

trafficking and augmented VLDL triglyceride secretion [J]. *Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2017, 1862 (10): 1035-1043.

[18] Liu H, Xie H, Li C, *et al.* Diaporisoindole B reduces lipid accumulation in THP1 macrophage cells *via* MAPKs and PPAR γ -LXR α pathways and promotes the reverse cholesterol transport by upregulating SR-B1 and LDLR in HepG2 cells[J]. *J Nat Prod*, 2022, 85(12): 2769-2778.

[19] Correnti J M, Lauren G, Annie L, *et al.* Ethanol and C2 ceramide activate fatty acid oxidation in human hepatoma cells[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 12-23.

[20] 张 援, 杨 卓, 王 群, 等. 涤痰汤调控 PPAR γ -LXR-ABCA1/ABCG1 通路介导胆固醇流出改善非酒精性脂肪肝的机制研究[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(11): 111-115; 281.

[21] Song J, Qiu H, Du P, *et al.* Polyphenols extracted from Shanxi-aged vinegar exert hypolipidemic effects on OA-induced HepG2 cells *via* the PPAR α -LXR α -ABCA1 pathway[J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(2): 14-29.

[22] 张 悦, 曾文赞, 张晓璐, 等. 中药基于 ABCA1 介导巨噬细胞胆固醇流出防治动脉粥样硬化的研究进展[J]. *现代中西医结合杂志*, 2021, 30(26): 2960-2964.

基于 MEK/ERK/STAT3 信号通路探讨丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠的影响

程昌琴¹, 陈江勇^{2*}, 徐 成¹, 张 敏¹
(1. 重庆医科大学附属永川医院内分泌科, 重庆 402160; 2. 重庆医科大学附属永川医院胸心外科, 重庆 402160)

摘要：**目的** 探究丹皮酚调节丝裂原活化细胞外信号调节激酶（MEK）/细胞外信号调节蛋白激酶（ERK）/信号转导与转录激活因子 3（STAT3）信号通路对糖尿病心肌病大鼠心脏功能、氧化应激损伤和炎症的影响。**方法** 将大鼠随机分为对照组、模型组、丹皮酚组、丹皮酚+MEK/ERK 激活剂（C16-PAF）组，除对照组外，其余各组建立糖尿病心肌病大鼠模型，给予相应药物干预 6 周。检测大鼠心功能指标 [左室后壁厚度（LVPWT）、左室舒张末期内径（LVEDD）、左室收缩末期内径（LVESD）、左室射血分数（LVEF）和左室短轴缩短率（LVFS）]；观察心肌组织形态并进行病理评分；检测心肌组织超氧化物歧化酶（SOD）、一氧化氮合酶（NOS）活性和丙二醛（MDA）、一氧化氮（NO）、肿瘤坏死因子- α （TNF- α ）、白细胞介素（IL）-1 β 、IL-6、单核细胞趋化蛋白-1（MCP-1）水平，以及 MEK、磷酸化 MEK（p-MEK）、ERK、磷酸化 ERK（p-ERK）、STAT3、磷酸化 STAT3（p-STAT3）蛋白表达。**结果** 与对照组比较，模型组大鼠心肌组织病理损伤严重，LVPWT、LVEDD、LVESD、心肌组织病理评分、MDA、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 水平和 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、p-STAT3/STAT3 蛋白表达升高（ $P<0.05$ ），LVEF、LVFS、NO 水平和 SOD、NOS 活性降低（ $P<0.05$ ）；与模型组比较，丹皮酚组大鼠心肌组织病理损伤减轻，LVPWT、LVEDD、LVESD、心肌组织病理评分、MDA、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 水平和 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、p-STAT3/STAT3 蛋白表达降低（ $P<0.05$ ），LVEF、LVFS、NO 水平和 SOD、NOS 活性升高（ $P<0.05$ ）；C16-PAF 可减弱丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠上述指标的改善效果（ $P<0.05$ ）。**结论** 丹皮酚可通过抑制 MEK/ERK/STAT3 信号通路改善糖尿病心肌病大鼠心脏功能、氧化应激损伤和炎症。

