

## 论著

# 参附注射液辅助治疗对急性心肌梗死大鼠 NOD 样受体蛋白 3/半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 1 介导的细胞焦亡信号通路以及炎症因子水平的影响

兰友玲<sup>1</sup>, 李天发<sup>1</sup>, 占亚童<sup>2</sup>, 陈燕娥<sup>1</sup>, 关富清<sup>1</sup>, 杨洋<sup>1</sup>

(海南医学院第一附属医院, 1. 心血管内一科, 2. 呼吸内科, 海南 海口, 570102)

**摘要:** 目的 探讨参附注射液辅助治疗对急性心肌梗死(AMI)大鼠 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)/半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 1(Caspase-1)介导的细胞焦亡信号通路以及炎症因子水平的影响。方法 40 只大鼠随机分为假手术组、模型组、倍他乐克组(0.9 mg/kg)和联合组(倍他乐克 0.9 mg/kg 联合参附注射液 6 mL/kg), 每组 10 只, 连续灌胃 3 周。检测造模前、造模后和治疗 3 周时大鼠血清肌钙蛋白 I(cTnI)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、白细胞介素(IL)-6、IL-1 $\beta$  和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平。造模后和治疗 3 周时, 比较各组大鼠左心室射血分数(LVEF)、左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)等心脏彩超参数以及心肌梗死面积。应用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)及 Western blot 检测心肌梗死面积 NLRP3、Caspase-1 的 mRNA 及其蛋白表达水平。结果 与假手术组相比, 模型组造模后和治疗 3 周时 cTnI、CK-MB、IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、心肌梗死面积、NLRP3 mRNA 和 Caspase-1 mRNA 表达量均升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 倍他乐克组和联合组治疗 3 周时 cTnI、CK-MB、IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、心肌梗死面积、NLRP3 mRNA 和 Caspase-1 mRNA 表达量均降低, 且联合组上述指标均低于倍他乐克组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 参附注射液辅助治疗 AMI 能够进一步减轻心肌细胞损伤, 缩小梗死面积, 抑制炎症反应和细胞焦亡活性。

**关键词:** 急性心肌梗死; 参附注射液; NOD 样受体蛋白 3; 半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 1; 细胞焦亡; 炎症因子

中图分类号: R 542.2; R 329.2; R 285 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2024)15-003-06 DOI: 10.7619/jcmp.20240909

## Effect of adjuvant therapy of Shenfu Injection on NOD-like receptor protein 3/cysteine-aspartic acid-specific protease 1 mediated pyroptosis signaling pathway and inflammatory factor levels in rats with acute myocardial infarction

LAN Youling<sup>1</sup>, LI Tianfa<sup>1</sup>, ZHAN Yatong<sup>2</sup>, CHEN Yan'e<sup>1</sup>,  
GUAN Fuqing<sup>1</sup>, YANG Yang<sup>1</sup>

(1. the First Department of Cardiology, 2. Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou, Hainan, 570102)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of adjuvant therapy of Shenfu Injection on NOD-like receptor protein 3 (NLRP3)/cysteine-aspartic acid-specific protease 1 (Caspase-1) mediated pyroptosis signaling pathway and inflammatory factor levels in rats with acute myocardial infarction (AMI). **Methods** A total of 40 rats were randomly divided into sham operation group, model group, betaloc group (0.9 mg/kg), and combination group (0.9 mg/kg betaloc combined with 6 mL/kg Shenfu Injection), with 10 rats in each group. The rats were treated by gavage continuously for 3 weeks. The levels of serum troponin I (cTnI), creatine kinase-MB (CK-MB), interleukin (IL)-6, IL-1 $\beta$ , and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in rats were detected before modeling, after modeling, and at 3 weeks of treatment. Echocardiographic parameters such as left ventricular ejection

fraction (LVEF), left ventricular end-systolic diameter(LVESD), left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), and myocardial infarction area were compared among groups after modeling and at 3 weeks of treatment. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression levels of *NLRP3* and *Caspase-1* in the myocardium. **Results** Compared with the sham operation group, the levels of cTnI, CK-MB, IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , myocardial infarction area, and the expressions of *NLRP3* mRNA and *Caspase-1* mRNA in the model group were significantly increased after modeling and at 3 weeks of treatment ( $P < 0.05$ ); compared with the model group, the levels of cTnI, CK-MB, IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , myocardial infarction area, and the expressions of *NLRP3* mRNA and *Caspase-1* mRNA in the betaloc group and the combination group were significantly decreased at 3 weeks of treatment, and the above indicators in the combination group were significantly lower than those in the betaloc group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Adjuvant therapy of Shenfu Injection for AMI can further alleviate myocardial cell injury, shorten infarction size, and inhibit inflammatory response and pyroptosis activity.

