

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research普拉格雷介导大鼠心肌细胞焦亡减轻
心肌缺血再灌注氧化应激损伤的研究

Research on the reduction of myocardial ischemia – reperfusion oxidative stress injury in rats mediated by prasugrel

李华伟^{1a}, 张 丽^{1a}, 王计亮^{1a},
沈青青^{1b}, 刘黎洁^{1a}(1. 邢台市中心医院, a. 心内科; b. 心脏康复科,
河北 邢台 054000)LI Hua – wei^{1a}, ZHANG Li^{1a},
WANG Ji – liang^{1a},
SHEN Qing – qing^{1b},
LIU Li – jie^{1a}(1. a. Department of Cardiology; b.
Department of Cardiac Rehabilitation,
Xingtai Central Hospital, Xingtai
054000, Hebei Province, China)基金项目:邢台市重点研发计划基金资助项目
(2022ZC117)作者简介:李华伟(1989 –),男,主治医师,主要
从事冠心病的介入治疗和心脏康复
医学方面的工作

通信作者:李华伟

MP:15833381688

E – mail:450779415@qq.com

摘要:目的 探讨普拉格雷(PRAS)基于核因子E2相关因子2(Nrf2)/血红素加氧酶1(HO-1)/醌氧化还原酶1(NQO1)信号通路介导大鼠心肌细胞焦亡减轻心肌缺血再灌注(IR)氧化应激损伤的作用机制。方法 将SD大鼠随机分为假手术组(仅暴露心脏,不构建IR模型,灌胃等量0.9% NaCl)、模型组(构建IR大鼠模型,灌胃等量0.9% NaCl)、低剂量实验组(模型组大鼠灌胃5 mg·kg⁻¹ PRAS)、中剂量实验组(模型组大鼠灌胃10 mg·kg⁻¹ PRAS)、高剂量实验组(模型组大鼠灌胃15 mg·kg⁻¹ PRAS)。用酶联免疫吸附试验法检测大鼠血清中心肌损伤标志物和氧化应激因子水平,用蛋白质印迹法检测各组大鼠心肌组织中细胞焦亡相关蛋白和Nrf2/HO-1/NQO1信号通路相关蛋白的相对表达水平。结果 假手术组、模型组和低、中、高剂量实验组的心肌肌钙蛋白(cTn I)含量分别为(264.52 ± 39.04)、(558.40 ± 101.68)、(477.65 ± 64.33)、(429.71 ± 75.94)和(313.84 ± 52.26) pg·mL⁻¹,肌酸激酶同工酶(CK-MB)含量分别为(0.68 ± 0.11)、(2.76 ± 0.45)、(1.92 ± 0.27)、(1.53 ± 0.23)和(1.11 ± 0.19) U·L⁻¹,丙二醛(MDA)水平分别为(4.05 ± 0.68)、(10.12 ± 1.74)、(8.44 ± 1.26)、(6.79 ± 1.05)和(5.47 ± 1.02) nmol·L⁻¹,核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)蛋白相对表达水平分别为1.00 ± 0.14、2.16 ± 0.32、1.72 ± 0.25、1.54 ± 0.28和1.28 ± 0.21, Nrf2蛋白相对表达水平分别为1.00 ± 0.15、0.32 ± 0.04、0.39 ± 0.05、0.61 ± 0.10和0.80 ± 0.13,模型组的上述指标与假手术组比较,低、中、高剂量实验组的上述指标与模型组比较,均有显著性差异(P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001)。结论 PRAS可能通过激活Nrf2/HO-1/NQO1信号通路抵抗氧化应激,减少心肌细胞的焦亡和凋亡,从而减轻IR损伤,保护心脏功能。

关键词:普拉格雷;心肌缺血再灌注;细胞焦亡;氧化应激损伤;核因子E2相关因子2/血红素加氧酶1/醌氧化还原酶1信号通路

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.009

中图分类号:R972

文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)08-1096-06

Abstract: Objective To explore the mechanism of prasugrel (PRAS) in alleviating oxidative stress of myocardial ischemia reperfusion (IR) by inducing pyroptosis of rat cardiomyocytes based on nuclear factor erythroid derived 2-like 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1)/NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1) signaling pathway. **Methods**

