

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.07.007  
文章编号: 1005-8982 (2023) 07-0040-06

实验研究·论著

## 右美托咪定调控Nrf2/HO-1通路对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导 心肌细胞氧化应激损伤的作用研究\*

钱厚霖<sup>1</sup>, 周述芝<sup>2</sup>, 毕小波<sup>1</sup>, 龙翔<sup>1</sup>

(1. 西南医科大学附属医院 麻醉科, 四川 泸州 646000; 2. 雅安市人民医院 麻醉科, 四川 雅安 625000)

**摘要: 目的** 探讨右美托咪定调控核因子E2相关因子2(Nrf2)/血红素加氧酶1(HO-1)通路对过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)诱导心肌细胞氧化应激损伤的作用。**方法** 体外培养大鼠H9C2心肌细胞, 设置对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、1 μmol右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、5 μmol右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、10 μmol右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组。CCK-8法检测各组H9C2细胞增殖情况; 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组H9C2细胞丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平; 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测各组H9C2细胞Nrf2、HO-1 mRNA相对表达量; Western blotting检测各组H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白相对表达量。**结果** 与对照组比较, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组H9C2细胞存活率、SOD水平、Nrf2、HO-1 mRNA及蛋白相对表达量降低, MDA水平升高(P<0.05); 与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, 1 μmol右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、5 μmol右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、10 μmol右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组H9C2细胞存活率、SOD水平、Nrf2、HO-1 mRNA及蛋白相对表达量均升高, MDA水平降低(P<0.05), 且呈右美托咪定浓度依赖性。**结论** 右美托咪定可能通过激活Nrf2/HO-1通路, 发挥对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导心肌细胞氧化应激损伤的保护作用。

**关键词:** 缺血性心脏病; 心肌细胞; 氧化应激损伤; 右美托咪定; 核因子E2相关因子2/血红素加氧酶1通路

中图分类号: R542.2;R965.1

文献标识码: A

## Effect of dexmedetomidine regulating Nrf2/HO-1 pathway on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress injury in cardiomyocytes\*

Qian Hou-lin<sup>1</sup>, Zhou Shu-zhi<sup>2</sup>, Bi Xiao-bo<sup>1</sup>, Long Xiang<sup>1</sup>

(1. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Anesthesiology, Ya'an People's Hospital, Ya'an, Sichuan 625000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of dexmedetomidine on hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)-induced oxidative stress injury of cardiomyocytes by regulating the nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1) pathway. **Methods** Rat H9C2 cardiomyocytes were cultured in vitro, and the control group, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, 1 μmol dexmedetomidine + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, 5 μmol dexmedetomidine + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, 10 μmol dexmedetomidine + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group were set up. The proliferation of H9C2 cells was detected by CCK-8 method; the levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in H9C2 cell culture medium were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); the expressions of Nrf2, HO-1 mRNAs in H9C2 cells were detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR); and the expressions of Nrf2, HO-1 proteins in H9C2 cells were detected by Western blotting. **Results** Compared with the control group, the H9C2 cell survival rate, SOD level, Nrf2 mRNA, HO-1 mRNA, HO-1 protein expression levels in H<sub>2</sub>O group were decreased, and MDA level

收稿日期: 2023-01-19

\* 基金项目: 四川省医学(青年创新)科研课题项目(No:S21033)

were increased ( $P < 0.05$ ); compared with H<sub>2</sub>O group, the H9C2 cell survival rate, SOD level, Nrf2, HO-1 mRNA and protein expression levels in 1, 5, 10  $\mu\text{mol}$  dexmedetomidine + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> groups were increased, and MDA level were decreased ( $P < 0.05$ ); and dexmedetomidine was concentration-dependent. **Conclusion** Dexmedetomidine can protect cardiomyocytes from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - induced oxidative stress injury by activating Nrf2/HO-1 pathway.

