

• 论 著 •

胰岛素样生长因子-1 对心肌细胞缺氧损伤的保护作用及机制*

薛婷匀¹, 李广妹¹, 赵佳叶¹, 孙启天², 孙启玉^{1△}

1. 承德医学院附属医院检验科/河北省泛血管重点实验室, 河北承德 067000;

2. 承德医学院附属医院内分泌科, 河北承德 067000

摘要:目的 探讨胰岛素样生长因子-1(IGF-1)预处理对 H9c2 大鼠心肌细胞缺氧损伤的保护作用,并分析其机制。**方法** 将 H9c2 细胞随机分成 4 组,对照组、缺氧组(CoCl_2 组)、缺氧+IGF-1 预处理组(CoCl_2 + IGF-1 组)、缺氧+IGF-1 预处理+磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)通路特异性抑制剂 LY294002 组(CoCl_2 + IGF-1 + LY294002 组)。分别采用 CCK8 法检测 H9c2 细胞存活率, Tunel 法检测 H9c2 细胞的凋亡情况, DCFH-DA 探针法检测各组 H9c2 细胞的活性氧(ROS)水平, 试剂盒检测细胞超氧化物歧化酶(SOD)、培养基上清乳酸脱氢酶(LDH)活性, 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及培养基上清丙二醛(MDA)水平, 蛋白质印迹法检测 H9c2 细胞促凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤 2(Bcl-2)关联 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase-3)、抗凋亡蛋白 Bcl-2 及通路蛋白 Akt、磷酸化 Akt(p-Akt)表达情况。**结果** IGF-1 能增加细胞活力($P < 0.05$),降低细胞凋亡率($P < 0.05$),降低 ROS 水平($P < 0.05$),减少 MDA 产生($P < 0.05$),降低 LDH 活性($P < 0.05$),增加 SOD 与 GSH-Px 活性($P < 0.05$),促进 p-Akt 表达($P < 0.05$),减少促凋亡蛋白 Bax、Caspase-3 表达($P < 0.05$),增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达($P < 0.05$)。加入 PI3K 通路特异性阻滞剂 LY294002 后, IGF-1 对缺氧 H9c2 细胞保护作用消失。**结论** IGF-1 保护心肌细胞免受缺氧造成的损伤,机制是通过激活 PI3K/Akt 通路抑制心肌细胞氧化应激与凋亡,提高心肌细胞存活率。

关键词: 胰岛素样生长因子-1; 缺氧; 氧化应激; 凋亡; 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 通路**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.19.004**中图法分类号:** R446.1**文章编号:** 1673-4130(2024)19-2323-06**文献标志码:** A

Protective effect and mechanism of insulin-like growth factor-1 on hypoxic injury of cardiomyocytes*

XUE Tingyun¹, LI Guangmei¹, ZHAO Jiaye¹, SUN Qitian², SUN Qiyu^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chengde Medical University/

Hebei Key Laboratory of Cardiovascular Diseases, Chengde, Hebei 067000, China;

2. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Chengde Medical

University, Chengde, Hebei 067000, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) preconditioning on hypoxic injury in H9c2 rat cardiomyocytes and its mechanism. **Methods** H9c2 cells were randomly divided into four groups, control group, hypoxia group (CoCl_2 group), hypoxia + IGF-1 pretreatment group (CoCl_2 + IGF-1 group), hypoxia + IGF-1 pretreatment + phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/ protein kinase B (Akt) pathway specific inhibitor LY294002 group (CoCl_2 + IGF-1 + LY294002 group). CCK8 assay was used to detect the survival rate of H9c2 cells, and Tunel assay was used to detect the apoptosis of H9c2 cells, DCFH-DA probe method was used to detect the reactive oxygen species (ROS) level of H9c2 cells in each group. The activities of superoxide dismutase (SOD) and lactate dehydrogenase (LDH) in culture supernatant were detected by kit. The levels of glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) in culture supernatant were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Western blot was used to detect the expression of pro-apoptotic protein B cell lymphoma 2 associated X protein (Bax), Caspase-3, anti-apoptotic protein Bcl-2, pathway proteins Akt and phosphorylated Akt (p-Akt) in H9c2 cells. **Results** IGF-1 could increase cell viability ($P < 0.05$), reduced cell apoptosis rate ($P < 0.05$), reduced ROS level ($P < 0.05$), re-

