

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.17.006

文章编号 : 1005-8982 (2025) 17-0033-07

实验研究·论著

美托洛尔改善心肌缺血再灌注损伤的机制研究*

张敏¹,周岩芬^{2,3},马若菲⁴,杨汝男²,刘亚亚²,刘厚丽³,魏锦辉³,骆晶³,谢华宁³,张耀³

(1. 西安医学院第三附属医院 心脏内科,陕西 西安 710026; 2. 陕西中医药大学第一临床学院,陕西 咸阳 712000; 3. 陕西省中医院 心病科,陕西 西安 710004; 4. 西安医学院 第一附属医院 心血管内科,陕西 西安 710021)

摘要: 目的 探讨美托洛尔是否通过调控沉默信息调节因子1(SIRT1)/核转录因子相关因子2(Nrf2)信号通路抑制细胞焦亡来改善心肌缺血再灌注损伤(MIRI)。**方法** 选取32只8~10周龄健康雄性C57BL/6小鼠,复制MIRI模型,分为Sham组、MIRI组、MIRI+美托洛尔组(MIRI+美托洛尔)和MIRI+美托洛尔+EX527组(MIRI+美托洛尔+EX527),每组8只。采用超声心动图测量左心室短轴缩短率(LVFS)和射血分数(LVEF)评估各组小鼠的心脏功能;采用酶联免疫吸附试验测定小鼠血清乳酸脱氢酶(LDH)和cTnI水平,评估心肌细胞损伤程度;采用免疫荧光染色(PI染色法)检测小鼠心肌组织焦亡细胞数;Western blotting检测炎症因子白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-18(IL-18),焦亡相关蛋白半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶1(Caspase-1)、Caspase-11、活化胱天蛋白酶后裂解蛋白GSDMD,以及SIRT1、Nrf2蛋白的表达。**结果** 与Sham组比较,MIRI组小鼠的LVFS和LVEF降低($P < 0.05$);与MIRI组比较,MIRI+美托洛尔组的LVFS和LVEF升高($P < 0.05$);与MIRI+美托洛尔组比较,MIRI+美托洛尔+EX527组的LVFS和LVEF降低($P < 0.05$)。与Sham组比较,MIRI组小鼠的LDH和cTnI水平升高($P < 0.05$);与MIRI组比较,MIRI+美托洛尔组LDH和cTnI水平降低($P < 0.05$);与MIRI+美托洛尔组比较,MIRI+美托洛尔+EX527组LDH和cTnI水平升高($P < 0.05$)。与Sham组比较,MIRI组小鼠的心肌焦亡细胞数增加($P < 0.05$);与MIRI组小鼠比较,MIRI+美托洛尔组心肌焦亡细胞数减少($P < 0.05$);与MIRI+美托洛尔组小鼠比较,MIRI+美托洛尔+EX527组焦亡心肌细胞数升高($P < 0.05$)。与Sham组比较,MIRI组小鼠的IL-1β、IL-18、Caspase-1、Caspase-11、GSDMD蛋白相对表达量增加($P < 0.05$);与MIRI组比较,MIRI+美托洛尔组IL-1β、IL-18、Caspase-1、Caspase-11、GSDMD蛋白相对表达量降低($P < 0.05$);与MIRI+美托洛尔组比较,MIRI+美托洛尔+EX527组IL-1β、IL-18、Caspase-1、Caspase-11、GSDMD蛋白相对表达量升高($P < 0.05$)。与Sham组比较,MIRI组的SIRT1、Nrf2蛋白相对表达量降低($P < 0.05$);与MIRI组比较,MIRI+美托洛尔组的SIRT1、Nrf2蛋白相对表达量升高($P < 0.05$);与MIRI+美托洛尔组比较,MIRI+美托洛尔+EX527组的SIRT1、Nrf2蛋白相对表达量降低($P < 0.05$)。**结论** 美托洛尔通过调控Sirt1/Nrf2信号通路抑制细胞焦亡,减轻MIRI,具有显著的心脏保护作用,为临床治疗心肌缺血再灌注损伤提供了新的理论依据。

关键词: 心肌缺血再灌注损伤; 美托洛尔; 沉默信息调节因子1/核转录因子相关因子2信号通路; 细胞焦亡

中图分类号: R542.2

文献标识码: A

Research on the mechanism of metoprolol in improving myocardial ischemia-reperfusion injury*

Zhang Min¹, Zhou Yan-fen^{2,3}, Ma Ruo-fei⁴, Yang Ru-nan², Liu Ya-ya², Liu Hou-li³, Wei Jin-hui³, Luo Jing³, Xie Hua-ning³, Zhang Yao³

(1. Department of Cardiovascular Medicine, The Third Affiliated Hospital of Xi'an Medical University,

收稿日期: 2025-01-02

*基金项目: 陕西省卫生健康委科研基金(No.:2022D014)

