

# 腺苷受体及其介导的 cAMP-PKA 信号通路 在对乙酰氨基酚致药物性肝损伤中的作用

赵 晗, 丁利平, 吕雄文, 王 和, 王 琪, 杨 凤, 杨 岩, 张媛媛

**摘要** 目的 探讨腺苷受体及其介导的环磷酸腺苷-蛋白激酶 A (cAMP-PKA) 信号通路在对乙酰氨基酚致药物性肝损伤中的作用。方法 将 20 只雄性昆明种小鼠随机分为空白对照组和模型组。模型组给予对乙酰氨基酚 500 mg/kg, 空白对照组给予等量的生理盐水, 两组均为单次灌胃给药。24 h 后处死小鼠, 检测谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、总胆汁酸 (TBA), HE 染色观察肝脏病理变化; 原位肝灌注法分离小鼠肝细胞; Real-Time qPCR 法、Western blot 法分别检测肝细胞腺苷 A1 受体 (A1R)、A2A 受体 (A2AR)、A2B 受体 (A2BR) 和 A3 受体 (A3R) 水平; ELISA 法检测各组细胞 cAMP 含量; Western blot 法检测各组细胞 PKA、磷酸化-环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (p-CREB) 的表达水平。结果 与空白对照组比较, 模型组 AST、ALT、ALP、TBA 表达明显增加 ( $P < 0.01$ ) 且肝组织损伤明显; 与空白对照组比较, 模型组腺苷 A1R、A2AR 的表达明显升高 ( $P < 0.01$ )。cAMP 含量、PKA、p-CREB 蛋白的表达水平也相应增加 ( $P < 0.05$ )。结论 对乙酰氨基酚致药物性肝损伤可能与 cAMP-PKA 信号通路有关。

**关键词** 对乙酰氨基酚; 肝损伤; 腺苷受体

中图分类号 R 961; R 965.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)05-0616-05

对乙酰氨基酚, 又名扑热息痛, 是目前使用最广泛的解热镇痛药, 但该药的过量使用会引起肝细胞毒性, 导致肝脏损伤<sup>[1]</sup>。对乙酰氨基酚已在临床广泛使用, 但如何合理抑制其肝毒性尚无良策。腺苷及腺苷受体 (adenosine receptors, ARs) 由于复杂的生物学作用和在各种疾病中的重要调节功能受到了越来越多的关注<sup>[2]</sup>。腺苷作为一种内源性嘌呤核苷, 主要通过结合并激活与 G 蛋白耦联的 ARs, 对机体的许多系统及组织发挥着重要作用。ARs 广泛存在于肝细胞<sup>[3]</sup>, 在肝病的发病机制中发挥不可忽视的作用<sup>[4-5]</sup>, 但在其对乙酰氨基酚致药物性肝损

伤机制中的作用尚未见报道。研究<sup>[5]</sup>表明, 当肝细胞受到甲氨蝶呤等药物刺激时, 腺苷释放量会增加, ARs 通过介导环磷酸腺苷-蛋白激酶 A (cyclic adenosine monophosphate-protein kinase A, cAMP-PKA) 信号通路参与肝脏炎症的发生。另有研究<sup>[6]</sup>表明, 腺苷增加导致肝细胞低氧、炎症、急性损伤, 而过量的对乙酰氨基酚也造成肝细胞损伤<sup>[7-8]</sup>。由此推测, 对乙酰氨基酚通过激活 ARs 而引起肝细胞损伤, cAMP-PKA 信号通路也参与其中。该研究拟通过对乙酰氨基酚灌胃制作药物性肝损伤模型, 探讨 ARs 及其介导的 cAMP-PKA 信号通路在对乙酰氨基酚致药物性肝损伤中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 昆明种小鼠, 雄性, 普通级, 40~60 g, 购自安徽医科大学实验动物中心。普通饲料喂养, 自由进食及饮水, 自然光照环境中饲养 1 周后进行实验。

