·论著·

基于 β 2AR2/β arrestin2/NFκB 通路的地佐辛对心肌缺血再灌注损伤大鼠的作用及机制*

闫照虹 喻倩 李娟 张芳芳 刘伟娜
(空军军医大学唐都医院麻醉科,陕西 西安 710038)

【摘要】 目的 探讨地佐辛对心肌缺血再灌注损伤大鼠 β2 肾上腺素受体(β2AR)/β-抑制蛋白 2(β-arrestin2)/核转录因子-κB(NF-κB)通路及心肌凋亡的影响。**方法** 60 只大鼠随机分为假手术组(Sham 组),心肌缺血再灌注模型组(MIRI 组),地佐辛高、中、低剂量组(20、10、5 mg/kg),每组 12 只。地佐辛各剂量组在造模前 30 min 经股静脉注射相应剂量的地佐辛,Sham 组和 MIRI 组给予等量生理盐水,采用手术结扎大鼠冠状动脉左前降支的方法复制大鼠 MIRI 模型。再灌注 2 h 后,检测各组大鼠心率(HR)、左心室收缩压(LVSP)、左心室舒张末(LVEDP),评价心脏功能;并检测血清中肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶 MB(CKMB)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白细胞介素 6(IL-6)水平;HE 染色观察左心室组织学变化;TUNEL 染色观察心肌细胞凋亡情况,计算凋亡指数;免疫组织化学法检测心肌组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3 的蛋白表达;Western blot 检测心肌组织 β2AR、β-arrestin2、IκBα、NF-κB p65 蛋白表达。**结果** 心肌组织病理学可见,Sham 组心肌纤维完整、排列整齐,MIRI 组心肌严重受损,局部肌纤维横纹消失,大量炎性细胞浸润;与 Sham 组相比,各治疗组明显好转。与 Sham 组相比,MIRI 组大鼠 HR、LVSP、Bcl-2/Bax 比值、心肌组织 β2AR、β-arrestin2、IκBα 蛋白表达显著降低,各治疗组较 MIRI 组明显升高(均 $P<0.05$);与 Sham 组相比,MIRI 组 LVEDP、血清 CK、CK-MB、TNF-α、IL-6 水平、心肌组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3、NF-κB p65 蛋白表达、心肌细胞凋亡率显著升高,各治疗组较 MIRI 组明显降低(均 $P<0.05$)。**结论** 地佐辛可抑制炎症反应,减少心肌细胞凋亡,对 MIRI 大鼠具有保护作用;其作用机制可能与上调 β2AR、β-arrestin2、IκBα 的表达,降低 NF-κB p65 表达有关。

【关键词】 心肌缺血再灌注损伤;地佐辛;β2 肾上腺素受体/β-抑制蛋白 2/核转录因子-κB;心肌细胞凋亡
【中图分类号】 R614 **【文献标志码】** A **DOI**:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.01.003

Effect of dezocine on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats based on β 2AR/β arrestin2/NFκB pathway and its mechanism

YAN Zhaohong, YU Qian, LI Juan, ZHANG Fangfang, LIU Weina
(*Department of Anesthesiology, Tangdu Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an* 710038, *China*)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of dezocine on β2-adrenergic receptor (β2AR)/β-arrestin2/nuclear factor-κB (NF-κB) pathway and myocardial apoptosis in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury. **Methods** Sixty rats were randomly divided into sham operation group (Sham group), myocardial ischemia-reperfusion injury model group (MIRI group), high-, medium- and low-dose dezocine groups (20,10,5mg/kg), with twelve rats in each group. 30 minutes before modeling, each treatment group was injected with the corresponding dose of dezocine via femoral vein, and the Sham group and MIRI group were given the same amount of normal saline. Except for the sham operation group, the other groups were given the method of surgical ligation of the left anterior descending coronary artery to establish a rat MIRI model. After 2 hours of reperfusion, the heart rate (HR), left ventricular systolic pressure (LVSP) and left ventricular end diastolic (LVEDP) of rats were measured to evaluate cardiac function. The serum levels of creatine kinase (CK), creatine kinase isoenzyme MB (CKMB), tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6) were detected. The histological changes of left ventricle were observed by hematoxylin eosin (HE) staining. The apoptosis of myocardial cells were observed and the apoptosis index was calculated by TUNEL staining. The protein expression of

基金项目:国家自然科学基金(81801391)
通信作者:李娟,E-mail:juanyi2011@sina.com
引用本文:闫照虹,喻倩,李娟,等.基于 β 2AR/β arrestin2/NFκB 通路的地佐辛对心肌缺血再灌注损伤大鼠的作用及机制[J].西部医学,2022,34(1):9-15,20.DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.01.003

Bcl-2, Bax, and caspase-3 was detected by immunohistochemistry. The protein expression of β2AR, β-arrestin2, IκBα, and NF-κB p65 was detected by Western blot. **Results** Myocardial histopathology showed that the myocardial fibers in Sham group were complete and arranged neatly, while the myocardium in MIRI group was seriously damaged. The local muscle fibers disappeared and a large number of inflammatory cells infiltrated. Compared with Sham group, each treatment group improved obviously. Compared with Sham group, the HR, LVSP, Bcl-2/Bax ratio, protein expression of β2AR, β-arrestin2, IκBα in myocardial tissues in MIRI group were significantly lower ($P<0.05$), and those in each treatment group were significantly higher than those in the MIRI group ($P<0.05$). Compared with Sham group, the LVEDP, levels of CK, CK-MB, TNF-α, IL-6 in serum, protein expression of Bcl-2, Bax, Caspase-3, NF-κB p65 in myocardial tissues and myocardial cell apoptosis rate in MIRI group were significantly higher ($P<0.05$), and those in each treatment group were significantly lower than those in the MIRI group ($P<0.05$). **Conclusion** Dezocine can inhibit the inflammatory reaction, reduce the apoptosis of myocardial cells, and has a protective effect on MIRI rats. Its mechanism may be related to up-regulating the expression of β2AR, β-arrestin2, and IκBα, and decreasing the expression of NF-κB p65.

