DOI:10.16016/j.2097-0927.202306031

氨基葡萄糖通过 OGT-RIPK3 轴抑制缺血/再灌注引起的心肌细胞死亡

邓 莉,周丽萍,苏锦锋 448000 湖北 荆门,荆门市人民医院(荆楚理工学院附属中心医院)心功能科

[摘要] **目的** 探讨氨基葡萄糖(glucosamine,GlcN)对心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia/reperfusion injury,MI/RI)中细胞凋亡和程序性坏死的调控作用及其机制。**方法** 将 24 只体质量 220~250 g 雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为 4 组:假手术组、缺血再灌注组、缺血再灌注+氨基葡萄糖组(氨基葡萄糖组)和缺血再灌注+氨基葡萄糖+OGT-IN-2 共处理组(氨基葡萄糖+OGT-IN-2 组),每组 6 只。经开胸行左前降支结扎术 30 min 后再灌注 3 h 以收集 MI/RI 心脏组织和血清样本,假手术组只穿线不结扎。HE 染色观察各组大鼠心肌组织损伤程度,ELISA 检测各组大鼠血清中心肌损伤标志物 CK-MB、LDH 水平,TUNEL 染色观察细胞凋亡情况, MLKL 免疫组化评估程序性坏死水平,Western blot 检测各组心肌组织中 p-RIPK3、t-RIPK3、p-MLKL、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(N-acetylglucosaminyltransferase,OGT)的蛋白表达变化。**结果** GlcN 可明显改善 MI/RI 后心肌组织损伤程度并降低心肌损伤标志物 CK-MB、LDH 水平($P<0.05$),而 OGT 特异性抑制剂 OGT-IN-2 则明显削弱 GlcN 的心肌保护作用($P<0.05$)。TUNEL 染色和 MLKL 免疫组化结果显示 GlcN 可同时减少细胞凋亡和程序性坏死发生,而 OGT-IN-2 则明显削弱 GlcN 对凋亡和程序性坏死的抑制作用。Western blot 结果显示,GlcN 可上调 OGT 活性后抑制 RIPK3 介导的 p-RIPK3、p-MLKL、cleaved Caspase-9 和 cleaved Caspase-3 表达($P<0.05$),而 OGT-IN-2 则逆转 GlcN 的作用($P<0.05$)。**结论** GlcN 可以有效减轻 MI/RI,其机制可能是通过上调 OGT 表达从而抑制 RIPK3 介导的细胞凋亡和程序性坏死。

[关键词] 氨基葡萄糖;心肌缺血再灌注损伤;细胞凋亡;程序性坏死
[中图法分类号] R542.22; R963; R977.6 [文献标志码] A

Glucosamine inhibits cardiomyocyte death induced by myocardial ischemia/reperfusion *via* OGT-RIPK3 axis

DENG Li, ZHOU Liping, SU Jinfeng Department of Cardiac Function, Jingmen People's Hospital (Central Hospital Affiliated to Jingchu University of Technology), Jingmen, Hubei Province, 448000, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the regulatory effect and specific mechanism of glucosamine (GlcN) on cardiomyoctye apoptosis and necroptosis after myocardial ischemia/reperfusion (I/R) injury. **Methods** Twenty-four male SD rats (220~250 g) were randomly divided into sham operation group, I/R group, I/R+GlcN group (GlcN group) and I/R+GlcN+OGT-IN-2 group (GlcN+OGT-IN-2 group), with 6 animals in each group. For the mice of the I/R model groups, the left anterior descending artery was ligated for 30 min after thoracotomy followed by perfusion for 3 h, and then the injured cardiac tissues and serum samples were collected. While, the mice from the sham group were inflicted with only threaded but no ligation. HE staining was used to observe the severity of myocardial tissue damage, and ELISA was employed to measure the contents of serum myocardial injury markers CK-MB and LDH. TUNEL assay and immunohistochemical assay for mixed lineage kinase-like (MLKL) protein were applied respectively to measure cardiomyocyte apoptosis and necroptosis. Western blotting was performed to detect the protein changes

[基金项目] 荆门市一般科技计划项目(2022YFYB023)
[通信作者] 苏锦锋,E-mail:sujinfeng20@126.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

of p-RIPK3, t-RIPK3, p-MLKL, cleaved Caspase-9, cleaved Caspase-3, and N-acetylglucosaminyltransferase (OGT) in myocardial tissues of each group. **Results** GlcN treatment significantly improved the severity of myocardial injury and reduced the levels of myocardial injury markers CK-MB and LDH ($P<0.05$), while the addition of OGT-specific inhibitor OGT-IN-2 greatly weakened the cardioprotective effect of GlcN ($P<0.05$). TUNEL assay and MLKL immunohistochemistry confirmed that GlcN reduced cardiomyocyte apoptosis and necroptosis at the same time, while OGT-IN-2 also significantly attenuated the inhibitory effect of GlcN on cell death. Western blotting suggested that GlcN enhanced the activity of OGT and then inhibited the expression of p-RIPK3, p-MLKL, cleaved Caspase-9 and cleaved Caspase-3 through RIPK3 mediation ($P<0.05$), while OGT-IN-2 reversed the above effects of GlcN ($P<0.05$). **Conclusion** GlcN can effectively alleviate myocardial I/R injury, and its mechanism may be due to its inhibiting RIPK3-mediated apoptosis and necroptosis by up-regulating the expression of OGT.

