

本文引文格式:黄兰松,刘燕,黄表华,等.龙血竭总黄酮预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠细胞焦亡的影响[J].右江民族医学院学报,2022,44(3):309-314.

【论著与临床报道】

龙血竭总黄酮预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠细胞焦亡的影响

黄兰松^{1,2},刘燕²,黄表华²,周柳芳²,张倬华²,黄照河¹

(1. 右江民族医学院研究生学院,广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院附属医院,广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨中药龙血竭总黄酮(sanguis draconis flavones, SDF)对心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)大鼠的可能保护机制。方法 取健康成年雄性SD大鼠24只,体质量(250±20)g,按照随机数字表法分为4组:正常组(Control组)、假手术组(Sham组)、缺血/再灌注组(I/R组)、龙血竭总黄酮+缺血/再灌注组(SDF组),每组6只。I/R组和SDF组大鼠建立心肌缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤模型,即结扎冠状动脉左前降支(left anterior descending, LAD)30 min,再灌注120 min。Sham组行与I/R组相同操作,但只穿线不结扎LAD。采用实时监测心电图判断大鼠心肌I/R损伤模型构建成功与否。取各组大鼠腹主动脉血检测心肌损伤标志物CK-MB及LDH含量;HE染色法观察各组大鼠心肌组织病理学改变;TTC染色法检测各组大鼠心肌梗死面积;TUNEL染色检测各组大鼠心肌组织TUNEL阳性细胞率;采用RT-qPCR检测各组大鼠心肌组织焦亡相关分子caspase-3、GSDME及IL-1β的mRNA表达水平。结果 Control组、Sham组在各信号通路分子表达量间均无统计学差异($P > 0.05$);与Control组、Sham组相比,I/R组大鼠心肌组织损伤明显,可见较多炎症细胞渗出,心肌梗死面积明显增大($P < 0.01$),心肌组织TUNEL阳性细胞率明显升高($P < 0.01$),心肌组织caspase-3、GSDME及IL-1β mRNA表达水平明显升高($P < 0.01$);与I/R组相比,SDF组大鼠心肌组织损伤减轻,炎症细胞渗出减少,心肌梗死面积明显减小($P < 0.01$),心肌组织TUNEL阳性细胞率明显降低($P < 0.01$),心肌组织caspase-3、GSDME及IL-1β mRNA表达水平降低($P < 0.05$)。结论 龙血竭总黄酮对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌具有保护作用,可能与抑制caspase-3/GSDME信号通路激活有关。

关键词:龙血竭总黄酮;心肌缺血再灌注损伤;细胞焦亡

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2022)03-0309-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.03.001

Effect of sanguis draconis flavones on pyroptosis of myocardial ischemia-reperfusion injuries in rats

Huang Lansong^{1,2}, Liu Yan², Huang Biaohua², Zhou Liufang², Zhang Zhuohua², Huang Zhaohe¹

(1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 2. The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To explore the possible protective mechanism of sanguis draconis flavones (SDF) on myocardial ischemia reperfusion injuries (MIRI) in rats. **Methods** Twenty-four healthy adult male SD rats with body weight of (250±20) g were randomly divided into 4 groups: normal group (Control group),

基金项目:国家自然科学基金项目(81860797);广西研究生教育创新计划项目(YCSW2021341);右江民族医学院校级课题(yy2021sk039)

第一作者简介:黄兰松(1992-),女,在读硕士研究生,住院医师,研究方向:冠心病的基础与临床研究,E-mail:864750926@qq.com

通讯作者简介:黄照河(1974-),男,博士,主任医师,博士研究生导师,研究方向:冠心病的基础与临床研究,E-mail:bshuang-zhaohe@163.com

