

· 论著 ·

心肌肌球蛋白结合蛋白 C 在急性心肌梗死、心肌缺血再灌注损伤模型猪中的表达及意义

扫描二维码
查看原文

马国铃, 杨茂东, 刘演龙, 张娅妮, 冯亮, 张毅恒, 戴海龙, 尹小龙

【摘要】 目的 分析心肌肌球蛋白结合蛋白C (cMyBP-C) 在急性心肌梗死 (AMI)、心肌缺血再灌注损伤模型猪中的表达及意义。方法 本实验时间为2020年6—12月。将9头试验用滇南小耳猪随机分为假手术组 (开胸后打开心包, 不结扎冠状动脉, $n=1$)、AMI组 [开胸后打开心包, 结扎左前降支 (LAD) 中远段血管, $n=4$]、心肌缺血再灌注损伤组 (开胸后打开心包, 结扎LAD中远段血管3 h后再开放, $n=4$)。观察各组滇南小耳猪手术前后心率及心电图表现、术后心脏组织病理切片, 检测假手术组、AMI组术前及术后0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、18.0、24.0 h心肌肌钙蛋白I (cTnI)、cMyBP-C水平, 心肌缺血再灌注损伤组术前及术后0.5、1.0、2.0、3.0、3.5、4.5、5.5、6.5、7.5、9.5、11.5、13.5、15.5、21.5、27.5 h cTnI、cMyBP-C水平。结果 假手术组无死亡发生; AMI组有1头滇南小耳猪死亡; 心肌缺血再灌注损伤组有2头滇南小耳猪死亡。假手术组滇南小耳猪术前心率正常, 节律规整, 无ST段抬高, 术后心率较术前增快; AMI组、心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪结扎LAD中远段血管后开始出现心率加快, T波高尖、倒置, ST段抬高, ST-T段动态改变; 心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪开放LAD中远段血管后心率仍较快, ST段回落, T波倒置。术后心脏组织病理切片显示, 假手术组心肌组织结构完整、心肌纤维条路清晰, 细胞排列整齐规则、形态正常; AMI组及心肌缺血再灌注损伤组部分心肌纤维断裂及心肌细胞核溶解消失, 细胞空泡样改变, 大量炎症细胞浸润。假手术组手术前后cTnI、cMyBP-C水平无明显变化。AMI组滇南小耳猪术后6.0、8.0、10.0、12.0、18.0、24.0 h cTnI水平高于术前, 术后1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 h cMyBP-C水平高于术前 ($P<0.05$)。AMI组滇南小耳猪cTnI水平术前到术后4.0 h基本稳定, 术后6.0 h开始逐渐升高, 直至术后24.0 h; AMI组滇南小耳猪cMyBP-C水平术后1.0 h开始逐渐升高, 术后6.0 h达高峰, 之后逐渐降低。心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪术后5.5、6.5、7.5、9.5、11.5、13.5、15.5、21.5、27.5 h cTnI水平高于术前, 术后1.0、2.0、3.0、3.5、4.5、5.5、6.5、7.5、9.5、11.5 h cMyBP-C水平高于术前 ($P<0.05$)。心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪cTnI水平术前至术后4.5 h基本稳定, 术后5.5 h开始逐渐升高, 术后21.5 h达高峰, 术后27.5 h略有下降; 心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪cMyBP-C水平术后1.0 h开始逐渐升高, 术后4.5 h达高峰, 之后逐渐下降, 至术后13.5 h趋于稳定。结论 cMyBP-C水平在AMI及心肌缺血再灌注损伤发病早期即明显升高, 且其升高早于cTnI, 其有巨大潜力成为早期诊断AMI、心肌缺血再灌注损伤的生物标志物。

【关键词】 心肌梗死; 心肌缺血再灌注损伤; 猪; 滇南小耳猪; 心肌肌球蛋白结合蛋白C; 心肌肌钙蛋白I

【中图分类号】 R 542.2 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.284

马国铃, 杨茂东, 刘演龙, 等. 心肌肌球蛋白结合蛋白C在急性心肌梗死、心肌缺血再灌注损伤模型猪中的表达及意义 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2022, 30 (11): 57-62, 69. [www.syxnf.net]

MA G Q, YANG M D, LIU Y L, et al. Expression and significance of cardiac myosin binding protein-C in acute myocardial infarction and myocardial ischemia-reperfusion injury model pigs [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2022, 30 (11): 57-62, 69.