[**Key words**] glucosamine; myocardial ischemia/reperfusion injury; apoptosis; necroptosis

Supported by the General Project of Jingmen Science and Technology Plan (2022YFYB023). Corresponding author: SU Jinfeng, E-mail: sujinfeng20@126.com

急性心肌梗死(acute myocardial infarction,AMI)是世界范围内居民死亡的主要原因[1]。尽管近20年来,广泛开展的再灌注治疗显著降低了AMI患者住院病死率,但患者的长期病死率仍逐年增长[2]。其主要原因是恢复血液灌注的过程可导致心肌功能失调、代谢紊乱以及诱发心电活动异常并加重缺血心肌的损伤,称之为心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia/reperfusion injury,MI/RI)[3-4]。细胞凋亡和程序性坏死被证明是MI/RI中主要的细胞死亡方式。细胞凋亡是被一致认为大量发生在各种疾病中的细胞主动死亡方式,近年来研究证明有部分坏死的发生也是受信号传导所调控的主动死亡方式,被称为细胞程序性坏死[5]。在MI/RI中,程序性坏死和细胞凋亡并非独立发生,而是存在相互关联的,RIPK3(receptor-interacting protein 3)被证明可同时介导程序性坏死和凋亡的发生[6]。既往研究表明,N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(O-linked N-acetylglucosamine transferase,OGT)可靶向RIPK3的苏氨酸467位点进行O-糖基化修饰,从而促进RIPK3的蛋白快速降解,以阻断其下游炎症反应和程序性坏死[7]。氨基葡萄糖(glucosamine,GlcN)是临床上用于减轻骨关节炎的药物,已被证明可显著上调OGT的表达从而发挥心肌保护作用,但具体机制尚未阐明[8]。本研究拟探讨GlcN可否通过上调OGT从而抑制RIPK3表达及活化,最终同时阻断程序性坏死和凋亡的发生从而减轻MI/RI。

1 材料与方法

1.1 实验材料

DMSO购自碧云天公司,氨基葡萄糖购自阿拉丁公司,OGT-IN-2购自MCE公司。CK-MB试剂盒购自南京建成生物,LDH试剂盒购自南京建成生物公司,HE试剂盒购自碧云天公司,TUNEL免疫荧光染色试剂盒购自碧云天公司。p-RIPK3一抗(货号91702S)购自CST公司,p-MLKL混合谱系激酶结构域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein,MLKL)一抗(货号37333S)、cleaved Casapase-9一抗(货号9509T)、cleaved Casapase-3一抗(货号9664T)、t-RIPK3一抗(货号10188T)、OGT一抗(货号24083S)均购自CST公司,β-actin一抗(货号81115-1-RR)购自武汉三鹰公司,兔二抗(货号A0208)购自碧云天公司。小动物呼吸机购自塔望科技公司。SPF级雄性Sprague-Dawley大鼠购自三峡大学实验动物中心,质量合格证为SCXK(鄂2017-0012)。

1.2 大鼠MI/RI模型构建

将24只体质量220~250 g雄性Sprague-Dawley大鼠按随机数字表法分为4组:假手术组、缺血再灌注组、缺血再灌注+氨基葡萄糖组(氨基葡萄糖组)和缺血再灌注+氨基葡萄糖+OGT-IN-2共处理组(氨基葡萄糖+OGT-IN-2组)。20 mg/kg的GlcN和10 mg/kg OGT-IN-2或等量的DMSO根据分组溶解在生理盐水中,于术前24 h经腹腔注射并于术前30 min再次经腹腔注射。所有大鼠经3%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉后固定于鼠台,使用22 G留置针进行气管插管,连接微型动物呼吸机维持大鼠通气。紧靠左侧胸骨于第2~3肋间打开胸腔,暴露心脏,撕开心包膜后,在动脉圆锥与左心耳根部下3~5 mm处结扎冠状动脉左前降支,结扎30 min后,松开缝线使冠状动脉恢复血液再通3 h。期间记录肢体导联心电图,以Ⅱ导联ST段抬高、T波高耸标志心肌缺血,以松开缝线后ST段下降、T波逐渐恢复标志再灌注成功。假手术组大鼠只穿线不结扎。本研究经三峡大学实验动物福利与伦理审查委员会批准(2022080C)。

