

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.31.002
文章编号: 1005-8982 (2018) 31-0007-07

美托洛尔对急性心肌梗死大鼠心肌损伤 及 c-fos 信号通路的影响

徐燕

(北京王府中西医结合医院 心内科, 北京 100049)

摘要: 目的 从 c-fos 信号通路探究美托洛尔减轻急性心肌梗死 (AMI) 大鼠心肌损伤的作用机制。**方法** SPF 级 SD 雄性大鼠 150 只, 其中 128 只给予结扎左冠状动脉前降支复制 AMI 动物模型, 成功复制 90 只, 死亡 38 只, 将符合 AMI 模型的 90 只大鼠随机分为模型组、肝素组及美托洛尔组, 每组各 30 只。另外 22 只大鼠大鼠仅穿线但不结扎作为假手术组。术后 24 h, 美托洛尔组大鼠每天同一时间给予 0.1% 美托洛尔生理盐水 10 mg/(kg·d) 灌胃, 肝素组给予肝素 1 250 u/kg 皮下注射, 其他各组给予等体积生理盐水灌胃, 1 次/d, 共用药 4 周。术后 48 h 和 4 周, 分别超声检测大鼠心率 (HR)、射血分数 (EF)、短轴缩短率 (FS)、左心室舒张末期内径 (LVIDd)、左心室收缩末期内径 (LVIDs) 变化。术后 4 周, Masson 法检测心肌梗死面积, TUNEL 法检测心肌梗死边缘的凋亡细胞, 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测 c-fos、ERK1、ERK2 mRNA 表达, Western blot 检测 c-fos、ERK1/2、p-ERK1/2 蛋白表达。**结果** 术后 48 h 和 4 周, 与模型组比较, 肝素组和美托洛尔组治疗能使大鼠心率下降 ($P < 0.05$)。术后 4 周, 与模型组比较, 肝素组和美托洛尔组大鼠心脏 EF、FS 值均升高 ($P < 0.05$), 且大鼠心脏 LVIDd、LVIDs 值降低 ($P < 0.05$)。治疗后肝素组和美托洛尔组大鼠心肌梗死面积减小 ($P < 0.05$)。术后 4 周, 与模型组比较, 肝素组和美托洛尔组蓝色胶原减少, 心肌纤维化水平降低。TUNEL 结果显示, 治疗后肝素组和美托洛尔组大鼠心肌梗死周边细胞的凋亡率降低 ($P < 0.05$)。qRT-PCR 结果显示, 治疗后肝素组和美托洛尔组大鼠心肌细胞 c-fos、ERK1、ERK2 的 mRNA 表达低于模型组 ($P < 0.05$)。Western blot 结果显示, ERK1/2 蛋白表达各组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗后肝素组和美托洛尔组大鼠心肌细胞 c-fos、p-ERK1/2 蛋白表达低于模型组 ($P < 0.05$)。**结论** 美托洛尔能明显减轻大鼠 AMI 后心肌损伤程度, 其作用机制可能与 p-ERK1/2-c-fos 途径受到抑制有关。

关键词: 美托洛尔; 心肌梗死; c-fos 信号通路; 心肌损伤

中图分类号: R-332; R542.22

文献标识码: A

Effect of Metoprolol on myocardial injury and c-fos signaling pathway in rats with acute myocardial infarction

Yan Xu

(Department of Cardiology, Beijing Royal Integrative Medicine Hospital, Beijing 100049, China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of Metoprolol on myocardial injury in acute myocardial infarction (AMI) rats through c-fos signaling pathway. **Methods** Of 150 SPF class male SD rats, 128 rats were given ligation of the anterior descending branch of the left coronary artery to establish AMI animal models, and 22 rats were threaded but not ligated as the sham-operation group. The 90 rats consistent with the AMI model were randomly divided into three groups: a model group, a heparin group and a Metoprolol group, with 30 in each group. After 24 h, the rats in the Metoprolol group were given 0.1% Metoprolol normal saline 10 mg/(kg·d) through gastric lavage at the same time every day, the rats in the heparin group received subcutaneous injection of heparin (1,250 U/

