

本文引文格式:周尚,刘燕,罗文琳,等.不同浓度龙血竭总黄酮对大鼠MIRI心肌细胞PI3K/AKT通路的影响[J].右江民族医学院学报,2023,45(2):218-223.

【论著与临床报道】

## 不同浓度龙血竭总黄酮对大鼠MIRI 心肌细胞PI3K/AKT通路的影响

周尚<sup>1</sup>,刘燕<sup>2</sup>,罗文琳<sup>1</sup>,黄兰松<sup>2</sup>,黄照河<sup>1</sup>

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 观察不同浓度龙血竭总黄酮(SDF)对大鼠MIRI模型的治疗作用,探讨其对PI3K/AKT信号通路及凋亡蛋白的影响。方法 56只SD雄性大鼠按随机数字表法分成Control组、Sham组、I/R组、龙血竭总黄酮低剂量组、中剂量组、高剂量组、大剂量组,每组8只。采用结扎冠状动脉左前降支法制备I/R损伤模型。采用酶联免疫吸附测定法检测大鼠血清乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)含量;HE染色观察心肌病理学改变;TTC染色测定心肌梗死面积;Western Blot检测大鼠心肌PI3K、AKT、Caspase-3蛋白水平。结果 ①与I/R组相比较,SDF-L组、SDF-M组及SDF-H组、SDF-B组LDH和CK-MB表达水平降低( $P < 0.01$ )、心肌梗死面积减少( $P < 0.05$ )、PI3K、AKT蛋白含量升高( $P < 0.05$ )、Caspase-3蛋白含量减少( $P < 0.05$ )。②HE染色I/R组心肌细胞结构不完整,心肌细胞紊乱,细胞变性、坏死和炎症细胞浸润程度明显。不同浓度龙血竭总黄酮给药剂量组损伤较I/R组均减轻。结论 龙血竭总黄酮预处理可通过激活PI3K/AKT信号通路,抑制细胞凋亡,对缺血再灌注损伤的心肌起到保护作用。

**关键词:**心肌再灌注损伤;龙血竭总黄酮;PI3K/AKT;心肌凋亡

中图分类号:R542.22

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2023)02-0218-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.02.009

## Effects of different concentrations of sanguis draconis flavones on PI3K/AKT pathway in myocardial cells of rats with MIRI

Zhou Shang<sup>1</sup>, Liu Yan<sup>2</sup>, Luo Wenlin<sup>1</sup>, Huang Lansong<sup>2</sup>, Huang Zhaohe<sup>1</sup>

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 observe the therapeutic effects of sanguis draconis flavones (SDF) at different concentrations on myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) in a rat model and explore its effects on the PI3K/AKT signaling pathway and apoptotic proteins. **Methods** Fifty-six male SD rats were randomly divided into 6 groups: control group, sham group, I/R group, SDF low-dose group, SDF medium-dose group, SDF high-dose group, and SDF big-dose group, with 8 rats in each group. I/R injury was induced by ligation of the left anterior descending coronary artery. Serum lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase isoenzyme (CK-MB) concentrations were detected using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); myocardial path-

基金项目:国家自然科学基金项目(82260883);广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA297102)

第一作者简介:周尚(1986-),男,在读硕士研究生,研究方向:冠心病基础与临床研究,E-mail:116147153@qq.com

通讯作者简介:黄照河(1974-),男,医学博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:冠心病基础与临床研究,E-mail:bshuang-zhaohe@163.com

ological changes were observed using HE staining; myocardial infarction size was measured using TTC staining; and protein levels of PI3K, AKT, and Caspase-3 were detected using Western Blot in rat myocardium.

**Results** ① Compared with the I/R group, the expression levels of LDH and CK-MB were decreased, myocardial infarction size was reduced ( $P < 0.05$ ), and the protein levels of PI3K and AKT were increased ( $P < 0.05$ ), while the protein levels of Caspase-3 were decreased ( $P < 0.05$ ) in the SDF low-dose group, SDF medium-dose group, SDF high-dose group, and SDF big-dose group. ② HE staining showed that the myocardial cell structure in the I/R group was incomplete with disordered myocardial cells, obvious cell degeneration, necrosis, and infiltration of inflammatory cells. In contrast, the degree of injury was reduced in the sanguis draconis flavones groups with different concentrations compared with the I/R group. **Conclusion** Pre-treatment with sanguis draconis flavones at different concentrations can protect against myocardial ischemia-reperfusion injury by activating the PI3K/AKT signaling pathway and inhibiting cell apoptosis.

