

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.03.018

大豆苷元对心肌梗死大鼠心电图、心肌肌钙蛋白 I 及 Raf-MEK-ERK 信号通路的影响^{*}

李会贤¹, 张爱爱¹, 张亚维², 陈伟广¹, 马 骁³, 梁惠清¹

1. 河北北方学院附属第一医院心血管内科, 河北张家口 075000; 2. 河北省张家口市卫生健康委员会, 河北张家口 075000; 3. 河北北方学院附属第一医院住院处, 河北张家口 075000

摘 要:目的 探讨大豆苷元对心肌梗死大鼠心电图、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)及 Raf-MEK-ERK 信号通路的影响。方法 取无特定病原体等级成年雄性大鼠 60 只作为研究对象。将 60 只大鼠随机分为假手术组、模型组、低剂量大豆苷元组、中剂量大豆苷元组、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组, 每组 10 只。除假手术组外均建立心肌梗死动物模型。监测各组大鼠心电图参数; 采用酶联免疫吸附试验检测各组血清 cTnI、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肿瘤坏死因子(TNF)- α 及白细胞介素(IL)-6 水平; 采用苏木精-伊红染色观察心肌组织病理形态; 采用 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡率; 采用免疫印记检测心肌组织中 Raf、MEK、ERK 蛋白水平。结果 与假手术组比较, 模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 T 波均升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与假手术组比较, 模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 cTnI、CK-MB、TNF- α 及 IL-6 水平均升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组比较, 低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 cTnI、CK-MB、TNF- α 及 IL-6 水平均降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。假手术组、模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组大鼠心肌细胞凋亡率分别为 $(3.56 \pm 0.41)\%$ 、 $(32.50 \pm 5.50)\%$ 、 $(24.15 \pm 3.66)\%$ 、 $(19.66 \pm 2.80)\%$ 、 $(11.20 \pm 1.80)\%$ 及 $(12.03 \pm 2.11)\%$ 。与假手术组比较, 模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组心肌细胞凋亡率升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组比较, 低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组心肌细胞凋亡率均降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与假手术组比较, 模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 Raf、MEK、ERK 蛋白水平均升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组比较, 低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 Raf、MEK、ERK 蛋白水平均降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 心肌梗死大鼠采用大豆苷元干预后可提高心电图 T 波, 降低 cTnI 水平进而保护心脏, 同时可降低心肌细胞凋亡, 其作用机制与抑制 Raf-MEK-ERK 信号激活相关。

关键词:心肌梗死; 大豆苷元; 心肌肌钙蛋白 I; 心电图; Raf-MEK-ERK

中图分类号: R542.2; R541.7

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)03-0377-07

Effects of daidzein on electrocardiogram, cardiac troponin I and Raf-MEK-ERK signaling pathway in rats with myocardial infarction^{*}

LI Huixian¹, ZHANG Aiai¹, ZHANG Yawei², CHEN Weiguang¹, MA Xiao³, LIANG Huiqing¹

1. Department of Cardiovascular Medicine, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China; 2. Zhangjiakou Health Commission of Hebei Province, Zhangjiakou, Hebei 075000, China; 3. Department of Inpatient, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of daidzein on electrocardiogram, cardiac troponin I (cTnI) and Raf-MEK-ERK signaling pathway in rats with myocardial infarction. **Methods** Sixty specific pathogen-free adult male rats were selected as the study subjects. Sixty rats were randomly divided into sham operation group, model group, low dose daidzein group, medium dose daidzein group, high dose daidzein group and rosuvastatin group, with 10 rats in each group. Animal models of myocardial infarction were established except for the sham operation group. Electrocardiogram parameters were monitored in each group. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the serum levels of cTnI, creatine kinase isoenzyme (CK-MB), tumor necrosis factor (TNF)- α and interleukin (IL)-6. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the pathological morphology of myocardial tissue. The apoptosis rate of cardiomyocytes was detected by TUNEL method. The protein levels of Raf, MEK and ERK in myocardial tissue were detected by Western blot. **Results** Com-

^{*} 基金项目: 河北省医学科学研究基金项目(20231406); 河北省卫生健康委员会医学科学研究项目(20200538)。

作者简介: 李会贤, 女, 副主任医师, 主要从事心血管内科方面的研究。

pared with the sham operation group, the model group, low dose daidzein group, medium dose daidzein group and high and rosuvastatin group had significant increases in T wave ($P < 0.05$). Compared with the sham operation group, the levels of cTnI, CK-MB, TNF- α and IL-6 in the model group, low dose daidzein group, medium dose daidzein group, high dose daidzein group and rosuvastatin group were increased, the differences were statistically significant ($P < 0.05$), compared with the model group, the levels of cTnI, CK-MB, TNF- α and IL-6 in the low, medium and high dose daidzein groups and rosuvastatin group were decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The apoptosis rates of myocardial cells in the sham operation group, model group, low dose daidzein group, medium dose daidzein group, high dose daidzein group and rosuvastatin group were $(3.56 \pm 0.41)\%$, $(32.50 \pm 5.50)\%$, $(24.15 \pm 3.66)\%$, $(19.66 \pm 2.80)\%$, $(11.20 \pm 1.80)\%$ and $(12.03 \pm 2.11)\%$ respectively. Compared with the sham operation group, the apoptosis rate of myocardial cells in the model group, low dose daidzein group, medium dose daidzein group, high dose daidzein group and rosuvastatin group were increased, the differences were statistically significant ($P < 0.05$), and compared with the model group, the apoptosis rate of myocardial cells in the low dose daidzein group, medium dose daidzein group, high dose daidzein group and rosuvastatin group were decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the sham operation group, the levels of Raf, MEK and ERK protein in the model, low dose daidzein group, medium dose daidzein group, high dose daidzein group and rosuvastatin group were increased, the differences were statistically significant ($P < 0.05$), and compared with the model group, the levels of Raf, MEK and ERK protein in the low dose daidzein group, medium dose daidzein group, high dose daidzein group and rosuvastatin group were decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Daidzein intervention in rats with myocardial infarction can improve the electrocardiogram T wave, reduce the level of cTnI and protect the heart, and reduce myocardial cell apoptosis, and its mechanism is related to the inhibition of Raf-MEK-ERK signaling activation.