【Key words】 Myocardial ischemia-reperfusion injury; Dezocine; β2-adrenergic receptor /β-arrestin2/nuclear factor-κB; Apoptosis of myocardial cells

急性心肌梗死(Acute mycardia infarctin, AMI)是冠状动脉闭塞使血流中断,导致部分心肌严重缺血而发生局部坏死。再灌注疗法是治疗 AMI 最重要的方法,但研究已证明心肌组织缺血一定时间后重新恢复血流,会诱发心肌损伤,导致继发性心脏损害甚至死亡,这一过程称为心肌缺血再灌注损伤(Myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)[1-2]。尽管 MIRI 的确切原因尚不清楚,但研究认为炎症反应是缺血后继发再灌注心肌损伤的主要因素之一[3-4]。在血流恢复到梗塞区域后,大量炎症细胞被募集到损伤部位进行组织修复。但心脏炎症反应的持续发展会导致不良的心脏重塑,不可避免地导致心力衰竭[5]。目前临床尚无有效的治疗方案,由缺血再灌注引起的梗塞扩大占梗塞总数的 25%～50%,因此迫切需要加强对心脏的保护[6]。地佐辛是一种新型强效的阿片类镇痛药,具有起效快、镇痛作用强、成瘾性低、不良反应少等优点[7],已经在临床上广泛用于手术后、胃镜检查和致癌镇痛[8-9]。地佐辛具有很好的抗炎镇痛作用,对缺血再灌注损伤也有保护作用,可保护下肢缺血再灌注诱发的心肌损伤;此外许多研究证据表明,阿片类药物具有抗心肌缺血/再灌注损伤的心脏保护作用[10-11]。以上研究提示,地佐辛可能对心肌缺血再灌注损伤也有保护作用,但相关报道鲜少。因此,本研究通过复制 MIRI 大鼠模型,旨在探讨地佐辛对 MIRI 的影响及其潜在的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级健康 SD 雄性大鼠 60 只,体重(260～280)g,由北京维通利华动物中心提供,许可证号为 SCXK(京)2016-0011,所有动物均严格按照动物饲养规则喂养,温度为(24±2)℃,湿度为 50%～60%,自由饮水和摄食。本研究遵循动物伦理要求,并经医院伦理委员会审核、批准。

1.2 主要试剂 地佐辛注射液(扬子江药业有限公司,国药准字 H20080329,生产批号:20130503,规格 1 mL:5 mg);原位缺口末端标记法(TdT-mediatedd UTP nick end labeling, TUNEL)染色试剂盒购自武汉博士德生物公司;HE 染色试剂、RIPA 裂解液和 BCA 试剂盒(碧云天生物科技公司,批号分别为 C0105、P0013B、P0012S);肌酸激酶(Creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶 MB(Creatine kinase isoenzyme MB, CKMB)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 A032-1、E006-11);肿瘤坏死因子 α(TNF-α)(RA20035)、白细胞介素 6(IL-6)(RA20607)ELISA 检测试剂盒购自武汉贝茵莱生物科技有限公司;兔抗 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)(bs-0032R)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)(bs-0127M)、半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(Caspase-3)(bs-0081R)、β2 肾上腺素受体(β2AR)(bs-0947R)、β-抑制蛋白 2(β-arrestin2)(bs-1332R)、核因子 κB 抑制蛋白 α 抗体(IκBα)(bs-1287R)、NF-κB p65(bs-23216R)、beta-Actin(bs-0061R)、山羊抗兔 IgG(H+L)/HRP(bs-40295G-HRP)均购自北京博奥森生物技术有限公司;BL-420F 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司);多功能酶标仪(iMark680, Bio-Rad 公司)、荧光显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.3 方法

1.3.1 大鼠分组与 MIRI 模型的制备 大鼠适应性饲养 1 周后,随机分为假手术组(Sham 组),心肌缺血再灌注模型组(MIRI 组),地佐辛高、中、低剂量组(20、10、5 mg/kg)[11],每组 12 只。地佐辛高、中、低剂量组大鼠在造模前 30 min 经股静脉注射地佐辛 20、10、5 mg/kg,Sham 组和 MIRI 组给予等量生理盐水,

预处理完成后,采用手术结扎大鼠冠状动脉左前降支的方法复制大鼠 MIRI 模型[12]:各组大鼠于末次给药后禁食不禁水 12 h,腹腔注射 40 mg/kg 的戊巴比妥钠麻醉,仰卧位固定,连接肢体心电图电极和小动物呼吸机,心前区脱毛备皮,碘伏消毒,沿左侧第 3、4 肋间切开皮肤,打开胸腔,剪开心包,暴露心脏,使用止血钳将左心耳提起,以 0 号缝合线在左心耳下方2 mm(冠状动脉左前降支)活结结扎,45 min 后打开结扎线恢复血流行再灌注 2 h。以缺血时心肌局部苍白或发绀,心电图 ST 段持续抬高,再灌注时心肌红润且 ST 段下降 1/2 为造模成功。Sham 组不进行结扎,其余操作同上;手术时模型组大鼠死亡 1 只,再灌注时模型组、地佐辛低、中剂量组各死亡 1 只(在造模过程中部分大鼠死亡,但每组样本数量是足够的,在统计学上仍有统计意义,不影响研究结果)。

1.3.2 心功能检测 再灌注 2 h 后,麻醉大鼠,检测各组大鼠心率(Heart rate,HR),并分离右侧颈总动脉,将 PE50 聚乙烯动脉导管经右颈总动脉插入至左心室,固定后用生物机能实验系统检测并记录左心室收缩压(Left ventricular systolic pressure,LVSP)、左心室舒张末(Left ventricular end-diastolic pressure LVEDP),评价心脏功能。