**1.1.2 主要试剂** 对乙酰氨基酚 (上海阿拉丁试剂公司); 乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸 [ethylene glycol(2-aminoethyl ether) tetraacetic acid, EGTA] (美国 Sigma 公司); I 型胶原酶、DMEM、胎牛血清 (美国 Gibco 公司); 胰酶 (美国 Hyclone 公司); 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) (美国 Amresco 公司); 小鼠腺苷 A1R、A2AR 抗体 (北京博奥森公司); 环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (cAMP response element bonding protein, CREB)、p-CREB 抗体 (北京安博公司);  $\beta$ -actin、小鼠腺苷 A2BR、A3R 抗体 (美国 Santa Cruz 公司); TRIzol Reagent (美国 Invitrogen 公司); 逆转录试剂盒、PCR 试剂盒 (美国 Fermentas 公司); ECL 化学发光试剂盒 (美国 Thermo 公司); cAMP ELISA 检测试剂盒 (美国 R&D 公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 对乙酰氨基酚致药物性肝损伤模型的建立

将 20 只雄性昆明种小鼠随机分为空白对照组、模型组, 参考文献<sup>[9]</sup>方法, 分别给予 0.9% 的氯化钠注射液 500 mg/kg、对乙酰氨基酚 500 mg/kg (生理盐

2015-02-02 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 81270498); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (编号: 201410366043)

作者单位: 安徽医科大学药学院, 合肥 230032

作者简介: 赵 晗, 女, 硕士研究生;

吕雄文, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail:

lxw31288@aliyun.com

水配制) ,两组均为单次灌胃给药。24 h 后眼眶取血并剖腹取肝,留取标本观察肝脏生化指标和组织病理学改变。

**1.2.2 肝脏生化指标的检测** 取血后 3 000 r/min 离心 10 min 得血清,用全自动生化分析仪检测各组小鼠血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)水平。

**1.2.3 肝脏组织病理学检查** 收集各组的肝脏组织,分别取肝左叶组织 4% 多聚甲醛固定,常规石蜡包埋 4  $\mu$ m 连续切片,HE 染色后,光镜下观察肝脏病变情况。肝细胞炎症活动度计分参考 Knodell et al<sup>[10]</sup> 计分标准,将小叶内变性、坏死和汇管区炎症分别计为 0~4 分,两者之和为每张切片的炎症活动度计分。

**1.2.4 肝细胞的分离、培养和鉴定** 将小鼠用 10% 水合氯醛(3 ml/kg) 麻醉,用 70% 的酒精消毒小鼠腹部皮肤后打开小鼠腹腔,将内脏拨到右边,使门静脉暴露。在门静脉处放置外科缝合线并用静脉注射器插入门静脉。用缝合线将静脉注射器插管处固定并剪断下腔静脉。用在 37  $^{\circ}$ C 水浴中预热过的 0.5 mmol/L EGTA 溶液灌注肝脏 5 min,流速为 5 ml/min,接着用预热过的 0.075% I 型胶原酶液灌注 5 min。分离肝脏并将其放置在 60 mm  $\times$  15 mm 的无菌培养皿中用解剖剪刀切割肝脏,并加 D-Hanks 液到组织培养皿中。用移液器吸取肝组织液到 50 ml 无菌的锥形管中并确保溶液到 35 ml 标记处,并加入 5 ml 0.075% I 型胶原酶液。将管子放到振荡器中室温下摇动 15 min。通过 70  $\mu$ m 的细胞过滤器过滤细胞并转移至干净的 50 ml 锥形管中,室温下 532 r/min 离心 5 min,弃上清液,将细胞沉淀重新悬浮于 50 ml D-Hanks 液中并在室温下再次离心 532 r/min 离心 5 min。弃上清液,在含 20% 胎牛血清的 DMEM 中混匀并接种。5% CO<sub>2</sub>、37  $^{\circ}$ C 恒温培养 48 h,换液除去未贴壁细胞,由此纯化肝细胞,以后每隔 24 h 换液一次。肝细胞贴壁生长后,可观察到细胞呈岛状连接,细胞核较大且有双核或多核细胞出现。

### 1.2.5 肝细胞中 ARs 的表达

**1.2.5.1 Real-Time qPCR 法检测各组细胞中腺苷 A1R、A2AR、A2BR、A3R 表达水平** 用 TRIzol Reagent 试剂,按说明书方法提取各组细胞总 RNA,具体操作参照试剂盒说明。以  $\beta$ -actin 作为内参,上游

