

• 实验研究 •

尿激酶原对心肌缺血再灌注损伤大鼠心功能及血清心肌酶活性的影响

赵晓宁¹, 刘志远^{1*}, 刘江波¹, 李 纲¹, 张金盈²

1. 南阳市中心医院 心血管内科, 河南 南阳 473009

2. 郑州大学第一附属医院 心血管内科, 河南 郑州 450052

摘要: 目的 探讨尿激酶原(Pro-UK)对心肌缺血再灌注(MI/R)损伤大鼠心功能及血清心肌酶活性的影响及其机制。方法 将大鼠随机分为假手术组、MI/R 模型组和 Pro-UK 低、中、高剂量(0.5、1.0、2.0 mg/kg)组, Pro-UK 低、中、高剂量(0.5、1.0、2.0 mg/kg)组大鼠分别于造模前给药, 前 3 d 每天尾 iv 0.5、1.0、2.0 mg/kg Pro-UK, 后 2 d 每天尾 iv 给予 0.25 mg/kg Pro-UK, 假手术组、模型组尾 iv 给予等量生理盐水, 预处理完成后均采用手术结扎的方式复制大鼠 MI/R 模型, 其中假手术组不进行结扎操作, 再灌注 150 min 后测量心率, 摘眼球取血后处死大鼠, 取左心室, 伊文思蓝-TTC 法检测心肌梗死面积, HE 染色观察心肌组织病理情况, TUNEL 法检测心肌细胞凋亡情况, 试剂盒检测血清肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、纤溶酶原激活剂抑制剂 1(PAI-1)和组织纤维溶酶原激活物(t-PA)水平, Western blotting 检测心肌组织中线粒体凋亡关键蛋白以及核因子 κ B(NF- κ B)-p65 蛋白磷酸化水平。结果 Pro-UK 预处理能够明显降低 MI/R 大鼠心肌梗死面积、CK、CK-MB、LDH、PAI-1 水平、升高 t-PA 水平, 加快心率, 能够改善心肌病理损伤, 降低心肌细胞凋亡率, 同时抑制 Caspase-3、p-p65、Bax 蛋白表达, 促进 Bcl-2 蛋白表达。结论 Pro-UK 预处理能够改善 MI/R 损伤大鼠心功能并抑制血清心肌酶活性, 其作用机制可能与 NF- κ B 信号有关。

关键词: 尿激酶原; 心肌缺血再灌注; 心肌酶; 肌酸激酶; 肌酸激酶同工酶; 乳酸脱氢酶; 核因子- κ B; 纤溶酶原激活剂抑制剂 1; 组织纤维溶酶原激活物

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2020)10-1937-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.10.001

Effects of prourokinase on cardiac function and activities of serum myocardial enzymes in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury

ZHAO Xiao-ning¹, LIU Zhi-yuan¹, LIU Jiang-bo¹, LI Gang¹, ZHANG Jin-ying²

1. Department of Cardiovascular Medicine, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473009, China

2. Department of Cardiovascular Medicine, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract: Objective To explore the effects and mechanism of prourokinase (Pro-UK) on cardiac function and activities of serum myocardial enzymes in rats with myocardial ischemia-reperfusion (MI/R) injury. **Methods** Rats were randomly divided into sham operation (Sham) group, MI/R model group, L-Pro-UK group, M-Pro-UK group and H-Pro-UK group (0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg). In L-Pro-UK group, M-Pro-UK group and H-Pro-UK group, rats were injected with 0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg Pro-UK in the tail vein at 3 d before modeling, respectively. And then they were continuously given 0.25 mg/kg Pro-UK injection. Sham group and MI/R model group were given the same amount of normal saline. After pretreatment, MI/R model rats were replicated by surgical ligation. Rats in the Sham group was not given ligation. After 150 minutes of reperfusion, heart rate (HR) was measured. After eyeball enucleation and blood collecting, the rats were sacrificed to obtain left ventricles. The areas of myocardial infarction were detected by Evans blue-TTC. The pathology situations of myocardial tissues were observed by HE staining. The apoptosis of myocardial cells were detected by TUNEL. The levels of serum myocardial enzymes creatine kinase (CK), creatine kinase-MB (CK-MB), lactate dehydrogenase

