

· 论著 ·

丹参多酚酸盐对大鼠离体心脏心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制



扫描二维码
查看更多

王永贤¹, 贾敏², 高景峰³, 霍涛⁴, 许立刚⁴

【摘要】 **目的** 探讨丹参多酚酸盐对大鼠离体心脏心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制。**方法** 本实验时间为2021年2—8月。选取50只SD雄性大鼠, 采用简单随机抽样法分为假手术组、模型组、丹参多酚酸盐组、己糖激酶Ⅱ(HKⅡ)抑制剂组、HKⅡ抑制剂+丹参多酚酸盐组, 每组10只。模型组、丹参多酚酸盐组、HKⅡ抑制剂组、HKⅡ抑制剂+丹参多酚酸盐组通过Langendorff离体心脏灌流技术建立离体心脏心肌缺血再灌注损伤模型, 其中假手术组不关闭灌流液; 模型组建模后给予含有0.9%氯化钠溶液(20 mg/kg)的灌流液灌流; 丹参多酚酸盐组建模后给予含有丹参多酚酸盐(20 mg/kg)的灌流液灌流; HKⅡ抑制剂组建模后给予含有HKⅡ抑制剂(10 mg/kg)的灌流液灌流; HKⅡ抑制剂+丹参多酚酸盐组建模后给予含有丹参多酚酸盐(20 mg/kg)及HKⅡ抑制剂(10 mg/kg)的灌流液灌流。检测五组大鼠心脏组织细胞色素C含量、腺苷酸〔三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、单磷酸腺苷(AMP)]含量, 线粒体通透性转换孔(mPTP)吸光度及线粒体中HKⅡ、Bax表达水平。**结果** 模型组心脏组织细胞色素C含量高于假手术组, 丹参多酚酸盐组低于模型组, HKⅡ抑制剂组高于模型组, HKⅡ抑制剂+丹参多酚酸盐组高于丹参多酚酸盐组($P<0.05$)。模型组心脏组织ATP、ADP含量低于假手术组, 丹参多酚酸盐组心脏组织ATP、ADP含量高于模型组, HKⅡ抑制剂组心脏组织ATP含量低于模型组, HKⅡ抑制剂+丹参多酚酸盐组心脏组织ATP、ADP含量低于丹参多酚酸盐组($P<0.05$)。模型组mPTP吸光度高于假手术组, 丹参多酚酸盐组低于模型组, HKⅡ抑制剂组高于模型组, HKⅡ抑制剂+丹参多酚酸盐组高于丹参多酚酸盐组($P<0.05$)。模型组线粒体中HKⅡ表达水平低于假手术组、Bax表达水平高于假手术组, 丹参多酚酸盐组线粒体中HKⅡ表达水平高于模型组、Bax表达水平低于模型组, HKⅡ抑制剂组线粒体中HKⅡ表达水平低于模型组, HKⅡ抑制剂+丹参多酚酸盐组线粒体中HKⅡ表达水平低于丹参多酚酸盐组、Bax表达水平高于丹参多酚酸盐组($P<0.05$)。**结论** 丹参多酚酸盐可降低大鼠离体心脏心肌缺血再灌注损伤模型心脏组织细胞色素C含量、mPTP吸光度、线粒体中Bax表达水平, 升高心脏组织ATP、ADP含量及线粒体中HKⅡ表达水平, 丹参多酚酸盐改善大鼠心肌缺血再灌注损伤线粒体能量供应障碍的机制可能与其激活线粒体HKⅡ信号通路相关。

【关键词】 心肌再灌注损伤; 丹参多酚酸盐; 己糖激酶Ⅱ; 线粒体

【中图分类号】 R 542.2 **【文献标识码】** A **DOI:** 10.12114/j.issn.1008-5971.2023.00.020

Protective Effect and Mechanism of Salvianolate on Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Isolated Rat Heart

WANG Yongxian¹, JIA Min², GAO Jingfeng³, HUO Tao⁴, XU Ligang⁴

1. Catheterization Room, Shijiazhuang People's Hospital, Shijiazhuang 050000, China

2. Department of Cardiology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China

3. CT Room, Tangshan Fengrun People's Hospital, Tangshan 063000, China

4. Department of Cardiology, Baoding Third Central Hospital, Baoding 071000, China

Corresponding author: JIA Min, E-mail: jiamin10086@126.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the protective effect and mechanism of salvianolate on myocardial ischemia-reperfusion injury in isolated rat heart. **Methods** This experiment lasted from February to August 2021. Fifty SD male rats were randomly divided into sham operation group, model group, salvianolate group, hexokinase II (HK II) inhibitor group, HK II inhibitor+salvianolate group, with 10 rats in each group. The model group, salvianolate group, HK II inhibitor group, HK II inhibitor+salvianolate group were used to establish myocardial ischemia-reperfusion injury model by Langendorff isolated heart perfusion technique. In the sham operation group, the perfusion fluid was not closed; the model group was given perfusion solution containing 0.9% sodium chloride solution (20 mg/kg) after modeling; the salvianolate group was given perfusion solution containing

