

阿芬太尼调节 SphK1/S1P 信号通路对急性心肌梗死大鼠心肌纤维化的影响^Δ

肖锦亮*, 邹雪, 但家朋[#] [荆州市中心医院(长江大学附属荆州医院)麻醉科, 湖北 荆州 434000]

中图分类号 R965;R542.2+2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)08-0955-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.08.10



摘要 **目的** 探究阿芬太尼(ALF)调节鞘氨醇激酶1(SphK1)/1-磷酸鞘氨醇(S1P)信号通路对急性心肌梗死(AMI)大鼠心肌纤维化的影响。**方法** 取雄性SD大鼠,采用左冠状动脉前降支结扎法构建AMI模型,并将造模成功的大鼠随机分为AMI模型组(Model组)和低剂量ALF组(ALF-L组,予0.25 mg/kg ALF)、高剂量ALF组(ALF-H组,予0.5 mg/kg ALF)、高剂量ALF+SphK1激活剂组(ALF-H+K6PC-5组,予0.5 mg/kg ALF+1 μg/g K6PC-5),同时设置仅进行开/关胸操作而不作左冠状动脉前降支结扎的假手术组(Sham组),每组15只。各药物组大鼠腹腔注射相应药液,每天1次,连续4周。末次给药12 h后,检测各组大鼠的心功能指标[左室收缩压(LVSP)、左室射血分数(LVEF)、左室收缩期内径(LVSD)、左室短轴缩短率(LVFS)],观察其心肌梗死情况、心肌组织病理改变和纤维化程度,检测其血清脑钠肽(BNP)、心肌肌钙蛋白 I (cTn I)水平以及心肌组织中 I 型胶原蛋白(collagen I)、collagen III、基质金属蛋白酶2(MMP-2)、SphK1、S1P蛋白的表达水平。**结果** 与 Sham组比较,Model组大鼠心肌组织细胞排列紊乱,可见大量炎症细胞浸润;LVSP、LVFS、LVEF均显著降低($P<0.05$);LVSD,心肌梗死面积、心肌组织胶原容积分数,血清BNP、cTn I水平,心肌组织中 collagen I、collagen III、MMP-2、SphK1、S1P蛋白的表达水平均显著升高或增大($P<0.05$)。与 Model组比较,ALF各剂量组大鼠心肌组织病理改变和纤维化程度均有所改善或减轻,ALF-H组大鼠各定量指标均显著改善且显著优于ALF-L组($P<0.05$);K6PC-5可显著逆转高剂量ALF对大鼠上述各定量指标的改善作用($P<0.05$)。**结论** ALF可减轻AMI大鼠心肌纤维化,改善其心功能,该作用可能与抑制SphK1/S1P信号通路有关。

关键词 阿芬太尼;急性心肌梗死;心肌纤维化;SphK1/S1P信号通路

Effects of alfentanil on myocardial fibrosis in rats with acute myocardial infarction by regulating the SphK1/S1P signaling pathway

XIAO Jinliang, ZOU Xue, DAN Jiapeng [Dept. of Anesthesiology, Jingzhou Central Hospital (Jingzhou Hospital Affiliated to Yangtze University), Hubei Jingzhou 434000, China]

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the effects of alfentanil (ALF) on myocardial fibrosis in rats with acute myocardial infarction (AMI) by regulating sphingosine kinase 1 (SphK1)/sphingosine 1-phosphate (S1P) signaling pathway. **METHODS** Male SD rats were collected to construct AMI model by the ligation of anterior descending branch of left coronary artery. The successfully modeled rats were randomly divided into AMI model group (Model group), ALF low-dose group (ALF-L group, 0.25 mg/kg ALF), ALF high-dose group (ALF-H group, 0.5 mg/kg ALF), high dose of ALF+SphK1 activator group (ALF-H+K6PC-5 group, 0.5 mg/kg ALF+1 μg/g K6PC-5). At the same time, a sham operation group (Sham group) was set up to perform only chest opening/closing operations without ligating the anterior descending branch of left coronary artery, with 15 rats in each group. Rats in each drug group were intraperitoneally injected with the corresponding drug solution, once a day, for 4 consecutive weeks. Twelve hours after the last medication, cardiac function indicators [left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular systolic diameter (LVSD), left ventricular fractional shortening (LVFS)] of rats were detected in each group; the condition of myocardial infarction, pathological changes in myocardial tissue, and degree of fibrosis were observed; serum levels of brain natriuretic peptide (BNP) and cardiac troponin I (cTn I) in rats were detected. The protein expressions of collagen I, collagen III, matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), SphK1 and S1P were also detected in the myocardial tissue of rats. **RESULTS** Compared with the Sham group, the arrangement of myocardial cells in the Model group was disordered, with a large number of inflammatory cells infiltrating. The levels of LVSP, LVFS and