**Keywords:** ischemic heart disease; cardiomyocytes; oxidative stress injury; dexmedetomidine; nuclear factor erythroid 2 related factor 2/heme oxygenase-1 pathway

缺血性心脏病指由于冠状循环改变、冠状动脉血流与心肌需求间不平衡而导致心肌发生损伤的心脏病<sup>[1]</sup>。临床上主要采用再灌注治疗缺血性心脏病,但血流再灌后会加重心肌组织损伤,即发生心肌缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤<sup>[2]</sup>。氧化应激是再灌注损伤中最重要的病理机制之一,它通过多种途径引起心肌细胞凋亡、自噬、炎症等损伤,从而引起不可逆的心肌细胞损伤和心功能障碍<sup>[3]</sup>。研究报道,心肌细胞氧化应激损伤涉及到多个生物学过程,如核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2 related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)通路的过度激活<sup>[4]</sup>。Nrf2/HO-1通路是细胞内参与抗氧化应激的重要通路,氧化应激过度激活后,氧自由基增多,刺激Nrf2表达上调,并识别HO-1的抗氧化反应元件,并启动HO-1表达,发挥抗氧化作用<sup>[5]</sup>。右美托咪定是一种 $\alpha_2$ 肾上腺素能受体激动剂,在麻醉、重症监护治疗中发挥镇静、镇痛作用,近年来研究发现,其对I/R过程具有保护作用<sup>[6-7]</sup>。此外,对Nrf2/HO-1通路的激活是右美托咪定发挥抗氧化作用的重要机制<sup>[8]</sup>。本研究采用过氧化氢(hydrogen peroxide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)诱导心肌细胞氧化应激损伤,探讨右美托咪定对此过程的影响,并分析其潜在机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞、试剂与仪器

大鼠H9C2细胞(美国模式培养物集存库,货号:FB0673)。DMEM培养基(德国Merck KGaA公司,货号:KL-P0032),右美托咪定注射液(江苏恩华药业股份有限公司),CCK-8试剂(日本同仁化学研究所,货号:CK-04),丙二醛(MDA)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉亚科因生物科技有限公司,货号:ABB-KTE71091-48T),超氧化物歧化酶(SOD)ELISA试剂盒(英国Abbexa公司,货号:abx585004),兔一抗Nrf2、HO-1、甘油醛-3-磷酸

脱氢酶(GAPDH)(英国Abcam公司,货号:ab89443、ab13243、ab181602),山羊抗兔二抗(美国Santa公司,货号:0295G-HRP)。ABI 7500实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)仪(美国Applied Biosystems公司),MODEL550酶标仪、ChemiDocXRS化学发光成像系统(美国Bio-Rad公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养与分组** H9C2细胞在含有10%胎牛血清和1%青/链霉素的DMEM培养基中于37℃、5%二氧化碳的培养箱中培养。待细胞生长到对数生长期后,将H9C2细胞接种于6孔培养板中( $1 \times 10^5$ 个/孔),分为对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组(200  $\mu\text{mol/L}$ 的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理24 h)、1  $\mu\text{mol/L}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组(用终浓度为1  $\mu\text{mol/L}$ 右美托咪定的DMEM培养基预处理30 min后,用200  $\mu\text{mol/L}$ 的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理24 h)、5  $\mu\text{mol/L}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组(用终浓度为5  $\mu\text{mol/L}$ 右美托咪定的DMEM培养基预处理30 min后,用200  $\mu\text{mol/L}$ 的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理24 h)、10  $\mu\text{mol/L}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组(用终浓度为10  $\mu\text{mol/L}$ 右美托咪定的DMEM培养基预处理30 min后,用200  $\mu\text{mol/L}$ 的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理24 h)。对照组用含10%胎牛血清的DMEM培养基培养。每组设6个复孔。

**1.2.2 CCK-8法检测细胞增殖** 培养48 h后,将各组H9C2细胞用CCK-8试剂孵育2 h,酶标仪检测光密度(OD)值,细胞存活率(%)= $\text{OD}_{\text{处理组}}/\text{OD}_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

**1.2.3 ELISA检测细胞MDA、SOD水平** 收集各组细胞培养液,采用ELISA法检测MDA、SOD水平,酶标仪检测各孔OD值,根据标准品绘制标准曲线,并计算MDA、SOD水平。

**1.2.4 qRT-PCR检测细胞Nrf2、HO-1 mRNA表达** 用TRIzol试剂提取细胞总RNA,逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA,然后进行扩增。反应体系:正反向引物各0.5  $\mu\text{L}$ , 10 $\times$ cDNA模板1  $\mu\text{L}$ , 2 $\times$ SYBR mix 10  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 8  $\mu\text{L}$ 。扩增条件:

