

网络出版时间: 2024-07-19 15:13:47 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240717.1522.010>

# MOTS-c 肽对心肌缺血再灌注大鼠心肌损伤的保护作用

王 毓<sup>1</sup> 彭建业<sup>2</sup> 朱明燕<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探讨线粒体衍生肽 MOTS-c 对心肌缺血再灌注损伤(MIRI)大鼠心肌的保护作用,并阐明其作用机制。方法 将SD大鼠随机分成假手术组(sham组)、模型组(MIRI组)、MOTS-c组和MOTS-c+PGC-1 $\alpha$ 抑制剂SR-18292组(MOTS-c+SR-18292组),每组10只。采用冠状动脉前降支结扎法建立大鼠MIRI模型。各组大鼠于术前1h及术后即刻经尾静脉给予MOTS-c肽(1mg/kg)、SR-18292(20mg/kg)和等体积浓度为1%的二甲基亚砜干预。术后24h,采用氯化三苯基四氮唑(TTC)染色观察各组心肌梗死面积;苏木精-伊红(HE)染色观察各组心肌组织病理变化;原位末端标记法(TUNEL)染色检测各组心肌组织凋亡水平;酶联免疫吸附试验(ELISA)和生化试剂盒测定各组血清中心肌损伤标志物和氧化指标水平;实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测各组心肌组织线粒体DNA(mtDNA)相对拷贝数;Western blot检测各组心肌组织中线粒体生物合成相关蛋白表达水平。结果 与sham组比较,MIRI组大鼠心肌损伤严重,心肌组织梗死面积和凋亡水平升高( $P < 0.05$ ),心肌组织mtDNA相对拷贝数降低( $P < 0.05$ ),血清中CK-MB、LDH、cTnI及心肌组织中MDA含量升高( $P < 0.05$ ),而SOD含量及PGC-1 $\alpha$ 、NRF-1、TFAM等蛋白表达水平降低( $P < 0.05$ )。与MIRI组比较,MOTS-c组大鼠心肌损伤明显改善,心肌组织梗死面积和凋亡水平降低( $P < 0.05$ ),心肌组织mtDNA相对拷贝数升高( $P < 0.05$ ),血清中CK-MB、LDH、cTnI及心肌组织中MDA含量降低( $P < 0.05$ ),而SOD含量及PGC-1 $\alpha$ 、NRF-1、TFAM等蛋白表达水平升高( $P < 0.05$ )。与MOTS-c组比较,MOTS-c+SR-18292组大鼠心肌组织梗死面积和凋亡水平升高( $P < 0.05$ ),心肌组织mtDNA相对拷贝数降低( $P < 0.05$ ),血清中CK-MB、LDH、cTnI及心肌组织中MDA含量升高( $P < 0.05$ ),而SOD含量及PGC-1 $\alpha$ 、NRF-1、TFAM等蛋白表达水平降低( $P < 0.05$ )。结论 MOTS-c肽可促进心肌细胞线粒体生物合成,抑制心肌细胞凋亡,改善MIRI大鼠心肌损伤,其机制可能与上调PGC-1 $\alpha$ 表达有关。

**关键词** MOTS-c肽;心肌缺血再灌注;心肌损伤;线粒体生物合成;过氧化物酶体增殖受体 $\gamma$ 辅激活因子 $\alpha$

中图分类号 R 542.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)08-1405-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.017

心肌缺血是因心肌供血不足导致的心肌低氧损伤,急性发作时致死率较高,其一般由冠状动脉的狭窄或闭塞引起。心肌缺血是一个动态过程,随着缺血时间延长,损伤从可逆到不可逆,发病后需及时恢复供血<sup>[1]</sup>。近年来,临床溶栓疗法、动脉搭桥术、心肺复苏等方法的推广应用,使心肌缺血后可重新获得血液再灌注,但再灌注过程会导致供血区域的心肌细胞凋亡、炎症损伤,被称为心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI),严重影响着急性心肌缺血的预后<sup>[2]</sup>。MIRI主要发生机制是组织缺血低氧时线粒体功能受损产生氧自由基,再灌注后组织进一步产生自由基发生氧化应激,导致心肌细胞损伤。过氧化物酶体增殖受体 $\gamma$ 辅激活因子 $\alpha$ (peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 alpha, PGC-1 $\alpha$ )是线粒体合成和氧化代谢的关键调节分子,激活PGC-1 $\alpha$ 相关通路可抑制组织氧化应激反应,改善MIRI导致的心肌损伤和线粒体功能缺失,改善心功能<sup>[3]</sup>。MOTS-c是一种线粒体衍生的肽,仅含16个氨基酸,是一种独特的新型激素,由线粒体基因编码,可通过自分泌和旁分泌的方式诱导葡萄糖摄取并改善胰岛素敏感性,对肥胖、糖尿病和衰老疾病的调节具有影响<sup>[4-6]</sup>。Yan et al<sup>[7]</sup>研究发现,MOTS-c通过AMPK-PGC-1 $\alpha$ -ROS轴调控相关基因表达在骨溶解和炎症调节中发挥重要作用,证明MOTS-c对PGC-1 $\alpha$ 的调控作用。然而,MOTS-c是否可通过调控PGC-1 $\alpha$ 发挥对MIRI的改善作用,目前尚未见相关报道。该研究拟建立大鼠MIRI模型,给予MOTS-c肽和PGC-1 $\alpha$ 抑制剂进行干预,探究MOTS-c对大鼠MIRI可能的心肌保护作用及其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物 SPF级雄性SD大鼠,7周龄,体质