[通信作者] 周岩芬, E-mail: 405551169@qq.com; Tel: 15809186869

(Xi'an, Shaanxi 710026, China; 2. Shaanxi University of Chinese Medicine, First Clinical College, Xianyang, Shaanxi, 712000, China; 3. Shaanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi 710004, China; 4. The First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi 710021 China)

Abstract: **Objective** To explore whether metoprolol ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) by inhibiting pyroptosis through regulating the silent information regulator 1 (SIRT1)/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway. **Methods** Thirty-two healthy male C57BL/6 mice aged 8 to 10 weeks were selected to establish the MIRI model and divided into Sham group, MIRI group, MIRI+ metoprolol group (MIRI + Met), and MIRI + metoprolol + EX527 group (MIRI + Met + EX527), with 8 mice in each group. The left ventricular fractional shortening (LVFS) and ejection fraction (LVEF) were measured by echocardiography to evaluate the cardiac function in each group. The levels of lactate dehydrogenase (LDH) and cardiac troponin I (cTnI) in mouse serum were determined by enzyme-linked immunosorbent assay to evaluate the degree of myocardial cell injury. The number of pyroptotic cells in mouse myocardial tissue was detected by immunofluorescence staining (propidium iodide, PI staining). The expressions of inflammatory factors IL-1 β and IL-18, as well as pyroptosis-related proteins Caspase-1, Caspase-11, and GSDMD were detected by Western blotting. **Results** Compared with the Sham group, LVFS and LVEF in the MIRI group decreased ($P < 0.05$); Compared with the MIRI group, the LVFS and LVEF in the MIRI + metoprolol group increased ($P < 0.05$); Compared with the MIRI + metoprolol group, the LVFS and LVEF in the MIRI + metoprolol + EX527 group were decreased ($P < 0.05$). Compared with the Sham group, the levels of LDH and cTnI in mice of the MIRI group increased ($P < 0.05$). Compared with the MIRI group, the levels of LDH and cTnI in the MIRI + metoprolol group decreased ($P < 0.05$). Compared with the MIRI + metoprolol group, the levels of LDH and cTnI in the MIRI + metoprolol + EX527 group were increased ($P < 0.05$). Compared with the Sham group, the number of myocardial pyroptotic cells in the MIRI group mice increased ($P < 0.05$); Compared with the mice in the MIRI group, the number of pyroptotic cells in the myocardium of the MIRI + metoprolol group decreased ($P < 0.05$). Compared with the mice in the MIRI + metoprolol group, the number of pyroptotic cardiomyocytes in the MIRI + metoprolol + EX527 group increased ($P < 0.05$). Compared with the Sham group, the levels of IL-1 β , IL-18, Caspase-1, Caspase-11 and GSDMD in the MIRI group mice increased ($P < 0.05$) ; Compared with the MIRI group, the levels of IL-1 β , IL-18, Caspase-1, Caspase-11 and GSDMD in the MIRI + metoprolol group decreased ($P < 0.05$). Compared with the MIRI + metoprolol group, the levels of IL-1 β , IL-18, Caspase-1, Caspase-11 and GSDMD in the MIRI+ metoprolol + EX527 group increased ($P < 0.05$). Compared with the Sham group, the levels of SIRT1 and Nrf2 in the MIRI group mice decreased ($P < 0.05$) ; Compared with the MIRI group, the levels of SIRT1 and Nrf2 in the MIRI + metoprolol group increased ($P < 0.05$). Compared with the MIRI+ metoprolol group, the levels of SIRT1 and Nrf2 in the MIRI + metoprolol + EX527 group decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Metoprolol inhibits pyroptosis and reduces MIRI by regulating the SIRT1/Nrf2 signaling pathway, demonstrating a significant cardioprotective effect and providing a new theoretical basis for the clinical treatment of myocardial ischemia-reperfusion injury.

Keywords: myocardial ischemia-reperfusion injury; metoprolol; silent information regulator 1/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 signaling pathway; pyroptosis

心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia reperfusion, MIRI) 是急性心肌梗死治疗中的常见病理过程, 再灌注治疗能够恢复血流并减少梗死面积, 但继发性损伤仍然严重影响患者的预后^[1-2]。MIRI 过程中, 缺血引起细胞代谢紊乱、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 生成过量、钙离子失衡及线粒体功能障碍等, 导致心肌细胞功能受损和坏死, 特别是在再灌注阶段, 这些反应加剧了心肌损

伤^[3-4]。如何有效减轻这一继发性损伤是临床治疗的重要挑战。

美托洛尔是一种选择性 β 1 肾上腺素能受体阻滞剂, 广泛用于治疗冠心病和心力衰竭等心血管疾病^[5]。除了其经典的减缓心率和降低心肌耗氧量作用外, 美托洛尔还具有抗氧化、抗炎和抗凋亡的多重心脏保护作用, 能够缓解 MIRI^[6]。然而, 其具体的分子机制, 尤其是是否通过调控细胞焦亡及相关信