kg), and the rats in the remaining group were given equal volume of normal saline for intragastric administration, once a day, all for 4 weeks. At the 48th h and the 4th week after operation, the changes of heart rate (HR), ejection fraction (EF), fraction shortening (FS), left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD) and left ventricular end-systolic diameter (LVESD) in the rats were measured by ultrasonography. At the 4th postoperative week, the area of myocardial infarction was measured using Masson method. Apoptotic cells at the edge of myocardial infarction was tested by TUNEL method. qRT-PCR was used to detect the expression levels of *c-fos*, *ERK1* and *ERK2* mRNAs. And the protein expression levels of c-Fos, ERK1/2 and p-ERK1/2 were detected using Western blot. **Results** Compared with the model group, heparin and Metoprolol reduced heart rate significantly at the 48th h and the 4th week after AMI ($P < 0.05$). In the 4th week after surgery, compared with the model group, the EF and FS values increased ($P < 0.05$), while LVEDD and LVESD reduced in the heparin group and the Metoprolol group ($P < 0.05$). The area of myocardial infarction decreased significantly after treatment with heparin or Metoprolol ($P < 0.05$). After 4 weeks, compared with the model group, blue collagen decreased and myocardial fibrosis level also decreased in the heparin and Metoprolol groups. TUNEL results showed the apoptosis rate of the myocardial cells around the infarction areas of the rats decreased significantly after heparin or Metoprolol treatment ($P < 0.05$). The results of qRT-PCR showed *c-fos*, *ERK1* and *ERK2* mRNA expression levels in the cardiac myocytes of the rats after heparin or Metoprolol treatment were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). Western blot showed that ERK1/2 protein expression level had no significant difference among the groups ($P > 0.05$); however, c-fos and p-ERK1/2 protein expression levels in the rat cardiomyocytes of the heparin and Metoprolol groups were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). **Conclusions** Metoprolol can obviously alleviate myocardial damage after AMI in rats, and the mechanism may be related to the inhibition of p-ERK1/2-c-fos pathway.

Keywords: Metoprolol; myocardial infarction; c-fos signaling pathway

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是冠状动脉突发持续缺血缺氧而造成的心肌坏死急症,严重影响患者身心健康^[1]。有关研究认为^[2],原癌基因 *c-fos* 与心血管疾病密切相关, *c-fos* 是细胞响应外界刺激最先表达的基因,其编码蛋白 c-fos 不能直接发挥作用,只有与 c-Jun 蛋白结合成激活蛋白转录因子 1 (activator protein transcription factor-1, AP-1),才能激活靶基因的转录表达。突发心肌梗死时, *c-fos* 能即刻快速表达,它在将刺激转换为胞内信号过程中发挥很重要的作用^[3]。MAPK 家族成员 ERK1/2 (extracellular regulated protein kinases 1/2) 是将胞外刺激信号传递到胞内的共同通路, ERK1/2 自我磷酸化后可通过磷酸化 Elk-1 (Ets-like protein-1),进而诱导 *c-fos* 的转录^[4]。美托洛尔是临床常用选择性 β_1 -受体阻滞药,其能降低心脏做功从而减少心肌需氧,在治疗 AMI 时,它能有效缓解胸痛,缩小梗死面积,延缓心力衰竭进程,但目前关于美托洛尔治疗 AMI 的具体作用机制尚不完全明确^[5-6]。本研究通过复制 AMI 大鼠模型,在 AMI 大鼠服用美托洛尔后检测 ERK1、ERK2、*c-fos* 的表达情况,探究美托洛尔减轻 AMI 大鼠心肌损伤的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 SPF 级 SD 雄性大鼠 150 只,平均体重 (328 ± 20) g,购自北京维通利华公司。

1.1.2 主要试剂和仪器 酒石酸美托洛尔 (英国阿斯利康制药公司,批准文号:国药准字 H32025390)。肝素钠注射液 (南京新百药业有限公司,批准文号:国药准字 H32025851)。RNA 提取试剂盒 (美国 Invitrogen 公司)。buffer、dNTPs、RNase 抑制剂、M-MLV [宝生物工程 (大连) 有限公司]。蛋白提取试剂 (南京凯基生物公司)。c-Fos、ERK1/2、p-ERK1/2 兔抗大鼠 IgG 溶液 (一抗溶液) (美国 Sigma 公司)。碱磷酶标记山羊抗兔 IgG 溶液 (二抗溶液) (美国 Sigma 公司)。实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 仪 (美国 Beckman Couhe 公司),GIS-2020 数码图像分析系统 (上海精密仪器仪表有限公司)。

1.2 动物模型复制

本研究参考尹倪等^[7]方法复制 AMI 模型。从 150 只大鼠中随机取 128 只复制 AMI 模型,用 1% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔麻醉,仰卧固定于手术台后气管插管,连接 SAR-830 小动物呼吸机 (美国 CWE 公司)