引物: 5'-GAGACCTCAACACCCCAGC-3',下游引物: 5'-CCACAGGATTCCATACCCAA-3'; A1R 上游引物: 5'-TGGTGATTTGGGCTGTGAAGGT-3',下游引物: 5'-CAGGTGTGGAAGTAGGTCTGTGG-3'; A2AR 上游引物: 5'-CTGGGTGCTTGTGTGCTG-3',下游引物: 5'-GATGGTGATGGCGAATGGGAT-3'; A2BR 上游引物: 5'-GCGTCCCCTCAGGTATAAAG-3';下游引物: 5'-CACCCAGGAACGGAGTCAAT-3'; A3R 上游引物: 5'-GTTTCTGTTCTCTTCTTGTTCG-3',下游引物: 5'-GGTTCATCATGGAGTTCGCGT-3'。

**1.2.5.2 Western blot 法检测肝细胞中的 A1R、A2AR、A2BR、A3R、PKA、p-CREB 蛋白的表达水平**

各组细胞加入药物培养后,弃去培养瓶内培养液,用 4  $^{\circ}$ C 的 PBS 润洗 3 次;每瓶细胞加 400  $\mu$ l 含 PMSF 的裂解液,冰上裂解 30 min;4  $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 30 min,取上清液与蛋白上样缓冲液混合,100  $^{\circ}$ C 加热 10 min。每孔上样 20  $\mu$ l 总蛋白,进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(浓缩胶电压 80 V,分离胶电压 120 V)。电泳结束后用湿转仪将蛋白转移到 PVDF 膜上。膜在室温下用含 50 g/L 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液封闭 3 h,用 TBST 清洗 3 次(每次 15 min)后加入相应的一抗中,4  $^{\circ}$ C 过夜。再分别加入与一抗相匹配的二抗室温放置 1 h,ECL 发光试剂盒显影,以  $\beta$ -actin 为内参,分别以相应蛋白与  $\beta$ -actin 光密度比值表示该蛋白相对表达水平。

**1.2.6 ELISA 法检测肝细胞 cAMP 含量** 收集细胞上清液 3 000 r/min 离心 10 min。按试剂盒说明书进行操作,绘制标准曲线,依次得出各组 cAMP 的含量。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 统计软件进行 One-Way ANOVA 分析,数据均为 3 次独立实验结果,以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较采用 S-N-K 检验,等级资料采用秩和检验。

## 2 结果

**2.1 各组小鼠肝功能相关检测结果** 与空白对照组比较,模型组小鼠血清 ALT、AST、ALP、TBA 升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 1。

**2.2 各组小鼠肝脏组织病理学检查结果** 空白对照组肝小叶结构正常,无肿胀、脂肪变性、坏死,肝小叶及汇管区无炎细胞浸润。与空白对照组相比,模型组肝小叶结构紊乱,小叶区、汇管区均出现炎性细胞浸润,细胞索排列紊乱,界限模糊不清,表明模型建立成功。见图 1。空白对照组 10 只小鼠中,小叶

表1 对乙酰氨基酚对小鼠血清中 ALT、AST、ALP、TBA 的影响 (n = 10  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (mg/kg)	ALT( U/L)	AST( U/L)	ALP( U/L)	TBA( $\mu$ mol/L)
空白对照	-	34.7 $\pm$ 6.2	50.2 $\pm$ 3.1	44.9 $\pm$ 12.1	5.2 $\pm$ 1.8
模型	500	209.6 $\pm$ 20.9 **	154.6 $\pm$ 21.3 **	97.1 $\pm$ 19.9 **	13.2 $\pm$ 3.0 **

与空白对照组比较: \*\* P < 0.01

内变性、坏死 0 分 9 例 1 分 1 例 汇管区炎症 0 分 8 例 1 分 2 例; 模型组 8 只(死亡 2 只未计入) 小鼠中, 小叶内变性、坏死 0 分 1 例 1 分 1 例 3 分 3 例, 4 分 3 例 汇管区炎症 0 分 1 例 1 分 4 例 3 分 3 例。与空白对照组相比, 模型组小鼠肝脏炎症活动度计分增加, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。

