1 \pm 6.68	81.73 \pm 7.82
PeAF 组	70	67.14 \pm 6.55	23	24.18 \pm 2.06	123.6 \pm 7.27	83.46 \pm 8.291
PerAF 组	68	67.74 \pm 7.85	15	23.96 \pm 2.16	124.6 \pm 6.73	83.51 \pm 7.64
F	—	0.37	3.85	0.63	1.00	2.34
P	—	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$MS_{组内}$	—	49.97	—	4.958	47.32	59.80

与 PeAF 组相比,PerAF 组 MMP9 表达水平升高($P < 0.01$)、PI3K 表达水平降低($P < 0.01$) (见图 1、表 3)。

2.4 实验组血清 MMP9、PI3k 水平和 LAD 的相关性分析 经 Pearson 线性相关分析,实验组中 MMP9 水平与 LAD 呈正相关关系($r = 0.842, P < 0.05$);实

验组中 PI3k 水平与 LAD 呈负相关关系 ($r = -0.868, P < 0.05$)。MMP9 与 PI3k 水平呈负相关关系 ($r = 0.913, P < 0.01$)。

表2 各组 MMP9、PI3K 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	MMP9/(ng/mL)	PI3K/(mU/L)
对照组	90	54.20 ± 13.95	1 196.30 ± 86.87
PaAF 组	62	68.10 ± 11.82 *	1 080.22 ± 96.97 *
PeAF 组	70	84.57 ± 15.11 **	826.40 ± 93.07 **
PerAF 组	68	103.87 ± 13.80 ** Δ	717.43 ± 92.80 ** Δ
F	—	183.45	717.43
P	—	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	190.052	8 461.176

q 检验:与对照组比较 * $P < 0.01$;与 PaAF 组比较 # $P < 0.01$;与 PeAF 组比较 $\Delta P < 0.01$

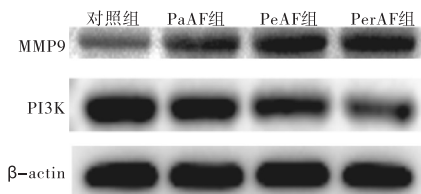


图1 Western blotting检测MMP9、PI3K蛋白表达($n_1=3$)

表3 各组 MMP9、PI3K 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	MMP9/ β -actin	PI3K/ β -actin
对照组	0.458 8 ± 0.040 41	1.037 ± 0.044
PaAF 组	0.844 9 ± 0.045 83 *	0.836 ± 0.036 *
PeAF 组	1.047 ± 0.037 86 **	0.798 ± 0.012 **
PerAF 组	1.145 ± 0.045 09 ** Δ	0.634 ± 0.025 ** Δ
F	153.60	82.76
P	<0.01	<0.01
MS _{组内}	0.002	0.001

q 检验:与对照组比较 * $P < 0.01$;与 PaAF 组比较 # $P < 0.01$;与 PeAF 组比较 $\Delta P < 0.01$

2.5 二元 logistic 回归分析 纳入 MMP9、PI3K 和 LAD 行 logistic 回归分析(均以实测值赋值),结果显示 MMP9、PI3K、LAD 是 AF 的危险因素(见表4)。

表4 logistic 多因素回归分析结果

指标	B	SE	95% CI	OR	t	P
MMP9	0.208	0.081	1.051 ~ 1.442	1.231	2.57	<0.05
PI3K	-0.022	0.007	0.966 ~ 0.991	0.968	3.14	<0.05
LAD	0.647	0.252	1.165 ~ 3.130	1.910	2.57	<0.05

3 讨论

AF 是最常见的持续性心律失常类型之一,其临

床危害大。DM 是 AF 的独立危险因素^[2],合并 DM 的 AF 病人其卒中、心衰发生率以及血管栓塞风险等均增加^[3-4]。且 T2DM 占 DM 病人 90% 以上,因此,探讨阐明 T2DM 合并 AF 发生机制显得尤为重要。有研究^[5-6]报道,T2DM 病人长期的高血糖水平、胰岛素抵抗导致氧化应激或炎症反应水平增高。而炎症因子 MMP9、PI3K 水平的显著异常均可引起氧化应激和炎症反应^[2]。因此,本研究在既往的研究基础上,通过分析 T2DM 合并 AF 病人血清中 MMP9、PI3K 的表达水平及其与 AF 发生的关系,以期能够对 AF 的早期诊断作出评估,为 AF 的临床治疗提供新思路。