* 基金项目: 河北省自然科学基金项目(H2022406047)。

作者简介: 薛婷匀, 女, 技师, 主要从事心血管病机制相关研究。 △ 通信作者, E-mail: sunmeng57@sina.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240923.1140.004.html>(2024-09-24)

duced MDA production ($P < 0.05$), reduced LDH activity ($P < 0.05$), and increased SOD and GSH-Px activities ($P < 0.05$). It also promoted the expression of p-Akt ($P < 0.05$), reduced the expression of pro-apoptotic proteins Bax and Caspase-3 ($P < 0.05$), and increased the expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 ($P < 0.05$). After the addition of PI3K pathway specific inhibitor LY294002, the protective effect of IGF-1 on hypoxic H9c2 cells disappeared. **Conclusion** IGF-1 protects cardiomyocytes from hypoxia injury by inhibiting oxidative stress and apoptosis of cardiomyocytes through activating PI3K/Akt pathway and improving the survival rate of cardiomyocytes.

Key words: insulin-like growth factor-1; hypoxia; oxidative stress; apoptosis; phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B pathway

缺血性心脏病,尤其是心肌梗死,是世界范围内高发病率和病死率的疾病,危害着全人类的健康^[1]。心肌梗死发生时,从冠状动脉流向心脏的血液供应不足,诱发心肌细胞氧化应激,导致心肌细胞凋亡^[2]。心肌梗死发生后,损伤的心肌组织会发生一系列病理反应,如炎症、氧化应激、神经激素系统激活等,促进心室重构,进而出现心室功能障碍和进行性心力衰竭^[3]。

胰岛素样生长因子-1(IGF-1)主要由肝脏合成,含 70 个氨基酸,相对分子质量为 7.649×10^3 ,属于胰岛素相关单链肽家族,它是一种合成代谢生长因子,可调节细胞分裂、增殖和存活^[4]。除了众所周知的促进生长和代谢作用外,IGF-1 在心血管疾病的复杂活动中也发挥着特殊作用。有研究证实,血清 IGF-1 水平与心肌梗死患者预后密切相关;更有研究表明,在心肌梗死大鼠心肌组织中 IGF-1 参与了心肌梗死后局部心肌组织的修复,但其对心肌梗死的作用机制仍待进一步探索^[5-6]。本研究通过体外细胞实验,给予一定浓度的 IGF-1 对 H9c2 细胞进行预处理,利用氯化钴(CoCl_2)诱导 H9c2 细胞建立缺血缺氧模型,验证 IGF-1 具有改善心肌细胞氧化应激与凋亡的作用,为 IGF-1 用于心血管疾病临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞 本研究所使用的细胞为 H9c2 大鼠心肌细胞,购自中科院上海生命科学院细胞资源中心。

1.2 仪器与试剂 细胞培养箱购自美国 Thermo 公司,高速低温离心机购自德国 Eppendorf 公司,光学显微镜购自日本 Olympus 公司,正倒置一体荧光显微镜购自美国 ECHO 公司,细胞计数仪购自美国 Invitrogen 公司,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测仪购自美国 Thermo 公司,垂直电泳仪购自中国六一仪器厂,显影仪购自美国 Azure Biosystems 公司。

CoCl_2 购自中国伊诺凯公司(货号 A46890),DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司(货号 C11995500BT-1),特级胎牛血清、0.25%胰蛋白酶购自德国 VivaCell 公司(货号 C04001、C3530),磷酸盐缓冲液(PBS)购自中国普诺赛公司(货号 PB180327),

重组 IGF-1 购自以色列 ProSpec 公司(货号 cyt-216),CCK8 检测试剂盒购自中国瑞帕特公司(货号 RP-RC3028),一步法 Tunel 原位细胞凋亡检测试剂盒购自中国 Elabscience 公司(货号 E-CK-A322),活性氧(ROS)与乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒购自中国索莱宝公司(货号 CA1410、BC0685),超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒与磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)通路特异性抑制剂 LY294002 购自中国碧云天公司(货号 S0101S、S1737),大鼠丙二醛(MDA)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)ELISA 检测试剂盒购自中国睿信生物,B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)关联 X 蛋白(Bax)兔单克隆抗体、Bcl-2 兔多克隆抗体购自美国 Abcam 公司(货号 ab32503、ab196495),半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)兔多克隆抗体、磷酸化 Akt(p-Akt)兔单克隆抗体购自美国 CST 公司(货号 #9662、#2965),Akt 抗体获赠自中国华安生物,Tublin 鼠单克隆抗体购自武汉三鹰公司(货号 66031-1),HRP 标记的山羊抗兔与抗鼠免疫球蛋白 G(IgG)二抗购自中国 abclonal 公司(货号 AS014、AS003),超敏 ECL 显影液购自中国白鲨公司(货号 BL520B)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 把 H9c2 细胞接种于放有 7 mL 含 10%特级胎牛血清高糖 DMEM 培养基(完全培养基)的 T25 培养瓶中,置于 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养,细胞生长至 80%时即可传代、铺板,进行后续一系列实验。

