

[4] 张俊, 魏永凯, 李玥, 等. 美洲大蠊提取物 Ento-D 对醋酸诱导的急性溃疡性结肠炎大鼠的作用及机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(1): 304-308.

[5] 谭巧云, 满红霞, 那凯歌, 等. 美洲大蠊提取物对口腔溃疡大鼠模型的作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(11): 1014-1016.

[6] 邹俊波, 桑文涛, 王芳, 等. 美洲大蠊提取物对乙醇致小鼠急性胃溃疡的预防作用[J]. 中成药, 2016, 38(11): 2325-2331.

[7] 张国容. IL-17 对体外培养人牙周膜成纤维细胞增殖的影响及机制初探[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.

[8] 李隽, 胥春, 郝轶, 等. 人牙周膜细胞原代培养及鉴定[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2008, 28(11): 1373-1376.

[9] 李杰, 陈哲杰, 石金凤, 等. 美洲大蠊口腔贴膜剂的制备及其抗口腔溃疡作用考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23): 29-36.

[10] 王素娟, 王恺, 侯燕琳. MTT 法检测夏枯消瘤丸含药血清对人肺癌 A549 细胞的实验研究[J]. 山西中医学院学报, 2018, 19(1): 6-9.

[11] 郑睿, 谭裕洁, 古萌琴, 等. N-乙酰半胱氨酸对脂多糖诱导的人牙周膜成纤维细胞表达相关蛋白和基因的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(6): 925-929.

[12] 王颖, 刘蓉蓉, 龚玖瑜, 等. 脂多糖体外诱导牙周膜成纤维细胞发生内质网应激[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(3): 277-279; 281.

[13] 侯金秋, 吕博, 孟凌宇, 等. 咖啡酸四聚体异构体基于 MAPK/NF-κB 信号通路的体外抗炎作用机制研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2022, 40(4): 445-452.

[14] 任莉, 裴松波, 谭颖微, 等. TNF-α 对人牙周膜成纤维细胞 RANKL/OPG mRNA 表达的影响[J]. 重庆医学, 2007, 36(6): 502-504.

[15] Gillespie M T. Impact of cytokines and T lymphocytes upon osteoclast differentiation and function [J]. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(2): 103.

[16] 康仟, 赵彬. 双氯芬酸钠对脂多糖诱导的人牙周膜成纤维细胞 IL-1β 和 TNF-α 表达的影响研究[J]. 中国实用口腔科杂志, 2014, 7(3): 164-167.

[17] 白红丹, 张斌, 关呈超, 等. NF-κappaB 信号通路与牙周炎关系的研究进展[J]. 现代口腔医学杂志, 2012, 26(4): 272-275.

[18] 聂嘉, 张博, 顾斌, 等. p38 丝裂原活化蛋白激酶在炎症微环境作用下对牙周膜干细胞成骨分化的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2015, 37(1): 1-7.

人参蛋白对阿尔茨海默病小鼠肠道菌群及 BDNF/TrkB 信号通路的影响

李昶¹, 雷天荣¹, 王思明², 曹阳³, 肖洪贺¹, 李红艳^{1*}

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600; 2. 长春中医药大学, 吉林省人参科学研究院, 吉林长春 130117; 3. 大连华信理化检测中心有限公司, 辽宁大连 116600)

摘要: 目的 探讨人参蛋白对阿尔茨海默病小鼠肠道菌群及 BDNF/TrkB 信号通路的影响。方法 采用 D-半乳糖/AlCl₃ 联合诱导建立阿尔茨海默病模型, 小鼠随机分为正常一组、正常二组、模型一组、模型二组、人参蛋白组、菌群移植组, 采用 Morris 水迷宫实验评价学习记忆能力, Western blot 法检测脑组织 APP、p-Tau、BDNF、TrkB、p-TrkB 蛋白表达, 16S rDNA 检测粪便菌群多样性。结果 人参蛋白、菌群移植可缩短小鼠逃避潜伏期 ($P<0.05$), 增加穿越平台次数 ($P<0.05$), 降低脑组织 APP、p-Tau 蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$), 升高 BDNF、p-TrkB、p-TrkB/TrkB 蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$), 减少拟普雷沃菌属、瘤胃球菌科_UCG-014、普雷沃氏菌科_UCG-001、瘤胃球菌属_1 丰度 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 人参蛋白抗阿尔茨海默病的作用机制可能是调节肠道微生物多样性激活 BDNF/TrkB 信号通路。