收稿日期: 2020-07-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81570274); 郑州大学第一附属医院跨学科协同攻关博士科研团队基金资助项目(2016-BSTDJJ-19)

作者简介: 赵晓宁(1981—), 女, 主治医师, 硕士, 主要从事冠心病介入治疗与诊断的研究。E-mail: er2015z@163.com

*通信作者 刘志远(1974—), 男, 主任医师, 硕士, 主要从事冠心病介入治疗与诊断的研究。

(LDH), plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) and tissue plasminogen activator (t-PA) were detected by kits. The phosphorylation levels of mitochondrial apoptosis protein and nuclear factor kappa B (NF- κ B)-p65 protein in myocardial tissues were detected by Western blotting. **Results** Pro-UK pretreatment could significantly reduce myocardial infarction area of MI/R, and reduce CK, CK-MB, LDH, PAI-1 and t-PA levels, accelerate HR, improve myocardial pathological damage, reduce apoptosis rate of myocardial cells, inhibit the expression of Caspase-3, p-p65 and Bax, and promote the expression of Bcl-2. **Conclusion** Pro-UK pretreatment can improve cardiac function and inhibit serum myocardial enzymes in rats with MI/R injury. The mechanism may be related to NF- κ B signaling.

Key words: prourokinase; myocardial ischemia-reperfusion; myocardial enzyme; creatine kinase; creatine kinase-MB; lactate dehydrogenase; nuclear factor- κ B; plasminogen activator inhibitor 1; tissue plasminogen activator

急性心肌梗死是临床上较为常见的心血管疾病^[1], 采取药物或冠脉介入术快速恢复冠脉血流是治疗的主要方式^[2], 但心肌组织血流供应中断一定时间后再次恢复血流灌注时, 会引起心肌缺血再灌注 (myocardial ischemia/reperfusion, MI/R) 损伤, 进一步加重心肌损伤程度, 目前临床尚无有效的治疗方案^[3]。尿激酶原 (prourokinase, Pro-UK) 作为尿激酶的前体物质, 具有纤维蛋白特异性, 能够与体内形成的血栓结合而被激活转化为具有溶栓作用的尿激酶, 因此临床上常用于抗栓治疗^[4]。有研究表明, 冠脉注射 Pro-UK 可明显改善急性心肌梗死患者经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 术后冠脉病变的血流灌注, 从而保护心肌功能, 但其具体的作用机制尚不清楚^[5]。因此本研究通过复制 MI/R 大鼠模型, 探讨 Pro-UK 预处理对 MI/R 损伤大鼠心功能及血清心肌酶活性的影响及其可能机制, 以期为 Pro-UK 预防 MI/R 损伤的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只, 体质量 240~260 g, 由河南省实验动物中心提供, 动物许可证号: SCXK (豫) 2017-0001; 饲养条件: 相对湿度 50%~60%, 室温恒定 25℃, 光照 12 h/黑暗 12 h 光照条件, 全天自由摄食及饮水。

1.2 主要试剂与仪器

Pro-UK (每支注射用重组人 Pro-UK 含重组人 Pro-UK 5 mg、人血白蛋白 6 mg、甘露醇 120 mg) 购自上海天力士药业有限公司 (批号 180613); 肌酸激酶 (CK)、肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、乳酸脱氢酶 (LDH) 以及 HE 染色试剂盒购自中生北控生物科技股份有限公司; TUNEL 染色试剂盒购自武汉博士德生物公司; 纤溶酶原激活剂抑制剂 1 (PAI-1)、组织纤维溶酶原激活物 (t-PA) 检测试剂盒购自福建太阳生物技术公司; 兔抗大鼠半胱氨酸

