

[9] Cui B T, Feng Q, Wang H G, et al. Fecal microbiota transplantation through mid-gut for refractory Crohn's disease: safety, feasibility, and efficacy trial results [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 30(1): 51-58.

[10] Gough E, Shaikh H, Manges A R, et al. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection [J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 53(10): 994-1002.

[11] Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, et al. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 5541-5554.

[12] Lane C A, Hardy J, Schott J M. Alzheimer's disease [J]. *Eur J Neurol*, 2018, 25(1): 59-70.

[13] 方松, 余化霖. Morris 水迷宫实验中海马相关空间学习记忆的研究进展 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2010, 30(4): 321-326.

[14] Bauer K C, Rees T, Finlay B B. The gut microbiota-brain axis expands neurologic function: a nervous rapport [J]. *BioEssays*, 2019, 41(10): e1800268.

[15] Sun J, Li H, Jin Y J, et al. Probiotic *Clostridium butyricum* ameliorated motor deficits in a mouse model of Parkinson's disease via gut microbiota-GLP-1 pathway [J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 91: 703-715.

[16] 周宜灿, 潘晓东. 深海鱼油治疗阿尔茨海默病大鼠的作用及对其肠道菌群的影响 [J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(12): 1379-1385.

[17] 贺婷. 肾虚痰瘀证 aMCI 患者证候要素与肠道微生物的相关性研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2020.

西红花昔通过调控 SIRT1/Nrf2 通路对心肌缺血再灌注大鼠的保护作用

牛少辉, 熊海燕, 栗媛, 张丽华*

(郑州大学第二附属医院心血管内科, 河南 郑州 450014)

摘要: 目的 探讨西红花昔通过调控沉默信息调节因子 2 相关酶类 1 (SIRT1) /核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 通路对心肌缺血再灌注 (I/R) 大鼠心肌损伤的保护作用。方法 大鼠结扎冠脉前降支 40 min 再灌注 4 h 建立 I/R 模型, 造模成功后分为模型组、地尔硫草组 (10 mg/kg) 和西红花昔低、中、高剂量组 (20、40、80 mg/kg), 另取 8 只正常大鼠为假手术组, 连续给予相应药物 15 d, ELISA 法检测血清 LDH、CK-MB、SOD 活性和 MDA 水平, HE 染色观察心肌组织病理改变, TUNEL 染色法检测心肌细胞凋亡率, 试剂盒检测心肌组织 SOD 活性和 MDA 水平, RT-qPCR 和 Western blot 法检测心肌组织 SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白表达。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 LDH 和 CK-MB 活性、血清和心肌组织 MDA 水平、心肌细胞凋亡率均升高 ($P<0.01$), 血清和心肌组织 SOD 活性及心肌组织 SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白表达均降低 ($P<0.01$), 大鼠心肌纤维排列紊乱, 有大片炎性浸润, 多数心肌细胞破裂且核有消融现象, 心肌结构模糊不清; 与模型组比较, 地尔硫草组和西红花昔各剂量组血清 LDH 和 CK-MB 活性、血清和心肌组织 MDA 水平、心肌细胞凋亡率均降低 ($P<0.01$), 血清和心肌组织 SOD 活性及心肌组织 SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白表达均升高 ($P<0.01$), 大鼠心肌组织病理损伤均得到改善。结论 西西红花昔可减轻 I/R 大鼠心肌损伤, 减少心肌细胞凋亡, 其机制可能与激活 SIRT1/Nrf2 通路, 减轻氧化应激反应有关。

关键词: 西西红花昔; 心肌缺血再灌注; 氧化应激; SIRT1; Nrf2; HO-1

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1323-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.051

心肌缺血再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 是指心肌组织缺血恢复灌注后缺血的心肌组织未好转反而组织损伤呈进行性加重的病理过程, 可损害心功能, 甚至可并发心律失常、猝死, 是目前心血管病学研究面临的一大难题^[1]。氧化应激被认为是 I/R 所致心肌损伤的重要因素, 是指细胞内活性氧大量蓄积引发心肌组织损伤, 而控制氧

