

咖啡酸对阿霉素心肌细胞损伤的保护作用及机制研究

唐 炜¹, 叶鹏林², 刘 坤², 朱杨杰², 高恶斌²

摘要 目的 探讨咖啡酸(CA)对阿霉素(ADM)诱导的心肌细胞损伤的保护作用及其机制。方法 采用不同浓度ADM诱导建立心肌细胞H9c2损伤模型,确定ADM诱导的最佳浓度。其次,在心肌损伤模型的基础上给予不同浓度CA,培养24 h确定最适CA浓度。将H9c2心肌细胞分为模型组(ADM组)、治疗组(ADM+CA组)和空白对照组(Control组),采用MTT法测定心肌细胞的存活率,用HE染色观察心肌细胞组织形态学变化。测定H9c2心肌细胞中乳酸脱氢酶(LDH)和活性氧(ROS)水平、线粒体膜电位变化及 Na^+/K^+ -ATP酶和 Ca^{2+} -ATP酶活性,并运用Western blot检测NF- κ B-p65的表达水平。结果 选择2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM作为诱导浓度,并选择4.0 $\mu\text{mol/L}$ CA用于后续试验。与Control组比较,ADM组中心肌细胞纤维排列紊乱,肌纤维变形严重;LDH和ROS水平升高,线粒体膜电位升高,且 Na^+/K^+ -ATP酶和 Ca^{2+} -ATP酶活性降低,NF- κ B-p65蛋白表达增高。与ADM组比较,ADM+CA组中心肌细胞肌束排列整齐,LDH和ROS水平降低,线粒体膜电位降低($P < 0.05$),且线粒体 Na^+/K^+ -ATP酶和 Ca^{2+} -ATP酶活性提高($P < 0.05$),NF- κ B-p65蛋白表达降低($P < 0.05$)。结论 CA通过抗氧化应激、降低线粒体膜电位、提高H9c2细胞内ROS水平,并且通过调控NF- κ B信号通路,参与保护ADM诱导的心肌损伤过程。

关键词 咖啡酸;心肌毒性;氧化应激;线粒体;NF- κ B

中图分类号 R 285.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)03-0402-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.03.012

阿霉素(adriamycin, ADM)是一种蒽环类抗生素,抗癌效果显著,是目前最常用最重要的抗癌药物之一^[1]。然而,长期给药会对心脏、骨髓、肾脏造成不可逆毒性作用,严重阻碍其临床应用^[2]。ADM可

在体内形成多种氧自由基,导致心肌细胞及亚细胞结构改变,破坏细胞膜引起钙超载,进而引起心肌细胞凋亡。因此,深入探讨ADM诱导心肌毒性的内在机制,并探究有效的心肌保护剂,对解决ADM诱导致毒问题十分必要。咖啡酸(caffeic acid, CA)是酚酸类化合物,广泛存在于植物体内,具有抗炎、抗菌、抗病毒等药理作用。最近有研究^[3]表明,CA对心血管疾病如动脉粥样硬化等具有保护作用。但其对ADM心肌损伤的保护作用及具体机制尚不清楚。因此,该研究通过建立ADM诱导大鼠心肌细胞损伤模型,探讨CA对心肌损伤的保护作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞与培养 实验细胞为大鼠H9c2细胞系,江苏大学生命科学学院中心实验室保存。在含有10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基培养,置于37℃含5% CO_2 恒温培养箱中常规传代培养。

1.1.2 药品与试剂 CA(纯度 $\geq 99\%$)购自美国Acros Organics公司,MTT细胞增殖及细胞毒性试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司,ADM、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)活性检测试剂盒和活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,JC-1线粒体膜电位检测试剂盒购自上海翊圣生物科技有限公司,线粒体 Na^+/K^+ -ATP酶和 Ca^{2+} -ATP酶活性试剂盒购自南京建成生物科技有限公司,NF- κ B和 β -actin抗体购自英国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与处理 用DMEM+10% FBS培养基培养H9c2心肌细胞,细胞密度至80%左右时吸取多余培养基,用PBS冲洗2次,0.25%胰酶消化3 min后加入培养基中和,轻轻吹打至细胞脱落,按照1:3传代数次至细胞状态稳定。