蛋白酶 (Caspase-3)、Bax、Bcl-2、p65、p-p65、GAPDH 单克隆抗体以及辣根过氧化酶标记的二抗购自美国 Santa Cruz 公司; DH-1 型大鼠呼吸机、XD-7100 型心电图仪购自上海医疗电子仪器厂; 3K15 型冷冻离心机购自德国 Sigma 公司; Bx50F4 型光学显微镜购自日本 Olympus 公司; Tanon-4100 型全自动数码凝胶图像分析系统购自上海天能科技有限公司。

2 方法

2.1 动物造模与分组处理

50 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为假手术组、MI/R 模型组和 Pro-UK 低、中、高剂量 (0.5、1.0、2.0 mg/kg) 组, 每组 10 只。Pro-UK 低、中、高剂量组大鼠于造模前给药, 前 3 d 各剂量组每天分别尾 iv 给予 Pro-UK 0.5、1.0、2.0 mg/kg, 后 2 d 各剂量组均尾 iv 给予 Pro-UK 0.25 mg/kg; 假手术组、模型组尾 iv 给予等量生理盐水, 预处理完成后, 模型组及 Pro-UK 各剂量给药组采取手术结扎的方式复制大鼠 MI/R 模型^[6], 具体步骤: 以 80 mg/kg 的戊巴比妥钠麻醉大鼠, 固定后连接肢体心电图电极和呼吸机, 取左侧第 3、4 肋间切开, 打开胸腔和心包, 暴露出心脏后, 结扎左冠状动脉前降支 45 min 后, 恢复血流灌注 120 min 后, 以缺血时局部心肌组织苍白或发绀, 心电图 ST 段持续抬高, 再灌注时心肌红润且 ST 段下降 1/2 为造模成功。假手术组同样切开胸腔打开心包, 但不左冠状动脉前降支进行结扎, 手术时模型组有 1 只大鼠死亡, 再灌注时, 模型组、Pro-UK 低、中剂量组各有 1 只大鼠死亡。剔除死亡大鼠后, 假手术组、模型组及 Pro-UK 低、中、高剂量组造模成功大鼠分别 10、8、9、9、10 只。

2.2 心功能及心肌酶指标检测

再灌注 150 min 时, 检测各组大鼠心率 (HR), 完成后眼球取血 2 mL 于收集管中, 静置 1 h 后低温 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清待测; 麻醉大鼠后, 结扎左前降支, 股静脉注射伊文思蓝染色液 2.5 mL

后迅速取左心室心肌组织,沿长轴方向切成 5 片,放入 1%的 TTC 磷酸缓冲液中孵育 30 min,以心肌梗死区(苍白色)心肌质量与缺血区(深红色)心肌质量的比值表示心肌梗死面积;根据试剂盒操作说明书,检测血清中 CK、CK-MB、LDH、PAI-1、t-PA 水平。

2.3 心肌病理损伤观察

取各组大鼠左心室缺血处心肌组织,40 g/L 甲醛固定过夜后,行常规脱水、透明、包埋、切片制成石蜡切片,HE 染色试剂盒对切片进行 HE 染色,在光镜下观察心肌组织的病理变化,并在每张切片随机选取 5 个视野拍照。

2.4 TUNEL 染色检测心肌细胞凋亡情况

取各组固定好的心肌组织切片按照 TUNEL 试剂盒操作染色,在荧光显微镜下随机选取 10 个视野拍照,并采用 Image J 软件计算凋亡阳性细胞数与总细胞数的比值,视为细胞凋亡率。