基金项目: 河北省卫生健康委医学科学研究课题(20210865)

1.050000河北省石家庄市人民医院导管室 2.050000河北省石家庄市, 河北医科大学第二医院心内科

3.063000河北省唐山市丰润区人民医院CT室 4.071000河北省保定市第三中心医院心内科

通信作者: 贾敏, E-mail: jiamin10086@126.com

salvianolate (20 mg/kg) after modeling; the HK II inhibitor group was given perfusion solution containing HK II inhibitor (10 mg/kg) after modeling; the HK II inhibitor+salvianolate group was given perfusion solution containing salvianolate (20 mg/kg) and HK II inhibitor (10 mg/kg) after modeling. The cytochrome C content and adenylate [adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate (ADP), adenosine monophosphate (AMP)] content in heart tissues, mitochondrial permeability transition pore (mPTP) absorbance, HK II and Bax expression levels in mitochondria of the five groups were detected. **Results** The cytochrome C content in heart tissues of the model group was higher than that of the sham operation group, cytochrome C content in heart tissues of the salvianolate group was lower than that of the model group, cytochrome C content in heart tissues of the HK II inhibitor group was higher than that of the model group, cytochrome C content in heart tissues of the HK II inhibitor+salvianolate group was higher than that of the pretreatment group ($P < 0.05$). The ATP and ADP contents in heart tissues of the model group were lower than those of the sham operation group, ATP and ADP contents in heart tissues of the salvianolate group were higher than those of the model group, ATP contents in heart tissues of the HK II inhibitor group was lower than that of the model group, ATP and ADP contents in heart tissues of the HK II inhibitor+salvianolate group were lower than those of the pretreatment group ($P < 0.05$). The mPTP absorbance of the model group was higher than that of the sham operation group, mPTP absorbance of the salvianolate group was lower than that of the model group, mPTP absorbance of the HK II inhibitor group was higher than that of the model group, mPTP absorbance of the HK II inhibitor+salvianolate group was higher than that of the pretreatment group ($P < 0.05$). The HK II expression level in mitochondrial of the model group was lower than that of the sham operation group, Bax expression level in mitochondrial of the model group was higher than that of the sham operation group, HK II expression level in mitochondrial of the salvianolate group was higher than that of the model group, Bax expression level in mitochondrial of the salvianolate group was lower than that of the model group, HK II expression level in mitochondrial of the HK II inhibitor group was lower than that of the model group, HK II expression level in mitochondrial of the HK II inhibitor+salvianolate group was lower than that of the pretreatment group, Bax expression level in mitochondrial of the HK II inhibitor+salvianolate group was higher than that of the pretreatment group ($P < 0.05$). **Conclusion** Salvianolate can reduce the cytochrome C content in heart tissues, mPTP absorbance, and Bax expression level in mitochondrial, and increase the ATP and ADP contents in heart tissues, and HK II expression level in mitochondrial of isolated rat heart with myocardial ischemia-reperfusion injury. The protective mechanism of salvianolate on myocardial ischemia-reperfusion injury in isolated rat heart may be related to its activation of mitochondrial HK II signal pathway.

【Key words】 Myocardial reperfusion injury; Salvianolate; Hexokinase II; Mitochondrial

丹参始载于《神农本草经》，主要作用是活血化瘀，临床广泛用于心、脑血管疾病的治疗，丹参及其组分具有扩张冠状动脉、增加冠状动脉血流量、清除自由基等作用。目前丹参的活性成分丹参多酚酸盐已用于冠心病、心绞痛、心肌梗死及其他心血管疾病的治疗^[1-2]。研究证明，丹参及其活性成分具有调节机体钙平衡、清除自由基、保护线粒体以及抗氧化等生理活性^[3-4]。研究表明，丹参对心肌缺血再灌注损伤及在体心脏有一定的保护作用^[5]，但作用机制尚未明了。心肌细胞能量代谢障碍是缺血再灌注损伤发生的主要机制之一，己糖激酶 II (hexokinases II, HK II) 是调节机体糖酵解的关键酶，早期研究认为，HK II 是癌细胞增殖的潜在治疗靶点^[6]，而近期研究发现，HK II 在心肌缺血再灌注损伤中同样扮演着重要角色，在低流量缺血或缺氧时，葡萄糖代谢为三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP)，此时 HK II 是调节该步骤的关键酶^[7]。发生心肌缺血再灌注损伤后，胞质和线粒体中 HK II 含量升高，该现象由 Akt 激活引起，其可促进机体生成 ATP，恢复缺血再灌注区能量代谢。此外，HK II

