

miR-346 缓解心肌缺血再灌注大鼠心肌氧化应激损伤

刘雨露¹, 朱子贵¹, 张建新², 赵红³, 姚平波⁴

摘要 目的 分析 miR-346 缓解心肌缺血再灌注(I/R)损伤大鼠心脏功能受损和氧化应激的作用。方法 将 48 只大鼠随机分为对照组、I/R 组、I/R + agomiR-NC 组和 I/R + agomiR-346 组,采用结扎左冠状动脉前降支法复制 I/R 模型,尾静脉注射重组腺相关病毒 miR-346 进行过表达干预。再灌注 120 min 后,检测心率(HR)、左心室射血分数(LVEF)、短轴缩短率(FS)和左心室壁厚度(LVWT),检测血清肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌红蛋白(Mb)、乳酸脱氢酶(LDH)、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)水平,检测心肌组织超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和丙二醛(MDA)水平,TUNEL 染色检测心肌组织细胞凋亡,Western blot 检测心肌组织 B 细胞淋巴瘤/白血病(Bcl)-2 基因、Bcl 相关蛋白(Bax)、半胱氨酸蛋白酶(Cas)-3、Cas-9 表达。结果 I/R 组大鼠 HR、LVEF、FS 和 LVWT 低于对照组,血清 CK-MB、LDH、Mb 和 cTnI 水平高于对照组,心肌组织 MDA、Bax/Bcl-2、cleaved Cas-3/Cas-3 和 cleaved Cas-9/Cas-9 蛋白表达高于对照组,SOD 和 GSH-px 水平低于对照组,心肌组织细胞凋亡率高于对照组($P < 0.05$);I/R + agomiR-346 组大鼠 HR、LVEF、FS 和 LVWT 高于 I/R + agomiR-NC 组,血清 CK-MB、LDH、Mb 和 cTnI 低于 I/R + agomiR-NC 组,心肌组织 MDA、Bax/Bcl-2、cleaved Cas-3/Cas-3 和 cleaved Cas-9/Cas-9 蛋白表达低于 I/R + agomiR-NC 组,SOD 和 GSH-px 水平高于 I/R + agomiR-NC 组,心肌组织细胞凋亡率低于 I/R + agomiR-NC 组($P < 0.05$)。结论 miR-346 过表达可以降低 I/R 大鼠的氧化应激水平,减轻心肌组织损伤,改善心功能。

关键词 心肌缺血再灌注;miR-346;氧化应激;心肌组织损伤;心功能

中图分类号 R 541.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)01-0090-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.017

缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)是指组

织器官缺血一定时间后恢复血流灌注时,缺血组织损伤加重的现象,多发于冠状动脉旁路移植术、溶栓治疗、心脏直视手术等血流供应恢复过程中^[1]。目前,I/R 损伤主要采用抗氧化、抗炎、钙通道阻滞剂、血管活性药物等治疗,尚缺乏治疗的特效药物^[2]。miR-346 属于 miRNA 家族,在心血管疾病、恶性肿瘤等多种疾病中均出现差异表达^[3-4]。近年来研究显示,miR-346 可以调控凋亡相关基因的表达,调节心肌 I/R 损伤参与心肌 I/R 损伤大鼠的心肌细胞凋亡^[5],但相关研究报道较少,且其对心脏功能的影响及作用的具体方式尚不明确。该研究分析了 miR-346 过表达对 I/R 大鼠氧化应激和心肌组织细胞凋亡的作用,旨在为临床新药研发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 药物、试剂与仪器 miR-346 ago 和阴性对照 miR-NC 重组腺相关病毒(recombinant adeno-associated virus, RVVA)由上海汉恒生物技术有限公司设计和合成;肌酸激酶同工酶(creatine kinase MB, CK-MB)、肌红蛋白(myoglobin, Mb)、心肌肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒,均购自南京森贝伽生物科技有限公司;TUNEL 组织细胞凋亡检测试剂盒,购自深圳市拓普生物科技有限公司;兔抗鼠 B 细胞淋巴瘤/白血病(B-cell lymphoma/leukemia, Bcl)-2 基因、Bcl 相关蛋白(Bcl-associate X protein, Bax)、半胱氨酸蛋白酶 3(Caspase-3, Cas-3)、cleaved Cas-3、Cas-9、cleaved Cas-9、 β -actin 单克隆抗体和辣根过氧化物酶(horse-radish peroxidase, HRP)标记的二抗均购于美国 CST 公司;BX60 型光学显微镜购自日本 OLYMPUS 公司;Vivid 7.0 彩色超声仪购自美国 GE 公司;FP-MOUS-ECGenie 小动物心电图监测仪购自孚光精仪(中国)有限公司;RT-PCR 仪(IQTM5 型)购自美国 Bio-Rad 公司;AlphaImager HP 凝胶成像分析系统购自美国 Alpha Innotech 公司。