化应激反应是保护 I/R 心肌组织的重要思路^[2-3]。西红花昔是指以藏红花素 I 为主的水溶性类胡萝卜素, 是西红花的有效成分, 可减轻心肌缺血损伤^[4], 具有广泛的药理作用, 但该药物是否可通过减轻氧化应激反应保护 I/R 所致的心肌损伤尚不清楚。沉默信息调节因子 2 相关酶类 1 (SIRT1) /核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 通路是 I/R 所致

收稿日期: 2021-10-12

基金项目: 河南省医学科技公关计划项目 (LHGJ20200397)

作者简介: 牛少辉 (1977—), 男, 硕士, 副主任医师, 从事心血管病学研究。E-mail: ui22so@163.com

* 通信作者: 张丽华 (1964—), 女, 硕士, 主任医师, 从事心血管病学研究。Tel: 15838191819, E-mail: zlhx@126.com

心肌损伤过程中经典的氧化应激调控通路, 有研究显示激活 SIRT1 可通过上调 Nrf2 及其下游血红素氧合酶-1 (HO-1) 的表达启动内源性保护机制, 减轻氧化应激反应所致的 I/R 心肌损伤^[5-6], 而西红花苷是否可调控该通路减轻 I/R 大鼠心肌损伤也需要深入探讨。因此, 本研究建立 I/R 大鼠模型探讨西红花苷通过调控 SIRT1/Nrf2 通路对 I/R 大鼠心肌损伤的保护作用, 以期为临床治疗 I/R 心肌损伤提供一定参考。

1 材料

1.1 动物 58 只清洁级 SD 大鼠, 雄性, 7~9 周龄, 体质量 (200±20) g, 购自北京百奥赛图基因生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0001。参照《实验动物学》^[7]要求适应性喂养 1 周, 根据 3R 原则设计实验。

1.2 试剂与药物 地尔硫草脉冲控释片 (加拿大 Biovail 公司, 批号 190324)。西红花苷对照品 (成都普瑞法科技开发有限公司, 批号 Z201904135, 纯度>98%)。乳酸脱氢酶 (LDH)、肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) ELISA 检测试剂盒 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司, 批号 R1904135、R1903218、R1905126、R1904133]; 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒 (南京生航生物技术有限公司, 批号 190312001); 原位末端标记法 (TUNEL) 检测试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司, 批号 20190512); SOD、MDA 检测试剂盒 (武汉意德生物技术有限公司, 批号 201906015、201904031); TRIzol 试剂 (美国 Invitrogen 公司, 批号 Y20190115); RNA 反转录试剂盒、蛋白提取试剂盒 (德国 Qiagen 公司, 批号 190112003、190413025); 细胞组织快速裂解液 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号 0114117); 兔抗鼠 SIRT1、Nrf2、HO-1 单克隆抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 126175316、135741128、129247102); 发光液 (合肥华今生物科技有限公司, 批号 1907112A)。

1.3 仪器 ECGenie 型大鼠心电图监测仪 [孚光精仪 (中国) 有限公司]; TDZ5-BP 型医用离心机 (长沙湘锐离心机有限公司); DSX-100 型光学显微镜 (日本 Olympus 公司); HTY-761 型匀浆仪 (浙江泰林生物技术股份有限公司); Mastercycler nexus flat 型 PCR 仪 (德国 Eppendorf 公司); 1645050 型蛋白电泳仪、Trans-Blot Turbo 全能型转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司); FYL-YS-151L 型医用孵育箱 (北京福意联医疗设备有限公司)。

2 方法

2.1 分组与造模 参照文献 [8] 报道, 随机选取 50 只大鼠建立 I/R 模型, 操作为常规戊巴比妥钠腹腔麻醉, 接动物呼吸机, 开胸暴露心脏, 将心包膜撕开, 于冠脉左前降支根部穿入 0 号缝合线, 稳定 10 min 后将缝合线结扎, 可见心电图 II 肢体导联 J 点或 ST 段抬高、T 波改变, 心脏表面逐渐由红润变苍白, 40 min 后将结扎线剪断, 缝合胸壁, 再灌注 4 h。将造模成功的大鼠采用随机数字表法分为模型组、地尔硫草组和西红花苷低、中、高剂量组, 剩余 8 只