关键词: 人参蛋白; 阿尔茨海默病; 肠道菌群; BDNF/TrkB 信号通路; 16S rDNA

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1319-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.050

收稿日期: 2021-04-06

基金项目: 辽宁省自然科学基金计划重点项目(20180530033); 中医脏象理论及应用教育部重点实验室(辽宁中医药大学)开放基金项目(ZYXZ1709)

作者简介: 李昶(1997—), 女, 硕士生, 从事中药药理学研究。Tel: (0411) 85890247, E-mail: 343423898@qq.com

***通信作者:** 李红艳(1982—), 女, 博士, 副教授, 从事中药药理学研究。Tel: (0411) 85890142, E-mail: lhywaiw@163.com

网络出版日期: 2022-02-15

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220215.1544.006.html>

人参蛋白是人参有效组分之一, 具有体内外抗阿尔茨海默病作用^[1-2], 其作用机制与激活环磷酸腺苷/环磷腺苷效应元件结合蛋白(cAMP/CREB)信号通路有关。脑源性神经营养因子(BDNF)是CREB下游效应因子, 可与酪氨酸蛋白激酶受体B(TrkB)结合, 引起TrkB自身磷酸化增加, 进而促进神经元生长、生存与分化^[3-4], 并对 β -淀粉样蛋白(A β)引起的神经元损伤具有一定保护作用^[5]。BDNF/TrkB信号通路与认知功能密切相关, 该通路失活可能会导致认知功能出现异常^[6], 同时BDNF表达与肠道微生物密切相关, 肠道菌群紊乱会减少大脑皮质及海马中的BDNF水平, 从而导致中枢神经系统功能失调, 引起行为异常和认知障碍乃至阿尔茨海默病的发生^[7]。有报道指出, 阿尔茨海默病患者肠道菌群的丰度和多样性明显降低^[8], 故本研究拟通过16S rDNA微生物多样性测序、肠道菌群移植结合Morris水迷宫、Western blot实验, 探讨人参蛋白抗阿尔茨海默病的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 KM 小鼠 90 只, 雌性, 体质量 30~35 g, 购自辽宁长生生物技术股份有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(辽)2015-0001。

1.2 药物、试剂与仪器 人参与吉林农业大学人参种植基地, 经长春中医药大学中药鉴定教研室姜大成教授鉴定为正品。淀粉样前体蛋白(APP, 货号 A16265)、BDNF(货号 A11028)、TrkB 抗体(货号 A12325)(武汉爱博泰克生物科技有限公司); 磷酸化微管相关蛋白(p-Tau, 磷酸化位点 ser 396, 货号 AF3418)、磷酸化酪氨酸激酶 B(p-TrkB, 磷酸化位点 Tyr515, 货号 AF3462) 抗体(美国 Affinity 公司); HRP 标记山羊抗兔 IgG(H+L)(货号 WLA023a)(沈阳万类生物科技有限公司)。MS-1 型 Morris 水迷宫视频跟踪系统(成都泰盟科技有限公司); 电泳仪、半干转膜仪(美国 Bio-Rad 公司); 超灵敏化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 人参蛋白制备 人参粉碎后加入 10 倍量 pH 7.5 PBS 缓冲液浸泡, 在 4 ℃下过夜提取 2 次, 提取液 4 ℃、5 000 r/min 离心 30 min, 合并上清液, 滤过, 浓缩, 吸取 20 mL 浓缩液, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 超纯水冲洗平衡后进样 AKTA 蛋白纯化系统检测, 接取有 UV 吸收峰的流分, 合并, 冷冻干燥, 即得, 收率约为 0.6%。临用前, 取人参蛋白冻干粉, 加蒸馏水配成 0.01 g/mL 溶液, 在 4 ℃下冷藏保存, 每次配制量的使用时间不超过 3 d。