取对数生长期H9c2心肌细胞,按每孔 5×10^3 个细胞接种于96孔板中,每组平行设置5个复孔,待细胞贴壁后,分别加入相关药物干预。首先进行

2021-09-10 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:31200019);镇江市社会发展项目(编号:SH2019055);江苏省妇幼保健项目(编号:F201648);中国科学院南海海洋研究所开放基金(编号:LMB131001)

作者单位:¹ 江苏大学附属医院儿科,镇江 212000

² 江苏大学生命科学学院,镇江 212000

作者简介:唐 炜,女,副主任医师;

高恶斌,男,博士,副教授,责任作者, E-mail: gaofei@ujs.edu.cn

ADM 浓度的筛选。H9c2 心肌细胞分别加入 0 (对照组)、1.0、2.0、3.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM (使 DMSO 最终浓度 $<0.1\%$) 作用 12 h, 选择接近其半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 值的浓度进行后续研究。其次进行给药模型的建立。在最适 ADM 浓度处理心肌细胞后, 分别用 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 $\mu\text{mol/L}$ CA 处理 24 h, 置于 37°C 、 5% CO_2 环境中培养。设置 ADM 处理组为模型组 (ADM 组)、不同浓度 CA 干预组为治疗组 (ADM + CA 组) 及空白对照组 (Control 组)。

在处理组, 每孔加入终浓度为 5 mg/ml 的 MTT 10 μl , 培养 4 h 后添加 100 μl DMSO 溶液, 在 450 nm 处测定吸光值, 每组重复 3 次, 计算细胞存活率和 IC_{50} 。

1.2.2 细胞内 LDH 水平检测 收集 Control 组、ADM 组和 ADM + CA 组培养 24 h 后的 H9c2 细胞, 按照 LDH 活性检测试剂盒说明书测定上清 LDH 含量, 并根据相关公式计算 LDH 活力变化。

1.2.3 细胞内 ROS 水平检测 分组同上所述, 收集各组细胞, 加入 10 $\mu\text{mol/L}$ DCF-DA, 孵育 20 min 后用荧光显微镜观察 ROS 荧光强度。荧光强度的高低反映细胞内 ROS 的水平。

1.2.4 线粒体膜电位检测 分组同上所述, 在各组样本中加入 JC-1 使其达到所需终浓度, 避光, 37°C 孵育 15 min, 再用 PBS 洗去多余的染料后测定。

1.2.5 线粒体 Na^+ - K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶活性检测 分组同上所述, 收集各组细胞后用 PBS 悬浮细胞并破碎, 离心取上清液, 测定吸光度。操作步骤严格按照线粒体 Na^+ - K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶活性检测试剂盒进行。

1.2.6 Western blot 法检测 NF- κB 蛋白表达情况 分组同上所述, 提取各组细胞总蛋白。取 50 μg 蛋白样本进行 Western blot 检测, 以 β -actin 为内参, 用 Multi-analyst image 成像系统检测蛋白条带, 并用 Image J 软件定量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 15.0 统计学软件进行数据处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异显著性单因素方差分析 (one-way ANOVA) 检验, 采用 Graphpad 6.0 作图, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ADM 诱导 H9c2 心肌损伤模型的建立 与 Control 组比较, 1.0、2.0、3.0 和 4.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM 处理都会引起 H9c2 心肌细胞存活率的显著下降, 并

且随处理剂量增加细胞活力显著降低, 具有剂量依赖效应。其中 1.0、2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM 处理与 Control 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 3.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM 处理与 Control 组比较差异更显著 ($P < 0.01$)。ADM 对心肌细胞的损伤与浓度呈正相关, 当 ADM 浓度为 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 时对细胞的损伤量约在 50%, 为药物 IC_{50} , 因此选择 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM 处理作为后续实验条件。见图 1。