95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 15 s, 55 °C 退火 30 s, 60 °C 延伸 1 min, 40 个循环。GAPDH 为内参基因。Nrf2 正向引物: 5'-CGGTATGCAACAGGACATTG-3', 反向引物: 5'-TCTGTCAGTTTGGCTTCTGG-3', 引物长度: 119 bp; HO-1 正向引物: 5'-AAGACTGCGTTCCTGCTCAAC-3', 反向引物: 5'-AAAGCCCTACAGCAACTGTTCG-3', 引物长度: 90 bp; GAPDH 正向引物: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 反向引物: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3', 引物长度: 109 bp; 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 Nrf2、HO-1 mRNA 相对表达量。引物序列由上海生工生物工程有限公司合成。

**1.2.5 Western blotting 检测细胞 Nrf2、HO-1 蛋白表达** RIPA 裂解液提取 H9C2 细胞总蛋白, 对总蛋白浓度进行定量后, 电泳分离等量蛋白样品并转膜。5% 脱脂奶粉于室温下封闭膜 1 h 后, 加入 1 : 500 稀释一抗 (Nrf2 抗体、HO-1 抗体、GAPDH 抗体), 4 °C 孵育过夜, 加 1 : 5 000 稀释的二抗, 室温孵育 1 h, 显色, 拍照, 采用 Image J 软件分析条带灰度值, 计算 Nrf2、HO-1 蛋白相对表达量。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 24.0 统计软件, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较用单因素方差分析, 两两比较用 SNK-*q* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组 H9C2 细胞存活率比较

对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、10  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组的 H9C2 细胞存活率比较, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。进一步两两比较, 结果: 与对照组比较, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞存活率降低 (P < 0.05); 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较, 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、10  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞存活率升高 (P < 0.05); 10  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞存活率高于 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 (P < 0.05); 5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞存活率高于 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 (P < 0.05)。H9C2 细胞存活率呈浓度依赖性。见表 1。

表 1 各组 H9C2 细胞存活率比较 (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	细胞存活率
对照组	100.00 $\pm$ 0.00
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	36.48 $\pm$ 4.13 <sup>①</sup>
1 $\mu$ mol 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	58.72 $\pm$ 5.95 <sup>①②</sup>
5 $\mu$ mol 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	70.06 $\pm$ 7.52 <sup>①②③</sup>
10 $\mu$ mol 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	84.77 $\pm$ 8.53 <sup>①②③④</sup>
F 值	97.746
P 值	0.000

注: ①与对照组比较, P < 0.05; ②与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较, P < 0.05; ③与 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较, P < 0.05; ④与 5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较, P < 0.05。

### 2.2 各组 H9C2 细胞 MDA、SOD 水平比较

对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、10  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组的 H9C2 细胞 MDA、SOD 水平比较, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。进一步两两比较, 结果: 与对照组比较, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞 MDA 水平升高, SOD 水平降低 (P < 0.05); 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较, 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、10  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞 MDA 水平降低, SOD 水平升高 (P < 0.05); 10  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞 MDA 水平低于 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 (P < 0.05), SOD 水平高于 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 (P < 0.05); 5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞 MDA 水平低于 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 (P < 0.05), SOD 水平高于 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 (P < 0.05)。随着右美托咪定浓度升高, H9C2 细胞 MDA 水平降低, SOD 水平升高。见表 2。

### 2.3 各组 H9C2 细胞 Nrf2、HO-1 mRNA 表达比较

对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、10  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组的 H9C2 细胞 Nrf2、HO-1 mRNA 相对表达量比较, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。进一步两两比较, 结果: 与对照组比较, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞 Nrf2、HO-1 mRNA 相对表达量降低 (P < 0.05); 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较, 1  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、5  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组、10  $\mu$ mol 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞 Nrf2、HO-1 mRNA 相对表达量升高 (P < 0.05);