SD rats were randomly divided into sham operation group (only the heart was exposed, no IR model was constructed, and the same amount of normal saline was injected into the stomach), model group (IR rat model was constructed, and the stomach was given an equal amount of 0.9% NaCl),

the experimental - L group (model group rats were intragastric with $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ PRAS), the experimental - M group (model group rats were intragastric with $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ PRAS), and experimental - H group (model group rats were intragastric with $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ PRAS). The serum levels of myocardial injury markers and oxidative stress factors were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The relative expression levels of pyroptosis-related proteins and Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway-related proteins in myocardial tissue were detected by Western blot. **Results**

The contents of cardiac troponin I (cTn I) in sham operation group, model group, experimental - L group, experimental - M group and experimental - H group were (264.52 ± 39.04), (558.40 ± 101.68), (477.65 ± 64.33), (429.71 ± 75.94) and (313.84 ± 52.26) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the creatine kinase isoenzyme (CK-MB) levels were (0.68 ± 0.11), (2.76 ± 0.45), (1.92 ± 0.27), (1.53 ± 0.23) and (1.11 ± 0.19) $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the levels of malondialdehyde (MDA) were (4.05 ± 0.68), (10.12 ± 1.74), (8.44 ± 1.26), (6.79 ± 1.05) and (5.47 ± 1.02) $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the relative expression levels of nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) were 1.00 ± 0.14 , 2.16 ± 0.32 , 1.72 ± 0.25 , 1.54 ± 0.28 and 1.28 ± 0.21 , respectively; the relative expression levels of Nrf2 were 1.00 ± 0.15 , 0.32 ± 0.04 , 0.39 ± 0.05 , 0.61 ± 0.10 and 0.80 ± 0.13 , respectively. The above indexes of model group were compared with those of sham-operation group, and those of experimental - L, experimental - M and experimental - H groups were compared with those of model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$). **Conclusion** PRAS may resist oxidative stress and reduce pyroptosis and apoptosis of myocardial cells by activating Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway, thereby alleviating IR injury and protecting cardiac function.

Key words: prasugrel; myocardial ischemia-reperfusion; pyroptosis; oxidative stress injury; nuclear factor erythroid derived 2-like 2/heme oxygenase-1/NAD(P)H quinone dehydrogenase 1 signal pathway

心肌缺血再灌注 (myocardial ischemia-reperfusion, IR) 损伤是指在冠状动脉闭塞导致血流减少或中断后,恢复血流供应时心肌细胞损伤程度加重,会导致心肌水肿、出血,甚至引发心肌梗死等疾病^[1-2]。目前,针对 IR 损伤治疗主要包括用脱水药物减轻心肌水肿,但脱水药物的使用往往受到很多制约,因此,探寻新型治疗方法有着重要意义^[3]。新型抗血小板药普拉格雷 (prasugrel, PRAS) 可以降低缺血性心血管事件发生率,在冠心病治疗中有重要作用^[4]。研究表明,调控核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid derived 2-like 2, Nrf2)/血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1)/醌氧化还原酶 1 [NAD(P)H quinone dehydrogenase 1, NQO1] 信号通路可以发挥抗氧化应激、改善能量代谢的作用,从而保护心肌细胞^[5]。本研究旨在探讨 PRAS 介导心肌细胞焦亡减轻 IR 氧化应激损伤的机制。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,鼠龄 8 周,体质量 $290 \sim 340 \text{ g}$,购自河北省实验动物中心。动物生产许可证号:SCXK(冀)2022-001。本实验经邢台市中心医