辅助呼吸。于胸部 4、5 肋间开胸, 在肺动脉圆锥和左心耳间下方 1 ~ 2 mm 处迅速结扎左冠状动脉前降支, 缝合伤口, 撤走呼吸机。12 导联同步记录心电图仪监测大鼠心电图示 I、II、III、aVR、aVL、aVF 导联 ST 段抬高 ≤ 0.5 mV, 确定复制模型成功。为防止感染, 术后 3 d 内腹腔注射青霉素。剩余 22 只行假手术, 仅在左冠状动脉前降支穿线而不结扎, 其他操作同上。

1.3 分组与给药处理

128 只大鼠中成功复制 90 只, 死亡 38 只, 将符合 AMI 模型的 90 只 AMI 大鼠随机分为模型组、肝素组及美托洛尔组, 每组各 30 只。另外 22 只行假手术的大鼠为假手术组。美托洛尔组在术后 24 h 直接灌胃给予 0.1% 美托洛尔生理盐水 10 mg/(kg·d), 肝素组皮下注射给予肝素 1 250 u/kg, 模型组和假手术组直接灌胃给予等量生理盐水, 所有组均为 10 ml/kg, 1 次/d。

1.4 超声心动图检测

术后 48 h 和 4 周, 将大鼠用 1% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔麻醉, 仰卧固定, 采用高分辨率超声仪检测大鼠心率 (heart rate, HR)、射血分数 (ejection fraction, EF)、短轴缩短率 (fractional shortening, FS)、左心室舒张末期内径 (left ventricular end-diastolic

dimension, LVIDd)、左心室收缩末期内径 (left ventricular end-systolic dimension, LVIDs) 各值, 测量 3 次, 求取平均值。

1.5 心脏标本的处理

术后 4 周超声检测结束后处死大鼠, 剖胸取出心脏, 用于制作心脏标本。每组大鼠的心脏标本随机分为两部分: 液氮冻存与灌注 4% 多聚甲醛固定, 将心脏标本沿左室长轴垂直方向切成 3 份, 取中间部分制作成 Masson 病理切片, 然后用显微镜图像处理系统扫描切片, 依次量取左室截面外周长、瘢痕弧长与内周长, 心肌梗死面积 (%) = $2 \times \text{瘢痕弧长} / (\text{外周长} + \text{内周长}) \times 100\%$ 。

1.6 TUNEL 法检测心肌凋亡细胞

每组剖胸取出心脏后, 用 PBS 洗净血液, 浸没于 4% 多聚甲醛中, 过夜, 用 30% 蔗糖使心脏脱水下沉, 接着在冷冻下进行切片, TUNEL 染色后, 用荧光显微镜观察并拍照。

1.7 qRT-PCR 检测 *c-fos*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 表达

以 *GAPDH* 作为内参基因, 用 NCBI Primer Blast 设计定量引物序列 (由上海生工生物工程股份有限公司合成), 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	正向引物	反向引物	长度 /bp
<i>GAPDH</i>	5'-GAAGCTGAAGGTCGGAGTC-3'	5'-GAAGATGCTGATGGGATTTTC-3'	386
<i>c-fos</i>	5'-GTCTTCTTGTCTTTCACCTACCC-3'	5'-CCCTGCCTTCTCTGACTGCT-3'	384
<i>ERK1</i>	5'-GGCACCAACCATTGAGCAGA-3'	5'-GATCATTGCTGAGGTGCTGTGTC-3'	373
<i>ERK2</i>	5'-CTACACGCAGCTGCAGTACATC-3'	5'-GTGCGCTGACAGTAGGTTTGA-3'	394

每组 4 只液氮冷冻保存的心脏组织, 利用 Trizol 法提取 RNA, 经琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 并用紫外分光光度计检测其纯度及浓度。取 1.0 μ g 总 RNA, 加入 Oligo (dT) 1.0 μ l, 加入 13 μ l RNase-free H₂O, 混匀后, 于 85 $^{\circ}$ C 金属浴中保温 5 min 使 RNA 变性, 然后放在冰上 1 min 以防 RNA 复性; 然后继续加入 4.0 μ l 5 \times buffer、2.0 μ l 10 mmol/L dNTPs、0.5 μ l RNase 抑制剂、0.5 μ l M-MLV, 混匀后 30 $^{\circ}$ C 保温 10 min, 42 $^{\circ}$ C 保温 1 h, 85 $^{\circ}$ C 保温 10 min。合成 cDNA 第一链后, 取 5 μ l cDNA (稀释 20 倍) 为模板, 加入 10 μ l 2 \times SYBR Green qPCR Super Mix、0.5 μ l *GAPDH* (*c-fos*、*ERK1* 或 *ERK2*) 正反向引物、4.0~20 μ l ddH₂O,

