

# 乌司他丁改善顺铂致心肌损伤的作用及机制<sup>△</sup>

任家孚\*, 陈鹏飞, 阿荣, 李婧<sup>#</sup>(内蒙古医科大学附属医院心血管内科, 呼和浩特 010050)

中图分类号 R965;R541.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)08-0920-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.08.05



**摘要** 目的 探讨乌司他丁(UTI)对顺铂(CP)诱导心肌损伤的改善作用及潜在机制。方法 将家兔随机分为空白组(blank组, 生理盐水2 mL/d, 连续7 d)、CP组(150 mg/m<sup>2</sup>, 第1、4天)、乌司他丁低/高剂量组(UTI<sub>L</sub>组/UTI<sub>H</sub>组, UTL 2.5万单位/kg或5.0万单位/kg, 每天1次, 连续7 d+CP 150 mg/m<sup>2</sup>, 第1、4天)、c-Jun氨基端激酶(JNK)抑制剂组(JNKi组, SP600125 15 mg/kg, 第1、4天+CP 150 mg/m<sup>2</sup>, 第1、4天+生理盐水2 mL/d, 其余5 d)。除blank组外, 其余各组家兔经一侧耳缘静脉注射相应药液和(或)生理盐水。检测实验第1天和第8天各组家兔血清中肌钙蛋白I(cTn I)水平以及实验第8天其心肌组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)水平, 观察其心肌组织病理学改变和心肌细胞凋亡情况, 检测其心肌组织中B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、JNK、磷酸化JNK(p-JNK)、线粒体裂解因子(Mff)、动力相关蛋白1(Drp1)的表达情况。结果 与blank组比较, CP组家兔第8天的心肌组织损伤明显, 细胞凋亡指数、血清中cTn I水平和心肌组织中MDA水平以及Bax、JNK、p-JNK、Mff、Drp1蛋白的表达均显著升高或上调, SOD水平和Bcl-2蛋白的表达均显著降低或下调( $P<0.05$ )。与CP组比较, 各药物组家兔心肌组织损伤均有所好转, 细胞凋亡指数、血清中cTn I水平和心肌组织中MDA以及Bax、JNK、p-JNK、Mff(UTI<sub>L</sub>组除外)、Drp1蛋白的表达均显著降低或下调, SOD、GSH水平和Bcl-2蛋白的表达均显著升高或上调( $P<0.05$ ), 且UTI<sub>H</sub>组、JNKi组部分指标的改善显著优于UTI<sub>L</sub>组( $P<0.05$ )。结论 UTI可改善CP诱导的心肌损伤, 其潜在机制可能与拮抗氧化应激和抑制JNK/Mff信号通路有关。

**关键词** 乌司他丁; 顺铂; 心肌损伤; JNK/Mff信号通路

## Improvement effects and mechanism of ulinastatin on cisplatin-induced myocardial injury

REN Jiafu, CHEN Pengfei, A Rong, LI Jing (Dept. of Cardiovascular Medicine, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the improvement effects and potential mechanism of ulinastatin (UTI) on cisplatin (CP)-induced myocardial injury. **METHODS** Rabbits were used as study subjects and randomly divided into blank group (normal saline 2 mL/d, for consecutive 7 d), CP group (150 mg/m<sup>2</sup>, on the 1st and 4th day), UTI low-dose/high-dose group (UTI<sub>L</sub>/UTI<sub>H</sub> group, UTL 25 000 or 50 000 IU/kg, once a day, for consecutive 7 d), c-Jun N-terminal kinase (JNK) inhibitor group (JNKi group, SP600125 15 mg/kg, on the 1st and 4th day+CP 150 mg/m<sup>2</sup>, on the 1st and 4th day+normal saline 2 mL/d, on the other 5 days). Except for the blank group, rabbits in the other groups were injected with relevant medicine and/or normal saline via a marginal ear vein on one side. The serum level of cardiac troponin I (cTn I) in rabbits on the 1st and 8th days of the detection experiment, as well as the levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in myocardial tissue on the 8th day of the experiment, were all measured in each group. The pathological changes and myocardial cell apoptosis in myocardial tissue were observed, and the protein expressions of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), JNK, phosphorylated JNK (P-JNK), mitochondrial fission factor (Mff), and dynamin-related protein 1 (Drp1) in myocardial tissue were all determined. **RESULTS** Compared with the blank group, the CP group showed significant myocardial injury. The cell

<sup>△</sup> 基金项目 国家自然科学基金地区科学基金项目(No. 82260075); 内蒙古自治区自然科学基金项目(No.2024QN08043); 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(No.NJZY23143); 内蒙古医科大学附属医院科研项目(No.2023NYFYGG020); 内蒙古医科大学附属医院高层次人才项目“航行系列”