大鼠作为假手术组, 仅在冠脉前降支根部穿线, 但未进行结扎和再灌注。

2.2 给药 地尔硫草组灌胃给予 10 mg/kg 地尔硫草生理盐水溶液, 西西红花苷低、中、高剂量组分别灌胃给予 20、40、80 mg/kg (临床等效剂量的 1、2、4 倍) 西西红花苷生理盐水溶液, 模型组、假手术组均灌胃给予 5 mL/kg 生理盐水, 每天 1 次, 连续 15 d。

2.3 ELISA 法检测血清 LDH、CK-MB、SOD 活性和 MDA 水平 给药结束后断头处死大鼠, 取颈总动脉血 3 mL, 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 采用 ELISA 法检测血清 LDH、CK-MB、SOD 活性和 MDA 水平。

2.4 HE 染色观察心肌组织病理改变 取各组大鼠心肌组织, 洗净血迹并吸干水分, 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 修整组织蜡块, 4 μm 连续切片, 苏木素染色 10 min, 洗涤, 分化, 洗涤, 伊红染色 5 min, 洗涤, 梯度乙醇脱水、封片, 200 倍光学显微镜下观察心肌组织病理改变。

2.5 TUNEL 染色法检测心肌细胞凋亡率 取各组大鼠心肌组织石蜡切片, 充分脱蜡和水化, 蛋白酶 K 37 °C 消化 15 min, 冲洗后加入原位末端标记混合液, 置于湿盒中 37 °C 孵育 2 h, 依次加入封闭液、生物素化抗体、显色液、复染液等, 脱水、透明、封片后在光学显微镜下观察, 以棕黄色核染记为凋亡细胞, 计算凋亡细胞占比即为细胞凋亡率。

2.6 试剂盒检测心肌组织 SOD 活性和 MDA 水平 取各组大鼠心肌组织, 匀浆, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 采用试剂盒检测心肌组织 SOD 活性和 MDA 水平。

2.7 RT-qPCR 法检测心肌组织 SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA 表达 取各组大鼠心肌组织适量, 液氮研磨, 加入 TRIzol 试剂提取总 RNA, 反转录为 cDNA, 配置 25 μL 反应体系, 进行 PCR 扩增反应, 反应条件为 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 11 s, 共 35 个循环, 最后 54 °C 5 min。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因的相对表达量, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列	长度/bp
SIRT1	正向 5'-TCGCTAGAGAGCTATAGGCTAGATG-3'	360
	反向 5'-CTAGGATCTAGAGAGCTATTAGCGCGGAGAG-3'	
Nrf2	正向 5'-TGGCTAACGGATCTTAGAGCTATAG-3'	280
	反向 5'-CTGAGATATAGCTATATGCTAGCTAG-3'	
HO-1	正向 5'-TGGCTTGGATAGGGCTTGAGAGTG-3'	320
	反向 5'-AGCTCTGGGACTTAGAGCTAGTC-3'	
β -actin	正向 5'-TGCTAACAGAGCTTAAGGCTAG-3'	260
	反向 5'-CGATATGCTATAGGCTAGCTAG-3'	

2.8 Western blot 法检测心肌组织 SIRT1、Nrf2、HO-1 蛋白表达 取各组大鼠心肌组织, 剪碎后制备匀浆液, 加入组织快速裂解液, 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min, 提取总蛋白, 检测总蛋白浓度。上样量为 50 μg, 凝胶电泳, 转膜, 5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 2 h, 滴加一抗 4 °C 孵育过夜, 洗涤后滴加二抗室温孵育 1 h, 洗涤后添加发光液, 将膜置于曝光仪器, 显影。采用 Image Pro 软件分析目的蛋白相对

于内参(β -actin)的表达量。

2.9 统计学分析 通过SPSS 25.0软件进行处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析和SNK-q检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般情况 造模期间50只大鼠有4只死亡,成功46只,推测可能与心肌严重缺血有关,成功率为92.00%,随机分为模型组(10只)、地尔硫草组(9只)及西红花苷低(8只)、中(9只)、高剂量组(10只)。