^Δ 基金项目 荆州市 2020 年度医疗卫生科技计划项目 (No. 2020HC05)

* 第一作者 主治医师。研究方向:心脏大血管麻醉。E-mail: ijpr9v@163.com

[#] 通信作者 副主任医师,硕士。研究方向:心脏大血管手术及危重症患者麻醉管理。E-mail:cunganiv51@163.com

LVEF in the Model group were significantly reduced ($P<0.05$); LVSD level, myocardial infarction area, collagen volume fraction, serum levels of BNP and cTn I, the protein expressions of collagen I, collagen III, MMP-2, SphK1 and S1P in myocardial tissue were significantly increased or enlarged ($P<0.05$). Compared with the Model group, the pathological changes and degree of fibrosis in the myocardial tissue of rats in each dose group of ALF were improved or relieved, while the quantitative indicators of rats in the ALF-H group were significantly improved and significantly better than those in ALF-L group ($P<0.05$). K6PC-5 could significantly reverse the improvement effect of high-dose ALF on the above quantitative indicators in rats ($P<0.05$).

CONCLUSIONS ALF can reduce myocardial fibrosis and improve cardiac function in AMI rats, and the effect may be related to the inhibition of the SphK1/S1P signaling pathway.

KEYWORDS alfentanil; acute myocardial infarction; myocardial fibrosis; SphK1/S1P signaling pathway

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是由冠状动脉发生急性闭塞而导致相应供血区心肌缺血及坏死的一种临床常见危重型疾病,以起病急、进展迅速、预后较差为主要特征,是近年来导致患者死亡的主要原因之一^[1-2]。研究指出,AMI发生后,由心肌缺血、供氧不足所导致的心肌细胞坏死和心肌纤维化,是造成患者心功能下降、心力衰竭和死亡的主要原因^[3-4]。目前,AMI的临床治疗以经皮冠状动脉介入治疗、药物溶栓等为主,但恢复再灌注所引发的心肌缺血/再灌注损伤会严重影响患者预后,且AMI所导致的心肌纤维化也会对心脏功能造成损害,甚至可导致患者死亡^[3]。因此,开发AMI新型治疗药物以改善心肌纤维化,对改善AMI患者预后、保护患者心脏功能具有重要意义。

阿芬太尼(alfentanil, ALF)是一种短效镇痛药,主要作用于 μ 阿片受体,可用于手术麻醉和重症监护室患者的镇静、镇痛^[5]。近年来有研究发现,ALF可有效改善缺血/再灌注损伤非糖尿病患者的心脏功能,抑制其心肌细胞凋亡,缩小心肌梗死面积,减轻氧化应激反应,具有一定的心脏保护作用^[6]。鞘氨醇激酶1(sphingosine kinase 1, SphK1)/1-磷酸鞘氨醇(sphingosine 1-phosphate, S1P)信号通路能通过与多种细胞作用来参与纤维化和炎症反应的发生,其主要作用机制包括改变血管通透性、减少炎症细胞浸润、抑制成纤维细胞和肌成纤维细胞增殖和生长等^[7-9]。可见,该信号通路可能与AMI患者的心肌纤维化进程有关。基于此,本研究拟通过左冠状动脉前降支结扎法构建AMI大鼠模型,探究ALF对AMI大鼠心肌纤维化的影响和对SphK1/S1P信号通路的调节作用,以期改善AMI患者心肌纤维化和心脏功能的相关药物开发提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

RT-6100型酶标仪购自深圳雷杜生命科学股份有限公司;Gel Doc EZ型凝胶成像仪购自美国Bio-Rad公司;BL-A420型动物心电图机购自上海精密科学仪器有限