在 qRT-PCR 仪上扩增。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s 预变性, 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 35 s, 扩增 40 个循环。实验进行 3 次生物学重复。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析 qRT-PCR 结果, $\Delta Ct = (Ct \text{ 目的基因} - Ct \text{ 内参基因}) \pm s$; $\Delta\Delta Ct = (\Delta Ct \text{ 目的基因} - \Delta Ct \text{ 内参基因}) \pm s$ 。

1.8 Western blot 检测

每组取 4 只大鼠心脏组织, 充分研磨后使用组织蛋白提取试剂提取蛋白质。每组样品取 50 μ l, 用 Lowry 法进行蛋白定量, 调节好蛋白浓度; 将胞浆蛋白通过 SDS-PAGE 分离上清液, 把分离的蛋白质转印到硝酸纤维素膜上; 将膜在 1 \times TBS 中浸泡 10 min 后, 在 5% 牛血清蛋白溶液中封闭 1 h, 用 1 \times TTBS

洗涤 2 次,接着将膜分别置于在 1 : 100 的 c-Fos、ERK1/2、p-ERK1/2 兔抗大鼠 IgG 溶液(一抗溶液)中,4℃ 孵育过夜;次晨将膜依次用 1×TBS、1×TTBS 快速清洗后,转移到 1 : 1 000 碱磷酶标记山羊抗兔 IgG 溶液(二抗溶液)中在室温下孵育 2 h,依次用 1×TTBS、1×TBS 清洗后,用新配制的显色液进行显色,待出现清晰的条带后终止,最后使用 GIS-2020 数码图像分析系统扫描并分析蛋白杂交条带。

1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件,计量资料符合正态分布以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,差异有统计学意义后,两组间均数比较采用 SNK- q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型成功复制

从 150 只大鼠中随机取 128 只复制 AMI 模型,成功复制 90 只,死亡 38 只,且多在复制后 24 h 内死亡;其余 22 只大鼠行假手术,死亡 2 只。将复制成功的

90 只大鼠随机分为模型组、肝素组和美托洛尔组,每组各 30 只。AMI 大鼠行肉眼观察及心电图检测发现,结扎左冠状动脉前降支后,结扎处下方心肌颜色即刻变浅,局部心肌活动变缓,心电图各肢体导联 ST 段抬高 ≤ 0.5 mV,为复制模型成功的表现。

2.2 美托洛尔对 AMI 大鼠左心室功能的影响

AMI 术后 48 h 和 4 周,与假手术组、模型组比较,肝素组和美托洛尔组大鼠心率下降 ($P < 0.05$)。术后 48 h,与假手术组比较,模型组、肝素组和美托洛尔组大鼠心脏 EF、FS 值均下降 ($P < 0.05$)。术后 4 周,与模型组比较,肝素组和美托洛尔组大鼠心脏 EF、FS 值均提高 ($P < 0.05$)。术后 48 h,与假手术组比较,模型组、肝素组和美托洛尔组大鼠心脏 LVIDd、LVIDs 均增大 ($P < 0.05$)。术后 4 周,与模型组比较,肝素组和美托洛尔组大鼠心脏 LVIDd、LVIDs 均降低 ($P < 0.05$)。美托洛尔组超声心动图各指标与肝素组间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。假手术组未出现心肌梗死,与模型组比较,肝素组和美托洛尔组大鼠心肌梗死面积减小 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠超声心动图检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	HR/(次/min)	EF/%	FS/%	LVIDd/mm	LVIDs/mm	心肌梗死面积/%
AMI 术后 48 h						
假手术组 ($n=20$)	476.5 ± 20.1	97.1 ± 1.3	63.4 ± 5.3	6.3 ± 0.9	2.0 ± 0.5	0
模型组 ($n=30$)	485.2 ± 17.0	65.5 ± 6.9 ¹⁾	31.2 ± 3.1 ¹⁾	7.2 ± 0.7 ¹⁾	4.8 ± 0.7 ¹⁾	58.3 ± 3.1 ¹⁾
肝素组 ($n=30$)	413.7 ± 23.9 ¹⁾²⁾	65.1 ± 8.2 ¹⁾	31.7 ± 4.8 ¹⁾	7.4 ± 1.1 ¹⁾	4.7 ± 0.7 ¹⁾	57.5 ± 4.6 ¹⁾
美托洛尔组 ($n=30$)	418.6 ± 25.7 ¹⁾²⁾	64.9 ± 7.3 ¹⁾	32.1 ± 4.6 ¹⁾	7.3 ± 0.9 ¹⁾	4.7 ± 0.6 ¹⁾	57.1 ± 4.3 ¹⁾
F 值	80.884	120.165	278.227	6.797	99.214	1 344.926
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AMI 术后 4 周						
假手术组 ($n=20$)	491.3 ± 36.5	97.9 ± 1.2	61.8 ± 7.3	6.4 ± 0.8	2.0 ± 0.6	0
模型组 ($n=30$)	481.5 ± 25.3	66.1 ± 4.3 ¹⁾	33.1 ± 5.0 ¹⁾	7.1 ± 0.9 ¹⁾	4.7 ± 0.5 ¹⁾	47.1 ± 5.2 ¹⁾
肝素组 ($n=30$)	372.4 ± 35.6 ¹⁾²⁾	87.3 ± 6.4 ¹⁾²⁾	54.2 ± 4.5 ¹⁾²⁾	6.4 ± 0.9 ²⁾	3.6 ± 0.8 ¹⁾²⁾	42.3 ± 4.0 ¹⁾
美托洛尔组 ($n=30$)	363.9 ± 38.1 ¹⁾²⁾	85.9 ± 6.0 ¹⁾²⁾	52.4 ± 4.1 ¹⁾²⁾	6.5 ± 1.1 ²⁾	3.5 ± 0.6 ¹⁾²⁾	41.2 ± 4.1 ¹⁾
F 值	108.626	174.619	150.853	3.661	71.965	643.338
P 值	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	0.000

