

本文引用: 罗婷, 李展, 李珊, 等. 番茄红素激活 LXR/PI3K/Akt 通路介导线粒体活性影响心肌微血管重塑[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(2): 108-116. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.02.003.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2025)33-02-0108-09

番茄红素激活 LXR/PI3K/Akt 通路介导线粒体活性影响心肌微血管重塑

罗婷¹, 李展¹, 李珊², 周建华¹, 黄艳¹, 付峰波³

1. 长沙医学院第一临床学院内科学教研室, 2. 长沙医学院第一临床学院康复医学教研室,
3. 长沙医学院附属第一医院心血管内科, 湖南省长沙市 410129

[摘要] [目的] 探讨番茄红素对心肌微血管重塑的影响,并基于 LXR/PI3K/Akt 通路揭示其作用机制。[方法] 选取 50 只 SD 大鼠构建冠状动脉微循环障碍模型,将其分为假手术组、模型组、低/中/高剂量番茄红素组。采用超声心动图检测大鼠左心室舒张末内径(LVEDD)、左心室收缩末内径(LVESD)、左心室射血分数(LVEF)和左心室短轴缩短率(LVFS),采用 ELISA 检测肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、血管内皮生长因子(VEGF)、血小板源性生长因子(PDGF),采用 Western blot 检测基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)和 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达,采用免疫组织化学染色检测肝 X 受体 α (LXR α)和肝 X 受体 β (LXR β)的表达。在体外,构建心脏微血管内皮细胞(MCMEC)缺氧模型,设置对照组、缺氧组、缺氧+低/中/高剂量番茄红素组、LXR/PI3K/Akt 通路抑制组、线粒体分裂抑制组。采用 CCK-8 检测细胞活力,采用免疫荧光检测 LXR α 和 LXR β ,采用 ELISA 检测超氧化物歧化酶(SOD)、活性氧(ROS)、VEGF、PDGF,采用 Western blot 检测线粒体功能相关蛋白(Drp1、Fis1、LC3-II/LC3-I、PINK1、Parkin 和 Opa1)及 MMP-9、MMP-2 和 PI3K/Akt 通路相关蛋白的表达,采用 HE 染色评估心肌组织损伤。[结果] 与假手术组相比,模型组心肌损伤严重,LVEDD、LVESD、CK 和 LDH 增加,LVEF、LVFS 降低,VEGF、PDGF 水平及 MMP-9、MMP-2 的表达下调,p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 的表达降低,LXR α 和 LXR β 的表达下调。在细胞中,与对照组相比,缺氧组细胞活力降低,VEGF、PDGF 水平及 MMP-9 和 MMP-2 的表达下调,p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 的表达下降。番茄红素处理可以有效逆转上述变化且提高 LXR α 和 LXR β 的表达。此外,番茄红素还可以逆转并增强或降低由 LXR/PI3K/Akt 通路抑制剂或线粒体分裂抑制剂所造成的 Drp1、Fis1、LC3-II/LC3-I、PINK1、Parkin 和 Opa1 的改变。[结论] 番茄红素通过激活 LXR/PI3K/Akt 通路,增强线粒体活性,降低氧化应激并改善心肌微血管重塑。

[关键词] 番茄红素; LXR/PI3K/Akt 通路; 线粒体活性; 微血管重塑

[中图分类号] R5;R363

[文献标识码] A

Lycopene activates the LXR/PI3K/Akt pathway to mediate mitochondrial activity affecting myocardial microvascular remodeling

LUO Ting¹, LI Zhan¹, LI Shan², ZHOU Jianhua¹, HUANG Yan¹, FU Fengbo³

1. Internal Medicine Teaching and Research Office, First Clinical College of Changsha Medical University, 2. Rehabilitation Medicine Teaching and Research Office, First Clinical College of Changsha Medical University, 3. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Changsha Medical University, Changsha, Hunan 410219, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of lycopene on myocardial microvascular remodeling and elucidate its underlying mechanisms via the LXR/PI3K/Akt pathway. **Methods** 50 SD rats were selected to establish a coronary microcirculation disorder model and divided into sham, model and low/mid/high concentration lycopene groups. Left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end-systolic diameter (LVESD), left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) in rats were detected using echocardiography, creatine kinase

[收稿日期] 2024-09-30

[修回日期] 2024-12-04

[基金项目] 湖南省教育厅科学研究项目(23C0458)

[作者简介] 罗婷, 硕士研究生, 讲师, 主要从事心血管疾病的临床与基础研究, E-mail: 837800797@qq.com。通信作者付峰波, 副主任医师, 主要从事心血管疾病的诊断、治疗和基础研究, E-mail: 13574139654@163.com。

(CK), lactate dehydrogenase (LDH), vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet-derived growth factor (PDGF) were detected using ELISA, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and PI3K/Akt pathway related protein expression were detected using Western blot, and liver X receptor α (LXR α) and liver X receptor β (LXR β) expression were detected using immunohistochemical staining. *In vitro*, a hypoxia model of myocardial microvascular endothelial cells (MCMEC) was established, with groups including control, hypoxia, hypoxia+low/mid/high concentration lycopene, LXR/PI3K/Akt pathway inhibitor group and mitochondrial fission inhibitor group. Cell viability was detected using CCK-8, LXR α and LXR β were detected using immunofluorescence, superoxide dismutase (SOD), reactive oxygen species (ROS), VEGF and PDGF levels were detected using ELISA, mitochondrial function-related proteins (Drp1, Fis1, LC3-II/LC3-I, PINK1, Parkin and Opa1) and MMP-9, MMP-2 and PI3K/Akt pathway related proteins were detected using Western blot, and myocardial tissue injury was evaluated using HE staining. **Results**

Compared with the sham group, the model group exhibited severe myocardial injury, with increased levels of LVEDD, LVESD, CK and LDH, decreased LVEF and LVFS, downregulated expression of VEGF, PDGF, MMP-9 and MMP-2, decreased expression of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt, and downregulated expression of LXR α and LXR β . In cells, compared with the control group, the hypoxia group showed decreased cell viability, downregulated expression of VEGF, PDGF, MMP-9, and MMP-2, and decreased expression of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt. Lycopene treatment could effectively reverse the above changes and increase the expression of LXR α and LXR β . Moreover, lycopene could also reverse and modulate the characteristic alterations of Drp1, Fis1, LC3-II/LC3-I, PINK1, Parkin and Opa1 induced by LXR/PI3K/Akt pathway inhibitors or mitochondrial fission inhibitors. **Conclusion** Lycopene enhances mitochondrial activity, reduces oxidative stress and improves myocardial microvascular remodeling by activating the LXR/PI3K/Akt pathway.