1.3 心肌组织 HE 染色

各组大鼠经相应处理后,将心脏取出保留左室心肌组织,使用 4 ℃预冷的 PBS 溶液将心肌组织冲洗干净,置入 40 g/L 多聚甲醛溶液中固定 12 h。使用流水冲洗固定后的心肌标本,经浓度由低到高的乙醇进行脱水处理。脱水后使用二甲苯进行透明处理,最后将已透明处理的心肌组织块进行组织包埋,使用时切片。切片后依次经过烤片、二甲苯脱蜡以及梯度乙醇脱水和纯水清洗后,使用苏木精溶液进行细胞核染色。经自来水清洗和纯水浸润后,依次经过 1%的盐酸乙醇、自来水冲洗、Scott 溶液和纯水浸润等处理后,使用伊红溶液进行细胞质染色。随后经过梯度乙醇脱水、二甲苯处理以及封片后,于显微镜下观察、拍照。

1.4 心肌组织 TUNEL 染色

将包埋好的心肌组织石蜡块用切片机切成厚度约 4 μm 的薄片,脱蜡切片于枸橼酸缓冲液中 95 ℃加热 20 min 左右。室温冷却后,使用 PBS 将切片洗涤 3 次。于切片组织上滴加 3%的过氧化氢于室温下处理 15 min 后,使用 PBS 洗涤切片 3 次。取 TUNEL 试剂盒内适量试剂 1(TdT):试剂2(dUTP):buffer 按1:5:50 混合,加到圈内覆盖组织,切片平放于湿盒内,37 ℃恒温箱孵育 1 h,湿盒内加少量水保持湿度。用山羊血清封闭 30 min。去除周围液体后加入稀释一抗 α-actinin 并于湿盒中 4 ℃培育过夜。使用 PBS 洗涤 3 次后擦干切片,加入对应种属的二抗,避光孵育 30 min。洗涤 3 d 后滴加 DAPI 染液染细胞核,避光室温孵育 8 min。将玻片置于 PBS 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,每次 5 min。切片稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片,并于显微镜下观察、采集图像。

1.5 心肌组织 MLKL 免疫组化

将包埋好的心肌组织石蜡块用切片机切成厚度约 4 μm 的薄片,脱蜡切片于枸橼酸缓冲液中 95 ℃加热 20 min 左右。室温冷却后使用 PBS 将切片洗涤 3 次。于切片组织上滴加 3%的过氧化氢于室温下处理 15 min 后,使用 PBS 洗涤切片 3 次。使用山羊血清封闭 30 min。去除周围液体后加入稀释 MLKL 一抗,并于湿盒中 4 ℃培育过夜。PBS 洗涤 3 次后加入二抗,37 ℃孵育 30 min。再次 PBS 洗涤 3 次,每次各 5 min,并擦干后滴加新鲜配制的 DAB 显色液后使用苏木精行 2 min 的复染后,水中洗涤并行 1%盐酸乙醇的分化和 PBS 的洗涤返蓝。再次水中洗涤后行脱水和透明,风干后封片并于显微镜下观察、采集图像。

1.6 ELISA 检测 LDH 和 CK-MB 水平

大鼠心肌 I/R 处理后,于下腔静脉采血约 3 mL,以 1 000 r/min 离心 10 min 后保留上层清亮的血清,按 1:9的比例加入 CK-MB、LDH 释放试剂,于培养箱中孵育 1 h,分别取待测孔的上清液 120 μL 加入新的 96 孔板中,于酶标仪中测定 450 nm 波长下的吸光度。

1.7 Western blot 检测蛋白表达及活化

取心肌组织 40 mg 经研磨、裂解后,使用高速离心机以 13 000 ×g 离心样本 15 min 后,取得上清液 200 μL,加入 50 μL 的 5×蛋白缓冲液,蛋白变性后于 -20 ℃冰箱暂时保存蛋白标本。经蛋白定量后,制配 SDS-PAGE 电泳胶后进行电泳、转膜,使用 5%脱脂牛奶封闭 2 h 后洗膜 3 次,加入相应的一抗于 4 ℃冰箱孵育过夜,次日移除一抗后洗膜 3 次,室温下孵育二抗 2 h,洗膜 3 次后加入显影液以显影。

1.8 统计学分析

使用 SPSS 20.0 软件进行数据统计分析,定量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用 LSD 法。双侧检验,$P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 氨基葡萄糖可减轻 MI/RI 诱导的心肌损伤

HE 染色观察各组心肌组织损伤情况(图 1),与假手术组相比,缺血再灌注组心肌组织间隙、心肌断裂以及中性粒细胞浸润程度显著增加($P<0.05$),然而使用 GlcN 预处理可有效减轻以上的心肌损伤情况($P<0.05$),但这一效应却被 OGT-IN-2 所明显逆转($P<0.05$)。与之一致的是,与假手术组相比,缺血再灌注组血清中 CK-MB 和 LDH 的浓度显著增加($P<0.05$),而使用 GlcN 预处理后血清中 CK-MB 和 LDH 的浓度显著降低($P<0.05$),经 GlcN 和 OGT-IN-2 共处理可有效削弱 GlcN 的心肌保护作用($P<0.05$)。以上结果提示,GlcN 可有效减轻 MI/RI,GlcN 的心肌保护作用明显依赖于 OGT 的活性。