2.2 分组及给药 90 只小鼠随机分为正常一组、正常二组、模型一组、模型二组、人参蛋白组、菌群移植组, 每组 15 只, 除 2 个正常组外其余各组小鼠皮下注射 D-半乳糖(140 mg/kg)联合灌胃给予 AlCl₃(20 mg/kg)以建立阿尔茨海默病模型, 每天 1 次, 连续 60 d, 正常一组小鼠每天分别灌胃及注射与模型一组等体积的蒸馏水、生理盐水。造模 30 d 后, 人参蛋白组小鼠灌胃给予相应溶液 0.1 g/kg,

每天 1 次, 连续 30 d, 给药剂量依据文献[2]报道; 造模 60 d 后, 菌群移植组小鼠灌肠给予小鼠粪菌液(制备方法为无菌收集人参蛋白组小鼠给药 30 d 后的粪便, 按 1:5 比例^[9]迅速与无菌生理盐水混合密封, 混匀, 3 层纱布滤过去除不溶大颗粒物质, 4 ℃、3 000 r/min 离心 3 min, 弃上清液, 等量无菌生理盐水重悬, 重复 2 次, 即得, 在 -80 ℃下保存) 0.2 g/kg [约为临床人粪便菌液的等效剂量(1.67 g/kg^[10])] , 每天 1 次, 连续 30 d。再分别以相同处理时间的正常二组、模型二组小鼠为空白、模型对照。

2.3 Morris 水迷宫实验 在造模 26~30 d, 采用 Morris 水迷宫实验对各组小鼠进行初筛, 去掉离散度较大者, 每组保留 10 只。后续实验分为 2 个阶段, 第一阶段为人参蛋白给药 25~30 d(即造模 55~60 d), 正常一组、模型一组、人参蛋白组小鼠进行检测; 第二阶段为菌群移植 25~30 d(即造模 85~90 d), 剩余小鼠进行检测。前 5 d 为定位航行试验, 每天于 4 个象限各训练 1 次, 每次 60 s, 以第 5 天 4 个象限成绩平均值作为定位航行实验结果; 第 6 天撤去水下平台, 进行空间探索试验, 以离平台最远象限为入水点, 以逃避潜伏期(即从入水点找到平台所用时间)、去平台后穿越平台次数来评价小鼠学习记忆能力。

2.4 Western blot 法检测 APP、p-Tau、BDNF、TrkB、p-TrkB、p-TrkB/TrkB 蛋白表达 Morris 水迷宫实验结束后, 各组小鼠脱颈处死, 取海马组织, 相同组随机合并成每组 3 个样本, 经液氮研磨、RIPA 裂解液(含 10 μL PMSF)裂解后, BCA 蛋白定量测定试剂盒检测蛋白浓度, 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离后进行半干转, 一抗(APP、p-Tau、BDNF、TrkB、p-TrkB, 1:1 000)、二抗(抗兔 IgG, 1:4 000)分别孵育后进行 ECL 显色, 化学发光成像系统成像, 以 GAPDH 为内参, 采用 Image J 软件分析条带光密度值。为了直观比较人参蛋白与菌群移植对小鼠病理损伤改善作用的差异, 根据人参蛋白降低模型一组的 APP 或 p-Tau 蛋白表达, 本研究将人参蛋白数值折算后与菌群移植组共同作图, 公式为人参蛋白组折算=人参蛋白组/(模型一组×模型二组)。