2021-11-11 接收

基金项目:湖南省自然科学基金(编号:2018JJ3473)

作者单位:南华大学附属南华医院¹ 重症医学科、² 胸外科,衡阳 421002

³ 南华大学护理学院基础护理教研室,衡阳 421001

⁴ 长沙民政职业技术学院,长沙 410004

作者简介:刘雨露,女,硕士,主治医师;

姚平波,男,硕士,副主任医师,责任作者,E-mail: 23351119@qq.com

1.2 实验动物 SPF级SD雄性大鼠48只,6~8周龄,体质量为260~280g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号:SCXK(京)2017-0022,饲养于南华大学动物中心实验室,许可证号:SYXK(湘)2020-0002。研究经动物实验伦理委员会审核批准,动物实验伦理批号为NHDXF-SNHYY20200603。

1.3 动物分组与miR-346过表达 48只大鼠预饲养7d后,采用简单随机分组将其随机分为对照组、I/R组、I/R+agomiR-NC组和I/R+agomiR-346组,12只/组。I/R+agomiR-NC组经尾静脉注射RAAV-miR-NC,I/R+agomiR-346组经尾静脉注射RAAV-miR-346,1次/d,连续注射2周。对照组和I/R组经尾静脉注射等体积0.9%NaCl溶液,连续注射2周。

1.4 动物造模 末次干预后,除对照组外所有大鼠均采用参考已有文献复制心肌I/R模型^[6],常规麻醉,结扎左冠状动脉前降支,缺血30min后,恢复血流灌注120min。对照组只插入线栓,不结扎。

1.5 心功能检测和标本采集 再灌注120min后,使用小动物心电图监测仪检测大鼠心率(heart rate, HR),彩色超声仪检测大鼠左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、短轴缩短率(fractional shortening, FS)和左心室壁厚度(left ventricular wall thickness, LVWT)。检测后,常规麻醉,分离腹主动脉血液,离心(3000 r/min, 10 min),取血清,暂存于-20℃冰箱保存,分离心脏,一部分置于4%多聚甲醛中固定,另一部分暂存于-80℃冰箱保存。

1.6 RT-PCR检测心肌组织miR-346水平 取暂存于-80℃冰箱的心肌组织,匀浆后,根据试剂盒操作说明,依次进行总RNA提取,确定RNA纯度和浓度,反转录合成cDNA,上机进行RT-PCR反应。miR-346上游引物为5'-GAGTGCCTGCCTCTCTGTG-3',下游引物为5'-GAGCAGCTCTGCCAGG-3',以U6为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法检测各基因的相对表达量。

1.7 HE染色检测心肌组织损伤 取甲醛固定的大鼠心肌组织,进行常规的切片制作和HE染色,另一份进行TUNEL染色,严格按照试剂盒说明操作,光镜下观察心肌组织病理变化,参考已有文献^[5]评估心肌组织病理积分。

1.8 血清和心肌组织中相关因子的测定 免疫标记法检测血清CK-MB、Mb、LDH、cTnI水平,ELISA法检测心肌组织SOD、GSH-Px和MDA水平,严格按照试剂盒说明书进行测定。

1.9 TUNEL检测心肌组织细胞凋亡 取甲醛固定的大鼠心肌组织,严格按照试剂盒说明进行切片制作和TUNEL染色,光镜下观察心肌组织细胞凋亡。

1.10 Western blot检测心肌组织Bax/Bcl-2、Cas-3和Cas-9表达 取暂存于-80℃冰箱的心肌组织,匀浆后,提取总蛋白,进行凝胶电泳、转膜,5%脱脂奶粉室温封闭2h,加一抗(Bax、Bcl-2、Cas-3和Cas-9,稀释比例均为1:500),4℃孵育过夜,加HRP标记的二抗,室温孵育2h,显影,以 β -actin为内参分析对比条带强弱。