\* 第一作者 副主任医师, 硕士。研究方向: 心肌损伤与修复。E-mail: rjf4516@163.com

<sup>#</sup> 通信作者 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 博士。研究方向: 心脏重塑与心血管药物基因组学。E-mail: dpcddd@163.com

apoptotic rate, the levels of cTn I in serum and MDA in myocardial tissue, as well as protein expressions of Bax, JNK, p-JNK, Mff, and Drp1, were all significantly increased or up-regulated, SOD level and protein expression of Bcl-2 significantly reduced or down+regulated ( $P<0.05$ ). Compared with the CP group, the myocardial injury in rabbits from each drug treatment group showed improvement. The cell apoptosis index, the levels of cTn I in serum and MDA in myocardial

tissue, as well as protein expressions of Bax, JNK, p-JNK, Mff (except for UTI<sub>H</sub> group), and Drp1, were all significantly reduced or down-regulated, while SOD, GSH level and protein expression of Bcl-2 significantly increased or up-regulated ( $P < 0.05$ ); moreover, the improvement in some indicators was significantly better in the UTI<sub>H</sub> group and the JNKi group compared to the UTI<sub>L</sub> group ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSIONS** UTI may ameliorate CP-induced myocardial injury, the potential mechanism of which may be associated with antagonizing oxidative stress and inhibiting the JNK/Mff signaling pathway.

**KEYWORDS** ulinastatin; cisplatin; myocardial injury; JNK/Mff signaling pathway

顺铂(cisplatin, CP)是一种被广泛用于呼吸系统、消化系统、泌尿系统和生殖系统恶性肿瘤的化疗药物<sup>[1]</sup>。该药主要通过和肿瘤细胞DNA上的嘌呤碱基交联而诱导DNA损伤和断裂、抑制DNA修复和转录,从而发挥抗肿瘤作用<sup>[2]</sup>。虽然,CP用于恶性肿瘤的疗效确切,但其毒副作用(如心脏毒性、神经毒性、肾毒性、生殖毒性、骨髓抑制和胃肠道反应等)备受临床关注<sup>[1]</sup>。在这些毒副作用中,严重的心脏毒性可直接威胁患者生命;此外,即便接受CP治疗数年后,患者血液中仍有药物残留,存在诱发迟发性心脏毒性的可能,这无疑给接受CP治疗的恶性肿瘤患者带来了巨大的风险,并使该药的临床应用严重受限<sup>[3]</sup>。尽管已有学者在积极探索CP使用者的心脏保护策略,但这些策略仍无法有效预防或减少CP的心脏毒性<sup>[4]</sup>。

线粒体损伤和裂解可能是CP产生心脏毒性的主要机制之一<sup>[4]</sup>。研究指出,CP可通过激活c-Jun氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)信号通路来上调线粒体裂解因子(mitochondrial fission factor, Mff)的合成,促使动力相关蛋白1(dynammin-related protein 1, Drp1)迁移到线粒体内加剧线粒体损伤和裂解,进而抑制具有抗凋亡作用的B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)表达,并上调促凋亡蛋白Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)产生,造成细胞凋亡,最终发挥细胞毒性作用<sup>[5]</sup>。乌司他丁(ulinastatin, UTI)作为一种多效蛋白酶抑制剂,可通过抑制JNK蛋白的表达来上调超氧化物歧化酶(supero-xide dismutase, SOD)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)的合成,并抑制丙二醛(malondialdehyde, MDA)的产生,减轻缺血再灌注心肌组织内的氧化应激反应,从而发挥心肌保护作用<sup>[6]</sup>。基于此,本研究拟通过构建CP家兔心肌损伤模型来探讨UTI对CP所致心肌损伤的改善作用及潜在机制,以期对相关药物的临床合理应用提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

Infinite F50型酶标仪购自瑞士Tecan公司;RM2255型病理切片机购自上海徕卡仪器有限公司;XSP-20C型

研究级倒置生物显微镜购自上海光密仪器有限公司;DYY-6C型电泳仪购自北京六一仪器厂;FluorChem E型化学发光凝胶成像系统购自美国ProteinSimple公司。