2.5 Western blotting 法检测大鼠心肌组织中 Caspase-3、Bax、Bcl-2、p65、p-p65 蛋白表达

取各组大鼠缺血处心肌组织 50 mg,于冰上研磨成组织匀浆,加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,BCA 法检测蛋白质量浓度,调整各组蛋白质量浓度一致后,经 SDS-PAGE 凝胶电泳、电转膜至甲醛预处理过的 PVDF 膜,密封 2 h,加入兔抗鼠 Caspase-3、Bax、Bcl-2、p65、p-p65、GAPDH 一抗(1:1 000)4 ℃孵育过夜,TBST 漂洗 40 min,加入 HRP 标记的二抗(1:500)孵育 1 h,TBST 漂洗 40 min,ECL 发光液将 PVDF 膜显色,暗室曝光至 X 光片上,采用 Image J 软件分析各组条带灰度值,以目标蛋白与内参蛋白(GAPDH 为内参)条带灰度值比值表示蛋白的相对表达水平。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。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(One-way ANOVA),两两比较采用 SNK 法检验。

3 结果

3.1 Pro-UK 对 MI/R 模型大鼠 HR 及心肌梗死面积的影响

模型组大鼠 HR 明显降低($P < 0.001$),心肌梗死面积明显升高($P < 0.001$)。Pro-UK 低、中、高剂量组大鼠的 HR 与模型组比较明显升高($P < 0.001$),心肌梗死面积明显降低($P < 0.001$),见表 1。HE 染色结果显示,模型组大鼠心肌细胞肿胀变性,心肌纤维断裂坏死,且伴有大量炎性细胞浸润,Pro-UK 低、中、高剂量组大鼠心肌细胞水肿变性改善明显,纤维断裂以及炎性浸润程度降低。见图 1。

3.2 Pro-UK 对 MI/R 模型大鼠血清心肌酶的影响

模型组大鼠血清中 CK、CK-MB、LDH 水平明显升高($P < 0.001$)。Pro-UK 低、中、高剂量组大鼠血清中 CK、CK-MB、LDH 水平与模型组比较明显降低($P < 0.05$ 、 0.001)。见表 2。

3.3 Pro-UK 对 MI/R 模型大鼠血清纤溶因子水平的影响

模型组大鼠血清中 PAI-1 水平明显升高($P < 0.001$),t-PA 水平明显降低($P < 0.001$)。Pro-UK 低、中、高剂量组大鼠血清中 PAI-1 水平与模型组比较明显降低($P < 0.001$),t-PA 水平明显升高($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。见表 2。

表 1 Pro-UK 对 MI/R 模型大鼠 HR 及心肌梗死面积的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of Pro-UK on HR and myocardial infarction area of MI/R model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	n/只	HR/(次·min ⁻¹)	心肌梗死 面积/%
假手术	—	10	385.32±21.84	6.52±1.03
模型	—	8	182.24±13.52***	46.24±5.76***
Pro-UK	0.5	9	257.26±15.36###	34.62±3.62###
	1.0	9	316.27±18.42###	28.73±2.94###
	2.0	10	357.68±19.24###	20.18±2.48###

与假手术组比较:*** $P < 0.001$;与模型组比较:### $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs Sham group;### $P < 0.001$ vs model group

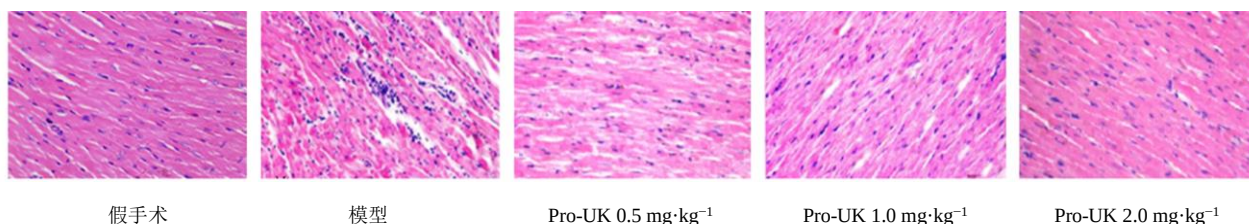


图 1 各组大鼠心肌组织的 HE 染色(×200)