表2 各组大鼠血清LDH、CK-MB、SOD活性和MDA水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	LDH/(U·L ⁻¹)	CK-MB/(U·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)	MDA/(μ mol·L ⁻¹)
假手术组	8	1.01±0.14	915.25±187.65	20.92±4.15	1.25±0.18
模型组	9	4.84±0.80 ^{**}	4 289.74±512.63 ^{**}	8.47±1.92 ^{**}	2.69±0.35 ^{**}
地尔硫草组	9	2.86±0.47 ^{##}	2 475.63±428.69 ^{##}	15.67±3.04 ^{##}	1.86±0.27 ^{##}
西红花苷低剂量组	8	3.54±0.61 ^{##}	3 024.15±461.88 ^{##}	13.05±2.07	2.10±0.30 ^{##}
西红花苷中剂量组	8	2.83±0.50 ^{##}	2 468.97±434.09 ^{##}	15.58±3.11 ^{##}	1.83±0.29 ^{##}
西红花苷高剂量组	10	2.12±0.36 ^{##}	1 875.64±310.92 ^{##}	17.62±3.35 ^{##}	1.61±0.22 ^{##}

注:与假手术组比较,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,^{##} $P<0.01$ 。

3.3 西红花苷对L/R大鼠心肌组织病理改变的影响 图1显示,假手术组心肌纤维整齐排列,心肌细胞完整,细胞核均匀分布,心肌结构清晰;模型组大鼠心肌纤维排列紊乱,有大片炎性浸润,多数心肌细胞破裂且核有消融现象,心肌结构模糊不清;地尔硫草组和西红花苷低、中剂量组部分心肌纤维排列紊乱,部分组织有炎性浸润,少数心肌细胞破裂,稍有细胞核消融,心肌结构基本清晰;西红花苷高剂量组心肌纤维排列基本整齐,心肌细胞基本完整,细胞核大多数均匀分布,心肌结构清晰。

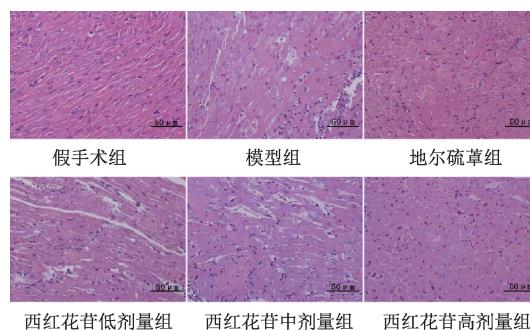


图1 各组大鼠心肌组织HE染色($\times 200$)

3.4 西红花苷对L/R大鼠心肌细胞凋亡率的影响 由图2、表3可知,模型组心肌细胞凋亡率高于假手术组($P<0.01$),地尔硫草组、西红花苷各剂量组心肌细胞凋亡率均低于模型组($P<0.01$)。

3.5 西红花苷对L/R大鼠心肌组织SOD活性、MDA水平的影响 由表4可知,与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织MDA水平升高($P<0.01$),SOD活性降低($P<0.01$);与模型组比较,地尔硫草组、西红花苷各剂量组大鼠心肌组织MDA水平均降低($P<0.01$),SOD活性均升高($P<0.01$)。

给药期间,模型组、西红花苷中剂量组各有1只大鼠不慎穿破食管死亡。

3.2 西红花苷对L/R大鼠血清LDH、CK-MB、SOD活性和MDA水平的影响 由表2可知,与假手术组比较,模型组大鼠血清LDH、CK-MB活性和MDA水平均升高($P<0.01$),SOD活性均降低($P<0.01$);与模型组比较,地尔硫草组和西红花苷各剂量组大鼠血清LDH、CK-MB活性和MDA水平均降低($P<0.05$),SOD活性均升高($P<0.01$)。

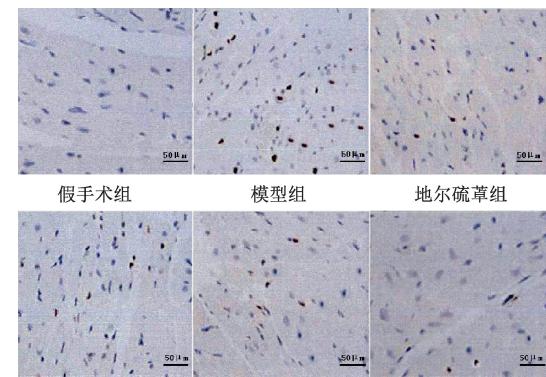


图2 各组大鼠心肌细胞凋亡染色(TUNEL, $\times 400$)