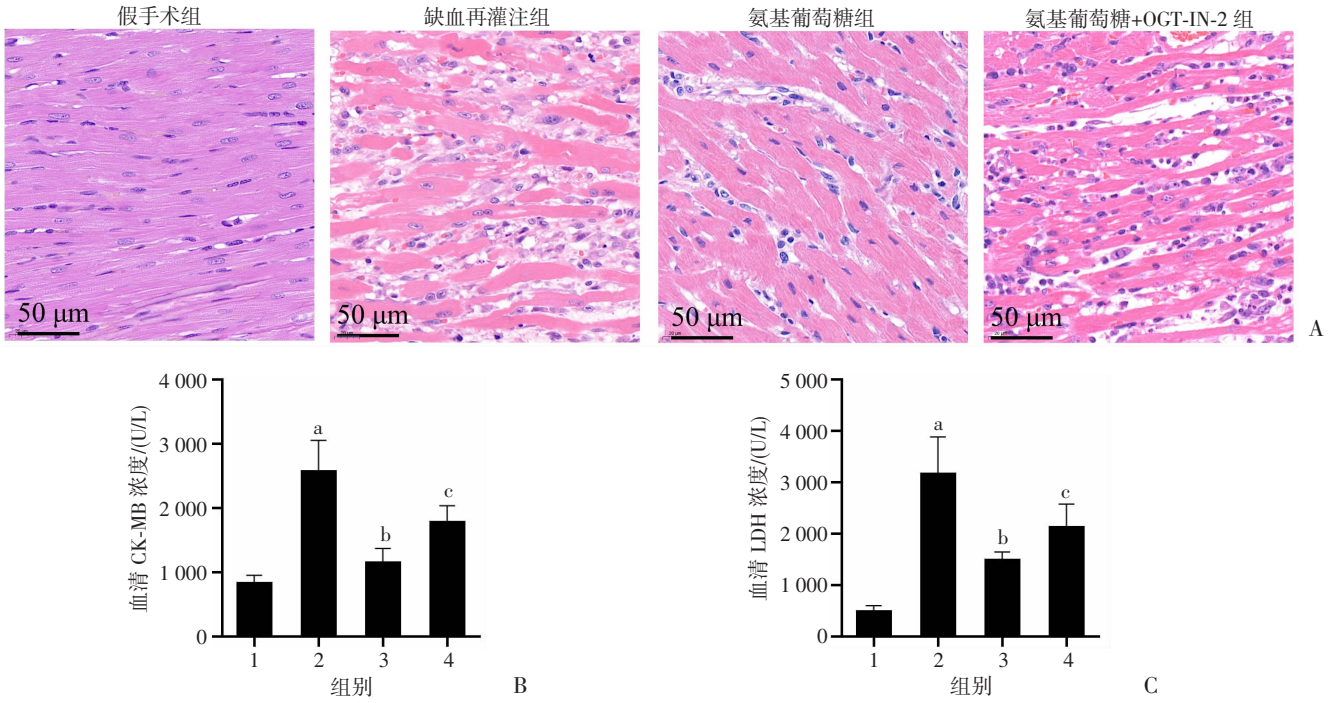
2.2 氨基葡萄糖可抑制 MI/RI 诱导的细胞凋亡

TUNEL 染色观察各组心肌组织中细胞凋亡情况(图 2)。与假手术组相比,缺血再灌注组心肌组织中 TUNEL 阳性率显著增加,使用 GlcN 预处理则显著减少了 MI/RI 所增加的 TUNEL 阳性率($P<0.05$),提示 GlcN 预处理可有效抑制 MI/RI 引起的细胞凋亡发生。然而,与氨基葡萄糖组相比,GlcN 和 OGT-IN-2 共处理则明显削弱了 GlcN 对凋亡的抑制作用($P<0.05$)。以上结果提示,GlcN 可有效减轻 MI/RI 诱发的细胞凋亡,GlcN 的凋亡抑制作用明显依赖于 OGT 的活性。