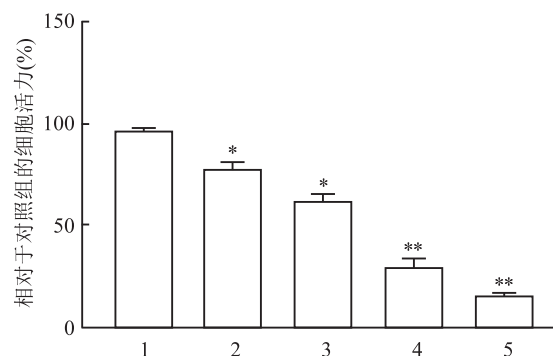


图1 不同浓度 ADM 处理细胞后的 MTT 细胞活力统计图

1: Control 组; 2: 1.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM; 3: 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM; 4: 3.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM; 5: 4.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM; 与 Control 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 CA 对大鼠心肌组织损伤的保护作用 不同浓度的 CA 对 ADM 诱导的心肌细胞损伤有一定保护作用, 0.5 $\mu\text{mol/L}$ CA 即对 ADM 诱导的心肌损伤呈现保护效应 ($P < 0.05$), 并且心肌细胞的存活率随 CA 浓度增加显著提高, 具有剂量依赖性。当 CA 浓度为 4.0 $\mu\text{mol/L}$ 时对 H9c2 保护效果最佳。因此, 取 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM 和 4.0 $\mu\text{mol/L}$ CA 作为治疗组进行后续实验。见图 2。

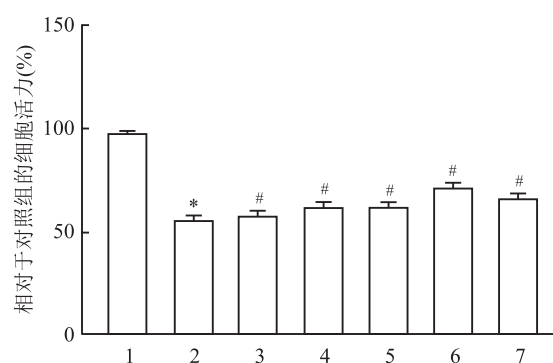


图2 不同浓度 CA 保护损伤细胞后的 MTT 细胞活力统计图

1: Control 组; 2: 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM; 3: 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM + 0.5 $\mu\text{mol/L}$ CA; 4: 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM + 1.0 $\mu\text{mol/L}$ CA; 5: 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM + 2.0 $\mu\text{mol/L}$ CA; 6: 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM + 4.0 $\mu\text{mol/L}$ CA; 7: 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM + 8.0 $\mu\text{mol/L}$ CA; 与 Control 组比较: * $P < 0.05$; 与 ADM 组比较: # $P < 0.05$

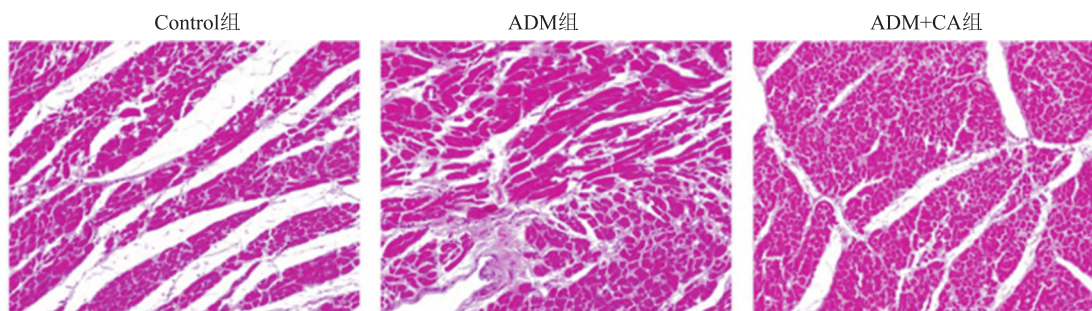


图3 CA对H9c2心肌细胞形态的影响

HE染色结果显示,Control组心肌细胞排列整齐致密、细胞形态正常。与Control组比较,ADM组心肌呈片状坏死、空泡性变性、心肌纤维增多、心肌细胞片状溶解,心肌松散,细胞间隙增宽。而,ADM+CA组中心肌纤维化、变性等较轻,肌纤维变性减少。见图3。