1.3.2 细胞分组与造模 将 H9c2 细胞随机分为 4 组:对照组、缺氧组(CoCl_2 组)、缺氧+IGF-1 预处理组(CoCl_2 + IGF-1 组)、缺氧+IGF-1 预处理+LY294002 组(CoCl_2 + IGF-1 + LY294002 组)。各组于造膜前 24 h 更换为不含胎牛血清的 DMEM 培养基。 CoCl_2 + IGF-1 组在造膜前 1 h 加入终质量浓度为 200 mg/L 的 IGF-1, CoCl_2 + IGF-1 + LY294002 组除 200 mg/L 质量浓度的 IGF-1 外再加入终质量浓度为 20 nmol/L 的 LY294002,1 h 后除对照组外都加入终浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 CoCl_2 ^[7],对照组继续使用不含胎牛血清的 DMEM 培养基培养,作用 24 h,建立心

肌细胞缺氧模型,每组实验重复 3 次。

1.3.3 CCK8 检测细胞存活率 在 96 孔板上接种处于对数生长期的细胞,其密度为 0.8×10^4 个细胞每孔,培养 24 h 后按照上述分组方法进行处理。造模结束后,将旧培养基弃去,每孔细胞用 PBS 清洗 2 次,然后加入含 10% CCK8 工作液的新培养基 100 μ L。置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱避光培养 2 h 后,使用酶标仪测定波长 450 nm 处的吸光度值,根据每孔吸光度值对细胞存活率进行计算。

1.3.4 TUNEL 法检测细胞凋亡情况 取处于对数生长期的细胞接种于 6 孔板中,密度为 5×10^4 个细胞每孔,细胞密度达到 70% 后进行上述分组处理。细胞经固定液室温固定 20 min 后 PBS 漂洗 3 次;用通透液室温促通透 5 min 后 PBS 漂洗 3 次。每个标本滴加 100 μ L 按照试剂说明书配制好的标记工作液,37 $^{\circ}$ C 避光反应 60 min 后用 PBS 漂洗 3 次。吸水纸吸干水分后滴加稀释好的 DAPI 工作液,室温避光孵育 5 min 对细胞核进行复染。PBS 漂洗 3 次,在荧光显微镜下进行观察。凋亡率计算:红色荧光为 TUNEL 阳性细胞,代表发生细胞凋亡,蓝色为正常细胞。用 Image J 软件将 TUNEL 阳性细胞与总细胞数分别计数,阳性细胞与总细胞数比值乘以 100% 即为心肌细胞的凋亡率。

1.3.5 DCFH-DA 探针负载方法检测各组细胞内 ROS 水平 取处于对数生长期的细胞接种于 6 孔板中,密度为 5×10^4 个细胞每孔,细胞密度达到 70% 后进行上述分组处理。弃去旧培养基后用无胎牛血清的培养基将细胞清洗 3 次,每孔加入用无胎牛血清培养基按照 1:1 000 比例稀释的 DCFH-DA 探针 1 mL,37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 20 min,孵育结束后再次用无胎牛血清培养基清洗细胞 3 次,在荧光显微镜下观察。用 Image J 软件测量每组细胞的荧光密度分析值,荧光密度分析值越高表明细胞 ROS 水平越高。

1.3.6 试剂盒检测细胞内 SOD 及培养基 LDH 活性 取处于对数生长期的细胞以每孔 5×10^4 个细胞的密度接种在 6 孔板内,细胞密度达到 70% 后按照上述分组方法进行处理。造模结束后收集细胞及细胞培养基上清,按照试剂盒说明书所述方法进行实验操作。

1.3.7 ELISA 检测细胞内 GSH-Px 水平及培养基上清 MDA 水平 取处于对数生长期的细胞接种于 6 孔板中,密度为 5×10^4 个细胞每孔,细胞密度达到 70% 后进行上述分组处理。造模结束后收集细胞及细胞培养基上清,按照 ELISA 试剂盒说明书所述方法进行实验操作。

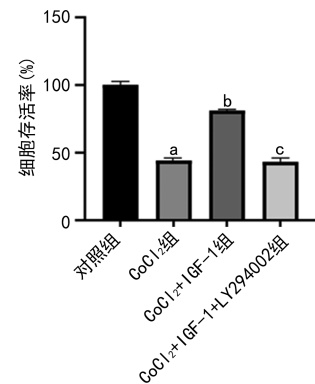
1.3.8 蛋白质印迹法(Western blot)检测凋亡及通路相关蛋白 取处于对数生长期的细胞接种于 10 cm^2 培养皿中,密度为 10×10^4 个细胞每孔,细胞密度达到 70% 后进行上述分组处理。将 300 μ L 配制好的含蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液置