[**KEY WORDS**] lycopene; LXR/PI3K/Akt pathway; mitochondrial activity; microvascular remodeling

冠状动脉微血管功能障碍(coronary microvascular dysfunction,CMD)是一种以冠状动脉微循环结构或功能异常为特征的疾病,导致冠状动脉血流(coronary blood flow,CBF)受损,最终引发心肌缺血^[1-2]。CMD是一种多因素疾病,在临床心血管疾病中普遍存在^[3]。研究发现,CMD可能与心血管事件的发生独立相关^[4]。心肌微血管重塑是一个多细胞的机体适应性反应过程,其发生、发展是一个复杂的病理过程,涉及免疫系统、细胞凋亡、细胞信号调节等生物过程^[5]。CMD发生后,改善心肌微血管重塑过程是临床治疗心血管疾病中一个相当重要的治疗方法^[6]。因此,探究CMD中心肌微血管重塑的机制或可为CMD的治疗提供理论依据。

番茄红素是从番茄、胡萝卜、西瓜、草莓等果蔬中提取得到的类胡萝卜素^[7]。番茄红素作为抗氧化剂在预防心血管疾病中具有有益作用^[8]。此外,番茄红素还能调节与血管生成相关的因子,促进新血管生成^[9]。这些机制共同作用,使得番茄红素在促进血管生成方面具有显著的功效。然而,番茄红素对CMD发生后心肌微血管重塑是否有利尚无研究报道。

LXR/PI3K/Akt信号通路在细胞增殖、迁移和侵袭中起重要作用^[10]。有研究发现,番茄红素与LXR/PI3K/Akt信号通路密切相关^[11]。LXR/PI3K/Akt信号通路被报道参与调控血管重塑^[12]。然而,

番茄红素是否通过调控这一通路影响CMD发生后心肌微血管重塑尚不清楚。因此,本研究旨在探讨番茄红素对CMD的保护作用,并基于LXR/PI3K/Akt通路探讨其对CMD发生后心肌微血管重塑的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

从湖南斯莱克景达实验动物有限公司购买雄性SD大鼠50只,8周龄,体质量为(250±10)g。所有大鼠分笼饲养(3只/笼)于动物中心实验室,饲养温度控制在(24±1)℃,湿度控制在60%±5%,昼夜明暗交替时间为12h/12h。所有大鼠均提供标准饲料,并且保证自由饮水,适应性饲养4周以适应环境,防止应激反应。

1.2 CMD大鼠模型的构建

将大鼠随机分为假手术组、模型组、低/中/高剂量番茄红素组(L-Lycopene/M-Lycopene/H-Lycopene组),每组10只,按照低/中/高剂量番茄红素组灌胃10mg/kg、20mg/kg、50mg/g番茄红素,造模后在0h和24h进行灌胃。大鼠通过面罩进行异氟醚和纯氧的混合气体(1:49,1.5L/min)麻醉。为防止分泌物对呼吸道的影响,于术前10min腹腔注射硫酸阿托品注射液。将大鼠按仰卧位固定于

手术板上,局部开胸手术暴露心脏和主动脉,在主动脉弓处闭塞 30 s 期间,使用注射器将 0.2 mL 月桂酸钠或生理盐水注入左心室,取出注射器后,将心脏放入胸腔,逐层缝合手术伤口^[13]。实验中观察到微血管阻塞及周边炎症反应等特征性变化,相对应的冠状动脉血流储备减少和损伤心肌部分的病理学结果作为建模成功的标志^[14]。建立 CMD 大鼠模型 48 h 后处死大鼠,收集心肌组织用于后续研究。所有实验程序均经我院动物伦理委员会批准。所有动物实验都符合实验动物的伦理原则。

1.3 缺氧内皮细胞模型的构建

大鼠心脏微血管内皮细胞与其专用培养基均购自上海金少源生物科技有限公司。将大鼠心脏微血管内皮细胞培养于培养基中,将细胞培养皿置于一个密闭的低氧发生装置中,装置下部含有一个进气口,一个出气口。将进气口与 95% N₂、5% CO₂ 的气体源相连接,打开无氧气体源通气约 3 min,同时打开出气口,将装置内氧气排出,后迅速关闭进气口与出气口,装置内就形成完全密闭的无氧环境^[15]。建立缺氧内皮细胞模型后,按照低/中/高剂量番茄红素组分别加入 0.5 μmol/L、1 μmol/L、2 μmol/L 番茄红素^[16] (Hypoxia+L-Lycopene/Hypoxia+M-Lycopene/Hypoxia+H-Lycopene 组),孵育 24 h。

为进一步探究番茄红素是否通过调控 LXR/PI3K/Akt 通路减少缺氧内皮细胞损伤,分别使用 2 μmol/L GSK2033 (LXR 抑制剂)和 45 μmol/L KRX-0401 (Akt 抑制剂)预处理 18 h,然后加入 2 μmol/L 番茄红素孵育缺氧内皮细胞 24 h (Hypoxia+H-Lycopene+GSK2033 组和 Hypoxia+H-Lycopene+KRX-0401 组)。

1.4 超声心动图检测心功能

使用 GE vivid7 超声诊断系统(美国 GE 公司)进行超声心动图检测。大鼠通过面罩经异氟醚和纯氧的混合气体(1:49,1.5 L/min)麻醉,将 GE vivid7 超声诊断系统(S4 探头,频率 2.5 Hz)探头涂抹耦合剂,随后将探头置于大鼠胸骨左侧,在二维超声引导下先通过左心室流出道找到标准的左心室长轴切面,然后再将探头旋转找到左心室乳头肌水平的横断切面,采集二维超声和 M 型超声心动图。由超声系统自带的软件自动计算得出大鼠左心室舒张末内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左心室收缩末内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和左心室短轴缩短率