Fig. 1 HE staining of myocardial tissues of rats in each group (×200)

表2 Pro-UK 对 MI/R 模型大鼠血清心肌酶和纤溶因子的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Effects of Pro-UK on serum myocardial enzymes and fibrinolytic factors of MI/R model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	n/只	CK/(U·L ⁻¹)	CK-MB/(U·L ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)	PAI-1/(U·mL ⁻¹)	t-PA/(U·mL ⁻¹)
假手术	—	10	173.15±25.68	143.61±22.53	168.62±27.54	13.54±1.37	3.40±0.78
模型	—	8	341.93±45.32***	338.62±51.07***	348.32±49.36***	28.15±2.92***	1.06±0.23***
Pro-UK	0.5	9	305.23±37.26#	264.44±35.61###	271.54±38.31###	23.25±2.68###	1.61±0.27#
	1.0	9	263.46±34.68###	205.51±27.38###	216.25±28.67###	21.18±2.21###	1.88±0.34##
	2.0	10	227.54±29.62###	175.26±22.13###	193.68±26.25###	18.72±2.09###	2.32±0.35###

与假手术组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ *** $P < 0.001$ vs Sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group

3.4 Pro-UK 对 MI/R 模型大鼠心肌凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响

模型组大鼠心肌细胞凋亡率、Caspase-3、Bax 蛋白表达明显升高 ($P < 0.001$), Bcl-2 蛋白表达明显降低 ($P < 0.001$)。Pro-UK 低、中、高剂量组大鼠心肌细胞凋亡率、Caspase-3、Bax 蛋白表达与模型组比较明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), Bcl-2 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$ 、 0.001)。见图 2。

3.5 Pro-UK 对 MI/R 模型大鼠 NF- κ B 信号通路相关蛋白表达的影响

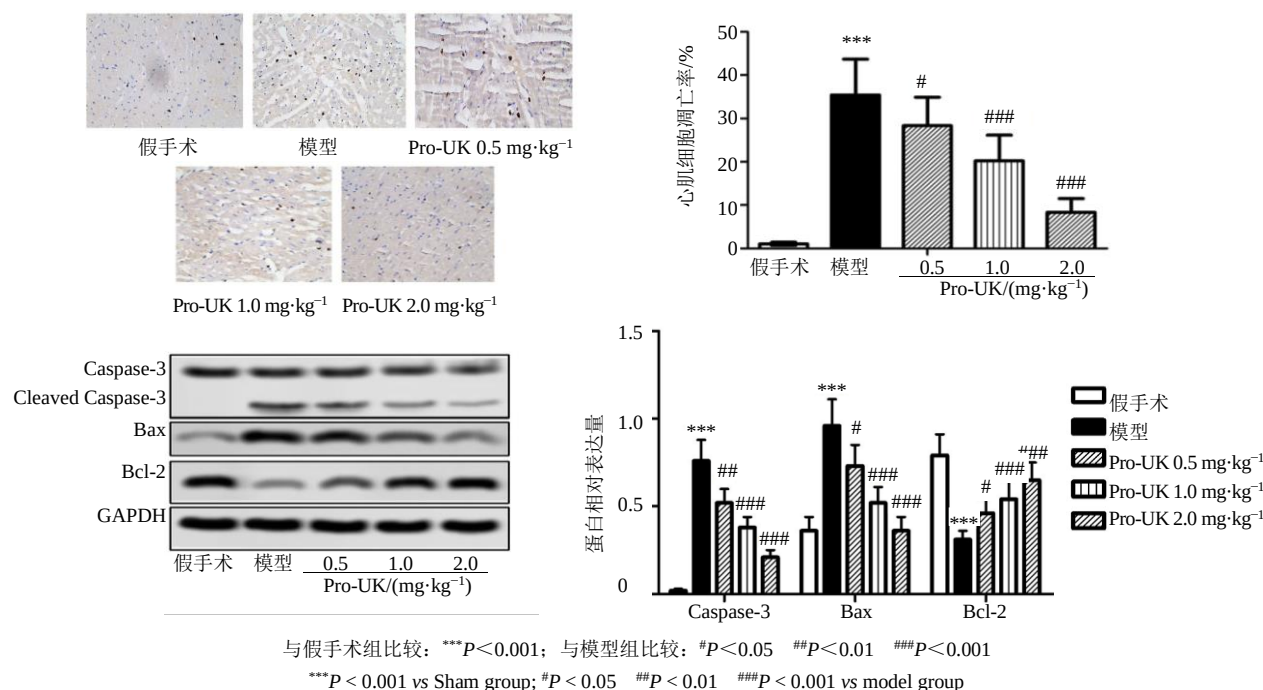
模型组大鼠心肌组织中 p-p65/p65 明显升高 ($P < 0.001$)。Pro-UK 低、中、高剂量组大鼠心肌组织中 p-p65/p65 明显降低 ($P < 0.001$)。见图 3。