1.3.3 心肌酶及炎性指标检测 心功能检测完成后,腹主动脉取血,静置后以 3000 r/min 离心 15 min,分离血清,按照试剂盒说明书的操作检测血清中 CK、CK-MB、TNF-α、IL-6 水平。

1.3.4 心肌组织病理学检查 取血完成后快速摘取心脏,将大鼠左心室缺血区心肌组织分为两部分,一部分液氮速冻后,-80 ℃冰箱保存待测;另一部分心肌组织,4%的多聚甲醛溶液固定,4 ℃过夜,梯度乙醇脱水、石蜡包埋、切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察左心室组织学变化。

1.3.5 心肌细胞凋亡检测(TUNEL 染色) 将 1.3.4 制备的心肌组织石蜡切块,切 4 μm 切片。细胞凋亡检测按 TUNEL 原位细胞凋亡检测试剂盒说明书操作,细胞核固缩、染色体凝集呈棕褐色者为凋亡细胞。在 400 倍光镜下观察心肌细胞凋亡情况,每张切片随机选择 5 个视野拍照,Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件计算细胞总数和凋亡细胞,取平均值,计算细胞凋亡指数。细胞凋亡指数(%)=凋亡细胞数/细胞总数×100%

1.3.6 心肌组织凋亡相关蛋白的检测(免疫组织化学法) 将 1.3.4 制备的心肌组织石蜡切块,切片。按照试剂盒说明书步骤操作,将切片放入煮沸的柠檬酸修复液做抗原修复,3% H_2O_2 去离子水孵育 10 min,滴加一抗 Iba-1,4℃冰箱孵育过夜,二抗显色,光学显微镜观察心肌组织中 Bcl-2、Bax、Caspase-3 的蛋白表达。每张切片随机选择 5 个视野拍照,Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件测定阳性表达的平均光密度值(mean IOD)。

1.3.7 Western blot 检测 心肌组织 β2AR、β-arrestin2、$I\kappa B\alpha$、NF-κB p65 蛋白表达取-80℃冰箱保存的心肌组织,加入 RIPA 裂解液研磨后,置于冰上,静置后离心,提取上清液为总蛋白溶液。用 BCA 法测量蛋白浓度后取等量蛋白质样品(30 μg/孔),SDS-PAGE 凝胶电泳,湿转法转膜,5%脱脂奶粉封闭,加入相应一抗(β2AR、β-arrestin1、$I\kappa B\alpha$、NF-κB p65 按照1∶1000 比例进行稀释、β-actin 1∶5000 按比例进行稀释)于4℃下孵育过夜,HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗(1∶5000)室温孵育 1 h,ECL 显色,以 β-actin 为内参,通过与内参的灰度比,得出目的条带的相对表达水平。

1.4 统计学分析 数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间有差异进一步采用 SNK-q 检验;$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 地佐辛对 MIRI 大鼠心脏功能的影响 与 Sham 组相比,MIRI 组大鼠 HR、LVSP 显著降低、LVEDP 显著升高($P<0.05$);与 MIRI 组相比,地佐辛高、中、低剂量组大鼠 HR、LVSP 显著升高、LVEDP 显著降低($P<0.05$),且地佐辛高剂量组效果优于地佐辛中、低剂量组,呈一定的剂量依赖性。见表 1。

表 1 地佐辛对 MIRI 大鼠心脏功能的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Effect of dezocine on cardiac function in MIRI rats

组别	剂量(mg/kg)	n	HR(次/min)	LVSP(mmHg)	LVEDP(mmHg)
Sham 组		12	397.82±25.21	111.39±12.66	6.33±1.02
MIRI 组		10	187.29±19.47①	69.01±9.61①	39.17±2.38①
地佐辛高剂量组	20	12	351.04±24.25①②	91.74±10.87①②	27.80±1.91①②
地佐辛中剂量组	10	11	287.85±27.63①②	85.32±11.46①②	20.78±2.20①②
地佐辛低剂量组	5	11	256.53±22.74①②	83.33±10.18①②	14.82±1.85①②
F			126.952	21.655	492.134
P			<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组相比,①$P<0.05$;与 MIRI 组相比,②$P<0.05$

2.2　地佐辛对 MIRI 大鼠血清中 CK、CK-MB、TNF-α、IL-6 水平影响　与 Sham 组相比，MIRI 组大鼠 CK、CK-MB、TNF-α、IL-6 水平显著升高（$P<0.05$）；与 MIRI 组相比，地佐辛高、中、低剂量组大鼠 CK、CK-MB、TNF-α、IL-6 水平显著降低（$P<0.05$），且呈一定的剂量依赖性。见表 2。

表 2　地佐辛对 MIRI 大鼠血清 CK、CK-MB、TNF-α、IL-6 水平影响（$\bar{x}\pm s$）

Table 2　Effect of dezocine on serum CK, CK-MB, TNF-α and IL-6 levels in MIRI rats

组别	n	CK(U/L)	CK-MB(U/L)	TNF-α(pg/mL)	IL-6(pg/mL)
Sham 组	12	179.45±22.15	132.25±21.21	48.55±6.33	56.21±11.15
MIRI 组	10	340.04±25.28①	355.14±28.32①	215.63±20.26①	338.25±20.08①
地佐辛高剂量组	12	233.27±20.15①②	183.77±24.35①②	95.15±15.74①	165.49±11.77①②
地佐辛中剂量组	11	287.85±25.32①②	245.32±20.37①②	120.88±23.58①②	197.03±12.91①②
地佐辛低剂量组	11	306.53±26.08①②	289.43±22.14①②	151.74±21.72①②	248.14±17.88①②
F		80.003	154.528	127.038	535.259
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与 Sham 组相比，①$P<0.05$；与 MIRI 组相比，②$P<0.05$

