

[文章编号] 1007-3949(2019)27-09-0757-07

· 实验研究 ·

虎杖苷通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路减轻大鼠急性心肌梗死后心肌细胞损伤

雷 斌, 唐 玲, 张 亮, 赵航天, 朱晓丽, 李家燕

(河南科技大学第三附属医院 洛阳东方医院心内科二病区, 河南省洛阳市 471003)

[关键词] 虎杖苷; 急性心肌梗死; 核因子 E2 相关因子 2; 血红素加氧酶 1; 信号通路; 氧化应激

[摘要] 目的 研究虎杖苷对大鼠急性心肌梗死(AMI)后心肌细胞损伤的保护作用及分子机制。方法 SD 雄性大鼠随机分为 Sham 组、AMI 组、虎杖苷组、虎杖苷+ZnPP 组。后 3 组通过左冠状动脉前降支结扎的方式建立 AMI 模型。虎杖苷为每天 40 mg/kg 灌胃, 血红素加氧酶 1(HO-1)抑制剂 ZnPP 为每天 20 mg/kg 腹腔注射。造模后第 8 天, 检测各组心功能超声指标左心室射血分数(LVEF)、左室内压力变化最大上升和下降速率($\pm dp/dt_{max}$)、血清心肌损伤指标、心肌梗死面积、心肌氧化应激指标及核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/HO-1 表达情况。结果 与 Sham 组比较, AMI 组 LVEF、 $\pm dp/dt_{max}$ 及心肌超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的含量均明显降低, 心肌梗死面积及血清乳酸脱氢酶(LDH)、磷酸肌酸激酶(CK)、磷酸肌酸激酶同工酶(CK-MB)含量及心肌丙二醛(MDA)的含量及 Nrf-2、HO-1 的表达水平均明显增加($P < 0.05$)。与 AMI 组比较, 虎杖苷组 LVEF、 $\pm dp/dt_{max}$ 、 $\pm dp/dt_{max}$ 及心肌 SOD、GSH-Px 的含量及 Nrf-2、HO-1 的表达水平均明显升高, 心肌梗死面积及血清 LDH、CK、CK-MB 含量及心肌 MDA 的含量均明显降低($P < 0.05$)。与虎杖苷组比较, 虎杖苷+ZnPP 组 LVEF、 $\pm dp/dt_{max}$ 、 $\pm dp/dt_{max}$ 及心肌 SOD、GSH-Px 的含量均明显降低, 心肌梗死面积及血清 LDH、CK、CK-MB 含量及心肌 MDA 的含量均明显增加($P < 0.05$)。结论 虎杖苷能够减轻大鼠急性心肌梗死后心肌细胞损伤, 该效应可能由 Nrf2/HO-1 通路的激活介导。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Polydatin attenuating myocardial cell injury after acute myocardial infarction in rats through activating Nrf2/HO-1 signaling pathway

LEI Bin, TANG Ling, ZHANG Liang, ZHAO Hangtian, ZHU Xiaoli, LI Jiayan

(Department of Cardiology, the Third Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Hospital of Luoyang Dongfang, Luoyang, Henan 471003, China)

[KEY WORDS] polydatin; acute myocardial infarction; nuclear factor E2 related factor 2; heme oxygenase-1; signaling pathway; oxidative stress

[ABSTRACT] **Aim** To study the protective effect and molecular mechanism of polydatin on myocardial cell injury after acute myocardial infarction in rats. **Methods** SD male rats were randomly divided into Sham group, AMI group, polydatin group, polydatin + ZnPP group. The latter 3 groups were established by ligating the left anterior descending coronary artery. Polydatin is administered by 40 mg per day, and the heme oxygenase 1 (HO-1) inhibitor ZnPP is intraperitoneally injected with 20 mg per day. On the 8th day after model establishment, the left ventricular ejection fraction (LVEF), the maximum increase and decrease rate of left ventricular pressure ($\pm dp/dt_{max}$), serum myocardial injury index, myocardial infarct size, oxidative stress index and nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2)/HO-1 expression in each group were measured. **Results** Compared with Sham group, LVEF, $\pm dp/dt_{max}$, $\pm dp/dt_{max}$ and the contents of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) in myocardial tissue of AMI group significantly decreased, the infarct size, the contents of lactate dehydrogenase (LDH), phosphocreatine kinase (CK), phosphocreatine kinase

[收稿日期] 2019-02-13

[修回日期] 2019-05-24

[作者简介] 雷斌, 副主任医师, 研究方向为冠状动脉介入治疗及心功能衰竭、高血压病、心律失常的诊断和治疗, E-mail 为 13598488275@163.com。

isoenzyme (CK-MB) in serum and the content of MDA and the expression of Nrf-2, HO-1 in myocardial tissue significantly increased ($P < 0.05$); compared with AMI group LVEF, $+dp/dt_{max}$, $-dp/dt_{max}$ and the contents of SOD, GSH-Px and the expression levels of Nrf-2, HO-1 in myocardial tissue of polydatin group were significantly increased, the infarct size, the contents of LDH, CK, CK-MB in serum and the content of MDA in myocardial tissue were significantly decreased ($P < 0.05$); compared with polydatin group, LVEF, $+dp/dt_{max}$, $-dp/dt_{max}$ and the contents of SOD, GSH-Px in myocardial tissue of polydatin+ZnPP group significantly decreased, and the infarct size, the contents of LDH, CK, CK-MB in serum and the contents of MDA in myocardial tissue significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Polydatin can alleviate myocardial cell injury after acute myocardial infarction in rats, and this effect is partially mediated by the activation of Nrf2/HO-1 pathway.