注: 1) 与假手术组比较, $P < 0.05$; 2) 与模型组比较, $P < 0.05$

2.3 美托洛尔对 AMI 大鼠心肌损伤的影响

用显微镜观察 Masson 染色结果,红色代表正常心肌细胞,蓝色代表胶原纤维。术后 4 周,假手术组心肌细胞分布整齐,胶原增生不多。与假手术组比较,

模型组大鼠心肌梗死边缘的细胞杂乱分布,间质中大量胶原增生,心肌纤维化水平升高。与模型组比较,肝素组和美托洛尔组蓝色胶原减少,心肌纤维化水平降低。见图 1。

2.4 美托洛尔对 AMI 大鼠心肌细胞凋亡的影响

TUNEL 结果显示, AMI 术后 4 周, 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌梗死周边细胞的凋亡率增加

($P < 0.05$)。与模型组比较, 肝素组和美托洛尔组大鼠心肌梗死周边细胞的凋亡率降低 ($P < 0.05$)。见图 2。

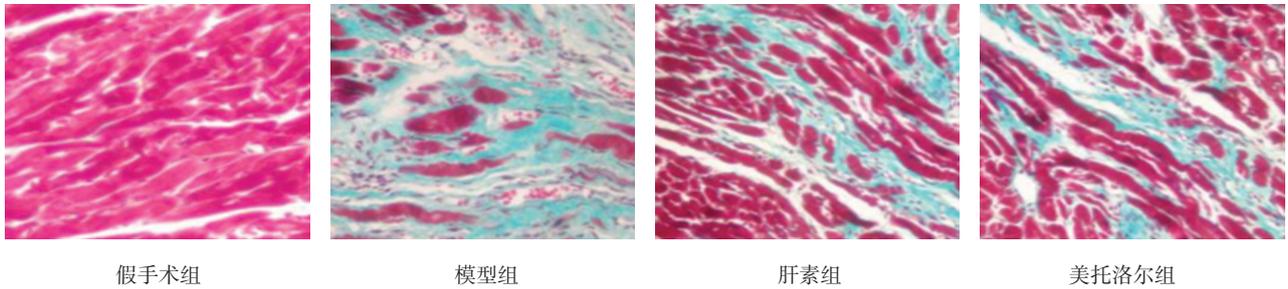
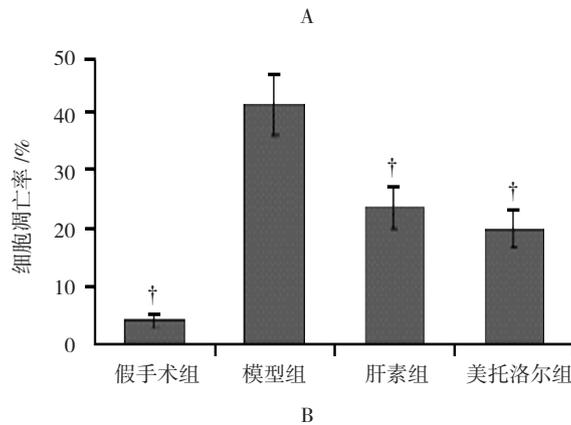
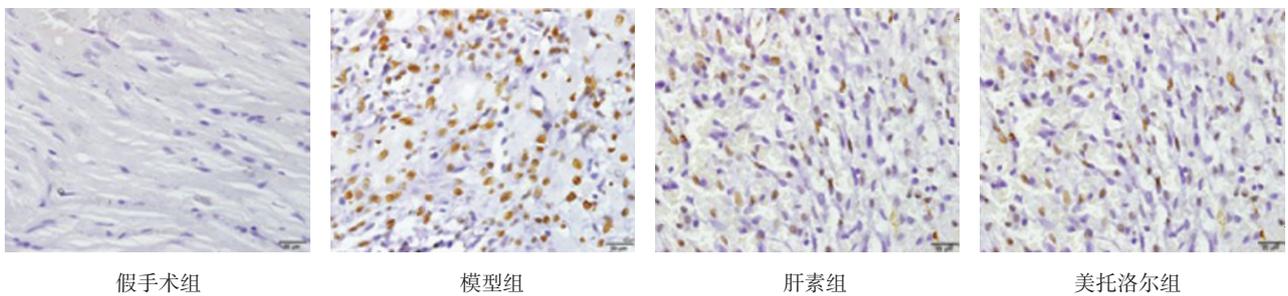