还可以结合于线粒体外膜，参与调节压敏电阻器阴离子通道 (voltage-dependent anion channel, VDAC)，影响线粒体通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP)，抑制心肌细胞凋亡^[8-9]。有研究表明，丹参多酚酸盐可以抑制线粒体能量损伤^[10]，但其机制尚不明确，因此本研究基于 HK II 探讨丹参多酚酸盐对大鼠离体心脏心肌缺血再灌注损伤的保护作用，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验时间 本实验时间为2021年2—8月。

1.2 实验材料

1.2.1 实验动物 选取50只SD雄性大鼠，平均体质量为 (180 ± 20) g，大鼠购自河北医科大学实验动物中心，SPF级环境下适应性饲养7 d后用于后期实验。

1.2.2 药品与试剂 丹参多酚酸盐 (上海绿谷制药有限公司)，3-bromopyruvate (HK II 抑制剂，美国Sigma公司)，细胞色素C检测试剂盒 (江苏碧云天生物技术有限公司)，ATP、二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP)、单磷酸腺苷 (adenosine monophosphate,

AMP) (美国Sigma公司), HK II、Bax单克隆抗体(ab131196, Abcam), MSETB缓冲液(210 mmol/L甘露醇, 70 mmol/L蔗糖, 0.5 mmol/L乙二胺四乙酸, 10 mmol/L Tris-HCl, 0.2%牛血清白蛋白, pH值为7.4)、SET缓冲液(280 mmol/L蔗糖, 0.5 mmol/L乙二胺四乙酸, 10 mmol/L Tris-HCl, pH值为7.4)(上海酶联生物科技有限公司), 磷二亚硫酸钠、高氯酸(上海化学试剂有限公司试剂一厂)。

1.2.3 仪器与设备 Langendorff离体心脏灌流装置(美国RADONTI公司), 生物机能检测记录仪(PowerLab system, AD Instrument Ltd.澳大利亚), 酶标仪(BioTek公司, 美国), Western blotting化学成像系统(Bio-red, 美国)。

1.3 分组及大鼠模型制备 将50只SD雄性大鼠采用简单随机抽样法分为假手术组、模型组、丹参多酚酸盐组、HK II抑制剂组、HK II抑制剂+丹参多酚酸盐组, 每组10只。各组大鼠腹腔注射1 000 U/kg肝素抗凝, 腹腔注射50 mg/kg戊巴比妥钠麻醉; 取出心脏置于0~4 ℃的0.9%氯化钠溶液中, 悬挂于Langendorff离体心脏灌流装置上, 逆行恒压灌注, 剪开右心房, 使冠状动脉流出液自然流出; 采用95% O₂+5% CO₂混合气饱和的K-H缓冲液(pH值7.35~7.40)在恒温(37 ℃)、恒压[100 cm H₂O (1 cm H₂O=0.098 kPa)]条件下灌注; 剪开左心耳, 将连接有测压导管的心室球囊送入左心室, 另一端连接生物机能检测记录仪; 灌流液及心脏周围温度用恒温循环水浴维持在(37.0±0.5) ℃; 平衡灌注30 min, 待心脏各项功能稳定, 关闭灌流液停止灌流, 造成全心缺血, 31 min后打开灌流液再次灌注30 min, 制备离体心脏心肌缺血再灌注损伤模型^[11]。其中假手术组不关闭灌流液; 模型组建模后给予含有0.9%氯化钠溶液(20 mg/kg)的灌流液灌流; 丹参多酚酸盐组建模后给予含有丹参多酚酸盐(20 mg/kg)的灌流液灌流; HK II抑制剂组建模后给予含有HK II抑制剂(10 mg/kg)的灌流液灌流; HK II抑制剂+丹参多酚酸盐组建模后给予含有丹参多酚酸盐(20 mg/kg)及HK II抑制剂(10 mg/kg)的灌流液灌流。