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是冠状动脉急性闭塞引起的心肌缺血坏死, 可伴有恶性心律失常、心源性休克, 甚至引发猝死。心肌缺血缺氧后氧化应激反应的过度激活是引起心肌损伤的重要病理环节, 该环节涉及多个生物学环节, 其中核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)/血红素加氧酶 1 (HO-1) 通路的过度激活是重要表现之一^[1-2]。该通路是细胞内参与抗氧化应激的信号通路, 在生理条件下 Nrf2 与 Keap1 结合并处于受抑制状态; 在氧化应激过度激活的病理条件下, 氧自由基能够刺激 Nrf2 表达增多并与 Keap1 解离, 进而识别 HO-1 基因序列上的抗氧化反应元件、启动基因表达并起到抗氧化作用。

虎杖苷是从中药虎杖中提取得到的多酚类活性物质, 具有显著的抗氧化、调脂、抗血小板、改善微循环的作用。已有相关动物实验表明, 虎杖苷能够在脊髓损伤、帕金森、哮喘等动物模型中激活 Nrf2/HO-1 通路并发挥抗氧化作用^[3-5]。国内肖召文等^[6]报道, 40 mg/kg 虎杖苷每天灌胃能够减轻 AMI 动物的心肌损伤程度, 但该作用是否通过 Nrf2/HO-1 通路来介导尚未明确。为此, 本文试图研究虎杖苷通过 Nrf2/HO-1 信号通路对大鼠 AMI 后心肌细胞损伤的作用。

1 材料和方法

1.1 实验材料

动物清洁级 SD 雄性大鼠、体质量 200 ~ 250 g, 购自上海杰思捷公司 [SYXK(沪)2017-0037]。虎杖苷、HO-1 抑制剂 ZnPP 购自 Sigma 公司, Masson 染色试剂盒、BCA 检测试剂盒购自上海碧云天公司, 乳酸脱氢酶 (LDH)、磷酸肌酸激酶 (CK)、CK 同工酶 (CK-MB)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 检测试剂盒购自南京建成研究所, Nrf-2、HO-1 第一抗体购自

Abcam 公司。小动物超声成像仪购自南京科麟得科学仪器有限公司, 蛋白显影仪购自上海天能公司, 正置显微镜购自日本 Nikon 公司, 荧光定量 PCR 仪购自美国 Bio-rad 公司。

1.2 分组、造模及给药

SD 大鼠适应性饲养 1 周后随机分为 Sham 组、AMI 组、虎杖苷组、虎杖苷+ZnPP 组, 每组各 16 只。后 3 组按照下列方法建立 AMI 模型: 腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 1 mL/kg 麻醉后, 在左侧第 3、4 肋间做切口, 显露心脏后分离左冠状动脉前降支, 用 6-0 号缝线结扎左冠状动脉前降支的起始部位, 而后关闭胸腔、完成造模。Sham 组按照相同方法做手术切口、分离左冠状动脉前降支, 但不结扎。参照肖召文等^[6]的方法, 虎杖苷的剂量选择为每天 40 mg/kg。造模后当天开始, 虎杖苷组每天给予虎杖苷 40 mg/kg 灌胃, 连续给药 7 天; 虎杖苷+ZnPP 组每天给予虎杖苷 40 mg/kg 灌胃, 及 HO-1 抑制剂 ZnPP 20 mg/kg 腹腔注射; Sham 组及 AMI 组给予相等剂量的生理盐水灌胃及腹腔注射。

1.3 心功能检测

造模后第 8 天, 每组大鼠随机选择 8 只进行心功能检测, 腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 1 mL/kg 麻醉后, 采用小动物超声成像仪进行心脏超声检查, 获得心脏超声图像后计算左心室射血分数 (LVEF)、左室内压力变化最大上升和下降速率 ($\pm dp/dt_{max}$)。

1.4 心电图检查

造模后第 8 天, 每组大鼠剩余的 8 只进行心电图检查, 腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 1 mL/kg, 麻醉后采用动物心电图仪记录分析仪进行心电图检查, 记录心电图曲线。