**Key words:** acute myocardial infarction; Shenfu Injection; NOD-like receptor protein 3; cysteine-aspartic acid-specific protease 1; pyroptosis; inflammatory factors

参附注射液的主要成分有人参和附子提取物,作用机制主要包括增强心肌收缩力、扩张冠状动脉、改善微循环以及抗血栓形成等<sup>[1]</sup>。药理研究<sup>[2]</sup>发现,人参皂苷具有抗氧化、抗炎和抗血小板聚集等作用,附子中的生物碱具有镇痛、抗炎、扩张冠状动脉等功效<sup>[3]</sup>。因此,参附注射液可以通过多方面协同作用,在一定程度上改善急性心肌梗死(AMI)患者的心功能,减轻临床症状,提高生活质量<sup>[4]</sup>。细胞焦亡是指细胞在一系列内部及外部环境刺激下发生的一种被动性死亡过程。与凋亡相比,细胞焦亡通常是由外部环境急剧变化或者恶劣条件所致,如突发的缺血、缺氧等<sup>[5]</sup>。细胞焦亡与AMI存在紧密关联,在AMI中扮演着重要角色<sup>[6]</sup>。本研究探讨参附注射液辅助治疗对AMI大鼠NOD样受体蛋白3(NLRP3)/半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶1(Caspase-1)介导的细胞焦亡信号通路以及炎症水平的影响机制,现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物来源

随机选择7周龄SPF级健康雄性Wistar大鼠40只(平均体质量为160g),购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2020-0005。适宜环境正常饲养1周后进行实验。

### 1.2 实验分组及处理

40只大鼠随机分为假手术组、模型组、倍他

乐克组和联合组,每组10只,除了假手术组,其他3组采用结扎左冠状动脉前降支的方法复制AMI模型。主要流程为:腹腔注射1%戊巴比妥钠(2 mL/kg)进行麻醉处理,将大鼠置于实验台上并连接生物信息采集系统,顺利进行气管插管后连接小动物呼吸机,调整潮气量(10 mL/kg)和呼吸频率(呼吸比1:1,呼吸频率90次/min)。经胸骨左侧第3~4肋间手术入路,撑开肋骨暴露心脏,于左心耳下缘与心尖连线中点上方2~3 mm处用6-0缝合线结扎左冠状动脉前降支,观察可见心尖左前壁心肌发白,心电图肢体导联ST段弓背抬高持续0.5 h以上可判断为AMI造模成功<sup>[6]</sup>。假手术组只穿线不结扎。术后大鼠放置于40℃恒温电热毯上保温,苏醒后放回干净笼舍继续正常饲养。

造模后,倍他乐克组给予倍他乐克(阿利斯康制药有限公司,批号H32025391,每片25 mg),生理盐水配成质量浓度为0.9 mg/kg混悬液。联合组应用倍他乐克0.9 mg/kg联合参附注射液(雅安华润三九药业有限公司,国药准字Z20043116,规格为每支100 mL)6 mL/kg,假手术组和模型组给予等量生理盐水灌胃,连续处理3周。

### 1.3 检测方法

1.3.1 酶联免疫吸附测定(ELISA):检测造模前、造模后和治疗3周后大鼠血清肌钙蛋白I(cTnI)和肌酸激酶同工酶(CK-MB),以及白细胞

介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),采集鼠尾静脉血 10 mL,处理后根据 ELISA 试剂盒(购自江苏碧云天科技有限公司)说明书步骤进行检测。

1.3.2 心脏彩超:手术操作再灌注 3 d 后,各组大鼠予以心脏彩色超声检测,探头采用小动物 S12 超声探头,频率设定 6~12 MHz,探头切迹朝向大鼠头部,观察大鼠心脏运动稳定后,测定左心室射血分数(LVEF)、左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)等心脏参数。上述参数均由本院高年资的有经验的 B 超技师负责收集,每项指标均检测 3 次,最后取平均值为准。

1.3.3 四唑红(TTC)染色:TTC 染色测量造模后(每组 3 只)和治疗 3 周后(每组 7 只)大鼠心肌梗死面积,沿正中中线打开胸腔,取出心脏用生理盐水冲洗干净,-20℃冷冻 15 min,沿心脏垂直长轴横切成厚约 1 mm 的切片,置于 2% TTC 染液中 37℃恒温孵育 24 h。应用 Imagepro plus 软件进行计算,心肌梗死范围=左心室梗死区面积/(左心室总面积-左心腔面积) $\times$ 100%。