1.11 统计学处理 采用SPSS 22.0软件对实验所得数据进行统计学处理,符合正态分布的计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析比较四组间差异,SNK-q比较四组两两间差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组I/R大鼠心肌组织miR-346水平 I/R+agomiR-346组大鼠心肌组织miR-346水平高于I/R+agomiR-NC组(q 值=13.352, $P < 0.05$),I/R组心肌组织miR-346水平低于对照组(q 值=15.796, $P < 0.05$),I/R+agomiR-NC组与I/R组心肌组织miR-346水平差异无统计学意义。见图1。

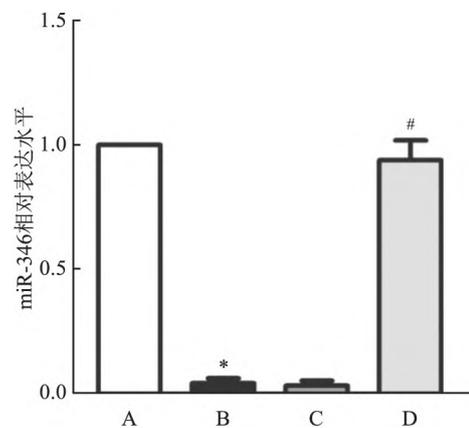


图1 各组I/R大鼠心肌组织miR-346水平

A:对照组;B:I/R组;C:I/R+agomiR-NC组;D:I/R+agomiR-346组;与对照组比较:* $P < 0.05$;与I/R+agomiR-NC组比较:# $P < 0.05$

2.2 miR-346过表达对I/R大鼠心功能的影响

I/R+agomiR-346组大鼠HR、LVEF、FS和LVWT高于I/R+agomiR-NC组($P < 0.05$),I/R组大鼠HR、LVEF、FS和LVWT低于对照组($P < 0.05$),I/R+agomiR-NC组与I/R组大鼠HR、LVEF、FS和LVWT差异无统计学意义。见表1。

表1 各组 I/R 大鼠心功能($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	HR (次/min)	LVEF (%)	FS (%)	LVWT (mm)
对照	384.21 ± 35.33	57.15 ± 8.28	29.12 ± 5.93	0.81 ± 0.06
I/R	209.54 ± 29.38*	20.81 ± 5.27*	8.68 ± 1.89*	0.47 ± 0.06*
I/R + agomiR-NC	211.62 ± 38.25	21.02 ± 5.43	9.01 ± 1.26	0.50 ± 0.07
I/R + agomiR-346	329.08 ± 30.67 [#]	46.29 ± 7.48 [#]	22.41 ± 5.32 [#]	0.73 ± 0.11 [#]
F 值	82.225	86.142	73.238	51.116
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 I/R + agomiR-NC 组比较: [#] $P < 0.05$

表2 各组 I/R 大鼠心肌组织损伤标志物水平($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	CK-Mb (U/L)	LDH (U/L)	Mb (ng/ml)	cTnI (ng/ml)
对照	25.47 ± 5.29	819.31 ± 165.34	25.08 ± 5.44	0.11 ± 0.03
I/R	131.42 ± 18.83*	2206.42 ± 231.99*	138.53 ± 34.49*	0.69 ± 0.08*
I/R + agomiR-NC	129.73 ± 21.74	2199.87 ± 204.48	139.26 ± 27.54	0.67 ± 0.09
I/R + agomiR-346	41.58 ± 10.67 [#]	1063.72 ± 177.46 [#]	58.78 ± 9.05 [#]	0.18 ± 0.05 [#]
F 值	158.047	86.342	168.124	258.212
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 I/R + agomiR-NC 组比较: [#] $P < 0.05$

2.3 miR-346 过表达对 I/R 大鼠心肌组织损伤的影响 对照组 I/R 大鼠 HE 染色显示心肌组织细胞未见异常; I/R 组和 I/R + agomiR-NC 组显示心肌纤维断裂, 细胞出现变性、坏死, 且伴随大量炎性细胞浸润; I/R + agomiR-346 组显示心肌组织细胞病理变化减轻。见图 2。