1.5 心肌梗死面积测定

造模后第 8 天, 完成心功能检测的大鼠处死后解剖得到心脏, 多聚甲醛固定后石蜡包埋后沿心脏长轴、从心尖向心室基底部横向切片, 共 5 片, 按照

Masson 染色试剂盒的说明书进行操作,依次进行苏木精伊红染色、丽春红染色、苯胺蓝染色、1%冰醋酸处理及梯度乙醇脱水,最后封片并拍照记录图像,正常心肌呈红色,梗死及纤维化修复的心肌呈蓝色,通过 ImageJ 软件分析心肌梗死面积占所有心肌面积的比例。

1.6 血清心肌损伤指标测定

造模后第 8 天,完成心电图检查的大鼠处死并收集外周血,静置 30 min 自然凝血后 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清并采用南京建成研究所的试剂盒测定 LDH、CK-MB、CK 的含量,所有操作均按试剂盒说明书进行。

1.7 心肌氧化应激指标测定

造模后第 8 天,完成心电图检查的大鼠、处死收集外周血后解剖心肌组织,取 50 mg 左右心肌组织并加入磷酸盐缓冲液 0.5 mL,研磨得到组织悬液后离心、弃去沉淀,采用 BCA 试剂盒测定上清液中的总蛋白含量,采用南京建成研究所的试剂盒测定上清液中 MDA、SOD、GSH-Px 的含量,所有操作均按试剂盒说明书进行。计算总蛋白中 MDA、SOD、GSH-Px 的含量。

1.8 基因表达的荧光定量 PCR 测定

造模后第 8 天,另取约 50 mg 心肌组织,按照试剂盒说明书进行操作,分离 RNA 并以此为模板反转录合成 cDNA;取 cDNA 1 μ L,与 alent 荧光定量检测试剂盒中的反应混合液 10 μ L、上下游引物液(10 μ mol/L)0.4 μ L 混合并加入去离子水补足至 20 μ L。按照 95 $^{\circ}$ C 15 s、60 $^{\circ}$ C 20 s 的程序反应 40 个循环并得到循环阈值(Ct),以 β -actin 为内参、按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 Nrf2、HO-1 的 mRNA 表达水平。Nrf2 的上游引物序列为 5'-CTA CTG AGC TGT ACG TAG C-3'、下游引物序列为 5'-ATG CAT GCT AGC TAG CAT-3';HO-1 的上游引物序列为 5'-TAG CTA CGT ATG TCA TAT A-3',下游引物序列为 5'-TAG CTA GCT ACG ATC GTA A-3'。

1.9 基因表达的 Western-blot 测定

造模后第 8 天,另取约 50 mg 心肌组织,加入蛋白裂解液研磨得到组织悬液后离心、弃去沉淀,保留上清后用 BCA 试剂盒测定总蛋白含量。每份样本取约 50 μ g 蛋白进行 Western-blot 检测,将蛋白样本加入 SDS-聚丙烯酰胺凝胶的点样槽内,进行垂直电泳、电转膜后蛋白质转移至 NC 膜,将 NC 膜放入 5% 脱脂牛奶中封闭 2 h 后取出,在 1:1 000 稀释的 Nrf2、HO-1 抗体中 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。第 2 天,取出 NC 膜并孵育第二抗体 1 h,最后加入显影液并在显影仪

中显影得到 Nrf2、HO-1、 β -actin 的蛋白条带,用 Image J 软件计算蛋白条带的灰度值,计算 Nrf2/ β -actin、HO-1/ β -actin 灰度值的比值作为蛋白表达水平。

1.10 统计学方法

采用 SPSS20.0 软件录入数据,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料经正态性检验符合正态分布后,各组间比较采用单因素方差分析、两组间的比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组大鼠心电图的改变

Sham 组为正常心电图,AMI 组心电图出现 ST 段抬高及病理性 Q 波,虎杖苷组 ST 段改变较轻且未出现病理性 Q 波(图 1)。

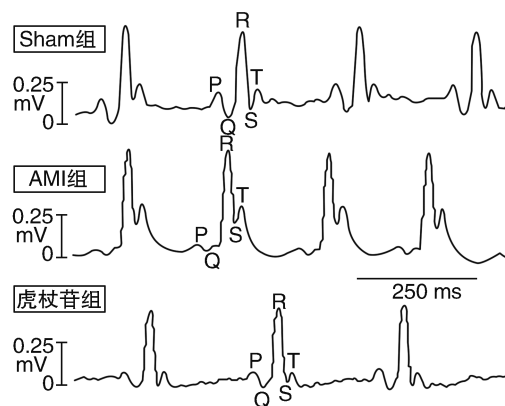


图 1. 3 组大鼠的心电图表现($n=8$)

Figure 1. The electrocardiogram of three groups of rats ($n=8$)

2.2 虎杖苷对大鼠血清心肌损伤指标的调节作用

与 Sham 组比较,AMI 组大鼠的血清 LDH、CK-MB、CK 含量均明显升高($P < 0.05$);与 AMI 组比较,虎杖苷组大鼠的血清 LDH、CK-MB、CK 含量均明显下降($P < 0.05$,表 1)。