Key words: myocardial infarction; daidzein; cardiac troponin I; electrocardiogram; Raf-MEK-ERK

心肌梗死是常见的心血管疾病,属于危害人类健康的常见疾病。随着人口老龄化加剧,心肌梗死发病率及病死率均逐年升高,因此,了解 AMI 的发病机制、预防及治疗措施是国内外学者研究的重点内容^[1]。现阶段,对心肌梗死的研究须通过建立稳定的动物模型,模拟人体心肌梗死的病理生理过程,结扎大鼠左前降支(LAD)是心肌梗死常见的动物模型方法,采用心电图可观察模型是否构建成功^[2]。心肌梗死心电图为 ST 段偏移的同时 T 波倒置或高尖、病理性 Q 波群宽大等,有学者认为心肌梗死心电图异常对于疾病诊断及临床治疗具有重要帮助^[3]。心肌肌钙蛋白 I(cTnI)是一种调节蛋白,主要以结合的形成存在,在正常状态下呈现低表达但当心肌细胞损伤时, cTnI 会快速进入血液,导致其水平升高,可作为心肌梗死的诊断标志物^[4]。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路是细胞产生物学效应的必要环节, Raf-MEK-ERK 是 MAPK 众多通路之一,已有研究表明,在心力衰竭中抑制 Raf-MEK-ERK 表达可发挥心肌保护作用^[5]。大豆异黄酮是一种天然的异黄酮,大豆苷元是其中成分之一,具有抗肿瘤、心脑血管保护及抗动脉硬化的作用^[6]。本文通过建立心肌梗死动物模型,分析大豆苷元对心电图、cTnI 及 Raf-MEK-ERK 信号通路的影响,以期为心肌梗死的药物治疗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取无特定病原体等级成年雄性大

鼠 60 只作为研究对象。体质量为 (200 ± 30) g, 鼠龄 3~4 周,均购于广东省医学 SD 大鼠中心。动物许可证号:SYXK(粤)2021-0005。于本院动物实验室饲养,5 只大鼠 1 个笼子,温度 $23 \sim 25$ °C,湿度 $50\% \sim 60\%$,黑夜白昼 12 h,自由进食及饮水,所有大鼠适应 7 d 后进行实验。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 试剂 大豆苷元(陕西海天制药有限公司,批号:DA02102);瑞舒伐他汀(浙江京新药业股份有限公司,国药准字 H20080483);盐水氯胺酮(浙江九旭药业有限公司;国药准字 H20023609);咪达唑仑注射液(江苏恩华药业股份有限公司,国药准字 H10980025);阿托品(万邦德制药集团股份有限公司,国药准字 H13022140);聚维酮碘(广东恒健制药有限公司,国药准字 H44023924);青霉素(哈药集团制药总厂,国药准字 H23021439)。戊巴比妥钠(上海新亚药业有限公司,国药准字 H31021725);磷酸盐缓冲液(PBS)、0.25% 胰酶(HyClone 公司,货号:SH30256.01、SH30042.01);cTnI 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉益普生物科技有限公司,货号:CSB-E16443r);肌酸激酶同工酶(CK-MB)ELISA 试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司,货号:ARB12265);肿瘤坏死因子(TNF- α)及白细胞介素(IL)-6 ELISA 试剂盒(杭州联科生物技术有限公司,货号:ER382HS、EK306HS);BCA 试剂盒及 SDS-PAGE 凝胶配置试剂盒[翌圣生物科技(上海)股份有

限公司,货号:20201ES、20328ES50];苏木精-伊红(HE)试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号:G1120);Raf-1、MEK 多克隆抗体(武汉艾美捷科技有限公司,货号:ABP5598、20R-2366);兔抗人 ERK 多克隆抗体(武汉菲恩生物科技有限公司,货号:FNab02846);GAPDH 兔多克隆抗体(赛默飞世尔科技有限公司,货号 PA1-16777);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(碧云天生物科技有限公司,货号 A0208)。

1.2.2 仪器 Qilinbeier TS-1000 型摇床(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);IX71 型倒置拍照显微镜(上海赖氏电子科技有限公司);TDZ4-WS 型低速离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);DYCP-31E 电泳仪(北京六一仪器厂补全称);DW3000-B 小动物呼吸机(北京金洋万达科技有限公司)。