Sham operation group (Sham group), ischemia/reperfusion group (I/R group) and SDF + ischemia/reperfusion group (SDF group), with 6 rats in each group. Ischemia/reperfusion (I/R) injury model was established in the I/R group and SDF group, namely, left anterior descending coronary artery (LAD) ligation for 30 min and reperfusion for 120 min. In the Sham group, the operation was the same as that in the I/R group, but the LAD was only threaded without being ligated. Real-time monitoring electrocardiogram was used to determine whether the myocardial I/R injury model in rats was successfully constructed. The contents of CK-MB and LDH, markers of myocardial injury, were detected in abdominal aortic blood of rats in each group. Histopathological changes of myocardium were observed by HE staining. TTC staining was used to detect the size of myocardial infarction in each group. TUNEL staining was used to detect the rate of TUNEL positive cells in myocardium of rats. The mRNA expression levels of caspase-3, GSDME and IL-1 β were detected by RT-qPCR. **Results** There was no statistical difference in the molecular expression levels of each signaling pathway between the Control group and the Sham group ($P > 0.05$). Compared the Control group with the Sham group, the myocardial tissue of rats in I/R group was significantly damaged, with more inflammatory cells exuding, myocardial infarction area significantly increasing ($P < 0.01$), and TUNEL positive cell rate in myocardial tissue significantly increasing ($P < 0.01$). The mRNA expression levels of caspase-3, GSDME and IL-1 β in myocardial tissue significantly increased ($P < 0.01$). Compared with I/R group, SDF group had seen reduced myocardial tissue injuries and inflammatory cell exudation. The myocardial infarction area significantly decreased ($P < 0.01$), and so did TUNEL positive cell rate ($P < 0.01$). The mRNA expression levels of caspase-3, GSDME and IL-1 β in myocardial tissue decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Sanguis draconis flavones has protective effects on myocardial ischemia reperfusion injuries in rats, which may be related to inhibiting activation of caspase-3/GSDME signaling pathway.

Key words: sanguis draconis flavones; myocardial ischemia-reperfusion injuries; pyroptosis

缺血性心脏病(ischemic heart disease, IHD)是导致心血管疾病死亡率上升的主要原因^[1]。急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是由冠状动脉粥样硬化斑块破裂引起的最严重的 IHD。虽然及时恢复缺血心肌的血供能挽救濒死心肌,血流恢复有时反而造成更为严重的心肌损伤,即心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI),多发生于 ST 段抬高型心肌梗死患者^[2]。由于 AMI 的高发病率和致死率,避免 AMI 患者血流再通时出现 MIRI 已经成为研究的重点,临床上迫切需要寻求有效减轻 MIRI 的策略。

细胞焦亡是近几年新发现的一种程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),其特征是细胞膜孔隙形成,细胞内外渗透压失衡,细胞最终胀破,释放促炎细胞因子 IL-1 β 、IL-18 及细胞内容物,导致强烈炎症反应。Caspase-3/GSDME 是细胞焦亡分子途径之一,当 caspase-3/GSDME 信号通路被激活时会导致心肌细胞焦亡^[3],但是 caspase-3/GSDME 介导的细胞焦亡是否参与 MIRI 的发生发展及其具体调控机制,目前少见文献报道。

龙血竭系百合科植物剑叶龙血树[*Dracaena cochinchinensis*(Lour.) S. C. Chen]的含脂木材经乙醇提取得到的树脂^[4]。龙血竭主要含有黄酮类、有机酸、

酯类、酚类和挥发油等成分,其中主要活性成分是黄酮类和酚类。龙血竭总黄酮(sanguis draconis flavones, SDF)是从龙血竭中提取的黄酮类化合物。研究表明 SDF 对心肌缺血有较好的保护作用^[5],但是 SDF 对 MIRI 的保护机制仍有待进一步阐明。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性 SD 大鼠[清洁级,24 只,8 周龄,(250 \pm 20) g],购自长沙市天勤生物技术有限公司,许可证号:SCXK(湘)2019-0014,饲养于右江民族医学院实验动物中心(NO. SYXK 2017-0004)动物房。动物房内 12 h 光亮/12 h 黑暗交替,实验动物饲养室内相对湿度为 45%~60%,温度为 22~25 $^{\circ}$ C,实验动物自由摄取食物和水。实验流程严格遵守动物实验中心的要求和使用指南。实验研究取得右江民族医学院实验动物伦理委员会批准。