表 1. 虎杖苷对大鼠血清心肌损伤指标的调节作用($n=8$)

Table 1. Regulatory effect of polydatin on serum myocardial injury index in rats($n=8$)

分 组	LDH(kU/L)	CK(kU/L)	CK-MB(kU/L)
Sham 组	67.69 $\pm$ 9.93	113.82 $\pm$ 15.85	32.84 $\pm$ 6.58
AMI 组	126.95 $\pm$ 18.58 ^a	246.51 $\pm$ 36.68 ^a	113.48 $\pm$ 17.86 ^a
虎杖苷组	94.51 $\pm$ 12.82 ^b	167.63 $\pm$ 20.39 ^b	72.31 $\pm$ 9.84 ^b

a 为 $P < 0.05$,与 Sham 组比较;b 为 $P < 0.05$,与 AMI 组比较。

2.3 虎杖苷对大鼠心肌梗死面积的调节作用

与 Sham 组比较, AMI 组大鼠的心肌梗死面积明显增加 ($P<0.05$), 与 AMI 组比较, 虎杖苷组大鼠的心肌梗死面积明显减少 ($P<0.05$, 图 2)。

2.4 虎杖苷对大鼠心功能的调节作用

与 Sham 组比较, AMI 组大鼠的 LVEF、+dp/dt_{max}、-dp/dt_{max} 明显下降 ($P<0.05$), 与 AMI 组比较, 虎杖苷组大鼠的 LVEF、+dp/dt_{max}、-dp/dt_{max}

明显增加 ($P<0.05$, 图 3)。

2.5 虎杖苷对大鼠心肌中氧化应激指标的调节作用

与 Sham 组比较, AMI 组大鼠心肌组织中 MDA 的含量明显增加, SOD、GSH-Px 的含量明显减少 ($P<0.05$); 与 AMI 组比较, 虎杖苷组大鼠心肌组织中 MDA 的含量明显减少, SOD、GSH-Px 的含量明显增加 ($P<0.05$, 表 2)。

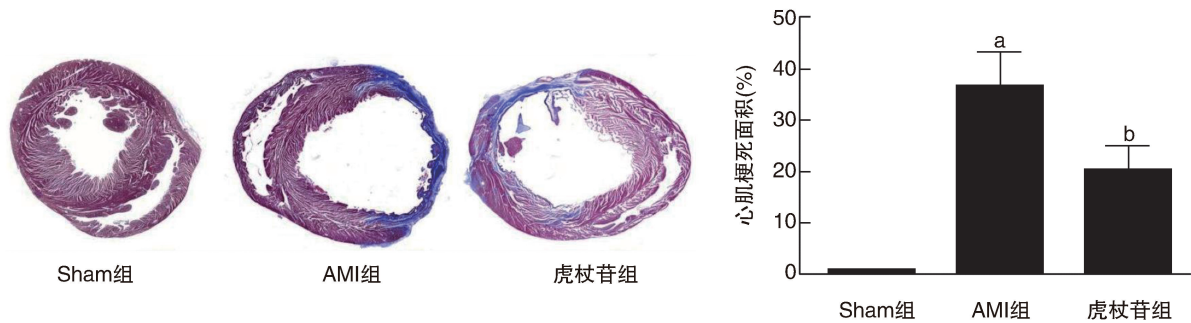


图 2. 虎杖苷对大鼠心肌梗死面积的调节作用 ($n=8$) a 为 $P<0.05$, 与 Sham 组比较; b 为 $P<0.05$, 与 AMI 组比较。

Figure 2. Regulatory effect of polydatin on myocardial infarction area in rats ($n=8$)