1.3 方法 将 60 只大鼠随机分为假手术组、模型组、低剂量大豆苷元组、中剂量大豆苷元组、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组,每组 10 只。按照 2 mL/kg 的氯胺酮复合咪唑安定(2:1)混合液腹腔注射麻醉,2 mg/kg 的阿托品注射肌肉,大鼠肌力松弛后,将其固定于动物手术台上。脱毛,四肢皮下连接电极,检测心率及心电变化^[7]。气管插管,连接小动物呼吸机,呼吸频率 70 次/min,潮气量 7~8 mL,呼吸比 1:2。聚维酮碘消毒,于胸骨左侧 0.5 cm 做一纵行切口,上与两前肢保持水平,下至第 5 肋间,止血钳钝性分离皮下组织、筋膜、胸大肌及前锯肌,暴露左侧肋骨及肋间肌,分离第 4 及第 5 肋间肌,采用弯钳上下、左右扩大创口,剪破并挤压心包,采用止血钳扩张胸壁创口,将心脏挤至肺动脉圆锥及左侧心耳交接处下 5 mm,后采用 5-0 丝线结扎左前降支近端。当心电图出现 ST 段抬高、Q 波或 T 波倒置,心肌变为建模成功标准。迅速将心脏送回胸腔,增加潮气量至 10 mL,挤压胸腔,排除残留气体,关闭胸腔逐层缝合皮肤。待大鼠可自主呼吸后,撤去呼吸机并拔掉气管插管,肌肉注射 20 万的青霉素预防感染,假手术组只穿线不结扎。

按照人与大鼠体表面积法进行换算,低剂量大豆苷元组、中剂量大豆苷元组、高剂量大豆苷元组分别每天灌胃 1.25、2.5、5 g/kg 的大豆苷元,瑞舒伐他汀组每天灌胃 1.0 mg/kg 瑞舒伐他汀溶液(溶于 2 mL 生理盐水),假手术组及模型组灌胃等体积的生理盐水,每天 1 次,均连续灌胃 4 周。

1.3.1 心电图检查 末次灌胃后,各组大鼠仰卧固定于手术台上,稳定后以肢体 II 导联介入 BL-420 系统,记录各组大鼠肢体 II 导联心电图,分析 T 波值、J 点值。

1.3.2 血清 cTnI、CK-MB 及炎症因子水平检测 各组大鼠末次灌胃后抽取尾部静脉血 2 mL,分 2 次抽取,3 500 r/min(离心半径 10 cm)离心 10~15 min,保留上清液并采用 ELISA 试剂盒检测 cTnI、CK-

MB、TNF- α 及 IL-6 水平,所有操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.3 组织提取 实验结束后,将大鼠麻醉颈部脱臼处死,迅速分离心脏,沿着大血管根部剪断,生理盐水冲洗,滤纸吸干,中性甲醛溶液固定。

1.3.4 HE 染色观察心肌组织病理形态 取心肌组织于 10% 甲醛溶液中固定,纵向切片,放入脱钙剂中脱钙,后石蜡包埋切片 4 μ m,放入 37 $^{\circ}$ C 复温 15 min,二苯甲脱蜡后按照梯度乙醇进行逐层脱水,苏木精染色 10 min,盐酸溶液(1%)处理,伊红复染,梯度乙醇脱水,中性树脂封片,显微镜下观察组织形态。

1.3.5 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡 心肌组织制成 10 μ m 的切片,乙醇脱蜡、蛋白酶 K 消化 15 min, PBS 冲洗,4% 甲醛溶液固定,加入 Buffer 缓冲液室温孵育 5 min,加入 TUNEL 反应混合液水浴 60 min。缓冲液处理 15 min,加入 DAB 工作液显色,封片,每张切片随机选择不重叠的 5 个视野计算细胞凋亡率。

1.3.6 免疫印记法检测心肌组织中 Raf、MEK、ERK 蛋白水平 将液氮处理的心肌组织,采用 PBS 冲洗后切碎,加入 1 mL 的细胞裂解液,10 000 $\times$ g,4 $^{\circ}$ C 离心 5 min,取上清液,加入样孔中,采用 BCA 法检测总蛋白水平,每孔上样蛋白量 20 μ g,SDS-PAGE 凝胶电泳。电泳结束后取出胶体,于 100 mA 恒流下进行转膜,TBST 洗涤,5% 脱脂牛奶封闭 2 h,再次洗涤 3 次,加入 1 抗 Raf(1:150)、MEK(1:200)、ERK(1:200)及 GAPDH(1:500),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。12 h 后 TBST 冲洗,加入辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG 二抗(1:2 000),TBST 洗涤 3 次,每 5 分钟 1 次。ECL 化学发光法显影,采用 ImageJ 软件分析条带计算蛋白表达量。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism8 软件进行数据处理与统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠心电图及心电参数比较 建立心肌梗死动物模型时,以结扎左前降支后 30 min,观察大鼠心电图导联 ST-T 段弓背抬高表示心肌梗死模型建立成功。见图 1。与假手术组比较,模型组及低、中、高剂量大豆苷元组和瑞舒伐他汀组 T 波均升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,低、中、高剂量大豆苷元组和瑞舒伐他汀组 T 波均升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组 J 点比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠 cTnI、CK-MB、TNF- α 及 IL-6 水平比较 与假手术组比较,模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 cTnI、CK-MB、TNF- α 及 IL-6 水平均升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与模