1.1.2 主要试剂 SDF,红棕色粉末(桂林三金制药厂),临用前用 0.5%羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose, CMC-Na)溶液配置成浓度为 18 mg/mL 的 SDF 混悬液;羧甲基纤维素钠(上海源叶);2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride, TTC)试剂盒(北京雷根);TUNEL 凋亡检测试剂盒(上海碧云天);Trizol 试剂盒(上海碧云

天);cDNA 第一链合成试剂盒(莫纳生物);SYBR Green qPCR Mix 试剂盒(莫纳生物);PCR 引物合成(上海生工)。

1.2 实验动物分组与 MIRI 模型建立

1.2.1 实验动物分组 将 24 只雄性 SD 大鼠按照随机数字表法分为 4 组,每组 6 只:Control 组、Sham 组、I/R 组、SDF 组。SDF 组给予浓度为 18 mg/mL 的 SDF 混悬液按 180 mg/kg 剂量灌胃预处理^[6],每天 1 次,连续 14 d,Sham 组和 I/R 组给予等体积 0.5% CMC-Na 溶液灌胃,每天 1 次,连续 14 d,Control 组给予正常饮食不做任何干预。第 14 天后,建立 I/R 组和 SDF 组大鼠 MIRI 模型。

1.2.2 大鼠 MIRI 模型建立 参照 SHEN S C 等^[7]文献建立 MIRI 模型,根据 SD 大鼠体重给予腹腔注射 10%水合氯醛(3 mL/kg)进行麻醉,然后进行气管切开,连接小型动物呼吸机(潮气量为 15 mL/kg,呼吸频率为 70 次/分),打开大鼠胸腔,小心暴露心脏。用 6-0 针带线结扎 LAD 引起心肌缺血,观察心电图肢体导联 II 导联 ST 段明显抬高,认为手术成功。缺血 30 min 后,松开线结,再灌注 120 min。Sham 组行相同手术操作,但不结扎 LAD。

1.3 标本采集与检测

1.3.1 血清 CK-MB 及 LDH 检测 再灌注 120 min 后,从大鼠腹主动脉采集全血,室温放置 60 min,离心(3 500 r/min,4 °C,15 min),收集上层血清,采用日立 7600 Series 全自动生化分析仪检测血清中 CK-MB 及 LDH 水平,评估心肌损伤程度。

1.3.2 心肌组织病理学染色 快速取出心肌组织,置

于 4%多聚甲醛中,48 h 后,包埋石蜡,切成 4 μm 切片。切片按标准程序用苏木精和伊红染色。用 400 倍的光学显微镜(OLYMPUS,日本)观察并拍照。

1.3.3 心肌梗死面积检测 再灌注 120 min 后,用 10%水合氯醛麻醉大鼠,取出心脏,20 °C 快速冷冻 30 min,然后在心脏结扎处下方均匀切成 5 片,放在 2% TTC 溶液中孵育 30 min。梗死组织呈白色,非梗死组织呈红色。采用数码相机(尼康,日本)拍摄,采用 Image Pro Plus 6.0 软件分析梗死面积。

1.3.4 心肌组织 TUNEL 染色 石蜡切片脱蜡,滴加蛋白酶 K,37 °C 孵育 20 min,PBS 洗涤,滴加 TUNEL 检测液,37 °C 避光孵育 60 min,PBS 洗涤 3 次,每次 5 min,滴加 DAPI 染液,室温避光孵育 10 min,PBS 洗涤,滴加抗荧光淬灭液封片液封片,在荧光显微镜(OLYMPUS,日本)下拍照观察。TUNEL 阳性细胞数目与总细胞数目的比值百分比即为 TUNEL 阳性细胞率。