Expression and Significance of Cardiac Myosin Binding Protein-C in Acute Myocardial Infarction and Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury Model Pigs MA Guoqian, YANG Maodong, LIU Yanlong, ZHANG Yani, FENG Liang, ZHANG Yiheng, DAI Hailong, YIN Xiaolong

Department of Cardiology/Key Laboratory of Cardiovascular Disease of Yunnan Province/Clinical Medicine Center for Cardiovascular Disease of Yunnan Province, Yan'an Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650051, China
Corresponding author: DAI Hailong, E-mail: 46944404@qq.com; YIN Xiaolong, E-mail: yinxl001@gmail.com

【Abstract】 Objective To analyze the expression and significance of cardiac myosin binding protein-C (cMyBP-C)

基金项目: 云南省科技厅科技计划项目 [2019FE001 (-267)]; 昆明市卫生健康委员会卫生科研课题项目 (2019-03-01-015)

650051 云南省昆明市, 昆明医科大学附属延安医院心内科 云南省心血管病重点实验室 云南省心脏病临床医学中心

通信作者: 戴海龙, E-mail: 46944404@qq.com 尹小龙, E-mail: yinxl001@gmail.com

in acute myocardial infarction (AMI) and myocardial ischemia-reperfusion injury model pigs. **Methods** The experiment was conducted from June to December 2020. Nine Diannan small ear pigs were randomly divided into the Sham group (the pericardium was opened after thoracotomy without ligating the coronary artery, $n=1$), AMI group [the pericardium was opened after thoracotomy and the middle and distal blood vessels of left anterior descending artery (LAD) were ligated, $n=4$] and myocardial ischemia-reperfusion injury group (the pericardium was opened after thoracotomy, the middle and distal blood vessels of LAD were ligated and reopened 3 hours later, $n=4$). The heart rate and electrocardiographic manifestations before and after operation, the pathological sections of the heart tissue after operation of Diannan small ear pigs in each group were observed. The levels of cardiac troponin I (cTnI) and cMyBP-C in the Sham group and AMI group were detected before operation and at 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 18.0 and 24.0 h after operation, and the levels of cTnI and cMyBP-C in the myocardial ischemia-reperfusion injury group were detected before operation and at 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 9.5, 11.5, 13.5, 15.5, 21.5 and 27.5 h after operation. **Results** There was no death in the Sham group; one Diannan small ear pig in the AMI group died; two Diannan small ear pigs in the myocardial ischemia-reperfusion injury group died. In the Sham group, the heart rate of Diannan small ear pigs was normal before operation, the rhythm was regular, and there was no ST segment elevation, and the heart rate after operation was faster than that before operation. In the AMI group and the myocardial ischemia-reperfusion injury group, the Diannan small ear pigs began to experience rapid heart rate, sharp and inverted T waves, and ST-segment elevation after ligation of the middle and distal vessels of LAD. In the myocardial ischemia-reperfusion injury group, the heart rate of Diannan small ear pigs after opening the middle and distal vessels of LAD was still faster, the ST segment fell, and the T wave was inverted. Postoperative pathological sections of cardiac tissue showed that in the Sham group, the myocardial tissue structure was complete, the myocardial fibers were clear, the cells were neatly arranged, and the morphology was normal; some myocardial fibers were ruptured, myocardial cell nuclei were dissolved and disappeared, cells were vacuolated, and a large number of inflammatory cells were infiltrated in both the AMI group and the myocardial ischemia-reperfusion injury group. There was no significant change in the levels of cTnI and cMyBP-C before and after operation in the Sham group. In the AMI group, the levels of cTnI at 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 18.0 and 24.0 h after operation were higher than those before operation, and the levels of cMyBP-C at 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 and 12.0 h after operation were higher than those before operation ($P < 0.05$). The cTnI level of Diannan small ear pigs in AMI group was basically stable before operation to 4.0 h after operation, and it began to increase gradually at 6.0 h after operation until 24.0 h after operation. In the AMI group, the cMyBP-C level of Diannan small ear pigs began to increase gradually at 1.0 h after operation, reached a peak at 6.0 h after operation, and then gradually decreased. In the myocardial ischemia-reperfusion injury group, the cTnI levels of Diannan small ear pigs at 5.5, 6.5, 7.5, 9.5, 11.5, 13.5, 15.5, 21.5 and 27.5 h after operation were higher than those before operation, and the levels of cMyBP-C at 1.0, 2.0, 3.0, 3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 9.5 and 11.5 h after operation were higher than those before operation ($P < 0.05$). In the myocardial ischemia-reperfusion injury group, the cTnI level of Diannan small ear pigs was basically stable before operation to 4.5 h after operation, gradually increased at 5.5 h after operation, reached a peak at 21.5 h after operation, and decreased slightly at 27.5 h after operation. In the myocardial ischemia-reperfusion injury group, the cMyBP-C level of Diannan small ear pigs began to increase gradually at 1.0 h after operation, reached a peak at 4.5 h after operation, and then gradually decreased, and stabilized at 13.5 h after operation. **Conclusion** The level of cMyBP-C is significantly increased in the early stage of AMI and myocardial ischemia-reperfusion injury, and its increase is earlier than cTnI. It has great potential to become a biomarker for early diagnosis of AMI and myocardial ischemia-reperfusion injury.