公司;Vero-2100型彩色多普勒动物超声诊断仪购自加拿大Visual Sonics公司;ALC-V8S型小动物呼吸机购自上海奥尔科特生物技术有限公司。

1.2 主要药品与试剂

盐酸阿芬太尼注射液[国药准字H20203054,批号20220105,规格2 mL:1 mg(按 $C_{21}H_{32}N_6O_3$ 计)]购自宜昌人福药业有限责任公司;SphK1激活剂K6PC-5对照品(批号205632,纯度 $\geq 98\%$)购自美国MedChemExpress公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒、2,3,5-氯代三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride, TTC)染色试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;Masson染色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司;心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTn I)、脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒均购自北京博奥森生物科技有限公司;兔源I型胶原蛋白(collagen I)、collagen III、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、SphK1、S1P、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG二抗(货号分别为72026S、81375S、40994S、12071S、4060S、2118S、2729S)均购自美国Cell Signaling Technology公司。

1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠75只,体重200~220 g,购自华中科技大学动物实验中心[动物生产许可证号SCXK(鄂)2021-0009]。所有大鼠均饲养在SPF级动物房(温度21~25℃,相对湿度45%~60%,光照/黑暗每12 h循环)内,自由摄食、饮水,适应性饲养1周后开始后续实验。本研究方案经本院动物伦理委员会审核批准(批件号20220403512),符合动物实验3R原则。

2 方法

2.1 AMI动物模型的构建

参考相关文献^[10]方法,采用左冠状动脉前降支结扎法构建AMI大鼠模型:所有大鼠腹腔注射1%戊巴比妥

钠 30 mg/kg 麻醉,随机选取 60 只,固定后行气管插管,并连接小动物呼吸机和动物心电图机;开胸,于大鼠第 3、4 肋间分离肌肉后暴露心脏,在左冠状动脉前降支下方 2~3 mm 处作结扎处理。若大鼠心肌部分发白、收缩能力变弱、心电图显示 II 导联 ST 段抬高 0.2 V,表明 AMI 模型构建成功^[9]。取剩余 15 只大鼠,仅进行开/关胸操作,不作左冠状动脉前降支结扎,作为假手术组(Sham 组)。术后,所有大鼠尾静脉注射青霉素 1×10⁵ 单位/d,连续注射 3 d。

2.2 动物分组与干预

将造模成功的 60 只大鼠(均成功,无死亡)随机分为 AMI 模型组(Model 组)和低剂量 ALF 组(ALF-L 组,予 0.25 mg/kg ALF^[10])、高剂量 ALF 组(ALF-H 组,予 0.5 mg/kg ALF^[10])、高剂量 ALF+SphK1 激活剂组(ALF-H+K6PC-5 组,予 0.5 mg/kg ALF+1 μg/g K6PC-5^[11]),每组 15 只。各药物组大鼠腹腔注射相应药液(以生理盐水为溶剂),Sham 组和 Model 组大鼠腹腔注射生理盐水(注射体积与 ALP 各剂量组相同),每天 1 次,连续 4 周。

2.3 大鼠心功能检测

末次给药 12 h 后,所有大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉,采用彩色多普勒动物超声诊断仪(探头频率 15 MHz)检测其左室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室收缩期内径(left ventricular systolic diameter, LVSD)、左室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)。

2.4 大鼠心肌梗死情况检测

心脏功能检测完成后,所有大鼠于腹主动脉取血,血样于 4 °C 下放置 2 h 后低温离心 10 min,取上层血清,分装并保存于 -80 °C 下,待检。随机选取每组 5 只大鼠,摘除其心脏,沿冠状面制作切片(厚约 5 μm),严格按照 TTC 染色试剂盒说明书方法操作。使用显微镜观察其心肌梗死情况,并使用 Image pro 软件检测其心肌梗死面积。

2.5 大鼠心肌纤维化程度检测

随机选取每组另 5 只大鼠,摘除其心脏并置于 4% 多聚甲醛中固定。取上述固定的心肌组织适量,行常规石蜡包埋、切片(厚约 5 μm),严格按照 Masson 染色试剂盒说明书方法操作。封片后,使用显微镜观察其心肌纤维化改变并拍照,通过 Image J 软件计算其胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF),即蓝色胶原阳性区域面积占组织总面积的百分比。