1.3.5 RT-qPCR 试验 采用 Trizol 试剂盒从匀浆后的心脏组织中提取总 RNA,采用微量紫外分光光度计测定总 RNA 浓度。使用逆转录试剂盒将总 RNA (1 μg) 反转录为 cDNA。使用 SYBR Green qPCR Mix 试剂在 qPCR 仪器(Light Cycler 9600,德国罗氏)扩增样本中 cDNA。扩增条件如下:95 °C 预变性 30 s,然后 95 °C 变性 10 s,65 °C 退火 10 s,72 °C 延伸 30 s,循环 40 次。GAPDH 作为内参。本研究 caspase-3、GSDME、IL-1β 使用的引物由中国上海生工公司设计合成,用于扩增的引物序列见表 1。采用 2^{-ΔΔCT} 法进行分析。

表 1 RT-qPCR 引物序列

基因名称	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
caspase-3	TGACGACAGGGTGCTACGATC	TTGAGGCTGCTGCATAATCGT
GSDME	ACAGGGTACAGGGAGAGCAT	CCCAGGAAGACTGTGGCATT
IL-1β	ACTTGGGCTGTCCAGATGAGAG	CGAGTCACAGAGGACGGGCT
GAPDH	CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	GGTGGAGAATGGGAGTTGCT

1.4 统计学方法 实验数据采用 SPSS 22.0 统计学软件分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 SDF 预处理降低 MIRI 大鼠血清中 CK-MB 及 LDH 水平 与 Control 组、Sham 组相比,I/R 组大鼠血清中 CK-MB、LDH 水平明显升高($P < 0.01$);与 I/R 组相比,SDF 组大鼠血清中 CK-MB、LDH 水平明显降低($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 各组大鼠血清中 CK-MB 及 LDH 水平的比较

组别	<i>n</i>	单位:U/L	
		CK-MB	LDH
Control 组	6	879.33±194.91	964.83±121.72
Sham 组	6	1047.83±91.58	1122.83±87.85
I/R 组	6	2721.33±235.45 ^{ab}	3143.33±254.80 ^{ab}
SDF 组	6	1754.83±196.79 ^{abc}	2171.50±192.17 ^{abc}
<i>F</i>		119.86	198.64
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示。②与 Control 组相比,a: $P < 0.01$;与 Sham 组相比,b: $P < 0.01$;与 I/R 组相比,c: $P < 0.01$ 。

2.2 SDF 预处理能减轻 MIRI 大鼠心肌损伤 HE 染色结果显示,Control 组和 Sham 组大鼠心肌组织排列整齐紧密,未见炎症细胞渗出;I/R 组细胞核丢失,心肌组织排列紊乱,心肌纤维明显断裂,可见较多炎症细胞渗出;而 SDF 预处理可以减轻这些变化,SDF 组大鼠心肌细胞核丢失减少,心肌梗死区心肌组织紊乱程度减轻,心肌纤维间隙炎症细胞渗出减少。见图 1。

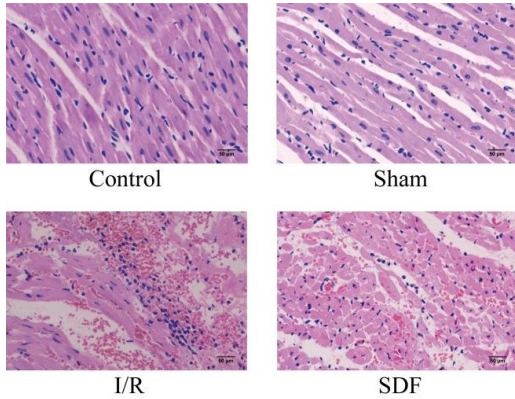
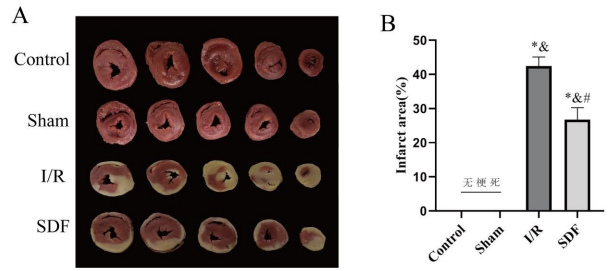


图 1 各组大鼠心肌组织 HE 染色(×400)