2024-04-22 接收

基金项目:湖南省自然科学基金面上项目(编号:2022JJ30518);湖南省卫生健康委科研计划项目(编号:202203012470)

作者单位:南华大学衡阳医学院附属第二医院<sup>1</sup>检验科、<sup>2</sup>心血管内科,衡阳 421001

作者简介:王 毓,男,住院医师;

朱明燕,女,硕士,主治医师,责任作者,E-mail: zhumingyan1234@126.com

量 260 ~ 280 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [生产许可证号: SCXK(湘) 2021-0002]。大鼠自由进食、饮水, 饲养于温度 22 ~ 24 °C、湿度 40% ~ 70% 屏障环境中, 适应性喂养 1 周后开始实验。

**1.2 主要试剂和仪器** MOTS-c 肽和 PGC-1 $\alpha$  抑制剂 SR-18292 购自美国 MCE 公司; PGC-1 $\alpha$  抗体、核呼吸因子 1 (nuclear respiratory factor 1, NRF-1) 抗体及线粒体转录因子 A (mitochondrial recombinant transcription factor A, TFAM) 抗体购自美国 Protein-tech 公司; GAPDH 抗体购自美国 CST 公司; 氯化三苯基四氮唑 (triphenyltetrazolium chloride, TTC) 染色液 (2%)、苏木精 - 伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司; 原位末端标记法 (TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 凋亡检测试剂盒 (DAB 显色法)、DNA 提取试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司; 肌酸激酶杂化型 (creatine kinase MB, CK-MB)、肌钙蛋白 I (troponin I, cTnI) ELISA 试剂盒购自武汉华美生物工程公司; 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 及超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 生化检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所; Multiskan SkyHigh 型全波长酶标仪、7500 Fast 型荧光定量 PCR 仪购自美国 Thermofisher 公司; GenoSens 2100 型凝胶成像系统购自上海勤翔科学仪器有限公司。

**1.3 MIRI 大鼠模型的制备与分组** 将 40 只大鼠随机分为假手术组 (sham 组)、模型组 (MIRI 组)、MOTS-c 组和 MOTS-c + PGC-1 $\alpha$  抑制剂 SR-18292 组 (MOTS-c + SR-18292 组), 每组 10 只。MIRI、MOTS-c 和 MOTS-c + SR-18292 组大鼠参考文献<sup>[8]</sup> 建立 MIRI 模型, 造模过程: 异氟烷吸入麻醉大鼠, 手术刀划开颈部皮肤和肌肉暴露气管, 气管插管连接呼吸机, 于左胸第 2、3 肋间处切开皮肤, 钝性分离皮下胸大肌, 撑开器置于第 2、3 肋间充分暴露心脏。定位左冠状动脉前降支 (left anterior descending coronary artery, LAD), 用 6-0 手术丝线于 2 mm 深度进针结扎 LAD, 结扎位置至心尖部分发白、心电图 ST 段偏移即为结扎成功。缺血 30 min 后剪断丝线使血流再灌注, 关闭胸腔, 待大鼠恢复自主呼吸后撤出呼吸机, 给予 40 万 U 青霉素抗感染。sham 组大鼠开胸后立即闭合, 不进行结扎操作。MOTS-c 组和 MOTS-c + SR-18292 组大鼠于术前 1 h 及术后即刻经尾静脉给予 MOTS-c 肽 (1 mg/kg) 和 SR-18292 (20 mg/kg) 干预, sham 组和 MIRI 组尾静脉给予等体积浓度