型组比较,低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 cTnI、CK-MB、TNF- α 及 IL-6 水平均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。高剂量大豆苷元组与瑞舒伐他汀组 cTnI、CK-MB、TNF- α 及 IL-6 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 各组大鼠心电图参数比较($\bar{x}\pm s$,mV)			
组别	<i>n</i>	T 波	J 点
假手术组	10	0.27 $\pm$ 0.05	0.09 $\pm$ 0.02
模型组	10	0.10 $\pm$ 0.03 ^a	0.06 $\pm$ 0.04
低剂量大豆苷元组	10	0.15 $\pm$ 0.05 ^{ab}	0.06 $\pm$ 0.03
中剂量大豆苷元组	10	0.19 $\pm$ 0.07 ^{ab}	0.07 $\pm$ 0.02
高剂量大豆苷元组	10	0.23 $\pm$ 0.06 ^{ab}	0.08 $\pm$ 0.03
瑞舒伐他汀组	10	0.22 $\pm$ 0.06 ^{ab}	0.08 $\pm$ 0.02
<i>F</i>		12.360	1.913
<i>P</i>		<0.001	0.107

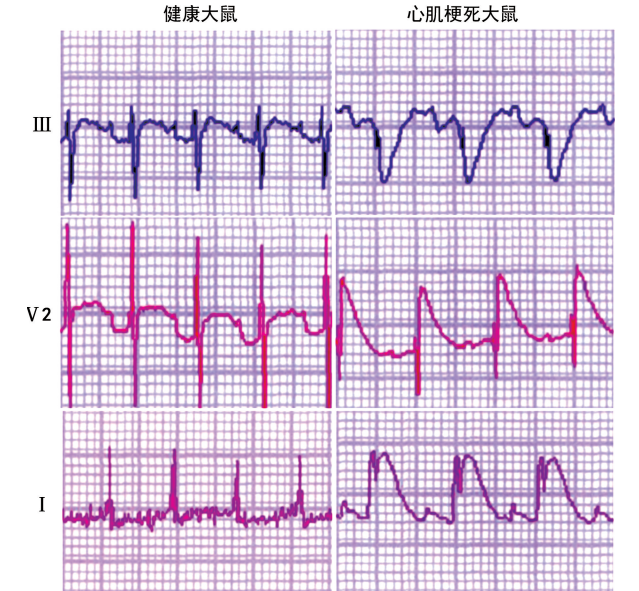
注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 HE 染色结果比较 假手术组大鼠心肌组织无炎症浸润;模型组大鼠心肌组织纤维排列紊乱且断裂,大量中性粒细胞浸润,炎症反应明显;与模型组比较,低、中剂量大豆苷元组心肌组织病变范围减小,高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组存在轻微炎症浸润,且心肌组织纤维紊乱明显改善。见图 2。

2.4 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡率比较 假手术组、模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组大鼠心肌细胞凋亡率分别为(3.56 $\pm$ 0.41)%、(32.50 $\pm$ 5.50)%、(24.15 $\pm$ 3.66)%、(19.66 $\pm$ 2.80)%、(11.20 $\pm$ 1.80)%及(12.03 $\pm$ 2.11)%。与假手术组比较,模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组心肌细胞凋亡率升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,低、中、高剂量大豆苷

元组及瑞舒伐他汀组心肌细胞凋亡率均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。高剂量大豆苷元组与瑞舒伐他汀组心肌细胞凋亡率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 3。

2.5 各组大鼠 Raf、MEK、ERK 蛋白水平比较 与假手术组比较,模型组和低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 Raf、MEK、ERK 蛋白水平均升高,与模型组比较,低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 Raf、MEK、ERK 蛋白水平均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。高剂量大豆苷元组与瑞舒伐他汀组 Raf、MEK、ERK 蛋白水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3、图 4。