表2 各组H9C2细胞MDA、SOD水平比较

 $(\bar{x} \pm s)$ 

组别	MDA/ $\mu\text{mol}$	SOD/(u/L)
对照组	3.98 $\pm$ 1.77	138.62 $\pm$ 15.55
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	21.63 $\pm$ 3.38 <sup>①</sup>	44.68 $\pm$ 5.64 <sup>①</sup>
1 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	17.05 $\pm$ 2.64 <sup>①②</sup>	62.69 $\pm$ 9.33 <sup>①②</sup>
5 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	12.82 $\pm$ 2.33 <sup>①②③</sup>	84.26 $\pm$ 11.74 <sup>①②③</sup>
10 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	8.43 $\pm$ 2.04 <sup>①②③④</sup>	107.94 $\pm$ 14.51 <sup>①②③④</sup>
F值	46.498	58.078
P值	0.000	0.000

注:①与对照组比较, $P < 0.05$ ;②与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ ;③与1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ ;④与5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ 。

10  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组H9C2细胞Nrf2、HO-1 mRNA相对表达量高于1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组( $P < 0.05$ );5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组H9C2细胞Nrf2、HO-1 mRNA相对表达量高于1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组( $P < 0.05$ )。随着右美托咪定浓度升高,H9C2细胞Nrf2、HO-1 mRNA相对表达量升高。见表3。

表3 各组H9C2细胞Nrf2、HO-1 mRNA相对表达量比较  $(\bar{x} \pm s)$ 

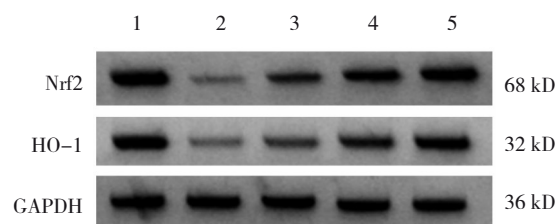
组别	Nrf2 mRNA	HO-1 mRNA
对照组	1.00 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.06
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	0.22 $\pm$ 0.06 <sup>①</sup>	0.27 $\pm$ 0.09 <sup>①</sup>
1 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	0.37 $\pm$ 0.08 <sup>①②</sup>	0.44 $\pm$ 0.11 <sup>①②</sup>
5 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	0.58 $\pm$ 0.11 <sup>①②③</sup>	0.65 $\pm$ 0.14 <sup>①②③</sup>
10 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	0.77 $\pm$ 0.16 <sup>①②③④</sup>	0.84 $\pm$ 0.15 <sup>①②③④</sup>
F值	46.604	39.446
P值	0.000	0.000

注:①与对照组比较, $P < 0.05$ ;②与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ ;③与1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ ;④与5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ 。

#### 2.4 各组H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白表达情况

对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、10  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组的H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白相对表达量比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。进一步两两比较,结果:与对照组比较,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白相对表达量降低( $P < 0.05$ );与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较,1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪

定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、10  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白相对表达量升高( $P < 0.05$ );10  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白相对表达量高于1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组、5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组( $P < 0.05$ );5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白相对表达量高于1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组( $P < 0.05$ )。随着右美托咪定浓度升高,H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白相对表达量升高。见图1和表4。



1: 对照组; 2: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组; 3: 1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组; 4: 5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组; 5: 10  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组。

图1 各组H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白表达

表4 各组H9C2细胞Nrf2、HO-1蛋白相对表达量比较  $(\bar{x} \pm s)$ 

组别	Nrf2蛋白	HO-1蛋白
对照组	0.97 $\pm$ 0.12	0.91 $\pm$ 0.14
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	0.13 $\pm$ 0.03 <sup>①</sup>	0.23 $\pm$ 0.05 <sup>①</sup>
1 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	0.42 $\pm$ 0.06 <sup>①②</sup>	0.39 $\pm$ 0.07 <sup>①②</sup>
5 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	0.59 $\pm$ 0.09 <sup>①②③</sup>	0.51 $\pm$ 0.10 <sup>①②③</sup>
10 $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 组	0.76 $\pm$ 0.12 <sup>①②③④</sup>	0.74 $\pm$ 0.14 <sup>①②③④</sup>
F值	74.732	39.106
P值	0.000	0.000