2.3 氨基葡萄糖可抑制 MI/RI 诱导的程序性坏死

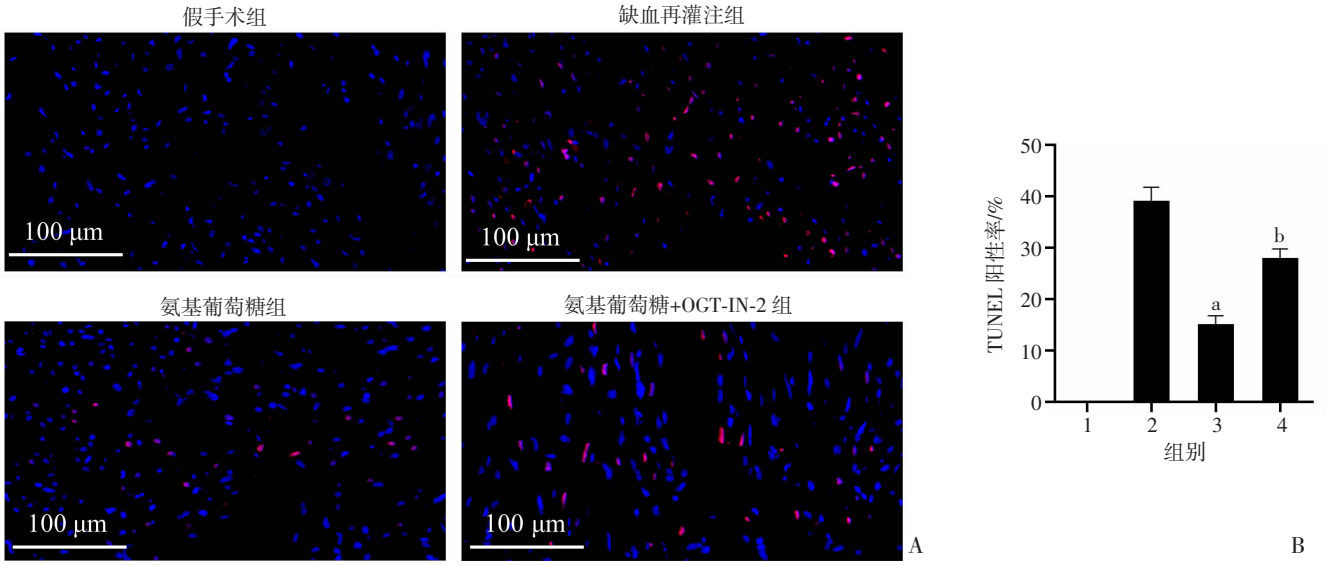
免疫组化染色观察各组心肌组织中 MLKL 表达丰度和细胞内定位情况(图 3)。与假手术组相比,缺血

再灌注组心肌组织中 MLKL 表达丰度明显升高($P<0.05$),且主要定位于细胞质中,GlcN 预处理则可显著降低缺血再灌注处理后心肌组织中 MLKL 表达丰度($P<0.05$),然而 GlcN 和 OGT-IN-2 共处理却可明显削弱 GlcN 对 MI/RI 诱导的 MLKL 上调($P<0.05$)。以上结果提示,GlcN 可有效减轻 MI/RI 诱发的细胞程序性坏死,GlcN 对细胞程序性坏死的抑制作用依赖于 OGT 的活性。



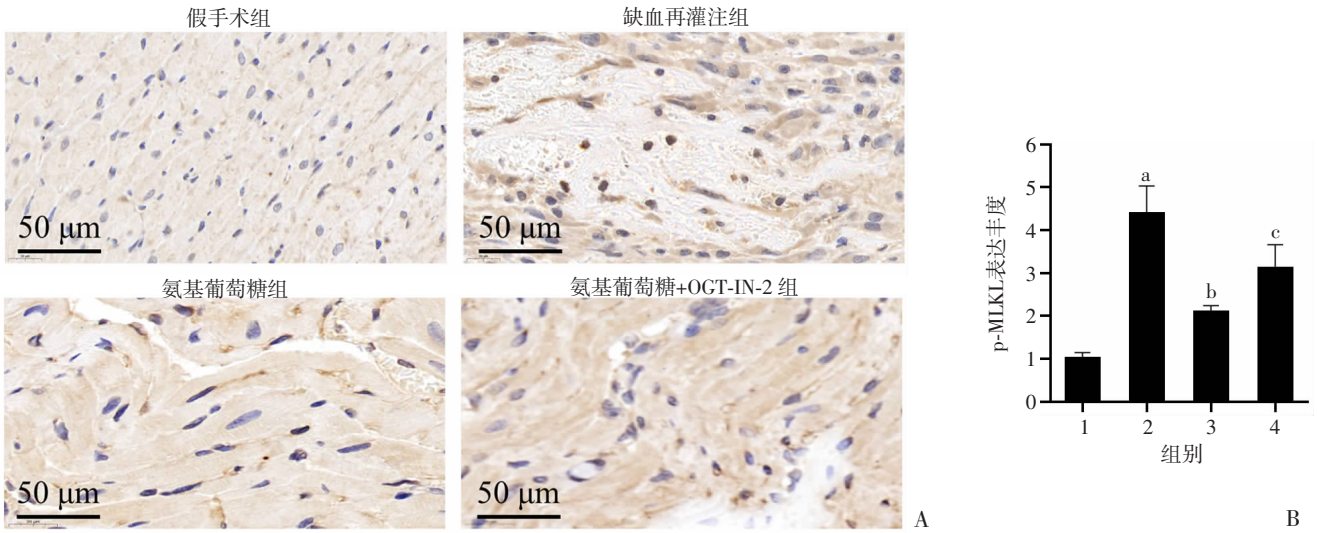
A:心肌组织 HE 染色;B、C:血清中 CK-MB、LDH 浓度　1:假手术组;2:缺血再灌注组;3:氨基葡萄糖组;4:氨基葡萄糖+OGT-IN-2 组;a:$P<0.05$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较;c:$P<0.05$,与氨基葡萄糖组比较