院伦理委员会批准[伦理批号:审伦(2024-0402)号]。

药品与试剂 PRAS,规格:每瓶 100 mg ,纯度:99.75%,批号:121580,美国 MCE 公司生产。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3)、消皮素 D (gasdermin D, GSDMD)、Nrf2/HO-1/NQO1、半胱天冬酶原-1 (pro-cysteinyll aspartate specific proteinase-1, pro-Caspase-1) 抗体,肌酸激酶同工酶 (creatine kinase isoenzymes, CK-MB)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒,均由英国 Abcam 公司生产;消皮素 D-N 末端 (gasdermin D-N, GSDMD-N) 抗体,江苏亲科生物研究中心有限公司生产;心肌肌钙蛋白 (cardiac troponin I, cTnI) ELISA 试剂盒,北京索莱宝科技有限公司生产;超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) ELISA 试剂盒,上海雅吉生物科技有限公司生产;谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) ELISA 试剂盒,江莱生物科技有限公司生产;逆转录试剂盒,美国赛默飞世尔科技有限公司生产;苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色法试剂盒、原位末端标记法 (terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling, TUNEL) 试剂盒,均由上海碧云天生物公司生产。引物,均由上海碧云天生物公司合成。

仪器 ELX800 酶标仪,美国 BioTek 仪器公司产品;DM2500 荧光显微镜,德国徕卡公司产品;CFX96 Touch 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪、1659001 蛋白电泳仪、Trans-Blot SD 半干转膜仪,均为美国 Bio-Rad 公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[6]

将 SD 大鼠通过吸入异氟烷进行麻醉,使其以仰卧位固定于解剖板,从大鼠左侧胸前横向切开皮肤,分离肌肉层,在第3、4肋间处打开胸腔,剪破心包膜,暴露心脏;从左心耳下缘2 mm处进针,结扎左冠状动脉前降支造成心肌缺血,观察到大鼠心脏表面颜色转变为青紫色,心电图显示 ST 段明显抬高、T 波高耸,表明心肌缺血建立成功;在心肌缺血30 min后,解除结扎线,恢复心脏血液再灌注2 h,观察到心脏表面颜色恢复至红色,心电图显示 ST 段压低、T 波恢复,表明心肌 IR 模型构建成功。

2.2 动物分组与给药方法

将大鼠分为假手术组、模型组和低、中、高剂量实验组,每组10只。假手术组:仅暴露心脏,但不结扎左冠状动脉前降支;模型组:构建 IR 损伤大鼠模型;低、中、高剂量实验组:建模成功后,分别灌胃5、10和15 mg·kg⁻¹ PRAS;假手术组和模型组均灌胃等量0.9% NaCl。5组大鼠每天给药1次,持续14 d。

2.3 ELISA 法检测各组大鼠血清中 cTn I、CK-MB、MDA 水平、SOD 及 GSH-Px 活性^[7]

取各组大鼠动脉血,以4 000 r·min⁻¹离心10 min后,取上清液,严格按照 ELISA 试剂盒说明书的方法进行操作,检测各组大鼠血清中 cTn I、CK-MB、MDA、SOD 及 GSH-Px 活性水平。

2.4 蛋白质印迹(Western blot, WB)法检测各组大鼠心肌组织中 NLRP3、pro-Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N 及 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路相关蛋白的相对表达水平^[6]

在各组大鼠心肌组织样本中滴加裂解液,充分研磨后于冰浴中裂解30 min,用二喹啉甲酸法检测总蛋白浓度。取蛋白样品进行凝胶电泳实验,分离蛋白,转移至聚偏二氟乙烯膜上,用5%脱脂奶粉室温封闭2 h,加入 NLRP3、pro-Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N、Nrf2/HO-1 和 NQO1 抗体,4℃孵育过夜,洗膜后加入二抗,室温孵育1 h,显色后分析条带灰度值,计算目的蛋白的相对表达水平。