2.6 大鼠心肌组织病理变化观察

另取“2.5”项下固定的大鼠心肌组织适量,行常规石蜡包埋、切片(厚约 5 μm),经 HE 染色后,使用显微镜观察其心肌组织的病理变化。

2.7 大鼠血清中 BNP、cTn I 水平检测

取“2.4”项下冻存的各组大鼠血清样品,严格按照相应 ELISA 试剂盒说明书方法操作,使用酶标仪检测其血清中 BNP、cTn I 水平。

2.8 大鼠心肌组织中 collagen I、collagen III、MMP-2、SphK1、S1P 蛋白表达情况检测

取每组剩余 5 只大鼠,摘除其心脏,冻存。取上述冻存的心肌组织适量,使用 RIPA 裂解液提取总蛋白并使用 BCA 法定量。取上述蛋白,经加热变性后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,并转移至聚偏二氟乙烯膜上,以胎牛血清于 37 °C 下封闭 2 h;加入 collagen I、collagen III、MMP-2、SphK1、S1P、GAPDH 一抗(稀释比例均为 1:1 000),于 4 °C 下孵育过夜;加入相应二抗(稀释比例为 1:3 000),于室温下孵育 2 h;使用 ECL 化学发光剂显影,并置于凝胶成像仪下成像。采用 Image Lab 软件,以 GAPDH 为内参,对目的蛋白的表达情况进行定量。

2.9 统计学方法

采用 Graph Pad Prism 7.0 软件对数据进行统计分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 ALF 对大鼠心功能的影响

与 Sham 组比较,Model 组大鼠 LVSP、LVFS、LVEF 均显著降低, LVSD 显著升高($P<0.05$)。与 Model 组比较,ALF-H 组大鼠 LVSP、LVFS、LVEF 均显著升高,且上述指标均显著高于 ALF-L 组;其 LVSD 显著降低,且该指标显著低于 ALF-L 组($P<0.05$)。与 ALF-H 组比较,ALF-H+K6PC-5 组大鼠 LVSP、LVFS、LVEF 均显著降低, LVSD 显著升高($P<0.05$)。结果见表 1 (1 mmHg=0.133 kPa)。

表 1 各组大鼠心功能指标的比较($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	LVSP/(mmHg)	LVFS/%	LVSD/mm	LVEF/%
Sham 组	158.46±6.63	57.33±6.05	32.82±3.16	85.94±6.50
Model 组	96.35±3.78 ^a	30.27±3.49 ^a	54.69±4.75 ^a	48.21±4.86 ^a
ALF-L 组	99.72±4.08	32.50±3.37	52.18±4.41	50.42±5.28
ALF-H 组	142.18±7.20 ^{bc}	52.06±5.34 ^{bc}	36.45±3.55 ^{bc}	78.38±7.40 ^{bc}
ALF-H+K6PC-5 组	115.93±6.15 ^d	36.49±3.32 ^d	49.52±4.63 ^d	58.22±5.57 ^d

a: 与 Sham 组比较, $P<0.05$; b: 与 Model 组比较, $P<0.05$; c: 与 ALF-L 组比较, $P<0.05$; d: 与 ALF-H 组比较, $P<0.05$ 。

3.2 ALF对大鼠心肌梗死面积、心肌组织CVF的影响

与Sham组比较,Model组大鼠心肌梗死面积、心肌组织CVF均显著增大或升高($P<0.05$);与Model组比较,ALF-H组大鼠心肌梗死面积、心肌组织CVF均显著缩小或降低,且上述指标均显著小于或低于ALF-L组($P<0.05$);与ALF-H组比较,ALF-H+K6PC-5组大鼠心肌梗死面积、心肌组织CVF均显著增大或升高($P<0.05$)。结果见表2、图1、图2。

表2 各组大鼠心肌梗死面积、心肌组织CVF的比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	心肌梗死面积/%	心肌组织CVF/%
Sham组	0	4.57±0.83
Model组	32.35±3.14 ^a	46.48±4.37 ^a
ALF-L组	31.84±3.45	44.43±4.24
ALF-H组	14.22±1.20 ^{bc}	16.50±1.77 ^{bc}
ALF-H+K6PC-5组	28.86±2.35 ^d	36.39±3.52 ^d

a: 与Sham组比较, $P<0.05$; b: 与Model组比较, $P<0.05$; c: 与ALF-L组比较, $P<0.05$; d: 与ALF-H组比较, $P<0.05$ 。