MMPs 是一个内源性锌依赖性酶家族,是降解 ECM 的蛋白水解酶系统,MMPs 激活可导致细胞外基质(ECM)中的几乎所有的成分降解,介导正常组织和病理组织的重塑^[7-9]。在 MMPs 家族中,MMP9 与 AF 的关系最为密切,既往有学者报道,AF 病人心房组织中 MMP9 表达水平较非 AF 病人组显著增高^[10]。研究^[11]发现,DM 大鼠 MMPs 表达和活性增加,进而引起心房的结构重构和电重构,继而导致 AF 的发生。本研究结果显示,T2DM 合并 AF 病人血清中 MMP9 表达水平较 Con 组显著增高,另外,MMP9 水平在 PerAF 组高于 PeAF 组高于 PaAF 组。本研究 Western blotting 中各蛋白表达量与上述趋势符合,结果进一步得到了证实。这也进一步证明 MMP9 表达水平的增加与 AF 的发生发展有着密切的联系,其可能机制为,MMP9 水平升高,MMP 与组织抑制剂之间的平衡被破坏^[12-13],触发并促进心房 ECM 重塑和心房结构重构,进而导致 AF 的发生发展。

PI3K 为一种心脏保护蛋白,具有心脏保护活性。实验证实,降低糖尿病心肌病小鼠心脏中的 PI3K 活性可加速 DCM 小鼠心力衰竭的进展并导致其 AF 的发生发展^[14-16]。既往有研究通过敲除小鼠的 PI3K 基因发现,其 PI3K 活性降低,心房纤维化增加,心房钾通道表达下调,AF 易感性增加^[17-19]。我们研究发现,T2DM 合并 AF 病人血清中 PI3K 表达水平较对照组显著增高;另外,血清 PI3K 水平在 PerAF 组低于 PeAF 组低于 PaAF 组。本研究 Western blotting 中各蛋白表达量与上述趋势符合,进而提示了 PI3K 表达水平的降低与 AF 的发生发展密切相关。

MMP9、PI3K 表达水平的异常均可介导不同程度的氧化应激或炎症反应,进而导致 AF 的发生^[2],本研究进一步探讨其与 T2DM 病人 AF 不同类型是

否存在相关性。有研究表明,AF 伴随着持续的炎症反应、心肌组织损伤及修复过程,最终导致心腔发生慢性失代偿性扩大,LVEF 明显低于正常组,LAD 明显高于正常组^[20-23]。本研究通过 Pearson 相关性分析,发现血清 MMP9 与 LAD 之间呈现一定正相关,PI3K 与 LAD 之间呈现一定负相关,提示血清 MMP9 水平的升高、PI3K 水平的降低可反映后期心腔扩大。这些结果表明,MMP9 和 PI3K 或通过调控心肌细胞的增殖、纤维化促进心房重构等,参与 AF 的发生发展。另外,我们对血清 MMP9 和 PI3K 行 logistic 回归分析,结果显示二者均为 T2DM 病人 AF 的危险因素。故结合本文 MMP9 在 AF 中的表达水平升高、PI3K 在 AF 中的表达水平降低可显示,其可能通过相关炎症通路使左心房发生慢性炎症,增加了 AF 再发恶性事件的风险。

综上所述,本研究发现 T2DM 合并 AF 病人血清 MMP9 水平明显升高,与 AF 的持续时间呈正相关;PI3K 水平明显降低,与 AF 的持续时间呈负相关。T2DM 病人可能通过血清 MMP9 水平显著升高、PI3K 水平显著降低介导氧化应激水平增高和慢性炎症,进而导致 AF 的发生发展,这有利于 T2DM 病人 AF 的早期诊断及严重程度的评估,为临床防治提供了新的方向和广阔前景。

[参 考 文 献]