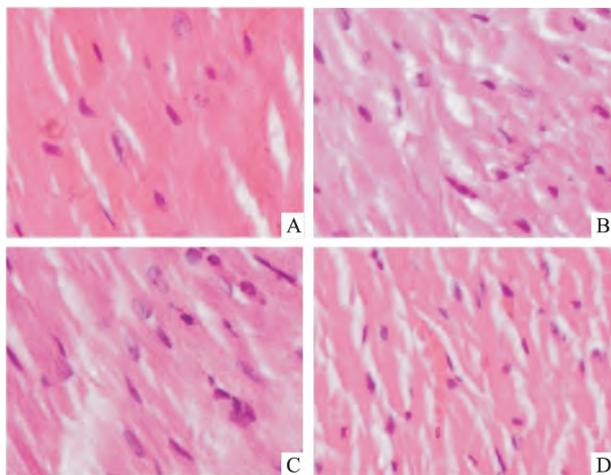


图2 各组 I/R 大鼠心肌组织病理变化 HE ×200

A: 对照组; B: I/R 组; C: I/R + agomiR-NC 组; D: I/R + agomiR-346 组

2.4 miR-346 过表达对 I/R 大鼠心肌组织损伤标志物的影响 I/R + agomiR-346 组大鼠血清 CK-MB、LDH、Mb 和 cTnI 水平低于 I/R + agomiR-NC 组 ($P < 0.05$), I/R 组血清 CK-MB、LDH、Mb 和 cTnI 水平高于对照组 ($P < 0.05$), I/R + agomiR-NC 组与 I/R

R 组大鼠血清 CK-MB、LDH、Mb 和 cTnI 水平差异无统计学意义。见表 2。

2.5 miR-346 过表达对 I/R 大鼠氧化应激的影响

I/R + agomiR-346 组大鼠心肌组织 MDA 水平低于 I/R + agomiR-NC 组, SOD 和 GSH-px 水平高于 I/R + agomiR-NC 组 ($P < 0.05$); I/R 组心肌组织 MDA 水平高于 I/R + agomiR-NC 组, SOD 和 GSH-px 水平低于 I/R + agomiR-NC 组 ($P < 0.05$); I/R + agomiR-NC 组与 I/R 组心肌组织 MDA、SOD 和 GSH-px 水平差异无统计学意义。见表 3。

表3 各组 I/R 大鼠氧化应激水平($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	MDA (nmol/ml)	SOD (U/ml)	GSH-px (U/ml)
对照	2.11 ± 0.38	134.83 ± 15.57	42.84 ± 6.57
I/R	5.12 ± 0.57*	72.04 ± 10.38*	18.25 ± 4.21*
I/R + agomiR-NC	5.18 ± 0.76	72.11 ± 10.16	20.04 ± 6.83
I/R + agomiR-346	2.63 ± 0.32 [#]	98.26 ± 10.29 [#]	29.39 ± 7.81 [#]
F 值	109.498	73.924	36.079
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 I/R + agomiR-NC 组比较: [#] $P < 0.05$

2.6 miR-346 过表达对 I/R 大鼠心肌组织细胞凋亡的影响 I/R + agomiR-346 组大鼠心肌组织细胞凋亡率低于 I/R + agomiR-NC 组 [(18.22 ± 3.76)% vs (27.93 ± 5.48)% , $q = 7.858, P < 0.05$], I/R 组大鼠心肌组织细胞凋亡率高于对照组 [(28.33 ± 5.21)% vs (7.22 ± 1.41)% , $q = 17.083, P < 0.05$], I/R + agomiR-NC 组与 I/R 组心肌组织细胞凋亡率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