2.3 SDF 预处理能减小 MIRI 大鼠心肌梗死面积 TTC 染色具有代表性的心脏切片如图 2A 所示,心肌组织中白色区域为梗死区域。如图 2B 所示,与 Control 组、Sham 组相比,I/R 组大鼠心肌梗死面积明显增大($P < 0.01$);与 I/R 组大鼠相比,SDF 预处理后 MIRI 大鼠心肌梗死面积明显减小($P < 0.01$)。

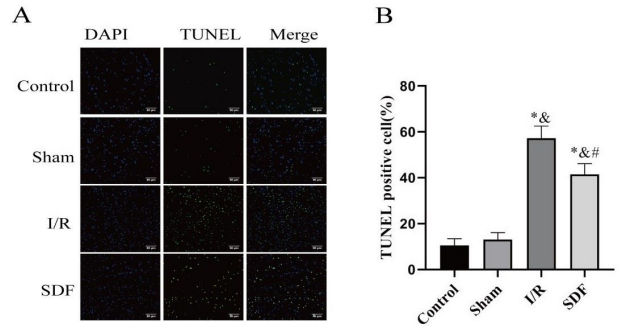
组相比,SDF 预处理组大鼠心肌组织 TUNEL 阳性细胞率明显降低($P < 0.01$)。见图 3。



与 Control 组相比, * $P < 0.01$;与 Sham 组相比, & $P < 0.01$;与 I/R 组相比, # $P < 0.01$ 。

图 2 各组大鼠心肌梗死面积的比较

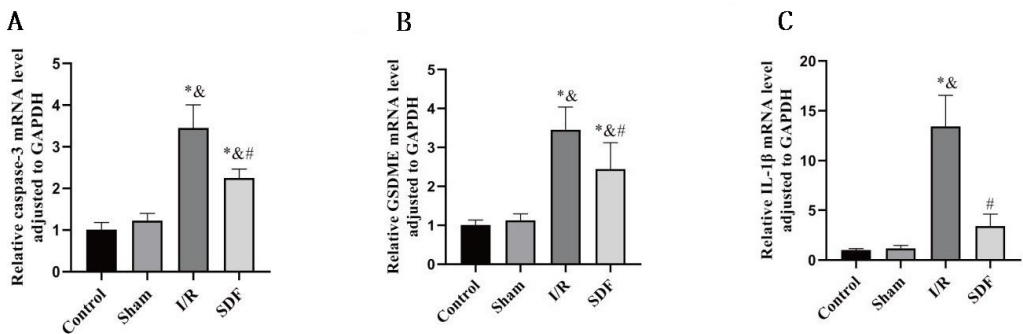
2.4 SDF 预处理减轻 MIRI 大鼠心肌组织 TUNEL 阳性细胞率 每组随机选取 3 只大鼠心肌组织制成石蜡切片,进行 TUNEL 染色。每张切片在镜下随机挑选 5 个 400 倍视野,统计每个视野中 TUNEL 阳性细胞率。与 Control 组、Sham 组相比,I/R 组大鼠心肌组织 TUNEL 阳性细胞率明显升高($P < 0.01$);与 I/R



与 Control 组相比, * $P < 0.01$;与 Sham 组相比, & $P < 0.01$;与 I/R 组相比, # $P < 0.01$ 。

图 3 各组大鼠心肌组织 TUNEL 阳性细胞率的比较(×400)

2.5 SDF 预处理能抑制 MIRI 大鼠心肌组织 caspase-3、GSDME 及 IL-1 β mRNA 表达水平 RT-qPCR 结果显示,与 Control 组、Sham 组相比,I/R 组大鼠心肌组织 caspase-3、GSDME 和 IL-1 β mRNA 表达水平明显升高($P < 0.01$);与 I/R 组大鼠相比,SDF 预处理组大鼠心肌组织 caspase-3、GSDME 和 IL-1 β mRNA 表达水平降低($P < 0.01$)。见图 4。