### 1.2 主要药品与试剂

注射用UTI(批号031601104,规格5万单位)购自广东天普生化医药股份有限公司;CP注射液(批号61174,规格6 mL:30 mg)购自江苏豪森药业集团有限公司;JNK抑制剂SP600125的原料药(批号117629,纯度99.73%)购自美国MedChemExpress公司;乌拉坦原料药(批号20211323,纯度 $\geq 99.0\%$ )购自国药集团化学试剂有限公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(批号20230810)购自武汉博尔夫生物科技有限公司;TUNEL试剂盒(批号11684817910)购自瑞士Roche公司;心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTn I)、SOD、GSH酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为MM-82860O1、MM-36709O1、MM-82864O1)均购自江苏酶免实业有限公司;MDA ELISA试剂盒(批号ADS-W-YH002)购自江苏艾迪生生物科技有限公司;兔抗Bcl-2单克隆抗体、兔抗Mff多克隆抗体、兔抗Drp1多克隆抗体(货号分别为DF12006、AF6138、DF7037)均购自美国Affinity Bio-science公司;鼠抗JNK多克隆抗体、兔抗磷酸化JNK(phosphorylated JNK, p-JNK)多克隆抗体、兔抗Bax单克隆抗体(货号分别为80024-1-RR、66210-1-Ig、50599-2-Ig)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔抗 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)单克隆抗体(货号AC026)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔、山羊抗鼠免疫球蛋白G二抗(货号分别为111-035-003、115-035-003)均购自美国Jackson ImmunoResearch公司。

### 1.3 实验动物

本研究所用动物为健康清洁级家兔,性别不限,共25只,12周龄,体重( $1\ 208.60 \pm 66.95$ )g,购自内蒙古医科大学实验动物中心,实验动物生产许可证号为SCXK(蒙)2020-0001。所有动物均分笼饲养于温度20~26℃、相对湿度40%~70%的动物房内,自由摄食、饮水。本研究方案经内蒙古医科大学医学伦理委员会批准,编号为YKD202401101。

## 2 方法

### 2.1 造模、分组、给药与取样

所有家兔适应性喂养1周后开始正式实验。于实验第1天经耳缘静脉取血2 mL后按随机数字表法分为空白组(blank组)、模型组(CP组)、UTI低/高剂量组(UTL<sub>L</sub>组/UTL<sub>H</sub>组)、JNK抑制剂组(JNKi组),每组5只。blank组家兔经右侧耳缘静脉注射生理盐水2 mL,每天1次,连续7 d;同时于实验第1、4天经左侧耳缘静脉注射生理盐水2 mL。CP组家兔经右侧耳缘静脉注射生理盐水2 mL,每天1次,连续7 d;同时于实验第1、4天经左侧耳缘静脉注射CP 150 mg/m<sup>2</sup>(以生理盐水为溶剂,剂量参考前期预实验结果,并按Meeh-Rubner公式<sup>[7]</sup>根据家兔体表面积换算而得)。UTL<sub>L</sub>组、UTL<sub>H</sub>组家兔分别经右侧耳缘静脉注射UTI 2.5万单位/kg、5.0万单位/kg(以生理盐水为溶剂)<sup>[8]</sup>,每天1次,连续7 d;同时于实验第1、4天注射UTI并观察1 h后,再经左侧耳缘静脉注射CP 150 mg/m<sup>2</sup>。JNKi组家兔于实验第1、4天经右侧耳缘静脉注射SP600125 15 mg/kg(以二甲基亚砷溶解后再以生理盐水为溶剂,剂量参考其说明书)并观察1 h后,再经左侧耳缘静脉注射CP 150 mg/m<sup>2</sup>;同时,于其余5 d经右侧耳缘静脉注射生理盐水2 mL,每天1次。实验第8天,各组家兔经任一耳缘静脉注射25%乌拉坦溶液(以生理盐水为溶剂)4 mL/kg麻醉,经颈静脉取血2 mL后开胸,快速结扎心脏底部所有血管,摘取心脏,备用。

### 2.2 家兔血清中cTn I水平检测

采用ELISA法检测。取“2.1”项下实验第1天和实验第8天的各组家兔静脉血样品,以3 000 r/min离心15 min,分离上层血清,使用酶标仪于450 nm波长处检测其吸光度值并参照试剂盒说明书中的标准曲线法计算血清中cTn I水平。

### 2.3 家兔心肌组织中SOD、GSH、MDA水平检测

采用ELISA法检测。取“2.1”项各组家兔的心脏,用4℃的磷酸盐缓冲液(PBS)清洗2~3次后,在垂直并靠近于室间隔中心处将心脏切为两部分,一部分于-80℃下冻存,另一部分于4%多聚甲醛中固定,备用。取冻存的各组家兔心肌组织适量,用PBS充分匀浆后,以3 000 r/min离心20 min,取上清液,使用酶标仪于450 nm波长处检测其吸光度值并参照试剂盒说明书中的标准曲线法计算心肌组织中SOD、GSH、MDA水平。