为 1% 的二甲基亚砜, 术后 24 h 取材进行后续检测。

**1.4 TTC 染色观察各组大鼠心肌梗死面积** 取各组大鼠心脏组织, 于 -80 °C 速冻 30 min 后室温稍微解冻, 用锋利刀片将组织切成 2 ~ 3 mm 的薄片 5 片, TTC 染液经 37 °C 预热 30 min, 待心脏切片完全解冻后放入预热好的 TTC 染液中, 置于 37 °C 水浴锅避光染色 30 min, 期间每隔 10 min 轻轻摇晃组织, 使其与染液充分接触, 染色结束后将心脏切片取出, 置于 4% 多聚甲醛固定 24 h 后拍照, Image J 软件计算梗死面积 (以百分比表示)。

**1.5 HE 染色观察各组大鼠心肌组织病理变化** 取各组大鼠心脏组织, 4% 多聚甲醛固定 24 h 后脱水透明, 然后石蜡包埋, 将修整好的蜡块置于切片机切片, 厚度为 3 ~ 4  $\mu$ m, 石蜡切片依次经二甲苯脱蜡、梯度无水乙醇脱水, 自来水洗, 入苏木精染液染色 5 min, 分化反蓝后继续乙醇脱水, 然后进入伊红染液染色 5 min, 染色后的切片再经乙醇脱水、二甲苯透明即可滴加中性树胶封片。于显微镜下观察左心室壁部位病理改变。

**1.6 TUNEL 染色检测各组大鼠心肌组织凋亡水平** 取各组大鼠心脏组织石蜡切片, 按照 TUNEL 检测试剂盒操作, 配置浓度为 20  $\mu$ g/ml 的 Proteinase K 工作液, 滴加覆盖组织, 37 °C 孵育 20 min, 随后用 3% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 灭活组织内源性过氧化物酶, 加入 50  $\mu$ l Equilibration Buffer 覆盖样本, 室温平衡 10 min, 标记反应后加 SA-HRP 孵育 30 min, 随后经 DAB 显色、苏木精染核, 无水乙醇脱水、二甲苯透明后中性树胶封片, 60 °C 烘箱烘干后镜检观察左心室壁部位细胞凋亡情况。

**1.7 ELISA 和生化试剂盒检测各组大鼠血清心肌损伤标志物及心肌组织氧化指标水平** 取各组大鼠外周血 3 500 r/min 离心 10 min, 分离血清待测, 心脏组织加裂解液匀浆后离心取上清液待测, 检测组织总蛋白, 严格按照试剂盒说明书操作, 依次加入待测样本和工作液, 设置空白孔、标准孔, 酶标仪对应波长下检测各组血清 CK-MB、LDH、cTnI 以及心肌组织 MDA、SOD 水平。

**1.8 qRT-PCR 检测各组大鼠心肌组织线粒体 DNA 相对拷贝数** 取各组大鼠心肌组织, 按照线粒体 DNA 提取试剂盒操作提取 mtDNA, 以  $\beta$ -actin 为内参, mtDNA 拷贝数以线粒体编码基因细胞色素 b 的拷贝数为代表, 取 mtDNA、SYBR 预混液和正反向引物 (mtDNA-F: 5'-ACGAAAATGACCCAGACCTC-3', mtDNA-R: 5'-GAGATGACAAAATCCTGCAAAGATG-3';

$\beta$ -actin-F: 5'-ATGATCCTGTTGCAT ACCAGTAG-3',  $\beta$ -actin-R: 5'-TGCCAAAACCCTAGT TGACC-3') 使用荧光定量 PCR 仪进行扩增, 反应条件为 95 °C 预变性 60 s; 95 °C 10 s 65 °C 30 s, 反复 45 个循环。2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>法计算心肌组织线粒体中 mtDNA 相对拷贝数。

**1.9 Western blot 检测各组大鼠心肌组织 PGC-1 $\alpha$ 、NRF-1 和 TFAM 蛋白表达水平** 取各组大鼠心肌组织, 加入裂解液充分匀浆, 离心后上清液即为总蛋白溶液, BCA 试剂盒检测蛋白浓度。使用 PAGE 凝胶制备分离胶, 上样后设定电泳仪参数 120 V 电泳 60 min, 恒压 110 V 转膜 30 min, 加 5% 脱脂牛奶封闭。加一抗 (PGC-1 $\alpha$ , 1:1 000; NRF-1, 1:1 000; TFAM, 1:1 000; GAPDH, 1:1 000) 孵育 4 °C 摇床过夜, 加二抗 (1:10 000) 孵育 1 h, 使用 ECL 化学发光液显色, 采集图像用 PhotoShop 整理, 分析条带灰度值, 计算目的蛋白相对表达水平。