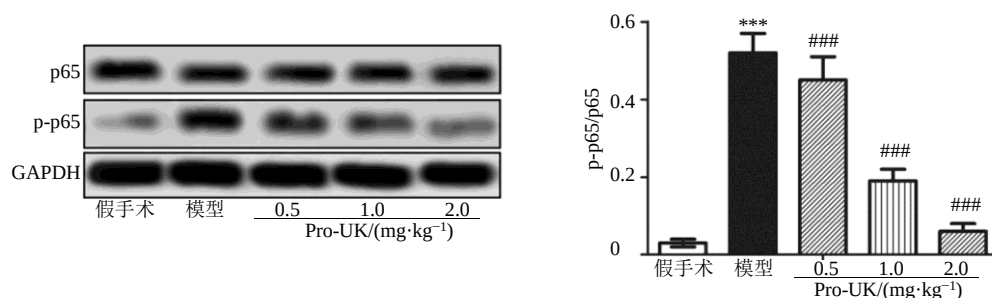
4 讨论

急性心肌梗死作为一种危急的心血管疾病, 及

时的溶栓治疗、手术介入治疗能够快速帮助恢复心肌组织的血供, 但缺血再灌注过程容易引发心肌组织再次损伤并导致结构障碍^[7], 临床上可能会出现心律失常、血压骤降、心功能不全甚至猝死等病情恶化表现, 是缺血性心血管病人主要的死亡原因^[8]。目前研究显示 MI/R 损伤涉及到氧化应激、炎症反应、线粒体凋亡等多种分子机制^[9-11], 但能够用于防治 MI/R 损伤的药物较少, 因此寻找新的药物及治疗方案预防 MI/R 损伤是改善缺血性心血管疾病患者预后的关键。

本研究显示 Pro-UK 能够明显提高 MI/R 大鼠心率, 并缩小其心肌梗死面积, 并且随着用药剂量的升高, 这种改善的效果越显著, 表明 Pro-UK 具有明显的保护心肌组织的作用, 可对抗 MI/R 损伤。同时 HE 染色结果表明 Pro-UK 预处理后可有效改善

图2 Pro-UK 对 MI/R 模型大鼠心肌凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)Fig. 2 Effects of Pro-UK on myocardial apoptosis of MI/R model rats ($\bar{x} \pm s$)



与假手术组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs Sham group; ### $P < 0.001$ vs model group

图 3 各组大鼠心脏组织中 p-p65、p65 蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 3 Protein expression of p-p65 and p65 in heart tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