【Key words】 Myocardial infarction; Myocardial ischemic reperfusion injury; Swine; Diannan small ear pig; Cardiac myosin binding protein-C; Cardiac troponin I

有报告指出, 2002—2017年我国急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 死亡率总体呈上升趋势^[1]。心肌肌钙蛋白I (cardiac troponin I, cTnI) 是诊断AMI的重要指标, 但其在AMI患者发病后4~6 h才开始升高, 对症状不典型患者可能会延迟诊断^[2]。因此, 迫切需要一种能够在发病早期就确定心肌梗死及其严重程度的生物标志物。此外, 目前缺乏有力的心肌缺血再灌注损伤早期生物标志物。近年来有学者开始探寻新的心肌标志物, 包括心脏型脂肪酸结合蛋白 (heart-type fatty acid-binding protein, H-FABP)、心肌肌球

蛋白结合蛋白C (cardiac myosin binding protein-C, cMyBP-C) 等^[3-4]。目前大多数研究集中在心脏亚型的调控上, 且发现编码cMyBP-C的MYBPC3基因的两种突变类型被证明可导致肥厚型心肌病, 这表明cMyBP-C可能在心脏疾病的发生发展过程中发挥了重要作用^[5-6]。研究指出, cMyBP-C可以维持心脏的正常结构和功能, 有望成为早期诊断AMI的新型标志物^[7]。本实验通过外科开胸结扎滇南小耳猪左前降支 (left anterior descending, LAD) 以建立AMI、心肌缺血再灌注损伤动物模型, 并定时采血, 检测不同时间点cTnI、

cMyBP-C水平,分析cMyBP-C在AMI、心肌缺血再灌注损伤模型猪中的表达及意义,以期为确定AMI及心肌缺血再灌注损伤早期生物标志物提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验时间 本实验时间为2020年6—12月。

1.2 实验动物 9头试验用滇南小耳猪由云南农业大学提供〔SYXK(滇)K2020-005〕,雌雄不限,体质量30~40 kg。清洁环境适应性饲养1周,12 h光照/黑暗交替,温度(25±1)℃、相对湿度(65±5)%。

1.3 主要实验仪器与试剂 丙泊酚乳状注射液(江苏恩华药业股份有限公司),4%多聚甲醛固定液及猪cMyBP-C、cTnI酶联免疫吸附试验试剂盒(上海江莱生物科技有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组及干预方法 将试验用滇南小耳猪随机分为假手术组(开胸后打开心包,不结扎冠状动脉, $n=1$)、AMI组(开胸后打开心包,结扎LAD中远段血管, $n=4$)、心肌缺血再灌注损伤组(开胸后打开心包,结扎LAD中远段血管3 h后再开放, $n=4$)。假手术组通过穿刺耳缘静脉注射丙泊酚乳状注射液10 ml(20 ml:0.2 g)或使用呼吸麻醉机连接兽用面罩使滇南小耳猪吸入异氟烷进行全身麻醉,监测滇南小耳猪心率及心电图,开胸后打开心包,不结扎冠状动脉,10 min后逐层缝合胸腔。AMI组术前准备、麻醉方法及开胸操作同假手术组,开胸后打开心包,明确血管走行后选择LAD中远段(距LAD远端1/4~1/3处)为结扎位点,结扎血管;观察30 min后取下撑开器,逐层缝合胸腔。造模成功标准:结扎部位心肌苍白或发绀,心电图显示ST段持续抬高、T波高尖。心肌缺血再灌注损伤组术前准备、麻醉方法、开胸操作及结扎方法同AMI组,结扎血管并观察30 min后取下撑开器,闭合胸腔,3 h后再次用撑开器打开胸腔并取下结扎LAD中远段血管的缝线,结扎血管迅速充盈,心脏肿胀减轻,颜色迅速由暗红色恢复至正常,再次观察30 min后取下撑开器,逐层缝合胸腔。造模成功标准:结扎LAD中远段血管后符合AMI造模成功标准,取下结扎LAD中远段血管的缝线后,结扎部位心肌苍白或发绀减轻,心电图显示ST段回落。