**Key words:** myocardial reperfusion injury; sanguis draconis flavones; PI3K/AKT; myocardial apoptosis

随着社会经济水平、科技的发展,人们饮食习惯的改变,心血管疾病的发病率不断上升,心血管病死亡占我国居民总死亡原因的首位<sup>[1]</sup>。急性心肌梗死(AMI)是一种严重威胁生命的心血管疾病,由冠状动脉闭塞导致的长期缺血和缺氧损害心脏功能。急性心肌梗死的早期治疗可恢复缺血心肌的血液供应并降低死亡风险,但当中断的心肌供血在一定时间内恢复时,对原有缺血心肌造成更严重的损伤,这被称为心肌缺血再灌注损伤(MIRI)<sup>[2-3]</sup>。尽管对 MIRI 的研究已经很久,但是 MIRI 作为一个重要的临床问题至今没有有效的治疗手段。对 MIRI 损伤的发生和发展相关的详细分子机制仍未完全阐明。因此,了解 MIRI 的潜在分子机制并为其预防和治疗制定新的治疗策略至关重要。

龙血竭做为我国传统中药,是龙舌兰科植物剑叶龙血树的乙醇提取物。龙血竭总黄酮(sanguis draconis flavones, SDF)是从龙血竭中提取得到的主要成分,包括黄酮、二氢黄酮、黄烷、查耳酮、二氢查耳酮等多种化合物。研究显示它具有抑制血小板活性和血栓形成,对心肌缺血有改善等作用<sup>[4]</sup>。大量研究实验证实 SDF 对 MIRI 具有保护作用<sup>[5-6]</sup>。PI3K/AKT 信号通路是调节多种细胞功能的重要通路之一,在许多生理过程和病理反应中发挥重要作用,参与调控细胞增殖、细胞周期阻滞、抑制细胞凋亡、调节组织炎症等<sup>[7-9]</sup>。研究发现,PI3K/AKT 信号通路与 MIRI 密切相关,激活 PI3K/AKT 信号通路可以减少心脏 MIRI<sup>[10]</sup>。细胞凋亡是由细胞内基因及其产物调节的程序性细胞死亡的一种方式,其中线粒体凋亡通路是细胞凋亡的主要通路。线粒体通路涉及 Bcl-2 家族的促凋亡成员与线粒体的联合,诱导细胞色素 C 及其其他细胞凋亡因子释放入细胞质,继而激活 Caspase-3 导致细胞凋亡<sup>[11]</sup>,Caspase-3 是细胞凋亡关键的调控因子<sup>[12]</sup>。PI3K/AKT 通路的活性对 MIRI 有多种影响,特别是,它对与线粒体相关的 I/R 损伤具有抗凋亡作

用<sup>[8]</sup>,因此,激活 PI3K/AKT 信号通路已成为减少 MIRI 的有效策略<sup>[13-14]</sup>。课题组前期研究表明龙血竭总黄酮可以保护 MIRI<sup>[15]</sup>,但其保护作用是否通过激活 PI3K/AKT 信号通路以减少细胞凋亡尚不清楚。本研究通过建立大鼠 MIRI 模型,探讨龙血竭总黄酮对大鼠 MIRI 心肌细胞 PI3K/AKT 通路的影响,为 SDF 治疗 MIRI 提供新的见解,并可能为 MIRI 治疗提供新的靶点。

## 1 材料

1.1 药材及试剂 SDF 由广西中医药研究院提供。用紫外分光光度法测定其中总黄酮含量在 70% 以上,使用前用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液配制成浓度分别为 9 mg/mL、18 mg/mL、27 mg/mL、36 mg/mL 的 SDF 混悬液备用。56 只 SD 雄性大鼠(6~8 周龄,250~350 g)由北京维通利尔动物实验有限公司提供[证书编号:SCXK(粤)2022-0063,广东,中国],可自由获得食物和水,室温保持在 20~25℃。本次研究得到了右江民族医学院伦理委员会的批准。苏木素染色液及伊红染色液(长春赛默瑞特科技有限公司);2% TTC 染色液(北京雷根生物有限公司);PI3K 抗体、AKT 抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、羊抗兔 IgG-HRP(四川正能生物公司);Caspase-3 抗体(英国 Abcam 公司);RIPA 裂解液、蛋白酶抑制混合物、抗体稀释液、电泳液、转膜液、TBST 洗膜液、BCA(bicinchoninic acid)蛋白定量试剂盒、超敏 ECL 化学发光检测试剂盒(中国上海碧云天生物技术公司);硝酸纤维素膜(PVDF)(美国 Millipore 公司)。