图 1 AMI 大鼠 4 周后心肌细胞 (Masson 染色 $\times 200$)



A: TUNEL 染色 ($\times 400$); B: 凋亡细胞数目。† 与模型组比较, $P < 0.05$

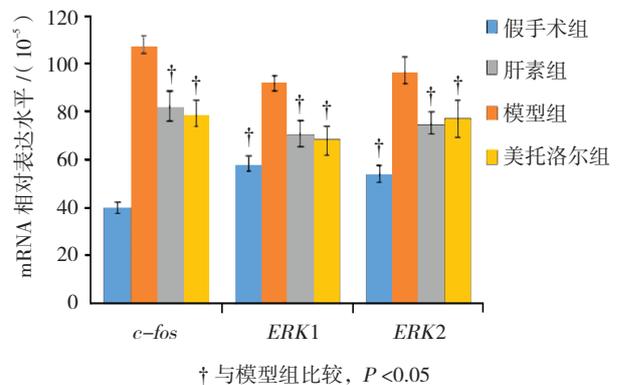
图 2 美托洛尔对 AMI 大鼠 4 周后心肌细胞凋亡的影响

2.5 美托洛尔对 AMI 大鼠心肌细胞 *c-fos*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 表达的影响

qRT-PCR 结果显示, AMI 术后 4 周, 模型组大鼠心肌细胞 *c-fos*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 表达高于假手术组 ($P < 0.05$); 肝素组、美托洛尔组大鼠心肌细胞 *c-fos*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 表达低于模型组 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.6 美托洛尔对 AMI 大鼠心肌细胞 *c-fos*、*ERK1/2* 及磷酸化 *ERK1/2* 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示, AMI 术后 4 周, *ERK1/2* 蛋白表达各组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。



† 与模型组比较, $P < 0.05$
图 3 AMI 大鼠 4 周后心肌细胞 *c-fos*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 表达

模型组大鼠心肌细胞 *c-fos*、p-ERK1/2 蛋白表达高于假手术组 ($P < 0.05$)。肝素组、美托洛尔组大鼠心肌细胞 *c-fos*、p-ERK1/2 蛋白表达低于模型组 ($P < 0.05$)。见图 4。