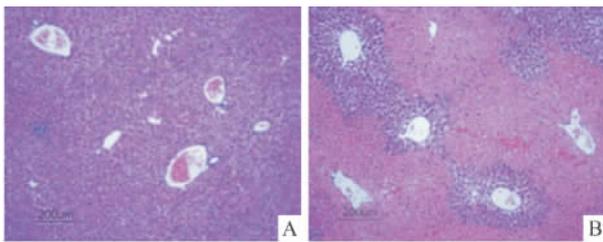


图1 对乙酰氨基酚对小鼠肝脏组织病理学的影响 HE  $\times$  200  
A: 空白对照组; B: 模型组

2.3 原代分离小鼠肝细胞的细胞形态 细胞体外培养 2 d 后开始贴壁, 形态呈圆形或椭圆形, 细胞轮廓清晰; 体外培养 4 d 后, 细胞呈多边形, 可见单核、双核细胞, 核仁清晰可见。见图 2。

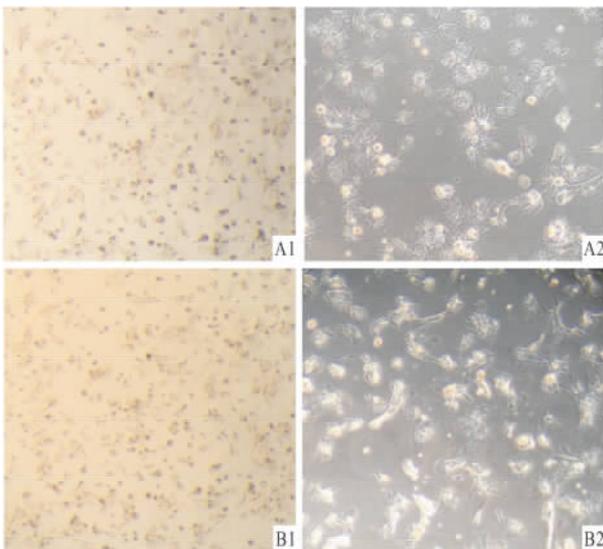


图2 肝细胞形态

A: 培养 2 d 后; B: 培养 4 d 后; 1:  $\times$  200; 2:  $\times$  400

2.4 腺苷 A1R、A2AR、A3R、A2BR 在对乙酰氨基酚致药物性肝损伤模型中的表达情况 与空白对照

组比较, 模型组腺苷 A1R、A2AR 的表达明显升高 (P < 0.01), A3R、A2BR 表达未见明显变化。见图 3、4。

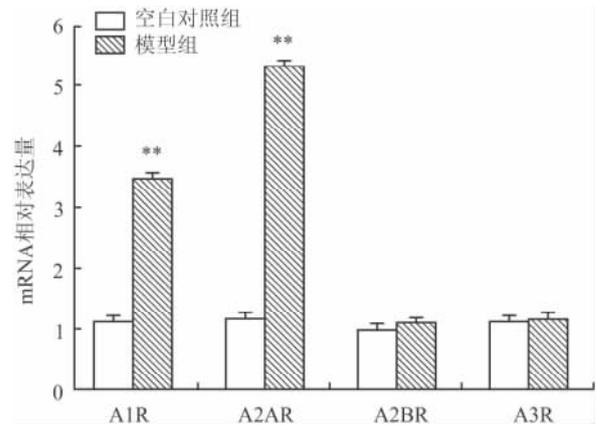


图3 各组细胞内腺苷 A1R、A2AR、A2BR、A3R 受体的表达  
与空白对照组比较: \*\* P < 0.01

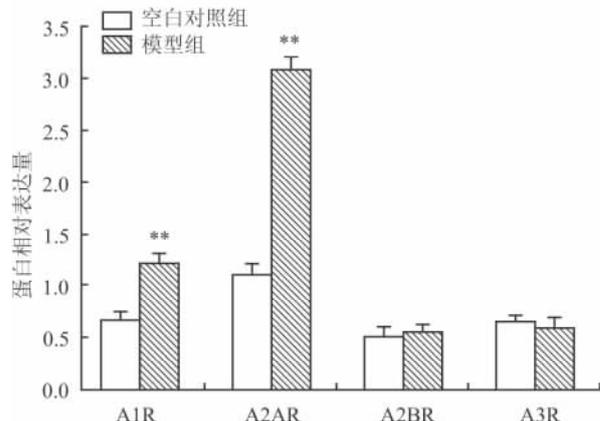
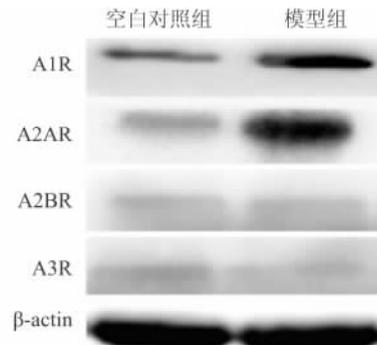