关键词：丹皮酚；糖尿病心肌病；丝裂原活化细胞外信号调节激酶（MEK）；细胞外信号调节蛋白激酶（ERK）；信号转导与转录激活因子 3（STAT3）；氧化应激；炎症

中图分类号：R285.5 文献标志码：B 文章编号：1001-1528(2024)12-4169-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.044

收稿日期：2023-06-16
基金项目：重庆市科卫联合医学科研项目（2020MSXM108）
作者简介：程昌琴（1981—），女，主治医师，从事糖尿病及其并发症基础与临床的研究。Tel：13983985757，E-mail：chengchangq637@163.com
* 通信作者：陈江勇（1986—），男，硕士，主治医师，从事心脏疾病基础与临床的研究。Tel：18716469678，E-mail：411614044@qq.com
网络出版日期：2023-12-27
网络出版地址：http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20231226.1449.010.html.

糖尿病心肌病是糖尿病心血管并发症，严重影响患者生活质量^[1]。其发病初期症状表现不明显，为糖尿病心肌病的治疗增加了难度^[2]。目前尚无有效的治疗糖尿病心肌病的策略，寻找安全有效的治疗方法成为研究热点。丹皮酚能够降低毛细血管的通透性，抑制炎症因子作用；同时能降低血糖，抑制动脉粥样硬化，增加冠状动脉血流量，降低心肌耗氧等^[3-4]，可作为治疗糖尿病心肌损伤的药物，但具体机制尚需进一步研究。在糖尿病动物模型中，抑制丝裂原活化细胞外信号调节激酶（MEK）/细胞外信号调节蛋白激酶（ERK）通路能够改善糖尿病引起的大鼠认知功能障碍和海马突触可塑性缺陷，实现对疾病的缓解，MEK/ERK 抑制剂可作为潜在靶标用于治疗疾病^[5]。信号转导与转录激活因子 3（STAT3）在糖尿病发病过程中发挥一定作用，是胰岛素抵抗调控的关键分子^[6]；在保护心脏方面，STAT3 可直接增强纤维细胞活化、迁移和合成细胞外基质能力，并诱导结缔组织生长因子大量表达，促进心肌纤维化过程^[7]。提示抑制 ERK/MEK/STAT3 通路可能对于糖尿病心肌病心脏功能和氧化应激具有缓解作用。因此，本研究探讨丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠的影响，以期为临床上糖尿病心肌病的治疗提供一定参考依据。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 SPF 级 SD 大鼠，8 周龄，体质量 293~316 g，购自重庆沃森生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK（渝）2021-0013]。大鼠饲养于重庆医科大学附属永川医院动物实验室 [实验动物使用许可证号 SYXK（渝）2021-0020]，温度（23±2）℃，相对湿度（55±5）%，12 h/12 h 明暗交替，正常饮水摄食。本研究经本院伦理委员会审核并批准（伦理号 YCLS2022-01-03）。

1.2 药物和试剂 丹皮酚（纯度 99.85%，批号 563-17-4）购自武汉景秀研生物科技有限公司。MEK/ERK 激活剂（C16-PAF）（批号 7190ES14）、蛋白裂解液（批号 860ES09）均购自武汉景秀研生物科技有限公司；高糖高脂饲料（基础饲料 49%、白砂糖 30%、精练猪油 11%、蛋白质 10%，批号 RJ17138）购自南通特洛菲生物科技有限公司；链脉佐菌素（STZ，批号 YH-D1073）、苏木精-伊红（HE）染色试剂盒（批号 YH-D1908）、丙二醛（MDA，批号 YH-D2533）、一氧化氮合酶（NOS，批号 YH-D2947）、超氧化物歧化酶（SOD，批号 YH-D3511）、一氧化氮（NO，批号 YH-D3967）检测试剂盒、羊抗鼠二抗（批号 YH-J4718）均购自江西江蓝纯生物试剂有限公司；肿瘤坏死因子-α（TNF-α，批号 MDSK2035）、白细胞介素（IL）-1β（批号 MDSK2914）、IL-6（批号 MDSK2952）、单核细胞趋化蛋白-1（MCP-1，批号 MDSK3673）酶联免疫吸附（ELISA）试剂盒均购自安徽佰欧晶医学科技有限公司；兔源 MEK（批号 BF-9014）、磷酸化 MEK（p-MEK，批号 BF-9016）、ERK（批号 BF-7033）、磷酸化 ERK（p-ERK，批号 BF-7038）、STAT3（批号 BF-1925）、磷酸化 STAT3（p-STAT3，批号 BF-1934）、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）