### 2.4 家兔心肌组织病理学变化观察

采用HE染色法观察。取“2.3”项下经固定的各组家兔心肌组织适量,用PBS洗净后,以石蜡包埋后切片(厚约2~3 μm)。取上述切片,经脱蜡、水洗、HE染色、

脱水、透明、封片后,使用显微镜观察其病理学变化情况,并拍照。

### 2.5 家兔心肌细胞凋亡情况检测

采用TUNEL染色法观察。取“2.3”项下经固定的各组家兔心肌组织适量,用PBS洗净后,以石蜡包埋后切片(厚约4 μm)。取上述切片,参照试剂盒方法,加入TUNEL工作液孵育和4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染液染核,封片后,使用显微镜观察其心肌细胞凋亡情况(正常心肌细胞核呈蓝色荧光,凋亡心肌细胞核呈绿色荧光),并随机挑选5个视野记录视野内绿色荧光及蓝色荧光细胞数,以绿色荧光细胞数与蓝色荧光细胞数的百分比表示细胞凋亡指数。

### 2.6 家兔心肌组织中相关蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.3”项下冻存的各组家兔心肌组织适量,经生理盐水洗净、研磨、离心后,收集上清液。经BCA法测定蛋白浓度后进行变性处理。取变性蛋白适量,进行电泳分离、转膜、封闭;洗膜后,加入Bax、Bcl-2、p-JNK、JNK、Mff、Drp1、β-actin一抗(稀释比例分别为1:3 000、1:1 000、1:1 000、1:3 000、1:1 000、1:1 000、1:5 000),4℃孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释比例均为1:5 000),室温孵育30 min;洗膜后,以显色剂曝光并在化学发光凝胶成像系统下成像。使用Image J软件分析各蛋白条带的灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β-actin)的灰度值比值作为目的蛋白的表达水平。

### 2.7 统计学方法

使用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。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,进一步两两比较采用LSD-*t*检验(方差齐)或Tamhane's *T*<sub>2</sub>检验(方差不齐)。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 UTI对家兔血清中cTn I水平的影响

实验第1天,各组家兔血清中cTn I水平比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。实验第8天,与blank组比较,CP组家兔血清中cTn I水平均显著升高( $P<0.05$ );与CP组比较,UTL<sub>L</sub>组、UTL<sub>H</sub>组、JNKi组家兔血清中cTn I水平均显著降低( $P<0.05$ ),而UTL<sub>L</sub>组、UTL<sub>H</sub>组、JNKi组组间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结果见表1。

表1 各组家兔血清中cTn I水平比较( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	实验第1天	实验第8天
blank组	192.52 ± 3.64	206.61 ± 9.53
CP组	189.10 ± 19.45	411.70 ± 24.03 <sup>a</sup>
UTL <sub>L</sub> 组	182.56 ± 6.55	298.41 ± 25.24 <sup>a</sup>
UTL <sub>H</sub> 组	190.83 ± 11.89	277.53 ± 3.54 <sup>a</sup>
JNKi组	187.43 ± 11.41	280.08 ± 6.53 <sup>a</sup>

a: 与blank组比较,  $P<0.05$ ; b: 与CP组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.2 UTI对家兔心肌组织中SOD、GSH、MDA水平的影响

与blank组比较,CP组家兔心肌组织中SOD水平显著降低,MDA含量显著升高( $P<0.05$ )。与CP组比较,UTI<sub>L</sub>组、UTI<sub>H</sub>组、JNKi组家兔心肌组织中SOD、GSH水平均显著升高,MDA水平均显著降低( $P<0.05$ ),且JNKi组GSH以及UTI<sub>H</sub>组、JNKi组MDA的改善均较UTI<sub>L</sub>组明显( $P<0.05$ )。结果见表2。

表2 各组家兔心肌组织中SOD、GSH、MDA水平比较( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	SOD/(pg/mL)	GSH/(ng/mL)	MDA/(nmol/mL)
blank组	131.30 ± 4.87	6.52 ± 0.47	17.50 ± 0.88
CP组	97.34 ± 8.13 <sup>a</sup>	5.83 ± 0.32	24.72 ± 3.04 <sup>a</sup>
UTI <sub>L</sub> 组	140.53 ± 9.45 <sup>b</sup>	7.48 ± 0.47 <sup>b</sup>	16.67 ± 1.73 <sup>b</sup>
UTI <sub>H</sub> 组	149.25 ± 8.43 <sup>b</sup>	8.26 ± 1.02 <sup>b</sup>	10.83 ± 1.88 <sup>bc</sup>
JNKi组	150.10 ± 5.52 <sup>b</sup>	8.71 ± 0.55 <sup>bc</sup>	11.94 ± 1.51 <sup>bc</sup>

a: 与blank组比较,  $P<0.05$ ; b: 与CP组比较,  $P<0.05$ ; c: 与UTI<sub>L</sub>组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.3 UTI对家兔心肌组织病理学变化的影响