1.3.4 实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR):qRT-PCR 法检测心肌 *NLRP3* mRNA 和 *Caspase-1* mRNA 表达。TRIzol 试剂提取总 RNA,微量分光光度计检测分子浓度,根据反转录试剂盒说明书合成 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR 反应,引物由上海生工公司设计合成。引物序列:*NLRP3*,上游 5'-CTCATGCCCTCCAGCCAG-3',下游 5'-GGTCCAAGCCAGCTCTG-3';*Caspase-1*,上游 5'-ATCGCGCTACAGT-3',下游 5'-CGTGACAGTGCGAT-3';内参 *GAPDH*,上游 5'-CTGCGGAAGTGCTCATCACT-3',下游 5'-TG GCAGAGCGAACAATAAGGC-3'。反应条件:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,60℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 40 个循环。反应体系:SYBR Green Master

Premix 10  $\mu$ L、上下游引物各 1  $\mu$ L、cDNA 1  $\mu$ L、双蒸水 7  $\mu$ L。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算目的基因相对于内参 *GAPDH* 的表达量。

1.3.5 Western blot:各组大鼠心室肌组织剪碎匀浆后,加细胞裂解液充分裂解,再离心分离收集组织液的总蛋白。以 *GAPDH* 蛋白为内参,分别取待检标本总蛋白和 *GAPDH* 蛋白各 30  $\mu$ g。制备分离胶,10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。将上述混合液经过蛋白电泳分离后,转印到 PVDF 膜上,在 37℃环境温度下用 5%胎牛血清封闭 2 h。加入抗大鼠 *NLRP3* (1:5 000)、*Caspase-1* (1:5 000)或 *GAPDH* (1:5 000)一抗稀释液,混匀后在 4℃下静置过夜。弃去一抗,采用磷酸盐缓冲液(PBS)液洗涤 3 次,加 1:500 兔抗大鼠 IgG 二抗,在室温下孵育 2 h。再用 PBS 液洗涤 3 次。加入 ECL 试剂显影定影,以蛋白条带分析软件计算目标蛋白条带的相对浓度,计算 *NLRP3*、*Caspase-1* 蛋白各自与 *GAPDH* 蛋白条带的灰度比值。

#### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差表示,多组间比较采用单因素 ANOVA 分析,两两比较采用 LSD-*t* 法检验,多个时间点数据比较采用整体重复测量的方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠不同时点 cTnI 和 CK-MB 水平比较

所有大鼠均存活至实验结束。与假手术组相比,模型组造模后和治疗 3 周后大鼠血清 cTnI 和 CK-MB 水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组相比,联合组和倍他乐克组治疗 3 周后 cTnI 和 CK-MB 水平降低,且联合组 cTnI 和 CK-MB 水平低于倍他乐克组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠不同时点 cTnI 和 CK-MB 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	cTnI/(ng/mL)			CK-MB/(U/L)		
	造模前	造模后	治疗 3 周后	造模前	造模后	治疗 3 周后
假手术组	0.05 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01	3.03 $\pm$ 0.15	5.04 $\pm$ 0.26	5.23 $\pm$ 0.16
模型组	0.06 $\pm$ 0.01	3.56 $\pm$ 0.24**	3.42 $\pm$ 0.25**	2.83 $\pm$ 0.05	56.53 $\pm$ 8.87**	50.16 $\pm$ 8.78**
倍他乐克组	0.04 $\pm$ 0.01	3.59 $\pm$ 0.26**	2.41 $\pm$ 0.22**#	2.68 $\pm$ 0.08	60.25 $\pm$ 10.16**	31.19 $\pm$ 6.46***#
联合组	0.06 $\pm$ 0.01	3.62 $\pm$ 0.35**	0.59 $\pm$ 0.03*** $\Delta$	3.13 $\pm$ 0.15	58.87 $\pm$ 10.46**	10.16 $\pm$ 3.16*** $\Delta$

cTnI:肌钙蛋白 I;CK-MB:肌酸激酶同工酶。

与假手术组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ;与倍他乐克组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

### 2.2 各组大鼠不同时点炎症指标比较

与假手术组相比,模型组造模后和治疗 3 周后大鼠血清 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组相比,倍他

乐克组和联合组治疗 3 周后 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平降低,且联合组上述指标水平低于倍他乐克组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2