（批号 BF-1037）一抗均购自常州市祥泰生物技术有限公司。

1.3 仪器 小动物彩色超声诊断仪（型号 Vevo2100）、酶标仪（型号 GEMINI）均购自天津国晟中源科技有限责任公司；显微镜（型号 ZM3000）、凝胶成像系统（型号 SH-670）均购自广州博鹭腾生物科技有限公司。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 大鼠给予高糖高脂饲料饲养 4 周，禁食不禁水 12 h，腹腔注射 45 mg/kg STZ（STZ 用 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液配制成 1% STZ 备用，pH 4.4）诱导糖尿病模型，72 h 后尾静脉采血，空腹血糖 ≥16.7 mmol/L 为糖尿病造模成功，继续以高糖高脂饲料喂养 8 周，随机选取 4 只大鼠处死，观察心肌结构，若心肌结构较同周龄的正常饲养的健康大鼠明显改变则表明糖尿病心肌病造模成功^[8-9]。造模成功 36 只，随机分为模型组、丹皮酚组（300 mg/kg）^[10]、丹皮酚 + C16-PAF 组（300 mg/kg + 5 mg/kg），每组 12 只。另取 12 只大鼠基础饲料饲养、腹腔注射等体积 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液作为对照组。

各组于造模成功后当天开始给药，丹皮酚组大鼠灌胃给予 300 mg/kg 丹皮酚 10 mL/kg（使用生理盐水配制成 30 mg/mL 的混悬液），每天 1 次，同时腹腔注射 5 mg 生理盐水，隔天 1 次；丹皮酚 + C16-PAF 组大鼠灌胃给予 300 mg/kg 丹皮酚，每天 1 次，同时腹腔注射 5 mg C16-PAF，隔天 1 次（C16-PAF 的给药剂量和频率参照试剂盒说明书）；对照组和模型组大鼠灌胃和腹腔注射等体积生理盐水，连续 6 周。

2.2 心功能指标检测 给药结束后，大鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥钠（3 mL/kg）进行麻醉，心脏超声进行无创心功能检测。探头频率 10~13 MHz，检测左室后壁厚度（LVPWT）、左室舒张末期内径（LVEDD）、左室收缩末期内径（LVESD）、左室射血分数（LVEF）、左室短轴缩短率（LVFS），连续 3 个心动周期，取平均值。

2.3 HE 染色观察心肌组织形态 心功能指标检测完成后，立即处死大鼠，取心脏，观察心脏情况，一部分新鲜心肌组织于 4℃ 保存备用；一部分心肌组织置于 -80℃ 冰箱保存；一部分心肌组织置于 4% 多聚甲醛中固定。心肌组织于 4% 多聚甲醛中固定 3 d，取出后切成 4 mm 大小，在石蜡包埋盒中包埋，包埋好的蜡块通过石蜡切片机切片，厚度 5 μm，于 65℃ 烤箱烘烤 2 h，常温保存，切片脱蜡至水，苏木精染色 5 min，1% 盐酸酒精分化 1~2 s，伊红染色 2 min，依次经梯度乙醇、二甲苯浸泡，中性树胶封片，于显微镜下观察心肌组织形态，对心肌组织进行病理评分^[11]，0 分为未见损伤；1 分为心肌细胞空泡形成；2 分为心肌局灶性坏死；3 分为心肌广泛坏死。

2.4 心肌组织 MDA、NO 水平和 SOD、NOS 活性检测 新鲜心肌组织匀浆，硫代巴比妥酸法检测 MDA 水平，羟胺法检测 SOD 活性，比色法检测 NO 水平和 NOS 活性。

