

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.16.005

瑞马唑仑通过抑制 NLRP3 炎症小体活化减轻心肌缺血再灌注大鼠
心肌细胞损伤的研究*乔 芬¹, 曾丽红², 支亦博¹, 田蕾蕾¹1. 山西医科大学附属运城市中心医院麻醉科, 山西运城 044000; 2. 山西省儿童医院
麻醉科, 山西太原 030000

摘要:目的 探讨瑞马唑仑(RMZL)通过抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)炎症小体活化减轻心肌缺血再灌注大鼠心肌细胞损伤的潜在作用机制。方法 将 60 只 SD 雄性大鼠随机分为对照组(CON 组)、模型组[心肌缺血再灌注损伤(MIRI)组]、RMZL 低剂量组(RMZL-L 组)、RMZL 高剂量组(RMZL-H 组)和 NLRP3 抑制剂组(MCC950 组), 每组 12 只。除 CON 组外, 其余大鼠均通过冠状动脉结扎诱导 MIRI 模型。建模成功后, RMZL-L 组和 RMZL-H 组大鼠分别于尾部静脉注射 15 mg/kg 和 25 mg/kg 剂量的 RMZL, MCC950 组注射 3 mg/kg 的 MCC950, CON 组和 MIRI 组注射等量体积的生理盐水, 每天注射 1 次, 连续干预 10 d。使用氯化三苯四氮唑(TTC)染色、苏木精-伊红(HE)染色、末端脱氧核糖核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)染色分别检测、观察各组大鼠心肌组织梗死面积、病理变化以及心肌细胞凋亡情况; 检测各组大鼠血清心肌损伤标志物[肌酸激酶同工酶 MB(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)]、炎症因子[肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18(IL-18)]以及氧化应激指标[丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)]水平; 采用 Western blotting 检测各组大鼠心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平。**结果** 与 CON 组相比, MIRI 组的心肌梗死面积比例和心肌细胞凋亡率均明显增加($P < 0.05$), 血清 CK-MB、LDH、cTnI、TNF- α 、IL-1 β 、IL-18、MDA 水平及心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平均明显升高($P < 0.05$), 血清 SOD 水平明显降低($P < 0.05$)。与 MIRI 组相比, RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组的心肌梗死面积比例和心肌细胞凋亡率均明显减少($P < 0.05$), 血清 CK-MB、LDH、cTnI、TNF- α 、IL-1 β 、IL-18、MDA 水平及心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平均明显降低($P < 0.05$), 血清 SOD 水平均明显升高($P < 0.05$)。与 RMZL-L 组比较, RMZL-H 组、MCC950 组的心肌梗死面积比例和心肌细胞凋亡率均明显减少($P < 0.05$), 血清 CK-MB、LDH、cTnI、TNF- α 、IL-1 β 、IL-18、MDA 水平及心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平均明显降低($P < 0.05$), 血清 SOD 水平均明显升高($P < 0.05$)。RMZL-H 组与 MCC950 组上述指标比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** RMZL 预处理可有效减轻 MIRI 大鼠的心肌细胞损伤, 其机制可能与抑制 NLRP3 炎症小体的活化有关。

关键词:瑞马唑仑; NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3; 心肌缺血再灌注损伤; 心肌细胞; 炎症小体

中图法分类号: R541; R982

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)16-2183-08

Study on remimazolam alleviating myocardial cell damage in rats with myocardial
ischemia-reperfusion by inhibiting NLRP3 inflammasome activation*QIAO Fen¹, ZENG Lihong², ZHI Yibo¹, TIAN Leilei¹

1. Department of Anesthesiology, Yuncheng Central Hospital Affiliated to Shanxi Medical University, Yuncheng, Shanxi 044000, China; 2. Department of Anesthesiology, Shanxi Provincial Children's Hospital, Taiyuan, Shanxi 030000, China

Abstract: Objective To explore the potential mechanism of remimazolam (RMZL) in attenuating myocardial cellular damage of the rats with ischemia-reperfusion by inhibiting the activation of NOD-like receptor pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome. **Methods** Sixty male SD rats were randomly divided into the control group (CON group), model group [myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) group], low-dose RMZL group (RMZL-L group), high-dose RMZL group (RMZL-H group) and NLRP3 inhibitor group (MCC950 group), with 12 rats in each group. Except for the CON group, the remaining rats were induced to