1.4 实验方法

1.4.1 心脏组织细胞色素C含量检测 取100 mg大鼠心脏组织, 4 ℃条件下采用PBS匀浆, 按照细胞色素C检测试剂盒说明书, 分别取0.1 mmol/L细胞色素C标准品0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml加蒸馏水至1.5 ml, 再加入磷二亚硫酸钠1 ml, 采用酶标仪检测520 nm处吸光度值, 绘制标准曲线计算细胞色素C含量。

1.4.2 心脏组织腺苷酸含量检测 取300 mg大鼠心脏组织, 4 ℃条件下采用PBS匀浆, 收集到1.5 ml EP管中, 12 000 r/min离心3 min(离心半径115 mm), 去除上

清液, 加入200 μl高氯酸于冰上处理心脏组织匀浆液45 min; 4 ℃ 12 000 r/min离心3 min(离心半径115 mm), 取上清液, 经过0.22 μm微孔滤膜过滤后通过高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法检测ATP、ADP、AMP含量。

1.4.3 心脏组织线粒体制备 取100 mg大鼠心脏组织, 放入玻璃匀浆器中, 加入MSETB缓冲液10 ml/g, 手动匀浆10次。所得匀浆液以2 000 r/min离心3 min(离心半径115 mm), 取上清液, 12 000 r/min离心8 min(离心半径115 mm), 所得沉淀即为线粒体, 以MSETB缓冲液将所得沉淀洗涤1次。将沉淀按10:1(V/W)悬于SET缓冲液中, 整个线粒体制备过程均在4 ℃下进行。

1.4.4 mPTP吸光度检测 采用肿胀液(120 mmol/L KCl, 10 mmol/L Tris-HCl, 20 mmol/L MOPS, 50 mmol/L KH₂PO₄, pH值为7.4)将线粒体稀释至蛋白终浓度为0.25 g/L, 25 ℃下将200 μmol/L CaCl₂作用于线粒体, 采用紫外可见分光光度计观察520 nm处mPTP吸光度, mPTP吸光度可反映mPTP开放情况^[12]。

1.4.5 Western blotting法检测线粒体中HK II、Bax表达水平 取200 mg大鼠心脏组织, 置于冰上, 剪成小块, 加入1 ml RIPA裂解液, 匀浆2 min, 12 000 r/min离心8 min(离心半径115 mm), 取上清液, 提取蛋白质, 行十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE), 电泳条件为60 V 25 min, 150 V 2 h。电泳结束后以电转移法将蛋白从凝胶转移至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上, 采用5%脱脂奶粉封闭过夜, 分别加入一抗兔抗鼠HK II及Bax单克隆抗体各10 ml(工作液稀释比例为1:1 000)并室温孵育2 h, 然后加入二抗鼠抗兔多克隆抗体10 ml(工作液稀释比例为1:5 000)并室温孵育2 h, 最后将PVDF膜用ECL化学发光试剂盒(美国Viagene公司)处理并显影, 检测HK II、Bax表达水平。

1.5 统计学方法 采用SPSS 13.0统计学软件进行数据处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用LSD-*t*检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞色素C含量 假手术组心脏组织细胞色素C含量为(257.8±23.2) μmol/mg, 模型组为(357.7±31.1) μmol/mg, 丹参多酚酸盐组为(289.0±17.2) μmol/mg, HK II抑制剂组为(389.5±22.3) μmol/mg, HK II抑制剂+丹参多酚酸盐组为(365.2±24.1) μmol/mg, 五组比较差异有统计学意义($F=166.32$, $P < 0.05$); 其中模型组高于假手术组, 丹参多酚酸盐组低于模型组, HK II抑制剂组高于

模型组, HK II 抑制剂+丹参多酚酸盐组高于丹参多酚酸盐组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 腺苷酸含量 五组心脏组织AMP含量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。五组心脏组织ATP、ADP含量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 其中模型组心脏组织ATP、ADP含量低于假手术组, 丹参多酚酸盐组心脏组织ATP、ADP含量高于模型组, HK II 抑制剂组心脏组织ATP含量低于模型组, HK II 抑制剂+丹参多酚酸盐组心脏组织ATP、ADP含量低于丹参多酚酸盐组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表1。