3.3 ALF对大鼠心肌组织病理变化的影响

Sham组大鼠心肌组织细胞排列整齐、结构完整,细胞核清晰,无明显坏死等病理改变;与Sham组比较,Model组大鼠心肌组织细胞排列紊乱,心肌细胞肥大,间隙增宽,细胞核染色不清晰,心肌纤维出现断裂,并可见

大量炎症细胞浸润;与Model组比较,ALF各剂量组大鼠心肌组织病理形态均有不同程度改善,心肌细胞损伤有所减轻,炎症细胞浸润有所减少,其中ALF-H组的改善较ALF-L组明显。与ALF-H组比较,ALF-H+K6PC-5组大鼠的心肌细胞损伤加重,炎症细胞浸润增多。结果见图3。

3.4 ALF对大鼠血清中BNP、cTn I水平的影响

与Sham组比较,Model组大鼠血清中BNP、cTn I水平均显著升高($P<0.05$)。与Model组比较,ALF-H组大鼠血清中BNP、cTn I水平均显著降低,且上述指标均显著低于ALF-L组($P<0.05$);与ALF-H组比较,ALF-H+K6PC-5组大鼠血清中BNP、cTn I水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表3。

3.5 ALF对各组大鼠心肌组织中collagen I、collagen III、MMP-2、SphK1、S1P蛋白表达的影响

与Sham组比较,Model组大鼠心肌组织中collagen I、collagen III、MMP-2、SphK1、S1P蛋白的表达水平均显著升高($P<0.05$)。与Model组比较,ALF-H组大鼠心肌组织中上述蛋白的表达水平均显著降低,且上述指标均显著低于ALF-L组($P<0.05$);与ALF-H组比较,ALF-H+K6PC-5组大鼠心肌组织中上述蛋白的表达水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表4、图4。

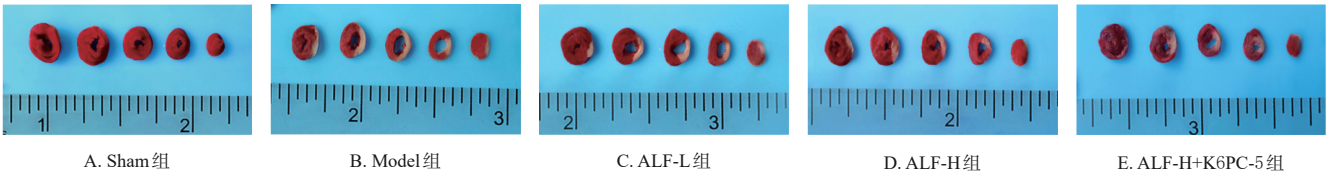


图1 各组大鼠的心肌梗死情况(TTC染色法)

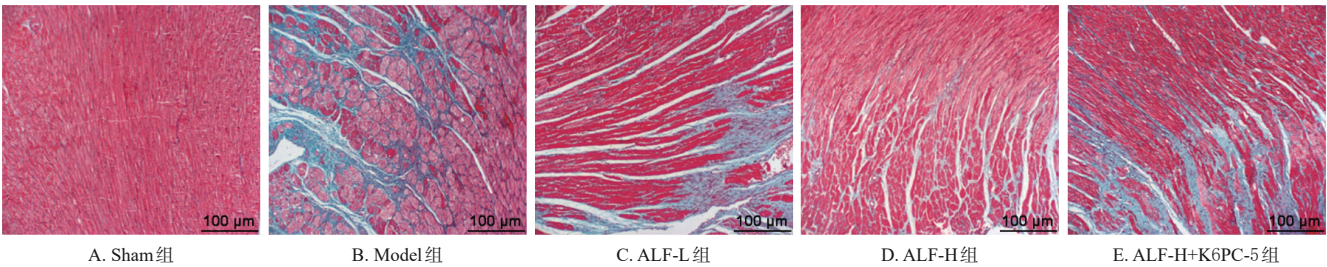
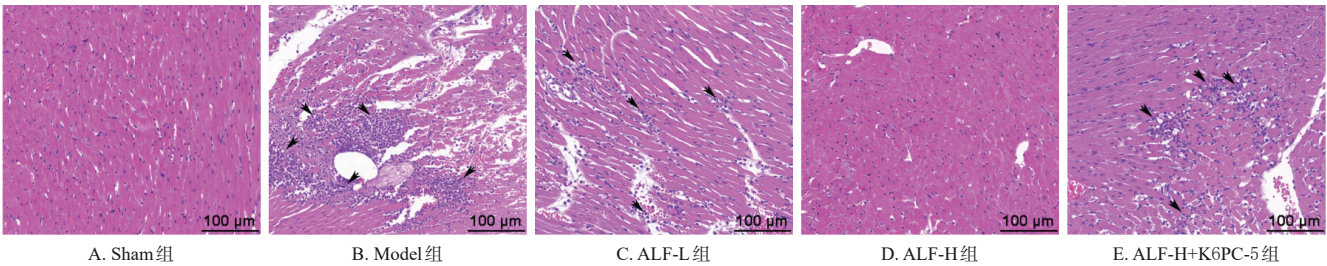