2.3 CA对ADM损伤的心肌细胞内LDH水平的影响 与Control组比较,ADM组中的LDH水平显著提高;而加入CA后治疗组中LDH水平明显降低,表明CA可以抑制细胞内LDH在损伤后的显著提高。见图4。

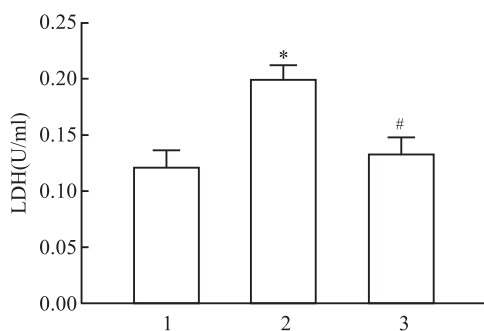


图4 各组心肌细胞上清的LDH活力水平统计图

1: Control组;2: ADM组;3: ADM+CA组;与Control组比较;

* $P < 0.05$;与ADM组比较: # $P < 0.05$

2.4 CA对ADM损伤的心肌细胞内活性氧水平的影响 在荧光显微镜下观察各组细胞内荧光强度,通过荧光强度的强弱反映ROS水平的高低。Control组内平均荧光强度为 (63.110 ± 2.223) ,而ADM组中的平均荧光强度为 (132.098 ± 7.117) ,与Control组比较明显升高。而ADM+CA组细胞内平均荧光强度为 (103.582 ± 4.992) ,较ADM组显著下降;利用单因子方差分析结果显示,各组间均差异有统计学意义($P < 0.0001$, $F = 223.9$)。结果表明,CA可以抑制ADM诱导心肌细胞中ROS激增过程。见图5。

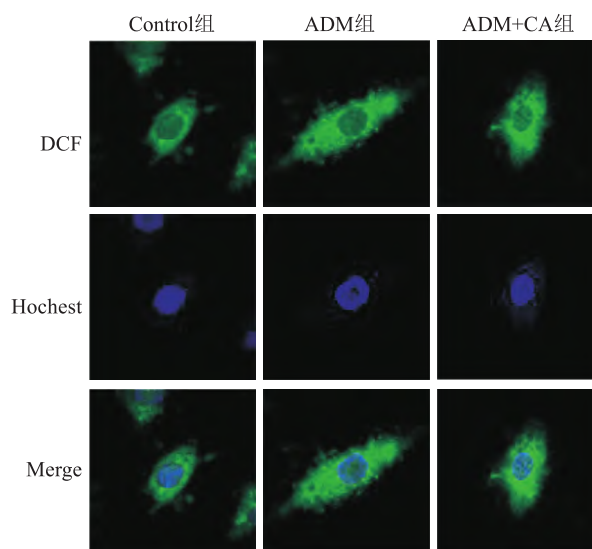


图5 激光共聚焦显微镜下各组心肌细胞ROS水平 ×400

2.5 CA对ADM损伤的心肌细胞内线粒体膜电位的影响 同样利用荧光强弱反映线粒体膜电位的水平。与Control组比较,ADM组细胞内红色荧光强度明显下降,由 (207.876 ± 5.072) 降为 (90.918 ± 4.649) ;而ADM+CA组中红色荧光强度为 (105.200 ± 3.501) 。one-way ANOVA统计分析结果显示,各组间均差异有统计学意义($P < 0.01$, $F = 1.025$)。结果表明,ADM能够引发心肌细胞线粒体膜电位下降,而加入CA则可以改善该过程。见图6。