2.3 mPTP吸光度 假手术组mPTP吸光度为 (0.032 ± 0.012), 模型组为 (0.065 ± 0.013), 丹参多酚酸盐组为 (0.042 ± 0.011), HK II 抑制剂组为 (0.067 ± 0.025), HK II 抑制剂+丹参多酚酸盐组为 (0.064 ± 0.016), 五组比较差异有统计学意义 ($F = 16.21, P < 0.05$); 其中模型组高于假手术组, 丹参多酚酸盐组低于模型组, HK II 抑制剂组高于模型组, HK II 抑制剂+丹参多酚酸盐组高于丹参多酚酸盐组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 HK II、Bax表达水平 五组线粒体中HK II、Bax表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 其中模型组线粒体中HK II表达水平低于假手术组、Bax表达水平高于假手术组, 丹参多酚酸盐组线粒体中HK II表达水平高于模型组、Bax表达水平低于模型组, HK II 抑制剂组线粒体中HK II表达水平低于模型组, HK II 抑制剂+丹参多酚酸盐组线粒体中HK II表达水平低于丹参多酚酸盐组、Bax表达水平高于丹参多酚酸盐组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表2、图1。

3 讨论

己糖激酶 (hexokinases, HK) 是机体中调节糖酵解的关键限速酶。在哺乳动物细胞中, HK家族主要有以下4种亚型: I、II、III和IV。在正常组织细胞中, HK及其同工酶表达水平均较低, 其中表达水平最高的是HK I。HK II属胰岛素敏感型, 正常情况下, 仅在心脏、骨骼肌和脂肪组织中微量表达^[13]。HK I及HK II均具有与线粒体结合的能力, 参与调节线粒体的功能, 但HK III和HK IV没有相关报道^[14]。近年研究发现, HK II除具有催化糖酵解活性的作用外, 还有拮抗细胞凋亡的作用, HK II可与VDAC、Bcl-2家族成员等构建mPTP, 调控线粒体膜通透性, 拮抗线粒体途径的细胞凋亡^[15]。所以围绕HK II在癌症发生及发展中的研究相对较多, 但近年研究发现, HK II保护心肌线粒体功能, 特别是在心脏缺血、低氧条件下同样发挥重要作用^[16-17]。丹参多酚酸盐是已上市的用于治疗心绞痛、冠心病等心脏病的有效药物, 研究表明, 丹参多酚酸盐在心肌缺血再灌注损伤中同样具有良好的保护作用, 可

表1 五组心脏组织腺苷酸含量比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/mg}$)

Table 1 Comparison of adenylate content in heart tissues among the five groups

组别	只数	ATP	ADP	AMP
假手术组	10	1.85 ± 0.21	0.88 ± 0.12	0.04 ± 0.005
模型组	10	0.67 ± 0.17^a	0.31 ± 0.09^a	0.03 ± 0.004
丹参多酚酸盐组	10	1.34 ± 0.14^b	0.69 ± 0.11^b	0.04 ± 0.005
HK II 抑制剂组	10	0.39 ± 0.09^b	0.32 ± 0.08	0.03 ± 0.003
HK II 抑制剂+丹参多酚酸盐组	10	0.47 ± 0.14^c	0.36 ± 0.11^c	0.02 ± 0.005
F值		85.23	35.52	0.86
P值		<0.001	<0.001	0.120

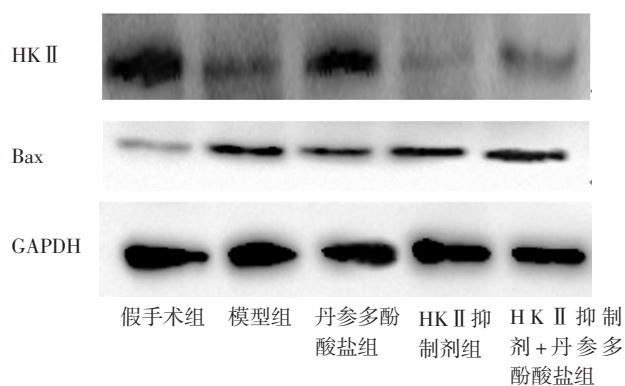
注: HK II = 己糖激酶 II, ATP = 三磷酸腺苷, ADP = 二磷酸腺苷, AMP = 单磷酸腺苷; ^a表示与假手术组比较, $P < 0.05$; ^b表示与模型组比较, $P < 0.05$; ^c表示与丹参多酚酸盐组比较, $P < 0.05$

表2 五组线粒体中HK II、Bax表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of HK II and Bax expression levels in mitochondria among the five groups