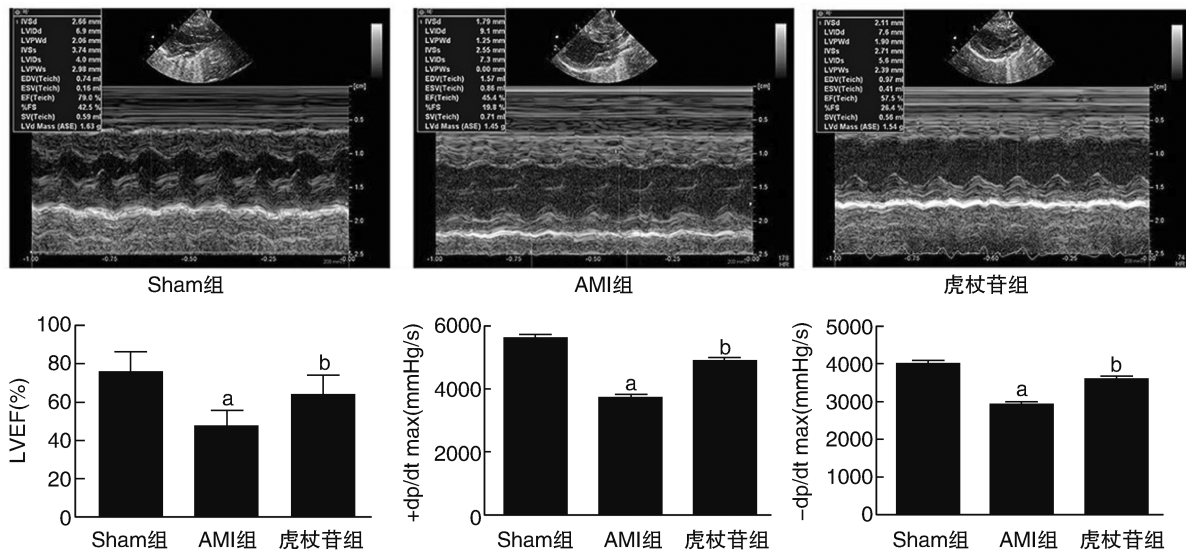


图 3. 虎杖苷对大鼠心功能的调节作用 ($n=8$) a 为 $P<0.05$, 与 Sham 组比较; b 为 $P<0.05$, 与 AMI 组比较。

Figure 3. Regulatory effect of polydatin on cardiac function in rats ($n=8$)

表 2. 虎杖苷对大鼠心肌中 MDA、SOD、GSH-Px 的调节作用 ($n=8$)

Table 2. Regulatory effect of polydatin on MDA, SOD, GSH-Px in myocardial tissue in rats ($n=8$)

分组	MDA (mmol/g)	SOD (kU/g)	GSH-Px (kU/g)
Sham 组	0.83±0.12	23.11±5.58	14.57±2.62
AMI 组	3.31±0.62 ^a	11.72±2.56 ^a	7.33±1.08 ^a
虎杖苷组	1.44±0.18 ^b	18.39±3.31 ^b	12.19±1.86 ^b

a 为 $P<0.05$, 与 Sham 组比较; b 为 $P<0.05$, 与 AMI 组比较。

2.6 虎杖苷对大鼠心肌中 Nrf2/HO-1 表达的调节作用

与 Sham 组比较, AMI 组大鼠心肌组织中 Nrf2、HO-1 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显增加 ($P<0.05$); 与 AMI 组比较, 虎杖苷组大鼠心肌组织中 Nrf2、HO-1 的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均明显增加 ($P<0.05$, 图 4 和图 5)。

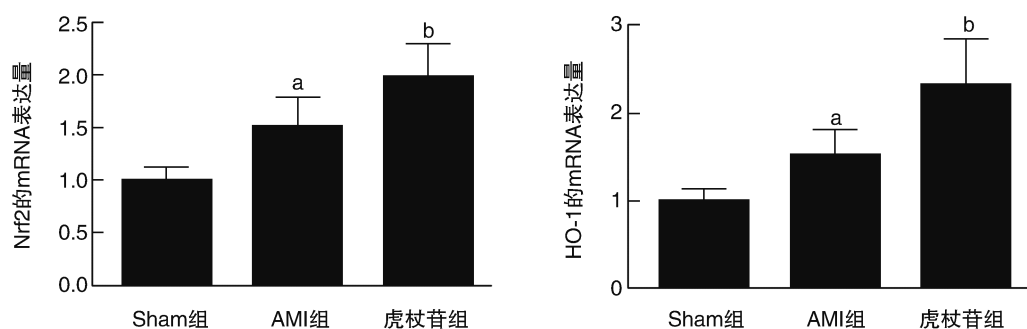


图 4. 虎杖苷对大鼠心肌中 Nrf2、HO-1 mRNA 表达的调节作用 ($n=8$) a 为 $P<0.05$, 与 Sham 组比较; b 为 $P<0.05$, 与 AMI 组比较。

Figure 4. Regulatory effect of polydatin on mRNA expression of Nrf2, HO-1 in myocardial tissue of rats ($n=8$)