(left ventricular fraction shortening, LVFS)。

1.5 Western blot 检测

使用 RIPA 裂解液(abcam 公司)提取总蛋白,采用 BCA 法检测蛋白浓度。经 PAGE 分离蛋白后,将其转移到 PVDF 膜上,脱脂牛奶封闭,加入一抗 [Akt(1:1 000)、p-Akt(1:2 000)、PI3K(1:1 000)、p-PI3K(1:1 000)、MMP-9(1:1 000)、MMP-2(1:1 000)、Drp1(1:1 000)、Fis1(1:1 000)、Opa1(1:1 000)、PINK1(1:500)、Parkin(1:1 000)、β-actin(1:5 000)],4 ℃ 孵育过夜,洗膜后,加入 HRP 标记的山羊抗兔二抗(1:2 000),室温孵育 2 h,滴加发光剂进行 ECL 发光检测。用 Image J 软件对图像进行分析。

1.6 CCK-8 检测细胞活力

CCK-8 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。将细胞以 100 μL/孔接种到 96 孔板中,置于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养至细胞贴壁,每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,轻轻晃动培养板,使 CCK-8 试剂与培养基充分混合,将培养板放回培养箱中,在 37 ℃、5% CO₂ 环境下孵育 2 h。孵育结束后取出培养板,使用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度值,用于评估细胞相对活力。

1.7 ELISA 检测

收集大鼠血清和细胞培养上清液,使用 ELISA 试剂盒测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)水平。

1.8 HE 染色

心肌组织用组织固定液固定,再用石蜡进行包埋并切片。石蜡切片依次经过二甲苯脱蜡、梯度浓度乙醇脱水、苏木精以及伊红染色、梯度浓度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片,最后制成心肌组织 HE 染色切片,在光学显微镜下观察。

1.9 免疫组织化学染色

组织切片用 EDTA 修复液处理 10 min,3% H₂O₂ 水溶液处理 15 min,在黑暗环境下室温孵育 25 min,再进行 30 min 的血清封闭处理,加入一抗 [LXRα(1:200)、LXRβ(1:1 000)],4 ℃ 孵育过夜,PBS 洗涤,加入 HRP 标记的二抗(1:50),温育 1 h,最后滴加 DAB 显色溶液进行显色,PBS 洗涤,

脱水,亚硫酸盐溶液封片。用 Image J 软件分析阳性细胞的染色强度和染色面积。

1.10 免疫荧光检测

将细胞进行固定和 1 h 封闭处理,加入一抗 [LXR α (1 : 200)、LXR β (1 : 500)],4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,然后分别加入 Alexa FluorTM 488 标记的山羊抗小鼠 IgG(1 : 200)和 Alexa FluorTM 633 标记的山羊抗兔 IgG(1 : 500),室温下孵育 1 h,再用 DAPI 在室温下孵育 5 min。使用共聚焦荧光显微镜检测荧光信号。

1.11 统计学分析

使用 GraphPad Prism9 统计软件分析数据。计量数据符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。三组及三组以上的数据采用单因素方差分析,并使用 Tukey's 方法进行事后检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,每个实验至少重复 3 次。

2 结果

2.1 番茄红素改善 CMD 大鼠的心功能和血管重塑

与假手术组相比,模型组 LVEDD 和 LVESD 升高,LVEF 和 LVFS 降低,CK、LDH 水平升高,VEGF、PDGF 水平、MMP-9 和 MMP-2 表达降低(均 $P < 0.05$)。与模型组相比,低/中/高剂量番茄红素组 LVEDD、LVESD 降低,LVEF、LVFS 升高,CK、LDH 水平降低,VEGF、PDGF 水平增加,MMP-9、MMP-2 表达增加(均 $P < 0.05$)。HE 染色结果显示,模型组出现细胞损伤和排列紊乱,发生炎症细胞浸润等现象,但番茄红素处理逆转了上述病理学变化且高浓度效果显著(图 1)。上述结果表明,番茄红素对 CMD 大鼠的心功能具有保护作用并可改善血管重塑,且高剂量的番茄红素具有最强疗效。