2.5 ELISA 法检测心肌组织 TNF-α、IL-1β、IL-6、MCP-1

水平 取于-80℃保存的心肌组织，匀浆，严格按照相关试剂盒说明书操作检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 水平。

2.6 Western blot 法检测心肌组织 MEK、p-MEK、ERK、p-ERK、STAT3、p-STAT3 蛋白表达 取于-80℃保存的心肌组织，匀浆，添加蛋白裂解液冰上裂解，使用 BCA 蛋白试剂盒检测蛋白浓度，蛋白变性后每孔上样 25 μ g，电泳分离蛋白，转至 NC 膜上，5%脱脂奶粉溶液封闭 2 h，分别加入 MEK（1：780）、p-MEK（1：780）、ERK（1：810）、p-ERK（1：810）、STAT3（1：890）、p-STAT3（1：890）、GAPDH（1：1 730）一抗，4℃孵育过夜，添加羊抗鼠二抗，室温孵育 1.5 h，使用显色试剂盒避光显色，通过蛋白凝胶成像系统拍照并定量分析，以 GAPDH 为内参，用灰度值分析目的蛋白相对表达量。

表 1 各组大鼠心功能指标比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	LVPWT/mm	LVEDD/mm	LVESD/mm	LVEF/%	LVFS/%
对照组	1.16 $\pm$ 0.06	5.76 $\pm$ 0.31	3.36 $\pm$ 0.19	71.26 $\pm$ 3.58	41.36 $\pm$ 3.26
模型组	2.37 $\pm$ 0.19 [*]	7.96 $\pm$ 0.61 [*]	5.54 $\pm$ 0.32 [*]	48.25 $\pm$ 4.13 [*]	29.86 $\pm$ 2.49 [*]
丹皮酚组	1.31 $\pm$ 0.10 [#]	6.17 $\pm$ 0.56 [#]	3.57 $\pm$ 0.26 [#]	67.35 $\pm$ 5.33 [#]	37.44 $\pm$ 3.16 [#]
丹皮酚+C16-PAF 组	1.79 $\pm$ 0.13 ^{#Δ}	7.03 $\pm$ 0.64 ^{#Δ}	4.43 $\pm$ 0.27 ^{#Δ}	58.60 $\pm$ 4.52 ^{#Δ}	34.06 $\pm$ 2.93 ^{#Δ}

注：与对照组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与丹皮酚组比较， ^{Δ} $P<0.05$ 。

3.2 丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠心肌组织形态的影响 对照组大鼠心脏形态规则，心肌细胞排列整齐；模型组大鼠心肌宽度较大，心肌肥厚，心肌细胞肿胀肥大、变性甚至坏死，细胞核明显增大，心肌纤维断裂、溶解，收缩成波浪状、排列紊乱，伴有炎症细胞浸润和血管扩张充血现象；丹皮酚组大鼠心脏趋于正常，心肌宽度较小，心肌细胞肥大减轻，心肌细胞形态没有明显变化；丹皮酚+C16-PAF 组大鼠心肌宽度较大，出现心肌肥厚，心肌细胞症状介于模型组和丹皮酚组之间，见图 1~2。对照组、模型组、丹皮酚组、丹皮酚+C16-PAF 组大鼠心肌组织病理评分依次为 0、(2.51 $\pm$ 0.32)、(1.26 $\pm$ 0.11)、(1.83 $\pm$ 0.17) 分；与对照组比较，模型组心肌组织病理评分升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，丹皮酚组和丹皮酚+C16-PAF 组心肌组织病理评分降低 ($P<0.05$)；与丹皮酚组比较，丹皮酚+C16-PAF 组心肌组织病理评分升高 ($P<0.05$)。