于培养皿中,用细胞刮刀辅助裂解后超声破碎,然后将收集好的蛋白进行 BCA 定量,用 Loading Buffer 将各组蛋白上样体积调为一致,每孔道上样量 30 μ g,用 10% 与 12% 的 SDS-PAGE 胶在 120 V 电压下电泳 1.5 h,然后将条带转印到 PVDF 膜上,室温下在 5% 脱脂奶粉中封闭 1.5 h,TBST 洗净膜上残余奶粉后将条带放入稀释好的一抗中,4 $^{\circ}$ C 冰箱内孵育过夜;TBST 洗净一抗,室温下孵育相应二抗 1 h,TBST 洗净后配制 ECL 显影液在显影仪内显色,蛋白条带采用图像分析软件计算灰度值。

1.4 统计学处理 利用图像分析软件 Image J 和 illustrator(Adobe)对图像进行处理,所有资料采用 Graph Pad Prism 5.9.1 统计软件处理。多组比较采用单因素方差分析,两组比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IGF-1 对 CoCl_2 诱导的 H9c2 细胞活性的影响 通过 CCK8 测定 IGF-1 对 CoCl_2 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的潜在心脏保护作用。结果显示, CoCl_2 缺氧处理 H9c2 细胞 24 h 后,与对照组比较, CoCl_2 组细胞活力明显降低($P < 0.01$)。而经过 IGF-1 预处理的 $\text{CoCl}_2 + \text{IGF-1}$ 组与 CoCl_2 组相比,细胞活力明显升高($P < 0.01$),但加入 PI3K/Akt 通路抑制剂后 IGF-1 的保护作用消失($P < 0.01$)。见图 1。



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 CoCl_2 组比较,^b $P < 0.05$;与 $\text{CoCl}_2 + \text{IGF-1}$ 组比较,^c $P < 0.05$ 。

图 1 IGF-1 对各组细胞存活率的影响

2.2 IGF-1 对 CoCl_2 诱导的 H9c2 细胞凋亡率的影响 结果显示,与对照组比较, CoCl_2 组细胞的凋亡率明显升高($P < 0.05$);与 CoCl_2 组比较, $\text{CoCl}_2 + \text{IGF-1}$ 组凋亡率明显降低($P < 0.05$);与 $\text{CoCl}_2 + \text{IGF-1}$ 组比较, $\text{CoCl}_2 + \text{IGF-1} + \text{LY294002}$ 组凋亡率明显升高($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 IGF-1 对 CoCl_2 诱导的 H9c2 细胞 ROS 水平的影响 结果显示,与对照组比较, CoCl_2 组细胞的 ROS 水平升高($P < 0.05$);与 CoCl_2 组比较, $\text{CoCl}_2 + \text{IGF-1}$ 组 ROS 水平降低($P < 0.05$);与 $\text{CoCl}_2 + \text{IGF-1}$ 组比较, $\text{CoCl}_2 + \text{IGF-1} + \text{LY294002}$ 组 ROS 水平明显升高($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 IGF-1 对 CoCl₂ 诱导的 H9c2 细胞 SOD 及培养基 LDH 活性的影响 结果显示,与对照组比较,CoCl₂ 组细胞 SOD 活性降低($P<0.05$),LDH 活性升高($P<0.05$);与 CoCl₂ 组比较,CoCl₂ + IGF-1 组

细胞 SOD 活性升高($P<0.05$),LDH 活性降低($P<0.05$)。与 CoCl₂ + IGF-1 组比较,CoCl₂ + IGF-1 + LY294002 组细胞 SOD 活性降低($P<0.05$),LDH 活性升高($P<0.05$)。见图 4。