图 1　氨基葡萄糖对 MI/RI 所造成心肌损伤的影响



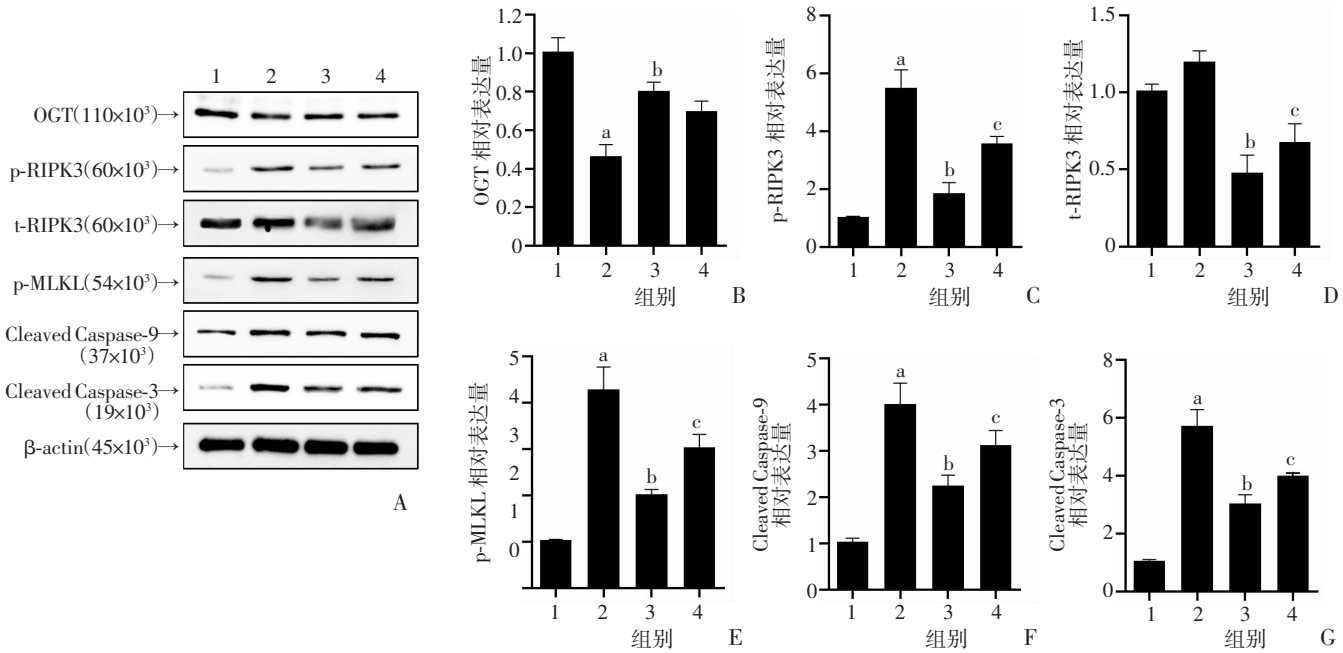
A:心肌 TUNEL 染色;B:TUNEL 阳性率　1:假手术组;2:缺血再灌注组;3:氨基葡萄糖组;4:氨基葡萄糖+OGT-IN-2 组;a:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较;b:$P<0.05$,与氨基葡萄糖组比较

图 2　氨基葡萄糖对 MI/RI 诱导细胞凋亡的影响



A:p-MLKL 的免疫组化染色;B:p-MLKL 表达丰度 1:假手术组;2:缺血再灌注组;3:氨基葡萄糖组;4:氨基葡萄糖+OGT-IN-2 组;a:$P<0.05$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较;c:$P<0.05$,与氨基葡萄糖组比较

图 3 氨基葡萄糖对 MI/RI 诱导细胞程序性坏死的影响



1:假手术组;2:缺血再灌注组;3:氨基葡萄糖组;4:氨基葡萄糖+OGT-IN-2 组;a:$P<0.05$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较;c:$P<0.05$,与氨基葡萄糖组比较

A:Western blot 检测大鼠心肌组织 OGT、p-RIPK3、t-RIPK3、p-MLKL、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 蛋白表达水平;B~G:分别为 OGT、p-RIPK3、t-RIPK3、p-MLKL、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 蛋白相对表达量分析

图 4 氨基葡萄糖上调 OGT 活性以同时调控 MI/RI 诱导的凋亡和程序性坏死

2.4 氨基葡萄糖依赖上调 OGT 水平从而抑制 RIPK3 介导的凋亡和程序性坏死

Western blot 检测各组心肌组织中凋亡和程序性坏死的关键蛋白表达(图 4)。与假手术组相比,缺血再灌注组心肌组织中 p-RIPK3、p-MLKL、cleaved Caspase-9 和 cleaved Caspase-3 的蛋白表达显著增加($P<0.05$),OGT 的蛋白表达明显下调($P<0.05$),提示 I/R 处理可下调 OGT 水平。与缺血再灌注组相比,GlcN 预处理则可显著上调 OGT 蛋白表达($P<0.05$),并抑制 p-RIPK3、p-MLKL、cleaved Caspase-9 和 cleaved