号通路进行心脏保护仍需进一步探讨^[7]。沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)/核转录因子相关因子2(nuclear factor erythroid 2 – related factor 2, Nrf2)信号通路在细胞的抗氧化应激^[8]和细胞存活中发挥重要作用。SIRT1通过去乙酰化作用激活Nrf2,从而增强细胞的抗氧化能力并减轻氧化应激损伤^[7]。细胞焦亡作为炎性小体介导的一种程序性细胞死亡形式,在MIRI中起重要作用。研究表明,焦亡反应过度激活会加剧心肌损伤^[9]。因此,本研究旨在探讨美托洛尔是否通过调控SIRT1/Nrf2信号通路抑制细胞焦亡,从而改善MIRI,为美托洛尔在心血管疾病中的应用提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

美托洛尔(美国阿斯利康制药有限公司,国药准字:H32025391,货号:HY-17503B,规格:25 mg/片),SIRT1抑制剂EX527(美国Cayman Chemical公司,货号:10010275),CCK-8试剂盒[东仁化学科技(上海)有限公司,货号:CK04],PI染色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:C1052),乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号:A020),心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTnI)检测试剂盒(英国Abcam公司,货号:ab246529)。SIRT1抗体(美国Cell Signaling Technology公司,货号:8469),Nrf2抗体(英国Abcam公司,货号:ab62352),焦亡相关蛋白半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶1(cysteinyl aspartate specific proteinase-1,Caspase-1)(货号:sc-56036)、半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶11(cysteinyl aspartate specific proteinase,Caspase-11)(货号:sc-56038)(美国Santa Cruz Biotechnology公司),活化胱天蛋白酶(caspase)后裂解蛋白(Gasdermin D, GSDMD)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:20770-1-AP)。

1.2 实验动物

选取32只8~10周龄健康雄性C57BL/6小鼠,体重20~25 g。所有小鼠购自西安交通大学实验动物中心,实验动物生产许可证号(SCXK:陕2022-0020)。实验前所有小鼠适应性饲养7 d,饲养环境温度(22 ± 2)℃、湿度50%~60%,昼夜光照周期(12 h光照/12 h黑暗),以减少环境因素对实验结果的干

扰。以标准实验动物饲料和无菌饮用水饲喂,保证小鼠实验前处于健康状态。在实验过程中,严格遵循《实验动物管理条例》(中华人民共和国科学技术部颁布)及陕西省中医医院伦理委员会批准的实验方案,确保实验符合伦理和法律要求。在实验操作中,小鼠的麻醉、手术和处置均遵循国际实验动物保护与福利规范,尽量减少动物的痛苦和应激反应。实验结束后,小鼠处置遵循人道原则,采用伦理认可的安乐死方法。

1.3 实验方法

1.3.1 小鼠MIRI模型制备 采用GAO等^[10]的方法复制MIRI模型。采用异氟烷吸入麻醉小鼠,并实施气管插管,连接小型动物人工呼吸机,以维持正常呼吸功能。在无菌操作条件下,对小鼠胸部进行消毒并做开胸手术,暴露冠状动脉左前降支,使用微型血管夹夹闭冠状动脉左前降支30 min,诱导心肌缺血。缺血结束后,迅速解除血管夹,恢复血流以实现再灌注。通过心电图监测ST段抬高来确认心肌缺血。再灌注后清洗胸腔并缝合伤口,同时给予抗生素预防术后感染。所有手术操作均严格按照实验动物操作规范进行。

1.3.2 实验分组 32只小鼠随机分为4组,每组8只。Sham组仅实施开胸手术不夹闭冠状动脉;MIRI组实施心肌缺血再灌注手术但未进行药物干预;MIRI+美托洛尔组再灌注前30 min腹腔注射美托洛尔(10 mg/kg);MIRI+美托洛尔+EX527组再灌注前30 min腹腔注射美托洛尔(10 mg/kg)同时给予SIRT1抑制剂EX527(10 mg/kg)。

1.3.3 小鼠心脏功能评价 ①采用经胸超声心动图(transthoracic echocardiography, TTE)评估小鼠的心脏功能。使用高频超声探头实时测量左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)。②采用酶联免疫吸附试验测定小鼠血清乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)和cTnI水平,评估心肌细胞损伤程度。

1.3.4 心肌组织焦亡细胞数和炎症因子及相关蛋白表达检测 采用免疫荧光染色心肌组织焦亡细胞数(PI染色法);采用Western blotting检测心肌组织中炎症因子白细胞介素-1β(Interleukin-1β, IL-1β)、白细胞介素-18(Interleukin-18, IL-18),焦亡相