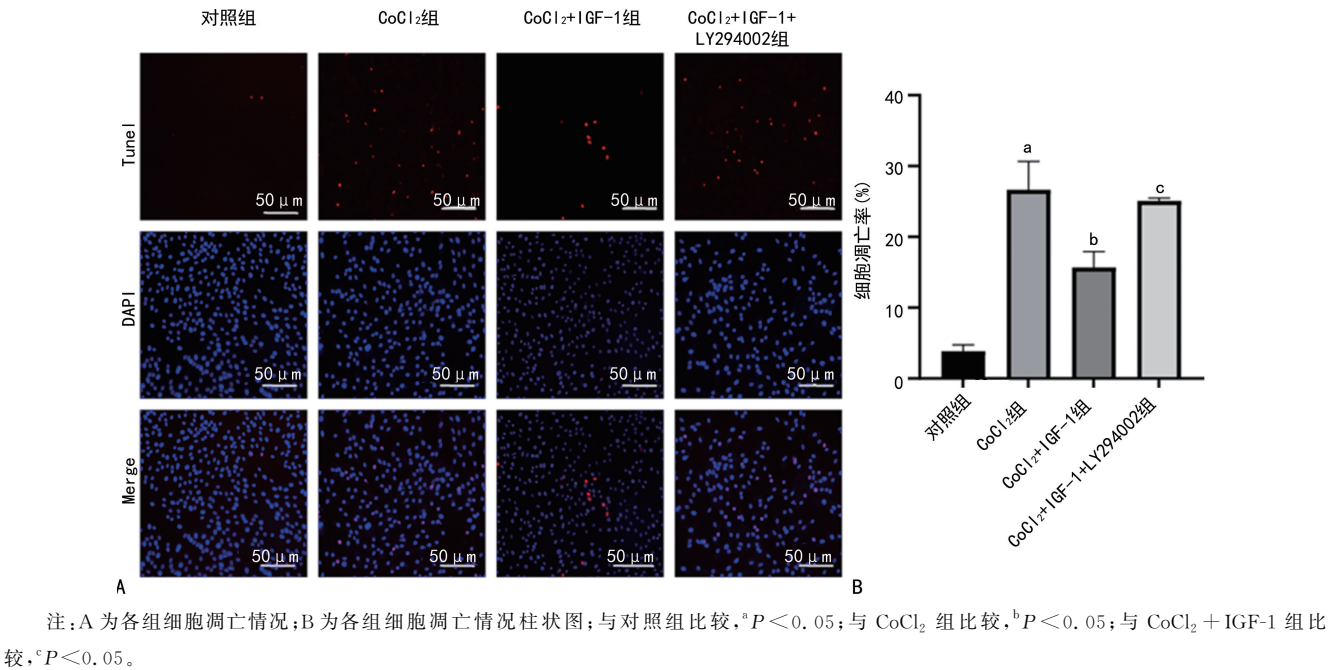


图 2 IGF-1 对各组细胞凋亡率的影响

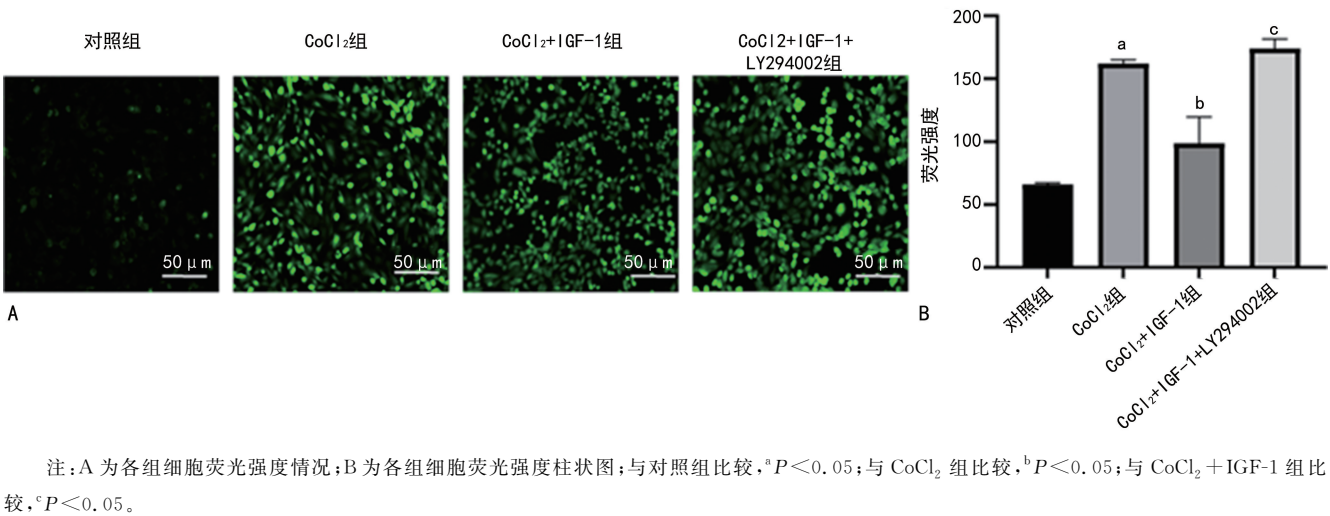
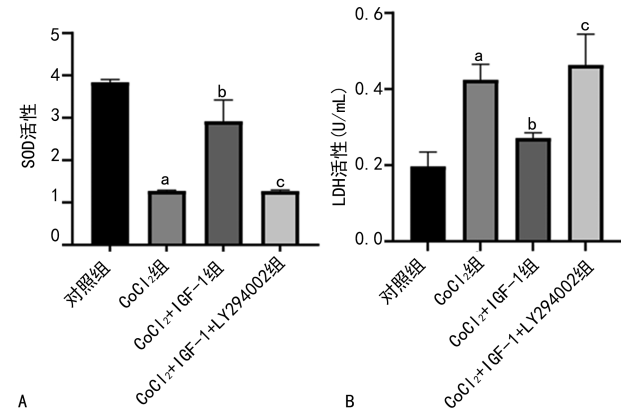