2.6 CA对ADM损伤的心肌细胞内线粒体 Na^+ - K^+ -ATP酶、 Ca^{2+} -ATP酶活性的影响 与Control组比较,ADM组心肌细胞H9c2中线粒体 Na^+ - K^+ -ATP酶、 Ca^{2+} -ATP酶的活性均呈现显著降低($P < 0.05$);而与ADM组比较,ADM+CA组线粒体 Na^+ - K^+ -ATP酶、 Ca^{2+} -ATP酶的活性则有了明显升高($P < 0.05$)。表明ADM造成了心肌细胞中线粒体 Na^+ - K^+ -ATP酶和 Ca^{2+} -ATP酶活性的降低,而加入CA则能改善这种损伤。见图7。

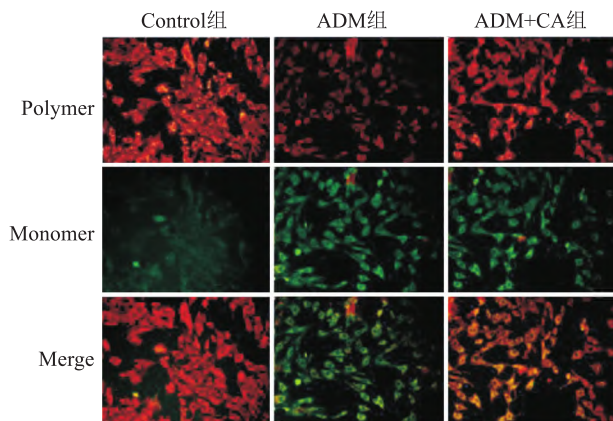


图6 荧光显微镜下各组细胞线粒体膜电位水平 ×200

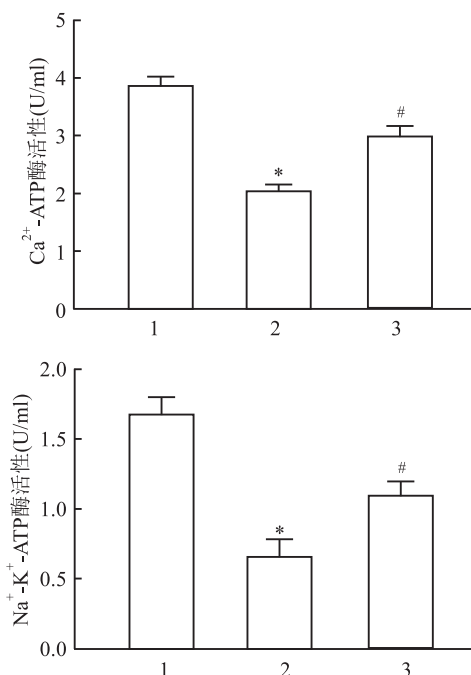
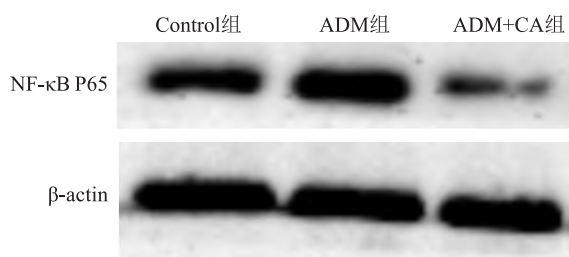


图7 各组心肌细胞内 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性水平
1: Control 组; 2: ADM 组; 3: ADM + CA 组; 与 Control 组比较:
* $P < 0.05$; 与 ADM 组比较: # $P < 0.05$

2.7 CA 对 ADM 损伤的心肌细胞内 NF- κ B 信号通路影响 Western blot 结果显示,与 Control 组比较,ADM 组 p65 蛋白的表达水平明显增高,而加入 CA 的治疗组中,p65 蛋白的表达量则有所降低。见图 8。

图8 Western blot 检测各组心肌细胞中 NF- κ B p65 蛋白表达量

3 讨论

ADM 是一种高效的蒽醌类抗肿瘤药物,可以通过抑制肿瘤细胞 DNA 复制过程起到抗肿瘤作用。然而长期使用 ADM 会造成心肌细胞不可逆损伤^[4],这严重限制了 ADM 抗肿瘤的临床应用。目前,ADM 导致心脏毒性的机制尚不明确^[5],因此探寻 ADM 对心肌细胞的损伤机制,并开发相应的保护药物具有重要的临床意义。