- [1] DENG XW, XIE N. Progress of berberine for treatment of type 2 diabetes[J]. Chin J Chin Mat Med, 2014, 39(8):1374.
- [2] LEWKOWICZ J, KNAPP M, TANKIEWICZ-KWEDLO A, et al. MMP-9 in atrial remodeling in patients with atrial fibrillation[J]. Ann Cardiol Angeiol(Paris), 2015, 64(4):285.
- [3] KATO T, YAMASHITA T, SEKIGUCHI A, et al. What are arrhythmogenic substrates in diabetic rat atria? [J]. Cardiovasc Electrophysiol, 2006, 17(8):890.
- [4] NIELSEN JB, PIETERSEN A, GRAFF C, et al. Risk of atrial fibrillation as a function of the electrocardiographic PR interval: results from the Copenhagen ECG Study [J]. Heart Rhythm, 2013, 10(9):1249.
- [5] MUKHERJEE R, HERRON AR. Lowry matrix metalloproteinases and tissu atrial and ventricular myocardium[J]. Am J Cardiol, 2006, 97:532.
- [6] SAITO S, TESHIMA Y, FUKUI A, et al. Glucose fluctuations increase the incidence of atrial fibrillation in diabetic rats [J]. Cardiovasc Res, 2014, 104(1):5.
- [7] ZHOU M, WANG H, ZHU J, et al. Cause-specific mortality for 240 causes in China during 1990–2013: a systematic subnational analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 [J]. Lancet, 2016, 387(10015):251.
- [8] WANG W, JIANG B, SUN H, et al. Prevalence, Incidence and Mty of Stroke in China; Results from a Nationwide PopuBased Survey of 480,687 adults[J]. Circulation, 2017, 135:759.
- [9] WANG W, LI M, CHEN Q, et al. Hemorrhagic transformation

- ischemic stroke: mechanisms, models and biomarkers [J]. Mol Neurobiol, 2015, 52(3):1572.
- [10] RAMIREZ F, RIFKIN DB. Extracellular microfibrils: contextual platforms for TGF β and BMP signaling [J]. Curr Opin Cell Biol, 2009, 8:42.
- [11] HAO Y, YANG D, WANG H, et al. Predictors for symptomatic intracranial hemorrhage after endovascular treatment of acute ischemic stroke [J]. Stroke, 2017, 48(5):1203.
- [12] BI HL, ZHANG YL, YANG J, et al. Inhibition of UCHL1 by LDN-57444 attenuates Ang II -Induced atrial fibrillation in mice [J]. Hypertens Res, 2020, 43(3):168.
- [13] STANCIU AE, ZAMFIR-CHIRU-ANTON A, STANCIU MM, et al. Impact of thyroid disease on heart failure, in: John Kassotis (Ed.), Role of the Clinical Cardiac Electrophysiologist in the Management of Congestive Heart Failure [J]. InTech, 2017, (66):141.
- [14] CHEN L, LIU P, FENG X, et al. Salidroside suppressing LPS induced myocardial injury by inhibiting ROS-mediated PI3K/Akt/ mTOR pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. Cell Mol Med, 2017, 21(12):3178.
- [15] MA L, LI XP, JI HS, et al. Baicalein protects rats with diabetic cardiomyopathy against oxidative stress and inflammation injury via phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/AKT pathway [J]. Med Sci Monit, 2018, 24:5368.
- [16] TAKAHAMA H, MINAMINO T, HIRATA A, et al. Granulocyte colony-stimulating factor mediates cardioprotection against ischemia/reperfusion injury via PI3K/Akt pathway in canine hearts [J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2006, 20(3):159.
- [17] QIU H, MA J, WU H, et al. DL-3-n-butylphthalide improves ventricular function, and prevents ventricular remodeling and arrhythmias in post-MI rats [J]. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol, 2018, 391(6):627.
- [18] JOSEPH PG, HEALEY JS, RAINA P, et al. Global variations in the prevalence, treatment, and impact of atrial fibrillation in a multi-national cohort of 153 152 middle-aged individuals [J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(6):1523.
- [19] SUN H, SHAO Y. Transcriptome analysis reveals key pathways that vary in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation [J]. Exp Ther Med, 2021, 21(6):571.
- [20] XIAO S, ZHOU Y, LIU Q, et al. Identification of pivotal microRNAs and target genes associated with persistent atrial fibrillation based on bioinformatics analysis [J]. Comput Math Methods Med, 2021, 2021:6680211.
- [21] MULLIS C, SWARTZ TH. NLRP3 inflammasome signaling as a link between HIV-1 infection and atherosclerotic cardiovascular disease [J]. Front Cardiovasc Med, 2020, 7:95.
- [22] KAWASOE S, KUBOZONO T, YOSHIFUKU S, et al. Uric acid level and prevalence of atrial fibrillation in a Japanese general population of 285 882 [J]. Circ J, 2016, 80(12):2453.
- [23] WU Q, LIU H, LIAO J, et al. Colchicine prevents atrial fibrillation promotion by inhibiting IL-1 β -induced IL-6 release and atrial fibrosis in the rat sterile pericarditis model [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129:110384.