* 基金项目: 山西省科学技术研究与开发项目(202101D1172004)。

作者简介: 乔芬, 女, 主治医师, 主要从事合并冠心病患者全身麻醉手术用药方向的研究。

the MIRI models by coronary artery ligation. After successful modeling, the rats in the RMZL-L group and RMZL-H group were intravenously injected with 15 mg/kg and 25 mg/kg of RMZL via tail vein, respectively, the rats in the MCC950 group were injected with 3 mg/kg of MCC950, and the rats in the CON group and MIRI group were injected with the same volume of normal saline, once a day by continuous intervention for 10 d. Triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining, hematoxylin-eosin (HE) staining and terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) staining and TUNEL staining were used to detect and observe the rat myocardial tissues infarct area, pathological changes and myocardial cell apoptosis in each group; the levels of serum myocardial injury markers [creatin kinase isoenzyme MB (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), cardiac troponin I (cTnI)], inflammatory factors [tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-18 (IL-18)] and oxidative stress indicators [malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD)] in the rats of each group were detected; Western blotting was used to detect the expression levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 proteins in the rat myocardial tissue in each group. **Results** Compared with the CON group, the proportion of myocardial infarction area and myocardial cell apoptosis rate in the MIRI group were significantly increased ($P < 0.05$), and the levels of serum CK-MB, LDH, cTnI, TNF- α , IL-1 β , IL-18, MDA and the expression levels of NLRP3, ASC, Caspase-1 proteins in the myocardial tissue were significantly increased ($P < 0.05$), while the serum SOD level was significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the MIRI group, the proportion of myocardial infarction area and myocardial cell apoptosis rate in the RMZL-L group, RMZL-H group, and MCC950 group were significantly decreased ($P < 0.05$), and the levels of serum CK-MB, LDH, cTnI, TNF- α , IL-1 β , IL-18, MDA and the expression levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 proteins in the myocardial tissue were significantly decreased ($P < 0.05$), while the serum SOD level was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the RMZL-L group, the proportion of myocardial infarction area and myocardial cell apoptosis rate in the RMZL-H group and MCC950 group were significantly decreased ($P < 0.05$), and the levels of serum CK-MB, LDH, cTnI, TNF- α , IL-1 β , IL-18, MDA and the expression levels of NLRP3, ASC, Caspase-1 proteins in the myocardial tissue were significantly decreased ($P < 0.05$), while the serum SOD level was significantly increased ($P < 0.05$). There were no statistically significant differences in the above indicators between the RMZL-H group and the MCC950 group ($P > 0.05$). **Conclusion** RMZL pretreatment could effectively reduce the myocardial cell injury in MIRI rats, and its mechanism may be related to the inhibition of NLRP3 inflammasome activation.

Key words: remimazolam; NOD-like receptor pyrin domain containing 3; myocardial ischemia-reperfusion injury; cardiomyocytes; inflammasome

急性心肌梗死(AMI)是当今全球范围内导致人类死亡和重度残疾的主要病因之一,其不良影响主要与心肌细胞的功能障碍、损伤或死亡有关,这些均与缺血的严重程度及持续时间紧密相关^[1]。当前,通过抗血栓治疗或直接经皮冠状动脉介入治疗(PCI)实现心肌再灌注,是减轻缺血性损伤、缩小梗死范围的最有效手段。然而,心肌再灌注过程本身就会加剧心肌组织损伤,这一现象称为心肌缺血再灌注损伤(MIRI)^[2-3]。MIRI的发病机制复杂,包括炎症、氧化应激、线粒体功能障碍、自噬失调等,其中炎症在 MIRI 的病理生理学中起重要作用^[4]。

NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)炎症小体的异常激活可通过促进白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18(IL-18)等促炎性细胞因子的释放,加剧心肌炎症微环境改变并诱发凋亡,最终导致心肌细胞不可逆损伤^[5-6]。此外,NLRP3 还能整合凋亡相关斑点样蛋白(ASC)以激活胱天蛋白酶-1

(Caspase-1),这一过程可明显加剧机体的炎症反应,从而促进由缺血再灌注引起的心肌细胞损伤^[7]。因此,抑制 NLRP3 炎症小体的活化,减轻机体炎症反应,在改善 MIRI 的过程中至关重要。

新型苯二氮䓬类药物瑞马唑仑(RMZL)是一种更安全、更有效的镇静剂和麻醉剂,其优势是引起的血流动力学变化较少^[8]。研究发现,RMZL 可以保护大鼠免受脑缺血再灌注损伤^[9]。此外,它还可以减少缺血再灌注诱导的肝细胞和心肌细胞损伤,且在其中发挥抗炎作用^[10]。然而,目前尚不清楚 RMZL 是否可以通过抑制 NLRP3 炎症小体的活化在 MIRI 中发挥作用。因此,本研究通过冠状动脉结扎建立 MIRI 大鼠模型,探讨 RMZL 是否可以通过抑制 NLRP3 炎症小体活化而减轻心肌缺血再灌注大鼠心肌细胞损伤及可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 SD 雄性大鼠(200~240 g)

60 只,6 周龄,由山西三颗月生物科技有限公司提供,生产许可证号为 SYXK(晋)2024-0006。动物均于温度 21~25 ℃、湿度 50%~60% 的环境条件下饲养,光照、黑暗交替各 12 h,自由进食饮水。本研究已通过本院伦理委员会审批(202300120)。

1.2 试剂与仪器 RMZL 由武汉人福药业有限责任公司提供;NLRP3 抑制剂 MCC950 由北京百奥莱博科技有限公司提供;氯化三苯四氮唑(TTC)染色试剂盒由上海博尔森生物科技有限公司提供;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒由北京索莱宝公司提供;末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)染色试剂盒由北京雅安达生物技术有限公司提供;肌酸激酶同工酶 MB(CK-MB)试剂盒由上海碧云天生物科技有限公司提供;乳酸脱氢酶(LDH)、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)检测试剂盒均由上海博尔森生物科技有限公司提供;肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-1 β 、IL-18、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供;NLRP3 抗体由美国 Novus 公司提供;ASC、Caspase-1 抗体由美国 Abcam 公司提供。BX53 显微镜由日本 Olympus 公司提供;5418R 高速冷冻离心机由德国 Eppendorf 公司提供;4300 酶标仪由美国 Awareness 公司提供;Gel-Doc EZ 凝胶成像系统由美国 Bio-Rad 公司提供。