注:Ⅲ表示下壁导联;V2表示胸前导联;I表示肢体导联。

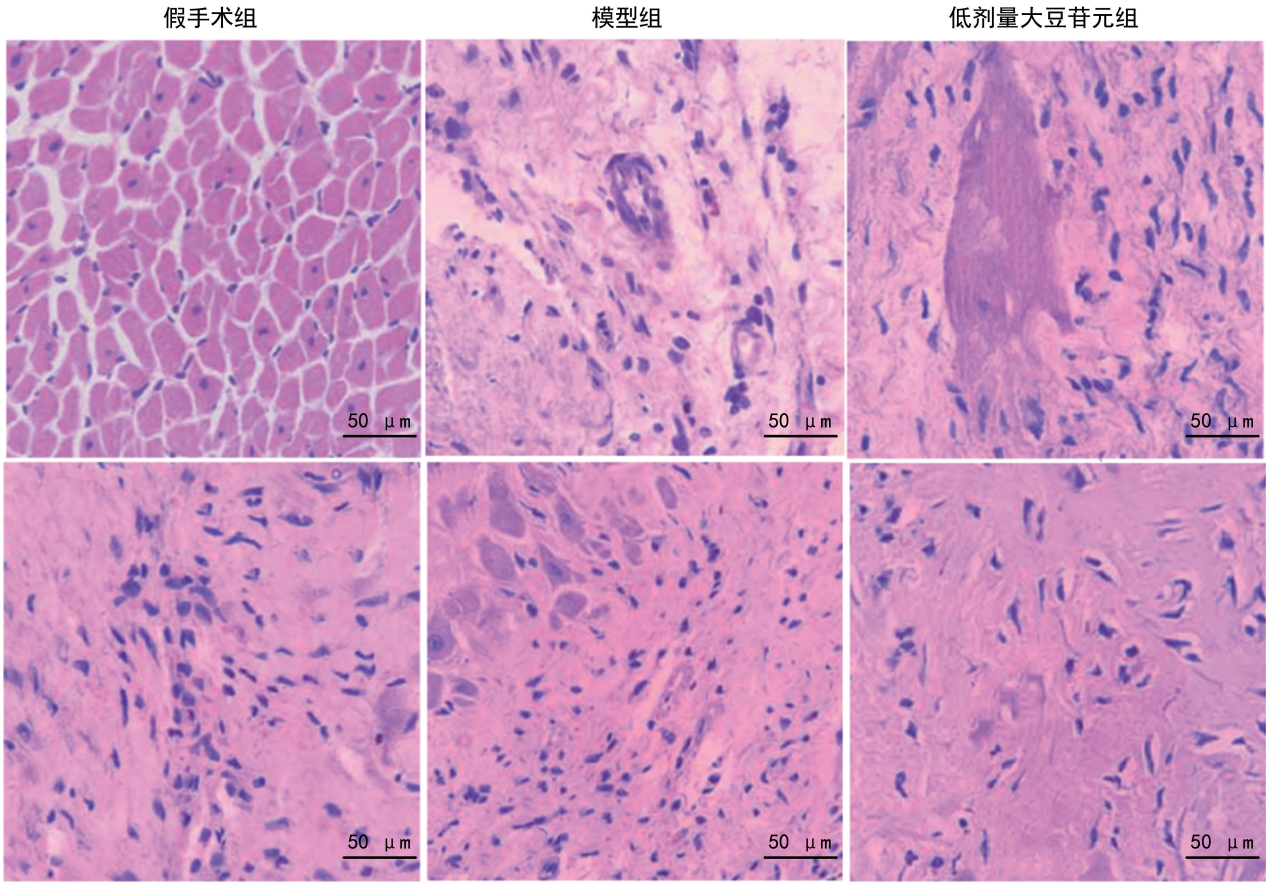
图 1 健康大鼠与心肌梗死大鼠心电图

表 2 各组大鼠 cTnI、CK-MB、TNF- α 及 IL-6 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)					
组别	<i>n</i>	cTnI	CK-MB	TNF- α	IL-6
假手术组	10	0.15 $\pm$ 0.03	3.11 $\pm$ 0.28	93.25 $\pm$ 12.50	205.66 $\pm$ 33.69
模型组	10	0.85 $\pm$ 0.14 ^a	10.36 $\pm$ 1.22 ^a	306.58 $\pm$ 52.20 ^a	644.15 $\pm$ 89.40 ^a
低剂量大豆苷元组	10	0.68 $\pm$ 0.11 ^{ab}	8.12 $\pm$ 0.81 ^{ab}	264.36 $\pm$ 41.22 ^{ab}	530.17 $\pm$ 77.91 ^{ab}
中剂量大豆苷元组	10	0.50 $\pm$ 0.10 ^{abc}	6.33 $\pm$ 0.60 ^{abc}	202.60 $\pm$ 44.20 ^{abc}	447.60 $\pm$ 60.12 ^{abc}
高剂量大豆苷元组	10	0.30 $\pm$ 0.06 ^{abcd}	5.02 $\pm$ 0.57 ^{abcd}	155.63 $\pm$ 25.47 ^{abcd}	352.11 $\pm$ 54.40 ^{abcd}
瑞舒伐他汀组	10	0.31 $\pm$ 0.08 ^{abcd}	5.27 $\pm$ 0.58 ^{abcd}	152.69 $\pm$ 28.77 ^{abcd}	348.80 $\pm$ 55.20 ^{abcd}
<i>F</i>		61.020	120.700	46.450	57.420
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与低剂量大豆苷元组比较,^c $P<0.05$;与中剂量大豆苷元组比较,^d $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠 Raf、MEK、ERK 蛋白水平比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	Raf	MEK	ERK
假手术组	10	0.36 $\pm$ 0.05	0.64 $\pm$ 0.13	1.05 $\pm$ 0.21
模型组	10	1.03 $\pm$ 0.20 ^a	1.66 $\pm$ 0.25 ^a	2.02 $\pm$ 0.33 ^a
低剂量大豆苷元组	10	0.85 $\pm$ 0.11 ^{ab}	1.38 $\pm$ 0.19 ^{ab}	1.88 $\pm$ 0.25 ^{ab}
中剂量大豆苷元组	10	0.70 $\pm$ 0.09 ^{abc}	1.02 $\pm$ 0.22 ^{abc}	1.57 $\pm$ 0.30 ^{abc}
高剂量大豆苷元组	10	0.51 $\pm$ 0.07 ^{abcd}	0.93 $\pm$ 0.17 ^{abcd}	1.26 $\pm$ 0.18 ^{abcd}
瑞舒伐他汀组	10	0.53 $\pm$ 0.08 ^{abcd}	0.92 $\pm$ 0.20 ^{abcd}	1.28 $\pm$ 0.20 ^{abcd}
<i>F</i>		49.290	34.580	23.100
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与低剂量大豆苷元组比较,^c $P<0.05$;与中剂量大豆苷元组比较,^d $P<0.05$ 。