1.2 仪器 DW3000 型小动物人工呼吸机(上海玉研仪器设备有限公司);小动物心电图机(广州三锐电子科技有限公司);冷冻离心机(上海中康仪器有限公司);显微镜(上海仪圆光学仪器有限公司);恒温烘箱(日本松下公司);石蜡切片机(美国赛默飞公司);摊片机(美国赛默飞公司);冰冻切片机(美国赛默飞公司);脱

水机(美国赛默飞公司);Western blot 系统(美国 Bio-Rad 公司);通用凝胶成像系统(美国通用公司);高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技公司);酶标仪(德国珀金埃尔默公司)等。

1.3 MIRI 大鼠建立模型、分组和处理 大鼠被随机分为 7 组(每组 8 只):①Control 组;②Sham 组;③缺血/再灌注组(I/R 组);④龙血竭总黄酮低剂量+缺血再灌注组(SDF-L 组);⑤龙血竭总黄酮中剂量+缺血再灌注组(SDF-M 组);⑥龙血竭总黄酮高剂量+缺血再灌注组(SDF-H 组);⑦龙血竭总黄酮大剂量+缺血再灌注组(SDF-B 组)。适应性喂养 1 周后,龙血竭总黄酮混悬液按低剂量用药组(90 mg/kg)、中剂量用药组(180 mg/kg)、高剂量用药组(270 mg/kg)、大剂量用药组(360 mg/kg)灌胃预处理 14 d,Sham 组和 I/R 组给予等体积 0.5%羧甲基纤维素钠溶液灌胃 14 d,Control 组正常喂食。灌满 14 d 后 I/R 组及不同剂量龙血竭用药组大鼠开始建立 MIRI 模型,MIRI 模型是根据梁丽梅等<sup>[16-17]</sup>的研究建立的。简而言之,腹腔注射 10%乌拉坦(0.5 mL/100 mg)麻醉大鼠。麻醉后,予气管插管连接小动物呼吸机机械通气后,切开大鼠胸壁,用 6-0 丝线,结扎冠状动脉左前降支,缺血 30 min 后,松开绳结进行再灌注 2 h。Sham 组的小鼠穿针但不结扎冠状动脉左前降支,用药组的大鼠与 I/R 组的操作相同。心肌缺血再灌注造模成功标准:结扎后,心尖组织发白或呈暗灰色,心电图 ST 段明显抬高,T 波高耸为缺血成功;松开绳结后,心尖缺血区颜色变红,ST 回落 1/2 为再灌注成功。大鼠相关组织取材后立即予放置-80℃冰箱存放。共有 56 只大鼠进行造模取材,在造模取材过程中,Sham 组、SDF-L 组大鼠因室颤和其他原因导致死亡 4 只,剩余 52 只大鼠。

1.4 心电图监测 使用小动物心电图机的电极插入大鼠右上、下肢及左下肢皮下,观察心电图 II 导联。观察并记录大鼠心电图 ST 段变化。

1.5 血清乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)的测定 将血清于-80℃冰箱取出后,4℃溶解后适当稀释,按照相应试剂盒说明书严格操作,根据 ELISA 制造商的说明书测定血清 LDH 和 CK-MB 含量。

1.6 心肌梗死面积大小测量 三苯基氯化四氮唑(TTC)染色被用来确定大鼠 MIRI 损伤后的梗塞大小。在 MIRI 后,大鼠心脏被切除,并切成 2 mm 的片状。用 2%TTC 对组织切片进行染色,在 37℃下避光孵育 30 min,期间予多次翻面,达到充分浸润,后用 4%多聚甲醛固定,然后检测心肌梗死面积。白色区域表示心肌梗死的大小;红色区域表示非缺血区域。最

后,用 ImageJ 软件计算梗死的大小。

1.7 苏木素-伊红(HE)染色检测心肌组织形态学变化 取血后,迅速分离大鼠心脏 1/3 到 2/3 的尖部进行石蜡切片。切片经脱水处理后,用苏木素和伊红进行染色之后,对切片进行脱水、清理、密封。在显微镜下观察心脏病理学改变。