1.3 方法

1.3.1 实验分组、给药及造模 将 60 只 SD 大鼠随机分为对照组(CON 组)、模型组(MIRI 组)、RMZL 低剂量组(RMZL-L 组)、RMZL 高剂量组(RMZL-H 组)和 NLRP3 抑制剂组(MCC950 组),每组 12 只。除 CON 组外,其余大鼠均通过冠状动脉结扎诱导 MIRI 模型^[11];大鼠经 1%戊巴比妥钠麻醉后,于胸骨上窝中部切开皮肤,分离下颌下腺并暴露气管。在第 2、3 气管环之间横向切开气管,插管(0.5~1.0 cm)连接呼吸机。随后,剃除左胸毛,75%乙醇消毒后沿胸骨左边缘切开皮肤(2 cm),分离组织与肌肉至胸腔,暴露心脏。结扎左前降支冠状动脉,30 min 后解除结扎,恢复心肌再灌注 120 min。CON 组穿线但不进行结扎。若心电监护见 ST 段抬高、T 波高耸,再灌注后 ST 段回落、T 波恢复正常,提示 MIRI 模型建立成功。RMZL-L 组和 RMZL-H 组大鼠分别于尾部静脉注射 15 mg/kg 和 25 mg/kg 剂量的 RMZL^[12],MCC950 组注射 3 mg/kg 的 MCC950,CON 组和 MIRI 组注射等量体积的生理盐水,每天注射 1 次,连续干预 10 d。干预结束后腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,收集各组大鼠血液和心肌组织用于后续实验。

1.3.2 TTC 染色检测心肌梗死面积比例 将标本在 -20 ℃条件下冷冻 30 min,并将其切成约 1 mm 厚的切片,每个标本共切成 5 片。将每个切片放置在 6 孔板中,然后加入 1%的 TTC 并用圆形盖玻片覆盖,在

37 ℃下染色 15 min。染色后取出切片,使用图像分析软件 ImageJ 测量心肌梗死面积,并计算梗死面积占总面积的百分比。

1.3.3 HE 染色检测心肌组织病理变化 将心肌组织标本在 4%多聚甲醛中固定 24 h 后,石蜡包埋,切片(5 μ m 厚),脱蜡并进行不同浓度乙醇脱水。随后在 37 ℃下,用 0.3%苏木精染色 5 min、0.5%伊红溶液染色 2 min,常规脱水、透明并封固。在光学显微镜下观察心肌组织的病理学变化。

1.3.4 TUNEL 染色检测心肌细胞凋亡情况 取大鼠心肌组织石蜡切片,水化后滴加 20 μ g/mL 蛋白酶 K,在 37 ℃下孵育 30 min。然后经磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,加入 3%过氧化氢溶液室温孵育 20 min。之后,加入 TUNEL 反应液,37 ℃避光孵育 1 h。再次 PBS 洗涤后,室温加入反应终止液孵育 10 min、Streptavidin-HRP 工作液孵育 30 min、DAB 显色液孵育 10 min, PBS 洗涤 3 次后,进行苏木精复染、封片。最终,在显微镜下观察图像,并利用图像分析软件 ImageJ 统计阳性染色率。

1.3.5 试剂盒检测血清心肌损伤标志物、炎症因子以及氧化应激指标水平 将所取大鼠血液在 4 ℃条件下以 5 000 r/min 离心 15 min,收集上清液。采用酶偶联法检测 CK-MB 活性,采用比色法检测 LDH 活性,采用酶联免疫吸附试验检测 cTnI、TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 水平,采用硫代巴比妥酸法检测 MDA 水平,采用 WST-1 法检测 SOD 活性。严格按照试剂盒说明书加入标本及试剂,使用酶标仪在对应波长处检测各孔吸光度值,计算各指标活性或水平。

1.3.6 Western blotting 检测心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达情况 PBS 清洗心肌组织后,加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,通过 BCA 试剂盒测定蛋白表达水平。选取 30 μ g 蛋白进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,并转至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。经封闭后,加入 NLRP3、ASC、Caspase-1 及 β -actin 一抗,稀释比例全部为 1 : 1 000,于 4 ℃下过夜孵育。次日,加入二抗(1 : 5 000)孵育 1 h,经 ECL 洗涤后显色。以 β -actin 为内参,利用图像分析软件 ImageJ 进行灰度分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心肌梗死面积比例比较 CON 组、MIRI 组、RMZL-L 组、RMZL-H 组、MCC950 组梗死面积比例分别为(0.00 $\pm$ 0.00)%、(62.58 $\pm$ 9.34)%、(41.61 $\pm$ 6.40)%、(22.83 $\pm$ 4.52)%、(23.57 $\pm$ 3.28)%,多组间比较,差异有统计学意义($F =$

103.003, $P<0.001$)。与 CON 组相比, MIRI 组的心肌梗死面积比例显著增加 ($P<0.05$); 与 MIRI 组相比, RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组的心肌梗死面积比例均明显减少 ($P<0.05$); RMZL-H 组、MCC950 组的心肌梗死面积比例均明显低于 RMZL-L 组 ($P<0.05$); RMZL-H 组与 MCC950 组的心肌梗死面积比例比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 1。