blank组家兔心肌细胞排列规则,细胞质染色均匀,细胞核染色轻。与blank组比较,CP组家兔心肌组织细胞肿胀明显,纤维断裂,空泡变性、核固缩及脂滴沉积均明显增多。与CP组比较,UTI<sub>H</sub>组、UTI<sub>L</sub>组家兔心肌组织受损有所减轻,心肌细胞排列基本整齐,空泡变性、核固缩及脂滴沉积均减少,且UTI<sub>H</sub>组上述病变的改善较UTI<sub>L</sub>组明显。JNKi组家兔心肌细胞排列规则,少见空泡变性、核固缩、脂滴沉积。结果见图1。

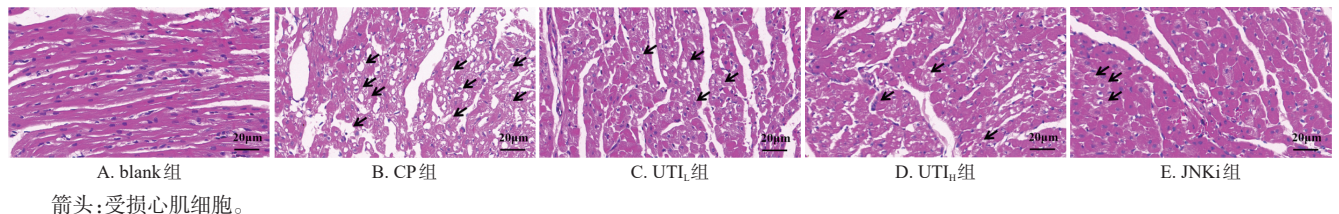


图1 各组家兔心肌组织病理学变化的显微图(HE染色)

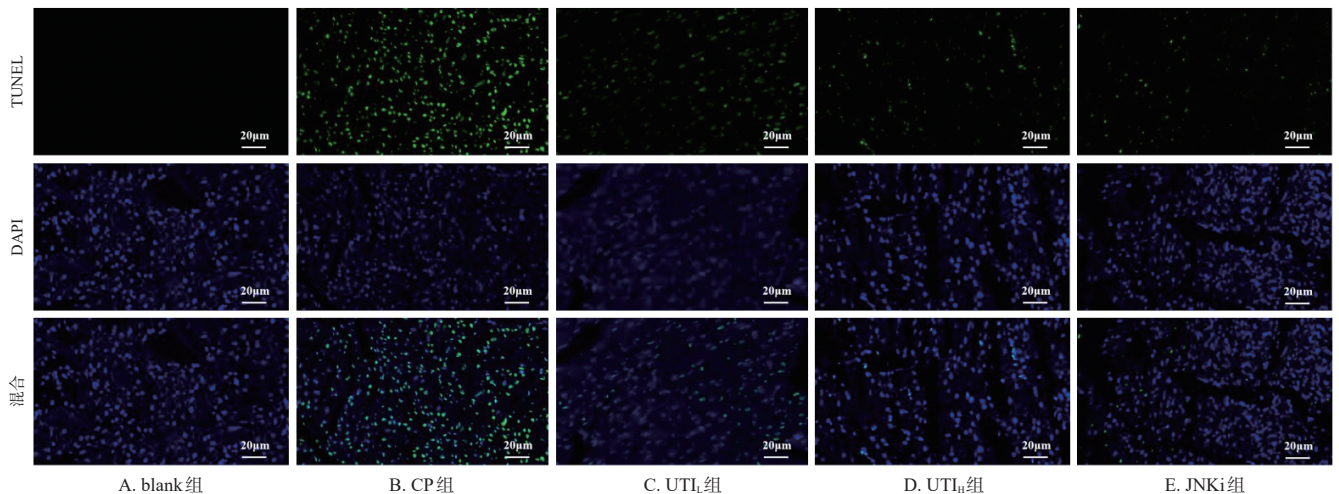


图2 各组家兔心肌细胞凋亡的显微图(TUNEL染色)

### 3.4 UTI对家兔心肌细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响

与blank组比较,CP组家兔心肌细胞凋亡指数和心肌组织中Bax蛋白的表达均显著升高或上调,Bcl-2蛋白的表达显著下调( $P<0.05$ )。与CP组比较,UTI<sub>L</sub>组、UTI<sub>H</sub>组、JNKi组家兔心肌细胞凋亡指数和心肌组织中Bax蛋白的表达均显著减少或下调,Bcl-2蛋白的表达均显著上调( $P<0.05$ )。UTI<sub>H</sub>组、JNKi组的细胞凋亡指数和Bcl-2蛋白表达,以及UTI<sub>H</sub>组Bax蛋白表达的改善均较UTI<sub>L</sub>组明显,UTI<sub>H</sub>组Bax、Bcl-2蛋白表达的改善亦较JNKi组明显( $P<0.05$ )。结果见图2、图3、表3。