图 3 IGF-1 对各组细胞 ROS 水平的影响

2.5 IGF-1 对 CoCl₂ 诱导的 H9c2 细胞内 GSH-Px 及培养基上清 MDA 水平的影响 结果显示,与对照组比较,CoCl₂ 组细胞 GSH-Px 水平降低($P<0.05$),培养基上清 MDA 水平升高($P<0.05$);与 CoCl₂ 组比较,CoCl₂ + IGF-1 组细胞 GSH-Px 水平升高($P<0.05$),培养基上清 MDA 水平降低($P<0.05$)。与 CoCl₂ + IGF-1 组比较,CoCl₂ + IGF-1 + LY294002 组细胞 GSH-Px 水平降低($P<0.05$),培养基上清 MDA 水平升高($P<0.05$)。见图 5。

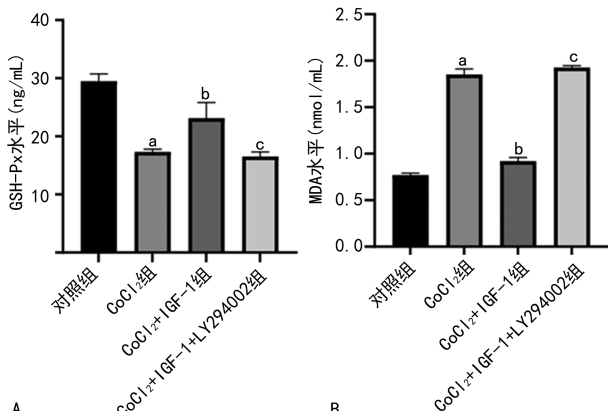
2.6 各组 H9c2 细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2、Caspase-3 与通路蛋白 Akt、p-Akt 水平比较 结果显

示,与对照组比较,CoCl₂ 组细胞 Bax、Caspase-3 水平升高,Bcl-2 水平降低($P<0.05$);与 CoCl₂ 组比较,CoCl₂ + IGF-1 组 Bax、Caspase-3 水平降低,Bcl-2 水平升高($P<0.05$);与 CoCl₂ + IGF-1 组比较,CoCl₂ + IGF-1 + LY294002 组 Bax、Caspase-3 水平升高,Bcl-2 水平降低($P<0.05$)。与对照组比较,CoCl₂ 组 p-Akt 水平降低($P<0.05$);与 CoCl₂ 组比较,CoCl₂ + IGF-1 组 p-Akt 水平升高($P<0.05$);与 CoCl₂ + IGF-1 组比较,CoCl₂ + IGF-1 + LY294002 组 p-Akt 水平降低($P<0.05$)。见图 6。