注:①与对照组比较, $P < 0.05$ ;②与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ ;③与1  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ ;④与5  $\mu\text{mol}$ 右美托咪定+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组比较, $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

缺血性心脏病是全球发病率、致死率最高的疾病,每年可造成超过700万人死亡,已成为导致死亡的重要原因,严重威胁人类健康<sup>[9]</sup>。许多研究指出,氧化应激能够降低心肌细胞功能并诱导其凋亡,从而引发心肌损伤性疾病,抑制氧化应激反应可以缓解I/R造成的心肌损伤<sup>[10-11]</sup>。因此,寻找合适的药物降低氧化应激水平,对减轻缺血性心脏病患者I/R治疗过程中心肌组织氧化应激损伤具有重要价值。

右美托咪定在临床上作为麻醉辅助用药被广泛应用,近年来研究发现,其具有抗氧化应激损伤的作用。沈金美等<sup>[12]</sup>研究表明,右美托咪定可以减轻 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的库普弗细胞的氧化应激和炎症反应。李璟等<sup>[13]</sup>研究表明,右美托咪定可通过抑制氧化应激改善 H9C2 心肌细胞缺氧/复氧损伤。SOD 和 MDA 是评价氧化应激的重要指标, SOD 是机体重要的抗氧化酶,可对抗与阻断氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞;MDA 是脂质过氧化物的裂解产物,其在机体内的水平反映了氧化应激的失衡程度<sup>[14]</sup>。研究报道,氧化应激反应激活过程中大量释放的氧自由基与脂质发生反应生成大量脂质氧化产物 MDA,并消耗具有抗氧化作用的代谢酶 SOD<sup>[15-16]</sup>。本研究结果显示,与对照组相比, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 H9C2 细胞存活率、SOD 水平降低,MDA 水平升高,因此本研究 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 制备 H9C2 细胞氧化应激损伤模型成功。随着右美托咪定的处理及处理浓度的升高, H9C2 细胞的存活率、SOD 水平升高,同时 MDA 水平降低,说明右美托咪定可降低 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9C2 细胞中氧化应激程度,减轻氧化应激损伤。

Nrf2/HO-1 通路是调控抗氧化反应的重要信号通路,参与心肌 I/R 损伤<sup>[17-18]</sup>。研究表明,右美托咪定可通过激活 Nrf2,减轻心肌 I/R 诱导的铁死亡,进而减轻心肌 I/R 损伤<sup>[19]</sup>。于东海等<sup>[20]</sup>研究发现,右美托咪定通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路,促进下游抗氧化酶表达,抑制氧化应激,缓解大鼠神经病理性疼痛。本研究 H9C2 细胞给予 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后, H9C2 细胞 Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白表达降低,提示 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 H9C2 细胞氧化应激损伤与 Nrf2/HO-1 通路有关。随着右美托咪定的处理及处理浓度升高, H9C2 细胞中 Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白表达均升高,提示右美托咪定可能通过激活 Nrf2/HO-1 通路,促进 Nrf2、HO-1 的转录和表达,发挥减轻 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9C2 细胞氧化应激程度及氧化应激损伤的作用。

综上所述,右美托咪定可能通过调控 Nrf2/HO-1 通路,促进 Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白表达,抑制氧化应激,减轻 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的心肌细胞损伤。但右美托咪定对心肌细胞氧化应激损伤的保护作用是否与 Nrf2/HO-1 通路有关还需进一步验证。