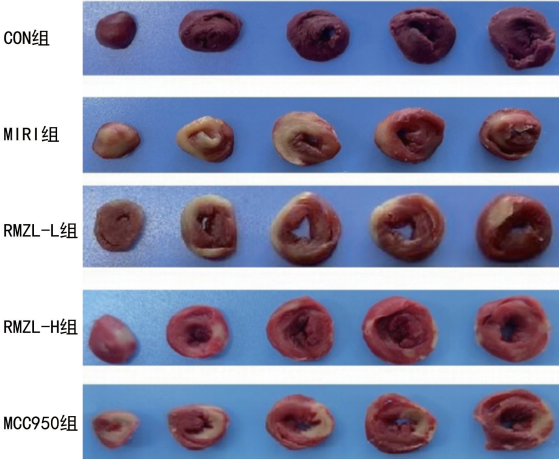


图 1 各组大鼠心肌梗死面积比例(TTC 染色)

2.2 各组大鼠心肌组织病理变化 HE 染色结果显示: 在 CON 组中, 心肌组织结构正常, 心肌细胞排列有序; MIRI 组心肌细胞排列紊乱, 心肌纤维有明显断裂, 大量炎症细胞浸润; 与 MIRI 组相比, RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组的心肌细胞排列恢复, 断裂消失。见图 2。

2.3 各组大鼠心肌细胞凋亡结果比较 CON 组、MIRI 组、RMZL-L 组、RMZL-H 组、MCC950 组心肌

细胞凋亡率分别为 $(5.17 \pm 0.28)\%$ 、 $(25.92 \pm 3.96)\%$ 、 $(17.48 \pm 4.10)\%$ 、 $(9.16 \pm 1.25)\%$ 、 $(9.64 \pm 0.66)\%$, 多组间比较, 差异有统计学意义 ($F=59.278, P<0.001$)。与 CON 组相比, MIRI 组心肌细胞凋亡率明显增加 ($P<0.05$); 与 MIRI 组相比, RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组的心肌细胞凋亡率均明显减少 ($P<0.05$); RMZL-H 组和 MCC950 组的心肌细胞凋亡率明显低于 RMZL-L 组 ($P<0.05$); RMZL-H 组与 MCC950 组的心肌细胞凋亡率比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 3。

2.4 各组大鼠血清心肌损伤标志物水平比较 与 CON 组相比, MIRI 组血清 CK-MB、LDH、cTnI 水平均明显升高 ($P<0.05$); 与 MIRI 组相比, RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组血清 CK-MB、LDH、cTnI 水平均明显降低 ($P<0.05$); RMZL-H 组和 MCC950 组血清 CK-MB、LDH、cTnI 水平均明显低于 RMZL-L 组 ($P<0.05$); RMZL-H 组与 MCC950 组血清 CK-MB、LDH、cTnI 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

2.5 各组大鼠血清炎症因子水平比较 与 CON 组相比, MIRI 组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 水平均明显升高 ($P<0.05$); 与 MIRI 组相比, RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 水平均明显降低 ($P<0.05$); RMZL-H 组和 MCC950 组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 水平均明显低于 RMZL-L 组 ($P<0.05$); RMZL-H 组与 MCC950 组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

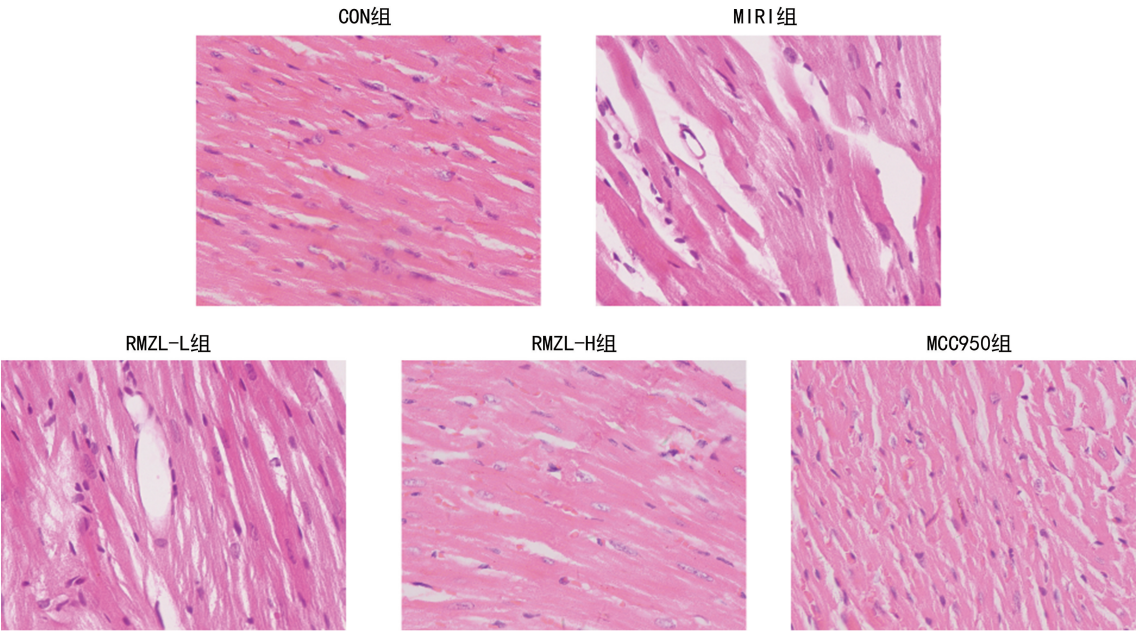


图 2 各组大鼠心肌组织病理变化(HE 染色, $\times 400$)

2.6 各组大鼠血清氧化应激指标水平比较 与 CON 组相比,MIRI 组血清 MDA 水平明显升高($P<0.05$),血清 SOD 水平明显降低($P<0.05$);与 MIRI 组相比,RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组血清 MDA 水平均明显降低($P<0.05$),血清 SOD 水平均