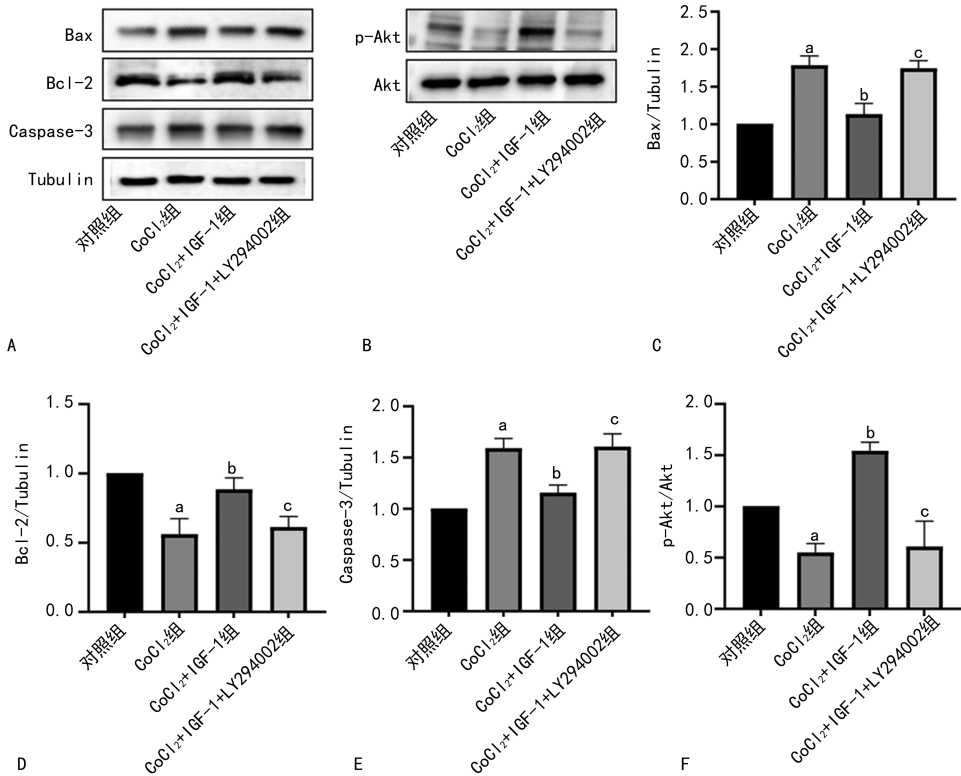
注:A 为 IGF-1 对各组细胞 SOD 活性的影响;B 为 IGF-1 对各组细胞 LDH 活性的影响;与对照组比较,^a $P<0.05$;与 CoCl₂ 组比较,^b $P<0.05$;与 CoCl₂+IGF-1 组比较,^c $P<0.05$ 。

图 4 IGF-1 对各组细胞 SOD、LDH 活性的影响



注:A 为各组细胞 GSH-Px 水平比较;B 为各组培养基上清 MDA 水平比较;与对照组比较,^a $P<0.05$;与 CoCl₂ 组比较,^b $P<0.05$;与 CoCl₂+IGF-1 组比较,^c $P<0.05$ 。

图 5 IGF-1 对各组细胞 GSH-Px、MDA 水平的影响



注:A 为各组细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2、Caspase-3 表达情况;B 为各组细胞通路蛋白 Akt、p-Akt 表达情况;C~F 分别为各组细胞 Bax、Bcl-2、Caspase-3、p-Akt 表达量灰度柱状图;与对照组比较,^a $P<0.05$;与 CoCl₂ 组比较,^b $P<0.05$;与 CoCl₂+IGF-1 组比较,^c $P<0.05$ 。

图 6 IGF-1 对各组细胞凋亡及通路相关蛋白的影响

3 讨论

有研究表明,心肌梗死与氧化应激有密切关联^[8]。CoCl₂ 是实验中用来诱导缺氧常用的化学试剂^[9],它可以模拟心肌梗死发生时心肌细胞缺血缺氧的环境,诱导心肌细胞发生氧化应激和凋亡。氧化应激发生的原因是心肌细胞内氧化与抗氧化能力失衡,ROS 的产生过多,机体自身的抗氧化能力无法将其清除,造成 ROS 的堆积。过量的 ROS 会引起细胞功能障碍、蛋白质和脂质过氧化、DNA 损伤,最终导致细胞走向死亡^[10]。细胞脂质过氧化会产生大量 MDA;细胞氧化应激受损时,心肌细胞内的 LDH 会被释放

到细胞外,所以细胞培养基中 LDH 活性与 MDA 水平可以很好地反映心肌细胞的氧化应激水平^[11]。人体有内源性的抗氧化途径保护机体 ROS 堆积的损伤,如 SOD、GSH-Px 等是人体源性抗氧化应激结构的重要组成部分。SOD 是一种金属蛋白,能够催化超氧阴离子转化为过氧化氢,降低氧化应激水平,是人体中最有效的抗氧化酶;GSH-Px 位于细胞质、细胞核和线粒体中。氧化应激时会产生过氧化物,这种物质对心肌细胞有毒性作用,GSH-Px 会将其还原为对心肌细胞没有毒性的羟基化合物,使细胞免遭氧化应激的损伤^[12]。在本研究中,IGF-1 的预加入提高了

心肌细胞 SOD 活性,降低了 LDH 的活性,提高 GSH-Px 水平,降低了 ROS 与 MDA 水平,说明 IGF-1 从内源性途径提高了心肌细胞抗氧化应激的能力。