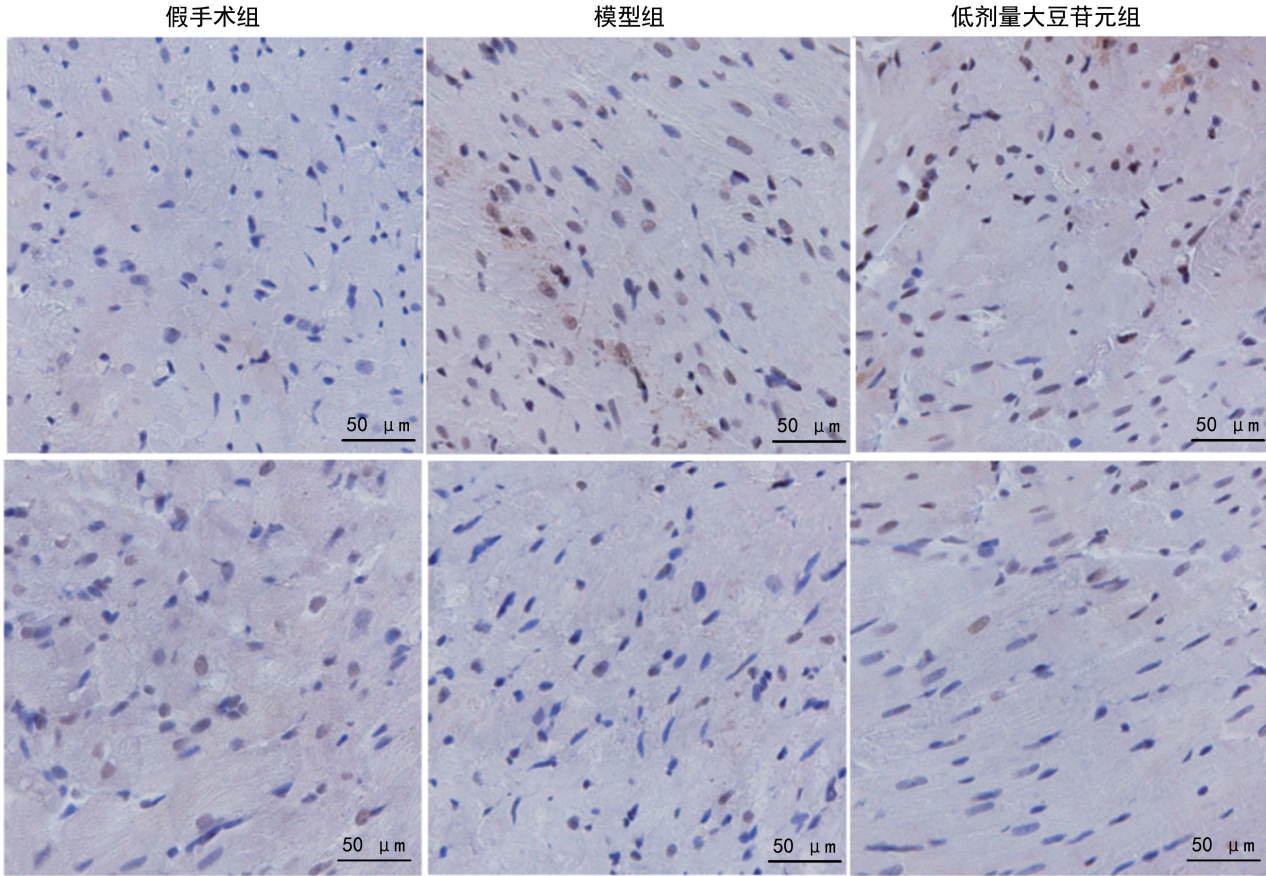


中剂量大豆苷元组

图 2

高剂量大豆苷元组
各组大鼠心肌组织 HE 染色结果比较 (200×)

瑞舒伐他汀组



中剂量大豆苷元组

图 3

高剂量大豆苷元组
各组大鼠心肌细胞凋亡情况比较 (200×)

瑞舒伐他汀组

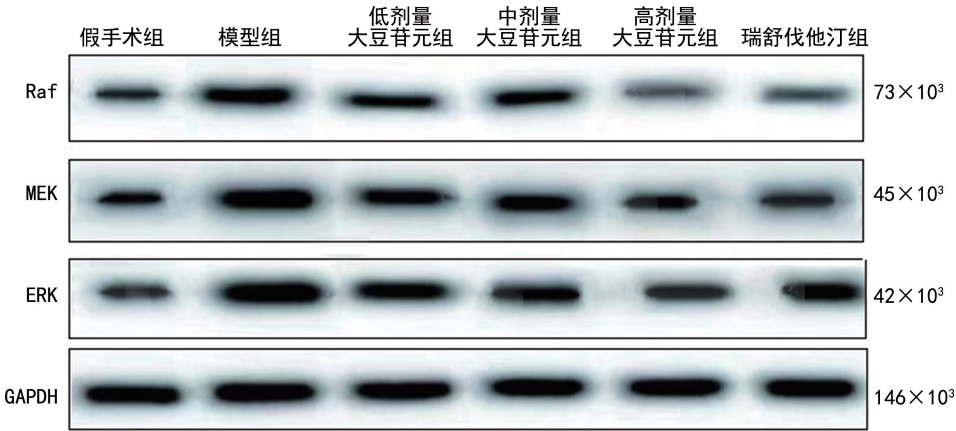


图 4 免疫印记法检测各组大鼠心肌组织 Raf、MEK、ERK 蛋白图

3 讨 论

心肌梗死是冠心病最严重的一种疾病类型,是发达国家病死率升高的主要原因,随着研究深入,有学者认为心肌梗死的发生与发展是一个持续渐进的病理生理过程^[7],因此,建立合适动物模型了解发病机制的同时,探讨药物的治疗效果也同样重要。