关蛋白 Caspase-1、Caspase-11、GSDMD 及 SIRT1、NRF2 蛋白相对表达量。Western blotting 检测上述蛋白表达具体步骤：配置不同浓度分离胶，每孔加入相同的蛋白量，电泳时先将电压设定为 80 V 约 30 min，再将电压调为 120 V；采用恒压湿转法，转膜电压设定为 90 V，转膜时间为 90 min；将转好的 PVDF 膜室温 5% 脱脂奶粉封闭 2 h，将目的条带和内参条带放入相应一抗管中 4 °C 孵育 12 h；室温摇床 TBST 洗膜 7 min/次，3 次，二抗孵育 2 h；室温摇床 TBST 洗膜 7 min/次，3 次；化学发光仪避光检测条带；Image Lab 分析条带灰度值。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据。计量数据以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，比较采用方差分析，两两比较用 LSD-t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 美托洛尔对小鼠心脏功能的影响

Sham 组、MIRI 组、MIRI+美托洛尔组和 MIRI+美托洛尔+EX527 组的 LVFS 和 LVEF 比较，经方差分析，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 Sham 组比较，MIRI 组 LVFS 和 LVEF 降低 ($P < 0.05$)；与 MIRI 组比较，MIRI+美托洛尔组的 LVFS 和 LVEF 升高 ($P < 0.05$)；与 MIRI+美托洛尔组比较，MIRI+美托洛尔+EX527 组的 LVFS 和 LVEF 降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 4 组小鼠的 LVFS 和 LVEF 比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	LVFS/%	LVEF/%
Sham 组	32.31 ± 3.20	75.12 ± 1.23
MIRI 组	19.12 ± 3.18 ^①	40.41 ± 1.20 ^①
MIRI+美托洛尔组	22.13 ± 5.91 ^②	60.24 ± 2.10 ^②
MIRI+美托洛尔+EX527 组	21.32 ± 2.03 ^③	43.10 ± 1.30 ^③
F 值	58.130	29.680
P 值	0.001	0.002

注：①与 Sham 组比较， $P < 0.05$ ；②与 MIRI 组比较， $P < 0.05$ ；③与 MIRI+美托洛尔组比较， $P < 0.05$ 。

2.2 美托洛尔对心肌细胞损伤程度的影响

Sham 组、MIRI 组、MIRI+美托洛尔组和 MIRI+美托洛尔+EX527 组的 LDH 和 cTnI 水平比较，经方差分析，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 Sham 组比较，MIRI 组 LDH 和 cTnI 水平升高 ($P < 0.05$)；与 MIRI 组比

较，MIRI+美托洛尔组 LDH 和 cTnI 水平降低 ($P < 0.05$)；与 MIRI+美托洛尔组比较，MIRI+美托洛尔+EX527 组 LDH 和 cTnI 水平升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 4 组小鼠的 LDH 和 cTnI 水平比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	LDH/(U/L)	cTnI/(ng/L)
Sham 组	204.14 ± 30.29	7.98 ± 0.72
MIRI 组	1079.17 ± 31.84 ^①	29.86 ± 2.91 ^①
MIRI+美托洛尔组	465.21 ± 39.87 ^②	16.17 ± 2.13 ^②
MIRI+美托洛尔+EX527 组	725.02 ± 30.85 ^③	25.80 ± 1.64 ^③
F 值	13.981	39.687
P 值	0.001	0.000

注：①与 Sham 组比较， $P < 0.05$ ；②与 MIRI 组比较， $P < 0.05$ ；③与 MIRI+美托洛尔组比较， $P < 0.05$ 。