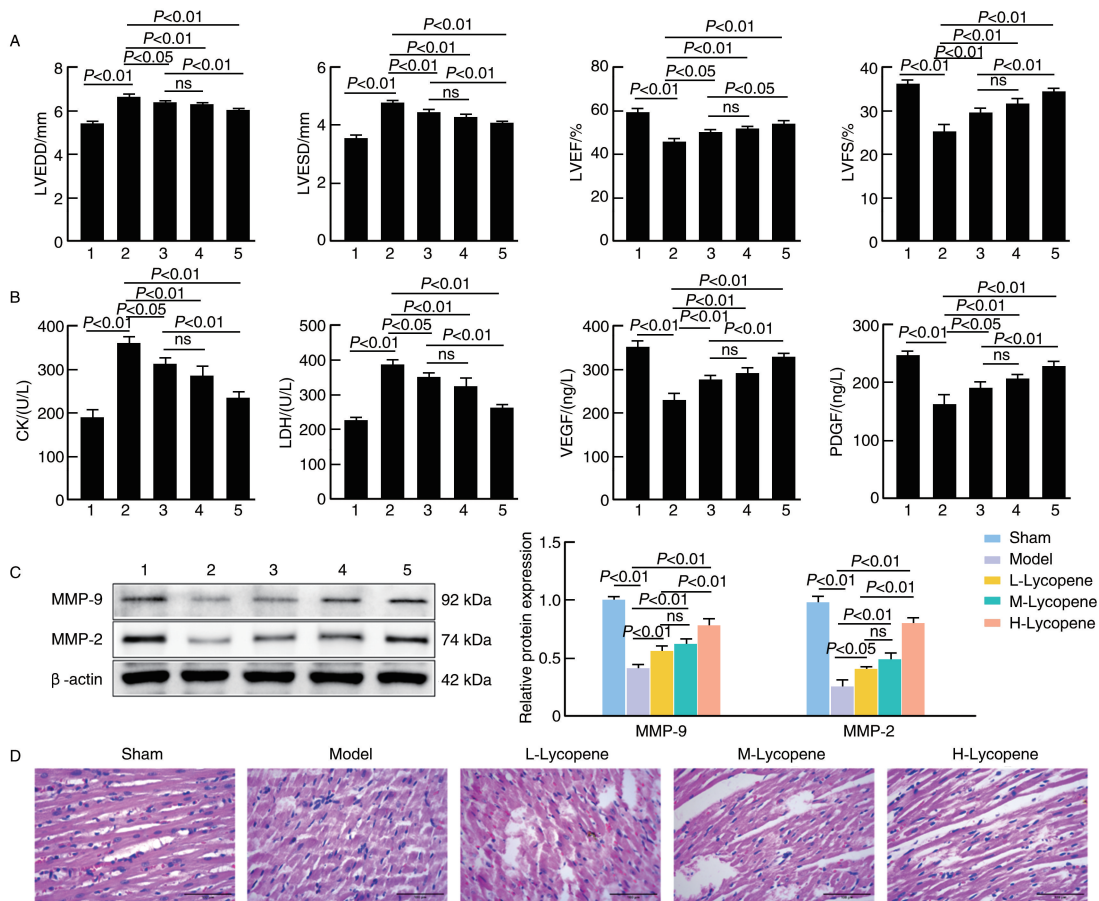


图 1. 番茄红素改善 CMD 大鼠的心功能和血管重塑

A 为心功能测量,B 为 ELISA 检测 CK、LDH、VEGF、PDGF 水平,C 为 Western blot 检测 MMP-9、MMP-2 蛋白表达,D 为 HE 染色评估心肌损伤。1 为假手术组,2 为模型组,3 为 L-Lycopene 组,4 为 M-Lycopene 组,5 为 H-Lycopene 组。 $n = 10$,比例尺为 100 μ m。

Figure 1. Lycopene improves cardiac function and vascular remodeling in CMD rats

2.2 番茄红素激活 LXR/PI3K/Akt 通路

与假手术组相比,模型组 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/

Akt 的表达降低,且 LXR α 和 LXR β 的表达下调(均 $P < 0.05$)。与模型组相比,低/中/高剂量番茄红素

组 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 的表达升高, LXR α 、LXR β 的表达上调(均 $P < 0.05$; 图 2)。上述结果表明, CMD 大鼠中 LXR/PI3K/Akt 通路被抑制, 加入

番茄红素后该通路被激活, 且高剂量的番茄红素对此通路的激活作用最显著。

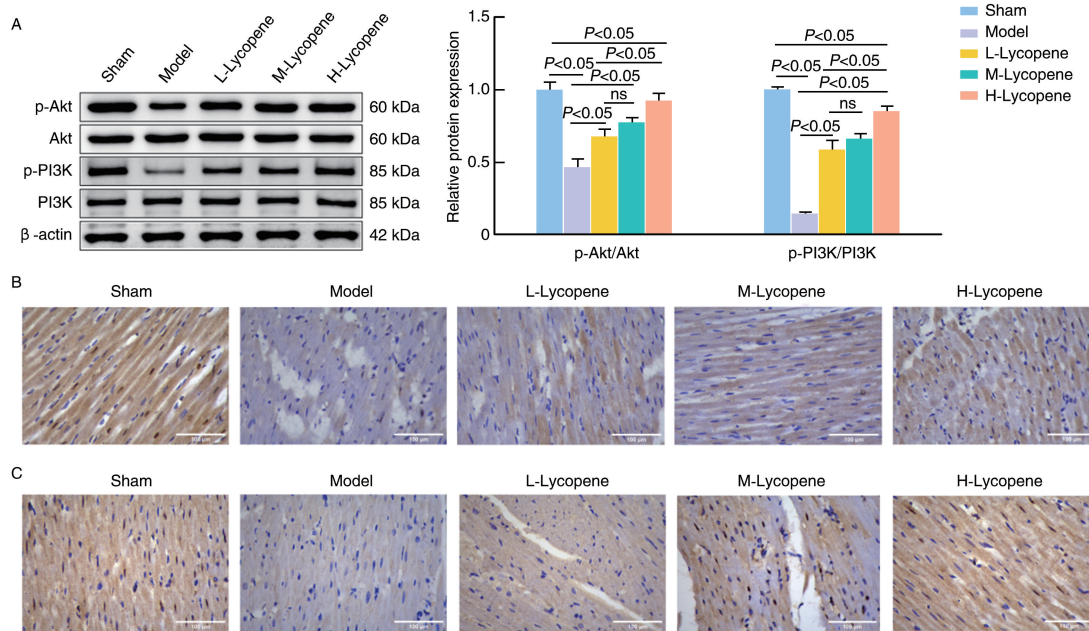


图 2. 番茄红素激活 LXR/PI3K/Akt 通路

A 为 Western blot 检测 Akt、p-Akt、PI3K 和 p-PI3K 蛋白表达, B、C 分别为免疫组织化学染色检测 LXR α 和 LXR β 表达。
 $n = 10$, 比例尺为 100 μm 。

Figure 2. Activation of LXR/PI3K/Akt pathway by lycopene

2.3 番茄红素在体外增加缺氧内皮细胞活力并抑制其损伤

CCK-8 结果显示, 与对照组相比, 缺氧组细胞活力降低 ($P < 0.05$); 与缺氧组相比, Hypoxia + L-Lycopene 组、Hypoxia + M-Lycopene 组和 Hypoxia + H-Lycopene 组细胞活力升高 ($P < 0.05$)。ELISA 和 Western blot 检测结果显示, 与对照组相比, 缺氧组 VEGF、PDGF 水平及 MMP-9 和 MMP-2 蛋白表达降低; 与缺氧组相比, Hypoxia + L-Lycopene 组、Hypoxia + M-Lycopene 组和 Hypoxia + H-Lycopene 组 VEGF、PDGF 水平及 MMP-9、MMP-2 蛋白表达升高(均 $P < 0.05$)。Western blot 检测结果显示, 缺氧组 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 表达与对照组相比下调, 番茄红素以剂量依赖性的方式上调 p-PI3K 和 p-Akt 表达(均 $P < 0.05$)。免疫荧光结果显示, 番茄红素可以提高 LXR α 和 LXR β 表达, 且高剂量效果最佳(图 3)。上述研究结果表明, 番茄红素可提高缺氧内皮细胞活力, 抑制细胞损伤, 这可能与 LXR/PI3K/Akt 通路激活有关。高剂量番茄红素的作用效果最明显。因此, 后续的机制探讨采用此给药