图2 各组大鼠的心肌组织纤维化程度(Masson染色法)



→:炎症细胞浸润。

图3 各组大鼠的心肌组织病理变化(HE染色法)

表3 各组大鼠血清中BNP、cTn I水平的比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

组别	BNP/(pg/mL)	cTn I/(pg/mL)
Sham组	428.16±18.47	8.69±0.92
Model组	745.42±23.65 ^a	42.55±4.83 ^a
ALF-L组	740.21±20.79	41.08±4.23
ALF-H组	505.63±16.80 ^{bc}	14.50±1.69 ^{bc}
ALF-H+K6PC-5组	682.75±21.66 ^d	36.29±3.58 ^d

a: 与Sham组比较, $P<0.05$; b: 与Model组比较, $P<0.05$; c: 与ALF-L组比较, $P<0.05$; d: 与ALF-H组比较, $P<0.05$ 。

表4 各组大鼠心肌组织中collagen I、collagen III、MMP-2、SphK1、S1P蛋白表达水平的比较($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	collagen I/GAPDH	collagen III/GAPDH	MMP-2/GAPDH	SphK1/GAPDH	S1P/GAPDH
Sham组	0.30±0.03	0.33±0.03	0.36±0.04	0.25±0.03	0.22±0.02
Model组	0.85±0.08 ^a	0.89±0.09 ^a	0.94±0.09 ^a	0.74±0.07 ^a	0.70±0.07 ^a
ALF-L组	0.82±0.09	0.87±0.09	0.92±0.09	0.72±0.07	0.68±0.07
ALF-H组	0.37±0.04 ^{bc}	0.48±0.05 ^{bc}	0.52±0.05 ^{bc}	0.40±0.04 ^{bc}	0.36±0.04 ^{bc}
ALF-H+K6PC-5组	0.69±0.07 ^d	0.78±0.08 ^d	0.81±0.08 ^d	0.65±0.07 ^d	0.57±0.06 ^d

a: 与Sham组比较, $P<0.05$; b: 与Model组比较, $P<0.05$; c: 与ALF-L组比较, $P<0.05$; d: 与ALF-H组比较, $P<0.05$ 。

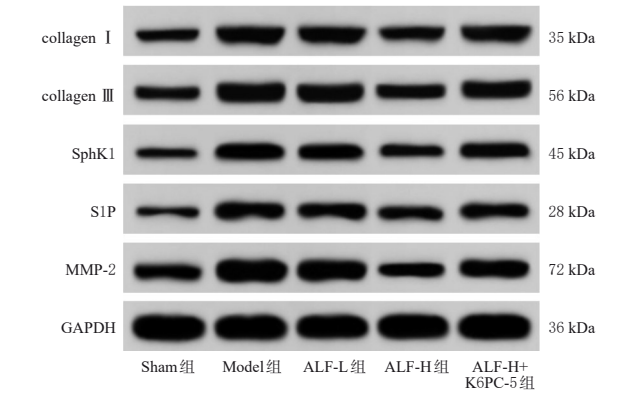


图4 各组大鼠心肌组织中collagen I、collagen III、MMP-2、SphK1、S1P蛋白的表达情况

4 讨论

AMI发生后,患者会出现慢性进行性心脏重构,主要涉及心肌纤维化、炎症反应、氧化应激、心肌细胞凋亡等过程,这些变化使心室形态结构发生改变,最终导致心脏功能障碍。有研究指出,心肌纤维化是导致心力衰竭甚至患者死亡的主要原因^[3-4]。因此,开发新型药物减轻AMI患者心肌纤维化,对于治疗AMI和改善患者预后具有重要意义。