1.8 Western Blot 检测 PI3K、AKT 的蛋白含量 大鼠腹主动脉取血后,分离心脏,提取左心室心肌组织总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,调整各组蛋白浓度。等量蛋白(30 μg)进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,湿法将蛋白转移至 PVDF 膜上,5%BSA 室温封闭 2 h,接着加入相应的一抗抗体(稀释比例 1:1000),4℃孵育过夜,1×TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,加入 HRP 标记的二抗(稀释比例 1:5000)室温孵育 2 h。洗膜 3 次,每次 10 min 后,在 GE 凝胶成像系统中采用超敏 ECL 化学发光液检测蛋白条带,以 GAPDH 为内参,使用 ImageJ 软件对目的条带进行灰度分析,以目的蛋白条带灰度值/GAPDH 灰度值表示目的蛋白相对表达量。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 26.0 统计学软件,进行多组间比较,用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行统计,组间两两比较用方差分析后,若方差齐采用 LSD 检验,若方差不齐则采用非参数检验。实验数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,以  $P < 0.05$  为具有统计学意义。实验图采用 Graphpad Prism9 软件测绘。

## 2 结果

2.1 大鼠心电图变化情况 冠状动脉结扎前开始连续监测并记录大鼠心电图至再灌注 2 h 后,观察 II 导联 T 波和 ST 段的变化。比较冠脉结扎前后的心电图,结扎后 ST 段可见弓背向上抬高,再灌注时的 ST 段逐渐向下回落,最终接近基线水平,说明大鼠心肌缺血再灌注损伤模型建立成功。见图 1。

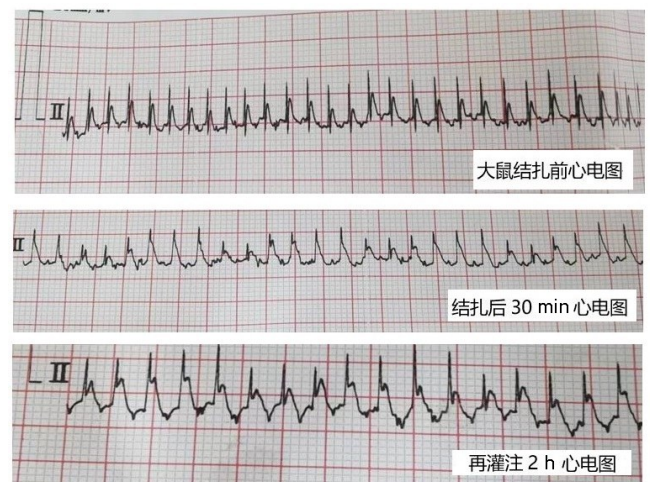


图 1 大鼠心电图

2.2 龙血竭总黄酮对 MIRI 大鼠血清 LDH 和 CK-MB 含量的影响 与 Sham 组相比, I/R 组、SDF-L 组、SDF-M 组、SDF-H 组及 SDF-B 组大鼠血清 LDH 和 CK-MB 含量显著升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 与 I/R 组相比, SDF-L 组、SDF-M 组、SDF-H 组及 SDF-B 组大鼠血清 LDH 和 CK-MB 含量显著降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠血清 LDH 和 CK-MB 水平的比较  
单位: U/L

组别	n	LDH	CK-MB
Control 组	6	373.83±176.88	426.83±126.93
Sham 组	6	1569.33±424.10	1620.33±58.05
I/R 组	6	2974.00±376.55 <sup>ab</sup>	2346.50±294.47 <sup>ab</sup>
SDF-L 组	6	2244.16±376.55 <sup>abc</sup>	2033.33±322.54 <sup>abc</sup>
SDF-M 组	6	2305.83±164.37 <sup>abc</sup>	1924.33±226.13 <sup>abc</sup>
SDF-H 组	6	2011.00±366.11 <sup>abc</sup>	1677.83±563.09 <sup>abc</sup>
SDF-B 组	6	2194.00±232.91 <sup>abc</sup>	1555.00±630.43 <sup>abc</sup>
F		34.769	25.733
P		<0.001	<0.001