明显升高($P<0.05$);RMZL-H 组和 MCC950 组血清 MDA 水平均明显低于 RMZL-L 组($P<0.05$),血清 SOD 水平均明显高于 RMZL-L 组($P<0.05$);RMZL-H 组与 MCC950 组血清 MDA、SOD 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

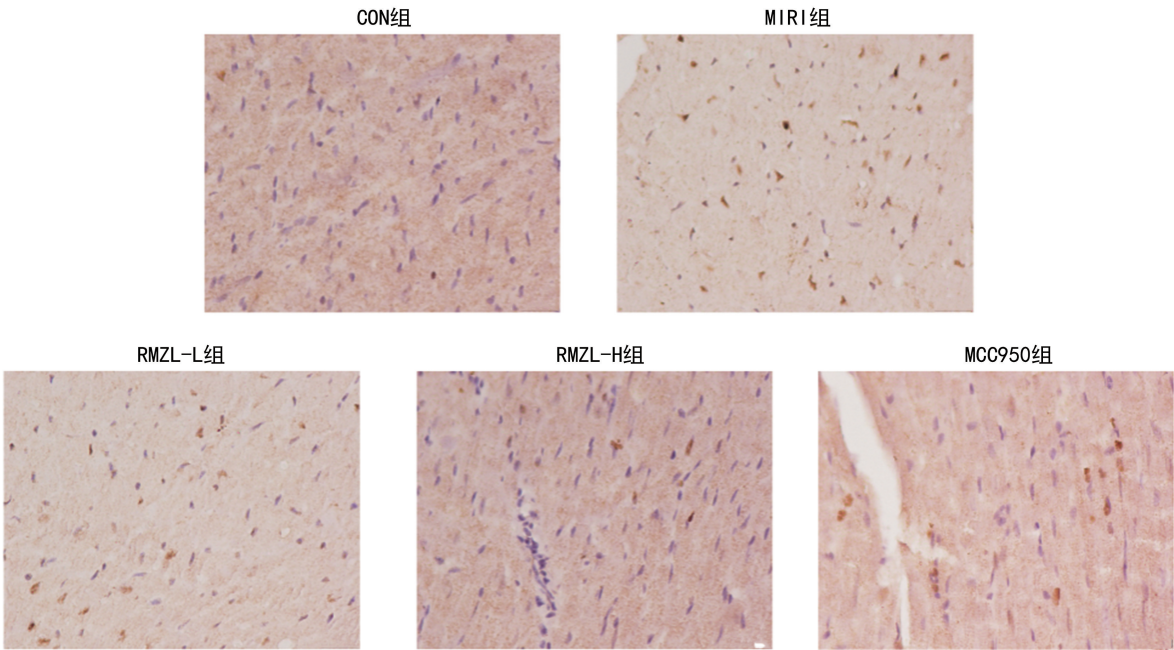


图 3 各组大鼠心肌细胞凋亡结果(TUNEL 染色,×200)

表 1 各组大鼠血清心肌损伤标志物水平比较($n=12,\bar{x}\pm s$)

组别	CK-MB(U/L)	LDH(U/L)	cTnI(pg/mL)
CON 组	744.68±137.24	758.11±68.87	285.63±31.12
MIRI 组	1 923.54±245.22 [*]	2 144.75±149.92 [*]	620.56±74.71 [*]
RMZL-L 组	1 399.13±234.12 [#]	1 739.38±157.02 [#]	493.52±33.46 [#]
RMZL-H 组	837.25±123.38 ^{#&}	1 045.22±137.48 ^{#&}	337.75±44.95 ^{#&}
MCC950 组	849.30±136.18 ^{#&}	1 074.18±84.96 ^{#&}	341.17±25.75 ^{#&}
F	45.343	125.253	55.470
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 CON 组相比,^{*} $P<0.05$;与 MIRI 组相比,[#] $P<0.05$;与 RMZL-L 组相比,[&] $P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠血清炎症因子水平比较 ($n=12,\bar{x}\pm s$,pg/mL)			
组别	TNF- α	IL-1 β	IL-18
CON 组	46.14±4.30	18.21±2.72	22.86±1.50
MIRI 组	96.93±7.13 [*]	55.62±6.02 [*]	69.85±4.76 [*]
RMZL-L 组	76.51±7.65 [#]	37.59±3.01 [#]	45.03±2.12 [#]
RMZL-H 组	57.83±8.07 ^{#&}	18.97±1.44 ^{#&}	32.10±3.21 ^{#&}
MCC950 组	58.41±6.41 ^{#&}	19.06±1.90 ^{#&}	32.33±3.66 ^{#&}
F	50.600	140.575	187.904
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 CON 组相比,^{*} $P<0.05$;与 MIRI 组相比,[#] $P<0.05$;与 RMZL-L 组相比,[&] $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠血清氧化应激指标水平比较($n=12,\bar{x}\pm s$)		
组别	MDA(nmol/L)	SOD(U/mL)
CON 组	4.32±0.33	27.54±2.99
MIRI 组	14.50±0.98 [*]	6.61±0.73 [*]
RMZL-L 组	11.56±0.77 [#]	12.26±0.71 [#]
RMZL-H 组	5.82±0.59 ^{#&}	22.14±2.19 ^{#&}
MCC950 组	6.20±0.46 ^{#&}	21.64±1.65 ^{#&}
F	254.196	121.776
P	<0.001	<0.001