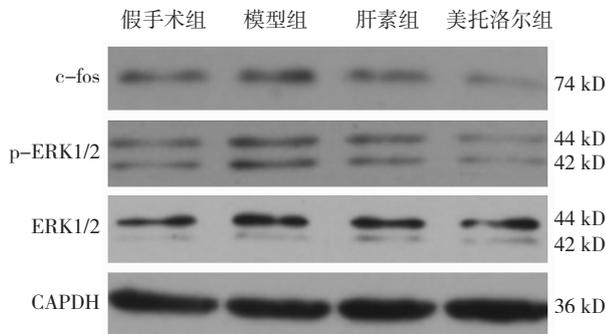


图 4 AMI 大鼠 4 周后心肌细胞 *c-fos*、ERK1/2、p-ERK1/2 蛋白表达

3 讨论

AMI 是一种很常见的心血管急症, 虽在西方国家最为常见, 但其在中国发病率逐年上升。世界卫生组织 (WHO) 预测, 到 2020 年 AMI 将成为全球第一大导致死亡原因^[8]。临床上常用 β -受体阻滞剂治疗 AMI, 其能拮抗儿茶酚胺与 β -肾上腺素受体竞争性结合, 从而阻断兴奋和激动的传递^[9-11]。美托洛尔作为一种选择性 β_1 -受体阻滞药, 在治疗 AMI 时能降低心脏做功, 减少心肌需氧, 进而减轻心肌损伤程度^[12-13]。本研究发现 AMI 术后左心室相关指数发生一系列的变化, 4 周后 Masson 和 TUNEL 结果显示: 肝素、美托洛尔治疗后心肌蓝色胶原减少, 心肌纤维化水平降低, 且大鼠心肌梗死周边细胞的凋亡率降低, 说明美托洛尔可以缓解 AMI 大鼠的心肌损伤程度。

c-fos 是一种原癌基因, 在细胞受到刺激后能即刻最先表达, 其编码的核磷蛋白 *c-fos* 不能单独起作用, 只有与 *c-Jun* 蛋白结合成异源二聚体 AP-1, 才能活化目标基因。*c-fos* 基因在正常的心肌、血管内皮和平滑肌中广泛存在, 参与细胞正常的生长发育过程, 在应激反应下有一定的组织保护作用, 但其过度表达可导致 AP-1 下游基因肿瘤坏死因子的表达, 造成细胞凋亡过度^[14-16]。研究发现^[17], *c-fos* 异常表达可能是动脉粥样硬化、心肌肥厚以及高血压的病因之一。大量研究表明^[18], 在突发心肌缺血时, *c-fos* 表达上升, 转入核内后与 *c-Jun* 结合成 AP-1 调节反向基因表达, 将外界信号转换入胞内长时间的细胞行为变

化。*c-fos* 启动子区主要有 cAMP 反应组件 (CRE)、血清反应组件 (SRE) 与 *sis* 诱导组件 (SIE), MAPK 家族成员 ERK1/2 与细胞的增殖、分化密切相关, 是将胞外刺激信号传递到胞内的共同通路, ERK1/2 自我磷酸化后可通过磷酸化 Elk-1, 从而促进三元复合物 SRE/SRF/Elk-1 的形成, 进而诱导 *c-fos* 的转录, 其中 SRF 是血清反应因子, 因此 ERK1/2 的表达及磷酸化是 *c-fos* 表达的先决条件之一^[19-21]。

本研究首先复制 AMI 大鼠模型, 超声显示 AMI 模型大鼠左心室指数发生显著的变化, qRT-PCR 结果显示心肌组织中 *c-fos*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 的表达增加, 这说明 AMI 后大鼠心脏的左心室出现了重塑现象。AMI 大鼠服用肝素、美托洛尔后, 与模型组相比, 左心室心率降低, 相关指数 EF、FS、LVIDd、LVIDs 发生变化程度较小, 心肌组织中蓝色胶原减少, 心肌纤维化水平降低, 细胞凋亡率下降, 同时 *c-fos*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 表达较低, *c-fos* 蛋白表达水平、ERK1/2 的磷酸化水平同样很低, 且差异有统计学意义, 这说明肝素、美托洛尔可以降低 *c-fos*、ERK1、ERK2 的表达及 ERK1/2 的磷酸化, 抑制信号在该通路上的传递。本研究结果进一步表明美托洛尔可减轻 AMI 大鼠后心肌损伤程度, 其作用机制可能与 p-ERK1/2-*c-fos* 相关途径受到抑制有关。

综上所述, 本研究通过结扎大鼠左冠状动脉前降支创建 AMI 模型, 采用美托洛尔治疗后, AMI 大鼠的心肌损伤程度减轻, *c-fos*、ERK1、ERK2 的表达水平及 ERK1/2 的磷酸化水平下降, 暗示美托洛尔作用机制可能与 p-ERK1/2-*c-fos* 相关途径受到抑制有关。然而 AMI 大鼠的心肌损伤发生、发展的相关因素很多、相关机制复杂, 美托洛尔缓解心肌损伤的作用机制还需继续深入的探究。

参 考 文 献:

- [1] 高晓津, 杨进刚, 杨跃进, 等. 中国急性心肌梗死患者心血管危险因素分析 [J]. 中国循环杂志, 2015, 30(3): 206-210.
- [2] 李斌, 陈晶. AP-1 及其 siRNA 对心肌细胞中 TGF- β_1 的影响 [J]. 动物医学进展, 2016, 37(12): 46-49.
- [3] 李凯, 张平, 周杰. 益气活血补肾方对大鼠脑缺血损伤后 *c-Fos*、*c-Jun* 表达影响的实验研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(1): 27-29.
- [4] DEGESE M S, TANOS T, NAIPAUER J, et al. An interplay between the p38 MAPK pathway and AUBPs regulates *c-fos* mRNA stability during mitogenic stimulation [J]. Biochem J, 2015, 467(1): 77-90.