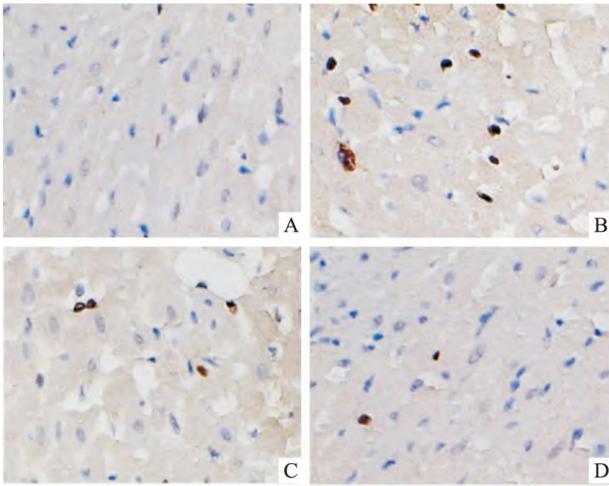


图3 各组 I/R 大鼠心肌组织细胞凋亡 TUNEL × 200

A: 对照组; B: I/R 组; C: I/R + agomiR-NC 组; D: I/R + agomiR-346 组

2.7 miR-346 过表达对 I/R 大鼠心肌组织 Bax/Bcl-2、Cas-3 和 Cas-9 表达的影响 I/R + agomiR-346 组大鼠心肌组织 Bax/Bcl-2、cleaved Cas-3/Cas-3 和 cleaved Cas-9/Cas-9 蛋白表达低于 I/R + agomiR-NC 组 ($q = 21.324, 14.596, 9.872; P < 0.05$), I/R 组心肌组织 Bax/Bcl-2、cleaved Cas-3/Cas-3 和 cleaved Cas-9/Cas-9 蛋白表达高于对照组 (q 值 = 19.681、13.243、8.570; $P < 0.05$), I/R + agomiR-NC 组与 I/R 组心肌组织 Bax/Bcl-2、cleaved Cas-3/Cas-3 和 cleaved Cas-9/Cas-9 蛋白表达差异无统计学意义。见图 4。

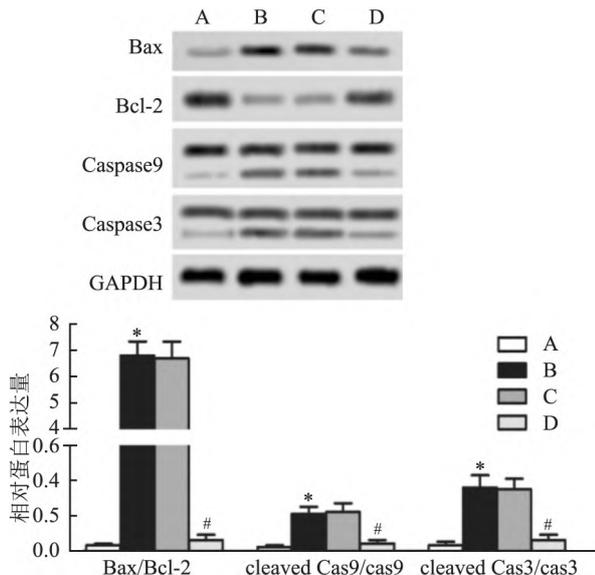


图4 各组 I/R 大鼠心肌组织 Bax/Bcl-2、Cas-3 和 Cas-9 表达

A: 对照组; B: I/R 组; C: I/R + agomiR-NC 组; D: I/R + agomiR-346 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 I/R 组比较: # $P < 0.05$

3 讨论

I/R 损伤是组织缺血后,恢复血流供应时组织损伤加重的病理过程,与缺血低氧刺激生成的大量氧自由基,及其引起的心肌细胞能量代谢障碍、细胞凋亡等有关,严重影响了组织缺血后的恢复;临床尚缺乏治疗其特效药物。miR-346 是近年来研究中发现的与多种疾病相关的小 RNA,可以靶向调节凋亡蛋白 Bax 表达,抑制心肌细胞凋亡。该研究探讨了 miR-346 在心肌 I/R 大鼠中的表达和作用,结果显示 I/R 大鼠心肌组织中 miR-346 表达较对照组降低,说明 miR-346 可能参与 I/R 损伤的病理过程。该研究中,I/R 大鼠的 HR、LVEF、FS 和 LVWT 较对照组下降,miR-346 过表达后,HR、LVEF、FS 和 LVWT 升高,表明 miR-346 过表达可以改善 I/R 大鼠的心功能。该研究表明,I/R 大鼠血清 CK-MB、LDH、Mb 和 cTnI 水平相较于对照组升高,且心肌组织表现出病理变化,而 miR-346 过表达后,血清 CK-MB、LDH、Mb 和 cTnI 水平下降,心肌组织病理变化减轻。CK-MB、LDH、Mb、cTnI 均为临床较为常用的指标,广泛存在于心肌组织细胞中,在细胞受损时可以释放进入血清,其在血清中的水平变化可以反映心肌细胞损伤。研究结果表明,miR-346 过表达可以减轻心肌 I/R 大鼠的心肌组织损伤,改善心功能,有望成为 I/R 治疗的新靶点。