2.5 HE 染色法检测各组大鼠心肌组织病理学变化^[6]

将固定好的大鼠心肌组织样本用梯度乙醇脱水,

二甲苯透明处理,用石蜡包埋组织,置于切片机上切成厚度约5 μm的薄片。60℃烘箱烤片,脱蜡处理后用 HE 染液进行染色,中性树脂封片,于显微镜下观察大鼠心肌组织形态变化。

2.6 TUNEL 实验法检测各组心肌组织细胞凋亡率^[8]

取“2.5”中的组织切片,用 TUNEL 染色试剂盒观察各组大鼠心肌细胞凋亡情况,在显微镜下观察各组大鼠阳性细胞情况,用 Image J 2.0 软件统计各组大鼠心肌细胞凋亡数。

2.7 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测各组大鼠心肌组织中 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2-associated X protein, Bax)和半胱天冬酶3(cysteiny aspartate specific proteinase-3, Caspase-3)的表达水平^[9]

用 Trizol 试剂对大鼠肝组织中的总 RNA 进行提取,提取步骤按照试剂盒说明书的步骤进行,并对其进行定量。然后通过逆转录试剂盒合成互补 DNA(complementary DNA, cDNA)。以 cDNA 为模板,以磷酸甘油醛脱氢酶(reduced glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内参,用荧光定量 PCR 仪进行 qRT-PCR 检测,用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因的相对表达水平。

3 统计学处理

用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,两两比较用独立样本 *t* 检验。

结 果

1 PRAS 影响大鼠血清心肌损伤标志物水平

低、中、高剂量实验组大鼠建模成功后,分别灌胃5、10、15 mg·kg⁻¹ PRAS;假手术组和模型组均灌胃等量0.9% NaCl。

假手术组、模型组和低、中、高剂量实验组的 cTnI 含量分别为(264.52 ± 39.04)、(558.40 ± 101.68)、(477.65 ± 64.33)、(429.71 ± 75.94)和(313.84 ± 52.26) pg·mL⁻¹, CK-MB 含量分别为(0.68 ± 0.11)、(2.76 ± 0.45)、(1.92 ± 0.27)、(1.53 ± 0.23)和(1.11 ± 0.19) U·L⁻¹。模型组与假手术组比较,大鼠血清中 cTn I 和 CK-MB 含量均显著升高(均 *P* < 0.001);低剂量实验组与模型组比较,大鼠血清中 cTn I 和 CK-MB 含量均显著降低(均

$P < 0.05$);中剂量实验组与模型组比较,大鼠血清中 cTn I 和 CK - MB 含量均显著降低(均 $P < 0.01$);高剂量实验组与模型组比较,大鼠血清中 cTn I 和 CK - MB 含量均显著降低(均 $P < 0.001$)。

2 PRAS 影响大鼠血清氧化应激因子水平

模型组与假手术组比较,大鼠血清中 MDA

水平显著升高 ($P < 0.001$), SOD 和 GSH - Px 活性均显著降低(均 $P < 0.001$);低、中、高剂量实验组与模型组比较,大鼠血清中 MDA 水平均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.001$), SOD 和 GSH - Px 活性均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.001$)。结果见表 1。

表 1 各组大鼠氧化应激因子水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the levels of oxidative stress factors in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (mg · kg ⁻¹)	n	MDA (nmol · L ⁻¹)	SOD (U · mL ⁻¹)	GSH - Px (U · mL ⁻¹)
Sham operation	-	10	4.05 ± 0.68	392.84 ± 59.76	10.68 ± 1.71
Model	-	10	10.12 ± 1.74 ^{***}	131.56 ± 21.31 ^{***}	4.35 ± 0.82 ^{***}
Experimental - L	5	10	8.44 ± 1.26 [#]	160.97 ± 29.14 [#]	6.50 ± 0.95 ^{###}
Experimental - M	10	10	6.79 ± 1.05 ^{###}	194.22 ± 33.84 ^{###}	8.27 ± 1.26 ^{###}
Experimental - H	15	10	5.47 ± 1.02 ^{###}	267.81 ± 42.56 ^{###}	9.56 ± 1.80 ^{###}