2.3　地佐辛对 MIRI 大鼠心肌组织病理学变化的影响　HE 染色结果显示，Sham 组大鼠的心肌细胞形态规则、排列整齐、心肌纤维完整，未见心肌细胞水肿、坏死；与 Sham 组相比，MIRI 组大鼠心肌严重受损，染色疏松，细胞形态不规则、排列紊乱、局部肌纤维横纹消失，可见心肌细胞水肿变性，大量炎性细胞浸润；与 MIRI 组相比，地佐辛高、中剂量组大鼠心肌细胞水肿减轻，心肌纤维排列较为整齐，纤维断裂和炎性细胞浸润减少，且地佐辛高剂量组效果优于地佐辛中剂量组。见图 1。

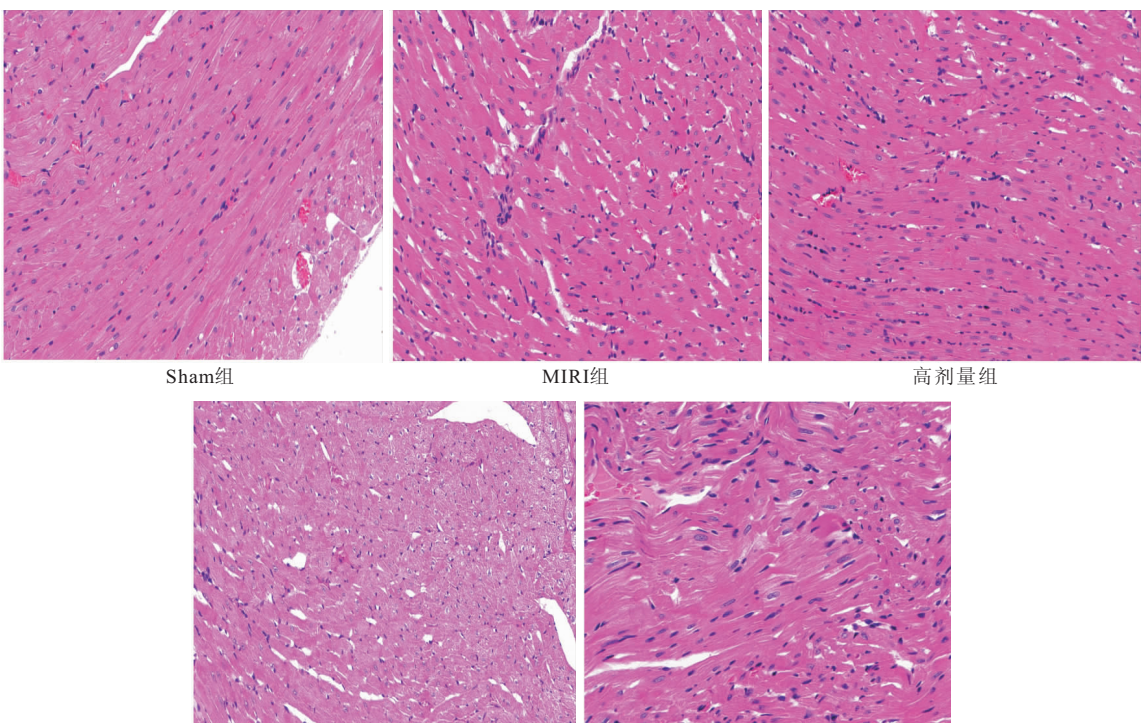

图 1　大鼠心肌组织形态学改变（HE 染色，200×）

Figure 1　Morphological changes of myocardial tissue in rats

2.4　地佐辛对 MIRI 大鼠心肌细胞凋亡的影响　TUNEL 染色结果显示，Sham 组凋亡细胞数量较少，与 Sham 组相比，MIRI 组大鼠的心肌细胞核呈深褐色，凋亡数量显著增加，心肌细胞凋亡率显著升高（$P<0.05$）；与 MIRI 组相比，地佐辛高、中、低剂量组大鼠凋亡细胞个数明显减少，心肌细胞凋亡率明显降低（$P<0.05$），呈一定的剂量依赖性。见表 3、图 2。

表 3　地佐辛对 MIRI 大鼠心肌细胞凋亡的影响（$\bar{x}\pm s$）

Table 3　Effect of dezocine on myocardial apoptosis in MIRI rats

组别	剂量(mg/kg)	n	细胞凋亡率($\times10^{-2}$)
Sham 组		12	2.54±0.46
MIRI 组		10	37.44±3.11①
地佐辛高剂量组	20	12	20.72±2.30①②
地佐辛中剂量组	10	11	26.25±2.07①②
地佐辛低剂量组	5	11	31.94±2.46①②
F			388.571
P			<0.001