### 3.5 UTI对家兔心肌组织中通路相关蛋白表达的影响

与blank组比较,CP组家兔心肌组织中JNK、p-JNK、Mff、Drp1蛋白的表达均显著上调( $P<0.05$ )。与CP组比较,UTI<sub>L</sub>组、UTI<sub>H</sub>组、JNKi组家兔心肌组织中JNK、p-JNK、Mff(UTI<sub>L</sub>组除外)、Drp1蛋白的表达均显著下调( $P<0.05$ ),且UTI<sub>H</sub>组JNK、Drp1蛋白的改善均较UTI<sub>L</sub>组明显( $P<0.05$ )。结果见图4、表4。

## 4 讨论

心肌损伤是CP引发的严重毒副作用之一,也是肿瘤患者进行持续性化疗的主要障碍<sup>[9]</sup>。cTn I水平升高是反映CP心脏毒性的可靠指标,即便其轻微上调也与危重患者较高的死亡率相关<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,家兔经CP干预后,其血清中cTn I水平较blank组显著升高,

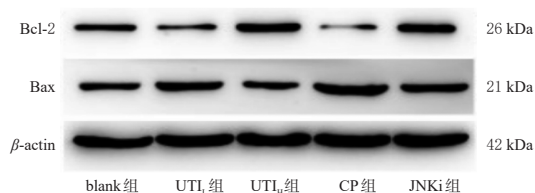


图3 各组家兔心肌组织中Bcl-2、Bax蛋白表达的电泳图

表3 各组家兔心肌细胞凋亡指数及心肌组织中Bax、Bcl-2蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	细胞凋亡指数/%	Bax/ $\beta$ -actin	Bcl-2/ $\beta$ -actin
blank组	0	0.455 $\pm$ 0.054	0.426 $\pm$ 0.045
CP组	73.24 $\pm$ 11.18 <sup>a</sup>	0.927 $\pm$ 0.163 <sup>a</sup>	0.071 $\pm$ 0.046 <sup>a</sup>
UTI组	59.27 $\pm$ 6.27 <sup>b</sup>	0.693 $\pm$ 0.162 <sup>b</sup>	0.205 $\pm$ 0.038 <sup>b</sup>
UTI <sub>i</sub> 组	31.23 $\pm$ 9.56 <sup>bc</sup>	0.303 $\pm$ 0.089 <sup>bcd</sup>	0.620 $\pm$ 0.072 <sup>bcd</sup>
JNKi组	28.13 $\pm$ 6.13 <sup>bc</sup>	0.587 $\pm$ 0.065 <sup>b</sup>	0.446 $\pm$ 0.012 <sup>bc</sup>

a: 与blank组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与CP组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与UTI<sub>i</sub>组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与JNKi组比较,  $P < 0.05$ 。

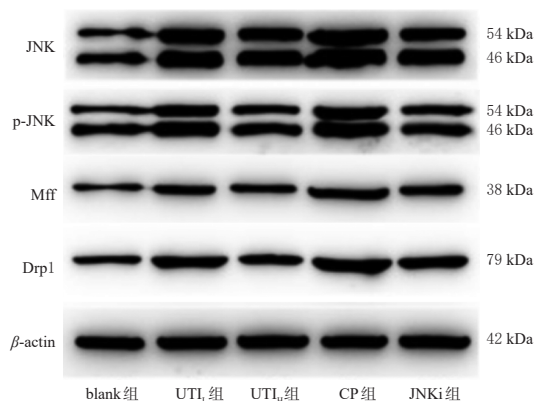


图4 各组家兔心肌组织中通路相关蛋白表达的电泳图

表4 各组家兔心肌组织中JNK/Mff信号通路相关蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	JNK/ $\beta$ -actin	p-JNK/ $\beta$ -actin	Mff/ $\beta$ -actin	Drp1/ $\beta$ -actin
blank组	0.572 $\pm$ 0.084	0.325 $\pm$ 0.294	0.276 $\pm$ 0.068	0.634 $\pm$ 0.202
CP组	1.632 $\pm$ 0.145 <sup>a</sup>	1.198 $\pm$ 0.197 <sup>a</sup>	1.100 $\pm$ 0.209 <sup>a</sup>	1.155 $\pm$ 0.040 <sup>a</sup>
UTI组	1.176 $\pm$ 0.075 <sup>b</sup>	0.824 $\pm$ 0.162 <sup>b</sup>	0.774 $\pm$ 0.277	0.912 $\pm$ 0.055 <sup>b</sup>
UTI <sub>i</sub> 组	0.845 $\pm$ 0.135 <sup>bc</sup>	0.550 $\pm$ 0.115 <sup>b</sup>	0.620 $\pm$ 0.141 <sup>b</sup>	0.680 $\pm$ 0.106 <sup>bc</sup>
JNKi组	1.017 $\pm$ 0.025 <sup>b</sup>	0.725 $\pm$ 0.339 <sup>b</sup>	0.714 $\pm$ 0.253 <sup>b</sup>	0.867 $\pm$ 0.070 <sup>b</sup>