**1.10 统计学处理** 采用 SPSS 26.0 软件统计数据, 结果用  $\bar{x} \pm s$  表示, Shapiro-Wilk 法检测结果均  $P > 0.05$  表示数据符合正态分布。采用单因素方差分析法对多组间数据进行比较, 采用 LSD- $t$  法对两组间数据进行比较, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠心肌梗死面积** 如图 1 所示, sham 组大鼠未出现心肌梗死现象; MOTs-c 组大鼠心肌梗死面积较 MIRI 组显著降低 ( $P < 0.05$ ); MOTs-c + SR-18292 组大鼠心肌梗死面积较 MOTs-c 组显著升高 ( $P < 0.05$ )。4 组间比较差异有统计学意义 ( $F = 251.179, P < 0.05$ )。

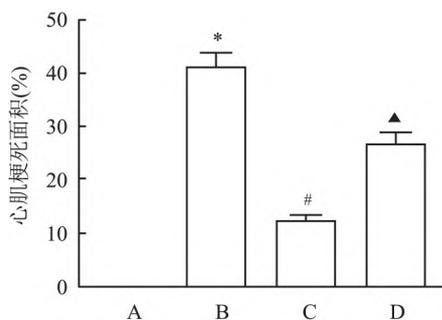


图 1 各组大鼠心肌梗死面积 ( $n = 5$ )

A: sham 组; B: MIRI 组; C: MOTs-c 组; D: MOTs-c + SR-18292 组; 与 sham 组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 MIRI 组比较: #  $P < 0.05$ ; 与 MOTs-c 组比较: ^  $P < 0.05$

**2.2 各组大鼠心肌组织病理学变化** 如图 2 所示,

sham 组大鼠心肌组织未见明显损伤, 细胞形态结构正常, 纤维排列整齐, 且胞质染色均匀; MIRI 组和 MOTs-c + SR-18292 组大鼠心肌组织损伤严重, 细胞大量坏死, 同时伴随炎性细胞浸润, 心肌纤维萎缩、断裂明显, 排列紊乱; MOTs-c 组大鼠心肌细胞坏死较 MIRI 组明显减轻, 炎症细胞浸润减少, 心肌纤维较完整, 心肌损伤程度减轻。说明 MOTs-c 可减轻 MIRI 大鼠心肌细胞坏死, 显著改善心肌损伤, 而抑制 PGC-1 $\alpha$  表达则会逆转这一作用。

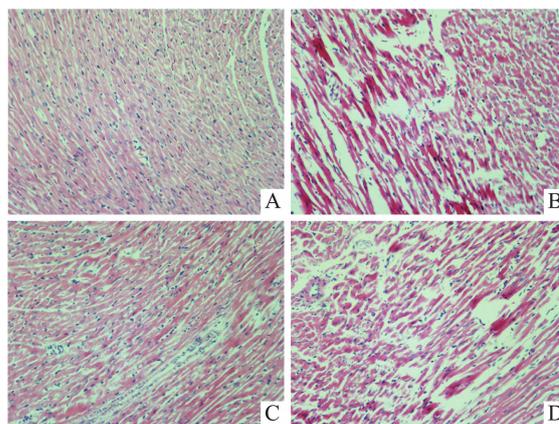


图 2 各组大鼠左心室壁组织形态变化 HE  $\times 200$

A: sham 组; B: MIRI 组; C: MOTs-c 组; D: MOTs-c + SR-18292 组

**2.3 各组大鼠心肌组织凋亡水平比较** 如图 3 所示, MIRI 组大鼠心肌细胞凋亡率较 sham 组升高 ( $P < 0.05$ ); MOTs-c 组大鼠心肌细胞凋亡率较 MIRI 组降低 ( $P < 0.05$ ); MOTs-c + SR-18292 组大鼠心肌细胞凋亡率较 MOTs-c 组升高 ( $P < 0.05$ )。4 组间比较差异有统计学意义 ( $F = 352.134, P < 0.01$ )。说明 MOTs-c 可抑制 MIRI 大鼠心肌细胞凋亡, 而抑制 PGC-1 $\alpha$  表达则会逆转这一作用。

**2.4 各组大鼠血清心肌损伤标志物及心肌组织氧化指标水平** 如表 1 所示, MIRI 组大鼠血清心肌损伤标志物 CK-MB、LDH、cTnI 及心肌组织 MDA 水平较 sham 组升高 ( $P < 0.05$ ), SOD 水平降低 ( $P < 0.05$ ); MOTs-c 组大鼠血清 CK-MB、LDH、cTnI 及心肌组织 MDA 水平较 MIRI 组降低 ( $P < 0.05$ ), SOD 水平升高 ( $P < 0.05$ ); MOTs-c + SR-18292 组大鼠血清 CK-MB、LDH、cTnI 及心肌组织 MDA 水平较 MOTs-c 组升高 ( $P < 0.05$ ), SOD 水平降低 ( $P < 0.05$ )。说明 MOTs-c 可能通过抑制心肌组织氧化应激水平, 改善 MIRI 大鼠心肌损伤, 而抑制 PGC-1 $\alpha$  表达则会逆转这一作用。