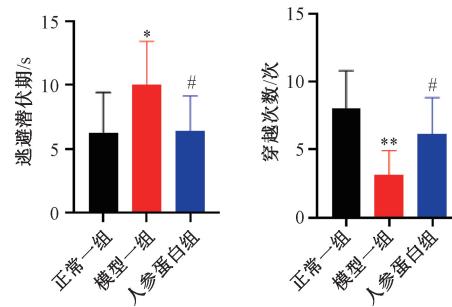
2.5 16S rDNA 肠道微生物多样性分析 Morris 水迷宫实验结束 1 h 后, 无菌收集正常一组、模型一组、人参蛋白组小鼠粪便, 密封放于无菌 EP 管中, 在 -80 ℃下冷冻保存。随机选取各组 6 只小鼠的粪便(每只约 0.18 g), 采用 DNA 抽提试剂盒对样本的基因组 DNA 进行提取, 琼脂糖凝胶电泳、NanoDrop2000 检测 DNA 浓度, 以基因组 DNA 为模板, 使用带 barcode 特异引物, Tks Gflex DNA Polymerase 进行 PCR 扩增, PCR 产物经电泳检测后进行磁珠纯化及再次 PCR 扩增, 重复 2 次, 对纯化后 PCR 产物进行 Qubit 定量, 根据其浓度进行等量混样, 上机测序。采用 OTU(可操作分类单元, 将序列按照彼此的相似性分归为许多小组, 1 个小组就是 1 个 OTU, 以 97% 的序列相似度进行 OTU 划分) 分类, 对不同来源微生物群落样本进行门、纲、科、属、种等水平的分析。本研究以属水平为例,

选择差异物种丰度排名前十者进行相对丰度 Boxplot 分析，并进行优势差异物种组内、组间比较。

2.6 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。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

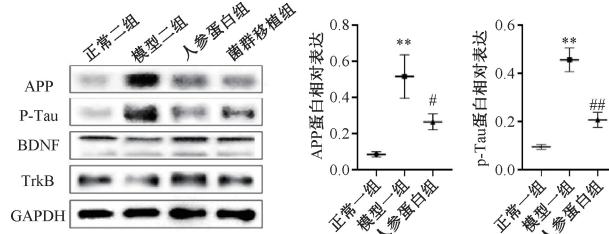
3.1 人参蛋白对小鼠学习记忆能力的影响 造模 60 d 后，



注：与正常一组、正常二组比较，* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ；与模型一组、模型二组比较，# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 1 人参蛋白对小鼠学习记忆能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

3.2 人参蛋白对小鼠脑组织 APP、p-Tau 蛋白表达的影响 与正常一组、正常二组比较，模型一组、模型二组小鼠脑组织 APP、p-Tau 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)；与模型一组、模型二组比较，人参蛋白组、菌群移植组小鼠 APP、p-Tau 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)；与正常二组比较，模型二



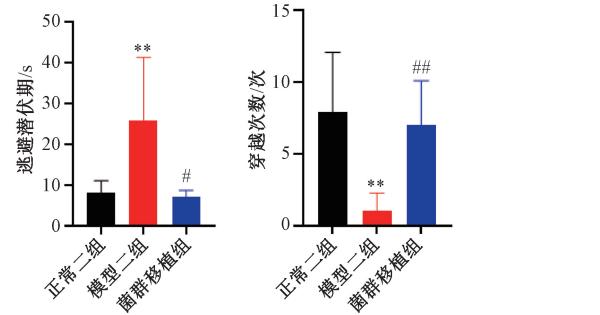
注：与正常一组、正常二组比较，** $P < 0.01$ ；与模型一组、模型二组比较，# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 2 人参蛋白对小鼠脑组织 APP、p-Tau 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

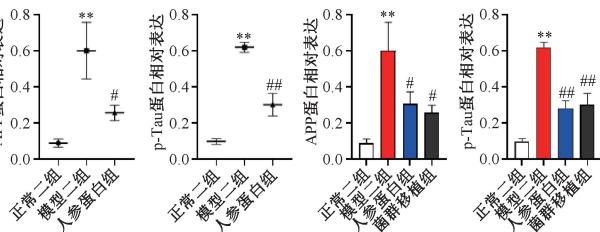
3.3 人参蛋白对小鼠 BDNF/TrkB 通路相关蛋白表达的影响 与正常二组比较，模型二组小鼠 BDNF、p-TrkB、p-TrkB/TrkB 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型二组比较，人参蛋白组、菌群移植组小鼠 BDNF、p-TrkB、p-TrkB/TrkB 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与人参蛋白组比较，菌群移植组小鼠 TrkB 蛋白表达无显著差异 ($P > 0.05$)，见图 3。