注:与 CON 组相比,^{*} $P<0.05$;与 MIRI 组相比,[#] $P<0.05$;与 RMZL-L 组相比,[&] $P<0.05$ 。

2.7 各组大鼠心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋

白表达水平比较 与 CON 组相比, MIRI 组心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平均明显升高 ($P<0.05$); 与 MIRI 组相比, RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平均明显降低 ($P<0.05$); RMZL-H 组和 MCC950 组心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平均明显低于 RMZL-L 组 ($P<0.05$); RMZL-H 组与 MCC950 组心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 4、表 4。

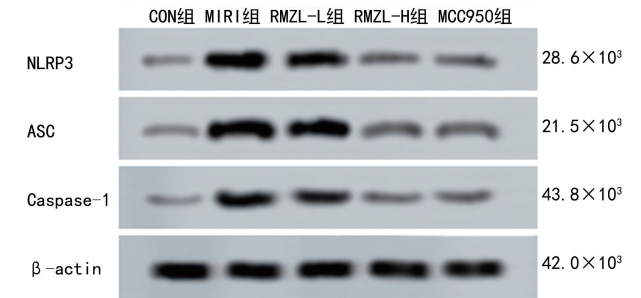


图 4 各组大鼠心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达的 Western blotting 图

表 4 各组大鼠心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达比较 ($n=12, \bar{x} \pm s$)			
组别	NLRP3 蛋白	ASC 蛋白	Caspase-1 蛋白
CON 组	1.26±0.11	1.55±0.23	1.18±0.08
MIRI 组	8.05±0.59 [*]	5.86±0.64 [*]	7.91±0.54 [*]
RMZL-L 组	6.94±0.70 [#]	3.59±0.29 [#]	5.94±0.28 [#]
RMZL-H 组	2.13±0.27 ^{#&}	1.95±0.15 ^{#&}	2.17±0.22 ^{#&}
MCC950 组	2.20±0.22 ^{#&}	1.97±0.21 ^{#&}	2.25±0.23 ^{#&}
F	302.805	156.462	523.681
P	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与 CON 组相比, ^{*} $P<0.05$; 与 MIRI 组相比, [#] $P<0.05$; 与 RMZL-L 组相比, [&] $P<0.05$ 。

3 讨 论

近年来, 心肌疾病已成为一个主要的健康问题。当心脏器官或组织供血不足时, 其结构与功能将不可避免地遭受损伤, 血液再灌注虽能及时、有效地控制损伤程度, 却往往伴随着更严重的心肌细胞损伤, 这一现象被医学界称为 MIRI^[13]。目前尚未发现针对 MIRI 的有效缓解手段, 因而在早期阶段进行干预尤为关键。为了深入研究 MIRI, 本研究建立了 MIRI 大鼠模型。诱导 MIRI 后, 大鼠的主要病理表现包括: 心肌梗死面积比例和心肌细胞凋亡率增加, 心肌细胞排列紊乱, 血清心肌损伤标志物 CK-MB、LDH、cTnI 水平异常升高, 与甄磊等^[14]研究结果相似, 提示 MIRI 大鼠模型建立成功。RMZL 是一种新型苯二氮䓬类静脉麻醉药, 具有稳定血流动力学、提供快速麻醉和

觉醒、对呼吸的抑制作用较小等优点^[15]。研究表明, RMZL 展现出了对 MIRI 的强大抗性, 能够有效降低心肌梗死的风险, 并显著提升心脏的整体功能^[16]。为了进一步验证 RMZL 对 MIRI 的影响, 本研究进行了相关实验, 数据显示, RMZL 干预后, RMZL-L 组和 RMZL-H 组均降低了 MIRI 大鼠的心肌梗死面积比例和心肌细胞凋亡率, 心肌细胞排列恢复, 同时也降低了血清心肌损伤标志物 CK-MB、LDH、cTnI 水平, 提示 RMZL 可有效减轻 MIRI 大鼠的心肌损伤程度, 抑制心肌细胞凋亡。

MIRI 的病理机制复杂, 其中最关键的因素是炎症反应^[17]。IL-1 β 是 MIRI 过程中一种变化较为显著的早期炎症介质^[18]。心肌缺血时, 机体释放大炎症因子, 从而损伤心肌细胞。再灌注后, TNF- α 和 IL-18 等促炎性细胞因子的高表达会加剧心肌损伤、扩大梗死面积、促进心肌细胞凋亡^[19]。FANG 等^[20]研究发现 RMZL 能够通过激活外周组织苯二氮䓬类受体来抑制炎症因子的产生和释放。本研究中, RMZL 的干预降低了 MIRI 大鼠血清中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 水平, 提示 RMZL 可能通过抑制机体炎症反应来减轻 MIRI 大鼠的心肌细胞损伤。此外, 氧化应激是介导 MIRI 的另一重要因素^[21], 由防御系统中活性氧(ROS)和抗氧化剂的异常生成引起^[22]。ROS 在正常体内平衡中至关重要, 当 ROS 过度产生时, 就会发生氧化应激^[23]。MDA 作为体内脂质过氧化水平的直接指标, 反映了氧化应激和 ROS 的产生情况。SOD 是抗氧化酶的重要成员, 能够清除超氧自由基, 是维持细胞稳态的重要分子^[24]。在 MIRI 的进程中, 自由基及其氧化产物的过量生成与积聚, 是心肌细胞发生氧化损伤的主要介质^[25]。而 RMZL 的抗炎活性可能归因于增强的抗氧化作用, 二者之间存在密切关系^[26]。本研究结果显示, RMZL 的干预降低了 MIRI 大鼠血清 MDA 水平, 升高了 SOD 水平, 提示 RMZL 可能通过提高抗氧化能力来减轻 MIRI 大鼠的心肌细胞损伤。