表 1 各组大鼠血清 CK-MB、LDH、cTnI 及心肌组织 MDA、SOD 水平 (n = 5  $\bar{x} \pm s$ )

组别	CK-MB( ng/ml)	LDH( U/L)	cTnI( pg/ml)	MDA( nmol/mg)	SOD( U/mg)
Sham	3.09 ± 0.30	11.26 ± 0.84	156.42 ± 11.33	1.42 ± 0.18	188.75 ± 13.92
MIRI	4.12 ± 0.36*	25.03 ± 1.10*	247.61 ± 18.09*	3.64 ± 0.27*	103.35 ± 8.16*
MOTS-c	3.27 ± 0.29#	15.22 ± 0.96#	149.27 ± 10.25#	1.28 ± 0.12#	160.28 ± 10.66#
MOTS-c + SR-18292	3.96 ± 0.32▲	21.58 ± 1.07▲	196.34 ± 13.43▲	2.67 ± 0.8▲	126.91 ± 9.88▲
F 值	12.760	191.843	55.050	33.024	59.498
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

与 sham 组比较: \* P < 0.05; 与 MIRI 组比较: # P < 0.05; 与 MOTS-c 组比较: ▲ P < 0.05

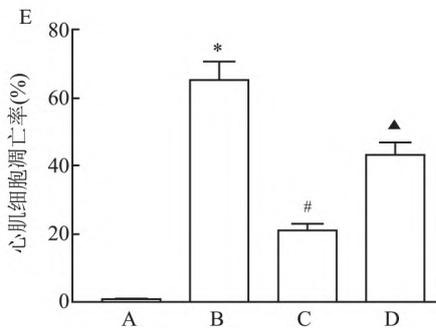
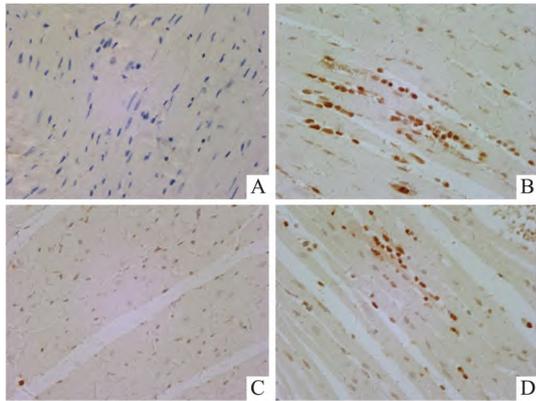


图 3 各组大鼠心肌细胞凋亡水平 (n = 5) TUNEL × 400

A: sham 组; B: MIRI 组; C: MOTS-c 组; D: MOTS-c + SR-18292 组; E: 各组大鼠心肌细胞凋亡率比较; 与 sham 组比较: \* P < 0.05; 与 MIRI 组比较: # P < 0.05; 与 MOTS-c 组比较: ▲ P < 0.05

2.5 各组大鼠心肌组织中线粒体 DNA 相对拷贝数 sham 组、MIRI 组、MOTS-c 组和 MOTS-c + SR-18292 组四组间大鼠心肌组织中 mtDNA 相对拷贝数比较差异有统计学意义 (F = 261.753, P < 0.05)。与 sham 组比较, MIRI 组大鼠心肌组织中 mtDNA 相对拷贝数降低 (P < 0.05); 与 MIRI 组比较, MOTS-c 组大鼠心肌组织中 mtDNA 相对拷贝数升高 (P < 0.05); 与 MOTS-c 组比较, MOTS-c + SR-18292 组大鼠心肌组织中 mtDNA 相对拷贝数降低 (P < 0.05)。见图 4。上述结果表明 MOTS-c 可修复 MIRI 大鼠心肌组织线粒体损伤, 恢复线粒体功能, 而抑制 PGC-1α 表达则会逆转这一作用。

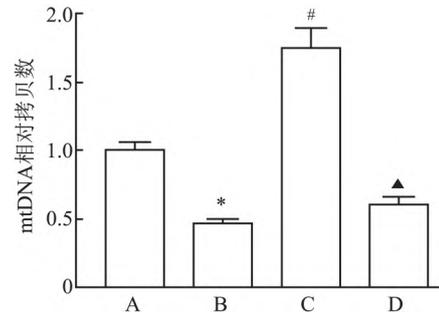


图 4 各组大鼠心肌组织中 mtDNA 相对拷贝数 (n = 5)