注: ①表内计量资料数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示; ②与 Control 组比较, a:  $P < 0.01$ , 与 Sham 组比较, b:  $P < 0.01$ , 与 I/R 组比较, c:  $P < 0.05$ 。

2.3 龙血竭总黄酮对 MIRI 大鼠心肌梗死面积的影响 Control 组与 Sham 组相比, 大鼠心肌梗死面积差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与 Sham 组相比, I/R 组、SDF-L 组、SDF-M 组、SDF-H 组、SDF-B 组大鼠心肌梗死面积显著升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 I/R 组相比, SDF-L 组、SDF-M 组、SDF-H 组、SDF-B 组大鼠心肌梗死面积显著减轻, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 各用药剂量组之间相比, 大鼠心肌梗死面积差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 2、图 3。

2.4 龙血竭总黄酮对 MIRI 大鼠心肌病理形态学的影响 光镜下观察 Control 组和 Sham 组大鼠心脏切片, 心肌细胞排列整齐致密, 细胞结构完整, 边界清晰, 心肌纤维排列整齐, 未见变性、坏死、炎性细胞浸润, 心肌细胞分布有序。相反, I/R 组心肌细胞结构不完整, 心肌细胞紊乱, 细胞变性、坏死和炎症细胞浸润程度明显。SDF-L 组心肌纤维排列紊乱, 细胞水肿, 可见炎性细胞浸润。SDF-M 组心肌细胞肿胀, 无空泡样变性, 细胞核完整, 心肌细胞排列轻度紊乱, 间质轻度水肿。SDF-H 组心肌纤维排列规则, 少量心肌纤维化, 胞浆染色不均匀, 心肌纤维间隙未见明显炎性细胞浸润。SDF-B 组肌纤维排列规则, 可见心肌纤维化, 胞浆染色不均匀, 肌纤维间隙无明显炎性细胞浸润。与 I/R 组比较, 各剂量组大鼠心肌细胞肿胀减轻, 细胞变性、坏死和炎性细胞浸润也减少损伤症状明显减轻。

见图 4。

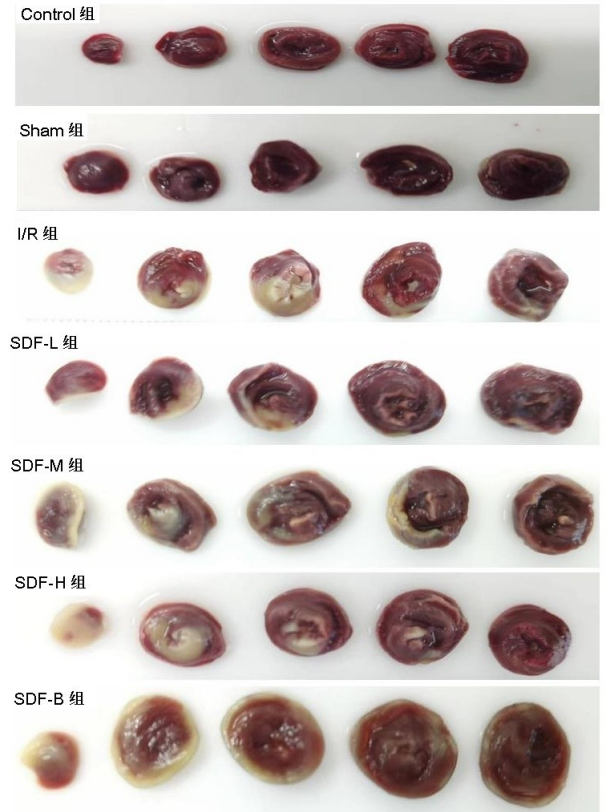
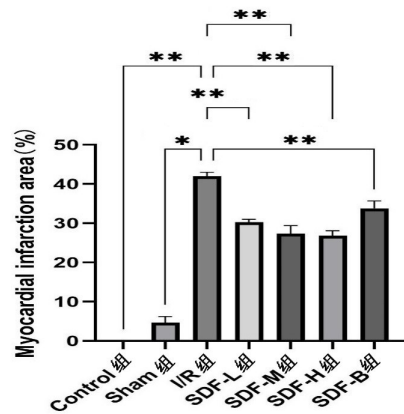