表 2 各组大鼠不同时点 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

mg/L

组别	IL-6			IL-1 $\beta$			TNF- $\alpha$		
	造模前	造模后	治疗 3 周后	造模前	造模后	治疗 3 周后	造模前	造模后	治疗 3 周后
假手术组	0.52 $\pm$ 0.05	1.23 $\pm$ 0.16	0.88 $\pm$ 0.14	0.29 $\pm$ 0.06	0.92 $\pm$ 0.12	0.63 $\pm$ 0.07	0.78 $\pm$ 0.12	1.78 $\pm$ 0.36	1.32 $\pm$ 0.24
模型组	0.62 $\pm$ 0.11	12.25 $\pm$ 2.25**	9.80 $\pm$ 2.09**	0.30 $\pm$ 0.08	8.90 $\pm$ 0.54**	8.13 $\pm$ 0.45**	0.78 $\pm$ 0.15	20.24 $\pm$ 3.15**	16.76 $\pm$ 2.77**
倍他乐克组	0.68 $\pm$ 0.06	13.47 $\pm$ 2.36**	6.50 $\pm$ 1.16**#	0.40 $\pm$ 0.05	9.20 $\pm$ 0.66**	5.45 $\pm$ 0.25**#	1.03 $\pm$ 0.14	23.45 $\pm$ 3.52**	10.16 $\pm$ 1.57**#
联合组	0.59 $\pm$ 0.05	14.52 $\pm$ 2.55**	2.30 $\pm$ 0.15**# $\Delta$	0.40 $\pm$ 0.06	9.00 $\pm$ 0.68**	1.25 $\pm$ 0.06**# $\Delta$	0.88 $\pm$ 0.16	25.45 $\pm$ 4.16**	4.17 $\pm$ 0.26**# $\Delta$

IL-6: 白细胞介素-6; IL-1 $\beta$ : 白细胞介素-1 $\beta$ ; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ 。与假手术组比较, \*\* $P < 0.01$ ;

与模型组比较, # $P < 0.05$ ; 与倍他乐克组比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

### 2.3 各组大鼠不同时点心室超声结构指标比较

与假手术组相比,模型组造模后和治疗 3 周后大鼠 LVEF 降低, LVEDD 升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组相比,倍他乐克组和

联合组治疗 3 周后 LVEF 升高, LVEDD 降低,且联合组 LVEF 高于倍他乐克组, LVEDD 低于倍他乐克组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 各组大鼠不同时点心室超声结构指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	LVEF/%			LVEDD/mm		
	造模前	造模后	治疗 3 周后	造模前	造模后	治疗 3 周后
假手术组	76.41 $\pm$ 3.01	77.12 $\pm$ 3.13	76.86 $\pm$ 3.25	5.24 $\pm$ 0.31	5.29 $\pm$ 0.25	5.21 $\pm$ 0.26
模型组	77.30 $\pm$ 2.87	51.02 $\pm$ 2.56**	52.36 $\pm$ 2.43**	5.30 $\pm$ 0.26	6.05 $\pm$ 0.19**	6.02 $\pm$ 0.26**
倍他乐克组	78.03 $\pm$ 2.92	55.18 $\pm$ 2.72**	58.53 $\pm$ 2.51**#	5.27 $\pm$ 0.28	5.82 $\pm$ 0.28**	5.71 $\pm$ 0.28**#
联合组	75.82 $\pm$ 2.83	60.41 $\pm$ 2.23**	67.53 $\pm$ 2.64**# $\Delta$	5.26 $\pm$ 0.30	5.73 $\pm$ 0.22**	5.46 $\pm$ 0.35**# $\Delta$

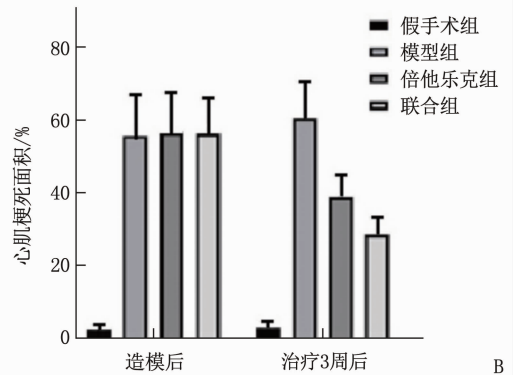
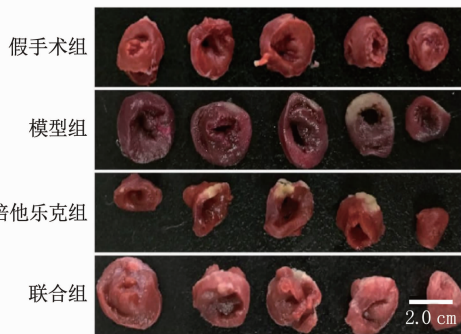
LVEF: 左心室射血分数; LVEDD: 左心室舒张末期径。与假手术组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ ;

与倍他乐克组比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

### 2.4 各组大鼠不同时点心肌梗死面积比较

与假手术组相比,模型组造模后和治疗 3 周后心肌梗死面积增大,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组相比,倍他乐克组和联合组治疗

3 周后心肌梗死面积减小,且联合组心肌梗死面积小于倍他乐克组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 1。