剂量。

2.4 番茄红素通过激活 LXR/PI3K/Akt 通路改善缺氧内皮细胞损伤

与对照组相比, 缺氧组细胞活力降低, VEGF、PDGF 水平及 MMP-9 和 MMP-2 蛋白表达降低, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 的表达降低, Drp1、Fis1、LC3-II/LC3-I、PINK1 和 Parkin 的表达升高, Opa1 的表达降低, SOD 降低, ROS 升高(均 $P < 0.05$)。与缺氧组相比, Hypoxia + H-Lycopene 组细胞活力增加, VEGF、PDGF 水平及 MMP-9 和 MMP-2 蛋白表达增加, p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 的表达增加, Drp1、Fis1、LC3-II/LC3-I、PINK1 和 Parkin 的表达升高, Opa1 的表达降低, SOD 升高, ROS 降低(均 $P < 0.05$)。免疫荧光结果显示, 高剂量番茄红素处理可提高 LXR α 和 LXR β 的表达, 但 LXR 抑制剂 GSK2033 或 Akt 抑制剂 KRX-0401 可以逆转番茄红素的上述作用(均 $P < 0.05$; 图 4)。以上结果表明, 番茄红素通过激活 LXR/PI3K/Akt 通路增加缺氧内皮细胞活力, 促进血管内皮细胞生成, 同时进一步促进线粒体分裂和自噬, 抑制线粒体融合, 抑制细胞氧化应激反应。

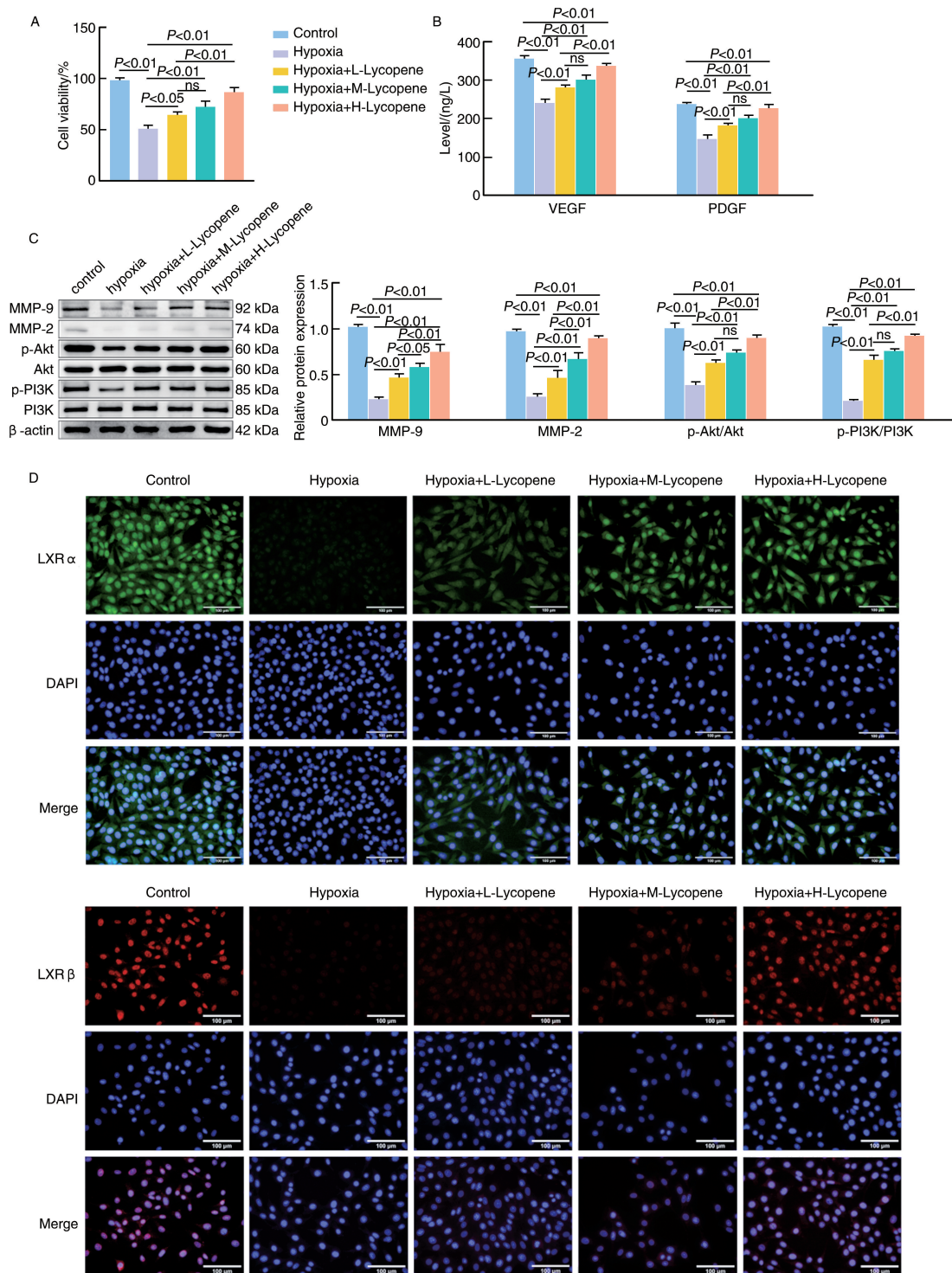


图 3. 番茄红素在体外增加缺氧内皮细胞活力并抑制其损伤

A 为 CCK-8 检测细胞活力, B 为 ELISA 检测血管生成相关指标, C 为 Western blot 检测 MMP-9、MMP-2、Akt、p-Akt、PI3K 和 p-PI3K 的蛋白表达, D 为免疫荧光检测 LXRα 和 LXRβ。n=3, 比例尺为 100 μm。

Figure 3. Lycopene increases the viability of hypoxic endothelial cells and inhibits their damage *in vitro*