#### 参 考 文 献 :

- [1] 连亦田,朱晓阳,张守德,等. 冠状动脉血流储备分数联合冠状动脉造影对冠心病慢性心肌缺血患者治疗策略的指导价值[J]. 医学综述, 2021, 27(1): 175-179.
- [2] ZHOU M L, YU Y F, LUO X X, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutics from a mitochondria-centric perspective[J]. *Cardiology*, 2021, 146(6): 781-792.
- [3] DHALLA N S, SHAH A K, ADAMEOVA A, et al. Role of oxidative stress in cardiac dysfunction and subcellular defects due to ischemia-reperfusion injury[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(7): 1473.
- [4] BUBB K J, KOK C, TANG O, et al. The NRF2 activator DH404 attenuates adverse ventricular remodeling post-myocardial infarction by modifying redox signalling[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 108: 585-594.
- [5] 鞠文媛,陈阳阳,褚果果,等. 白果内酯激活 Nrf2/HO-1 通路抑制星形胶质细胞的氧化应激缓解 CPZ 诱导的髓鞘脱失[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(3): 257-262.
- [6] 金辉,肖志博,葛树胜,等. 右美托咪定联合七氟醚对糖尿病小鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. *局解手术学杂志*, 2022, 31(12): 1032-1039.
- [7] 吴亚辉,王韬甫,林洪启. 基于 JAK2/STAT3 信号通路观察右美托咪定减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤和抑制凋亡作用机制[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2022, 40(1): 55-61.
- [8] SHAO G. Dexmedetomidine inhibits cerebral nerve cell apoptosis after cerebral hemorrhage in rats via the Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2022, 26(13): 4574-4582.
- [9] 谢晓辉,李苏雷,王小宁,等. 细胞生物治疗在缺血性心脏病的应用研究进展[J]. *中华保健医学杂志*, 2021, 23(2): 204-207.
- [10] ISAAK C K, PETKAU J C, BLEWETT H, et al. Lingonberry anthocyanins protect cardiac cells from oxidative-stress-induced apoptosis[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2017, 95(8): 904-910.
- [11] PARK E S, KANG D H, KANG J C, et al. Cardioprotective effect of KR-33889, a novel PARP inhibitor, against oxidative stress-induced apoptosis in H9c2 cells and isolated rat hearts[J]. *Arch Pharm Res*, 2017, 40(5): 640-654.
- [12] 沈金美,李李,蒋丽丽,等. 盐酸右美托咪定对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的库普弗细胞氧化应激和炎症反应的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2016, 41(5): 477-481.
- [13] 李璟. 右美托咪定减轻氧化应激改善 H9C2 细胞缺氧/复氧损伤[J]. *医学信息*, 2018, 31(14): 95-97.
- [14] WU C, CHEN R L, WANG Y, et al. Acacetin alleviates myocardial ischaemia/reperfusion injury by inhibiting oxidative stress and apoptosis via the Nrf-2/HO-1 pathway[J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 553-561.
- [15] ALI F T A, NAQVI S A S, BISMILLAH M, et al. Comparative analysis of biochemical parameters in diabetic and non-diabetic acute myocardial infarction patients[J]. *Indian Heart J*, 2016, 68(3): 325-331.

- [16] YUAN Y, PAN S, YANG S L, et al. Antioxidant and cardioprotective effects of *Ilex cornuta* on myocardial ischemia injury[J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(2): 94-104.
- [17] SEO J Y, KIM B R, OH J, et al. Soybean-derived phytoalexins improve cognitive function through activation of Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 268.
- [18] LV Z Q, WANG F E, ZHANG X F, et al. Etomidate attenuates the ferroptosis in myocardial ischemia/reperfusion rat model via Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Shock*, 2021, 56(3): 440-449.
- [19] WANG Z R, YAO M R, JIANG L Y, et al. Dexmedetomidine attenuates myocardial ischemia/reperfusion-induced ferroptosis via AMPK/GSK-3 $\beta$ /Nrf2 axis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 154: 113572.
- [20] 于东海, 张振, 赵博, 等. 右美托咪定激活 Nrf2/HO-1 信号通路抑制氧化应激缓解大鼠神经病理性疼痛[J]. *解剖科学进展*, 2021, 27(2): 169-173.

(张蕾 编辑)

**本文引用格式:** 钱厚霖, 周述芝, 毕小波, 等. 右美托咪定调控 Nrf2/HO-1 通路对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导心肌细胞氧化应激损伤的作用研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(7): 40-45.

**Cite this article as:** QIAN H L, ZHOU S Z, BI X B, et al. Effect of dexmedetomidine regulating Nrf2/HO-1 pathway on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress injury in cardiomyocytes[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(7): 40-45.