图4 各组细胞内腺苷 A1R、A2AR、A2BR、A3R 受体的表达  
与空白对照组比较: \*\* P < 0.01

**2.5 cAMP-PKA 信号通路在对乙酰氨基酚致药物性肝损伤中的作用** 与空白对照组比较,模型组 cAMP 含量及其信号通路中关键信号分子 PKA、p-CREB 蛋白的表达明显升高 ( $P < 0.05$ ),见图 5、6、7。

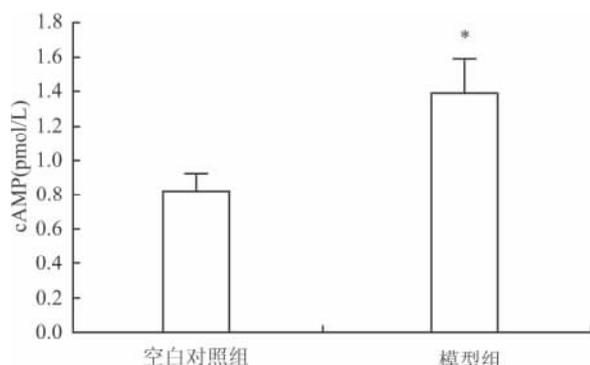


图5 cAMP-PKA 信号通路对肝细胞中 cAMP 的影响  
与空白对照组比较: \*  $P < 0.05$

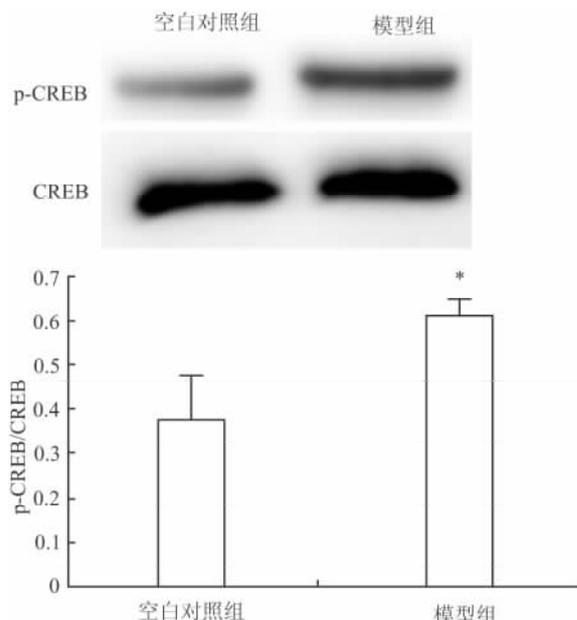


图7 cAMP-PKA 信号通路对肝细胞中 p-CREB 的影响  
与空白对照组比较: \*  $P < 0.05$

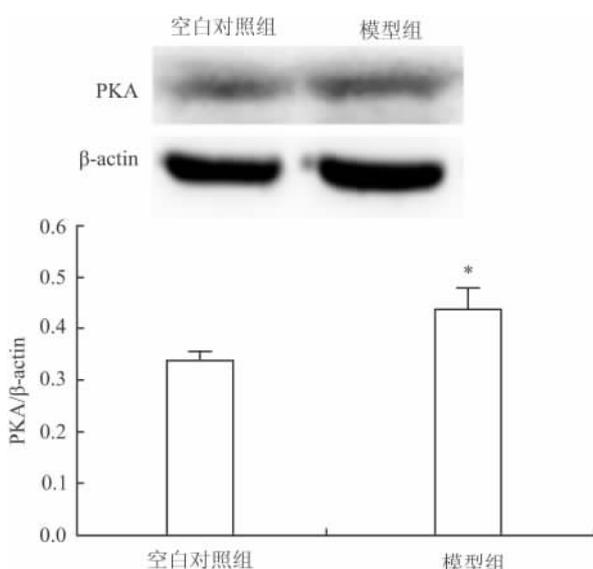


图6 cAMP-PKA 信号通路对肝细胞中 PKA 的影响  
与空白对照组比较: \*  $P < 0.05$

### 3 讨论

肝细胞是肝脏的实质细胞,占肝脏体积及数量的 80%,是肝脏正常功能活动的物质基础。肝细胞内代谢活跃,除合成人体必需的营养物质,同时还代谢外源性和内源性物质,如药物、毒物、胆红素、激素等,并制造和分泌胆汁参与消化过程。肝细胞中存在 ARs,腺苷是内源性嘌呤核苷,通过与 ARs 结合,促进 cAMP 合成,激活 PKA,对多种细胞中的酶或蛋白质进行磷酸化修饰,从而导致底物蛋白的功能发