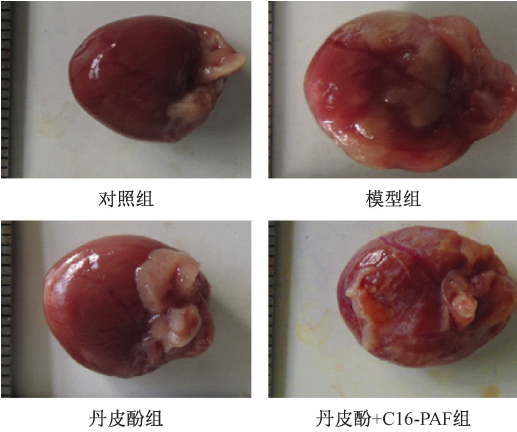
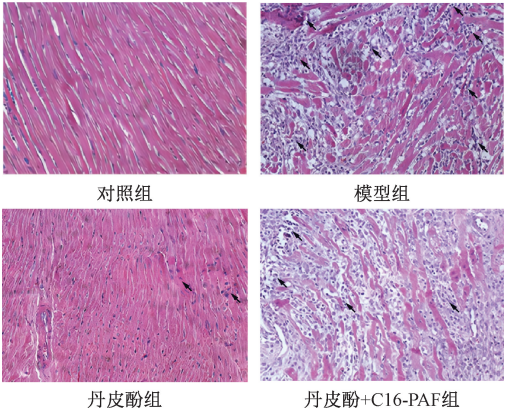


图 1 各组大鼠心脏形态观察

2.7 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK- q 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠心功能指标的影响 与对照组比较，模型组大鼠 LVPWT、LVEDD、LVESD 水平升高 ($P<0.05$)，LVEF、LVFS 水平降低 ($P<0.05$)；与模型组比较，丹皮酚组和丹皮酚+C16-PAF 组大鼠 LVPWT、LVEDD、LVESD 水平降低 ($P<0.05$)，LVEF、LVFS 水平升高 ($P<0.05$)；与丹皮酚组比较，丹皮酚+C16-PAF 组大鼠 LVPWT、LVEDD、LVESD 水平升高 ($P<0.05$)，LVEF、LVFS 水平降低 ($P<0.05$)，见表 1。



注：箭头所指为心肌组织炎症浸润部分。

图 2 各组大鼠心肌组织 HE 染色 ($\times 200$)

3.3 丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠心肌组织 MDA、NO 水平和 SOD、NOS 活性的影响 与对照组比较，模型组心肌组织 MDA 水平升高 ($P<0.05$)，SOD、NOS 活性和 NO 水平降低 ($P<0.05$)；与模型组比较，丹皮酚组和丹皮酚+C16-PAF 组心肌组织 MDA 水平降低 ($P<0.05$)，SOD、NOS 活性和 NO 水平升高 ($P<0.05$)；与丹皮酚组比较，丹皮酚+C16-PAF 组心肌组织 MDA 水平升高 ($P<0.05$)，SOD、NOS 活性和 NO 水平降低 ($P<0.05$)，见表 2。

3.4 丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠心肌组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 水平的影响 与对照组比较，模型组心肌组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 水平升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，丹皮酚组和丹皮酚+C16-PAF 组心肌组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 水平降低 ($P<0.05$)；与丹皮酚组比较，丹皮酚+C16-PAF 组心肌组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 水平升高 ($P<0.05$)，见表 3。

表 2 各组大鼠心肌组织 MDA、NO 水平和 SOD、NOS 活性比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	MDA/($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$)	SOD/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)	NO/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)	NOS/($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$)
对照组	5.53±0.41	134.62±12.96	8.46±0.96	4.89±0.51
模型组	11.25±1.93 [*]	56.59±4.62 [*]	3.71±0.43 [*]	1.16±0.13 [*]
丹皮酚组	6.42±0.74 [#]	120.33±9.76 [#]	7.63±0.73 [#]	4.01±0.35 [#]
丹皮酚+C16-PAF 组	8.56±0.89 ^{#Δ}	86.69±6.95 ^{#Δ}	5.84±0.49 ^{#Δ}	2.47±0.26 ^{#Δ}

注：与对照组比较,^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$ ；与丹皮酚组比较,^Δ $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠心肌组织 TNF-α、IL-1β、IL-6、MCP-1 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