A: sham 组; B: MIRI 组; C: MOTS-c 组; D: MOTS-c + SR-18292 组; 与 sham 组比较: \* P < 0.05; 与 MIRI 组比较: # P < 0.05; 与 MOTS-c 组比较: ▲ P < 0.05

2.6 各组大鼠心肌组织 PGC-1α、NRF-1 和 TFAM 蛋白相对表达水平 与 sham 组比较, MIRI 组大鼠心肌组织 PGC-1α、NRF-1 和 TFAM 蛋白相对表达水平降低 (P < 0.05); 与 MIRI 组比较, MOTS-c 组大鼠心肌组织 PGC-1α、NRF-1 和 TFAM 蛋白相对表达水平升高 (P < 0.05); 与 MOTS-c 组比较, MOTS-c + SR-18292 组大鼠心肌组织 PGC-1α、NRF-1 和 TFAM 蛋白相对表达水平降低 (P < 0.05)。见图 5。上述结果表明 MOTS-c 可能是通过上调 PGC-1α 表达修复心肌组织线粒体损伤进而改善 MIRI 的。

### 3 讨论

多项研究表明, MOTS-c 与心血管疾病关联密切。孟祥祺等<sup>[9]</sup>研究发现, 冠心病患者血清中 MOTS-c 水平较正常者显著降低, 并与患者冠状动脉病变严重程度呈负相关性; 王美娟等<sup>[10]</sup>研究发现, MOTS-c 在急性冠状动脉综合征患者血清中低表达, 与患者疾病严重程度呈负相关性, 并对患者预后具有预测价值; 而 Wang et al<sup>[11]</sup>研究表明, MOTS-c 通过抑制 CCN1/ERK1/2/EGR1 通路修复大鼠糖尿病相关心肌损伤, 说明 MOTS-c 具有心脏保护作用。CK-MB 是心肌缺血坏死后被心肌细胞释放入血的一种心肌酶, 其血清水平的升高可提示心肌损伤; cTnI 是心肌细胞特有的抗原, 心肌损伤时, 其在血清中的

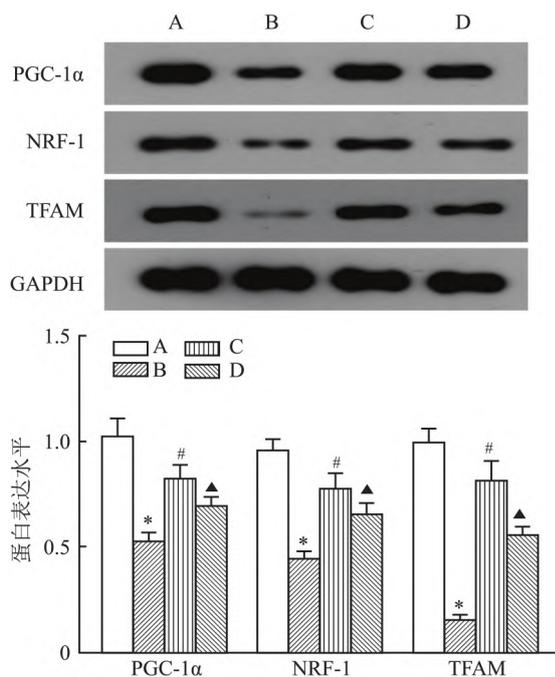


图5 各组大鼠心肌组织 PGC-1 $\alpha$ 、NRF-1 和 TFAM 蛋白相对表达水平 (n=5)

A: sham 组; B: MIRI 组; C: MOTS-c 组; D: MOTS-c + SR-18292 组; 与 sham 组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 MIRI 组比较: #  $P < 0.05$ ; 与 MOTS-c 组比较: ▲  $P < 0.05$

特异性与敏感性均高于其他心肌酶谱; LDH 是体内糖酵解途径中一种关键的氧化还原酶,在临床上与 CK-MB 和 cTnI 一起常用于心肌损伤程度的判定,用来辅助心肌缺血的诊断和鉴别<sup>[12-13]</sup>。本研究结果显示, MOTS-c 干预后, MIRI 大鼠心肌梗死面积和心肌细胞凋亡面积显著减少,心肌组织病理损伤明显改善;同时,血清中 CK-MB、LDH 和 cTnI 水平降低,说明 MOTS-c 可改善 MIRI 大鼠心肌损伤。然而,与 MOTS-c 干预相比, SR-18292 联合干预后大鼠心肌组织病理损伤再次加重,同时血清中 CK-MB、LDH 和 cTnI 水平升高,说明抑制 PGC-1 $\alpha$  表达可明显逆转 MOTS-c 对 MIRI 大鼠的心肌保护作用。