1.4.2 心率及心电图表现 记录各组滇南小耳猪手术前后心率及心电图表现。

1.4.3 术后心脏组织病理切片 最后一次成功采血后,处死各组滇南小耳猪,再次开胸取下心脏,放入4%多聚甲醛固定液中固定24 h后进行石蜡固定、包埋并切片,进行HE染色,于光学显微镜下观察各组滇南小耳猪术后心脏组织病理切片。

1.4.4 cTnI、cMyBP-C水平检测 分别于术前及术后0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、18.0、

24.0 h采集假手术组、AMI组滇南小耳猪股静脉血10 ml(假手术组打开心包10 min后开始计时取血,AMI组结扎LAD中远段血管后开始计时取血),分别于术前和术后0.5、1.0、2.0、3.0、3.5、4.5、5.5、6.5、7.5、9.5、11.5、13.5、15.5、21.5、27.5 h采集心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪股静脉血10 ml(结扎LAD中远段血管后开始计时取血),采用酶联免疫吸附试验检测cTnI、cMyBP-C水平,严格按照试剂盒说明书进行操作。

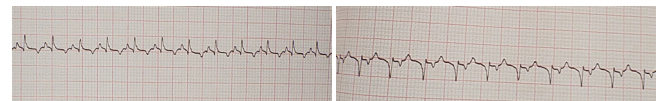
1.5 统计学方法 采用SPSS 26.0统计学软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组内不同时间点cTnI、cMyBP-C水平比较采用单因素重复测量方差分析,组内两两比较采用SNK- q 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

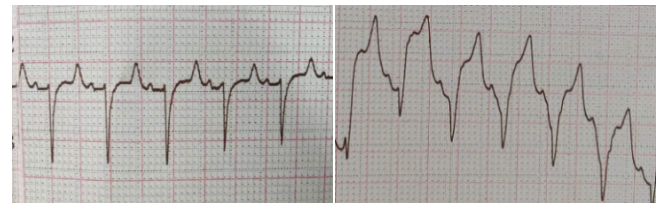
2.1 一般情况 假手术组无死亡发生;AMI组1头滇南小耳猪于结扎LAD中远段血管后0.5 h死于顽固性室性心律失常;心肌缺血再灌注损伤组1头滇南小耳猪于结扎LAD中远段血管后0.5 h死于顽固性室性心律失常,1头滇南小耳猪于开放LAD中远段血管后14 h死于缓慢性心律失常。

2.2 心率及心电图表现 假手术组滇南小耳猪术前心率正常,节律规整,无ST段抬高,术后心率较术前增快;AMI组、心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪结扎LAD中远段血管后开始出现心率加快,T波高尖、倒置,ST段抬高等ST-T段动态改变;心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪开放LAD中远段血管后心率仍较快,ST段回落,T波倒置,见图1。

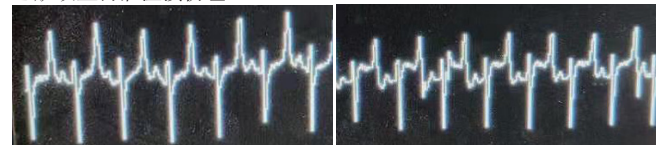
假手术组



AMI组



心肌缺血再灌注损伤组



术前

术后

注:AMI=急性心肌梗死

图1 各组滇南小耳猪手术前后心电图检查结果

Figure 1 Electrocardiographic examination results of Diannan small ear pigs in each group before and after operation

2.3 术后心脏组织病理切片 术后心脏组织病理切片显示,假手术组心肌组织结构完整、心肌纤维条路清晰,细胞排列整齐规则、形态正常;AMI组及心肌缺血再灌注损伤组部分心肌纤维断裂及心肌细胞核溶解消失,细胞空泡样改变,大量炎症细胞浸润,见图2。

2.4 cTnI、cMyBP-C水平 假手术组手术前后cTnI、cMyBP-C水平无明显变化,见表1。

AMI组滇南小耳猪不同时间点cTnI、cMyBP-C水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);AMI组滇南小耳猪术后6.0、8.0、10.0、12.0、18.0、24.0 h cTnI水平高于术前,术后1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 h cMyBP-C水平高于术前,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。AMI组滇南小耳猪cTnI水平术前到术后4.0 h基本稳定,术后6.0 h开始逐渐升高,直至术后24.0 h;AMI组滇南小耳猪cMyBP-C水平术后1.0 h开始逐渐升高,术后6.0 h达高峰,之后逐渐降低。

心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪不同时间点cTnI、cMyBP-C水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪术后5.5、6.5、7.5、9.5、11.5、13.5、15.5、21.5、27.5 h cTnI水平高于术前,术后1.0、2.0、3.0、3.5、4.5、