图 2 TTC 染色法测定各组大鼠心肌梗死范围图



注: 与 Sham 组比较, \*  $P < 0.05$ , 与 I/R 组比较, \*\*  $P < 0.01$ 。

图 3 各组大鼠心肌梗死面积百分比柱状图

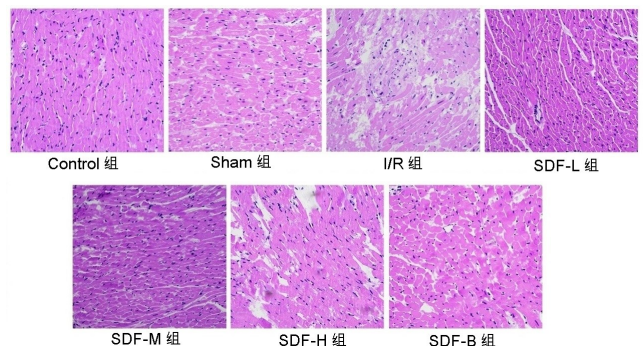
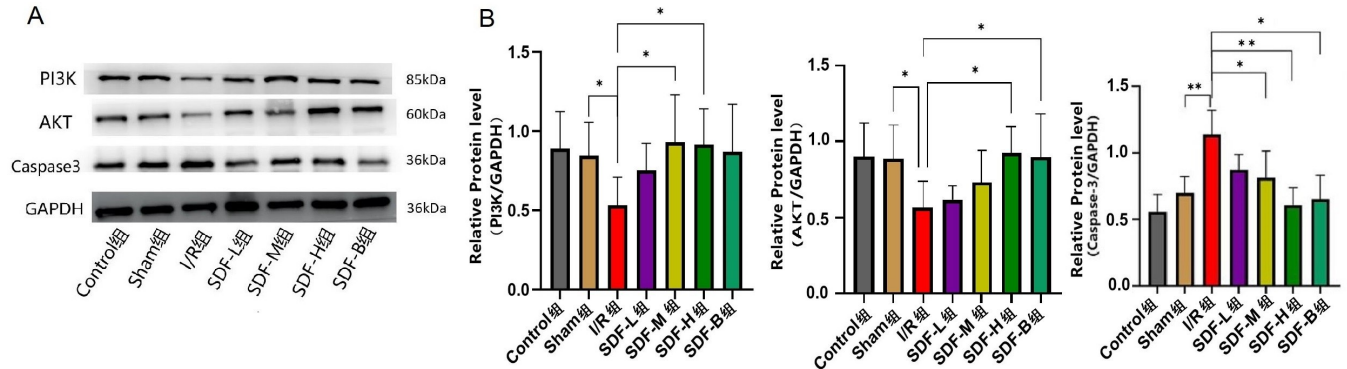


图 4 各组大鼠 HE 染色图( $\times 400$ )

2.5 龙血竭总黄酮对 MIRI 大鼠心肌组织 PI3K、AKT、Caspase-3 蛋白表达的影响 Control 组与 Sham 组 PI3K、AKT 蛋白含量无差异 ( $P > 0.05$ ); 与 Sham 组比较, I/R 组 PI3K、AKT 蛋白含量均降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 I/R 组比较, SDF-M 组、SDF-H 组及 SDF-B 组 PI3K、AKT 蛋白含量明显

升高, 且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 与 Sham 组比较, I/R 组大鼠心肌组织 Caspase-3 表达明显增高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 I/R 组比较, SDF-M 组、SDF-H 组及 SDF-B 组 Caspase-3 蛋白含量出现减少, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 各剂量组之间相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 5A、图 5B。



注: A. Western Blot 法检测各组大鼠 PI3K、AKT、Caspase-3 蛋白水平情况;

B. 各组大鼠蛋白表达水平的比较。\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

图 5 Western Blot 法检测大鼠心肌细胞中 PI3K、AKT、Caspase-3 蛋白的表达水平

### 3 讨论

MIRI 的机制极其复杂, 迄今为止, 人们都未能阐明其作用的机制。主流的观点认为, 自由基和促炎细胞因子的过量产生, 细胞凋亡的增加和内质网应激都参与了 MIRI 的发生和发展<sup>[18]</sup>。心肌 I/R 损伤可导致心力衰竭和心肌炎症等预后不良, 触发室性心律失常可能导致心肌梗死加重<sup>[19]</sup>。细胞凋亡是由细胞内基因及其产物调节的程序性细胞死亡的一种方式<sup>[20]</sup>。细胞凋亡参与 MIRI 的病理生理过程, 研究表明, MIRI 以多种方式诱导细胞凋亡, 包括 Bax 水平升高, Bcl-2 水平降低以及抑制 PI3K/AKT 途径的激活<sup>[21]</sup>。防止心肌细胞凋亡作为保护心肌免受 MIRI 损害的新靶点, 引起了越来越多的关注。