Sham operation group: Only the heart was exposed, no ischemia reperfusion (IR) model was constructed, and the same amount of normal saline was injected into the stomach; Model group: IR rat model was constructed, and the stomach was given an equal amount of normal saline; Experimental - L group: Model group rats were intragastric with 5 mg · kg⁻¹ prasugrel (PRAS); Experimental - M group: Model group rats were intragastric with 10 mg · kg⁻¹ PRAS; Experimental - H group: Model group rats were intragastric with 15 mg · kg⁻¹ PRAS; MDA: Malondialdehyde; SOD: Superoxide dismutase; GSH - Px: Glutathione peroxidase; Compared with sham operation group, ^{***} $P < 0.001$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$, ^{###} $P < 0.001$.

3 PRAS 影响各组大鼠心肌组织中细胞焦亡相关蛋白相对表达水平

模型组与假手术组比较,大鼠心肌组织中 NLRP3、pro - Caspase - 1、GSDMD 和 GSDMD - N 蛋白相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.001$);低、中、高剂量实验组与模型组比较,大鼠心肌组织中 NLRP3、pro - Caspase - 1、GSDMD 和 GSDMD - N 蛋白相对表达水平均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。结果见图 1 和表 2。

4 PRAS 对各组大鼠心肌组织病理学变化的影响

HE 染色结果显示:假手术组心肌结构清晰,细胞形态大小正常,心肌纤维排列规则,无明显病理性损伤;模型组与假手术组比较,心肌结构受损,细胞出现肿胀或坏死,心肌纤维排列紊乱,炎症浸润;低、中、高剂量实验组与模型组比较,大鼠心肌组织损伤和炎症

浸润不同程度明显减轻。结果见图 2。

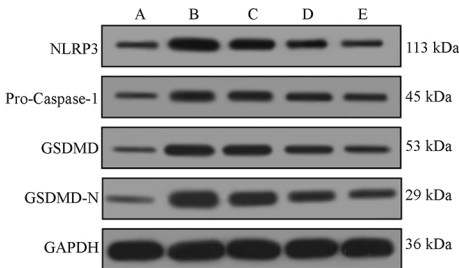


图 1 各组心肌组织中细胞焦亡相关蛋白相对表达水平

Figure 1 Expression levels of pyroptosis - related proteins in myocardial tissue of each group

NLRP3: NOD - like receptor protein 3; Pro - Caspase - 1: Pro - cysteinyl aspartate specific proteinase - 1; GSDMD: Gasdermin D; GSDMD - N: Gasdermin D - N; A: Sham operation group; B: Model group; C, D, E: Experimental - L, - M, - H groups, respectively.

表 2 各组心肌组织中焦亡相关蛋白相对表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of relative expression levels of proteins related to focal necrosis in myocardial tissues of all groups($\bar{x} \pm s$)

Group	NLRP3	pro - Caspase - 1	GSDMD	GSDMD - N
Sham operation	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.16
Model	2.16 ± 0.32 ^{***}	2.78 ± 0.45 ^{***}	2.53 ± 0.36 ^{***}	4.81 ± 0.62 ^{***}
Experimental - L	1.72 ± 0.25 ^{##}	2.16 ± 0.34 ^{##}	2.21 ± 0.31 [#]	3.85 ± 0.58 ^{##}
Experimental - M	1.54 ± 0.28 ^{###}	1.84 ± 0.28 ^{###}	1.70 ± 0.22 ^{###}	2.92 ± 0.45 ^{###}
Experimental - H	1.28 ± 0.21 ^{###}	1.50 ± 0.24 ^{###}	1.34 ± 0.19 ^{###}	2.14 ± 0.36 ^{###}

Dose and n refer to table 1; Compared with sham operation group, ^{***} $P < 0.001$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$.