炎症小体是位于细胞质内的一种多蛋白复合结构, 对外部病原体及内部激活因素触发的炎症反应具有显著的增强作用^[27]。在炎症性疾病的发展过程中, 炎症小体的激活是一条重要的炎症途径。NLRP3 炎症小体由 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 组成。其中, NLRP3 通过与 ASC 相互作用激活 Caspase-1, 激活的 Caspase-1 参与 IL-1 β 前体蛋白(pro-IL-1 β)加工, 将其转化为具有活性的 IL-1 β , 从而诱发炎症级联反应, 加剧炎症损伤和心肌细胞凋亡^[28]。同样, 白细胞介素-1(IL-1)细胞因子家族的另一个成员 IL-18 的释放也依赖于 Caspase-1^[29]。NLRP3 炎症小体的表达水平与 MIRI 的严重程度密切相关^[30]。据报道, MIRI 能够激活 NLRP3 炎症小体, 进而促使心肌组织受

损并导致心脏功能发生障碍^[31]。而 NLRP3 炎症小体的形成和激活进一步加剧心肌缺血再灌注后的心肌损伤^[32]。LIU 等^[33]研究发现缺乏 ASC 和 Caspase-1 小鼠的炎症反应及后续损伤显著降低。TOLDO 等^[34]在 MIRI 小鼠模型实验中,通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活,有效减轻了心肌缺血再灌注引起的继发性炎症损伤,并显著缩小了心肌梗死面积。也有研究指出,氧化应激可进一步激活 NLRP3 炎症小体,引发炎症级联反应,从而导致组织损伤^[35]。本研究发现,在 RMZL-L 组、RMZL-H 组和 MCC950 组,MIRI 大鼠心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平均显著降低,且 RMZL-H 组和 MCC950 组的效果相当,说明 RMZL 能够抑制 NLRP3 炎症小体的激活,进而减轻 MIRI 大鼠的心肌细胞损伤。

综上所述,RMZL 通过抑制 NLRP3 炎症小体的活化,有效减少了心肌梗死面积和心肌细胞凋亡,抑制了炎症因子的产生和释放,缓解了氧化应激反应,从而减轻心肌缺血再灌注大鼠的心肌细胞损伤。

参考文献

- [1] 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, 38:774-784.
- [2] HWANG J W, PARK J H, PARK B W, et al. Histochrome attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis-induced cardiomyocyte death[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(10):1624.
- [3] ALGOET M, JANSSENS S, HIMMELREICH U, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury and the influence of inflammation[J]. *Trends Cardiovas Med*, 2023, 33(6):357-366.
- [4] OU D K, NI D, LI R, et al. Galectin-1 alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by reducing the inflammation and apoptosis of cardiomyocytes[J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(2):1792.
- [5] YE Z, WANG C, HAN L, et al. Wufuyin granules ameliorate cartilage degeneration by inhibiting pyroptosis through suppressing the activation of NLRP3 inflammasomes[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2022, 18(11):2633-2641.
- [6] LAMKANFI M, DIXIT V M. Mechanisms and functions of inflammasomes[J]. *Cell*, 2014, 157(5):1013-1022.
- [7] ZHANG J, MA Y, LI W. Curcumin reduces inflammation in mice with the psoriasis model by inhibiting NLRP3 inflammatory bodies[J]. *Cell Mol Biol*, 2021, 67(6):48-54.
- [8] WESOŁOWSKI A M, ZACCAGNINO M P, MALAPE-RO R J, et al. Remimazolam: pharmacologic considerations and clinical role in anesthesiology[J]. *Pharmacotherapy*, 2016, 36(9):1021-1027.
- [9] SHI M, CHEN J, LIU T, et al. Protective effects of remimazolam on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats by inhibiting of NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16:413-423.
- [10] SHI Y H, DENG H S, ZHANG Z M, et al. Remimazolam protects the liver from ischemia-reperfusion injury by inhibiting the MAPK/ERK pathway[J]. *BMC Anesthesiol*, 2024, 24:251.
- [11] YU L M, LI Z, DONG X, et al. Polydatin protects diabetic heart against ischemia-reperfusion injury via Notch1/Hes1-mediated activation of Pten/Akt signaling[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018:2750695.
- [12] HU H, CHEN Y Z, XIE P Y, et al. Remimazolam attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting the NF- κ B pathway of macrophage inflammation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 965(15):176276.
- [13] LIU S, LI Y, ZENG X, et al. Burden of cardiovascular diseases in China, 1990–2016: findings from the 2016 Global burden of disease study[J]. *Jama Cardiol*, 2019, 4(4):342-352.
- [14] 甄磊, 张懿兰, 王晓娜, 等. 瑞马唑仑减轻心肌缺血/再灌注大鼠心肌损伤[J]. *基础医学与临床*, 2024, 44(9):1243-1248.
- [15] KEAM S J. Remimazolam: first approval[J]. *Drugs*, 2020, 80(6):625-633.
- [16] XU H, CHEN Y Z, XIE P Y, et al. Remimazolam attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting the NF- κ B pathway of macrophage inflammation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 17:176276.
- [17] 王盛华, 黄庆先, 李庆丰. 阿芬太尼调节 SphK1/S1P 信号通路保护心肌缺血再灌注损伤大鼠[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2024, 32(5):402-409.
- [18] HUANG Y, SUN X T, JUAN Z D, et al. Dexmedetomidine attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in vitro by inhibiting NLRP3 inflammasome activation[J]. *BMC Anesthesiol*, 2021, 21:104.
- [19] LI C L, FANG M, LIN Z K, et al. MicroRNA-24 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via the NF- κ B/TNF- α pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(5):1288.
- [20] FANG H, ZHANG Y, WANG J, et al. Remimazolam reduces sepsis-associated acute liver injury by activation of peripheral benzodiazepine receptors and p38 inhibition of macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101:108331.
- [21] 钟小兰, 班努·库肯, 景江新. 过表达 Bax 抑制剂 1 通过抑制线粒体通透性转换孔开放及细胞凋亡减轻心肌缺血再灌注损伤[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(3):222-231.
- [22] MARROCCO I, ALTIERI F, PELUSO I. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017:6501046.
- [23] HEID M E, KEYEL P A, KAMGA C, et al. Mitochondrial reactive oxygen species induces NLRP3-dependent lysosomal damage and inflammasome activation[J]. *J Immunol*, 2013, 191(10):5230-5238.