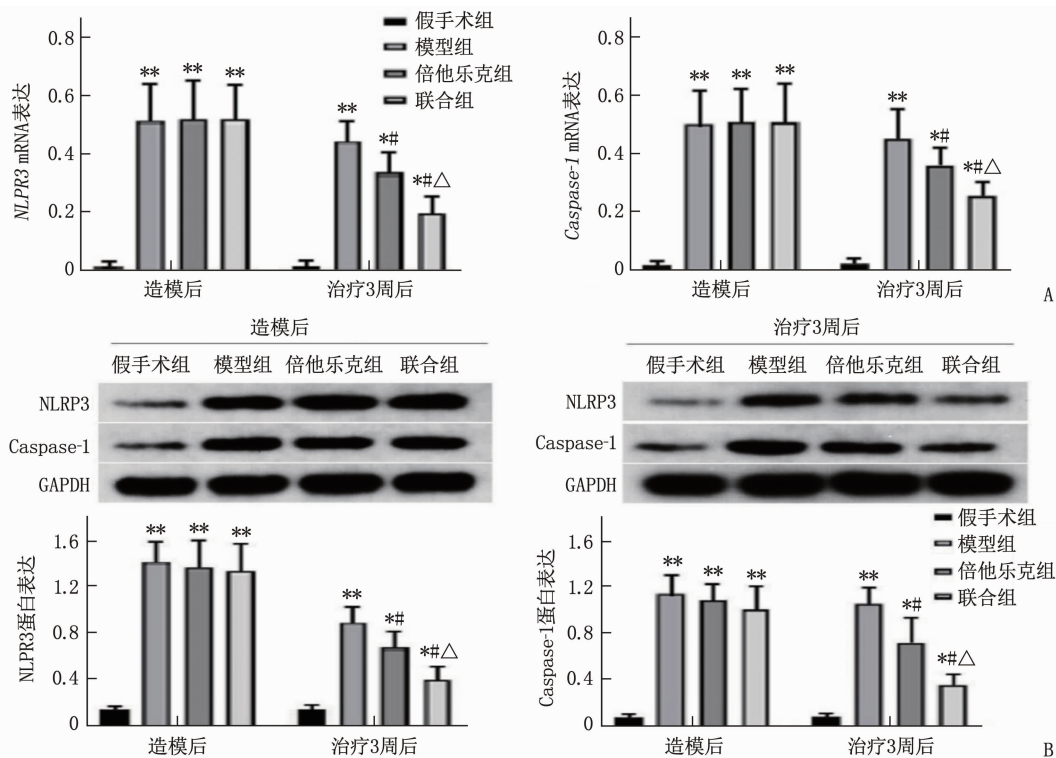
A: TTC 染色结果; B: 梗死面积统计分析

图 1 TTC 染色各组大鼠心肌梗死面积

### 2.5 NLRP3、Caspase-1 的 mRNA 及蛋白表达

与假手术组相比,模型组造模后和治疗 3 周后大鼠心肌 NLRP3 和 Caspase-1 的 mRNA 及其蛋白表达量升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与

模型组相比,倍他乐克组和联合组治疗 3 周后 NLRP3 和 Caspase-1 的 mRNA 及其蛋白表达量降低,且联合组低于倍他乐克组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 2。



A: NLRP3 mRNA 和 Caspase-1 mRNA 表达水平; B: NLRP3 和 Caspase-1 蛋白表达。

与假手术组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组相比, # $P < 0.05$ ; 与倍他乐克组比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠心肌 NLRP3 和 Caspase-1 mRNA 及蛋白表达

### 3 讨论

参附注射液作为一种中药制剂,具有活血化瘀、抗炎镇痛、扩张冠状动脉、减轻心肌损伤等作用。临床研究<sup>[7-8]</sup>表明,参附注射液能够有效改善心肌梗死患者心肌的缺血缺氧状态,减轻心绞痛症状,促进心肌坏死组织修复,从而对心肌梗死具有一定的治疗作用。在临床上,参附注射液作为辅助治疗手段应用于心肌梗死、心力衰竭等患者<sup>[9]</sup>。刘海燕等<sup>[10]</sup>研究表明,参附注射液能够保护心力衰竭大鼠的心脏功能,减轻氧化应激反应,抑制炎症因子表达,可能与激活 P13K/Akt/mTOR 信号通路有关。WANG X 等<sup>[11]</sup>在中国大陆 10 个中心开展了一项多中心、随机、双盲、平行组、安慰剂对照试验 RESTORE (NCT04493840),共入选 326 例首次前壁 ST 段抬高型心肌梗死 (STEMI) 患者,在症状出现后 12 h 内接受初次经皮冠状动脉介入治疗 (PPCI),然后以 1:1 方式随机分成再灌注前接受静脉注射参附注射液组 (参附注射液 80 mL 联合 5% 葡萄糖注射液 70 mL) 和安慰剂组 (5% 葡萄糖注射液 150 mL),每天 1 次,直到 PPCI 后 5 d。主要终点是 PPCI 后 (5 ± 2) d 心脏磁共振成像评估梗死面积,次要终点包括微血管