Caspase-3 的蛋白表达($P<0.05$)。而 GlcN 和 OGT-IN-2 共处理后,同时上调凋亡和程序性坏死的关键蛋白表达($P<0.05$)。与假手术组相比,缺血再灌注处理仅微弱地升高了 t-RIPK3 的蛋白表达,2 组间差异无统计学意义,但 GlcN 预处理后,t-RIPK3 的蛋白表达显著降低($P<0.05$),然而 GlcN 和 OGT-IN-2 共处理后,t-RIPK3 的蛋白表达较 GlcN 预处理明显上调($P<0.05$)。以上结果提示,GlcN 可通过上调 OGT 蛋白水平从而同时抑制凋亡和程序性坏死发生,OGT 的表达上调可促进 t-RIPK3 的蛋白降解从而减少 p-RIPK3 的表达活化,因此 GlcN 依赖于上调 OGT 水平从而抑制 RIPK3 介导的凋亡和程序性坏死。

3 讨论

MI/RI 是严重影响 AMI 患者接受血运重建治疗远期预后的重要因素。MI/RI 导致大量心肌细胞死亡,研究证明,50%的最终心肌梗死面积由 MI/RI 所造成[9]。然而,目前临床上仍缺乏有效治疗 MI/RI 的方法,极大限制了再灌注治疗的临床获益。本研究结果显示,GlcN 可通过同时抑制细胞凋亡和程序性坏死发生,从而有效地降低心肌损伤标志物 LDH 和 CK-MB 的水平,并明显改善心肌组织损伤程度,其机制可能是 GlcN 上调 OGT 活性后抑制 RIPK3 介导的细胞凋亡和程序性坏死。

细胞凋亡和程序性坏死是 MI/RI 中心肌细胞的主要死亡方式,已被证明是可调控的程序性细胞死亡[10]。既往研究认为坏死的过程是被动且不可调控的,然而最近研究发现部分心肌细胞坏死是受严格调控的细胞程序性死亡,由 RIPK1/RIPK3/MLKL 介导发生,主要表现为细胞膜破裂以及细胞内死亡产物释放到细胞外引起无菌性炎症反应[11]。细胞凋亡包括死亡受体介导的外源性凋亡和线粒体或内质网介导的内源性凋亡,分别由 Capsase-8 和 Caspase-9 活化后启动 Caspase 级联反应[12]。程序性坏死和凋亡在 MI/RI 中同时发生,KOSHINUMA 等[13]发现,分别使用小分子药物 Z-VAD(凋亡阻断剂)和 Nec(程序性坏死阻断剂)预处理后心肌梗死面积均较手术组显著缩小约 20%,同时使用这 2 种药物则可缩小约 40%的心肌梗死面积,提示同时抑制凋亡和程序性坏死的发生可最大程度地减轻 MI/RI。ZHANG 等[14]发现,无论是在阿霉素诱导的心肌毒性还是缺氧/复氧诱导的心肌损伤中,敲除 RIPK3 均可减少约 70%的心肌细胞死亡,而过表达 RIPK3 不仅增加了程序性坏死的发生,还同时促进了细胞凋亡。研究证明 GlcN 预处理可有效减轻心肌细胞缺氧/复氧损伤诱导的内源性细胞凋亡[15]。本研究结果发现,GlcN 可显著减少心肌组织中 TUNEL 阳性率,表明 Glcn 可抑制细胞凋亡发生。此外,免疫组化染色结果显示,GlcN 可降低心肌组织中 MLKL 的表达丰度,表明 GlcN 可同时抑制凋亡和程序性坏死的发生。检测细胞凋亡和程序性坏死关键蛋白表达结果亦提示,GlcN 同时抑制了细胞凋亡和程序性坏死的发生。

研究表明,MI/RI 通过下调 OGT 的转录水平和蛋白表达,显著降低了心肌细胞内蛋白的 O-GlcNAc 修饰水平,而缺血预处理可上调 OGT 表达从而减轻糖尿病大鼠和非糖尿病大鼠的 MI/RI 并缩小心肌梗死面积[16-17]。GlcN 是 OGT 的特异性激动剂,在临床上被广泛应用于骨关节炎的软骨保护和炎症抑制。研究发现部分冠心病患者会因患骨关节炎而日常服用 GlcN,与非接受 GlcN 治疗的患者相比,在平均 8.9 年的随访过程中,常规使用 GlcN 的冠心病患者降低了 15%的全因死亡率和 18%的心血管死亡率,并不增加糖尿病的发生风险[18]。因此,GlcN 可能是降低冠心病患者长期心血管风险的有效药物。然而 GlcN 减轻 MI/RI 的基础机制尚未被证明。本研究发现,GlcN 可上调 OGT 表达水平,促进 t-RIPK3 蛋白降解并抑制 p-RIPK3 的表达活化,从而同时抑制细胞凋亡和程序性坏死这 2 种 MI/RI 中主要的细胞程序性死亡发生。

综上所述,本研究结果表明,GlcN 可以有效减轻 MI/RI,其机制可能是通过上调 OGT 表达从而抑制 RIPK3 介导的细胞凋亡和程序性坏死。本研究为 GlcN 应用于 AMI 患者的预后改善提供了理论基础,为开发减轻 MI/RI 的治疗药物提供了实验依据。

致谢 感谢三峡大学实验中心对本研究提供的实验支持

参考文献:

[1] CHO K H, HAN X Y, AHN J H, *et al*. Long-term outcomes of patients with late presentation of ST-segment elevation myocardial infarction[J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 77(15): 1859-1870. DOI: 10.1016/j.jacc.2021.02.041.