表3 各组大鼠心肌细胞凋亡率比较(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	心肌细胞凋亡率
假手术组	8	3.12±0.41
模型组	9	34.82±6.71 ^{**}
地尔硫草组	9	21.25±4.02 ^{##}
西红花苷低剂量组	8	28.55±4.69 ^{##}
西红花苷中剂量组	8	21.18±4.10 ^{##}
西红花苷高剂量组	10	10.41±2.11 ^{##}

注:与假手术组比较,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,^{##} $P<0.01$ 。

3.6 西红花苷对L/R大鼠心肌组织SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA表达的影响 由表5可知,模型组大鼠心肌组织SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA表达均低于假手术组($P<0.01$),地尔硫草组、西红花苷各剂量组大鼠心肌组织SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA表达均高于模型组($P<0.01$)。

3.7 西红花苷对L/R大鼠心肌组织SIRT1、Nrf2、HO-1蛋白表达的影响 由图3、表6可知,模型组大鼠心肌组织SIRT1、Nrf2、HO-1蛋白表达均低于假手术组($P<0.01$),地尔硫草组、西红花苷各剂量组大鼠心肌组织SIRT1、

表4 各组大鼠心肌组织SOD活性、MDA水平比较($\bar{x}\pm s$)

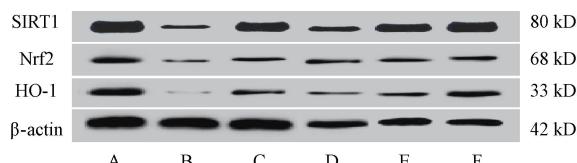
组别	动物数/只	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
假手术组	8	1.62±0.31	12.10±2.11
模型组	9	0.75±0.14 ^{**}	30.20±5.19 ^{**}
地尔硫草组	9	1.15±0.20 ^{##}	18.10±3.12 ^{##}
西红花苷低剂量组	8	0.90±0.19 ^{##}	22.15±4.36 ^{##}
西红花苷中剂量组	8	1.13±0.21 ^{##}	18.12±3.10 ^{##}
西红花苷高剂量组	10	1.34±0.22 ^{##}	16.20±3.07 ^{##}

注: 与假手术组比较, ^{**} $P<0.01$; 与模型组比较, ^{##} $P<0.01$ 。

表5 各组大鼠心肌组织SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	SIRT1 mRNA	Nrf2 mRNA	HO-1 mRNA
假手术组	8	1.25±0.24	1.02±0.18	1.38±0.20
模型组	9	0.46±0.08 ^{**}	0.50±0.10 ^{**}	0.56±0.11 ^{**}
地尔硫草组	9	0.82±0.13 ^{##}	0.75±0.12 ^{##}	0.89±0.13 ^{##}
西红花苷低剂量组	8	0.65±0.11 ^{##}	0.68±0.11 ^{##}	0.75±0.12 ^{##}
西红花苷中剂量组	8	0.83±0.13 ^{##}	0.77±0.10 ^{##}	0.92±0.12 ^{##}
西红花苷高剂量组	10	1.01±0.19 ^{##}	0.88±0.13 ^{##}	1.19±0.14 ^{##}

注: 与假手术组比较, ^{**} $P<0.01$; 与模型组比较, ^{##} $P<0.01$ 。



注: A为假手术组, B为模型组, C为地尔硫草组, D~F为西红花苷低、中、高剂量组。

图3 各组大鼠心肌组织SIRT1、Nrf2、HO-1蛋白条带

Nrf2、HO-1蛋白表达均高于模型组($P<0.01$)。

4 讨论

目前研究认为, I/R 损伤的病理机制主要与心肌细胞内大量产生氧自由基、白细胞炎性浸润、钙离子超负荷及缺乏高能磷酸化合物等有关^[9], I/R 不仅能损害心功能, 还可影响脑、肝、肾、胃肠等器官组织^[10]。MDA 属于自由基与脂质发生过氧化反应的产物, 在 I/R 所致的心肌损伤中有重要的推动作用^[11]; SOD 属于抗氧化酶家族的重要成