与 Control 组相比, * $P < 0.01$;与 Sham 组相比, & $P < 0.01$;与 I/R 组相比, # $P < 0.01$ 。

图 4 各组大鼠心肌组织 caspase-3、GSDME 及 IL-1 β mRNA 水平的比较

3 讨论

MIRI 发病机制错综复杂, 目前已知机制主要包括炎症反应、活性氧产生过多、线粒体功能障碍、氧化应激损伤、钙超载等^[8]。MIRI 是 AMI 患者预后不良的重要原因, 通常导致左室射血分数下降、心力衰竭甚至死亡等预后不良事件^[9]。进一步探讨 MIRI 的潜在机制及有效的防治策略对 MIRI 预后具有重要意义。

梗死面积是 MIRI 预后的关键决定因素, 与缺血性心力衰竭后的全因死亡率和住院率密切相关^[10]。梗死面积对 ST 段抬高型 AMI 患者预后具有预测价值, PCI 术后 1 周测量梗死面积对 ST 段抬高型 AMI 患者术后 2 年心源性死亡密切相关, 心肌梗死面积每升高 1%, 患者术后心源性死亡的风险增加 7.5%^[11]。大量心肌细胞死亡会影响心脏收缩和舒张功能, 从而影响 MIRI 预后。MIRI 时心肌细胞死亡方式主要为凋亡、坏死、焦亡以及铁死亡等, 测定心肌梗死范围能反映心肌细胞死亡程度。因此, 检测心肌梗死面积对评估 MIRI 病情预后具有重要意义。研究证实, MIRI 时心肌梗死面积增大, 导致心功能下降^[12]。本研究通过 TTC 染色检测心肌梗死面积, 发现心肌 I/R 损伤大鼠心肌梗死面积增大, 这与上述研究结果一致。

细胞焦亡诱导的炎症反应在 MIRI 发生发展中起重要作用^[13-14]。目前研究表明细胞焦亡的分子途径主要包括: 炎症小体激活 caspase-1 裂解 GSDMD 的经典焦亡途径, 脂多糖刺激 caspase-4/5/11 裂解 GSDMD 的非经典焦亡途径, 以及 caspase-3 裂解 GSDME 介导的细胞焦亡途径。不管何种途径, 最终均通过释放促炎细胞因子和胞内容物诱导级联炎症反应发生。研究证实, MIRI 时细胞焦亡导致的炎症反应加重心肌损伤, 抑制细胞焦亡可以减轻 MIRI^[15]。研究表明 caspase-3/GSDME 焦亡信号通路在化疗药物抗肿瘤治疗中发挥重要作用^[16], 同时研究发现化疗药物通过激活 caspase-3/GSDME 信号通路导致细胞焦亡促使正常组织损伤^[17-18], 是化疗药物产生不良反应的重要原因。化疗药物阿霉素通过激活 caspase-3/GSDME 焦亡信号通路诱导心肌细胞焦亡, 敲低 GSDME, 阿霉素诱导的心肌损伤减轻^[3]。因此, caspase-3/GSDME 信号通路的激活与心肌细胞死亡密切相关。由于细胞焦亡时伴有细胞器变形、DNA 裂解和细胞核凝聚^[19], 基于这些特点, 细胞焦亡在 TUNEL 染色检测呈阳性。目前通过检测 TUNEL 阳性细胞率评估细胞焦亡程度已被应用于相关研究^[20]。本研究通过 TUNEL 法检测各组大鼠心肌组织 TUNEL 阳性细胞率, 发现 I/R 组大鼠心肌组织 TUNEL 阳性细胞率显著升高。这个结果再次证实, 细胞焦亡参与 MIRI 发生发展。为了检测心肌 I/R 损伤是否激活 caspase-3/GSDME 信号

通路, 本研究使用 qRT-PCR 对 caspase-3、GSDME mRNA 表达水平进行检测, 发现 I/R 组大鼠心肌组织 caspase-3 及 GSDME mRNA 表达水平明显上调, 说明心肌 I/R 损伤时 caspase-3/GSDME 信号通路被激活。