目前,心肌梗死动物建模方法多采用徐氏方法,但是手术成功率较低,后发现改良冠状动脉结扎模型在满足心肌梗死疾病特征的同时建模成功率较高。心电图是临床诊断心肌缺血性疾病的主要方法,可以较好地反应心脏电活动及心脏结构,并随着心电图技术的发展,其可以简单、便捷地记录小动物心电图,可用于评估动物建模是否成功及临床疗效^[8]。本研究结果显示,心肌梗死大鼠心电图导联 ST-T 段弓背抬高表明建模成功,与假手术组比较,模型组及低、中、高剂量大豆苷元组和瑞舒伐他汀组 T 波均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。进一步分析各组大鼠心电图参与 T 波及 J 点,认为大豆苷元干预后大鼠 T 波升高但 J 点无明显改变,且瑞舒伐他汀组也可升高 T 波。当冠状动脉收缩时造成心肌供血不足,心肌负荷加重,在心电图上可表现为 sT 段改变,T 波升高。心电图 J 点抬高表明心室发生阻滞,室内传导延迟^[9]。大豆苷元是大豆异黄酮的有效成分,广泛存在于豆科和鸚尾科植物中,是大豆的主要有效成分之一。大豆苷元的生物学效应广泛,目前较明确的为抗氧化、抗炎及保护心脏作用,被广泛应用于药物及保健品市场^[10]。大豆苷元对心脏具有保护作用,可以通过增加心肌供血供氧,心肌细胞得到充足的营养,并通过降低氧自由基而发挥雌激素的作用^[11]。相关体外和动物研究表明,大豆苷元可有效缓解炎症、氧化应激、高脂血症、心肌梗死、血栓栓塞、高血压和动脉瘤等疾病^[12]。瑞舒伐他汀是一种降脂药物,属于他汀类药物,主要用于降低胆固醇水平以预防心血管疾病。瑞舒伐他汀通过抑制胆固醇合成的关键酶即 HMG-CoA 还原酶,减少肝细胞内胆固醇的合成,促使肝细

胞表面的低密度脂蛋白(LDL)受体增多,加速血浆中 LDL 胆固醇的清除,有助于减少动脉斑块的形成和稳定,降低心肌梗死的发生率^[13]。

cTnI、CK-MB 是心肌损伤的诊断指标,血清中 cTnI 属于心肌肌肉收缩相关的蛋白,可调节心肌细胞收缩功能,心肌损伤时 cTnI 可快速从细胞中释放入血,且呈现高表达状态,被认为是心肌损伤的首选标志物。CK-MB 主要存在心肌细胞中,心肌梗死发生 6 h 内水平升高,可在一定程度上预测心肌肌肉萎缩情况^[14]。心肌梗死发生时伴随炎症反应,TNF-α 及 IL-6 是常见的炎症因子,TNF-α 是慢性炎症启动必需的因子,可诱导 IL-6 表达并参与血管内皮损伤,从而损伤心肌^[15]。本研究结果显示,与假手术组比较,模型组 cTnI、CK-MB、TNF-α 及 IL-6 水平均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 cTnI、CK-MB、TNF-α 及 IL-6 水平均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。说明大豆苷元具有抗炎及保护心肌的作用。大豆苷元可明显改善心肌损伤,降低心肌缺血程度并在增加心肌供血供氧量的同时降低乳酸脱氢酶、CK-MB 水平^[16]。另有研究表明,大豆苷元还可减少毒性,并通过调节氧化应激、凋亡相关因子而减少心肌细胞凋亡^[17]。相关研究表明,高糖可诱导巨噬细胞极化,促进炎症因子分泌,大豆苷元能通过调节 NL-RP3 炎症小体信号通路,抑制巨噬细胞 ROS 的表达从而减轻高糖诱导的巨噬细胞炎症反应^[18]。故本文认为不同剂量的大豆苷元对心肌损伤及炎症反应均发挥改善作用。

本研究结果显示,与假手术组比较,模型组 Raf、MEK、ERK 蛋白水平均升高,与模型组比较,低、中、高剂量大豆苷元组及瑞舒伐他汀组 Raf、MEK、ERK 蛋白水平均降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。认为大豆苷元可抑制 Raf、MEK、ERK 表达而改善心肌细胞凋亡,缓解病理损伤。凋亡在心肌梗死病理过程中具有重要作用,持续的冠状动脉堵塞可诱导心肌

梗死区域及周围组织心肌细胞凋亡加剧。信号通路异常表达可诱导心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡,MAPK 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其下游途径包含 ERK1/2、JNK、p38、ERK3/4 和 ERKS 亚家族。ERK 主要在细胞质中表达激活后进入细胞核产生细胞效应。Raf 是 1 种上游激活蛋白,被激活时其 C 端催化区可与 MEK 结合,激活 MEK,参与细胞死亡过程。柯萨奇 B3 病毒感染心肌炎动物模型的研究中发现,心肌细胞凋亡显著,同时伴随 MEK 及 ERK 磷酸化水平升高,采用贝母素乙干预后可通过抑制 MEK/ERK 的磷酸化而降低心肌细胞的凋亡^[19]。大豆苷元具有发挥强大的抗氧化作用,同时可通过调节 B 淋巴细胞瘤-2 抑制心肌细胞凋亡。近年来,黄酮类植物化学物而抑制 ROS-p38MAPK-NF-KB 信号通路而调节细胞凋亡,大豆苷元属于黄酮类植物化学物对 MAPK 信号通路具有抑制作用^[20]。故本文推测大豆苷元可以通过抑制 Raf、MEK、ERK 活性而降低心肌细胞凋亡,改善病理损伤抑制炎症反应,发挥心肌保护作用。