组别	只数	HK II	Bax
假手术组	10	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.02
模型组	10	0.21 ± 0.02^a	4.30 ± 0.04^a
丹参多酚酸盐组	10	0.73 ± 0.04^b	2.60 ± 0.05^b
HK II 抑制剂组	10	0.16 ± 0.03^b	3.90 ± 0.08
HK II 抑制剂+丹参多酚酸盐组	10	0.21 ± 0.05^c	4.20 ± 0.05^c
F值		37.45	18.32
P值		<0.001	<0.001

注: ^a表示与假手术组比较, $P < 0.05$; ^b表示与模型组比较, $P < 0.05$; ^c表示与丹参多酚酸盐组比较, $P < 0.05$



注: HK II = 己糖激酶 II

图1 五组线粒体中HK II、Bax表达电泳图

Figure 1 Electrophoresis of HK II and Bax expression in mitochondria among the five groups

以降低心脏氧化应激的发生率, 升高超氧化物歧化酶水平, 改善机体抗自由基功能, 减轻心肌内质网应激, 恢复线粒体ATP能量供应等^[18-20], 但是其具体作用机制尚不清楚。HK II还可参与调控线粒体功能, 而线粒体是细胞能量的合成器^[21]。本研究结果显示, 丹参多酚酸盐组心脏组织细胞色素C含量低于模型组, 丹参多

酚酸盐可以降低心肌缺血再灌注损伤模型大鼠心脏组织细胞色素C含量。细胞色素C是线粒体损伤的标志,当线粒体发生损伤后,线粒体中的细胞色素C含量升高^[22]。给予HK II抑制剂后,丹参多酚酸盐的保护作用降低。说明丹参多酚酸盐可能通过调控HK II发挥作用。本研究结果还显示,丹参多酚酸盐可以明显影响心脏组织的能量代谢,丹参多酚酸盐可以恢复心肌缺血再灌注损伤模型大鼠心脏组织ATP供应,而给予HK II抑制剂后,其调控作用降低。mPTP是线粒体内膜实现通透性转换的主要途径。HK是组成mPTP的主要蛋白,近年研究发现, HK II在心肌细胞中是构成mPTP的主要蛋白,当HK II表达降低, mPTP开放增多,可以使线粒体内膜通透性急剧上升^[23],相对分子量>1.5 kDa的大分子物质可以非选择性地通过线粒体内膜,导致线粒体膜去极化、线粒体内膜跨膜电位持续下降以及呼吸链氧化磷酸化解偶联,进而出现ATP合成障碍、活性氧生成过多、基质肿胀,随着线粒体肿胀进一步加重,折叠的内膜被打开,最终导致线粒体外膜破裂,导致线粒体中大量细胞色素C被释放,从而诱导细胞凋亡^[24-25]。本研究结果显示,丹参多酚酸盐可减少mPTP开放,恢复线粒体能量供应,而给予HK II抑制剂后,丹参多酚酸盐的上述作用减弱。Western blotting法实验结果显示,丹参多酚酸盐可以有效提高HK II表达水平,并抑制凋亡蛋白Bax表达水平,说明丹参多酚酸盐可以提高心肌细胞中HK II表达水平,促进细胞能量代谢的增加,从而恢复细胞的能量供应,减少心肌缺血再灌注损伤的发生。HK II是机体中调节糖酵解的关键限速酶,其参与细胞糖酵解反应,而糖酵解反应是细胞能量供应在无氧条件下的主要方式之一,因此丹参多酚酸盐可能通过促进细胞糖酵解反应,补充能量代谢,发挥其保护作用,但其作用机制还有待明确。

综上所述,丹参多酚酸盐可降低大鼠离体心脏心肌缺血再灌注损伤模型心脏组织细胞色素C含量、mPTP吸光度、线粒体中Bax表达水平,升高心脏组织ATP、ADP含量、线粒体中HK II表达水平,丹参多酚酸盐可以通过调控HK II,进而改善心肌细胞线粒体能量供应,发挥改善大鼠离体心脏心肌缺血再灌注损伤的作用,但是丹参多酚酸盐如何参与调控HK II的分子机制还有待进一步明确,其作用靶点需在后续的研究中发现。