- [5] 陈莹, 王晓霞, 王瑾, 等. 酒石酸美托洛尔静脉滴注联合口服对急性前壁心肌梗死患者左心室功能和不良心血管事件的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2017, 37(5): 249-251.
- [6] ZHANG S, ZHANG M, GOLDSTEIN S, et al. The effect of c-fos on acute myocardial infarction and the significance of metoprolol intervention in a rat model[J]. Cell Biochem Biophys, 2013, 65(2): 249-255.
- [7] 尹倪, 陈胜喜, 罗万俊, 等. 冠状动脉前降支结扎法制作大鼠急性心肌梗死模型[J]. 中国医师杂志, 2006, 8(9): 1193-1195.
- [8] FATHILMFM, ARSHAD MKM, GOPINATH SCB, et al. Diagnostics on acute myocardial infarction: Cardiac troponin biomarkers[J]. Biosensors Bioelectron, 2015, 70(8): 209-220.
- [9] 蒋桔泉, 丁世芳. 急性心肌梗死后 β 受体阻滞剂的应用进展[J]. 临床内科杂志, 2017, 34(4): 284-286.
- [10] 孙小军, 卢京. 美托洛尔联合曲美他嗪治疗冠心病心力衰竭的临床疗效观察[J]. 中国医院用药评价与分析, 2015, 15(3): 312-314.
- [11] 张志荣. 急性心肌梗死并首发心力衰竭患者预后的相关分析[J]. 心脑血管病防治, 2016, 16(4): 278-281.
- [12] 孙小军, 卢京. 美托洛尔联合曲美他嗪治疗冠心病心力衰竭的临床疗效观察[J]. 中国医院用药评价与分析, 2015, 15(3): 312-314.
- [13] 孙蕾, 刘长纲, 于波. 卡维地洛和美托洛尔治疗高血压的疗效及其对糖脂代谢影响观察[J]. 中国卫生产业, 2013, 10(36): 93.
- [14] WEEKES D, KASHIMA T G, ZANDUETA C, et al. Regulation of osteosarcoma cell lung metastasis by the c-fos/AP-1 target FGFR1[J]. Oncogene, 2016, 35(22): 2852-2861.
- [15] PENG B, ZHU H, MA L, et al. AP-1 transcription factors c-FOS and c-JUN mediate GnRH-induced cadherin-11 expression and trophoblast cell invasion[J]. Endocrinology, 2015, 156(6): 2269-2277.
- [16] YOSHIDA T, YAMASHITA K, WATANABE M, et al. The impact of c-Fos/Activator Protein-1 inhibition on allogeneic pancreatic islet transplantation[J]. Am J Transplant, 2015, 15(10): 2565-2575.
- [17] 尹兴忠, 赵冬梅, 田国忠, 等. 生长激素释放肽对慢性心衰大鼠心肌细胞 c-fos 表达的影响[J]. 中国老年学, 2017, 37(5): 1069-1070.
- [18] ZHANG S, ZHANG M, GOLDSTEIN S, et al. The effect of c-fos on acute myocardial infarction and the significance of metoprolol intervention in a rat model[J]. Cell Biochem Biophys, 2013, 65(2): 249-255.
- [19] TABATA M, TERAYAMA R, MARUHAMA K, et al. Differential induction of c-Fos and phosphorylated ERK by a noxious stimulus after peripheral nerve injury[J]. Int J Neurosci, 2017, 18(2): 1-11.
- [20] DEGESE M S, TANOS T, NAIPAUER J, et al. An interplay between the p38 MAPK pathway and AUBPs regulate c-fos mRNA stability during mitogenic stimulation[J]. Biochem J, 2015, 467(1): 77-90.
- [21] SHANG W, ZHAO L J, DONG X L, et al. Curcumin inhibits osteoclastogenic potential in PBMCs from rheumatoid arthritis patients via the suppression of MAPK/RANK/c-Fos/NFATc1 signaling pathways[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(4): 3620-3626.

(张西倩 编辑)