阻塞、心肌内出血、左室容积和射血分数,以及 30 d 内的主要心血管不良事件,结果证实参附注射液对接受 PPCI 的 STEMI 患者心肌损伤有较好的临床疗效。参附注射液常见的不良反应包括低血压、恶心、呕吐、注射部位疼痛等,需要密切监测患者的生命体征和不良反应,及时调整用药剂量,做好护理工作,减少不良反应的发生。

细胞焦亡在心肌梗死中同样扮演重要的角色。在心肌梗死的发展过程中,细胞焦亡导致心肌细胞大量死亡,进一步加重心肌损伤程度,加速心肌坏死区域扩展,导致心功能急剧下降,还可能诱发严重的心律失常及心力衰竭<sup>[12-13]</sup>。因此,阻止或减少细胞焦亡在心肌梗死中的进程,对于挽救患者的心功能和改善预后具有重要的临床意义。细胞焦亡是一种细胞程序性死亡形式,涉及细胞内部的炎症和信号通路,这个过程机制包括细胞内蛋白质聚集、线粒体功能损伤以及细胞膜的通透性改变,导致促炎因子的释放和促进炎症反应的启动,其对机体的免疫调节和应对外界伤害具有重要的意义<sup>[14-15]</sup>。NLRP3 是一种重要的免疫调节功能蛋白,在细胞内信号传导和炎症反应中发挥重要的作用。NLRP3 通路的活化可以引发炎症小体的形成,促进促炎因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的成

熟和释放<sup>[16-17]</sup>。Caspase-1 是一种关键的促炎酶，主要参与机体炎症反应的调节以及细胞凋亡的执行。活化后的 Caspase-1 能够介导 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等促炎因子的成熟和释放，加剧炎症反应<sup>[18-19]</sup>。此外，Caspase-1 还能在一定条件下介导细胞凋亡过程，促进受损细胞的死亡<sup>[20-21]</sup>。因此，Caspase-1 在炎症和细胞凋亡中发挥着关键的作用。细胞焦亡与 NLRP3/Caspase-1 信号通路存在着密切的联系。一方面，细胞焦亡的发生可以活化 NLRP3 通路，引起炎症小体的形成和促炎因子的释放<sup>[22-23]</sup>；另一方面，NLRP3 通路的异常激活也可能加剧细胞焦亡的进程<sup>[24-25]</sup>。这种相互促进的关系使得细胞焦亡和 NLRP3/Caspase-1 信号通路在多种疾病的发生发展过程中产生协同作用，影响炎症反应和细胞存活<sup>[26-27]</sup>。

本研究结果显示，模型组造模后和治疗 3 周后大鼠血清 cTnI、CK-MB、IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平、心肌梗死面积、心肌 NLRP3 和 Caspase-1 的 mRNA 及其蛋白表达量较假手术组显著升高 ( $P < 0.05$ )，提示炎症反应和心肌 NLRP3/Caspase-1 介导的细胞焦亡参与了 AMI 的发生及演变过程；倍他乐克组和联合组治疗 3 周后 cTnI、CK-MB、IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$ 、心肌梗死面积、NLRP3 和 Caspase-1 的 mRNA 及其蛋白表达量较模型组显著降低，且联合组显著低于倍他乐克组 ( $P < 0.05$ )，提示参附注射液辅助西药治疗 AMI 能够进一步降低心肌损伤和心肌梗死面积，抑制炎症反应和细胞焦亡活性，较单纯西药效果更明显。