[2] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2019 概要[J]. 中国循环杂志, 2020, 35(9): 583-612.. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2020.09.001. Writing Group for Chinese Cardiovascular Health and Diseases Report. Report on cardiovascular health and diseases in China 2019: an updated summary[J]. Chin Circ J, 2020, 35(9): 583-612. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2020.09.001.

[3] GONG F F, VAITENAS I, MALAISRIE S C, *et al*. Mechanical complications of acute myocardial infarction: a review[J]. JAMA Cardiol, 2021, 6(3): 341-349. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.3690.

[4] KAKAVAND H, AGHAKOUCHAKZADEH M, COONS J C, *et al*. Pharmacologic prevention of myocardial ischemia-reperfusion injury in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2021, 77(4): 430-449. DOI: 10.1097/FJC.0000000000000980.

[5] LI W J, NI H X, WU S F, *et al*. Targeting RIPK3 oligomerization blocks necroptosis without inducing apoptosis [J]. FEBS Lett, 2020, 594(14): 2294-2302. DOI: 10.1002/1873-3468.13812.

[6] ZHENG M, KANNEGANTI T D. The regulation of the ZBP1-NLRP3 inflammasome and its implications in pyroptosis, apoptosis, and necroptosis (PANoptosis)[J]. Immunol Rev, 2020, 297(1): 26-38. DOI: 10.1111/imr.12909.

[7] GIOGHA C, LAWLOR K E. Sugar fix keeps RIPK3 at bay [J]. Immunity, 2019, 50(3): 539-541. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.02.018.

[8] JEON J H, SUH H N, KIM M O, *et al*. Glucosamine-induced OGT activation mediates glucose production through cleaved Notch1 and FoxO1, which coordinately contributed to the regulation of maintenance of self-renewal in mouse embryonic stem cells[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(17): 2067-2079. DOI: 10.1089/scd.2013.0583.

[9] HEUSCH G. Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective[J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(12): 773-789. DOI: 10.1038/s41569-020-0403-y.

[10] LI L, LIN L, LEI S Q, *et al*. Maslinic acid inhibits myocardial ischemia-reperfusion injury-induced apoptosis and necroptosis *via* promoting autophagic flux[J]. DNA Cell Biol, 2022, 41(5): 487-497. DOI: 10.1089/dna.2021.0918.

[11] MASLOV L N, POPOV S V, NARYZHNAYA N V, *et al*. The regulation of necroptosis and perspectives for the development of new drugs preventing ischemic/reperfusion of cardiac injury[J]. Apoptosis, 2022, 27(9/10): 697-719. DOI: 10.1007/s10495-022-01760-x.

[12] YE L P, HE S Q, MAO X L, *et al*. Effect of hepatic macrophage polarization and apoptosis on liver ischemia and reperfusion injury during liver transplantation [J]. Front Immunol, 2020, 11: 1193. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01193.

[13] KOSHINUMA S, MIYAMAE M, KANEDA K, *et al*. Combination of necroptosis and apoptosis inhibition enhances cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. J Anesth, 2014, 28(2): 235-241. DOI: 10.1007/s00540-013-1716-3.

[14] ZHANG T, ZHANG Y, CUI M Y, *et al*. CaMKII is a RIP3 substrate mediating ischemia- and oxidative stress-induced myocardial necroptosis[J]. Nat Med, 2016, 22(2): 175-182. DOI: 10.1038/nm.4017.

[15] CHAMPATTANACHAI V, MARCHASE R B, CHATHAM J C. Glucosamine protects neonatal cardiomyocytes from ischemia-reperfusion injury *via* increased protein O-GlcNAc and increased mitochondrial Bcl-2[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2008, 294(6): C1509-C1520. DOI: 10.1152/ajpcell.00456.2007.

[16] 邓莉, 苏锦锋. O-GlcNAc 修饰在心肌缺血再灌注损伤中的作用[J]. 生命的化学, 2022, 42(10): 1835-1841.
DENG L, SU J F. Role of O-GlcNAcylation in myocardial ischemia/reperfusioninjury[J]. Chem Life, 2022, 42(10): 1835-1841.

[17] JENSEN R V, ANDREADOU I, HAUSENLOY D J, *et al*. The role of O-GlcNAcylation for protection against ischemia-reperfusion injury[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(2): 404. DOI: 10.3390/ijms20020404.

[18] LI Z H, GAO X, CHUNG V C, *et al*. Associations of regular glucosamine use with all-cause and cause-specific mortality: a large prospective cohort study[J]. Ann Rheum Dis, 2020, 79(6): 829-836. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-217176.

(**收稿**:2023-06-10;**修回**:2023-09-05)

(编辑 汪勤俭)