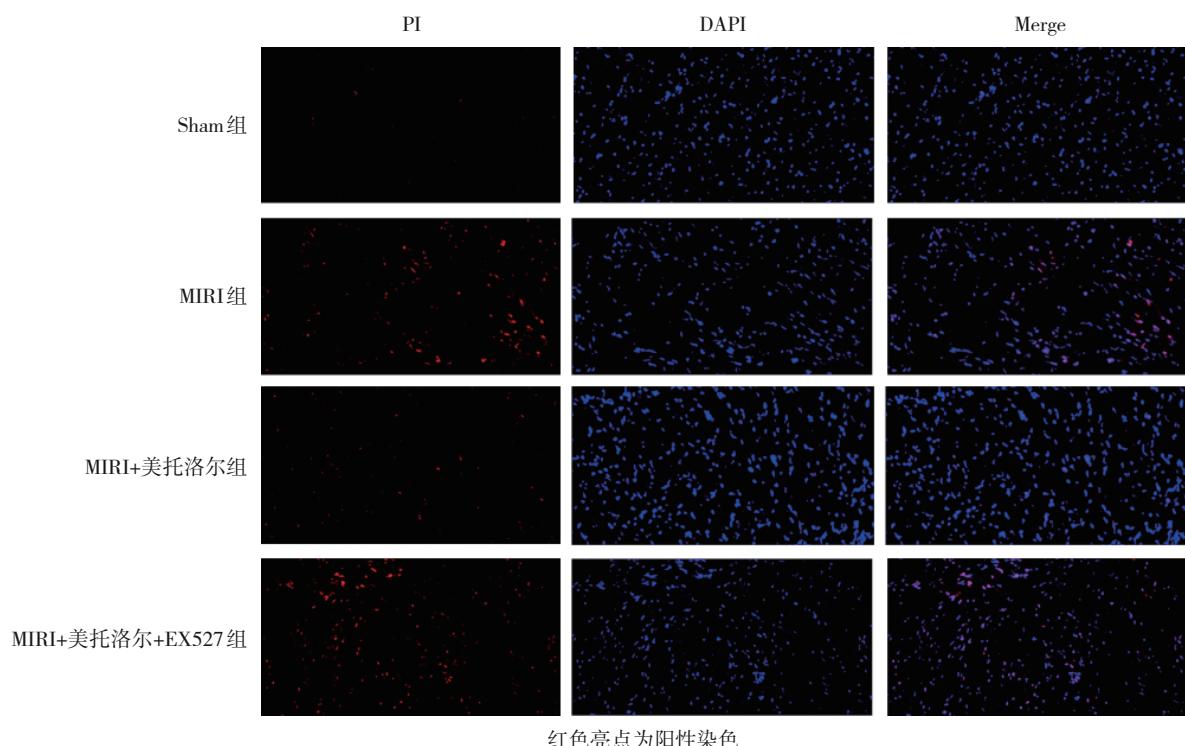
2.3 美托洛尔抑制 MIRI 对心肌细胞焦亡的影响

Sham 组、MIRI 组、MIRI+美托洛尔组和 MIRI+美托洛尔+EX527 组的心肌焦亡细胞率分别为 (2.0 ± 0.12)%、(26.0 ± 1.20)%、(15.1 ± 1.41)%、(19.3 ± 2.04)%，各组比较，经方差分析，差异有统计学意义 ($F = 134.105, P = 0.001$)。与 Sham 组比较，MIRI 组心肌焦亡细胞数增加 ($P < 0.05$)；与 MIRI 组比较，MIRI+美托洛尔组心肌焦亡细胞数减少 ($P < 0.05$)；与 MIRI+美托洛尔组比较，MIRI+美托洛尔+EX527 组心肌焦亡细胞数升高 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.4 美托洛尔通过 SIRT1/NRF2 信号通路对细胞焦亡因子相关蛋白表达的影响

Sham 组、MIRI 组、MIRI+美托洛尔组和 MIRI+美托洛尔+EX527 组心肌组织中炎症因子 IL-1β、IL-18 蛋白相对表达量比较，经方差分析，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 Sham 组比较，MIRI 组的 IL-1β、IL-18 蛋白相对表达量增加 ($P < 0.05$)；与 MIRI 组比较，MIRI+美托洛尔组的 IL-1β、IL-18 蛋白相对表达量降低 ($P < 0.05$)；与 MIRI+美托洛尔组比较，MIRI+美托洛尔+EX527 组的 IL-1β、IL-18 蛋白相对表达量升高 ($P < 0.05$)。见表 3。

Sham 组、MIRI 组、MIRI+美托洛尔组和 MIRI+美托洛尔+EX527 组心肌组织中焦亡相关蛋白 Caspase-1、Caspase-11、GSDMD 蛋白相对表达量比较，经方差分析，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 Sham 组比较，MIRI 组的 Caspase-1、Caspase-11、GSDMD 蛋白相对表达量增加 ($P < 0.05$)；与 MIRI 组比较，MIRI+美托洛尔组的 Caspase-1、Caspase-11、

图1 美托洛尔抑制MIRI引起的心肌细胞焦亡 ($\times 200$)表3 4组小鼠的IL-1 β 、IL-18蛋白相对表达量比较
(n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1 β	IL-18
Sham组	20.17 ± 3.08	30.36 ± 1.93
MIRI组	$189.05 \pm 2.01^{\textcircled{1}}$	$146.21 \pm 4.60^{\textcircled{1}}$
MIRI+美托洛尔组	$150.42 \pm 3.97^{\textcircled{2}}$	$117.03 \pm 6.34^{\textcircled{2}}$
MIRI+美托洛尔+EX527组	$170.01 \pm 4.15^{\textcircled{3}}$	$108.42 \pm 5.09^{\textcircled{3}}$
F值	9.320	16.102
P值	0.000	0.001