5.5、6.5、7.5、9.5、11.5 h cMyBP-C水平高于术前,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表3。心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪cTnI水平术前至术后4.5 h基本稳定,术后5.5 h开始逐渐升高,术后21.5 h达高峰,术后27.5 h略有下降;心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪cMyBP-C水平术后1.0 h开始逐渐升高,术后4.5 h达高峰,之后逐渐下降,至术后13.5 h趋于稳定。

3 讨论

AMI已成为导致全球人类死亡的主要疾病之一,全世界有80%以上的人死于心血管疾病^[8]。AMI是由不稳定斑块形成的血栓突然阻塞冠状动脉管腔,进而导致

表1 假手术组滇南小耳猪不同时间点cTnI、cMyBP-C水平 ($n=1$)
Table 1 Levels of cTnI and cMyBP-C at different time points in Diannan small ear pigs in the Sham group

时间	cTnI (pg/ml)	cMyBP-C (ng/ml)
术前	653.49	13.35
术后0.5 h	644.45	13.46
术后1.0 h	641.44	13.64
术后2.0 h	656.50	13.57
术后3.0 h	661.02	13.13
术后4.0 h	648.97	13.38
术后6.0 h	658.01	13.75
术后8.0 h	668.56	13.53
术后10.0 h	632.40	13.20
术后12.0 h	658.01	13.27
术后18.0 h	641.44	13.42
术后24.0 h	647.46	13.60

注: cTnI=心肌肌钙蛋白I, cMyBP-C=心肌肌球蛋白结合蛋白C

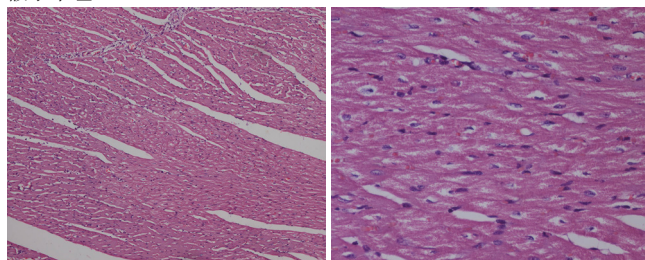
表2 AMI组滇南小耳猪不同时间点cTnI、cMyBP-C水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Comparison of cTnI and cMyBP-C levels at different time points in Diannan small ear pigs in the AMI group

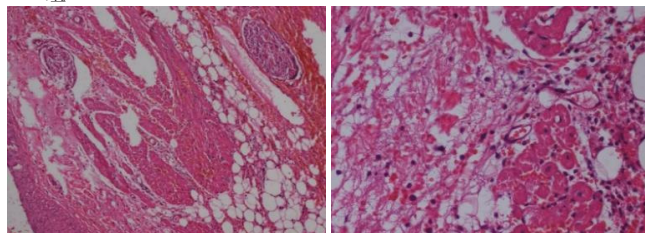
时间	cTnI (pg/ml)	cMyBP-C (ng/ml)
术前	650.98 ± 15.22	13.63 ± 0.31
术后0.5 h	638.42 ± 7.53	14.19 ± 0.15
术后1.0 h	649.97 ± 14.63	16.54 ± 0.28 ^a
术后2.0 h	655.50 ± 25.63	18.99 ± 0.24 ^a
术后3.0 h	700.19 ± 30.58	22.52 ± 0.53 ^a
术后4.0 h	701.20 ± 24.03	25.86 ± 1.10 ^a
术后6.0 h	1 173.27 ± 55.78 ^a	34.19 ± 0.47 ^a
术后8.0 h	1 273.20 ± 41.43 ^a	29.68 ± 0.64 ^a
术后10.0 h	1 356.67 ± 16.80 ^a	23.59 ± 0.39 ^a
术后12.0 h	1 444.45 ± 19.23 ^a	17.07 ± 0.59 ^a
术后18.0 h	1 586.07 ± 35.53 ^a	13.76 ± 0.22
术后24.0 h	1 728.70 ± 17.59 ^a	13.29 ± 0.15
F值	785.185	541.905
P值	<0.001	<0.001

注: ^a表示与术前比较, $P < 0.05$

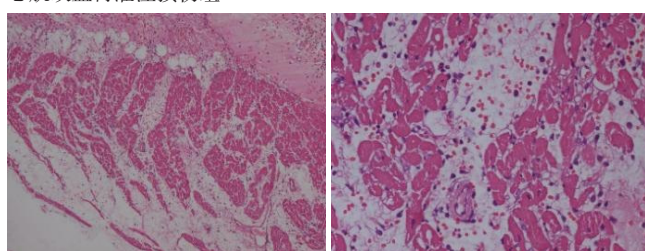
假手术组



AMI组



心肌缺血再灌注损伤组



× 100

× 400

图2 各组滇南小耳猪术后心脏组织病理切片(HE染色)