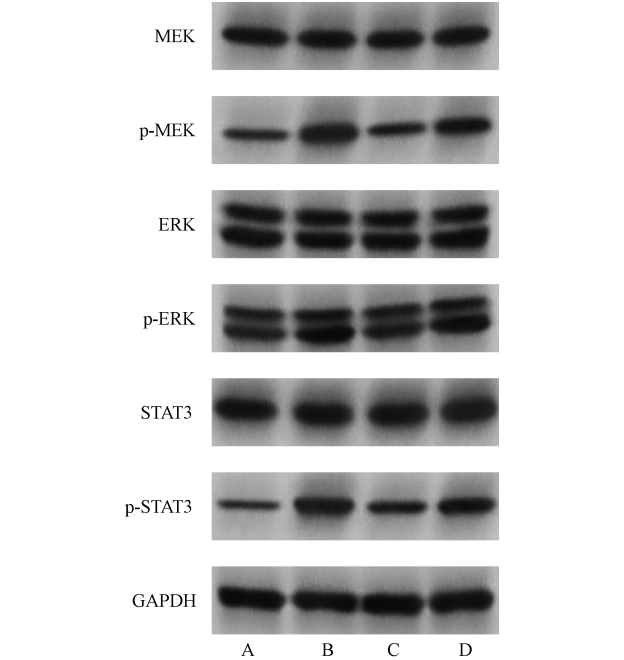
组别	TNF-α/($\text{pg}\cdot\text{mg}^{-1}$)	IL-1β/($\text{pg}\cdot\text{mg}^{-1}$)	IL-6/($\text{pg}\cdot\text{mg}^{-1}$)	MCP-1/($\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$)
对照组	84.36±6.95	1.86±0.19	1.46±0.15	16.45±2.81
模型组	356.91±34.77 [*]	6.35±0.57 [*]	6.85±0.73 [*]	56.49±6.13 [*]
丹皮酚组	149.86±16.72 [#]	2.78±0.31 [#]	2.16±0.26 [#]	23.36±3.42 [#]
丹皮酚+C16-PAF 组	263.43±28.61 ^{#Δ}	4.83±0.49 ^{#Δ}	4.43±0.44 ^{#Δ}	42.86±5.24 ^{#Δ}

注：与对照组比较,^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$ ；与丹皮酚组比较,^Δ $P<0.05$ 。

3.5 丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠心肌组织 ERK/MEK/STAT3 通路蛋白表达的影响 各组大鼠心肌组织 MEK、ERK、STAT3 蛋白表达无明显差异 ($P>0.05$)。与对照组比较,模型组心肌组织 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、p-STAT3/STAT3 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与模型组比较,丹皮酚组和丹皮酚+C16-PAF 组心肌组织 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、p-STAT3/STAT3 蛋白表达降低 ($P<0.05$)；与丹皮酚组比较,丹皮酚+C16-PAF 组心肌组织 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、p-STAT3/STAT3 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，见图 3、表 4。

4 讨论

丹皮酚是毛茛科植物牡丹的根皮和萝藦科植物徐长卿干燥根或全草的有效成分，具有降血糖、降低胰岛素抵抗、抗氧化、抗肿瘤等作用^[12]。丹皮酚能改善大鼠心功能、抑制氧化应激，从而缓解心肌纤维化^[13]。本研究发现，模型组大鼠心肌细胞出现肥大、肿胀、变性甚至坏死，细胞核明显增大、心肌纤维断裂、溶解明显，提示糖尿病心肌病模型大鼠存在心肌细胞损伤症状。糖尿病心肌病引起的心肌损伤严重，进而引发心功能障碍。本研究发现，糖尿病心肌病大鼠心功能指标与健康大鼠比较出现差异，且心功能出现障碍，心肌组织病理评分升高，而经丹皮酚给药后心肌细胞损伤症状、心肌组织病理评分和心功能指标均得