注: ①与Sham组比较, $P < 0.05$; ②与MIRI组比较, $P < 0.05$;
③与MIRI+美托洛尔组比较, $P < 0.05$ 。

GSDMD蛋白相对表达量降低($P < 0.05$);与MIRI+美托洛尔组比较,MIRI+美托洛尔+EX527组的Caspase-1、Caspase-11、GSDMD蛋白相对表达量升高($P < 0.05$)。见表4。

Sham组、MIRI组、MIRI+美托洛尔组和MIRI+美托洛尔+EX527组心肌组织的SIRT1、Nrf2蛋白相对表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与Sham组比较,MIRI组的SIRT1、Nrf2蛋白相对表达量降低($P < 0.05$);与MIRI组比较,MIRI+美托洛尔组的SIRT1、Nrf2蛋白相对表达量升高($P < 0.05$);与MIRI+美托洛尔组比较,MIRI+美托洛尔+EX527组的SIRT1、Nrf2蛋白相对表达量降低($P <$

表4 4组小鼠的Caspase-1、Caspase-11、GSDMD蛋白相对表达量比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	Caspase-1	Caspase-11	GSDMD
Sham组	0.43 ± 0.12	0.19 ± 0.12	0.17 ± 0.31
MIRI组	$1.61 \pm 0.27^{\textcircled{1}}$	$1.23 \pm 0.10^{\textcircled{1}}$	$0.72 \pm 0.12^{\textcircled{1}}$
MIRI+美托洛尔组	$0.97 \pm 0.14^{\textcircled{2}}$	$0.67 \pm 0.03^{\textcircled{2}}$	$0.41 \pm 0.07^{\textcircled{2}}$
MIRI+美托洛尔+EX527组	$1.24 \pm 0.71^{\textcircled{3}}$	$0.72 \pm 0.11^{\textcircled{3}}$	$0.33 \pm 0.18^{\textcircled{3}}$
F值	78.103	239.910	25.916
P值	0.001	0.000	0.001

注: ①与Sham组比较, $P < 0.05$; ②与MIRI组比较, $P < 0.05$;
③与MIRI+美托洛尔组比较, $P < 0.05$ 。

0.05)。见表5。

表5 4组小鼠的SIRT1、Nrf2蛋白相对表达量比较
(n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	SIRT1	Nrf2
Sham组	1.68 ± 0.28	0.69 ± 0.13
MIRI组	$0.54 \pm 0.01^{\textcircled{1}}$	$0.11 \pm 0.03^{\textcircled{1}}$
MIRI+美托洛尔组	$1.42 \pm 0.67^{\textcircled{2}}$	$0.39 \pm 0.04^{\textcircled{2}}$
MIRI+美托洛尔+EX527组	$0.71 \pm 0.02^{\textcircled{3}}$	$0.16 \pm 0.06^{\textcircled{3}}$
F值	56.842	89.902
P值	0.001	0.001

注: ①与Sham组比较, $P < 0.05$; ②与MIRI组比较, $P < 0.05$;
③与MIRI+美托洛尔组比较, $P < 0.05$ 。

4组小鼠的IL-1 β 、IL-18、Caspase-1、Caspase-11、GSDMD、SIRT1、Nrf2蛋白表达见图2。

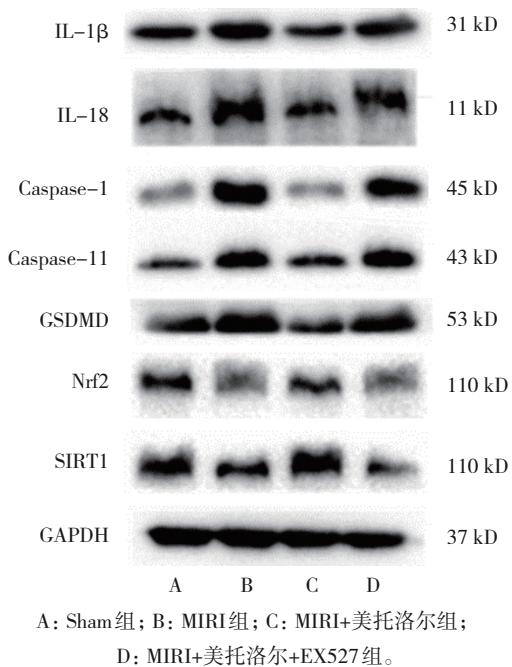


图2 4组小鼠的IL-1 β 、IL-18、Caspase-1、Caspase-11、GSDMD、SIRT1、Nrf2蛋白表达

3 讨论

MIRI是急性心肌梗死治疗过程中不可避免的病理过程,且其机制复杂,涉及多种生物学途径^[11]。MIRI的关键环节包括ROS快速积累、钙超载、线粒体功能障碍、自噬异常及程序性细胞死亡等^[12]。近年来,细胞焦亡作为一种新的程序性细胞死亡方式,已经逐渐被认识到在心血管疾病,尤其是MIRI损伤中的重要作用^[13]。细胞焦亡主要通过Caspase-1/11介导的炎症小体激活及GSDMD的裂解形成膜孔,从而诱导促炎性细胞因子如IL-1 β 和IL-18的大量释放,进一步加剧炎症反应和组织损伤^[14]。在MIRI中,焦亡的启动和扩展加剧了心肌损伤,因此,探索焦亡在MIRI中的具体分子机制,尤其是非经典Caspase-11依赖的炎症小体通路,成为研究的热点。