该研究表明,I/R 大鼠的心肌组织 MDA 水平较对照组升高,SOD 和 GSH-px 较对照组下降,而 miR-346 过表达后,MDA 下降,SOD 和 GSH-px 升高。SOD 是生物体内最主要的抗氧化酶之一,广泛分布于心肌细胞质内,可以通过氧化还原反应,抑制多种过氧化物的作用,清除体内过多的活性氧自由基 (reactive oxide species, ROS) 并将其转化为其它物质^[7]。GSH-px 是广泛分布于心肌组织细胞的过氧化物分解酶,可以抑制 ROS 产生,降低心肌细胞内的氧化应激水平^[8]。MDA 是 ROS 代谢过程中产生的中间产物,是临床常用的反映心肌细胞氧化应激水平的指标^[9]。既往多项研究^[10-11]显示,I/R 过程中产生的大量 ROS 是导致心肌组织细胞死亡,导致 I/R 损伤的主要因素。上述研究表明 miR-346 过表达可能通过抗氧化作用,清除过量的 ROS,减轻 I/R 大鼠的心肌组织损伤。

该研究表明,I/R 大鼠的心肌组织 Bax/Bcl-2、cleaved Cas-3/Cas-3 和 cleaved Cas-9/Cas-9 蛋白表达较对照组升高,细胞凋亡率升高,而 miR-346 过表

达后, Bax/Bcl-2、cleaved Cas-3/Cas-3 和 cleaved Cas-9/Cas-9 蛋白表达下降, 细胞凋亡率下降。Bcl-2/Bax 是一组可以调控细胞凋亡的蛋白, 生理状态下, Bcl-2 定位于线粒体膜表面, Bax 主要位于胞质中, 在凋亡信号作用下, Bax 可以与 Bcl-2 相结合, 在线粒体膜上形成孔道, 破坏膜完整性, 使线粒体释放细胞色素 C 入胞质, 激活 Caspase 凋亡级联反应^[12]。Caspase 家族是调控内源性细胞凋亡的蛋白酶系统, 其中 cleaved Cas-9 为始动因子, cleaved Cas-3 为凋亡效应因子, 胞浆中的细胞色素 C 可以与相应的蛋白结合, 激活 Cas-9, 从而激活 Cas-3, 启动细胞凋亡程序, 降解多种重要蛋白, 导致细胞裂解死亡^[13]。该研究结果表明, miR-346 过表达可以抑制线粒体凋亡途径, 抑制 I/R 大鼠心肌细胞凋亡, 减轻心肌组织损伤。既往研究^[14]显示, I/R 过程中产生的大量 ROS 可以激活线粒体凋亡途径, 诱导心肌组织细胞死亡, 导致 I/R 损伤。该研究结果表明, miR-346 过表达可能通过抗氧化作用, 抑制心肌细胞凋亡, 降低 I/R 大鼠的心肌组织损伤。