注：与 Sham 组相比，①$P<0.05$；与 MIRI 组相比，②$P<0.05$

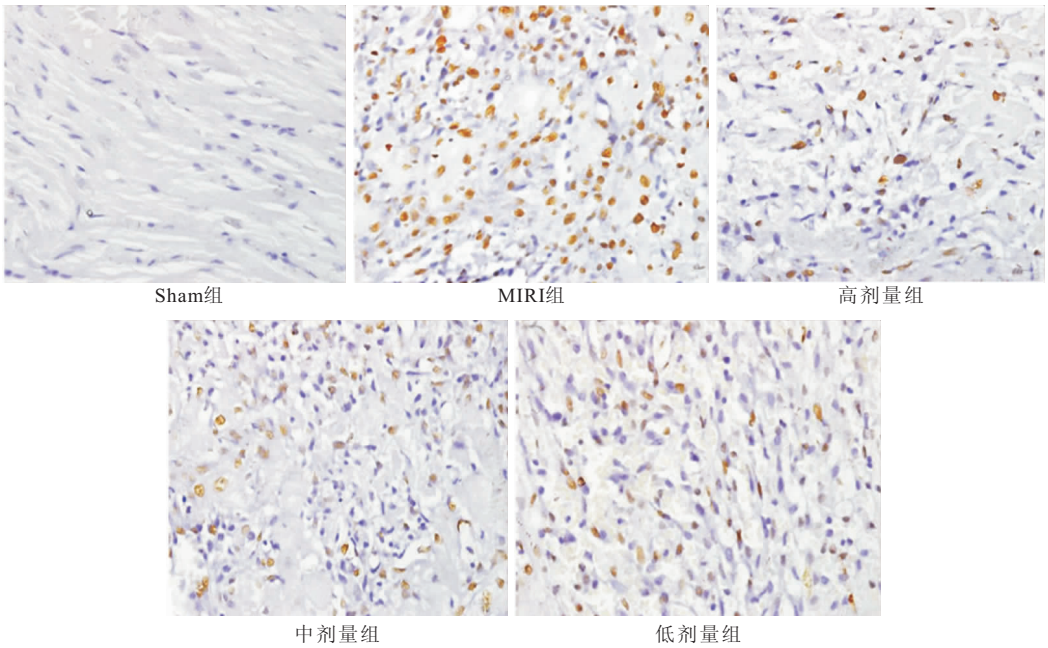

图 2　大鼠心肌细胞凋亡情况（TUNEL）

Figure 2　Apoptosis of myocardial cells in rats

2.5　地佐辛对 MIRI 大鼠心肌组织凋亡相关蛋白表达的影响　免疫组化结果显示，与 Sham 组相比，MIRI组大鼠心肌组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白表达升高，Bcl-2/Bax 比值显著降低（$P<0.05$）；与 MIRI 组相比，地佐辛高、中剂量组大鼠 Bcl-2 蛋白表达明显升高，Bax、Caspase-3 蛋白表达明显降低，Bcl-2/Bax 比值显著升高（$P<0.05$），呈一定的剂量依赖性。见图 3、表 4。

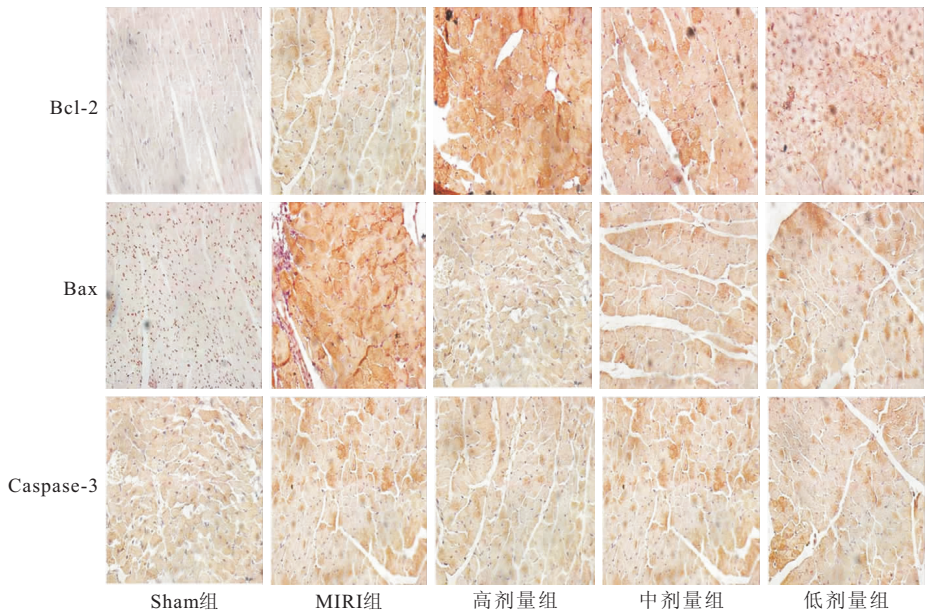

图 3　大鼠心肌组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白表达（IHC）

Figure 3　Expression of Bcl-2，Bax and Caspase-3 protein in rat myocardium

2.6　地佐辛对 MIRI 大鼠心肌组织 β2AR、β-arrestin2、IκBα、NF-κB p65 蛋白表达的影响　Western blot 结果显示，与 Sham 组相比，MIRI 组大鼠心肌组织 β2AR、β-arrestin2、IκBα 蛋白表达显著降低，NF-κB p65 蛋白表达显著升高（$P<0.05$）；与 MIRI 组相比，地佐辛高、中剂量组大鼠心肌组织 β2AR、β-arrestin2、IκBα 蛋白表达明显升高，NF-κB p65 蛋白表达明显降低（$P<0.05$），呈一定的剂量依赖性。见表 5、图 4。

表 4 地佐辛对 MIRI 大鼠心肌组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Effect of dezocine on the expression of Bcl-2, Bax and Caspase-3 protein in myocardial tissue of MIRI rats

组别	n	Bcl-2	Bax	Caspase-3	Bcl-2/Bax
Sham 组	12	0.005±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001	1.24±0.10
MIRI 组	10	0.020±0.002①	0.044±0.005①	0.023±0.003①	0.45±0.08①②
地佐辛高剂量组	12	0.035±0.002①②	0.029±0.004①②	0.010±0.002①②	1.21±0.12②
地佐辛中剂量组	11	0.032±0.003①②	0.033±0.003①②	0.017±0.001①②	0.97±0.11①②
地佐辛低剂量组	11	0.026±0.002①②	0.037±0.004①②	0.021±0.003①	0.70±0.09①②
F		385.380	204.620	152.444	120.663
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与 Sham 组相比，①P<0.05；与 MIRI 组相比，②P<0.05

表 5 地佐辛对 MIRI 大鼠心肌组织 β2AR/β-arrestin2/NF-κB p65 通路相关蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Effect of dezocine on expression ofβ2AR/β-arrestin2/NF-κB p65 pathway related protein in myocardial tissue of MIRI rats