PI3K/AKT 信号通路调节体内多种细胞活动, 大量研究发现 PI3K/AKT 信号通路的激活对于抑制 MIRI 期间心肌细胞凋亡至关重要<sup>[22]</sup>。能够对 Bax、Bad、Caspase-3 等促凋亡基因的表达产生抑制作用, 而对抗凋亡基因 Bcl-2 的表达产生促进作用<sup>[23-24]</sup>, 从而发挥抗凋亡作用, 减轻心肌损伤。而当缺血缺氧、缺血再灌注等病理因素作用于细胞时, 内源性途径启动线粒体介导的细胞凋亡, 激活 Bcl-2 家族蛋白, 促使线粒体释放细胞色素 C, 进一步激活 Caspase-3, Caspase-3 通过直接切割细胞核和细胞质中的结构蛋白和调节蛋白来完成细胞凋亡的过程, 诱导细胞凋亡, 是细胞凋亡中的一个重要的调控因子<sup>[25]</sup>。因此, 抑制 Caspase-3 蛋白的表达可以显著减轻 MIRI, 当出现 MIRI 时, PI3K/AKT 通路受到抑制并使其抗凋亡作用减弱。

大量研究证实龙血竭总黄酮具有抗炎、抗血小板聚集、抑制细胞凋亡等作用<sup>[4, 15, 26-27]</sup>。其在 MIRI 时通过激活 PI3K/AKT 信号通路抑制细胞凋亡。MIRI 过程中, 蛋白水解酶活性发生变化, 细胞膜通透性增加, 影响心肌细胞代谢的关键酶 LDH 和 CK-MB 从胞浆进入血液, 增加其在血清中的含量。因此, 常将其作为反映心肌细胞损伤程度的敏感指标。本实验结果显示, 使用 SDF 预处理后, 大鼠 LDH 和 CK-MB 水平下降、心肌梗死面积减少, TTC 染色结果提示梗死面积缩小, 均能显著证实 SDF 对 MIRI 具有保护作用。与 Sham 组比较, I/R 组的 PI3K、AKT、蛋白含量下降, Caspase-3 蛋白含量上升, 说明在 MIRI 时, 细胞凋亡通路被激活, 大量细胞凋亡, 并抑制了 PI3K/AKT 信号通路; 相比于 I/R 组, SDF 各剂量组 PI3K、AKT 蛋白表达明显上升, 且高剂量组 PI3K、AKT 蛋白上升显著, Caspase-3 蛋白表达下降, 说明心肌细胞凋亡受到抑制, 这可能与 SDF 激活 PI3K/AKT 信号通路途径有关。综上, SDF 的抗凋亡作用在心脑血管疾病治疗中具有独特优势, 但其有效化学成分复杂, 目前的研究热点依旧是有效成分的分析 and 提取。本实验表明, SDF 可激活 PI3K/AKT 通路, 发挥抗凋亡作用, 减少细胞凋亡, 产生心肌保护功效。当然, MIRI 发病机制较多, 并且各通路间相互协同, 目前对其具体保护机制尚不能明确。本实验仅从 PI3K/AKT 信号通路角度, 探讨 SDF 与 MIRI 的关系, 其具体机制还需进一步论证。

本研究表明 SDF 能改善大鼠 MIRI, 以龙血竭高

剂量组疗效最佳。SDF 可降低心肌损伤标志物 LDH、CK-MB 的活性,减少心肌梗死面积,抑制心肌细胞凋亡,减轻心肌组织的病理损伤。综上所述,SDF 通过激活 PI3K/AKT 信号通路抑制心肌细胞凋亡,从而对 MIRI 大鼠心肌细胞发挥保护作用。