3.4 人参蛋白对小鼠肠道菌群多样性的影响 与正常一组比较，模型一组肠道菌群的差异菌属中拟普雷沃菌属、瘤胃球菌科_UCG-014、普雷沃氏菌科_UCG-001、理研菌属_RC9_gut 组、瘤胃球菌属_1 丰度升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型一组比较，人参蛋白组肠道菌群的差异菌属中拟普雷沃菌属、瘤胃球菌科_UCG-014、普雷沃氏菌科_UCG-001、瘤胃球菌属_1 丰度降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，毛螺菌科_UCG-001 与脱硫弧菌属丰度升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 4。

与正常一组比较，模型一组小鼠逃避潜伏期延长，穿越原平台所在象限次数减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型一组比较，人参蛋白组小鼠逃避潜伏期缩短，穿越次数增加 ($P < 0.05$)。粪菌移植 30 d (即造模 90 d) 后，与正常二组比较，模型二组小鼠逃避潜伏期延长，穿越平台次数减少 ($P < 0.01$)；与模型二组比较，菌群移植组小鼠逃避潜伏期缩短，穿越平台次数增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 1。



组小鼠脑组织 APP、p-Tau 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)；与模型二组比较，人参蛋白组和菌群移植组小鼠脑组织 APP、p-Tau 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与人参蛋白组比较，菌群移植组小鼠脑组织 APP、p-Tau 蛋白表达无显著差异 ($P > 0.05$)，见图 2。



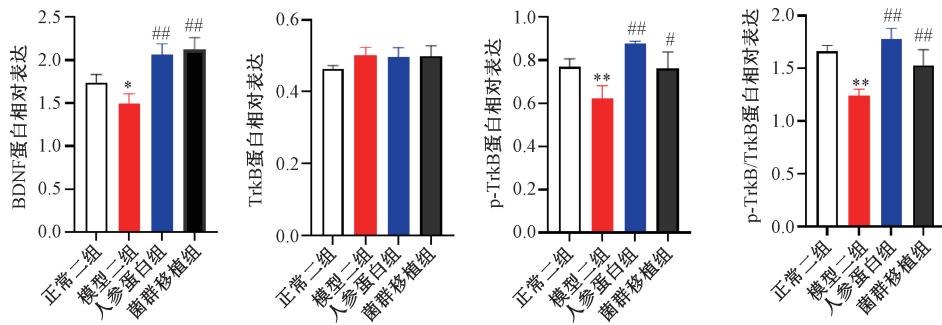
注：与正常一组、正常二组比较，** $P < 0.01$ ；与模型一组、模型二组比较，# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 2 人参蛋白对小鼠脑组织 APP、p-Tau 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

4 讨论

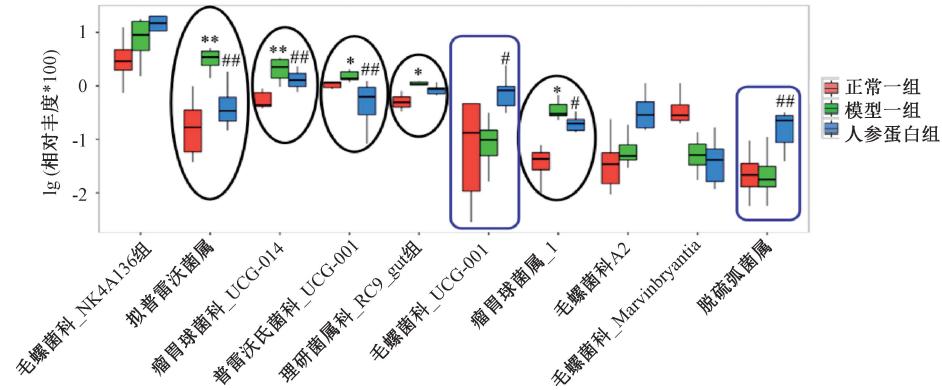
$\text{A}\beta$ 过度产生和清除不足是阿尔茨海默病发病的始动因素^[11]。 $\text{A}\beta$ 由 β 淀粉样前体蛋白 APP 水解产生， $\text{A}\beta$ 异常沉积会导致周围神经元受损并引起 Tau 蛋白过度磷酸化形成神经原纤维缠结^[12]，最终导致阿尔茨海默病的发生。本实验通过研究人参蛋白及菌群移植对 APP、p-Tau 蛋白表达的影响探讨人参蛋白对阿尔茨海默病病理损伤的改善作用，结果表明人参蛋白及菌群移植能够抑制 APP、p-Tau 蛋白表达，且二者作用无差异，提示人参蛋白能在早期抑制阿尔茨海默病进程，调节肠道菌群很可能是其抗阿尔茨海默病的主要机制。