研究表明^[6],ADM 会诱发心肌细胞产生大量的 ROS,从而导致心肌细胞处于氧化应激状态,本研究中,ADM 诱导的损伤 ADM 组中 ROS 水平高于 Control 组,与前人研究结果吻合^[7]。此外,心肌细胞含有较多的线粒体,线粒体内膜含有大量的 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶,以维持电位稳定,释放细胞正常生命活动所需要的能量。有报道称 ADM 对线粒体膜具有很强的亲和性,可能是通过还原性辅酶 II 或内皮型一氧化氮合酶转化为半醌 ADM,并进一步转化为 C7 自由基,破坏细胞膜或细胞器膜,从而导致心肌细胞的损伤^[8-9]。本研究结果显示,ADM 会引起心肌细胞氧化应激水平增高、心肌细胞线粒体膜电位和线粒体 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶活性降低,表明 ADM 是通过改变膜电位、影响线粒体膜的稳定性损伤心肌细胞。

NF- κ B 作为一种核转录因子,与免疫和炎症相关。当机体受到损伤及 ROS 增多时,细胞内的 NF- κ B 进入细胞核,与特异性位点结合,调控靶基因表达。NF- κ B 参与了 ADM 诱导心肌损伤的过程,能引起 NF- κ B p65 蛋白表达增多^[10-11]。因此 NF- κ B p65 很有可能是 ADM 造成心肌损伤通路中的重要环节。本研究中检测了 ADM 组、Control 组与 ADM + CA 组细胞中 NF- κ B p65 的表达量,结果表明 CA 能够抑制 ADM 引发的 NF- κ B p65 蛋白表达量增高过程,CA 可能通过 NF- κ B p65 通路发挥对心肌细胞的保护作用。然而本研究缺少对 NF- κ B 通路中其他蛋白表达水平的检测,尚未进一步深入阐明 CA 在 NF- κ B 通路中的保护机制。

CA 是一类天然酚类化合物,具有强抗氧化性。CA 有多种药理作用,如抗菌、抗毒、抗炎、抗癌、抗动脉粥样硬化、抗 HIV、抗氧化等^[3]。研究^[12-13]表明,CA 对淋巴细胞、脑、肾、肝等组织的氧化损伤也有一定的保护作用。本研究中,CA 治疗组中心肌细胞中 ROS 水平较 ADM 组显著降低,表明 CA 可能通过清除 H₂O₂ 心肌细胞内 ROS 发挥了保护作用。

此外,本研究显示,CA 可以提高 ADM 诱导心肌损伤后线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$ 酶的活性,能够稳定线粒体膜电位,这表明除清除 ROS 之外,CA 还有可能通过保护线粒体膜稳定性发挥其保护作用。这与 CA 能降低心肌细胞线粒体脂质的浓度,保护线粒体,在异丙肾上腺素诱导心肌细胞梗死模型中发挥保护作用的机制相似^[14]。

参考文献

- [1] 张明发,沈雅琴. 苦参碱的心脏保护作用及其机制的研究进展[J]. 现代药物与临床,2021,36(2):414-20.
- [2] Virizuela J A, Garcia A M, Delaspenas R, et al. SEOM clinical guidelines on cardiovascular toxicity[J]. Clin Transl Oncol,2019,21(1):94-105.
- [3] 杨九凌,祝晓玲,李成文,等. 咖啡酸及其衍生物咖啡酸苯乙酯药理作用研究进展[J]. 中国药理学杂志,2013,48(8):577-82.
- [4] 杨冬梨,徐宗佩,李玉红,等. 参麦注射液抗阿霉素心脏毒性及其协同放化疗抗肿瘤的作用[J]. 天津中医药大学学报,2018,37(6):445-8.
- [5] McGowan J V, Chung R, Maulik A, et al. Anthracycline chemotherapy and cardiotoxicity[J]. Cardiovas Drug Ther, 2017, 31(1):63-75.
- [6] Kim S Y, Kim S J, Kim B J, et al. Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular Ca^{2+} increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes[J]. Exp Mol Med,