大鼠心肌细胞肿胀变性、心肌纤维断裂坏死以及大量炎性细胞浸润,表明 Pro-UK 预处理可缓解 MI/R 引起的心肌损伤。刘志远等^[12]研究表明, Pro-UK 能够有效改善 MI/R 模型大鼠的氧化应激和炎症反应,并且是通过促进人酪氨酸激酶(JAK2)/信号转导转录启动因子 3(STAT3)磷酸化从而发挥改善心功能的作用。CK、CK-MB、LDH 作为反映心肌细胞损伤程度的常用指标^[13],本研究用于评价心肌损伤,发现模型组大鼠血清中 CK、CK-MB、LDH 水平明显升高,主要是 MI/R 引起了心肌损伤,心肌酶会释放进入血液,因此血清中酶活升高,而 MI/R 损伤使体内处于高应激状态,心肌的能量代谢增强,会促进相关心肌酶的大量合成,而氧化应激损伤以及氧自由基攻击引起的心肌细胞膜损伤,使细胞通透性增加,因此血清心肌酶明显升高^[14],而 Pro-UK 预处理后 CK、CK-MB、LDH 水平显著降低,表明 Pro-UK 预处理减低了心肌损伤程度,同时还能改善 MI/R 引起氧化应激以及炎症反应,能量需求较低,因此血清中 CK、CK-MB、LDH 水平降低。PAI-1/t-PA 平衡是体内纤溶功能的决定性因素,PAI-1 能够通过特异性结合 t-PA 使得后者活性降低,从而降低纤溶功能^[15]。本研究结果显示 Pro-UK 预处理能够降低模型大鼠血清中 PAI-1 水平,提高 t-PA 水平,表明 Pro-UK 能够纠正 MI/R 引起的纤溶功能抑制状态,抑制血栓的形成,从而保护心肌损伤。汪雁博等^[16]研究也证实了 Pro-UK 具有较好的溶解血凝块以及血栓的作用,与本研究结果一致。

心肌细胞凋亡是心肌损伤的最根本原因,而 MI/R 损伤引起的炎症细胞因子大量合成以氧化应激导致的大量氧自由基均可能会导致心肌细胞凋亡^[17]。本研

究结果显示,模型大鼠心肌组织中细胞凋亡率明显升高,调控线粒体凋亡途径的 Caspase-3、Bax 的表达水平明显升高,凋亡抑制蛋白 Bcl-2 表达明显降低,而 Pro-UK 预处理后,心肌细胞的凋亡率明显降低,Caspase-3、Bax 的表达水平明显降低,Bcl-2 明显升高,表明 Pro-UK 能够抑制 MI/R 后的心肌细胞凋亡,并且可能是通过抑制线粒体凋亡关键蛋白表达来实现的。NF- κ B 信号通路在介导氧化应激和细胞凋亡过程发挥着重要作用,当心肌组织发生氧化应激时,NF- κ B 被激活,由细胞质转核进入细胞核,通过与细胞凋亡基因 C-myc 等下游作用元件结合,促进细胞凋亡相关基因表达进而激活细胞凋亡途径^[18-19]。有研究表明 NF- κ B 活性在 MI/R 梗死区升高,并能够通过诱导过度炎症反应而导致细胞凋亡^[20]。本研究结果显示模型大鼠心肌梗死区组织中 NF- κ B 主要亚单位 p65 磷酸化水平明显升高,而经过 Pro-UK 预处理后,大鼠心肌梗死区组织中 p65 磷酸化水平明显降低,进一步分析可能是 Pro-UK 能够抑制 MI/R 后血栓的形成,心肌组织的炎症细胞因子以及氧自由基生成量减少,降低了对 NF- κ B 信号通路的激活,进而降低了心肌细胞凋亡,表明 Pro-UK 可抑制 NF- κ B 信号激活。

综上所述,Pro-UK 预处理可以改善 MI/R 大鼠心肌组织内纤溶平衡,抑制血栓的形成,减轻炎症反应,抑制心肌细胞凋亡进而减少心肌梗死面积,提高心率,其作用机制可能与 NF- κ B 信号通路相关。但由于 MI/R 损伤还可能引起其他因素变化,因此 Pro-UK 预处理的具体机制还有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Zununi Vahed S, Barzegari A, Zuluaga M, et al.