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为丹皮酚组，D 为丹皮酚+C16-PAF 组。

图 3 各组大鼠心肌组织 MEK、p-MEK、ERK、p-ERK、STAT3、p-STAT3 蛋白印迹图

表 4 各组大鼠心肌组织 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、p-STAT3/STAT3 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	MEK/GAPDH	p-MEK/MEK	ERK/GAPDH	p-ERK/ERK	STAT3/GAPDH	p-STAT3/STAT3
对照组	0.89±0.09	0.31±0.03	1.21±0.13	0.43±0.03	1.26±0.14	0.16±0.03
模型组	0.91±0.08	0.92±0.09 [*]	1.19±0.11	0.86±0.08 [*]	1.21±0.13	0.71±0.05 [*]
丹皮酚组	0.90±0.10	0.40±0.04 [#]	1.18±0.12	0.57±0.06 [#]	1.30±0.12	0.34±0.04 [#]
丹皮酚+C16-PAF 组	0.92±0.11	0.71±0.08 ^{#Δ}	1.19±0.13	0.71±0.07 ^{#Δ}	1.24±0.13	0.56±0.05 ^{#Δ}

注：与对照组比较,^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$ ；与丹皮酚组比较,^Δ $P<0.05$ 。

到改善，提示丹皮酚对于缓解心肌损伤有一定效果。

ERK 对细胞增殖、分化、周期等过程都具有调控作用，当受到氧化应激刺激时，ERK 经磷酸化修饰转入细胞核，激活下游通路^[14]。MEK 作为 ERK 上游调控因子，可调控 ERK 磷酸化激活，从而影响细胞功能^[15-16]。在心肌损伤过程中，MEK/ERK 信号通路被异常激活，从而发挥调控作

用^[17]。STAT3 能够介导多种细胞因子相关信号传导途径，IL-6、TNF-α、IL-1β 等均能激活 STAT3 通路，造成恶性循环，加重炎症反应过程^[18-19]。研究发现，丝裂原活化蛋白激酶可调控 STAT3 信号通路的作用在人口腔舌鳞状细胞癌中得以验证^[20]。在糖尿病肾病中，可通过抑制 STAT3 通路减轻炎症反应和内皮细胞功能障碍，改善糖尿病环境对细

胞损伤的影响^[21]。本研究发现,模型组大鼠心肌组织MDA、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 水平和 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、p-STAT3/STAT3 蛋白表达较对照组升高,SOD、NOS 活性和 NO 水平较对照组降低,提示糖尿病心肌病大鼠心肌组织中 MEK、ERK、STAT3 均处于激活状态,受高糖影响,心肌细胞损伤严重,促进氧化应激,激活 MEK/ERK/STAT3 信号通路,进而加重炎症反应和心肌细胞功能障碍,导致损伤加重。而丹皮酚给药后,糖尿病心肌病大鼠氧化应激指标、炎症因子水平均有所缓解,MEK/ERK/STAT3 信号通路相关蛋白磷酸化水平降低,且在丹皮酚的基础上加用 C16-PAF 干预可抑制丹皮酚对糖尿病心肌病大鼠的改善作用。

综上所述,丹皮酚可通过抑制 MEK/ERK/STAT3 信号通路缓解糖尿病心肌病大鼠心脏功能障碍、氧化应激损伤和炎症,实现对糖尿病心肌病大鼠的改善作用。但本研究发现,添加 MEK/ERK 激活剂后并不能完全抵消丹皮酚的作用,提示丹皮酚可能还通过别的通路发挥作用,发现新的通路是课题组接下来的研究重点。

参考文献:

[1] Cloete L. Diabetes mellitus: an overview of the types, symptoms, complications and management [J]. *Nurs Stand*, 2022, 37(1): 61-66.

[2] Wei J J, Zhao Y T, Liang H H, *et al.* Preliminary evidence for the presence of multiple forms of cell death in diabetes cardiomyopathy[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(1): 1-17.

[3] Miao J F, Zhong J, Lan J, *et al.* Paeonol attenuates inflammation by confining HMGB1 to the nucleus[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(6): 2885-2899.

[4] Gyawali A, Kim M H, Kang Y S. A novel organic cation transporter involved in paeonol transport across the inner blood-retinal barrier and changes in uptake in high glucose conditions [J]. *Exp Eye Res*, 2021, 202: 108387.