BNP是评价AMI患者心功能的生物标志物,其水平升高可提示患者AMI梗死区面积增大^[12]。cTn I是心肌细胞损伤的特异性血清标志物之一,能一定程度地反映AMI的病理进程^[13]。AMI患者心肌成纤维细胞异常增殖,由该细胞分泌的collagen I、collagen III大量沉积,进而促进了心肌纤维化的发生、发展^[14]。MMP-2能影响心肌胶原的表达,进而影响心肌纤维化的进程^[15]。本研

究通过左冠状动脉前降支结扎法构建大鼠AMI模型。结果显示,与Sham组比较,Model组大鼠LVSP、LVFS、LVEF均显著降低;LVSD,心肌梗死面积,心肌组织CVF,血清BNP、cTn I水平,心肌组织中collagen I、collagen III、MMP-2蛋白表达水平均显著升高或增大。HE染色结果显示,Model组大鼠心肌组织细胞排列紊乱,心肌细胞肥大,间隙增宽,细胞核染色不清晰,心肌纤维出现断裂,并可见大量炎症细胞浸润;同时,TTC染色、Masson染色结果显示,Model组大鼠出现了明显的心肌梗死和心肌纤维化,提示AMI大鼠存在明显的心肌纤维化改变和心功能受损。

ALF是临床常用的镇静、镇痛药物。有研究者发现,该药在改善心脏功能方面有积极作用,但相关研究有限且主要集中于心肌缺血/再灌注损伤领域,如Wang等^[16]研究发现,一些麻醉剂(如ALF、吗啡、丙泊酚等)对保护心脏免受心肌缺血/再灌注损伤具有重要作用;Zhang等^[17]研究发现,同为芬太尼衍生物的瑞芬太尼能通过微RNA-206-3p/Toll样受体4/核因子 κ B信号轴来改善大鼠的心肌缺血/再灌注损伤。本研究结果显示,与Model组比较,ALF-H组大鼠LVSP、LVFS、LVEF均显著升高;LVSD,心肌梗死面积,心肌组织CVF,血清BNP、cTn I水平,心肌组织中collagen I、collagen III、MMP-2蛋白表达水平均显著降低或缩小;心肌组织病理改变有所缓解,心肌细胞损伤有所减轻,炎症细胞浸润有所减少。这说明ALF能减轻AMI大鼠的心肌纤维化。

S1P是一种具有生物活性的鞘脂代谢物,由高度保守的SphK1将鞘氨醇磷酸化而成,SphK1/S1P信号通路可参与纤维化、炎症等形成^[7-9]。Wu等^[18]研究发现,抑制SphK1/S1P信号通路可有助于减轻心肌梗死大鼠的心肌损伤,改善心脏功能,降低纤维化和炎症水平;Zhang等^[19]研究发现,抑制SphK1/S1P信号通路可在体内与体外水平上改善肺纤维化。本研究结果显示,AMI模型大鼠心肌组织中SphK1、S1P蛋白的表达水平均显著升高,说明SphK1/S1P信号通路在AMI大鼠体内处于激活状态;经高剂量ALF处理后,大鼠心肌组织中SphK1、S1P蛋白的表达水平均显著降低,表明高剂量ALF可抑制SphK1/S1P信号通路激活。为进一步验证该通路在ALF抗心肌纤维化中的作用,本研究加入了SphK1激活剂K6PC-5。结果显示,K6PC-5可显著逆转高剂量ALF对AMI大鼠心肌纤维化的改善作用,提示ALF的上述作用与抑制SphK1/S1P信号通路有关。