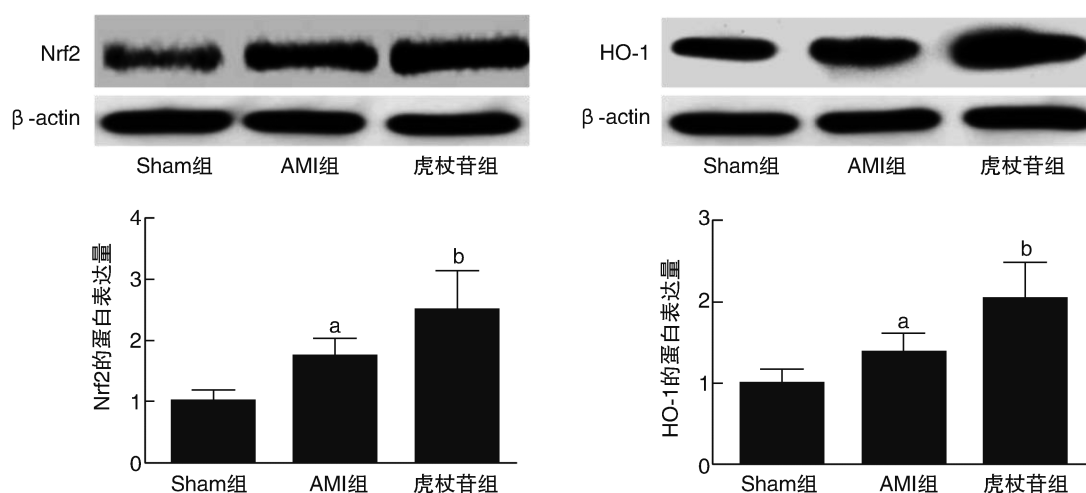


图 5. 虎杖苷对大鼠心肌中 Nrf2、HO-1 蛋白表达的调节作用 ($n=8$) a 为 $P<0.05$, 与 Sham 组比较; b 为 $P<0.05$, 与 AMI 组比较。

Figure 5. Regulatory effect of polydatin on protein expression of Nrf2, HO-1 in myocardial tissue of rats ($n=8$)

2.7 Nrf2/HO-1 通路在虎杖苷减轻大鼠心肌损伤中的作用

与虎杖苷组比较,虎杖苷+ZnPP 组大鼠的心肌梗死面积、血清中 LDH、CK、CK-MB 含量、心肌组织

中 MDA 含量均明显增加 ($P<0.05$), LVEF、+dp/dt-max、-dp/dtmax 及心肌组织中 SOD、GSH-Px 含量均明显减少 ($P<0.05$) (图 6 和图 7, 表 3 和表 4)。

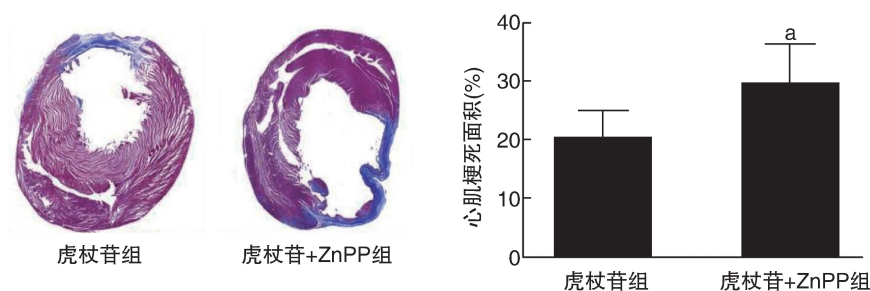


图 6. HO-1 抑制剂 ZnPP 联合虎杖苷对大鼠心肌梗死面积的调节作用 ($n=8$) a 为 $P<0.05$, 与虎杖苷组比较。

Figure 6. Regulatory effect of HO-1 inhibitor combined with polydatin on myocardial infarction area in rats ($n=8$)

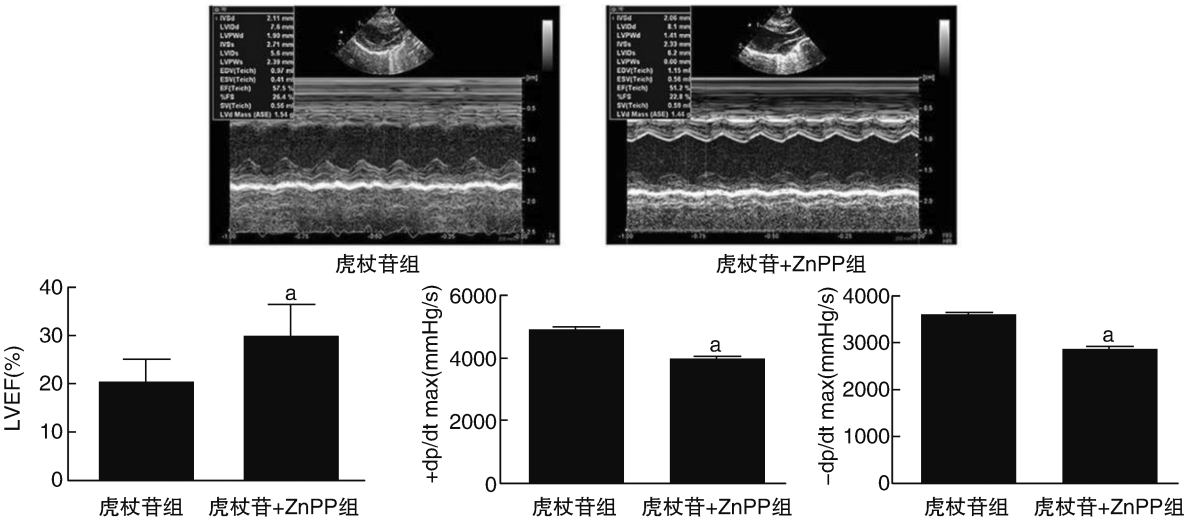


图 7. HO-1 抑制剂 ZnPP 联合虎杖苷对大鼠心功能的调节作用($n=8$) a 为 $P<0.05$, 与虎杖苷组比较。
Figure 7. Regulatory effect of HO-1 inhibitor combined with polydatin on cardiac function of rats($n=8$)