表6 各组大鼠心肌组织SIRT1、Nrf2、HO-1蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	SIRT1蛋白	Nrf2蛋白	HO-1蛋白
假手术组	8	1.46±0.28	0.62±0.11	0.71±0.10
模型组	9	0.21±0.04 ^{**}	0.10±0.03 ^{**}	0.03±0.01 ^{**}
地尔硫草组	9	0.56±0.10 ^{##}	0.31±0.05 ^{##}	0.17±0.04 ^{##}
西红花苷低剂量组	8	0.36±0.05 ^{##}	0.23±0.04 ^{##}	0.12±0.03 ^{##}
西红花苷中剂量组	8	0.52±0.11 ^{##}	0.29±0.05 ^{##}	0.16±0.04 ^{##}
西红花苷高剂量组	10	1.25±0.21 ^{##}	0.36±0.05 ^{##}	0.42±0.07 ^{##}

注: 与假手术组比较, ^{**} $P<0.01$; 与模型组比较, ^{##} $P<0.01$ 。

员, 可清除大量的氧自由基, 增强机体抗氧化能力, 保护器官功能^[12]。地尔硫草脉冲控释片可减轻心脏负荷和氧化应激反应、增强心功能、抗心肌纤维化^[13], 因此本研究选用地尔硫草作为阳性对照。有研究显示, 西红花苷可通过改善氧自由基代谢、减少氧自由基生成减轻心肌缺血大鼠的心肌损害^[14]。本研究发现, 地尔硫草组和西红花苷各剂量组血清和心肌组织 MDA 水平均较模型组下降, 而 SOD 活性均较模型组升高, 证实地尔硫草与西红花苷均可减轻机体氧化应激反应。通过心肌损伤标志物 LDH、CK-MB 活性检测, HE 染色病理观察及心肌细胞凋亡率检测也证实, 上述药物均可减轻 I/R 所致的心肌损伤, 推测其可能是通过减轻氧化应激反应所发挥作用。

SIRT1 属于 Sirtuin 家族蛋白, 在心肌、神经和肾脏等组织中均高表达, 对机体氧化应激损伤有抑制作用, 主要是通过抑制氧自由基的产生、纠正线粒体代谢紊乱等途径

实现对上述组织器官的保护作用^[15-16]。Nrf2 受 SIRT1 的正反馈调节, 可通过调节氧化应激反应影响细胞存活状态。有研究显示, 在氧化应激易感因素刺激下, SIRT1 表达受抑制, Nrf2 与其特异性受体结合增多, 使得 Nrf2 活性下降, 进而可抑制其下游 HO-1 的表达^[17]。而 HO-1 属于抗氧化蛋白, 遍布全身组织, 也有研究证实通过抑制 HO-1 表达可减轻氧化应激反应, 保护脏器组织结构与功能^[18]。本研究发现, 地尔硫草组和西红花苷各剂量组 SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA 与蛋白表达均较模型组升高, 且西红花苷高剂量组作用更优。徐桂萍等^[19]发现 SIRT1 可激活 Nrf2/HO-1 通路减轻大鼠心肌 I/R 损伤, 且白藜芦醇可通过上调上述因子表达, 提高三者的转录水平发挥心肌保护作用, 与本研究结果相符, 据此推测西红花苷很可能也是通过调控该通路, 上调心肌组织 SIRT1、Nrf2、HO-1 表达, 减轻 I/R 大鼠氧化应激反应和心肌损伤。

综上所述,地尔硫卓和西红花苷均可降低I/R大鼠血清LDH、CK-MB活性,增强机体抗氧化应激能力,改善大鼠心肌损伤,减少心肌细胞凋亡,可能是通过激活SIRT1/Nrf2通路,上调SIRT1、Nrf2、HO-1表达,进而减轻氧化应激反应实现心肌保护作用,且高剂量的西红花苷作用更佳。但是目前尚不明确西红花苷是否可通过其它途径保护I/R大鼠心肌组织,且西红花苷在心肌缺血患者中应用的可行性也尚未可知,应作为后期探讨的重点。

参考文献:

[1] Li W Y, Li W, Leng Y, et al. Ferroptosis is involved in diabetes myocardial ischemia/reperfusion injury through endoplasmic reticulum stress [J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(2): 210-225.