Figure 2 Cardiac histopathological sections of Diannan small ear pigs in each group after operation

表3 心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪不同时间点cTnI、cMyBP-C水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=2$)**Table 3** Comparison of cTnI and cMyBP-C levels at different time points in Diannan small ear pigs in the myocardial ischemia reperfusion injury group

时间	cTnI (pg/ml)	cMyBP-C (ng/ml)
术前	656.00 ± 10.69	13.62 ± 0.15
术后0.5 h	659.52 ± 12.05	13.68 ± 0.37
术后1.0 h	666.55 ± 5.29	17.02 ± 0.38 ^a
术后2.0 h	677.59 ± 21.09	19.12 ± 0.30 ^a
术后3.0 h	659.01 ± 8.57	21.51 ± 0.24 ^a
术后3.5 h	675.08 ± 22.67	23.70 ± 0.22 ^a
术后4.5 h	675.59 ± 9.80	25.89 ± 0.44 ^a
术后5.5 h	785.57 ± 10.03 ^a	23.56 ± 0.29 ^a
术后6.5 h	901.58 ± 9.69 ^a	21.57 ± 0.31 ^a
术后7.5 h	1 025.62 ± 14.37 ^a	18.98 ± 0.28 ^a
术后9.5 h	1 161.72 ± 10.58 ^a	16.37 ± 0.33 ^a
术后11.5 h	1 238.55 ± 18.72 ^a	14.70 ± 0.22 ^a
术后13.5 h	1 341.50 ± 15.97 ^a	13.68 ± 0.10
术后15.5 h	1 402.77 ± 19.08 ^a	13.70 ± 0.15
术后21.5 h	1 436.92 ± 8.53 ^a	13.52 ± 0.23
术后27.5 h	1 406.04 ± 11.72 ^a	13.61 ± 0.05
F值	1 633.985	658.259
P值	<0.001	<0.001

注: ^a表示与术前比较, $P < 0.05$

心肌缺血坏死。由于心肌细胞属于不可再生细胞,一旦发生缺血坏死就只能由纤维细胞及瘢痕组织代替坏死心肌,如果心肌细胞坏死过多,可能进一步影响心脏收缩、射血功能,造成心功能不全。心肌缺血时,再灌注可能会再次导致心肌细胞损伤,增加梗死面积,同时还会引起心律失常,因此及早判断是否发生了心肌缺血再灌注损伤尤为重要^[9-10]。由于猪的心脏在解剖结构、冠状动脉侧支循环稀疏、缺乏心肌黄嘌呤氧化酶活性等重要方面与人类心脏高度相似^[11-14],因此本研究选择滇南小耳猪作为实验动物并建立AMI及心肌缺血再灌注损伤动物模型。本研究结果显示,假手术组滇南小耳猪手术前心率正常,节律规整,无ST段抬高,术后心率较术前增快;AMI组、心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪结扎LAD中远段血管后开始出现心率加快,T波高尖、倒置,ST段抬高等ST-T段动态改变;心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪开放LAD中远段血管后心率仍较快,ST段回落,T波倒置;术后心脏组织病理切片显示,假手术组可观察到心肌组织结构完整、心肌纤维条路清晰,细胞排列整齐规则、形态正常;AMI组及心肌缺血再灌注损伤组均可观察到部分心肌纤维断裂及心肌细胞核溶解消失,细胞空泡样改变,大量炎症细胞浸润;证实本研究中的AMI模型及心肌缺血再灌注损伤模型建立成功。