线粒体是细胞中产生能量的细胞器,在维持细胞稳定和细胞活力过程中发挥关键作用,缺血再灌注过程中组织内活性氧大量堆积,引起氧化应激,机体的氧化还原平衡状态被打破,导致线粒体破裂、水解,进而发生心肌细胞凋亡,加重心肌损伤<sup>[14]</sup>。脂质过氧化产物 MDA 和抗氧化标志物 SOD 可直接反应机体抗氧化水平。PGC-1 $\alpha$  高表达于心脏、大脑等线粒体丰富和氧化代谢活跃的组织中,通过调控下游蛋白发挥对线粒体生物合成和抗氧化应激的作用<sup>[15]</sup>。mtDNA 是线粒体中的遗传物质,其拷贝数

可反应线粒体的呼吸功能,线粒体转录因子 TFAM 参与了 mtDNA 的转录激活, PGC-1 $\alpha$  通过与其下游目标基因 NRF-1 结合后激活 TFAM 表达从而调节 mtDNA 拷贝数<sup>[16]</sup>。本研究结果显示, MOTS-c 干预后, MIRI 大鼠心肌组织中 MDA 水平降低、SOD 水平升高,说明机体氧化还原恢复平衡;心肌组织 mtDNA 相对拷贝数升高,同时心肌 PGC-1 $\alpha$ 、NRF-1 和 TFAM 蛋白表达水平升高,说明 MOTS-c 治疗 MIRI 可能是通过抗氧化应激,进而修复线粒体损伤实现的。然而,与 MOTS-c 干预相比, SR-18292 联合干预后大鼠心肌组织中 MDA 水平升高、SOD 水平降低,同时心肌组织 mtDNA 相对拷贝数和 PGC-1 $\alpha$ 、NRF-1、TFAM 蛋白表达水平降低,提示组织氧化应激再次发生并进一步损伤线粒体,说明抑制 PGC-1 $\alpha$  表达可明显抑制 MOTS-c 对 MIRI 大鼠心肌组织线粒体损伤的修复作用。

综上所述, MOTS-c 可抑制 MIRI 大鼠氧化应激水平,改善心肌组织损伤,降低心肌细胞凋亡率,而以上作用均被 PGC-1 $\alpha$  抑制剂所抑制,说明 MOTS-c 可能通过上调 PGC-1 $\alpha$  表达,促进心肌细胞线粒体生物合成,维持线粒体正常功能发挥对 MIRI 的心肌保护作用。然而,在该过程中是否还涉及其他机制,还需在后续研究中深入探讨。

## 参考文献

- [1] Shao C, Wang J, Tian J, et al. Coronary artery disease: from mechanism to clinical practice [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1177: 1-36.
- [2] Algoet M, Janssens S, Himmelreich U, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury and the influence of inflammation [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2023, 33(6): 357-66.
- [3] Zhang W, Chen R, Xu K, et al. Protective effect of Xinmai'an tablets via mediation of the AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Phyto-medicine*, 2023, 120: 155034.
- [4] 宋玉, 李萌萌, 李灿, 等. 运动、线粒体衍生肽 MOTS-c 与胰岛素抵抗研究进展 [J]. *中国运动医学杂志*, 2021, 40(8): 648-52.
- [5] Yin Y, Pan Y, He J, et al. The mitochondrial-derived peptide MOTS-c relieves hyperglycemia and insulin resistance in gestational diabetes mellitus [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 175: 105987.
- [6] Mohtashami Z, Singh M K, Salimiaghdam N, et al. MOTS-c, the most recent mitochondrial derived peptide in human aging and age-related diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 11991.
- [7] Yan Z, Zhu S, Wang H, et al. MOTS-c inhibits osteolysis in the mouse calvaria by affecting osteocyte-osteoclast crosstalk and inhibiting inflammation [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 147: 104381.
- [8] 李言明, 刘晶, 张成成, 等. 一种改良的 SD 大鼠心肌缺血再灌注模型的建立 [J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(4): 413