[2] 李尧锋,杨欣,朱璨,等.基于网络药理学和分子对接分析薤白治疗心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J].中国医院药学杂志,2020,40(8):885-891.

[3] Ding S K, Liu D H, Wang L X, et al. Inhibiting microRNA-29a protects myocardial ischemia-reperfusion injury by targeting SIRT1 and suppressing oxidative stress and NLRP3-mediated pyroptosis pathway [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2020, 372(1): 128-135.

[4] 侯莉,于颖,丁力.西红花苷通过C/EBP-β/PGC-1α/UCP3途径对缺血缺氧损伤心肌的保护作用[J].中国动脉硬化杂志,2019,27(6):481-488.

[5] Wang X W, Yuan B B, Cheng B, et al. Crocin alleviates myocardial ischemia/reperfusion-induced endoplasmic reticulum stress via regulation of miR-34a/Sirt1/Nrf2 pathway [J]. *Shock*, 2019, 51(1): 123-130.

[6] Xu G P, Zhao X, Fu J, et al. Resveratrol increase myocardial Nrf2 expression in type 2 diabetic rats and alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury (MIRI) [J]. *Ann Palliat Med*, 2019, 8(5): 565-575.

[7] 秦川,魏泓.实验动物学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2015:10-15.

[8] 张玮玮,郭永清.大鼠急性心肌缺血再灌注模型的改进[J].山西医药杂志,2009,38(10):902-903.

[9] Tian L, Cao W J, Yue R J, et al. Pretreatment with tiliatin improves mitochondrial energy metabolism and oxidative stress in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury via AMPK/SIRT1/PGC-1 alpha signaling pathway [J]. *J Pharmacol Sci*, 2019, 139(4): 352-360.

[10] Conklin D J, Guo Y, Nystoriak M A, et al. TRPA1 channel contributes to myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 316(4): H889-H899.

[11] Pu Y, Wu D, Lu X, et al. Effects of GCN2/eIF2α on myocardial ischemia/hypoxia reperfusion and myocardial cells injury [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(9): 5586-5598.

[12] Fuentes E, Moore-Carrasco R, de Andrade Paes A M, et al. Role of platelet activation and oxidative stress in the evolution of myocardial infarction [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2019, 24(6): 509-520.

[13] 范丽,姚亚妮,李瑜.地尔硫卓对异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌纤维化的保护作用研究[J].心肺血管病杂志,2019,38(7):793-798.

[14] 张荣,钱之玉,韩潇媛,等.西红花酸和西红花苷对缺血缺氧损伤心肌保护作用的比较研究[J].中国天然药物,2009,7(3):223-227.

[15] Yu L M, Dong X, Xue X D, et al. Protection of the myocardium against ischemia/reperfusion injury by punicalagin through an SIRT1-NRF-2-HO-1-dependent mechanism [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 30(6): 152-162.

[16] Huang G R, Hao F G, Hu X Y. Downregulation of microRNA-155 stimulates sevoflurane-mediated cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury by binding to SIRT1 in mice [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 15494-15505.

[17] Li L T, Liu T T, Liu L, et al. Effect of hydrogen-rich water on the Nrf2/ARE signaling pathway in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2019, 51(6): 393-402.

[18] 张继红,卢超,石孟琼,等.芪苈参萸益心方对心力衰竭大鼠Sirt1/FoxO1/Pgc-1α和Nrf2/抗氧化通路的影响[J].中医药理与临床,2019,35(2):108-115.

[19] 徐桂萍,赵萱,付鹃. SIRT1激活Nrf2/HO-1信号通路减轻大鼠心肌缺血/再灌注损伤及白藜芦醇的保护作用[J].国际麻醉学与复苏杂志,2020,41(8):742-747.