参考文献

- [1] Li W, Li W, Leng Y, et al. Ferroptosis is involved in diabetes myocardial ischemia/reperfusion injury through endoplasmic reticulum stress[J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(2):210–25.
- [2] Tian L, Cao W, Yue R, et al. Pretreatment with Tiliarin improves mitochondrial energy metabolism and oxidative stress in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury via AMPK/SIRT1/PGC-1 alpha signaling pathway[J]. *J Pharmacol Sci*, 2019, 139(4):352–60.
- [3] Siebert V, Allencherril J, Ye Y, et al. The role of non-coding rnas in ischemic myocardial reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2019, 33(4):489–98.
- [4] Yu Q, Yang X, Duan W, et al. miRNA-346 promotes proliferation, migration and invasion in liver cancer [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(3):3255–60.
- [5] Lv X, Lu P, Hu Y, et al. miR-346 inhibited apoptosis against myocardial ischemia-reperfusion injury via targeting Bax in rats [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14(1):895–905.
- [6] 王吾勇, 吴 微, 虞佩儒. 青蒿素对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(12):2895–7.
- [7] Wang Z, Wang Z, Wang T, et al. Inhibition of miR-34a-5p protected myocardial ischemia reperfusion injury-induced apoptosis and reactive oxygen species accumulation through regulation of Notch Receptor 1 signaling[J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2019, 20(3):187–97.
- [8] Jin J K, Blackwood E A, Azizi K, et al. ATF6 decreases myocardial ischemia/reperfusion damage and links er stress and oxidative stress signaling pathways in the heart[J]. *Circ Res*, 2017, 120(5):862–75.
- [9] Feng L, Ren J, Li Y, et al. Resveratrol protects against isoproterenol induced myocardial infarction in rats through VEGF-B/AMPK/eNOS/NO signalling pathway[J]. *Free Radic Res*, 2019, 53(1):82–93.
- [10] Al-Salam S, Hashmi S. Myocardial ischemia reperfusion injury: apoptotic, inflammatory and oxidative stress role of Galectin-3[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(3):1123–39.
- [11] Tian L, Cao W, Yue R, et al. Pretreatment with tiliarin improves mitochondrial energy metabolism and oxidative stress in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury via AMPK/SIRT1/PGC-1 alpha signaling pathway[J]. *J Pharmacol Sci*, 2019, 139(4):352–60.
- [12] Anderson S L, Townsend H G G, Singh B. Role of toll-like receptor 4 and caspase-3, -8, and -9 in lipopolysaccharide-induced delay of apoptosis in equine neutrophils[J]. *Am J Vet Res*, 2018, 79(4):424–32.
- [13] Kim B I, Kim J H, Sim D Y, et al. Inhibition of JAK2/STAT3 and activation of caspase-9/3 are involved in KYS05090S-induced apoptosis in ovarian cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2019, 55(1):203–10.
- [14] Babiker F, Al-Kouh A, Kilarkaje N. Lead exposure induces oxidative stress, apoptosis, and attenuates protection of cardiac myocytes against ischemia-reperfusion injury[J]. *Drug Chem Toxicol*, 2019, 42(2):147–56.

miR-346 relieving myocardial oxidative stress injury in rats undergoing myocardial ischemia/reperfusion

Liu Yulu¹, Zhu Zigui¹, Zhang Jianxin², Zhao Hong³, Yao Pingbo⁴

(¹Dept of Critical Care Medicine, ²Dept of Thoracic Surgery, Nanhua Hospital Affiliated to Nanhua University, Hengyang 421002; ³Dept of Basic Nursing, School of Nursing, Nanhua University, Hengyang 421001; ⁴Changsha Vocational College of Civil Affairs, Changsha 410004)

Abstract Objective To analyze the effects of miR-346 on alleviating cardiac function damage and oxidative stress in rats undergoing myocardial ischemia/reperfusion (I/R). **Methods** A total of 48 rats were randomly divided into control group, I/R group, I/R + agomiR-NC group and I/R + agomiR-346 group. I/R model was replicated by the ligation of left anterior descending coronary artery. The recombinant adeno-associated virus miR-346 was injected through the tail vein for overexpression intervention. After 120 minutes of reperfusion, heart rate (HR), left ventricular ejection fraction (LVEF), fractional shortening (FS) and left ventricular wall thickness (LVWT), levels of serum creatine kinase MB (CK-MB), myoglobin (Mb), lactate dehydrogenase (LDH) and cardiac troponin I

网络出版时间:2021/12/22 15:41 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20211221.1001.019.html

6-姜酚通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路对 A β 诱导的 AD 大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症的影响