2.5 番茄红素促进线粒体分裂和自噬改善缺氧内皮细胞氧化应激反应

与对照组相比, 缺氧组 VEGF、PDGF 水平及 MMP-9、MMP-2 的表达降低, SOD 降低, ROS 升高,

Drp1、Fis1、LC3-II/LC3-I、PINK1、Parkin 的表达升高, Opa1 的表达降低(均 P<0.05); 与缺氧组相比, 高剂量番茄红素处理后 VEGF、PDGF 水平及 MMP-9、MMP-2 的表达升高, SOD 升高, ROS 降低, Drp1、Fis1、

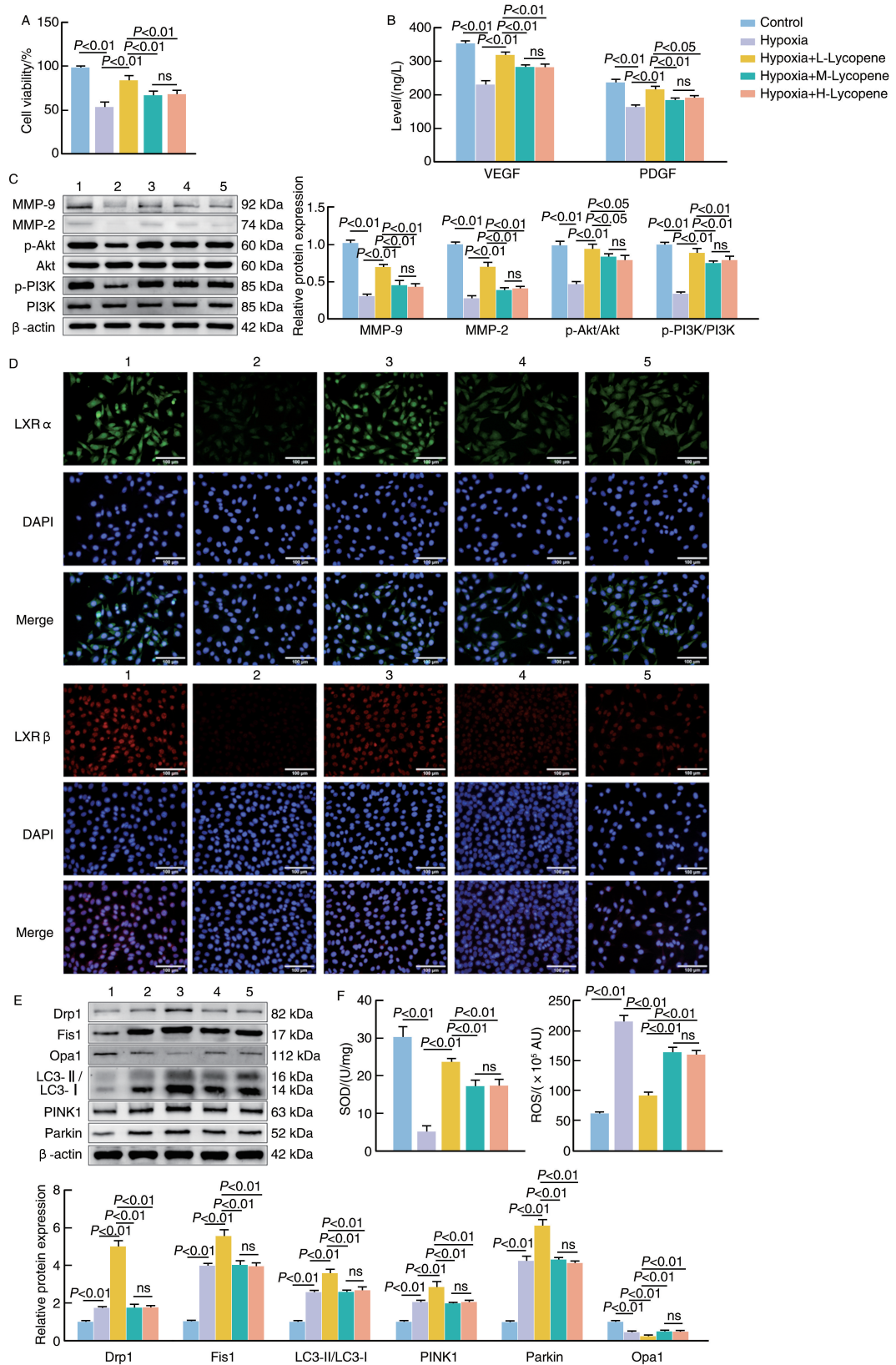


图 4. 番茄红素通过激活 LXR/PI3K/Akt 通路改善缺氧内皮细胞损伤

A 为 CCK-8 检测细胞活力, B 为 ELISA 检测血管生成相关指标, C 为 Western blot 检测 MMP-9、MMP-2、Akt、p-Akt、PI3K 和 p-PI3K 的蛋白表达, D 为免疫荧光检测 LXRα 和 LXRβ, E 为 Western blot 检测 Drp1、Fis1、Opa1、LC3-II/LC3-I、PINK1 和 Parkin 的蛋白表达水平, F 为 ELISA 检测 SOD 和 ROS。1 为对照组, 2 为缺氧组, 3 为 Hypoxia+H-Lycopene, 4 为 Hypoxia+H-Lycopene+GSK2033, 5 为 Hypoxia+H-Lycopene+KRX-0401。n=3, 比例尺为 100 μm。

Figure 4. Lycopene ameliorates the hypoxic endothelial cell damage by activating the LXR/PI3K/Akt pathway

LC3-II/LC3-I、PINK1、Parkin 的表达升高, Opa1 的表达降低(均 $P < 0.05$); 线粒体分裂抑制(Hypoxia+H-Lycopene+Mdivi-1)后, 可以逆转番茄红素的上述作