组别	n	β2AR	β-arrestin2	IκBα	NF-κB p65
Sham 组	12	0.85±0.09	0.93±0.10	0.74±0.05	0.24±0.04
MIRI 组	10	0.40±0.05①	0.48±0.07①	0.41±0.04①	0.78±0.07①
地佐辛高剂量组	12	0.74±0.09①②	0.82±0.09①②	0.66±0.06①②	0.40±0.06①②
地佐辛中剂量组	11	0.62±0.08①②	0.71±0.08①②	0.53±0.05①②	0.57±0.05①②
地佐辛低剂量组	11	0.45±0.07①	0.52±0.06①	0.44±0.04①	0.69±0.07①②
F		65.404	61.253	93.810	155.221
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与 Sham 组相比，①P<0.05；与 MIRI 组相比，②P<0.05

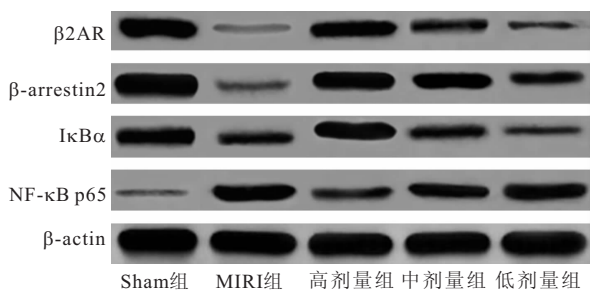

图 4 大鼠心肌组织 β2AR/β-arrestin2//NF-κB p65 通路相关蛋白的表达

Figure 4 Expression ofβ2AR/β-arrestin2//NF-κB p65 pathway related proteins in rat myocardium

3 讨论

再灌注治疗是指通过药物溶栓，支架植入术，或切除血栓将血液灌注缺血区域。但研究显示在急性缺血性心肌再灌注治疗过程中，一些接受再灌注治疗的患者可能会增加心肌细胞死亡和心肌梗塞面积。再灌注治疗是导致心肌细胞死亡的重要因素[13-14]。血流突然恢复后，心肌细胞受复杂事件（如钙超载，离子稳态损失和氧自由基产生）的影响，激活细胞内损伤级联反应，从而导致凋亡发生[15-16]。目前尚无有效的治疗方法，因此解决或减轻局部缺血和再灌注损伤仍然是一个挑战。

地佐辛是一种对 5-羟色胺和去甲肾上腺素再摄取具有抑制作用的新型阿片样受体拮抗镇痛药，可以激动 κ 受体，部分激动 δ 受体，已经在临床上用于超前镇痛和手术后镇痛，其镇痛效果可在肌内或静脉内注射后的 10～90 min 内达到峰值，镇痛作用与吗啡相似或稍高，精神依赖性及相关不良反应较少[17]，是一种应用前景广阔的新型药物。地佐辛具有很好的抗炎镇痛作用，可显著降低腹腔镜手术患者血清炎性因子水平，还可抑制 TLR4-NF-κB 通路，降低神经病理性疼痛大鼠脊髓组织 TNF-α、IL-6 水平[18]，降低脑缺血再灌注引起的神经元凋亡[19]，改善缺血再灌注引起的多种远端器官损伤，如肺、肾等。此外有研究发现，κ-和/或 δ-阿片受体的激活可直接参与心肌保护[20]，同类阿片药物对 MIRI 具有显著的心肌保护作用，如吗啡可抑制炎症因子和氧化应激反应，降低血清 CK、CK-MB、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)水平和心肌梗死面积，减少大鼠心肌细胞凋亡，减轻大鼠 MIRI[21]。由此推测，地佐辛可能对心肌缺血再灌注损伤有保护作用。虽然地佐辛的研究较多，但在心肌缺血再灌注相关报道鲜少，因此在进行动物药效试验时，设置浓度梯度，目的是为了考察药物的量效关系，为药物的安全性和临床用药提供参考。本研究通过结扎大鼠冠状动脉左前降支复制 MIRI 模型，结果显示随着地佐辛浓度的增加，模型大鼠的血清 CK、CK-MB、TNF-α、IL-6 水平依次降低；纤维断裂和炎性细胞浸润情况依次减轻，并且凋亡相关蛋白 Bcl-2 的表达和 Bcl-2/Bax 比值依次升高，Bax、Caspase-3 的表达依次降低，心肌细胞凋亡减少；这提示，地佐辛可呈剂量依赖性地抑制炎症反应，减少心肌细胞凋亡，减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤。

NF-κB 是一种转录因子，与 NF-κB/Rel 蛋白家族中不同亚单位形成的二聚体，包括 p65、RelB、c-Rel、p50 和 p52，其中最主要的是 NF-κB p65，它的活化可将其从 NF-κB 抑制蛋白 IκBα 中快速释放，进入细胞核，促进多种促炎细胞因子的表达；抑制 NF-κB 途径，可减少缺血再灌注诱导的心肌细胞凋亡[22]。有研究发现 β2AR 激活程度对心功能有重要影响，交感神经对心功能的调控作用是通过激活心肌细胞上的 β-AR 实现的，β2AR 可与去甲肾上腺素（NE）结合，调节心血管功能和行为特征；地佐辛可阻断去甲肾上腺素转运蛋白（NET）的作用，抑制神经元突触前膜对 NE 的再摄取[23]。而且 β2AR 激动剂能在免疫和炎症反应中抑制 NF-κB 活性[24]，但是这一过程要通过 β-arrestin2 发挥作用。β2AR 的表达增加可通过上调 β-arrestin2 的表达，抑制 IκBα 的降解，稳定 NF-κB/IκBα 复合物，抑制 NF-κB 的活化，减少炎性因子的释放[25]。Wen 等[26]发现，*β-arrestin2* 基因的敲除可显著恶化缺血再灌注引起的肝损伤，β2AR 激动剂可上调 β-arrestin2 的表达，然后通过抑制 TLR4-NF-κB 途径减轻小鼠肝缺血再灌注诱导的细胞凋亡和肝脏炎症。本研究采用 Western blot 进一步检测心肌组织中 β2AR、β-arrestin2、IκBα、NF-κB p65 蛋白的表达，结果显示 MIRI 模型组大鼠心肌组织中 β2AR、β-arrestin2、IκBα 蛋白表达显著降低，NF-κB p65 蛋白表达显著升高，而经地佐辛干预的大鼠心肌组织 β2AR、β-arrestin2、IκBα 蛋白表达明显升高，NF-κB p65 蛋白表达明显降低；这提示地佐辛对 MIRI 大鼠的保护作用可能与上调 β2AR、β-arrestin2、IκBα 的表达，从而降低 NF-κB p65 表达有关。