生改变<sup>[2]</sup>。ARs 分为 4 个亚型: A1R、A2AR、A2BR、A3R,其中 A1R 和 A2AR 是高表达受体。在正常生理状态下,胞内外的腺苷浓度很低,而在各种应激情况下,腺苷浓度大幅度提升。本研究结果显示当肝细胞受到过量对乙酰氨基酚刺激时,腺苷 A1R 和 A2AR 的基因和蛋白表达水平明显增加,证实腺苷 A1R 和 A2AR 在对乙酰氨基酚致药物性肝损伤发病机制中发挥作用。

cAMP-PKA 通路是细胞内信号转导的主要途径,调节细胞内的生物活性反应和平衡。有文献<sup>[11]</sup>报道,在肝脏炎症疾病的发病机制中,激活肝细胞内腺苷酸环化酶诱导的 cAMP-PKA 通路可以抑制肝脏内 NO 合成酶的过度合成。G 蛋白耦联受体的活化促进 cAMP 升高,激活 PKA,PKA 催化亚基转位入细胞核,使 CREB 磷酸化,从而导致底物蛋白的功能发生改变<sup>[12]</sup>。Gi/o 和 Gs 蛋白属于 G 蛋白耦联受体家族,均参与细胞增殖活化并发挥重要作用<sup>[13]</sup>。本研究进一步探讨对乙酰氨基酚致药物性肝损伤模型中 cAMP-PKA 通路中关键信号分子 PKA、磷酸化 CREB 蛋白的表达。结果显示,与空白对照组相比,模型组 PKA、磷酸化 CREB 蛋白的表达均增加。

在对乙酰氨基酚致药物性肝损伤模型中,腺苷 A1R 和 A2AR 表达水平均较空白对照组明显增强,表明腺苷 A1R 和 A2AR 共同参与肝脏损伤过程。有研究<sup>[14]</sup>表明,Gs 蛋白的激活可增加 cAMP 的产

生,而Gi/o蛋白的激活则抑制了cAMP的产生;腺苷A1R和A2AR分别通过Gi/o和Gs蛋白对cAMP的含量产生影响。本研究显示空白对照组腺苷A2AR的含量高于A1R,模型组肝细胞中cAMP的含量高于空白对照组,由此推测腺苷A2AR介导的cAMP信号通路在对乙酰氨基酚致药物性肝损伤模型中占主导地位。上述有关对乙酰氨基酚诱导的腺苷信号强度加强进而促进药物性肝损伤的实验结果,证实了一种潜在的对乙酰氨基酚导致肝损伤的发生机制。