[5] Sasaki-Hamada S, Fujiwara A, Satoh S, *et al.* GLP-2 restores impairments in spatial working memory and hippocampal LTD *via* the MEK/ERK pathway in juvenile-onset diabetes rats [J]. *Behav Brain Res*, 2021, 406: 113235.

[6] Jiang X X, Bian W K, Zhu Y R, *et al.* Targeting the KCa3. 1 channel suppresses diabetes-associated atherosclerosis *via* the STAT3/CD36 axis [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 185(9): 109776.

[7] Zhang L, Wang X J, Zhang H, *et al.* Exercise-induced peptide EIP protect myocardial from ischaemia/reperfusion injury *via* activating JAK2/STAT3 signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(7): 3560-3572.

[8] 潘文强,王书凡,丁伯平,等. 格列齐特对糖尿病大鼠心肌的保护作用及其机制[J]. 中国应用生理学杂志, 2020,

36(5): 402-407.

[9] 王 涛,易登良,范忠才. 沙库巴曲缬沙坦对糖尿病心肌病大鼠的保护作用及其机制[J]. 西安交通大学学报 (医学版), 2021, 42(1): 42-47.

[10] 刘雅蓉,邵 倩,张慧慧,等. 丹皮酚上调小凹蛋白-1 抑制 NF- κ B 通路减轻动脉粥样硬化模型大鼠主动脉血管内皮炎症的作用[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(11): 2578-2585.

[11] 王 祥,王晓鹏,韩冲芳,等. 腺病毒介导线粒体融合蛋白 2 基因转染对糖尿病大鼠七氟醚后处理心肌保护作用的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2016, 36(8): 942-945.

[12] 杨山景,李凌军. 丹皮酚药理作用与应用研究进展[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(5): 237-241.

[13] 谭 琦,周小明,邹 瑾. 丹皮酚对心肌纤维化模型大鼠的干预效果及作用机制[J]. 西部医学, 2020, 32(3): 334-338.

[14] Qiu Z G, Lu P, Wang K, *et al.* Dexmedetomidine inhibits neuroinflammation by altering microglial M1/M2 polarization through MAPK/ERK pathway [J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(2):345-353.

[15] Huang C T, Du R J, Jia X C, *et al.* CDK15 promotes colorectal cancer progression *via* phosphorylating PAK4 and regulating β -catenin/MEK-ERK signaling pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(1): 14-27.

[16] Huang X G, Tan J H, Li Y R, *et al.* Expression of LncRNA KCNQ10t1 in diabetic nephropathy and its correlation with MEK/ERK signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(3): 1796-1806.

[17] Ye H K, Zhang H H, Tan Z M. MiR-328 inhibits cell apoptosis and improves cardiac function in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury through MEK-ERK signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(6): 3315-3321.

[18] Hou Y, Li H, Huo W. MicroRNA-495 alleviates ulcerative interstitial cystitis *via* inactivating the JAK-STAT signaling pathway by inhibiting JAK3 [J]. *Int Urogynecol J*, 2021, 32(5): 1253-1263.

[19] Yang Q Q, Li H N, Zhang S T, *et al.* Red nucleus IL-6 mediates the maintenance of neuropathic pain by inducing the productions of TNF- α and IL-1 β through the JAK2/STAT3 and ERK signaling pathways[J]. *Neuropathology*, 2020, 40(4): 347-357.

[20] 王世禄,马乃全,周 期,等. 七氟烷通过 MAPK/STAT3 信号通路诱导口腔舌鳞状细胞癌 Tca-8113 细胞凋亡[J]. 实用口腔医学杂志, 2022, 38(1): 116-120.

[21] Zitman-Gal T, Einbinder Y, Ohana M, *et al.* Effect of liraglutide on the Janus kinase/signal transducer and transcription activator (JAK/STAT) pathway in diabetic kidney disease in db/db mice and in cultured endothelial cells[J]. *J Diabetes*, 2020, 11(8): 656-664.