综上所述，参附注射液辅助治疗 AMI 能够进一步降低心肌细胞损伤和梗死面积，抑制炎症反应和细胞焦亡活性。

#### 参考文献

- [1] 邓志杰, 董子洵, 刘家伟, 等. 参附注射液综合评价研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(24): 3682-3692.
- [2] 宋玉莹, 崔琳, 何玉凤, 等. 参附益心颗粒对心肌梗死后心力衰竭大鼠线粒体动力学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(11): 87-94.
- [3] 徐坡, 谢靖, 邵好, 等. 参附注射液治疗脓毒症相关心肌功能障碍临床观察[J]. 山西中医, 2023, 39(12): 11-14.
- [4] CHEN R J, RUI Q L, WANG Q, *et al.* Shenfu injection attenuates lipopolysaccharide-induced myocardial inflammation and apoptosis in rats[J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(3): 226-233.
- [5] ZHANG J, HUANG L L, SHI X, *et al.* Metformin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury and cell pyroptosis via AMPK/NLRP3 inflammasome pathway[J]. *Aging*, 2020, 12(23): 24270-24287.
- [6] ZHANG B F, LIU G, HUANG B, *et al.* KDM3A attenuates myocardial ischemic and reperfusion injury by ameliorating cardiac microvascular endothelial cell pyroptosis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 4622520.
- [7] 王贝贝, 郭丽叶, 刘姜倩, 等. 针刺联合参附注射液对心脏骤停患者心肺复苏后脑损伤及血流动力学的影响[J]. 中国现代医生, 2023, 61(34): 76-80.
- [8] 刘豫, 高春雁, 王伟, 等. 参附注射液对广西巴马小型猪离体空跳心脏心肌保护的研究[J]. 河北医药, 2023, 45(23): 3554-3558.
- [9] 叶润杰, 黄培红. 基于网络药理学探讨加味参附颗粒治疗慢性心力衰竭的潜在靶点及作用机制[J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40(11): 2867-2876.
- [10] 刘海燕, 于晶晶, 师志云, 等. 基于 PI3K-AKT-mTOR 信号通路探讨参附注射液对心力衰竭大鼠的作用及其机制[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(22): 4218-4222.
- [11] WANG X, GUO R F, GUO Y Y, *et al.* Rationale and design of the RESTORE trial: a multicenter, randomized, double-blinded, parallel-group, placebo-controlled trial to evaluate the effect of Shenfu injection on myocardial injury in STEMI patients after primary PCI[J]. *Am Heart J*, 2023, 260: 9-17.
- [12] CHEN X, LI Y Q, LI J J, *et al.* Qishen granule (QSG) exerts cardioprotective effects by inhibiting NLRP3 inflammasome and pyroptosis in myocardial infarction rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 285: 114841.
- [13] WANG X, HU Y, WANG Y G, *et al.* CLEC5A knockdown protects against cardiac dysfunction after myocardial infarction by suppressing macrophage polarization, NLRP3 inflammasome activation, and pyroptosis[J]. *Biochim Biol Cell*, 2021, 99(5): 655-665.
- [14] LI Y X, WANG Y, GUO H, *et al.* IRF2 contributes to myocardial infarction via regulation of GSDMD induced pyroptosis[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 25(2): 40.
- [15] MAO Q, LIANG X L, ZHANG C L, *et al.* LncRNA KLF3-AS1 in human mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorates pyroptosis of cardiomyocytes and myocardial infarction through miR-138-5p/Sirt1 axis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 393.
- [16] 范星宇, 廖晓倩, 王梓仪, 等. NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡在慢性心力衰竭中的机制及中医药研究进展[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(8): 2106-2116.
- [17] 原平利, 刘刚, 马兰香, 等. 毛兰素通过抑制 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡减轻心肌缺血再灌注损伤[J]. 山西医科大学学报, 2023, 54(9): 1200-1207.
- [18] SUN W J, LU H Q, LYU L C, *et al.* Gastrodin ameliorates microvascular reperfusion injury-induced pyroptosis by regulating the NLRP3/caspase-1 pathway[J]. *J Physiol Biochem*, 2019, 75(4): 531-547.
- [19] YAO F, JIN Z, ZHENG Z H, *et al.* HDAC11 promotes both NLRP3/caspase-1/GSDMD and caspase-3/GSDME pathways causing pyroptosis via ERG in vascular endothelial cells[J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8: 112.

研究通过分析死亡患者和存活患者的病毒载量及凝血功能相关指标总结出 SFTS 预后不良的危险因素,构建预测模型,并证实该模型具有较好的预测价值。然而,由于本研究纳入病例数较少,且为单中心的回顾性分析,可能存在数据偏倚,今后需纳入更多病例进一步进行多中心的前瞻性研究以验证该预测模型的临床价值。