- 2006, 38(5):535-45.
- [7] Octavia Y, Tocchetti C G, Gabrielson K L, et al. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: From molecular mechanisms to therapeutic strategies[J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 52(6):1213-25.
- [8] Parker M A, King V, Howard K P. Nuclear magnetic resonance study of doxorubicin binding to cardiolipin containing magnetically oriented phospholipid bilayers[J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1514(2):206-16.
- [9] 祁川川,陈建中,柴丽君. 化疗期间心电图异常对蒽环类药物引起乳腺浸润性导管癌患者慢性心脏毒性的预测价值[J]. 中国全科医学,2017,20(9):1122-6.
- [10] 邢清敏,陆曙,周永华,等. 生脉散对 DCM 大鼠的干预作用及对 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(2):128-34.
- [11] 徐文明,郭润民,陈景福,等. 硫化氢通过调控 NF- κ B 通路抑制阿霉素引起的心肌细胞炎症与细胞毒性[J]. 中国病理生理杂志,2013,29(9):1561-6.
- [12] 刘会,袁雯雯,李俊雅,等. 蜂胶中提取的咖啡酸苯乙酯和咖啡酸苯乙酯抑制食管癌 Eca109 细胞的功效[J]. 天然产物研究与开发,2020,32(11):1904-12.
- [13] 陈福欣,龚频,周安宁,等. 咖啡酸苯乙酯对肥胖小鼠氧化应激状态调节作用研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(12):7164-7.
- [14] Kumaran K S, Prince P S M. Caffeic acid protects rat heart mitochondria against isoproterenol-induced oxidative damage[J]. Cell Stress Chaperon, 2010, 15(6):791-806.

Protective effects of caffeic acid on adriamycin-induced myocardial injury and potential mechanisms

Tang Wei¹, Ye Penglin², Liu Kun², Zhu Yangjie², Gao Ebin²

(¹Dept of Pediatrics, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhengjiang 212000;

²School of Life Sciences, Jiangsu University, Zhengjiang 212000)

Abstract Objective This study was to explore the protective effect and mechanism of caffeic acid on adriamycin-induced cardiomyocyte damage. **Methods** Adriamycin (ADM) is used to induce H9c2 injury model of cardiomyocytes and to determine the best concentration of it. Then the injured H9c2 were co-cultured with different concentrations of caffeic acid (CA) for 24 hours, and the optimal concentration of caffeic acid was selected. The H9c2 were divided into model group (ADM), treatment group (ADM + CA) and blank control group (control). As shown, the survival rate of cardiomyocytes was measured by MTT method, and the morphology of H9c2 was observed by HE. Then the levels of lactate dehydrogenase (LDH) and reactive oxygen species (ROS), changes in mitochondrial membrane potential and the activities of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ in H9c2 were measured, as well as the expression of NF- κ B-p65 were detected by Western blot. **Results** 2.0 $\mu\text{mol/L}$ ADM and 4.0 $\mu\text{mol/L}$ caffeic acid were selected for subsequent experiments. Compared with the control group, in the adriamycin-treated model group, the cardiomyocyte fiber arrangement was disordered, and the muscle fiber was deformed seriously; LDH and ROS levels were increased, mitochondrial membrane potential were increased, and $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ activities were reduced. Compared with the model group, in the caffeic acid treatment group, myocardial cell muscle bundles were arranged neatly, LDH and ROS levels, and mitochondrial membrane potential

网络出版时间:2022-1-25 7:23 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220124.0940.012.html