4 结论与启示

地佐辛可抑制炎症反应，减少心肌细胞凋亡，对 MIRI 大鼠具有保护作用；其作用机制可能与上调 β2AR、β-arrestin2、IκBα 的表达，降低 NF-κB p65 表达有关。因条件限制本研究仅从动物水平进行了探讨，后续可考虑采用心肌细胞，从体外细胞水平进行深入研究；且可考虑干预 β2AR/β-arrestin2/NF-κB p65 通路从反面验证本研究结果。

【参考文献】

[1] 兰谋，彭源源，尹娟. 急性 ST 段抬高型心肌梗死患者再灌注治疗预后的影响因素[J]. 西部医学，2019，31(3)：383-387.

[2] XING JX，LIU JY，LIU J，*et al*. miR-129-5p ameliorates ischemia-reperfusion injury by targeting HMGB1 in myocardium[J]. Gen Physiol Biophys，2020，39(5)：461-470.

[3] 赵静，薛荣亮，高慧，等. 鹰嘴豆芽素 A 预防给药抑制心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌炎症产生[J]. 西部医学，2020，32(7)：965-997.

[4] DING M，LI M，ZHANG EM，*et al*. FULLEROL alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by reducing inflammation and oxidative stress in cardiomyocytes via activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci，2020，24(18)：9665-9674.

[5] CHEE H C，BEATRICE B，SATIRAH Z，*et al*. Mediation of Cardiac Macrophage Activity via Auricular Vagal Nerve Stimulation Ameliorates Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury[J]. Front Neurosci，2020，14：906.

[6] AURÉLIE C，LAURA G，CHRISTIAN B，*et al*. Anti-apoptotic peptide for long term cardioprotection in a mouse model of myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Sci Rep，2020，10：18116.

[7] LI XT，MA CQ，QI SH，*et al*. Combination of propofol and dezocine to improve safety and efficacy of anesthesia for gastroscopy and colonoscopy in adults：A randomized，double-blind，controlled trial[J]. World J Clin Cases，2019，7(20)：3237-3246.

[8] 张久祥，乔晓利. 右美托咪定联合地佐辛对患者瑞芬太尼诱发术后痛觉过敏的影响[J]. 临床医学研究与实践，2020，5(29)：95-97.

[9] 吴新勤，吴传兵，漆升，等. 地佐辛联合罗哌卡因局部浸润麻醉对乳腺癌患者围术期免疫功能、应激反应及术后疼痛的影响[J]. 现代实用医学，2020，32(9)：1146-1148.

[10] WANG F，ZHANG X，WANG HH. Effects of dezocine and sufentanyl for postoperative analgesia on activity of NK，$CD4^+$ and $CD8^+$ cells in patients with breast cancer[J]. Oncol Lett，2019，17(3)：3392-3398.

[11] SAPNA A，JASLEEN K V，NIRMAL S，*et al*. Exploring the role and inter-relationship among nitric oxide，opioids，and K ATP channels in the signaling pathway underlying remote ischemic preconditioning induced cardioprotection in rats[J]. Iran J Basic Med Sci，2019，22(7)：820-826.

[12] 赵晓宁，刘志远，刘江波，等. 尿激酶原对心肌缺血再灌注损伤大鼠心功能及血清心肌酶活性的影响[J]. 现代药物与临床，2020，35(10)：1937-1942.

[13] 邹坪益，冯健，徐楠，等. 苦参素对急性心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡和自噬的影响及机制研究[J]. 中药药理与临床，2020，36(6)：97-104.

[14] ZHAO L，CHENG LT，WU YQ. Ambra1 Alleviates Hypoxia/Reoxygenation Injury in H9C2 Cells by Regulating Autophagy and Reactive Oxygen Species[J]. Biomed Res Int，2020，2020：3062689.

[15] 田芳芳，颜西刚，陈燕，等. 金雀异黄酮对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 西部医学，2020，32(3)：344-349.

[16] FERRARI R，BALLA C，MALAGÙ M，*et al*. Reperfusion damage-a story of success，failure and hope[J]. Circulation Journal，2017，81(2)：131-141.

[17] MAO XF，MUHAMMAD Z A，EVHY A，*et al*. Dual μ-opioid receptor and norepinephrine reuptake mechanisms contribute to dezocine- and tapentadol-induced mechanical antiallodynia in cancer pain[J]. Eur J Pharmacol，2020，876：173062.

（下转第 20 页）

[9] 杨军峰，赵璞，张全，务森. PTEN 蛋白缺失与 PI3K 抑制剂对非小细胞肺癌的作用[J]. 中国老年学杂志，2018，38(23)：5783-5786.

[10] HERBST RS, MORGENSZTERN D, BOSHOFF C. The biology and management of non-small cell lung cancer[J]. Nature, 2018, 553(7689): 446-454.

[11] 黄景慧，夏晓阳，陈爱民，等. 吉非替尼联合 GP 化疗对非小细胞肺癌的疗效[J]. 西部医学，2021，33(9)：1348-1353.

[12] REIS PP, DRIGO SA, CARVALHO RF, *et al*. Circulating miR-16-5p, miR-92a-3p, and miR-451a in Plasma from Lung Cancer Patients: Potential Application in Early Detection and a Regulatory Role in Tumorigenesis Pathways[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(8): 2071.

[13] 赵天增，黄国胜，杨金华，等. LncRNA MCM3AP-AS1 靶向调控 miR-16-5p 表达对肺癌细胞增殖、迁移侵袭的影响及机制[J]. 中国老年学杂志，2020，40(20)：4420-4424.