Morris 水迷宫实验是广泛使用的研究啮齿类动物空间学习记忆能力的方法^[13]。本研究发现，人参蛋白及菌群移植能明显缩短阿尔茨海默病模型小鼠逃避潜伏期和穿越平台次数，提示人参蛋白能改善阿尔茨海默病模型小鼠的学习记忆能力，并且该作用与影响肠道菌群有关。据报道，



注: 与正常二组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型二组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图3 人参蛋白对小鼠 BDNF/TrkB 通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



注: 与正常一组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型一组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图4 各样本在属分类水平差异物种的 Boxplot 分析图 ($n=6$)

肠道微生物可以通过微生物-肠-脑轴影响脑功能, 调节大脑基因表达^[14-15]。肠道菌群及其代谢物与阿尔茨海默病等中枢神经退行性疾病相关, 与正常健康人群的肠道多样性相比, 阿尔茨海默病患者肠道多样性降低^[8], 雷沃氏菌属水平升高^[16], 普雷沃氏菌属、瘤胃球菌属和理研菌属相对丰度与对照组比较均具有显著差异^[17]。本研究通过对 OTU 丰度在属分类水平进行差异性分析, 结果表明, 人参蛋白能影响菌属丰度, 使菌群数量较正常组接近, 并降低与阿尔茨海默病相关的拟普雷沃菌属、瘤胃球菌属_1、普雷沃氏菌科_UCG-001 丰度。由于肠道菌群可调节 BDNF、突触素等多种影响大脑发育及大脑可塑性的营养因子或蛋白质, 课题组前期研究也提示人参蛋白的抗阿尔茨海默病作用可能与 BDNF 通路激活相关, 因此本研究进一步探讨了人参蛋白与菌群移植对 BDNF/TrkB 信号通路的影响, 结果表明, 人参蛋白能激活 BDNF、p-TrkB 蛋白表达, 提高 p-TrkB/TrkB 蛋白表达比值, 该作用与菌群移植组高度一致, 提示调节肠道菌群、激活 BDNF/p-TrkB 信号通路是人参蛋白抗阿尔茨海默病的作用机制之一。

参考文献:

- Li H Y, Song J, Zhang J H, et al. Ginseng protein reverses amyloid beta peptide and H₂O₂ cytotoxicity in neurons, and ameliorates cognitive impairment in AD rats induced by a combination of D-galactose and AlCl₃ [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(2): 284-295.
- Li H Y, Kang T G, Qi B, et al. Neuroprotective effects of ginseng protein on PI3K/Akt signaling pathway in the hippocampus of D-galactose/AlCl₃ inducing rats model of Alzheimer's disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 179: 162-169.
- Bailey J J, Schirmacher R, Farrell K, et al. Tropomyosin receptor kinase inhibitors: an updated patent review for 2010-2016-Part II [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2017, 27(7): 831-849.
- Kim J, Lee S, Choi B R, et al. Sulforaphane epigenetically enhances neuronal BDNF expression and TrkB signaling pathways [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61(2): 1600194.
- Belrose J C, Masoudi R, Michalski B, et al. Increased pro-nerve growth factor and decreased brain-derived neurotrophic factor in non-Alzheimer's disease tauopathies [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(4): 926-933.
- Wang Z H, Xiang J, Liu X, et al. Deficiency in BDNF/TrkB neurotrophic activity stimulates δ -secretase by upregulating C/EBP β in Alzheimer's disease [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(3): 655-669.
- Bercik P, Denou E, Collins J, et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141 (2): 599-609.
- Vogt N M, Kerby R L, Dillmeier K A, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13537.

[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