cTnI多年来一直被视为诊断AMI的“金标准”,但其无法对患者早期再灌注治疗起到很好的指导作用^[15]。cMyBP-C主要存在三种亚型,即快骨骼肌型、慢骨骼肌型和心脏型,其中心脏型cMyBP-C是心脏肌节的基本组成部分,因其仅存在于心肌细胞而具有心脏特异性。cMyBP-C主要依赖翻译后修饰和蛋白间的相互作用及通过磷酸化、谷胱甘肽化和乙酰化等来调节自身的功能,提示cMyBP-C可调节心功能,其可能是治疗心脏疾病的新靶点^[7, 16-21]。WATKINS等^[5]、BONNE等^[6]发现,编码cMyBP-C的MYBPC3基因的两种突变类型可导致肥厚型心肌病,且通过对cMyBP-C结构、功能及翻译修饰等方面研究发现其在作为早期诊断AMI的新型生物标志物方面具有巨大潜力及临床价值。本研究结果显示,AMI组滇南小耳猪术后6.0、8.0、10.0、12.0、18.0、24.0 h cTnI水平高于术前,术后1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 h cMyBP-C水平高于术前;AMI组滇南小耳猪cTnI水平术前到术后4.0 h基本稳定,术后6.0 h开始逐渐升高,直至术后24.0 h;AMI组滇南小耳猪cMyBP-C水平术后1.0 h开始逐渐升高,术后6.0 h达高峰,之后逐渐降低;提示发生AMI后,cMyBP-C水平升高早于cTnI,其可能更有利于AMI的早期诊断。GOVINDAN等^[22]纳入了16例心肌梗死患者和11例健康对照者,结果显示,心肌梗死患者血浆cMyBP-C明显高于健康对照者。KAIER等^[23]研究显示,cMyBP-C对AMI的诊断能力优于高敏感性心肌肌钙蛋白(high-sensitivity cardiac troponin, hs-cTn)(AUC分别为0.839、0.813, $P < 0.01$);患者出现AMI症状2 h时的cMyBP-C诊断AMI的灵敏度、阴性预测值均为100%,说明cMyBP-C对AMI的诊断价值较高,可用于AMI患者的早期诊断。KUSTER等^[24]为证实cMyBP-C作为AMI的超早期生物标志物的可行性,研究AMI模型猪血液中cMyBP-C水平变化情况,结果显示,cMyBP-C在结扎冠状动脉后3 h开始升高,并在6 h达到峰值,而cTnI于结扎冠状动脉后6 h开始升高,提示cMyBP-C在心脏受损后会迅速释放到血液中,可为早期诊断AMI提供帮助。研究显示,心脏应激可引起cMyBP-C降解,并产生40 kDa的氨基末端片段,cMyBP-C不附着在肌丝上,更容易从心肌细胞释放到循环血中,这为cMyBP-C早期诊断AMI提供了理论支持^[22]。

目前心肌缺血再灌注损伤的诊断主要依赖溶栓后90 min冠状动脉造影,而缺乏有力的早期生物标志物。本研究结果显示,心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪术后5.5、6.5、7.5、9.5、11.5、13.5、15.5、21.5、27.5 h cTnI水平高于术前,术后1.0、2.0、3.0、3.5、4.5、5.5、6.5、7.5、9.5、11.5 h cMyBP-C水平高于术前;心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪cTnI水平术前至术后

4.5 h基本稳定, 术后5.5 h开始逐渐升高, 术后21.5 h达高峰, 术后27.5 h略有下降; 心肌缺血再灌注损伤组滇南小耳猪cMyBP-C水平术后1.0 h开始逐渐升高, 术后4.5 h达高峰, 之后逐渐下降, 至术后13.5 h趋于稳定; 提示发生心肌缺血再灌注损伤后, cMyBP-C水平升高早于cTnI, 其可能更有利于心肌缺血再灌注损伤的早期诊断。DECKER等^[25]通过建立犬的心肌缺血再灌注损伤模型发现, 缺血可导致cMyBP-C的去磷酸化, 随后的再灌注可促进肌原纤维释放去磷酸化的cMyBP-C, 并激活细胞质中cMyBP-C的蛋白水解。

目前cMyBP-C在人及其他动物体内释放及清除的机制尚未明确, 但其似乎比cTnI释放更快、清除得也更快。发生AMI、心肌缺血再灌注损伤后, cMyBP-C水平升高早于cTnI的可能原因为, 心肌缺血状态下导致cMyBP-C去磷酸化, 而cMyBP-C去磷酸化后容易水解, 且再灌注后会激活细胞质中cMyBP-C的蛋白水解, 从而加快cMyBP-C的释放速度^[25]。但有研究表明, 在非缺血性心肌病的末期衰竭心脏中也可发现cMyBP-C的降解^[26-27], 这提示其他形式的心脏应激或心肌损伤也可能导致cMyBP-C的降解和释放。

综上所述, cMyBP-C水平在AMI及心肌缺血再灌注损伤早期即明显升高, 且其升高早于cTnI, 其有巨大潜力成为早期诊断AMI、心肌缺血再灌注损伤的生物标志物。但本研究样本量过小, 需要进行更大样本量的队列研究来进一步证实本研究结论。