用(均 $P < 0.05$; 图 5)。上述结果表明, 番茄红素通过促进线粒体分裂和自噬来改善缺氧内皮细胞氧化应激反应。

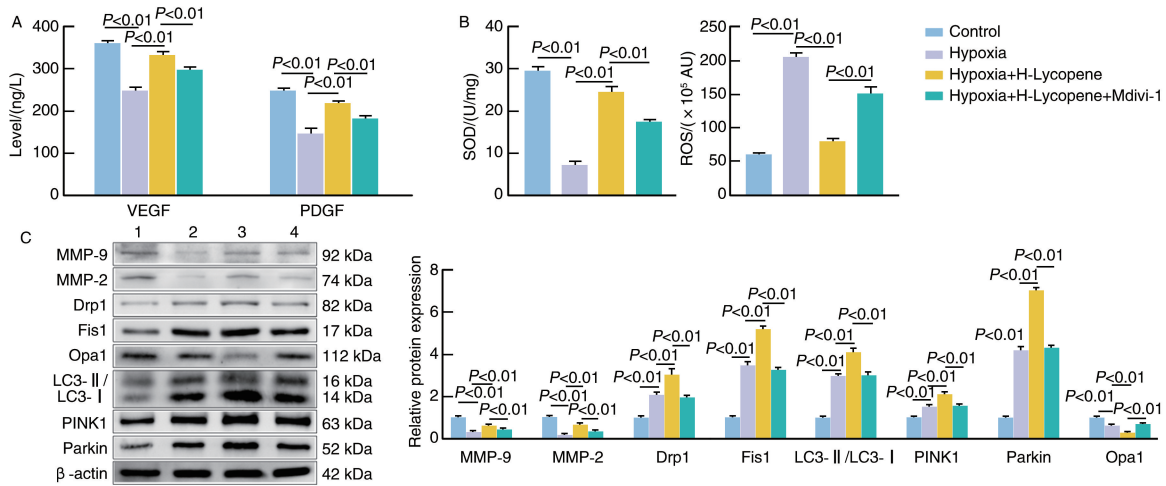


图 5. 番茄红素促进线粒体分裂和自噬改善缺氧内皮细胞氧化应激反应

A 为 ELISA 检测 VEGF 和 PDGF, B 为 ELISA 检测 SOD 和 ROS, C 为 Western blot 检测 MMP-9、MMP-2、Drp1、Fis1、Opa1、LC3-II/LC3-I、PINK1 和 Parkin 的表达。1 为对照组, 2 为缺氧组, 3 为 Hypoxia+H-Lycopene 组, 4 为 Hypoxia+H-Lycopene+Mdivi-1 组。

Figure 5. Lycopene promotes mitochondrial division and autophagy to ameliorate oxidative stress in hypoxic endothelial cells ($n = 3$)

3 讨论

越来越多的研究证明, 冠状动脉微循环的血流调节对满足心肌的代谢需求至关重要^[17]。持续性心肌缺血再灌注可诱发多种形式的心肌细胞死亡和冠状动脉微血管损伤, 最终导致 CMD^[18]。CMD 是导致心肌缺血和非阻塞性冠状动脉缺血症状的重要原因之一, 其检出与治疗有重要的临床意义。然而, 目前对 CMD 尚缺乏有效的诊断手段和治疗策略。

本研究发现, 番茄红素可以改善大鼠的 CMD 症状。番茄红素被认为是类胡萝卜素中最有效的自由基清除剂, 清除自由基的能力远甚于其他的类胡萝卜素和维生素 E^[19]。摄入一定量的番茄红素后, 血清中高浓度的番茄红素被证实与心肌梗死、动脉粥样硬化、猝死发病风险以及心血管疾病呈负相关^[20], 说明摄入番茄红素具有心脏保护作用, 本研究结果与之一致。这些研究结果可为后续研究番茄红素治疗 CMD 提供科学指导。

本研究还发现番茄红素可改善 CMD 大鼠的心肌微血管重塑。心肌微血管重塑在 CMD 中通过恢复血流、调节炎症反应和减少氧化应激起关键作用^[5]。微血管重塑可通过血管新生和重构已有微血管网络改善心肌血液供应, 改变内皮细胞活性以减轻炎症损害, 并增强线粒体功能以降低氧化应激

对心肌细胞的破坏, 从而整体改善心功能^[3]。此外, 番茄红素还能改善血管内皮功能, 增加血管的舒张能力, 这些特性共同作用可能有助于改善血管重塑, 进而保护心血管健康^[9]。这些结果说明, 番茄红素不仅可能在 CMD 中发挥一定的治疗作用, 或许在其他内皮功能障碍的疾病中也具有潜在保护作用。

本研究中机制探讨结果显示, 番茄红素可以通过激活 LXR/PI3K/Akt 通路改善 CMD 大鼠中的微血管重塑。有研究报道番茄红素可以促进 LXR 表达并激活 LXR/PI3K/Akt 信号通路^[11], 本研究结果与之一致。本研究还发现番茄红素可以通过激活 LXR/PI3K/Akt 通路促进线粒体分裂和自噬。线粒体通过不断地分裂和融合, 维持线粒体网络的动态平衡, 该过程称为线粒体动力学。有研究表明, 线粒体自噬可以及时清除受损的线粒体, 有效控制线粒体质量和功能, 维持神经细胞稳态和防止神经细胞凋亡^[21]。线粒体动力学与线粒体自噬二者之间可相互调控, 共同维持线粒体质量平衡。此外, LXR 激活可上调与线粒体功能相关的基因表达, 促进线粒体融合和功能维护^[22]。其下游的 PI3K/Akt 通路则可以通过磷酸化和调节关键蛋白如 Drp1 和 Opa1, 影响线粒体的分裂和融合过程^[23]。本研究结果进一步证明了 LXR/PI3K/Akt 通路在线粒体动力学和心血管健康中的关键作用, 为利用番茄红素或

类似物质作为潜在治疗策略提供了新的见解。

本研究还发现,番茄红素至少部分通过激活 LXR/PI3K/Akt 通路影响心肌细胞氧化应激。氧化应激增加可以促进炎症发展,被认为是心血管疾病的主要因素^[24]。因此,机体内氧化应激水平升高可能加剧 CMD。研究证明,番茄红素可以减轻 ROS 的产生并减轻氧化应激损伤^[25]。番茄红素不仅可能改善 CMD 发生后心肌微血管重塑,还可能在其他氧化应激相关疾病中发挥保护作用。后续可以进行更多的相关性研究以进一步拓展番茄红素的药用价值。