综上所述,心肌梗死大鼠采用大豆苷元干预后可提高心电 T 波,降低 cTnI 水平进而保护心脏,同时可降低心肌细胞凋亡,其作用机制与抑制 Raf-MEK-ERK 信号激活相关。

参考文献

[1] DUCROCQ G,GONZALEZ-JUANATEY J R,PUYMIRAT E,et al. Effect of a restrictive vs liberal blood transfusion strategy on major cardiovascular events among patients with acute myocardial infarction and anemia;the reality randomized clinical trial[J]. JAMA,2021,325(6):552-560.

[2] 赵艳媛,余琳静,白明,等. 急性心肌梗死动物模型应用分析[J]. 中药新药与临床药理,2022,33(9):1236-1241.

[3] 向长铁,刘佳丽,张爱民,等. 沙库巴曲缬沙坦钠片通过 NF2/Mst1 信号通路抑制细胞凋亡改善心肌梗死大鼠心肌纤维化[J]. 中国老年学杂志,2022,42(8):1927-1931.

[4] ANDERSEN C F,BANG C,LAURIDSEN K G,et al. Single troponin measurement to rule-out acute myocardial infarction in early presenters[J]. Int J Cardiol,2021,341:15-21.

[5] 薛一涛,李秋实,焦华琛,等. 复心合剂对心衰大鼠信号通路 Raf-MEK-ERK 的影响[J]. 中华中医药学刊,2015,33(4):791-794.

[6] 匡怡. 大豆苷元对大鼠心室肌细胞离子通道的影响[D]. 扬州:扬州大学,2019.

[7] 杨铃,张铁欧,贾力莉,等. 心肌梗死大鼠模型的建立及疾病进程评价[J]. 中国组织工程研究,2022,26(23):3733-3737.

[8] 王琪格,李迪,张柔,等. 针药结合对心肌梗死大鼠内向整流钾离子通道相关蛋白的影响及作用机制[J]. 中华中医药学刊,2022,40(5):243-247.

[9] 梁文怡,孔然,谢丽映,等. 硝酸甘油联合三七总皂苷对急性心肌梗死大鼠模型的治疗作用[J]. 四川医学,2021,42(9):887-891.

[10] 白登彦,王冠,张海军,等. 大豆苷元干预 Hedgehog 信号通路调控去卵巢骨质疏松大鼠基质金属蛋白酶代谢[J]. 中国骨质疏松杂志,2022,28(11):1577-1581.

[11] ZENG X,YU J,ZENG T,et al. 3'-daidzein sulfonate protects myocardial cells from hypoxic-ischemic injury via the NRF2/HO-1 signaling pathway[J]. J Thorac Dis,2021,13(12):6897-6910.

[12] AKHLAGHIPOUR I,NASIMI SHAD A,ASKARI V R,et al. Daidzin and its de-glycosylated constituent daidzein as a potential therapeutic for cardiovascular diseases;a review from bench to bed[J]. Phytother Res,2024,38(8):3973-3985.

[13] ALAM S R,STIRRAT C,SPATH N,et al. Myocardial inflammation,injury and infarction during on-pump coronary artery bypass graft surgery[J]. J Cardiothorac Surg,2017,12(1):115.

[14] ABOUZAKI N A,CHRISTOPHER S,TRANKLE C,et al. Inhibiting the inflammatory injury after myocardial ischemia reperfusion with plasma-derived alpha-1 antitrypsin;a post hoc analysis of the VCU-α1RT study[J]. J Cardiovasc Pharmacol,2018,71(6):375-379.

[15] 刘江波,赵晓宁,姚明杨,等. 心肌梗死合并肺部感染患者血清 PCT、IL-6 和 TNF-α 与心肌酶谱的关系及临床价值[J]. 分子诊断与治疗杂志,2022,14(1):19-22.

[16] KASSAB R B,ELHENAWY A A,AbdulrahmanTheyab,et al. Modulation of inflammatory,oxidative,and apoptotic stresses mediates the renoprotective effect of daidzein against glycerol-induced acute kidney injury in rats[J]. Environ Sci Pollut Res Int,2023,30(56):119016-119033.

[17] 奚琳,王程,马艳红,等. 大豆苷元减轻阿霉素心脏毒性的初步研究[J]. 徐州医科大学学报,2021,41(7):475-479.

[18] 刘玉晖,常诗瑶,朱洪杨,等. 大豆苷元通过调控 NLRP3 炎性小体信号通路对高糖诱导的巨噬细胞炎症损伤的影响及机制研究[J]. 中国中药杂志,2024,49(17):4734-4743.

[19] 黄亚萍,肖惠玲,李艳红,等. 贝母素乙抑制 MEK/ERK 的磷酸化对新生小鼠柯萨奇 B 病毒性心肌炎心肌细胞凋亡和炎症水平的影响[J]. 中药药理与临床,2020,36(1):94-99.

[20] 胡雅琪,刘建和. 黄酮类中药单体对心肌缺血再灌注损伤信号通路调控作用的研究进展[J]. 中国中药杂志,2023,48(4):879-889.