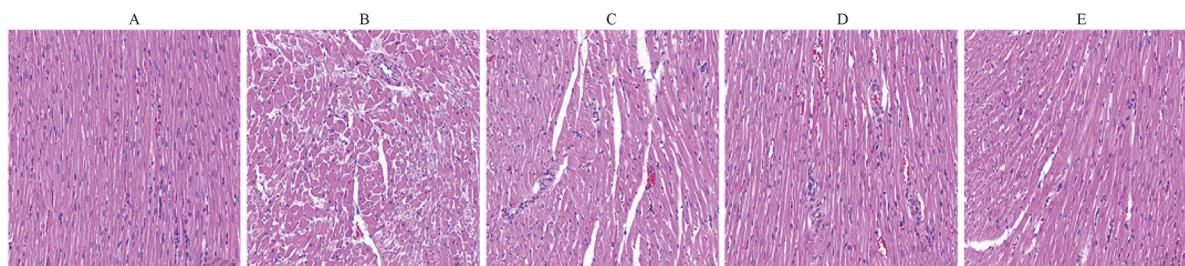


图2 各组大鼠心肌组织病理学变化(苏木精-伊红染色, $\times 100$)

Figure 2 Myocardial histopathological changes of rats in each group (hematoxylin-eosin staining, $\times 100$)

A-E refer to figure 1.

5 PRAS 对各组大鼠心肌组织细胞凋亡的影响

假手术组、模型组和低、中、高剂量实验组大鼠心肌组织的细胞凋亡率分别为 $(2.12 \pm 0.26)\%$ 、 $(48.51 \pm 7.02)\%$ 、 $(31.74 \pm 4.38)\%$ 、 $(19.28 \pm 2.35)\%$ 和 $(10.96 \pm 2.11)\%$ 。模型组与假手术组比较,大鼠心肌组织的细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.001$);低、中、高剂量实验组与模型组比较,大鼠心肌组织的细胞凋亡率均明显降低 (均 $P < 0.001$)。

假手术组、模型组和低、中、高剂量实验组的 *Bcl-2* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12 、 0.18 ± 0.02 、 0.31 ± 0.04 、 0.49 ± 0.07 和 0.72 ± 0.12 , *Bax* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 、 6.79 ± 1.18 、 4.54 ± 0.60 、 3.18 ± 0.53 和 2.26 ± 0.39 , *Caspase-3* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 5.21 ± 1.01 、 3.65 ± 0.57 、 2.62 ± 0.45 和 1.88 ± 0.26 。模型组与假手术组比较,大鼠心肌组织中 *Bcl-2* mRNA 相对表达水平显著降低 ($P < 0.001$), *Bax* 和 *Caspase-3* mRNA 相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.001$);低、中、高剂量实验组与模型组比较,大鼠心肌组织中 *Bcl-2* mRNA 相对表达水平均明显升高 (均 $P < 0.001$), *Bax* 和 *Caspase-3* mRNA 相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.001$)。

6 PRAS 影响 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路相关蛋白相对表达水平

假手术组、模型组和低、中、高剂量实验组的 Nrf2 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 、 0.32 ± 0.04 、 0.39 ± 0.05 、 0.61 ± 0.10 和 0.80 ± 0.13 , HO-1 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 、 0.25 ± 0.04 、 0.34 ± 0.04 、 0.67 ± 0.09 和 0.86 ± 0.15 , NQO1 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13 、 0.37 ± 0.06 、 0.48 ± 0.07 、 0.65 ± 0.11 和 0.85 ± 0.13 。模型组与假手术组比较,大鼠心肌组织中 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.001$);低、中、高剂量实验组与模型组比较,大鼠心肌组织中

Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.01$)。结果见图3。

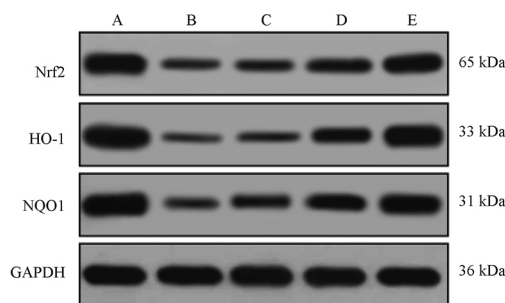


图3 各组心肌组织中核因子E2相关因子2(Nrf2)/血红素加氧酶1(HO-1)/醌氧化还原酶1(NQO1)信号通路蛋白水平比较

Figure 3 Comparison of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1)/NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1) signaling pathway protein levels in myocardial tissue of all groups

A-E refer to figure 1.