表 3. HO-1 抑制剂 ZnPP 联合虎杖苷对大鼠血清心肌损伤指标的调节作用($n=8$)
Table 3. Regulatory effect of HO-1 inhibitor combined with polydatin on serum myocardial injury index in rats($n=8$)

分 组	<i>n</i>	LDH(kU/L)	CK(kU/L)	CK-MB(kU/L)
虎杖苷组	8	94.51±12.82	167.63±20.39	72.31±9.84
虎杖苷+ZnPP 组	8	121.88±19.14 ^a	236.24±38.18 ^a	107.33±15.94 ^a

a 为 $P<0.05$, 与虎杖苷组比较。

表 4. HO-1 抑制剂 ZnPP 联合虎杖苷对大鼠心肌中 MDA、SOD、GSH-Px 的调节作用($n=8$)
Table 4. Regulatory effect of HO-1 inhibitor combined with polydatin on MDA, SOD, GSH-Px in myocardial tissue of rats($n=8$)

分 组	<i>n</i>	MDA (mmol/g)	SOD (kU/g)	GSH-Px (kU/g)
虎杖苷组	8	1.44±0.18	18.39±3.31	12.19±1.86
虎杖苷+ZnPP 组	8	2.85±0.52 ^a	15.41±2.18 ^a	10.89±1.45 ^a

a 为 $P<0.05$, 与虎杖苷组比较。

3 讨 论

虎杖苷是从中药虎杖中分离得到的多酚类化合物,具有抗氧化、调脂、抗血小板、改善微循环等生物学活性。已有动物实验报道,虎杖苷对缺血缺氧引起的脑损害、对乙酰氨基酚引起的肝损害、失血性休克引起的小肠损害均具有保护作用^[7-9]。文

献^[6,10]在小鼠中的实验证实,虎杖苷对心肌梗死小鼠的心肌损害具有保护作用。本研究参照肖召文等^[6]方法,选择 40 mg/(kg·d)剂量的虎杖苷对 AMI 模型大鼠进行干预,通过心脏超声、心电图、血清心肌损伤指标、心肌梗死面积来评价虎杖苷对心肌梗死的保护作用。虎杖苷组大鼠的血清 LDH、CK、CK-MB 的含量及心肌梗死面积均明显低于 AMI 组,LVEF、+dp/dtmax、-dp/dtmax 水平均明显高于 AMI 组且在心电图上未出现明显的 ST-T 改变,说明虎杖苷能够减轻 AMI 后的心肌损害程度。

已有研究报道,氧化应激反应过度激活在心肌梗死后心肌细胞的损害中起到关键作用^[11],氧自由基在氧化应激反应激活的过程中大量释放,具有强氧化性的氧自由基能够攻击心肌细胞膜结构中的脂质、引起脂质发生氧化反应并破坏细胞膜结构。有研究报道,氧自由基与脂质发生氧化反应的过程生成大量的脂质氧化产物 MDA,也消耗心肌局部具有抗氧化作用的代谢酶 SOD 及 GSH-Px^[12-13]。虎杖苷具有抗氧化、清除氧自由基的活性,在本研究中,AMI 组大鼠心肌中 MDA 的含量增加,SOD 及 GSH-Px 的含量明显减少,说明氧化应激反应在 AMI 大鼠的心肌中显著激活;在虎杖苷干预后,心肌中 MDA 的含量明显低于 AMI 组,SOD 及 GSH-Px 的含量明显高于 AMI 组,说明虎杖苷能够减轻 AMI 过程中心肌的氧化应激程度。

Nrf2/HO-1 通路是体内介导抗氧化作用的重要信号通路,氧自由基的大量生成能够刺激 Nrf2 的表达并启动 HO-1 的转录,进而通过 HO-1 的活性来发挥抗氧化作用。AMI 动物模型中,Nrf2/HO-1 通路

已经被证实在心肌组织中呈过度激活的状态,该通路的过度激活被认为是机体自身代偿的方式之一^[14-15]。本研究在使用虎杖苷对 AMI 大鼠进行干预后观察到:虎杖苷组大鼠心肌组织中 Nrf2、HO-1 的表达水平明显高于 AMI 组,提示虎杖苷对 AMI 过程中抗氧化应激通路的激活具有促进作用,由此也进一步推测激活 Nrf2/HO-1 通路是虎杖苷在 AMI 过程中发挥抗氧化作用的分子机制。为了进一步验证这一推测,本研究在虎杖苷灌胃干预的同时使用 HO-1 抑制剂腹腔注射进行干预,ZnPP 是被广泛用于动物实验的 HO-1 抑制剂、能够显著抑制 HO-1 的活性^[16-18]。腹腔注射 HO-1 抑制剂 ZnPP 后,虎杖苷+ZnPP 组大鼠的 LVEF 及心肌中 SOD、GSH-Px 的含量均明显低于虎杖苷组,心肌梗死面积及心肌中 MDA 的含量均明显高于虎杖苷组。这一结果表明 HO-1 抑制剂 ZnPP 能够使虎杖苷减轻 AMI 大鼠心肌损伤及氧化应激的效应发生部分逆转,由此也提示激活 Nrf2/HO-1 部分参与了虎杖苷减轻 AMI 大鼠心肌损伤的过程。