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.16.006

子痫前期孕妇血清 HSP70、sFlt-1 水平及其与发生胎儿宫内窘迫的关系*

王丹丹,宋文涛,耿君霞,刘伟霞[△]

河北省石家庄市妇幼保健院功能科,河北石家庄 050000

摘 要:目的 探讨血清热休克蛋白 70(HSP70)和可溶性 fms 样酪氨酸激酶 1(sFlt-1)在子痫前期(PE)孕妇中的水平及其与发生胎儿宫内窘迫的关系。**方法** 选取 2022 年 1 月至 2023 年 12 月在该院产检、分娩、确诊为 PE 且发生胎儿宫内窘迫的 150 例孕妇作为观察组,根据胎儿宫内缺氧严重程度分级,将观察组孕妇分为轻度组、中度组和重度组。另选取同期在该院产检、分娩、确诊为 PE 但未发生胎儿宫内窘迫的 100 例孕妇作为对照组。收集所有受试者一般资料,采用酶联免疫吸附试验检测血清 HSP70 和 sFlt-1 水平。采用多因素 Logistic 回归分析 PE 孕妇发生胎儿宫内窘迫的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 HSP70、sFlt-1 对 PE 孕妇发生胎儿宫内窘迫的预测价值。**结果** 2 组年龄、孕周、体质质量指数(BMI)、既往孕次、孕产史、高血压家族史情况比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。观察组 HSP70、sFlt-1 水平明显高于对照组($P<0.05$)。血清 HSP70 和 sFlt-1 水平均为重度组>中度组>轻度组,且任意 2 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示血清 HSP70、sFlt-1 水平升高均是 PE 孕妇发生胎儿宫内窘迫的独立危险因素($P<0.05$)。HSP70、sFlt-1 单项及联合预测 PE 孕妇发生胎儿宫内窘迫的曲线下面积(AUC)分别为 0.765(95%CI:0.689~0.830)、0.907(95%CI:0.849~0.948)、0.957(95%CI:0.911~0.983),2 项联合预测的 AUC 大于 HSP70($Z=3.193, P<0.05$)、sFlt-1($Z=2.441, P<0.05$)单项预测的 AUC。**结论** 血清 HSP70、sFlt-1 在 PE 合并胎儿宫内窘迫孕妇中水平异常升高,是 PE 孕妇发生胎儿宫内窘迫的独立危险因素,对 PE 孕妇发生胎儿宫内窘迫有较高的预测效能。

关键词:子痫前期; 热休克蛋白 70; 可溶性 fms 样酪氨酸激酶 1; 胎儿宫内窘迫; 危险因素

中图法分类号:R446.11;R714.252 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2025)16-2190-05

Serum HSP70 and sFlt-1 levels in patients with preeclampsia and their relationship with intrauterine fetal distress*

WANG Dandan, SONG Wentao, GENG Junxia, LIU Weixia[△]

Department of Function, Shijiazhuang Municipal Maternal and Child Healthcare Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China

Abstract: Objective To explore the levels of serum heat shock protein 70 (HSP70) and soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) in pregnant women with preeclampsia (PE) and their relationship with the occurrence of fetal intrauterine distress. **Methods** A total of 150 pregnant women with diagnosed PE and fetal intrauterine distress occurrence in prenatal examination and delivery in this hospital from January 2022 to December 2023 were selected as the observation group. According to the severity grading of fetal intrauterine hypoxia, the pregnant women in the observation group were divided into the mild group, moderate group and severe group. The other 100 pregnant women with diagnosed PE, but without fetal intrauterine distress occurrence in prenatal examination and delivery in this hospital during the same period were selected as the control group. The general data of all subjects were collected, and the serum HSP70 and sFlt-1 levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of fetal intrauterine distress occurrence in pregnant women with PE; the receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the predictive value of HSP70 and sFlt-1 for the occurrence of fetal intrauterine distress in pregnant women with PE. **Results** There were no statistically significant differences in age, gestational weeks, BMI, previous pregnancy times, pregnancy and delivery history, and family history of

* 基金项目:河北省石家庄市科技计划自筹基金项目(231461023)。

作者简介:王丹丹,女,主治医师,主要从事胎儿疾病诊断方向的研究。 [△] 通信作者, E-mail: LWX15027722710@163.com。