番茄红素通过激活 LXR/PI3K/Akt 通路促进线粒体分裂和自噬,改善 CMD 发生后心肌微血管重塑。本研究可能为番茄红素应用于临床治疗 CMD 提供理论依据。

[参考文献]

- [1] GALLI M, NICCOLI G, DE MARIA G, et al. Coronary microvascular obstruction and dysfunction in patients with acute myocardial infarction[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2024, 21(5): 283-298.
- [2] 常晨, 苏英曼, 苏强. 非编码 RNA 在冠状动脉微循环障碍中的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31(9): 806-814. CHANG C, SU Y M, SU Q. Research progress of non-coding RNA in coronary microcirculation disorder [J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(9): 806-814.
- [3] YANG Z, LIU Y, LI Z, et al. Coronary microvascular dysfunction and cardiovascular disease: pathogenesis, associations and treatment strategies[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 164: 115011.
- [4] ZHOU W, BAJAJ N, GUPTA A, et al. Coronary microvascular dysfunction, left ventricular remodeling, and clinical outcomes in aortic stenosis[J]. *J Nucl Cardiol*, 2021, 28(2): 579-588.
- [5] LANDAU S, ZHAO Y, HAMIDZADA H, et al. Primitive macrophages enable long-term vascularization of human heart-on-a-chip platforms[J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31(8): 1222-1238.
- [6] SHRIDHAR P, GLENNON M S, PAL S, et al. MDM2 regulation of HIF signaling causes microvascular dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Circulation*, 2023, 148(23): 1870-1886.
- [7] PUAH B P, JALIL J, ATTIQ A, et al. New insights into molecular mechanism behind anti-cancer activities of lycopene[J]. *Molecules*, 2021, 26(13): 3888.
- [8] KHALAF R A, AWAD M. Lycopene as a potential bioactive compound: chemistry, extraction, and anticancer prospective[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2023, 23(8): 634-642.
- [9] SONG X, LUO Y, MA L, et al. Recent trends and advances in the epidemiology, synergism, and delivery system of lycopene as an anti-cancer agent[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 73: 331-346.
- [10] PATTANAYAK S P, BOSE P, SUNITA P, et al. Bergapten inhibits liver carcinogenesis by modulating LXR/PI3K/Akt and IDOL/LDLR pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 297-308.
- [11] XU X D, TENG Y, ZOU J Y, et al. Effects of lycopene on vascular remodeling through the LXR-PI3K-Akt signaling pathway in APP/PS1 mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(3): 699-705.
- [12] LIU C, LIU W, QI B, et al. Bone homeostasis modulating orthopedic adhesive for the closed-loop management of osteoporotic fractures[J]. *Small*, 2023, 19(48): e2302704.
- [13] 马利军, 韩继明, 张华华, 等. miR-186-5p 对冠状动脉微循环障碍大鼠心肌损伤及 MMP-9/VEGF 信号通路的影响[J]. *解剖科学进展*, 2023, 29(3): 309-312. MA L J, HAN J M, ZHANG H H, et al. Effect of miR-186-5p on myocardial injury and MMP-9/VEGF signal pathway in rats with coronary microcirculation disorder[J]. *Prog Anat Sci*, 2023, 29(3): 309-312.
- [14] LINDSEY M L, BOLLI R, CANTY J M, et al. Guidelines for experimental models of myocardial ischemia and infarction[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 314(4): H812-H838.
- [15] 朱凌侗, 王时俊, 丁雪峰, 等. 两种大鼠心肌微血管内皮细胞缺氧模型建立方法的比较[J]. *临床心血管病杂志*, 2014, 30(9): 815-818. ZHU L T, WANG S J, DING X F, et al. Comparison of two methods in establishing a hypoxia model of micro vessel endothelial cells in rat myocardium[J]. *J Clin Cardiol*, 2014, 30(9): 815-818.
- [16] GUO W, HUANG D, LI S. Lycopene alleviates oxidative stress-induced cell injury in human vascular endothelial cells by encouraging the SIRT1/Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2023, 45(1): 2205051.
- [17] 程在华, 曹天宇, 李俊培, 等. 离子通道对冠状动脉微循环影响的重要研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(12): 3061-3066. CHENG Z H, CAO T Y, LI J P, et al. Important research progress on the effect of ion channels on coronary microcirculation [J]. *Chin J Gerontol*, 2024, 44(12): 3061-3066.
- [18] HEUSCH G. Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(12): 773-789.
- [19] JIANG F W, GUO J Y, LIN J, et al. MAPK/NF-kappaB signaling mediates atrazine-induced cardiorenal syndrome and antagonism of lycopene[J]. *Sci Total Environ*, 2024, 922: 171015.
- [20] LI N, WU X, ZHUANG W, et al. Tomato and lycopene and multiple health outcomes: Umbrella review[J]. *Food Chem*, 2021, 343: 128396.
- [21] 叶益财, 朱文宗. PINK1/Parkin 介导线粒体自噬对缺血性脑卒中作用机制的研究进展[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2024, 34(6): 574-577. YE Y C, ZHU W Z. Advances in the mechanism of PINK1/Parkin-mediated mitochondrial autophagy in ischemic stroke[J]. *Zhejiang J Integr Tradit West Med*, 2024, 34(6): 574-577.
- [22] ZHANG X, MCDONALD J G, ARYAL B, et al. Desmosterol suppresses macrophage inflammasome activation and protects against vascular inflammation and atherosclerosis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(47): e2107682118.
- [23] MA Y L, KONG C Y, GUO Z, et al. Semaglutide ameliorates cardiac remodeling in male mice by optimizing energy substrate utilization through the Creb5/NR4a1 axis[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 4757.
- [24] SENONER T, DICHTL W. Oxidative stress in cardiovascular diseases: still a therapeutic target? [J]. *Nutrients*, 2019, 11(9): 2090.
- [25] QU M, NI Y, GUO B, et al. Lycopene antagonizes lead toxicity by reducing mitochondrial oxidative damage and mitochondria-mediated apoptosis in cultured hippocampal neurons[J]. *MedComm (2020)*, 2020, 1(2): 228-239.

(此文编辑 文玉珊)