a: 与blank组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与CP组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与UTI<sub>i</sub>组比较,  $P < 0.05$ 。

同时其心肌组织存在细胞明显肿胀、无序排列、空泡变性等病理学改变,进一步证实了CP能损伤正常心肌。

氧化应激是CP诱导心肌损伤的潜在机制之一。相关体外及体内研究结果均显示,当CP扩散进入细胞后,细胞内超氧阴离子、过氧化氢、羟自由基的生成将明显增加,从而导致MDA水平升高,GSH、SOD等抗氧化酶水平降低,最终造成细胞凋亡和组织损伤<sup>[2,8,11]</sup>。本研究结果显示,与blank组比较,CP组家兔心肌组织中SOD水平显著降低,MDA水平显著升高,其心肌细胞凋亡指数显著升高,表明CP可通过激活心肌组织内病理性氧

化应激反应来介导心肌细胞凋亡,最终造成心肌损伤。但本研究尚未发现CP对GSH的直接影响,尚有待进一步探讨。

UTI是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,具有多种生物活性,被广泛用于败血症和胰腺炎的治疗。研究指出,UTI可通过抑制细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)、MDA生成,提升GSH、SOD水平来减轻脑出血后神经细胞的氧化应激,减少神经细胞凋亡,改善脑水肿和血脑屏障通透性<sup>[12]</sup>。同时,UTI的这种抗氧化活性还可有效改善糖尿病脓毒症介导的小鼠急性肺损伤<sup>[13]</sup>。本研究结果显示,经UTI干预后,家兔心肌组织中MDA水平显著降低,GSH、SOD水平均显著升高;进一步的HE染色结果显示,UTI可改善CP诱导的家兔心肌组织损伤,可恢复细胞的规则排列,并可改善空泡变性、核固缩、脂滴沉积等病理学变化。这提示UTI的抗氧化作用可能也是其改善CP致心肌损伤的潜在机制。

JNK信号通路是丝裂原活化蛋白激酶信号通路的主要分支之一,与氧化应激密切相关<sup>[14]</sup>。有研究显示,体内或体外ROS活性增加或表达增多均可激活JNK信号通路,从而导致心肌纤维化<sup>[15-16]</sup>。但也有研究表明,是JNK信号激活导致了细胞内ROS的累积,从而引发心肌细胞凋亡和心肌纤维化<sup>[17]</sup>。本研究结果显示,当使用JNK抑制剂进行干预后,家兔心肌组织中氧化产物MDA水平较CP组显著降低,GSH、SOD等抗氧化酶水平均较CP组显著升高,这提示JNK信号通路可能与CP诱导的心肌细胞氧化损伤密切相关。

前期研究表明,JNK/Mff信号通路在氧化低密度脂蛋白或高血糖介导的病理刺激下被激活,继而通过诱导线粒体裂解、功能障碍和内质网应激反应来引发血管内皮功能紊乱和心肌细胞凋亡的双重病理学改变<sup>[18-19]</sup>,但具体机制尚未阐明。为此,本研究采用了特异性的JNK抑制剂SP600125进行干预,结果显示,相较于CP组,在CP基础上联用JNK抑制剂,可使家兔线粒体裂解相关蛋白Mff、Drp1和促凋亡蛋白Bax的表达下调,抗凋亡蛋白Bcl-2的表达上调,心肌细胞凋亡指数下降,心肌损伤程度减轻,提示JNK/Mff信号通路可能参与了CP致心肌损伤的病理过程。

本研究同时发现,UTI具有与JNK抑制剂相似的作用,即经UTI干预后,与CP组比较,UTI各剂量组家兔心肌组织中JNK、p-JNK、Mff(UTI<sub>i</sub>组除外)、Drp1蛋白的表达均显著下调,心肌损伤均有所减轻,心肌细胞凋亡指数均显著降低;同时,本研究结果还显示,低剂量UTI即可发挥与JNK抑制剂相似的保护作用,但予以高剂量

UTI后,JNK、Drp1蛋白的表达被抑制得更明显,心肌促凋亡蛋白和细胞凋亡指数的下降也更显著,但UTI的效应强度是否与剂量存在潜在关联尚需通过多剂量实验予以验证。