讨 论

缺血性心脏病是目前全球死亡的主要原因之一。再灌注是急性缺血性心脏病的决定性治疗方法,但同时也会导致额外的损伤并加重心脏功能障碍。目前仍然缺乏有效的治疗方法来预防IR损伤^[10]。IR损伤涉及多种复杂机制,对患者的生命健康造成了严重的威胁。PRAS是噻吩吡啶类前体药物,其通过抑制腺苷二磷酸受体,干扰腺苷二磷酸介导的血小板活化,从而抑制血小板聚集,在肝代谢中转变为活性产物来发挥抗血小板效应,达到减少血栓形成的目的^[11]。赵静等^[12]研究发现,PRAS改善血管功能方面均优于氯吡格雷和替格瑞洛,其起效快,能够有效抑制血小板活性。

CK-MB 和 cTn I 是诊断心肌功能障碍的 2 项重要指标。CK-MB 主要存在于心肌细胞中,在常态下其含量较低,在心肌、横纹肌受到损伤时,CK-MB 会快速释放到血液中,其水平越高则表示心肌损伤程度越高。当患者长时间出现心肌进行性损伤时,cTn I 2 表达将会异常升高^[13]。本研究发现,在低、中、高浓度 PRAS 药物处理下,大鼠血清中 cTn I 和 CK-MB 含量均显著减少,提示 PRAS 能够明显减轻心肌功能损伤。本实验用 HE 染色法检测各组大鼠心肌组织病理学变化,结果显示,在低、中、高浓度 PRAS 药物处理下,大鼠心肌组织损伤和炎症浸润均明显减轻,提示 PRAS 能够有效减轻 IR 损伤,保护心肌组织。近年来,越来越多的研究关注到通过激活 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路可以减轻心肌损伤,该通路在减轻心肌损伤中发挥着重要的抗氧化应激作用。转录因子 Nrf2 是该信号通路的核心,在正常情况下,Nrf2 存在于细胞质中,当心肌细胞处于氧化应激状态时,Nrf2 会向细胞核转移,而后激活下游基因 HO-1 和 NQO1 等的表达^[14]。HO-1 是一种关键的抗氧化酶,可以分解有毒的代谢产物,减轻氧化应激。NQO1 也具有抗氧化作用,能够参与氧化还原反应,降低氧化应激对心肌细胞的损伤^[15]。本研究发现,在低、中、高浓度 PRAS 药物处理下,大鼠心肌组织中 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白相对表达水平均显著升高,表明 PRAS 可能通过激活心肌组织中 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路从而减轻心肌损伤。Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路的激活可以增加抗氧化酶的合成,如 SOD 和 GSH-Px 等,从而有效抵抗氧化应激对心肌细胞的损伤。在 IR 过程中,炎症反应会引发心肌细胞的损伤和凋亡,Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路可以抑制炎症细胞的活化和炎症因子的释放,从而减轻炎症反应^[14-16]。本研究发现,在低、中、高浓度 PRAS 药物处理下,IR 大鼠的氧化产物 MDA 水平均明显降低,抗氧化酶 SOD、GSH-Px 活性均明显升高,细胞焦亡相关蛋白(NLRP3、pro-Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N 蛋白)相对表达水平和细胞凋亡率均显著降低,凋亡相关基因 Bcl-2 mRNA 相对表达水平均明显升高,Bax 和 Caspase-3 mRNA 相对表达水平则均显著降低。这提示 PRAS 可能通过激活 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路抵抗氧化应激,减轻炎症反应,减少心肌细胞的焦亡和凋亡,改善能量代谢,从而减轻心肌损伤,保护心脏功能。