基于基因组学与代谢组学分析 肠道菌群及其代谢物改变与心力衰竭发生的相关性

李 丽^{1,2}, 张 昕¹, 邹 琳^{1,2}

摘要 目的 探讨肠道菌群及其代谢物改变是否参与大鼠心衰的发生、发展。方法 采用皮下注射异丙肾上腺素的方法诱导大鼠心衰模型,饲养6周后用超声心动图评估模型是否成功,并分为2组:心衰组 and 对照组。高效液相色谱串联质谱法测定两组大鼠血清中氧化三甲胺(TMAO)水平;收集两组粪便样本进行细菌DNA提取,并行16SrDNA高通量测序,使用NovoMagic云平台进行肠道菌群多样性、相对丰度、差异物种及菌群功能差异分析。结果 与对照组比较,心衰组血清中TMAO水平明显升高($P < 0.05$),两组粪便标本的测序结果显示:在门水平上,占前3位菌种的包括厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门;在属水平上占前3位的菌种为乳杆菌属、*Allobaculum*属、杜氏杆菌属;两组菌群的多样性分析显示,心衰组与对照组大鼠肠道菌群结构相似; t 检验组间物种差异分析图显示心衰组明显降低的菌群前5位为:Acidobacteriota门、维鲁士菌门、硝化螺旋菌门、Methylobacteriota门、泉古菌门($P < 0.05$)。其他菌群的比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。LEfSe分析显示心衰组与对照组间具有显著差异(LDA绝对值 >4)的菌种为鼠乳杆菌、Acidobacteriota、Bacteria。结论 肠道菌群变化及其代谢物TMAO水平改变参与心衰的发生、发展。

关键词 心衰;肠道细菌微环境;氧化三甲胺;高通量测序
中图分类号 R 541.6

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)03-0407-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.03.013

2021-09-26 接收

基金项目:内蒙古自治区研究生科研创新项目(编号:S20191202Z)

作者单位:¹内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院心功能科,包头 014010

²包头医学院研究生学院,包头 014040

作者简介:李 丽,女,硕士研究生;

张 昕,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:zhangxinwdq@sina.com

心力衰竭(简称心衰)患者多数预后不佳,有临床症状患者的5年存活率与恶性肿瘤相仿,且心衰的发病率持续增长,正在成为21世纪最重要的心血管病症之一。近年来,胃肠道系统与心衰发生的相关性日益受到关注。研究^[1]证实,由右心衰导致的血流动力学问题,与心衰和预后不良有关,可能的病理机制为肠道有害菌群生长,有益菌群减少,菌群代谢物氧化三甲胺(trimethylamine oxide, TMAO)增多^[2]。该研究通过制作异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)诱导的心衰大鼠模型,对比心衰组与对照组肠道菌群和血清中TMAO水平的差异,探讨肠道菌群参与心衰的发生发展的途径,为指导临床心衰治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 一般资料 60只清洁级3月龄的Wistar雄性大鼠,体质量230~250 g,由内蒙古大学实验动物中心提供。ISO购自大连美仑生物有限公司;超纯水Mill-Q(美国Millipore公司)、彩色多普勒超声诊断仪(IE-33)购自飞利浦电器科技集团(中国)有限公司;高效液相色谱仪(AB Sciex Exion LC™ AD)、质谱仪(AB Sciex QTRAP® 6500+)、粪便DNA提取试剂盒(天根)、紫外分光光度计购自上海精密科学仪器有限公司;引物由上海生工生物有限公司合成;Bio-rad T100梯度PCR仪、PCR产物纯化试剂盒(GeneJET胶回收试剂盒)购自美国Thermo Scientific公司;文库试剂盒购自美国Illumina公司、高通量测序仪(NovaSeq 6000)、Novomagic云平台等。

1.2 方法

1.2.1 Wistar大鼠心衰模型的建立 60只雄性

were reduced ($P < 0.05$), while mitochondrial $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ activities were increased ($P < 0.05$), NF- κB -p65 protein expression was reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** Caffeic acid can protect against oxidative stress, reduce mitochondrial membrane potential, increase the level of reactive oxygen species in H9c2 cells, and participate in the protection of adriamycin-induced myocardial injury by regulating the NF- κB signaling pathway.

Key words caffeic acid; myocardial toxicity; oxidation stress; mitochondria; NF- κB