综上所述,ALF可减轻AMI大鼠心肌纤维化,改善其心功能,该作用可能与抑制SphK1/S1P信号通路有

关,可为AMI新型治疗药物的开发提供参考。然而,ALF减轻AMI大鼠心肌纤维化可能还涉及其他分子机制,尚有待进一步探索。

参考文献

- [1] LI J, CAI S X, HE Q, et al. Intravenous miR-144 reduces left ventricular remodeling after myocardial infarction[J]. Basic Res Cardiol, 2018, 113(5):36.
- [2] GULATI R, BEHFAR A, NARULA J, et al. Acute myocardial infarction in young individuals[J]. Mayo Clin Proc, 2020, 95(1):136-156.
- [3] KAPUR N K, THAYER K L, ZWECK E. Cardiogenic shock in the setting of acute myocardial infarction[J]. Methodist Debaque Cardiovasc J, 2020, 16(1):16-21.
- [4] DEFILIPPIS A P, CHAPMAN A R, MILLS N L, et al. Assessment and treatment of patients with type 2 myocardial infarction and acute nonischemic myocardial injury[J]. Circulation, 2019, 140(20):1661-1678.
- [5] TAYLOR A, STONE C. Alfentanil conversion ratios and successful analgesia[J]. BMJ Support Palliat Care, 2022: bmjspcare-bmjsp2022-003621.
- [6] SABOURDIN N, DIARRA C, WOLK R, et al. Pupillary pain index changes after a standardized bolus of alfentanil under sevoflurane anesthesia: first evaluation of a new pupillometric index to assess the level of analgesia during general anesthesia[J]. Anesth Analg, 2019, 128(3):467-474.
- [7] NAGAHASHI M, YAMADA A, KATSUTA E, et al. Targeting the SphK1/S1P/S1PR1 axis that links obesity, chronic inflammation, and breast cancer metastasis[J]. Cancer Res, 2018, 78(7):1713-1725.
- [8] WANG D D, LV L Y, XU Y, et al. Cardioprotection of *Panax notoginseng* saponins against acute myocardial infarction and heart failure through inducing autophagy[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 136:111287.
- [9] SONG N X, LU D Y, WU G S, et al. Serum proteomic analysis reveals the cardioprotective effects of Shexiang baixin pill and Suxiao jiuxin pill in a rat model of acute myocardial infarction[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 293:115279.
- [10] BAEHR C, ROBINSON C, KASSICK A, et al. Preclinical efficacy and selectivity of vaccines targeting fentanyl, alfentanil, sufentanil, and acetylfentanyl in rats[J]. ACS Omega, 2022, 7(19):16584-16592.
- [11] SHAO J J, PENG Y, WANG L M, et al. Activation of SphK1 by K6PC-5 inhibits oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced myocardial cell death[J]. DNA Cell Biol, 2015, 34(11):669-676.
- [12] OKAMOTO R, ALI Y, HASHIZUME R, et al. BNP as a major player in the heart-kidney connection[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(14):3581.
- [13] BIESIADECKI B J, WESTFALL M V. Troponin I modulation of cardiac performance: plasticity in the survival switch[J]. Arch Biochem Biophys, 2019, 664:9-14.
- [14] YU Y X, YIN G T, BAO S S, et al. Kinetic alterations of collagen and elastic fibres and their association with cardiac function in acute myocardial infarction[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(3):3519-3526.
- [15] ZHOU L, KOU D Q. Correlation between acute myocardial infarction complicated with cerebral infarction and expression levels of MMP-2 and MMP-9[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(1):297-302.
- [16] 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]. Biomed Pharmacother, 2022, 154:113572.
- [17] ZHANG D Y, WANG Q, QIU X B, et al. Remifentanyl protects heart from myocardial ischemia/reperfusion(I/R) injury via miR-206-3p/TLR4/NF- κ B signalling axis[J]. J Pharm Pharmacol, 2022, 74(2):282-291.
- [18] WU X K, XU J W, LI X Y, et al. Inhibition of SphK1/S1P signaling pathway alleviates fibrosis and inflammation of rat myocardium after myocardial infarction[J]. Comput Math Methods Med, 2022, 2022:5985375.
- [19] ZHANG X C, CAI Y L, ZHANG W, et al. Quercetin ameliorates pulmonary fibrosis by inhibiting SphK1/S1P signaling[J]. Biochim Biol Cell, 2018, 96(6):742-751.

(收稿日期:2023-09-11 修回日期:2024-02-05)

(编辑:张元媛)