本研究提示:PRAS 基于 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路在临床治疗 IR 损伤具有一定的潜力,为临床治

疗提供了新的思路和方法。后续将进一步深入研究 PRAS 激活 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路的具体机制,为临床治疗 IR 损伤提供更安全有效的策略。

参考文献:

- [1] 赵志成,刘贵军. 基于 NF- κ B/MAPK 通路探讨五味子甲素对心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2024,22(18):3299-3305.
- [2] 王宏,刘丽,郭美璐,等. 黄葵素通过核因子 κ B 信号改善老年糖尿病大鼠心肌缺血再灌注的研究[J]. 世界中医药,2024,19(12):1766-1771.
- [3] 唐浩,张双彦. 丹参多酚酸在改善脑缺血再灌注损伤中的机制探究[J]. 哈尔滨医科大学学报,2018,52(2):118-123.
- [4] 卜琪玲,王华荣,郝永臣. 普拉格雷与替格瑞洛治疗急性冠脉综合征有效性和安全性比较的 Meta 分析[J]. 药物流行病学杂志,2020,29(11):729-736.
- [5] 姚琪,唐关敏. 虾青素调控 Nrf2/HO-1/NQO1 通路减轻心肌缺血再灌注大鼠氧化应激损伤[J]. 中国老年学杂志,2023,43(8):1953-1957.
- [6] 吉岳萍,吴勇宏,潘婉. TRPV1 激动剂通过 MAPK 信号通路调节缺血/再灌注大鼠心肌自噬的作用研究[J]. 西部医学,2024,36(10):1449-1455.
- [7] 赵慧,魏晓倩,王丹琼,等. 右美托咪定减轻老年小鼠心肌缺血再灌注诱发认知功能障碍的作用及突触可塑性机制[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2024,26(10):1215-1220.
- [8] 蔡灯塔,常静宜,贾姗姗,等. 罗沙司他通过抑制凋亡和炎症反应改善小鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. 天津医药,2024,52(11):1146-1151.
- [9] 孙宏,王亚楠,朱嘉民,等. 基于细胞凋亡探讨白金方对心肌缺血再灌注损伤大鼠的心肌保护作用及机制[J]. 中医学报,2024,52(9):10-14.
- [10] 赵志成,郭天龙. 黄连碱预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠 JNK/p38MAPK 信号通路的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2024,22(17):3122-3127.
- [11] 王添艳,柳亚敏,王玉敏,等. 新型 P2Y12 受体拮抗剂抗血小板活性的影响因素研究进展[J]. 中国药房,2019,30(21):3018-3024.
- [12] 赵静,成睿珍. P2Y12 受体拮抗剂在急性冠脉综合征患者中的应用进展[J]. 中南药学,2021,19(7):1370-1375.
- [13] 张芝,赵云华,徐彩云,等. BNP、MYO、CK-MB 和 cTn I 2 与慢性心力衰竭患者心功能及发生 MACE 的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志,2022,14(11):1836-1840.
- [14] 王鑫赫,史晓梅,肖钰雪,等. 乌头赤石脂丸方对急性心肌梗死后心肌肥厚模型大鼠心肌组织氧化应激及 Keap1/Nrf2/HO-1/NQO1 通路的影响[J]. 中医杂志,2023,64(10):1036-1043.
- [15] 唐玲,唐荣伟,赵臻怡,等. 金丝桃苷调控 Nrf2/HO-1/NQO1 通路减轻大鼠肾缺血再灌注损伤[J]. 中国新药与临床杂志,2024,43(4):285-290.
- [16] 李涵,姬广辉,郭立杰,等. 玉香参附汤对心脏骤停大鼠的心肌保护作用及对 Nrf2、NQO1、HO-1 表达的影响[J]. 中国中医急症,2018,27(12):2110-2114.

(收稿日期 2024-10-21)