作者贡献:贾敏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;王永贤进行研究的实施与可行性分析,资料收集;高景峰进行资料整理;王永贤、霍涛进行论文的撰写及修订;许立刚进行统计学处理。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] 张建春, 高国旺.丹参多酚酸盐治疗冠状动脉慢血流的疗效观察[J].实用心脑血管病杂志, 2012, 20(9): 1463-1465. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2012.09.020.
- [2] 伦佳, 季祥武, 张爱元, 等.丹参多酚酸盐治疗不稳定型心绞痛的疗效及其对一氧化氮和内皮素的影响[J].临床合理用药杂志, 2011, 4(2): 1-2. DOI: 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2011.02.069.
- [3] 李玉梅, 陈旭华.丹参对缺血心肌细胞L-型钙电流的影响[J].安徽中医学院学报, 2003, 22(4): 29-32. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2219.2003.04.015.
- [4] 袁振飞, 范国祥, 王蓓蓓, 等.丹参注射液对缺血再灌注损伤心肌保护作用[J].实用临床医药杂志, 2008, 12(12): 12-14, 18. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2353.2008.12.004.
- [5] 周茹, 何耀, 和丽芬, 等.丹参水提物对心肌缺血-再灌注损伤大鼠血流动力学的影响[J].华西药学杂志, 2015, 30(2): 187-189. DOI: 10.13375/j.cnki.wjps.2015.02.020.
- [6] 梁婷, 斯韬, 刘湘慧, 等.糖酵解及其关键限速酶在肝细胞癌中的作用研究进展[J].陕西医学杂志, 2022, 51(9): 1171-1173.
- [7] NEDERLOF R, GÜREL-GUREVIN E, EERBEEK O, et al. Reducing mitochondrial bound hexokinase II mediates transition from non-injurious into injurious ischemia/reperfusion of the intact heart [J]. J Physiol Biochem, 2016, 73(3): 323-333. DOI: 10.1007/s13105-017-0555-3.
- [8] PUDDIGHINU G, D'AMARIO D, FOGLIO E, et al. Molecular mechanisms of cardioprotective effects mediated by transplanted cardiac ckit⁺ cells through the activation of an inflammatory hypoxia-dependent reparative response [J]. Oncotarget, 2018, 9(1): 937-957. DOI: 10.18632/oncotarget.22946.
- [9] SHOSHAN-BARMATZ V, ZAKAR M, ROSENTHAL K, et al. Key regions of VDAC1 functioning in apoptosis induction and regulation by hexokinase [J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1787(5): 421-430. DOI: 10.1016/j.bbabi.2008.11.009.
- [10] 李富强, 王伟, 冯涛, 等.注射用丹参多酚酸对大鼠脑缺血再灌注线粒体ATP酶活性的影响[J].中国实用神经疾病杂志, 2017, 20(9): 23-26. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5110.2017.09.009.
- [11] WANG Z R, YAO M R, JIANG L Y, et al. Dexmedetomidine attenuates myocardial ischemia/reperfusion-induced ferroptosis via AMPK/GSK-3 β /Nrf2 axis [J]. Biomedicine Pharmacother, 2022, 154: 113572. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113572.
- [12] 崔耀梅, 程慧娟, 曾宪明, 等.富氢液对大鼠脑缺血/再灌注损伤后海马线粒体通透性转换孔及细胞凋亡的影响[J].中国药理学通报, 2012, 28(6): 853-858. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2012.06.027.
- [13] ROOSIMAA M, PÖDRAMÄGI T, KADAJA L, et al. Dilation of human atria: increased diffusion restrictions for ADP, overexpression of hexokinase 2 and its coupling to oxidative phosphorylation in cardiomyocytes [J]. Mitochondrion, 2013, 13(5): 399-409. DOI: 10.1016/j.mito.2012.12.005.
- [14] NEDERLOF R, EERBEEK O, HOLLMANN M W, et al.