### 参考文献

- [1] Michaut A, Moreau C, Robin M A, et al. Acetaminophen-induced liver injury in obesity and nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Liver Int* 2014, 34(7): 171-9.
- [2] Chen J. Adenosine receptor control of cognition in normal and disease [J]. *Int Rev Neurobiol* 2014, 119: 257-307.
- [3] Peng Z, Borea P A, Wilder T, et al. Adenosine signaling contributes to ethanol-induced fatty liver in mice [J]. *J Clin Invest* 2009, 119(3): 582-94.
- [4] Mori K, Hiraoka O, Ikeda M, et al. Adenosine kinase is a key determinant for the anti-HCV activity of ribavirin [J]. *Hepatology*, 2013, 58(4): 1236-44.
- [5] Chan E S, Montesinos M C, Fernandez P, et al. Adenosine A2A receptors play a role in the pathogenesis of hepatic cirrhosis [J]. *Br J Pharmacol* 2006, 148(8): 1144-55.
- [6] Alchera E, Tacchini L, Marisio C, et al. Adenosine-dependent activation of hypoxia-inducible factor-1 induces late preconditioning in liver cells [J]. *Hepatology* 2008, 48(1): 230-9.
- [7] McGill M R, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis [J]. *Pharm Res* 2013, 30(9): 2174-87.
- [8] McGill M R, Sharpe M R, Jaeschke H, et al. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation [J]. *J Clin Invest* 2012, 122(4): 1574-83.
- [9] Uzi D, Barda L, Scaiewicz V, et al. CHOP is a critical regulator of acetaminophen-induced hepatotoxicity [J]. *J Hepatol*, 2013, 59(3): 495-503.
- [10] Knodell R G, Ishak K G, Black W C, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis [J]. *Hepatology*, 1981, 1(5): 431-5.
- [11] Zhang B, Nweze I, Lakshmanan J, et al. Activation of acyclic adenylyltransferase in hepatocytes decreases nitric oxide synthase expression [J]. *Shock* 2013, 39(1): 70-6.
- [12] Favaro E, Granata R, Miceli I, et al. The ghrelin gene products and extendin-4 promote survival of human pancreatic islet endothelial cells in hyperglycaemic conditions, through phosphoinositide-3-kinase/Akt, extracellular signal-related kinase (ERK) 1/2 and cAMP/protein kinase A (PKA) signalling pathways [J]. *Diabetologia* 2012, 55(4): 1058-70.
- [13] Sun X, He Y, Ma T T, et al. Participation of miR-200a in TGF- $\beta$ 1-mediated hepatic stellate cell activation [J]. *Mol Cell Biochem* 2014, 388(1-2): 11-23.
- [14] Craig J C, Schumacher M A, Mansoor S E, et al. Consensus and variant cAMP-regulated enhancers have distinct CREB-binding properties [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(15): 11719-28.

## Effect of adenosine receptors and cAMP-PKA signaling pathway mediated by adenosine receptors in the model of paracetamol-induced hepatotoxicity

Zhao Han, Ding Liping, Lv Xiongwen, et al

(College of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To explore the effect of adenosine receptors and cyclic adenosine monophosphate-protein kinase A (cAMP-PKA) signaling pathway mediated by adenosine receptors in the model of paracetamol-induced hepatotoxicity. **Methods** Thirty male Kunming mice were randomly divided into normal control group and model group. Model group was treated with paracetamol 500 mg/kg and control group was treated with the same of concentration normal saline by intragastric administration, respectively. The mice were killed after 24 hours. Serum AST, ALT, ALP, TBA were measured. The histological analysis was performed by HE staining. Hepatocytes were extracted and purified from mice in the liver, followed by the method of in situ perfusion. The expression levels of adenosine A1 receptor (A1R), adenosine A2A receptor (A2AR), adenosine A2B receptor (A2BR) and adenosine A3 receptor (A3R) were detected using qRT-PCR and Western blot. The expression levels of cAMP, PKA and phosphorylation-cAMP response element bonding protein (p-CREB) were detected using ELISA and Western blot, respectively. **Results** The expression levels of AST, ALT, ALP, TBA in model group were much higher than the normal control group ( $P < 0.01$ ). The mRNA and protein levels of A1R and A2AR expressed in the mod-

# 培哌普利对异丙肾上腺素致大鼠心肌肥厚中 H<sub>2</sub>S/CSE 合成途径的影响

鲁艳<sup>1</sup>, 王爱玲<sup>1</sup>, 陈森<sup>2</sup>, 郭增<sup>3</sup>, 李丽<sup>1</sup>, 王春苗<sup>1</sup>, 郭晓琳<sup>1</sup>