综上所述,虎杖苷能够减轻大鼠 AMI 后的心肌细胞损伤及氧化应激程度,同时也能激活 Nrf2/HO-1 通路;使用 HO-1 的抑制剂能够削弱虎杖苷的上述作用,进而也表明虎杖苷能够通过激活 Nrf2/HO-1 通路来减轻大鼠急性心肌梗死后的心肌细胞损伤。

[参考文献]

- [1] Bubbs KJ, Kok C, Tang O, et al. The NRF2 activator DH404 attenuates adverse ventricular remodeling post-myocardial infarction by modifying redox signalling[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 108: 585-594.
- [2] Shinjo T, Tanaka T, Okuda H, et al. Propofol induces nuclear localization of Nrf2 under conditions of oxidative stress in cardiac H9c2 cells[J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0196191.
- [3] Lv R, Du L, Zhang L, et al. Polydatin attenuates spinal cord injury in rats by inhibiting oxidative stress and microglia apoptosis via Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Life Sci*, 2019, 217: 119-127.
- [4] Huang B, Liu J, Meng T, et al. Polydatin prevents lipopolysaccharide (LPS)-induced parkinson's disease via regulation of the AKT/GSK3 β -Nrf2/NF- κ B signaling axis[J]. *Front Immunol*, 2018, 5(9): 2527.
- [5] Zeng H, Wang Y, Gu Y, et al. Polydatin attenuates reactive oxygen species-induced airway remodeling by promoting Nrf2-mediated antioxidant signaling in asthma mouse model[J]. *Life Sci*, 2019, 218: 25-30.
- [6] 肖召文, 姜昕, 付珺, 等. 虎杖苷对小鼠急性心肌梗死后心肌细胞损伤的保护作用[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2016, 45(2): 176-180.
- [7] Tang KS, Tan JS. The protective mechanisms of polydatin in cerebral ischemia[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 5(842): 133-138.
- [8] Liu YH, Huang QH, Wu X, et al. Polydatin protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice via anti-oxidative and anti-apoptotic activities[J]. *Food Funct*, 2018, 9(11): 5891-5902.
- [9] Zeng Z, Yang Y, Dai X, et al. Polydatin ameliorates injury to the small intestine induced by hemorrhagic shock via SIRT3 activation-mediated mitochondrial protection[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2016, 20(6): 645-652.
- [10] Zhang M, Zhao Z, Shen M, et al. Polydatin protects cardiomyocytes against myocardial infarction injury by activating Sirt3[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(8): 1962-1972.
- [11] Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 117: 76-89.
- [12] Yuan Y, Pan S, Yang SL, et al. Antioxidant and cardioprotective effects of Ilex cornuta on myocardial ischemia injury[J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(2): 94-104.
- [13] Ali F, Naqvi SA, Bismillah M, et al. Comparative analysis of biochemical parameters in diabetic and non-diabetic acute myocardial infarction patients[J]. *Indian Heart J*, 2016, 68(3): 325-331.
- [14] Ruotsalainen AK, Lappalainen JP, Heiskanen E, et al. Nuclear factor E2-related factor 2 deficiency impairs atherosclerotic lesion development but promotes features of plaque instability in hypercholesterolaemic mice[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(1): 243-254.
- [15] Tian C, Gao L, Zimmerman MC, et al. Myocardial infarction-induced microRNA-enriched exosomes contribute to cardiac Nrf2 dysregulation in chronic heart failure[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 314(5): 928-939.
- [16] Meng X, Yuan Y, Shen F, et al. Heme oxygenase-1 ameliorates hypoxia/reoxygenation via suppressing apoptosis and enhancing autophagy and cell proliferation through Sirt3 signaling pathway in H9c2 cells[J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2019, 392(2): 189-198.
- [17] Duarte AR, Chenet AL, Souza de Almeida FJ, et al. The inhibition of heme oxygenase-1 (HO-1) abolishes the mitochondrial protection induced by sesamol in LPS-treated RAW 264.7 cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 25(296): 171-178.
- [18] Luo W, Wang Y, Yang H, et al. Heme oxygenase-1 ameliorates oxidative stress-induced endothelial senescence via regulating endothelial nitric oxide synthase activation and coupling[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(7): 1722-1744.

(此文编辑 朱雯霞)