[14] 常利普. 长链非编码 RNA SNHG16 靶向 miR-16-5p 调控胃癌细胞增殖、凋亡的机制[J]. 中国老年学杂志，2020，40(18)：3979-3983.

[15] LIU MM, MA RH, NI ZJ, THAKUR K, *et al*. Apigenin 7-O-glucoside promotes cell apoptosis through the PTEN/PI3K/AKT pathway and inhibits cell migration in cervical cancer HeLa cells[J]. Food Chem Toxicol, 2020, 146: 111843.

[16] QIU L, MA Z, LI X, *et al*. DJ-1 is involved in the multidrug resistance of SGC7901 gastric cancer cells through PTEN/PI3K/Akt/Nrf2 pathway[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2020, 11: 1012-1214.

[17] CAO HL, GU MQ, SUN Z, *et al*. miR-144-3p Contributes to the Development of Thyroid Tumors Through the PTEN/PI3K/AKT Pathway[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 9845-9855.

[18] ZHANG R, ZHU H, YUAN Y, *et al*. SPAG6 promotes cell proliferation and inhibits apoptosis through the PTEN/PI3K/AKT pathway in Burkitt lymphoma[J]. Oncol Rep, 2020, 44(5): 2021-2030.

[19] DAI K, RADIN DP, LEONARDI D. Deciphering the dual role and prognostic potential of PINK1 across cancer types[J]. Neural Regen Res, 2021, 16(4): 659-665.

[20] XU F, GAO X, PAN H. Pectolinarigenin inhibits nonsmall cell lung cancer progression by regulating the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2018, 40(6): 3458-3468.

[21] LU C, WANG H, CHEN S, *et al*. Baicalein inhibits cell growth and increases cisplatin sensitivity of A549 and H460 cells via miR-424-3p and targeting PTEN/PI3K/Akt pathway[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(4): 2478-2487.

[22] PEREZ-RAMIREZ C, CANADAS-GARRE M, MOLINA MA, *et al*. PTEN and PI3K/AKT in non-small-cell lung cancer[J]. Pharmacogenomics, 2015, 16(16): 1843-1862.

[23] 杨军峰，赵璞，张全，等. PTEN 蛋白缺失与 PI3K 抑制剂对非小细胞肺癌的作用[J]. 中国老年学杂志，2018，38(23)：5783-5786.

[24] 胡爱妮，王豫萍，路毅斌，等. miR-92a 靶向 PTEN/PI3K/Akt 通路抑制非小细胞肺癌细胞的自噬[J]. 第三军医大学学报，2020，42(13)：1301-1307.

[25] 杨国良，胡丹丹，徐一凯，等. 益气活血汤通过 miR-21/PTEN 信号通路抑制肺癌细胞恶性生物学行为[J]. 中国临床药理学与治疗学，2020，25(5)：512-518.

[26] GALVAN-ROMAN JM, LANCHO-SANCHEZ A, LUQUERO-BUENO S, *et al*. Usefulness of circulating microRNAs miR-146a and miR-16-5p as prognostic biomarkers in community-acquired pneumonia[J]. Plos One, 2020, 15(10): e240926.

[27] WANG F, WANG W, LU L, *et al*. MicroRNA165p regulates cell survival, cell cycle and apoptosis by targeting AKT3 in prostate cancer cells[J]. Oncol Rep, 2020, 44(3): 1282-1292.

[28] ZHAO Z, JI M, WANG Q, *et al*. miR-16-5p/PDK4-Mediated Metabolic Reprogramming Is Involved in Chemoresistance of Cervical Cancer[J]. Mol Ther Oncolytics, 2020, 17: 509-517.

（收稿日期：2021-01-26；修回日期：2021-10-18；编辑：郭翠）

（上接第 15 页）

[18] 杨伟才，吴丹丹，莫海龙. 地佐辛超前镇痛对腹腔手术患者血清炎性因子和自由氧因子的影响[J]. 中国医学创新，2019，16(16)：54-57.

[19] 毕紫鹏，董河，王立翠，等. 地佐辛预处理对全脑缺血再灌注大鼠神经元凋亡作用[J]. 青岛大学学报(医学版)，2018，54(3)：351-358.

[20] INGO E, WANG J, THOMAS S, *et al*. Impact of Morphine Treatment on Infarct Size and Reperfusion Injury in Acute Reperfused ST-Elevation Myocardial Infarction[J]. J Clin Med, 2020, 9(3): 735.

[21] CAO L, CHAI SJ. miR-320-3p is involved in morphine pre-conditioning to protect rat cardiomyocytes from ischemia/reperfusion injury through targeting Akt3[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(2): 1480-1488.

[22] 赵侠勇，李彦平，乔晓如，等. 人参总皂苷和异氟醚预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J]. 西部医学，2020，32(2)：189-193.

[23] ZHONG ZW, ZHOU WC, SUN XF, *et al*. Dezocine regulates the malignant potential and aerobic glycolysis of liver cancer targeting Akt1/GSK-3β pathway[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(7): 480-480.

[24] ANDREAS K, MARTIN S, TORSTEN K, *et al*. Sympathetic nervous system controls resolution of inflammation via regulation of repulsive guidance molecule A[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 633-633.

[25] SHOTA T, ATSUKI I, KOTARO M, *et al*. β2-adrenergic stimulation induces interleukin-6 by increasing Arid5a, a stabilizer of mRNA, through cAMP/PKA/CREB pathway in cardiac fibroblasts[J]. Pharmacol Res Perspect, 2020, 8(2): e00590.

[26] WEN YH, HE J, XUE XF, *et al*. β-arrestin2 Inhibits Apoptosis and Liver Inflamation Induced by Ischemia-reperfusion in Mice via AKT and TLR4 Pathway[J]. Arch Med Res, 2019, 50(7): 413-422.

（收稿日期：2021-01-25；修回日期：2021-04-12；编辑：郭翠）