- 7.
- [9] 孟祥祺,苑姗姗,戴红艳,等. 冠心病患者血清中 MOTS-c 水平及其与冠状动脉病变严重程度关系[J]. 临床心血管病杂志, 2020, 36(3): 228-32.
- [10] 王美娟,时涵远,李 娇,等. 血清 MOTS-c、sLRP-1 水平与急性冠状动脉综合征严重程度及预后的相关性[J]. 临床心血管病杂志, 2023, 39(7): 516-20.
- [11] Wang M, Wang G, Pang X, et al. MOTS-c repairs myocardial damage by inhibiting the CCN1/ERK1/2/EGR1 pathway in diabetic rats[J]. *Front Nutr*, 2023, 9: 1060684.
- [12] 周朝元,韩培立,苏国宝,等. 心脏瓣膜术联合冠状动脉旁路移植对心脏瓣膜病患者心肌损伤的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(22): 81-5.
- [13] 祁双宝. 心肌坏死标志物血清联合检测在急性心肌梗死早期诊断中的应用[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(2): 108-9.
- [14] 李 闯,马晓莉,文志萍,等. 香青兰总黄酮对心肌缺血再灌注损伤大鼠氧化应激和线粒体的保护作用[J]. 中成药, 2022, 44(2): 390-5.
- [15] 张 丽,何 俊,金 虹,等. HO-1/PGC-1 $\alpha$  通路在调控线粒体氧化应激中的作用[J]. 中国药理学通报, 2022, 38(8): 1137-41.
- [16] 时昭红,郑 丁,郭 洁,等. 葱白提取物对非酒精性脂肪肝模型大鼠 PGC-1 $\alpha$  和线粒体生物合成的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(10): 2320-2.

## Protective effect of MOTS-c peptide on myocardial injury in rats with myocardial ischemia reperfusion

Wang Yu<sup>1</sup>, Peng Jianye<sup>2</sup>, Zhu Mingyan<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Dept of Laboratory, <sup>2</sup> Dept of Cardiovascular Medicine, The Second Affiliated Hospital, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421001)

**Abstract Objective** To investigate the protective effect of mitochondria-derived peptide MOTS-c on myocardial ischemia reperfusion injury (MIRI) in rats and elucidate its mechanism. **Methods** The SD rats were randomly divided into sham group, MIRI group, MOTS-c group and MOTS-c + PGC-1 $\alpha$  inhibitor SR-18292 group (MOTS-c + SR-18292), with 10 rats in each group. The MIRI model was established by ligating the anterior descending branch of the coronary artery MOTS-c peptide (1 mg/kg), SR-18292 (20 mg/kg) and equal volume concentration of 1% dimethyl sulfoxide were administered *via* tail vein at 1 h before operation and immediately after operation. At 24 h after surgery, TTC staining was used to observe myocardial infarction size. HE staining was used to observe the pathological changes of myocardial tissue. TUNEL staining was used to detect myocardial apoptosis. ELISA and biochemical kits were used to measure the levels of myocardial injury markers and oxidation indicators in serum of each group. The relative copy number of mtDNA in myocardial tissues was detected by qRT-PCR. The mitochondrial biosynthesis-related protein expression levels in myocardial tissues were detected by Western blot. **Results** Compared with sham group, MIRI group had serious myocardial injury, myocardial infarction size and increased apoptosis level ( $P < 0.05$ ). The mtDNA relative copy number in myocardial tissue decreased ( $P < 0.05$ ). The contents of CK-MB, LDH, cTnI in serum and MDA in myocardial tissue increased ( $P < 0.05$ ). SOD content and PGC-1 $\alpha$ , NRF-1 and TFAM protein expression levels in myocardial tissue decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with MIRI group, myocardial injury in MOTS-c group was significantly improved, myocardial infarction size and apoptosis level decreased ( $P < 0.05$ ). The mtDNA relative copy number in myocardial tissue increased ( $P < 0.05$ ). The contents of CK-MB, LDH, cTnI in serum and MDA in myocardial tissue decreased ( $P < 0.05$ ). The SOD content and the expression levels of PGC-1 $\alpha$ , NRF-1 and TFAM in myocardial tissue increased ( $P < 0.05$ ). Compared with MOTS-c group, the myocardial infarction size and apoptosis level of rats in MOTS-c + SR-18292 group increased ( $P < 0.05$ ). The mtDNA relative copy number in myocardial tissue decreased ( $P < 0.05$ ). The contents of CK-MB, LDH, cTnI in serum and MDA in myocardial tissue increased ( $P < 0.05$ ). SOD content and PGC-1 $\alpha$ , NRF-1 and TFAM protein expression levels in myocardial tissue decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** MOTS-c peptide can improve myocardial injury in MIRI rats by promoting mitochondrial biosynthesis and inhibiting cardiomyocyte apoptosis, and its mechanism may be related to up-regulation of PGC-1 $\alpha$  expression.

**Key words** MOTS-c peptide; myocardial ischemia reperfusion; myocardial injury; mitochondrial biosynthesis; peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 alpha