- Targeting hexokinase II to mitochondria to modulate energy metabolism and reduce ischaemia-reperfusion injury in heart [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171 (8): 2067-2079. DOI: 10.1111/bph.12363.
- [15] ZUURBIER C J, SMEELE K M, EERBEEK O. Mitochondrial hexokinase and cardioprotection of the intact heart [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2009, 41 (2): 181-185. DOI: 10.1007/s10863-009-9209-7.
- [16] CALMETTES G, JOHN S A, WEISS J N, et al. Hexokinase-mitochondrial interactions regulate glucose metabolism differentially in adult and neonatal cardiac myocytes [J]. *J Gen Physiol*, 2013, 142 (4): 425-436. DOI: 10.1085/jgp.201310968.
- [17] NEDERLOF R, DENIS S, LAUZIER B, et al. Acute detachment of hexokinase II from mitochondria modestly increases oxygen consumption of the intact mouse heart [J]. *Metabolism*, 2017, 72: 66-74. DOI: 10.1016/j.metabol.2017.04.008.
- [18] 李辉. 丹参多酚酸盐对大鼠缺血再灌注损伤心脏、大脑组织中SOD、MDA的影响 [J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2012, 15 (17): 33-34. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5110.2012.17.018.
- [19] 陈雯, 郭丽丽, 周婷婷, 等. 丹参总酚酸对离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17 (9): 173-176. DOI: 10.13422/j.cnki.syfx.2011.09.063.
- [20] 王靖, 甄江涛, 田志辉, 等. 丹参多酚酸对大鼠缺血心肌线粒体酶的影响 [J]. *天津医科大学学报*, 2012, 18 (3): 295-298. DOI: 10.3969/j.issn.1006-8147.2012.03.005.
- [21] WU C N, ZHANG Z, ZHANG W D, et al. Mitochondrial dysfunction and mitochondrial therapies in heart failure [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 175: 106038. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.106038.
- [22] CHEN C L, ZHANG L W, JIN Z C, et al. Mitochondrial redox regulation and myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2022, 322 (1): C12-23. DOI: 10.1152/ajpcell.00131.2021.
- [23] CALMETTES G, RIBALET B, JOHN S, et al. Hexokinases and cardioprotection [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 78: 107-115. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2014.09.020.
- [24] 周源, 凌贤龙. 线粒体通透转运孔道 [J]. *生命的化学*, 2009, 29 (3): 381-385.
- [25] JAVADOV S, KARMAZYN M. Mitochondrial permeability transition pore opening as an endpoint to initiate cell death and as a putative target for cardioprotection [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2007, 20 (1/2/3/4): 1-22. DOI: 10.1159/000103747.
- (收稿日期: 2022-10-07; 修回日期: 2022-12-05)
(本文编辑: 陈素芳)

· 指南 · 标准 · 共识 ·

《2022年美国心力衰竭管理指南》十大更新要点

2022-04-02, 美国心脏协会 (AHA)、美国心脏病学会 (ACC) 与美国心力衰竭学会 (HFSA) 联合颁布了《2022年美国心力衰竭管理指南》, 现总结其更新要点如下。

- 1 对射血分数降低的心力衰竭 (HFrEF) 推荐的基础药物包括4类, 除既往指南推荐的血管紧张素受体脑啡肽酶抑制剂 (ARNI)/血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI)/血管紧张素 II 受体阻滞剂 (ARB)、 β -受体阻滞剂 (BB) 和盐皮质激素受体拮抗剂 (MRA) 3大类药物外, 对近年来经随机化临床研究证实有效的钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂 (SGLT2i) 也做出了重要推荐。
- 2 推荐SGLT2i用于射血分数轻度降低的心力衰竭 (HFmrEF) 患者的治疗 (2a类推荐), 推荐ARNI/ACEI/ARB、MRA和BB用于HFmrEF患者的治疗 (2b类推荐)。
- 3 推荐SGLT2i用于射血分数保留的心力衰竭 (HFpEF) 患者的治疗 (2a类推荐), 推荐MRA和ARNI用于HFpEF患者的治疗 (均为2b类推荐)。
- 4 引入射血分数改善的心力衰竭 (HFimpEF) 分型, 用于描述曾诊断为HFrEF、经治疗后左心室射血分数 (LVEF) >40%的患者, 并明确指出此类患者应继续坚持针对HFrEF的治疗策略。
- 5 基于已发表的高质量成本疗效研究, 对指南中部分推荐意见做出价值声明。
- 6 对心脏淀粉样变性的诊断与治疗做出新推荐, 包括血清和尿液单克隆轻链筛查、骨闪烁成像检查、基因测序、四聚体稳定剂治疗及抗凝治疗。
- 7 对于LVEF>40%的患者, 支持充盈压增高的证据对于心力衰竭的诊断非常重要。建议通过无创性检查 (如B型利钠肽、影像学检查评估左心室舒张功能) 或有创性检查 (如血流动力学检测) 获取充盈压增高的证据。
- 8 为延长晚期心力衰竭患者寿命, 应将患者转往心力衰竭专业团队进一步诊治。
- 9 对心力衰竭阶段划分进行了修订, 将存在心力衰竭危险因素者称为A阶段, 将处于心力衰竭前期者称为B阶段。再次强调存在心力衰竭危险因素 (A阶段) 或心力衰竭前期 (B阶段) 患者的一级预防至关重要。
- 10 对于合并缺铁、贫血、高血压、睡眠障碍、2型糖尿病、心房颤动、冠心病或恶性肿瘤的心力衰竭患者的管理提出了推荐建议。

(来源: 中国全科医学)