李 交¹,肖友元¹,谢 沁¹,马天蓉¹,李剑萍¹,段 俊¹,苏 懋²

摘要 目的 探究 6-姜酚通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路对 β -淀粉样蛋白(A β)诱导的阿尔茨海默病(AD)大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症的影响。方法 通过在大鼠双侧大脑的海马体注射 A β 构建 AD 大鼠模型。大鼠被随机分为 6 组:对照组、模型组、低剂量 6-姜酚组(50 mg/kg)、中剂量 6-姜酚组(75 mg/kg)、高剂量 6-姜酚组(100 mg/kg)和阳性对照组(盐酸多尼哌齐 0.9 mg/kg)。通过神经损伤评分评估大鼠神经损伤程度,干/湿法检测脑含水量,HE 染色检测海马体组织学损伤程度。流式细胞术和 TUNEL 染色检测海马体细胞凋亡。ELISA 检测 iNOS、IL-6、TNF- α 、SOD、GSH-Px 和 MDA 的蛋白水平。其中 qRT-PCR 和 Western blot 检测 Wnt 和 β -catenin 的 mRNA 和蛋白相对表达量。结果 与模型组相比,在 6-姜酚治疗后,神经损伤评分降低,脑含水量减少,细胞凋亡率降低,促炎细胞因子 iNOS、IL-6 和 TNF- α 的

表达量下调,SOD 和 GSH-Px 的蛋白含量上调,而 MDA 蛋白含量下调。Wnt 和 β -catenin 的 mRNA 和蛋白相对表达量均上调。结论 6-姜酚通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路缓解 AD 大鼠细胞凋亡、氧化应激和神经炎症。

关键词 6-姜酚;AD 大鼠模型;细胞凋亡;氧化应激;神经炎症;Wnt/ β -catenin 信号通路

中图分类号 R 742

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)01-0095-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.018

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是世界范围内导致痴呆的最常见原因,部分原因是世界人口老龄化。这种神经退行性疾病有两个典型的临床特征:记忆丧失和认知障碍。AD 的主要病理特征是淀粉样蛋白斑块沉积和过度磷酸化的 tau 蛋白神经原纤维缠结、细胞凋亡、自噬功能障碍、神经炎症、氧化应激和线粒体功能障碍^[1]。尽管 AD 带来了重大的公共健康问题,但目前仅有 5 种药物被批准用于治疗 AD,而这些药物的作用是控制症状、延缓痴呆症的发作,从而减慢病程加剧的速率^[2]。研究^[3]表明 Wnt/ β -catenin 信号通路的持续缺失是 AD

2021-10-30 接收

基金项目:四川省科技计划项目(编号:2018TD0021)

作者单位:四川省医学科学院四川省人民医院¹ 老年医学科、² 康复医学科,成都 610072

作者简介:李 交,女,本科;

苏 懋,男,本科,主治医师,责任作者,E-mail:283504696@qq.com

(cTnI), and levels of superoxide dismutase (SOD), glutathion peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) in myocardial tissues were detected. The apoptosis of myocardial tissue cells was detected by TUNEL staining. The expression of B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) gene, Bcl-associated x protein (Bax), cysteine protease 3 (Cas-3) and Cas-9 in myocardial tissues was detected by Western blot. **Results** HR, LVEF, FS and LVWT in I/R group were lower than those in control group, the levels of serum CK-MB, LDH, Mb and cTnI were higher than those in control group, the expression of MDA, Bax/Bcl-2, cleaved Cas-3/Cas-3 and cleaved Cas-9/Cas-9 proteins in myocardial tissues was higher than that in control group, the levels of SOD and GSH-px were lower than those in control group, and the apoptosis rate of myocardial tissue cells was higher than that in control group ($P < 0.05$). HR, LVEF, FS and LVWT in I/R + agomiR-346 group were higher than those in I/R + agomiR-NC group, the levels of serum CK-MB, LDH, Mb and cTnI were lower than those in I/R + agomiR-NC group, the expression of MDA, Bax/Bcl-2, cleaved Cas-3/Cas-3 and cleaved Cas-9/Cas-9 proteins in myocardial tissues was lower than that in I/R + agomiR-NC group, the levels of SOD and GSH-px were higher than those in I/R + agomiR-NC group, and the apoptosis rate of myocardial tissue cells was lower than that in I/R + agomiR-NC group ($P < 0.05$). **Conclusion** The miR-346 overexpression can reduce oxidative stress level in I/R rats, alleviate myocardial tissue damage, and improve cardiac function.

Key words myocardial ischemia/reperfusion; miR-346; oxidative stress; myocardial tissue damage; cardiac function