- Myocardial infarction and gut microbiota: An incidental connection [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 2018(129): 308-317.
- [2] Thiele H, Akin I, Sandri M, *et al.* PCI strategies in patients with acute myocardial infarction and cardiogenic shock [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(25): 2419-2432.
- [3] Sheng X, Chen M, Huang B, *et al.* Cardioprotective effects of low-level carotid baroreceptor stimulation against myocardial ischemia-reperfusion injury in canine model [J]. *J Interv Card Electrophysiol*, 2016, 45(2): 131-140.
- [4] Zhao L R, Zhao Z Q, Chen X L, *et al.* Safety and efficacy of prourokinase injection in patients with ST-elevation myocardial infarction: Phase IV clinical trials of the prourokinase phase study [J]. *Heart Vessels*, 2018, 33(5): 507-512.
- [5] Geng W, Zhang Q, Liu J M, *et al.* A randomized study of prourokinase during primary percutaneous coronary intervention in acute ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *J Interv Cardiol*, 2018, 31(2): 136-143.
- [6] 丁洪涛, 刘霖, 王智超, 等. p38 MAPK 抑制物对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及凋亡信号通路的影响 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2014, 13(6): 425-428.
- [7] Yu H J, Guan Q G, Guo L, *et al.* Gypenosides alleviate myocardial ischemia-reperfusion injury via attenuation of oxidative stress and preservation of mitochondrial function in rat heart [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2016, 21(3): 429-437.
- [8] 卢长青, 贾合磊, 雷震, 等. 五味子乙素通过诱导线粒体自噬减轻心肌缺血再灌注损伤 [J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(3): 418-422, 428.
- [9] Yao B J, He X Q, Lin Y H, *et al.* Cardioprotective effects of anisodamine against myocardial ischemia/reperfusion injury through the inhibition of oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 1253-1260.
- [10] Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 117: 76-89.
- [11] Yang M J, Linn B S, Zhang Y M, *et al.* Mitophagy and mitochondrial integrity in cardiac ischemia-reperfusion injury [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(9): 2293-2302.
- [12] 刘志远, 张金盈, 刘江波, 等. 尿激酶原结合无创性延迟肢体缺血预适应干预模型大鼠心肌缺血再灌注损伤 [J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(35): 5626-5632.
- [13] Xuan F F, Jian J. Epigallocatechin gallate exerts protective effects against myocardial ischemia/reperfusion injury through the PI3K/Akt pathway-mediated inhibition of apoptosis and the restoration of the autophagic flux [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1): 328-336.
- [14] 田岳凤, 李雷勇, 王军, 等. 针刺手厥阴心包经穴对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌酶谱的影响 [J]. *中国中医药科技*, 2011, 18(2): 89-90.
- [15] Sambola A, Ruiz-Meana M, Barba I, *et al.* Glycative and oxidative stress are associated with altered *Thrombus* composition in diabetic patients with ST-elevation myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 243: 9-14.
- [16] 汪雁博, 谷新顺, 傅向华. 国产重组人尿激酶原治疗急性心肌梗死有效性和安全性的 Meta 分析 [J]. *中国全科医学*, 2016, 19(17): 2083-2088.
- [17] 朱娜, 要瑞莉, 刘俊双, 等. 大鼠肢体缺血/再灌注后心肌细胞凋亡及氧化应激的调节作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(23): 6666-6668.
- [18] David A, Arnaud N, Fradet M, *et al.* C-Myc dysregulation is a co-transforming event for nuclear factor- κ B activated B cells [J]. *Haematologica*, 2017, 102(5): 883-894.
- [19] van Delft M A M, Huitema L F A, Tas S W. The contribution of NF- κ B signalling to immune regulation and tolerance [J]. *Eur J Clin Invest*, 2015, 45(5): 529-539.
- [20] Song X D, Feng J P, Yang R X. Alamandine protects rat from myocardial ischemia-reperfusion injury by activating JNK and inhibiting NF- κ B [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(15): 6718-6726.