Caspase-3/GSDME 焦亡信号通路被激活时, 通常伴随炎症因子 IL-1 β 和胞内容物的释放。越来越多的研究关注促进缺血再灌注损伤的炎症介质, 其中特别强调了关键参与者白细胞介素^[21]。白细胞介素在促进炎症反应中扮演重要角色。经缺氧/复氧处理的大鼠心肌细胞中 IL-1 β 含量及 IL-1 β mRNA 表达水平明显升高^[22]。有研究表明, 抑制 I/R 诱导的心肌细胞焦亡, 可以减少炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 释放, 从而对心肌发挥保护作用^[23]。因此, 本研究进一步观察 caspase-3/GSDME 焦亡信号通路的激活是否促进 IL-1 β 表达, 通过 RT-qPCR 对心肌组织 IL-1 β mRNA 水平进行检测, 发现 I/R 组大鼠心肌组织促炎细胞因子 IL-1 β mRNA 表达增加。IL-1 β 是白细胞介素 1 家族的一员, 属于促炎性白细胞介素, 参与介导炎症反应^[24]。炎症反应是 MIRI 的重要病理生理机制之一, 虽然在缺血期间炎症反应已经被诱导, 再灌注时血流和氧气输送的恢复进一步促发炎症反应。因此, 通过对心肌组织病理切片 HE 染色观察, 发现 I/R 组大鼠心肌纤维断裂明显, 可见较多炎症细胞渗出。以上结果说明 MIRI 过程中 caspase-3/GSDME 信号通路的激活, 促进 IL-1 β mRNA 表达上调, 从而诱导炎症反应加重 MIRI 心肌损伤。

龙血竭总黄酮具有抗炎、抗氧化、抗血小板聚集等功效^[25-26], 在心血管疾病治疗中具有重要药用价值。课题组前期研究表明, SDF 预处理对 MIRI 大鼠心肌发挥良好保护作用^[27], 但 SDF 对 MIRI 心肌的保护机制尚未阐明。本研究通过构建大鼠 MIRI 模型, 探讨 SDF 预处理对 MIRI 大鼠的可能保护机制, 发现与 I/R 组相比, SDF 预处理后 MIRI 大鼠心肌组织损伤减轻, 炎症细胞渗出减少, 心肌梗死面积减小, 心肌组织中 caspase-3、GSDME 及 IL-1 β mRNA 较 I/R 组大鼠明显降低, 说明 SDF 预处理对 MIRI 心肌具有保护作用, 可能与抑制 caspase-3/GSDME 信号通路激活有关。

综上所述, 本研究初步表明 SDF 预处理可以减轻 MIRI 心肌损伤程度, 减轻炎症反应, 其机制可能与抑制 caspase-3/GSDME 信号通路的激活有关, 这一结果为 SDF 治疗 MIRI 提供新的实验依据。

参考文献:

- [1] BENJAMIN E J, VIRANI S S, CALLAWAY C W, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Re-