#### 参考文献:

- [1] 《中国心血管健康与疾病报告 2021》编写组.《中国心血管健康与疾病报告 2021》概述[J]. 中国心血管病研究, 2022,20(7):577-596.
- [2] BINDER A, ALI A, CHAWLA R, et al. Myocardial protection from ischemia-reperfusion injury post coronary revascularization[J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2015, 13(9):1045-1057.
- [3] LIBBY P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(21):2004-2013.
- [4] 马建建, 宋艳, 贾敏, 等. 血竭总黄酮对血小板聚集、血栓形成及心肌缺血的影响[J]. *中草药*, 2002, 33(11):1008-1010.
- [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] 邓嘉元, 李运曼, 方伟蓉. 龙血竭总黄酮对乳鼠损伤心肌细胞的保护作用[J]. *中国天然药物*, 2006, 4(5):373-376.
- [7] CHANG F, LEE J T, NAVOLANIC P M. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy[J]. *LEUKEMIA*, 2003, 17(3):590-603.
- [8] WANG X Y, PAN J Y, LIU D, et al. Nicorandil alleviates apoptosis in diabetic cardiomyopathy through PI3K/Akt pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8):5349-5359.
- [9] KIM S A, KANG O H, KWON D Y. Cryptotanshinone induces cell cycle arrest and apoptosis of NSCLC cells through the PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9):2739.
- [10] 易志刚, 陈津瀚, 李津, 等. GLP-1 激动剂通过 PI3K/Akt 信号通路减轻心肌细胞缺氧复氧损伤的实验研究[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2018, 34(1):61-66.
- [11] XIONG S B, MU T Y, WANG G W, et al. Mitochondria-mediated apoptosis in mammals[J]. *Protein Cell*, 2014, 5(10):737-749.
- [12] PORTER A G, JÄNICKE R U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6(2):99-104.
- [13] SUN L, LU W X, LI H, et al. Total saponins of *Aralia elata* (Miq.) Seem. alleviate myocardial ischemia-reperfusion injury by promoting NLRP3-inflammasome inactivation via PI3K/Akt signaling[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2023, 39(3):290-301.
- [14] BAI J N, WANG Q C, QI J X, et al. Promoting effect of baicalin on nitric oxide production in CMECs via activating the PI3K-AKT-eNOS pathway attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Phytomedicine*, 2019, 63:153035.
- [15] 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- $\alpha$  和 IL-6 的影响研究[J]. *右江医学*, 2021, 49(6):405-411.
- [16] 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.
- [17] LAI T F, SHEN Y, CHEN C C, et al. Glycyrrhizic acid ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury in rats through inhibiting endoplasmic reticulum stress[J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 908:174353.
- [18] PENNA C, ANDREADOU I, ARAGNO M, et al. Effect of hyperglycaemia and diabetes on acute myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection by ischaemic conditioning protocols[J]. *Bri J Pharmacol*, 2020, 177(23):5312-5335.
- [19] MAJIDI M, KOSINSKI A S, AL-KHATIB S M, et al. Implications of ventricular arrhythmia “bursts” with normal epicardial flow, myocardial blush, and ST-segment recovery in anterior ST-elevation myocardial infarction reperfusion: a biosignature of direct myocellular injury “downstream of downstream”[J]. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*, 2015, 4(1):51-59.
- [20] SAIKUMAR P, DONG Z, MIKHAILOV V, et al. Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease[J]. *Am J Med*, 1999, 107(5):489-506.
- [21] LAKOTA J. Molecular mechanism of ischemia-reperfusion injury after myocardial infarction and its possible targeted treatment[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 220:571-572.
- [22] GUAN B F, DAI X F, HUANG Q B, et al. Icariside II ameliorates myocardial ischemia and reperfusion injury by attenuating inflammation and apoptosis through the regulation of the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(4):3151-3160.
- [23] CHENG X Y, HU J, WANG Y, et al. Effects of dexmedetomidine postconditioning on myocardial ischemia/reperfusion injury in diabetic rats: role of the PI3K/Akt-dependent signaling pathway[J]. *J Diabetes Res*, 2018:3071959.
- [24] THOKALA S, INAPURAPU S, BODIGA V L, et al. Loss of ErbB2-PI3K/Akt signaling prevents zinc pyritione-induced cardioprotection during ischemia/reperfusion[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88:309-324.
- [25] MCCOMB S, CHAN P K, GUINOT A. Efficient apoptosis requires feedback amplification of upstream apoptotic signals by effector caspase-3 or -7[J]. *Sci Adv*, 2019, 5(7):eaau9433.
- [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] 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.

收稿日期:2022-12-26;修回日期:2023-02-15