**摘要** 目的 研究在异丙肾上腺素(ISO)致大鼠心肌肥厚模型中,培哌普利对大鼠心肌组织硫化氢/胱硫醚-γ-裂解酶(H<sub>2</sub>S/CSE)合成途径的影响。方法 40只大鼠随机均分为模型组、培哌普利+模型组、培哌普利对照组和空白对照组,采用皮下注射ISO制备心肌肥厚模型。检测大鼠心脏质量指数(HMI)和左心室质量指数(LVMI),心肌组织中H<sub>2</sub>S含量及其生成酶活性,心肌组织中CSE蛋白表达情况。结果 与空白对照组比较,模型组大鼠HMI、LVMI升高( $P < 0.01$ ),心肌肥厚明显,H<sub>2</sub>S含量及其生成酶活性减少( $P < 0.01$ ),CSE表达下降( $P < 0.05$ ),培哌普利对照组大鼠心肌H<sub>2</sub>S含量及其生成酶活性升高( $P < 0.01$ ),CSE表达增加( $P < 0.05$ )。与模型组比较,培哌普利+模型组大鼠HMI、LVMI下降( $P < 0.01$ ),心肌中H<sub>2</sub>S含量及其生成酶活性升高( $P < 0.01$ ),CSE表达增加( $P < 0.05$ )。与培哌普利对照组比较,培哌普利+模型组大鼠HMI、LVMI升高( $P < 0.01$ ),心肌中H<sub>2</sub>S含量及其生成酶活性下降( $P < 0.01$ ),CSE表达下降( $P < 0.05$ )。结论 培哌普利能够提高大鼠心肌中H<sub>2</sub>S含量及其生成酶活性,可能与其能够提高CSE表达,影响H<sub>2</sub>S/CSE合成途径相关,其中在治疗ISO所致大鼠心肌肥厚模型中作用更加明显。

**关键词** 心肌肥厚; 硫化氢; 培哌普利; 异丙肾上腺素

中图分类号 R 542.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)05-0621-05

2015-01-13 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:11040606M155);安徽省教育厅高等教育振兴计划项目(编号:2013zdjy066);安徽省教育厅高等学校教学研究委托重大项目(编号:2012jyzd09w)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学第一附属医院心血管内科,合肥 230022

<sup>2</sup>蚌埠医学院第一附属医院老年病科,蚌埠 233004

<sup>3</sup>安徽医科大学附属省立第二医院重症监护室,合肥 230064

作者简介:鲁艳,男,硕士研究生;

王爱玲,女,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: wal@ah.edu.cn

心肌肥厚是引起心血管疾病发生率和死亡率显著升高的独立危险因素,与高血压性心脏病、心律失常、心源性猝死等关系密切。血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI)常用于治疗心肌肥厚相关疾病,与其具有明确的降血压、改善心室重构等作用有关<sup>[1]</sup>。ACEI可影响正常大鼠<sup>[2]</sup>及自发性高血压<sup>[3]</sup>或腹主动脉缩窄术<sup>[4]</sup>引起的大鼠心肌肥厚模型心肌组织中硫化氢(hydrogen sulfide, H<sub>2</sub>S)的含量。H<sub>2</sub>S作为内源性气体信号分子,具有舒张血管降低血压、抑制血管平滑肌细胞增殖,改善心肌重构等生物学效应<sup>[5]</sup>,在哺乳动物心肌组织中H<sub>2</sub>S主要通过胱硫醚-γ-裂解酶(cystathionine-γ-lyase, CSE)<sup>[6]</sup>产生。心肌组织中H<sub>2</sub>S含量的改变与许多心血管疾病的发生和治疗过程关系密切<sup>[5]</sup>。该研究采用异丙肾上腺素(isoprenaline, ISO)制备大鼠心肌肥厚模型<sup>[7]</sup>,通过ACEI之一的培哌普利作用于模型,比较心肌组织中H<sub>2</sub>S含量及其合成酶活性和主要生成酶CSE表达等指标,探讨培哌普利在大鼠心肌肥厚模型中对H<sub>2</sub>S/CSE合成途径的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 雄性SD大鼠40只,清洁级,180±20g,购自安徽省实验动物中心,实验前常规适应性饲养1周,观察无异常者入组,实验中对动物的处置符合动物伦理学要求。

**1.1.2 主要药物和试剂** ISO购自上海禾丰制药有限公司,批号:20130725;培哌普利购自天津施维雅制药有限公司,批号:2004789;NaHS、磷酸吡哆醛、硝酸纤维膜(NC膜)购自美国Sigma公司;N,N-二甲基-对苯二胺盐酸盐购自上海生工生物有限公

el group were obviously higher than the normal control group ( $P < 0.01$ ), and the cAMP level in the model group was more than in the normal control group ( $P < 0.01$ ). The protein levels of PKA and p-CREB expressed in the model group were higher than the normal control group. **Conclusion** Paracetamol-induced hepatotoxicity may be involved with the cAMP-PKA signaling pathway.

**Key words** paracetamol; hepatotoxicity; adenosine receptors