细胞凋亡属于细胞程序性死亡的一种,它在心肌梗死的病理进程中发挥着重要作用。在缺氧时,ROS 堆积导致 DNA 损伤,内源性凋亡途径被激活,Bcl-2 家族蛋白表达失衡,诱导线粒体外膜通透,释放细胞色素 C。细胞色素 C 促进 Caspase-9 相关凋亡体的组装,随后 Caspase-9 触发 Caspase 级联反应,激活 Caspase-3 与 Caspase-7,最终导致细胞凋亡^[13]。PI3K/Akt 通路是心脏疾病发生、发展与治疗关键通路,涉及生存、增殖、凋亡、迁移等多种生理或病理过程。心肌梗死发生后,PI3K/Akt 主要参与心肌缺血后重构、再生和修复的调控,通过磷酸化的 PI3K 与 Akt 激活或抑制下游蛋白如血管内皮生长因子、内皮型一氧化氮合酶、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白、糖原合酶激酶 3β、叉头框蛋白等,调控心肌细胞的生长、存活与凋亡^[14-15]。本实验中 IGF-1 预处理后,CoCl₂ + IGF-1 组 p-Akt 表达较 CoCl₂ 组明显升高,内源性抗氧化酶 SOD 活性增强,GSH-Px 水平升高,LDH 活性降低,MDA 的产生减少,促凋亡蛋白 Bax 与 Caspase-3 水平降低,抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平升高,且加入 PI3K/Akt 通路特异性抑制剂 LY294002 后以上保护作用消失,说明 IGF-1 通过 PI3K/Akt 通路减弱缺血缺氧诱导的心肌细胞氧化应激和凋亡。

综上所述,本实验通过 CoCl₂ 建立 H9c2 细胞缺氧缺血损伤模型,验证了 IGF-1 可以通过激活 PI3K/Akt 通路减少细胞凋亡,提高细胞生存率,减少 ROS 的堆积,提高抗氧化酶活性,减少氧化应激产物的产生,表明 IGF-1 对缺血缺氧的心肌细胞有保护作用,可为 IGF-1 投入临床使用治疗心肌梗死提供实验依据。

参考文献

[1] KAIER T E, ALAOUR B, MARBER M. Cardiac troponin and defining myocardial infarction[J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(10): 2203-2215.

[2] ARJMAND B, ABEDI M, ARABI M, et al. Regenerative medicine for the treatment of ischemic heart disease; status and future perspectives[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 704903.

[3] HUANG H, HUANG W. Regulation of endothelial progenitor cell functions in ischemic heart disease; new thera-

peutic targets for cardiac remodeling and repair[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 896782.

[4] DÍAZ-DEL-MORAL S, BENAOUIC-HA M, MUÑOZC-HÁPULI R, et al. The insulin-like growth factor signaling pathway in cardiac development and regeneration[J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 234.

[5] MACVANIN M, GLUVIC Z, RADOVANOVIC J, et al. New insights on the cardiovascular effects of IGF-1[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14: 1142644.

[6] PEREIRA R M, MEKARY R A, DA CRUZ-RODRIGUES K C, et al. Protective molecular mechanisms of clusterin against apoptosis in cardiomyocytes[J]. Heart Fail Rev, 2017, 23(1): 123-129.

[7] MUÑOZ-SÁNCHEZ J, CHÁNEZ-CÁRDENAS M E. The use of cobalt chloride as a chemical hypoxia model[J]. J Appl Toxicol, 2018, 39(4): 556-570.

[8] DUBOIS-DERUY E, PEUGNET V, TURKIEH A, et al. Oxidative stress in cardiovascular diseases[J]. Antioxidants, 2020, 9(9): 864.

[9] WAGATSUMA A, ARAKAWA M, MATSUMOTO H, et al. Cobalt chloride, a chemical hypoxia-mimicking agent, suppresses myoblast differentiation by downregulating myogenin expression[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 470(1/2): 199-214.

[10] LI X, ZHANG Q, NASSER M I, et al. Oxygen homeostasis and cardiovascular disease: a role for HIF[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 128: 110338.

[11] STEVEN S, FRENIS K, OELZE M, et al. Vascular inflammation and oxidative stress: major triggers for cardiovascular disease[J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019: 7092151.

[12] SHARIFI-RAD M, ANIL-KUMAR N V, ZUCCA P, et al. Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases[J]. Front Physiol, 2020, 11: 694.

[13] ZHU H, TOAN S, MUI D, et al. Mitochondrial quality surveillance as a therapeutic target in myocardial infarction[J]. Acta Physiol (Oxf), 2021, 231(3): e13590.

[14] GHIGO A, LAFFARGUE M, LI M, et al. PI3K and calcium signaling in cardiovascular disease[J]. Circ Res, 2017, 121(3): 282-292.

[15] ZHANG Q, WANG L, WANG S, et al. Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 78.

(收稿日期: 2024-02-17 修回日期: 2024-06-22)