作者贡献: 戴海龙、尹小龙进行文章的构思与设计, 负责文章的质量控制及审校, 对文章整体负责、监督管理; 尹小龙进行研究的实施与可行性分析; 冯亮、张毅恒进行数据收集、数据整理及统计学处理; 马国钤、尹小龙进行结果的分析与解释; 马国钤撰写论文; 马国钤、杨茂东、刘演龙、张娅妮进行论文的修订。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] 《中国心血管健康与疾病报告》编写组.《中国心血管健康与疾病报告2021》概述 [J].中国心血管病研究, 2022, 20(7): 577-596.DOI: 10.3969/j.issn.1672-5301.2022.07.001.
- [2] THYGESEN K.What's new in the fourth universal definition of myocardial infarction? [J].Eur Heart J, 2018, 39(42): 3757-3758.DOI: 10.1093/eurheartj/ehy655.
- [3] LYNGBAKKEN M N, MYHRE P L, RØSJØ H, et al.Novel biomarkers of cardiovascular disease: applications in clinical practice [J].Crit Rev Clin Lab Sci, 2019, 56(1): 33-60. DOI: 10.1080/10408363.2018.1525335.
- [4] DEVAUX Y, STAMMET P, FRIBERG H, et al.microRNAs: new biomarkers and therapeutic targets after cardiac arrest? [J].Crit Care, 2015, 19: 54.DOI: 10.1186/s13054-015-0767-2.
- [5] WATKINS H, CONNER D, THIERFELDER L, et al.Mutations in the cardiac myosin binding protein-C gene on chromosome 11 cause familial hypertrophic cardiomyopathy [J].Nat Genet, 1995, 11(4): 434-437.DOI: 10.1038/ng1295-434.
- [6] BONNE G, CARRIER L, BERCOVICI J, et al.Cardiac myosin binding protein-C gene splice acceptor site mutation is associated with familial hypertrophic cardiomyopathy [J].Nat Genet, 1995, 11(4): 438-440.DOI: 10.1038/ng1295-438.
- [7] BAREFIELD D, SADAYAPPAN S.Phosphorylation and function of cardiac myosin binding protein-C in health and disease [J].J Mol Cell Cardiol, 2010, 48(5): 866-875.DOI: 10.1016/j.jmcc.2009.11.014.
- [8] GBD 2013 DALYs and HALE Collaborators, MURRAY C J, BARBER R M, et al.Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 306 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 188 countries, 1990-2013: quantifying the epidemiological transition [J].Lancet, 2015, 386(10009): 2145-2191.DOI: 10.1016/S0140-6736(15)61340-X.
- [9] 李宇轩, 李冬, 燕荣锐, 等.miRNA在心肌缺血再灌注损伤诊疗中作用的临床研究进展 [J].实用心脑血管病杂志, 2022, 30(4): 123-129.DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.092.
- [10] 文超, 王子杨, 鲁卫星.三七三醇皂苷通过PI3K/Akt通路减轻大鼠离体心脏缺血/再灌注损伤的研究 [J].疑难病杂志, 2020, 19(10): 1042-1047.DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.10.017.
- [11] LUKÁCS E, MAGYARI B, TÓTH L, et al.Overview of large animal myocardial infarction models (review) [J].Acta Physiol Hung, 2012, 99(4): 365-381.DOI: 10.1556/APhysiol.99.2012.4.1.
- [12] SUZUKI Y, YEUNG A C, IKENO F.The representative porcine model for human cardiovascular disease [J].J Biomed Biotechnol, 2011, 2011: 195483.DOI: 10.1155/2011/195483.
- [13] WHITE F C, CARROLL S M, MAGNET A, et al.Coronary collateral development in swine after coronary artery occlusion [J].Circ Res, 1992, 71(6): 1490-1500.DOI: 10.1161/01.res.71.6.1490.
- [14] 靳激扬, 滕皋军, 冯毅, 等.PTCA球囊封堵冠状动脉制作猪急性心肌梗死再灌注模型及判定 [J].东南大学学报(医学版), 2006, 25(4): 255-258.DOI: 10.3969/j.issn.1671-6264.2006.04.010.
- [15] HOWIE-ESQUIVEL J, WHITE M.Biomarkers in acute cardiovascular disease [J].J Cardiovasc Nurs, 2008, 23(2): 124-131.DOI: 10.1097/01.JCN.0000305072.49613.92.
- [16] MAIN A, FULLER W, BAILLIE G S.Post-translational regulation of cardiac myosin binding protein-C: a graphical review [J].Cell Signal, 2020, 76: 109788.DOI: 10.1016/j.cellsig.2020.109788.
- [17] JAMES J, ROBBINS J.Signaling and myosin-binding protein C [J].J Biol Chem, 2011, 286(12): 9913-9919.DOI: 10.1074/jbc.R110.171801.