综上所述, SFTS 患者预后受 SFTSV 载量、PLT、TT 等因素影响,基于影响因素构建的方程在预测患者预后方面有一定临床价值。

#### 参考文献

- [1] 杨鑫,武永祥,冷昱,等. 两起发热伴血小板减少综合征聚集性疫情流行病学及病原学分析[J]. 遗传, 2023, 45(11): 1062-1073.
  - [2] 王晗,赵立凡,孙刚,等. 2012—2021 年常州市发热伴血小板减少综合征流行特征及聚集性疫情分析[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2023, 30(1): 1-5.
  - [3] 霍雪平,刘贞君,谢琴秀. 重症发热伴血小板减少综合征预警指标分析[J]. 新发传染病电子杂志, 2023, 8(5): 41-45.
  - [4] OTSUKA Y, SHIRAKABE A, ASAYAMA T, *et al.* Successful treatment of thrombocytopenia, anasarca, fever, reticulinn myelofibrosis/renal insufficiency, and organomegaly syndrome using plasma exchange followed by rituximab in the intensive care unit[J]. J Med Cases, 2021, 12(12): 474-480.
  - [5] SUZUKI T, SATO Y, SANO K, *et al.* Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus targets B cells in lethal human infections[J]. J Clin Invest, 2020, 130(2): 799-812.
  - [6] RYU S, CHOI J K, ACHANGWA C, *et al.* Temporal dynamics of serum perforin and granzymes in three different clinical stages of virus-induced severe fever with thrombocytopenia syndrome[J]. Am J Trop Med Hyg, 2023, 109(3): 554-558.
  - [7] 中华人民共和国卫生部. 发热伴血小板减少综合征防治指南(2010 版)[J]. 中华临床感染病杂志, 2011, 4(4): 193-194.
  - [8] 黄晓霞,杜珊珊,李阿茜,等. 2018—2021 年中国发热伴血小板减少综合征流行特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2024, 45(1): 112-116.
  - [9] WILLIAMS H M, THORKESSON S R, VOGEL D, *et al.* Structural insights into viral genome replication by the severe fever with thrombocytopenia syndrome virus L protein[J]. Nucleic Acids Res, 2023, 51(3): 1424-1442.
  - [10] KIM C M, KIM D M, YUN N R. Clinical usefulness of nested reverse-transcription polymerase chain reaction for the diagnosis of severe fever with thrombocytopenia syndrome[J]. Am J Trop Med Hyg, 2021, 105(4): 999-1003.
  - [11] YUN M R, RYOU J, CHOI W, *et al.* Genetic diversity and evolutionary history of Korean isolates of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus from 2013-2016[J]. Arch Virol, 2020, 165(11): 2599-2603.
  - [12] 周诗君,夏国美,贺腾飞,等. 新型布尼亚病毒感染患者临床特征及其预后因素分析[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(6): 942-947.
  - [13] 周麟玲,贾荣娟,董崇林,等. 高新型布尼亚病毒载量发热伴血小板减少综合征患者 141 例的临床特征及预后影响因素分析[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(9): 578-583.
  - [14] 朱立雨,张春,张炜,等. 重症新型布尼亚病毒感染的临床特征及死亡危险因素探讨[J]. 中国临床医生杂志, 2022, 50(10): 1172-1175.
  - [15] 马于琪,梁明明,尹华发. 新型布尼亚病毒感染的临床特征及预后影响因素分析[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(23): 3231-3236.
- (本文编辑:周冬梅 钱锋;校对:陆文娟)

(上接第 8 面)

- [20] JIANG X J, MA C Y, GAO Y B, *et al.* Tongxinluo attenuates atherosclerosis by inhibiting ROS/NLRP3/caspase-1-mediated endothelial cell pyroptosis[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 304: 116011.
  - [21] TANG Y S, ZHAO Y H, ZHONG Y, *et al.* Neferine inhibits LPS-ATP-induced endothelial cell pyroptosis via regulation of ROS/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway[J]. Inflamm Res, 2019, 68(9): 727-738.
  - [22] 赵雯,张勇,张波,等. 红花黄色素调节 NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路对心肌梗死大鼠心肌细胞焦亡和炎性损伤的影响[J]. 河北医学, 2023, 29(1): 25-31.
  - [23] 马迪,张秀静,王威,等. 柴胡加龙骨牡蛎汤含药血清调控 NLRP3/Caspase-1 通路介导心肌细胞焦亡的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 9(2): 183-187, 204.
  - [24] 张杼惠,曹蛟,刘蓉芳,等. 基于 ROS/TXNIP/NLRP3 通路的柴胡三参胶囊对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞焦亡的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(5): 114-120.
  - [25] JIA Y F, CUI R X, WANG C, *et al.* Metformin protects against intestinal ischemia-reperfusion injury and cell pyroptosis via TXNIP-NLRP3-GSDMD pathway[J]. Redox Biol, 2020, 32: 101534.
  - [26] YAN H L, LUO B, WU X Y, *et al.* Cisplatin induces pyroptosis via activation of MEG3/NLRP3/caspase-1/GSDMD pathway in triple-negative breast cancer[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(10): 2606-2621.
  - [27] JIANG S Q, ZHANG H, LI X, *et al.* Vitamin D/VDR attenuate cisplatin-induced AKI by down-regulating NLRP3/Caspase-1/GSDMD pyroptosis pathway[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2021, 206: 105789.
- (本文编辑:梁琥 钱锋;校对:周娟)