SIRT1/Nrf2信号通路在细胞保护中的作用越来越受到关注^[15-16]。SIRT1是一种NAD $^{+}$ 依赖的组蛋白去乙酰化酶,广泛参与细胞的氧化应激反应、炎症反应及细胞生长等过程。通过调控NF- κ B和Nrf2等下游分子,SIRT1不仅有抗炎作用,还可以减轻氧化应激损伤^[17]。Nrf2作为SIRT1的下游因子,扮演着

细胞内重要的抗氧化调节角色,其激活能够诱导一系列抗氧化基因的表达,如HO-1,从而减轻细胞因氧化应激引起的损伤^[18-19]。尽管已有研究表明SIRT1/Nrf2通路在MIRI中的保护作用,但是是否参与调控细胞焦亡的过程仍未得到充分研究^[20]。本研究通过探讨SIRT1/Nrf2信号通路在MIRI中的作用,揭示了该通路可能通过抑制焦亡进程在心肌保护中发挥重要作用。

美托洛尔是治疗冠心病二级预防、室性心律失常等疾病的主要用药,其作为一种选择性 β 1肾上腺素能受体阻滞剂,具有抑制心肌重构、抑制交感神经兴奋、减慢房室传导等作用^[21]。近年来研究显示,美托洛尔在急性心肌梗死和MIRI中的心脏保护作用尤为显著,可能通过减小梗死面积、抑制炎症反应、降低中性粒细胞活性等途径起作用^[22]。本研究结果表明,美托洛尔通过调控SIRT1/Nrf2信号通路,显著减轻了MIRI中的心肌细胞损伤,并有效抑制了焦亡反应。具体而言,美托洛尔在MIRI小鼠模型中显著降低了心肌梗死血清cTnI和LDH水平,并提高了心脏的收缩功能^[23]。此外,Western blotting结果显示,美托洛尔显著降低了心肌组织中炎症因子(IL-1 β 、IL-18)和焦亡相关蛋白(Caspase-1、Caspase-11、GSDMD)的表达,表明其可能通过抑制SIRT1/Nrf2信号通路调控细胞焦亡进程,进而减轻MIRI。

值得注意的是,本研究还通过SIRT1抑制剂EX527进一步验证了SIRT1/Nrf2信号通路在美托洛尔保护作用中的重要性。结果表明,SIRT1的抑制显著减弱了美托洛尔对心肌的保护作用,表明SIRT1/Nrf2通路在心肌梗死再灌注损伤中具有关键作用。具体来说,EX527的应用导致美托洛尔处理的小鼠心肌细胞损伤标志物(如LDH、cTnI)升高,心脏功能改善程度减弱,这表明SIRT1/Nrf2通路可能是美托洛尔发挥心脏保护作用的主要途径之一^[24]。

综上所述,本研究不仅探讨了MIRI的病理机制,特别是焦亡在心肌损伤中的作用,还为美托洛尔在心血管疾病中的治疗作用提供了新的理论依据和实验数据。通过调控SIRT1/Nrf2信号通路,美托洛尔能够抑制心肌细胞的焦亡反应,减轻MIRI,改善心脏功能。未来的研究可以进一步深入探讨SIRT1/Nrf2信号通路在其他类型心血管疾病中的作用,为临床治疗提供新的靶点和策略。

参考文献:

- [1] WANG P N, ZHANG B, JIN L J, et al. Association of various risk factors with prognosis and hospitalization cost in Chinese patients with acute myocardial infarction: a clinical analysis of 627 cases[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(2): 603-611.
- [2] 侯凯, 李运曼. 与心肌缺血再灌注损伤相关的新型心肌保护分子靶点研究进展[J]. 医学研究与教育, 2020, 37(3): 1-9.
- [3] 郑新, 于海波. miR-146a减轻心肌缺血/再灌注损伤(MI/RI)大鼠的心肌细胞凋亡[J]. 基础医学与临床, 2021, 41(12): 1756-1761.
- [4] HEUSCH G. Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective[J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(12): 773-789.
- [5] HAUSENLOY D J, BOTKER H E, ENGSTROM T, et al. Targeting reperfusion injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: trials and tribulations[J]. Eur Heart J, 2017, 38(13): 935-941.
- [6] 徐燕. 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[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(31): 7-13.
- [7] HEUSCH G, GERSH B J. The pathophysiology of acute myocardial infarction and strategies of protection beyond reperfusion: a continual challenge[J]. Eur Heart J, 2017, 38(11): 774-784.
- [8] TRIPATHI S, PARMAR D, RAVAL S, et al. Alleviating effect of antioxidants on combined chromium and cadmium-induced neurotoxicity and apoptosis by activating the Nrf2-keap1 and associated pathway in Swiss albino mice[J]. Metab Brain Dis, 2025, 40(4): 171.
- [9] HAUSENLOY D J, GARCIA-DORADO D, BØTKER H E, et al. Novel targets and future strategies for acute cardioprotection: position paper of the European Society of Cardiology Working Group on Cellular Biology of the Heart[J]. Cardiovasc Res, 2017, 113(6): 564-585.
- [10] GAO E H, LEI Y H, SHANG X Y, et al. A novel and efficient model of coronary artery ligation and myocardial infarction in the mouse[J]. Circ Res, 2010, 107(12): 1445-1453.
- [11] 雷延成, 张品元, 樊青俐, 等. SIRT1/NF-κB信号通路与脑梗死后认知障碍风险及认知障碍程度的相关性分析[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(20): 13-18.
- [12] ALBURQUERQUE-BÉJAR J J, BARBA I, INSERTE J, et al. Combination therapy with remote ischaemic conditioning and insulin or exenatide enhances infarct size limitation in pigs[J]. Cardiovasc Res, 2015, 107(2): 246-254.
- [13] YOSHIKAWA N, HIRATA N, KURONE Y, et al. Edaravone is a therapeutic candidate for doxorubicin-induced cardiomyopathy by activating the Nrf2 pathway[J]. Pharmacol Res Perspect, 2025, 13(1): e70066.
- [14] 门汝梅, 王艳林, 张琳娜, 等. 美托洛尔联合氯吡格雷对心肌缺血再灌注损伤小鼠的作用机制[J]. 西部医学, 2024, 36(3): 365-371.
- [15] ELMORSY E A, ELSISI H A, ALKHAMISS A S, et al. Activation of SIRT1 by SRT1720 alleviates dyslipidemia, improves insulin sensitivity and exhibits liver-protective effects in diabetic rats on a high-fat diet: New insights into the SIRT1/Nrf2/NFκB signaling pathway[J]. Eur J Pharm Sci, 2025, 206: 107002.
- [16] XU X L, SHI Y Y, YU Q W, et al. Coumarin-derived imino sulfonate 5h ameliorates cardiac injury induced by myocardial infarction via activating the Sirt1/Nrf2 signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 945: 175615.
- [17] LIU Y, WANG Y, CHENG S Q, et al. Pantothenic acid alleviates osteoarthritis progression by inhibiting inflammatory response and ferroptosis through the SIRT1/Nrf2 signaling pathway[J]. Chem Biol Interact, 2025, 413: 111494.
- [18] SUN J H, APONTE A M, MENAZZA S, et al. Additive cardioprotection by pharmacological postconditioning with hydrogen sulfide and nitric oxide donors in mouse heart: S-sulfhydration vs. S-nitrosylation[J]. Cardiovasc Res, 2016, 110(1): 96-106.
- [19] YANG W Q, WEN W, CHEN H, et al. Zhongfeng Xingnao Liquid ameliorates post-stroke cognitive impairment through sirtuin1 (SIRT1)/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase 1 (HO-1) pathway[J]. Chin J Nat Med, 2025, 23(1): 77-89.
- [20] ALEXOPOULOS P, PANOUTSOPOLOU K, VOGIATZIS G, et al. Combined treatment with exenatide and cyclosporine a or parastatin 1-26 results in enhanced reduction of infarct size in a rabbit model[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2017, 70(1): 34-41.
- [21] 刘玲, 刘文侠. 美托洛尔、比索洛尔治疗伴高血压的慢性充血性心力衰竭的成本-效果比较[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(14): 2062-2065.
- [22] KOSHINUMA S, MIYAMAE M, KANEDA K, et al. Combination of necroptosis and apoptosis inhibition enhances cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. J Anesth, 2014, 28(2): 235-241.
- [23] 王莹, 骆继业, 周艺. NT-proBNP、ETX 及 HBP 水平对重症心力衰竭合并急性肾损伤患者预后的预测价值[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(2): 94-100.
- [24] 曹天然, 刘青芳, 潘美民, 等. Robo4在脑缺血再灌注损伤大鼠小胶质细胞极化中的作用及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(18): 36-42.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 张敏, 周岩芬, 马若菲, 等. 美托洛尔改善心肌缺血再灌注损伤的机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2025, 35(17): 33-39.

Cite this article as: ZHANG M, ZHOU Y F, MA R F, et al. Research on the mechanism of metoprolol in improving myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. China Journal of Modern Medicine, 2025, 35(17): 33-39.