- port From the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2018, 137(12): e67-e492.
- [2] BOCHATON T, OVIZE M. Circadian rhythm and ischemia-reperfusion injury[J]. *Lancet*, 2018, 391(10115): 8-9.
- [3] ZHENG X B, ZHONG T, MA Y S, et al. Bnip3 mediates doxorubicin-induced cardiomyocyte pyroptosis via caspase-3/GSDME[J]. *Life Sci*, 2020, 242: 117186.
- [4] 万青, 王文清, 方建国, 等. 一测多评法测定龙血竭中 5 种有效成分[J]. *中草药*, 2017, 48(21): 4541-4545.
- [5] 方伟蓉, 李运曼, 邓嘉元. 龙血竭总黄酮对动物心肌缺血的保护作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2005, 10(9): 1020-1024.
- [6] 黄表华, 刘燕, 黄兰松, 等. 龙血竭总黄酮对心肌缺血再灌注损伤大鼠血清因子 TNF- α 和 IL-6 的影响研究[J]. *右江医学*, 2021, 49(6): 405-411.
- [7] SHEN S C, HE F, CHENG C, et al. Uric acid aggravates myocardial ischemia-reperfusion injury via ROS/NLRP3 pyroptosis pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 110990.
- [8] NERI M, RIEZZO I, PASCALE N, et al. Ischemia/Reperfusion Injury following Acute Myocardial Infarction: A Critical Issue for Clinicians and Forensic Pathologists[J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 7018393.
- [9] DE WAHA S, PATEL M R, GRANGER C B, et al. Relationship between microvascular obstruction and adverse events following primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction: an individual patient data pooled analysis from seven randomized trials[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(47): 3502-3510.
- [10] STONE G W, SELKER H P, THIELE H, et al. Relationship Between Infarct Size and Outcomes Following Primary PCI: Patient-Level Analysis From 10 Randomized Trials[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(14): 1674-1683.
- [11] 张师儒, 李瑞雪, 焦云娣, 等. 梗死面积对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者预后的预测价值[J]. *中华内科杂志*, 2021, 60(8): 751-756.
- [12] 夏雪峰, 刘雨晨, 卢圣锋, 等. 电针预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌中 Gasdermin D、半胱氨酸蛋白酶-1 及白细胞介素-1 β 的表达影响[J]. *针刺研究*, 2022, 47(5): 443-448.
- [13] LEI Z Q, LUAN F, ZHANG X, et al. Piperazine ferulate protects against cardiac ischemia/reperfusion injury in rat via the suppression of NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 920: 174856.
- [14] CHEN X D, LIN S, DAI S S, et al. Trimetazidine affects pyroptosis by targeting GSDMD in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Inflamm Res*, 2022, 71(2): 227-241.
- [15] XU X N, JIANG Y, YAN L Y, et al. Aesculin suppresses the NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis via the Akt/GSK3 β /NF- κ B pathway to mitigate myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Phytomedicine*, 2021, 92: 153687.
- [16] WANG Y, GAO W, SHI X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin[J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 99-103.
- [17] YU X L, HE S D. GSDME as an executioner of chemotherapy-induced cell death[J]. *Sci China Life Sci*, 2017, 60(11): 1291-1294.
- [18] SHEN X J, WANG H B, WENG C H, et al. Caspase 3/GSDME-dependent pyroptosis contributes to chemotherapy drug-induced nephrotoxicity[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(2): 186.
- [19] SCHRODER K, TSCHOPP J. The inflammasomes[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 821-832.
- [20] LI Y S, YUAN Y, HUANG Z X, et al. GSDME-mediated pyroptosis promotes inflammation and fibrosis in obstructive nephropathy[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(8): 2333-2350.
- [21] VELTMAN D, WU M, POKREISZ P, et al. Clec4e-Receptor Signaling in Myocardial Repair After Ischemia-Reperfusion Injury[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2021, 6(8): 631-646.
- [22] 何金波, 包财盈, 叶玉柱, 等. 缺氧/复氧大鼠心肌中 IL-1 β 浓度的动态变化及意义[J]. *中国应用生理学杂志*, 2015, 31(1): 27-30.
- [23] LIU Y M, GUO X Y, ZHANG J, et al. Protective Effects of the Soluble Receptor for Advanced Glycation End-Products on Pyroptosis during Myocardial Ischemia-Reperfusion[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9570971.
- [24] 韦骋, 唐乾利, 姜艳, 等. MEBO 对大鼠慢性难愈合创面中 IL-18 表达的影响[J]. *右江民族医学院学报*, 2022, 44(1): 11-15.
- [25] 方雪湾, 钟建雄, 岳桂华, 等. 基于网络药理学探究龙血竭对原发性高血压食蟹猴血压和生化指标的影响[J]. *中成药*, 2021, 43(4): 1058-1062.
- [26] 陈素, 吴水才, 曾毅, 等. 龙血竭总黄酮抗炎镇痛作用及其镇痛机制探讨[J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(5): 1030-1032.
- [27] 梁丽梅, 冯湘玲, 刘燕, 等. 龙血竭总黄酮对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞的保护作用研究[J]. *中国临床新医学*, 2017, 10(9): 857-860.

收稿日期: 2022-04-18; 修回日期: 2022-05-09