综上所述,UTI可改善CP诱导的心肌损伤,其潜在机制可能与拮抗氧化应激和抑制JNK/Mff信号通路有关。这为UTI的临床应用提供了基础实验数据。但是,氧化应激与JNK/Mff信号通路之间的关系以及UTI能否通过其他信号通路来发挥心肌保护作用尚未被完全阐明,有待后续研究进一步完善。

### 参考文献

[1] KATANIĆ STANKOVIĆ J S, SELAKOVIĆ D, ROSIĆ G. Oxidative damage as a fundament of systemic toxicities induced by cisplatin: the crucial limitation or potential therapeutic target [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14574.

[2] ROMANI A M P. Cisplatin in cancer treatment[J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 206: 115323.

[3] RADULESCU L M, RADULESCU D, CIULEANU T E, et al. Cardiotoxicity associated with chemotherapy used in gastrointestinal tumours[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2021, 57(8): 806.

[4] KIM C W, CHOI K C. Effects of anticancer drugs on the cardiac mitochondrial toxicity and their underlying mechanisms for novel cardiac protective strategies[J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119607.

[5] XIAO J J, LIU Q, LI Y, et al. Regulator of calcineurin 1 deletion attenuates mitochondrial dysfunction and apoptosis in acute kidney injury through JNK/Mff signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(9): 774.

[6] ZHU J G, JIN K, REN Y. Ulinastatin reduces myocardial injury induced by doxorubicin in SD rats[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(20): 10769-10778.

[7] ITOH T, KAWABE M, NAGASE T, et al. Measurements of body surface area and volume in male Japanese white rabbits using a computed tomography scanner: comparison with male New Zealand White rabbits[J]. *Exp Anim*, 2019, 68(4): 429-434.

[8] 狄敏, 李莉, 兰超, 等. 乌司他丁对兔急性百草枯中毒心肌的保护作用[J]. *中国危重病急救医学*, 2012, 24(6): 342-345.

[9] EL-SHOURA E A M, HASSANEIN E H M, TAHA H H, et al. Edaravone and obeticholic acid protect against cisplatin-induced heart toxicity by suppressing oxidative stress and inflammation and modulating Nrf2, TLR4/

p38-MAPK, and JAK1/STAT3/NF-κB signals[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2024, 397(8): 5649-5662.

[10] SAMAVATI I, RANJBAR A, HADDADI R. Cardioprotective effect of vitamin D<sub>3</sub> on cisplatin-induced cardiotoxicity in male mice: role of oxidative stress[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2024, 397(7): 4761-4769.

[11] KARASAWA T, STEYGER P S. An integrated view of cisplatin-induced nephrotoxicity and ototoxicity[J]. *Toxicol Lett*, 2015, 237(3): 219-227.

[12] WU X, JIAO W, CHEN J H, et al. Ulinastatin alleviates early brain injury after intracerebral hemorrhage by inhibiting oxidative stress and neuroinflammation via ROS/MAPK/Nrf2 signaling pathway[J]. *Acta Cir Bras*, 2022, 37(6): e370606.

[13] JIN Z, LI M Y, TANG L J, et al. Protective effect of ulinastatin on acute lung injury in diabetic sepsis rats[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 108: 108908.

[14] ZHANG Z Y, YANG Z H, WANG S, et al. Targeting MAPK-ERK/JNK pathway: a potential intervention mechanism of myocardial fibrosis in heart failure[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116413.

[15] TSAI C F, YANG S F, LO C H, et al. Role of the ROS-JNK signaling pathway in hypoxia-induced atrial fibrotic responses in HL-1 cardiomyocytes[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6): 3249.

[16] GERA J, KUMAR D, CHAUHAN G, et al. High sugar diet-induced fatty acid oxidation potentiates cytokine-dependent cardiac ECM remodeling[J]. *J Cell Biol*, 2024, 223(9): e202306087.

[17] CHANG H Y, HSU H C, FANG Y H, et al. Empagliflozin attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting the JNK signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 176: 116759.

[18] LI P, XIE C L, ZHONG J K, et al. Melatonin attenuates ox-LDL-induced endothelial dysfunction by reducing ER stress and inhibiting JNK/Mff signaling[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 5589612.

[19] CHEN Y Z, HUANG J G, ZHOU H, et al. Pgam5 aggravates hyperglycemia-induced myocardial dysfunction through disrupting Phb2-dependent mitochondrial dynamics[J]. *Int J Med Sci*, 2024, 21(7): 1194-1203.

(收稿日期: 2024-10-15 修回日期: 2025-03-06)

(编辑: 张元媛)