

本文引用: 何涛, 刘建和, 杨耀闯, 张杼惠, 曹蛟, 冯君. 柴胡三参胶囊对心肌缺血再灌注损伤大鼠心脏的保护作用及铁死亡机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(2): 218-224.

柴胡三参胶囊对心肌缺血再灌注损伤大鼠心脏的保护作用及铁死亡机制研究

何涛^{1,2}, 刘建和^{1,2}, 杨耀闯^{1,2}, 张杼惠^{1,2}, 曹蛟², 冯君^{1,2*}

1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007; 2. 国家中医心血管病临床医学研究中心分中心, 湖南长沙 410007

〔摘要〕目的 研究柴胡三参胶囊对心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)大鼠心脏的保护作用。

方法 取 84 只 SPF 级大鼠随机分为假手术组、模型组、地尔硫草组和柴胡三参胶囊低、中、高剂量组, 每组 14 只。术前对大鼠进行灌胃, 假手术组及模型组大鼠灌胃等溶剂生理盐水。假手术组只穿线不结扎, 其余各组均用无菌缝合线结扎大鼠冠状动脉左前降支 30 min 并松线 90 min 构建心肌缺血再灌注模型, 再灌注结束后立即取血, 剥离心脏。比较各组心律失常积分, 运用 TTC 染色法计算心肌梗死面积, 运用 HE 染色法镜下观察心肌组织病理改变, Western blot 法检测心肌组织中铁死亡相关蛋白表达水平。结果 与假手术组相比, 模型组大鼠心律失常积分升高($P<0.05$), 心肌细胞排列紊乱, 细胞核大小参差不齐, 大量细胞肥大、水肿、变性, 心肌梗死区域显著增加($P<0.05$), 铁死亡相关蛋白混合谱系激酶 3(mixed lineage kinase 3, MLK3)、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、肿瘤抑制蛋白 p53(tumor suppressor protein p53, p53)的表达显著升高($P<0.01$)。与模型组相比, 柴胡三参胶囊低剂量组大鼠在心律失常积分、心肌细胞损伤改善、心肌梗死面积和铁死亡相关蛋白 MLK3、JNK、p53 的表达上差异无统计学意义($P>0.05$); 柴胡三参胶囊中、高剂量组和地尔硫草组大鼠心律失常积分明显降低($P<0.05$), 心肌细胞损伤改善, 细胞排列较整齐, 水肿程度减轻, 心肌梗死面积减少($P<0.05$), 铁死亡相关蛋白 MLK3、JNK、p53 的表达显著降低($P<0.01$)。结论 柴胡三参胶囊中、高剂量可减轻 MIRI 大鼠心律失常, 减少心肌梗死面积, 减轻心肌病理损伤, 降低铁死亡相关蛋白表达水平, 其机制可能与抑制心肌铁死亡有关。

〔关键词〕柴胡三参胶囊; 心肌缺血再灌注损伤; 铁死亡; 混合谱系激酶 3; c-Jun 氨基末端激酶; 肿瘤抑制蛋白 p53

〔中图分类号〕R285.5

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.02.007

Protective effects of Chaihu Sanshen Capsule on hearts of rats with myocardial ischemia reperfusion injury and the mechanism of ferroptosis

HE Tao^{1,2}, LIU Jianhe^{1,2}, YANG Yaolv^{1,2}, ZHANG Zhuhui^{1,2}, CAO Jiao², FENG Jun^{1,2*}

1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 2. Sub-center of National Clinical Research Center of Cardiovascular Diseases of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

〔Abstract〕Objective To study the protective effects of Chaihu Sanshen Capsule on hearts of rats with myocardial ischemia reperfusion injury (MIRI). Methods Eighty-four SPF rats were randomly divided into sham operation group, model group, diltiazem

〔收稿日期〕2022-05-09

〔基金项目〕湖南省自然科学基金青年基金项目(2021JJ40419); 湖南省教育厅科学研究项目(21A034); 湖南省卫健委科研计划项目(202116001377); 湖南省中医药管理局科研课题项目(B2023019); 湖南中医药大学校级科研项目(2020XJJ039); 湖南中医药大学研究生创新课题项目(2021CX21)。

〔第一作者〕何涛, 男, 博士研究生, 研究方向: 中医药防治心血管疾病。

〔通信作者〕* 冯君, 男, 博士研究生, 副主任医师, E-mail: 705500732@qq.com。

group, and low-, medium-, high-dose Chaihu Sanshen Capsule groups, with 14 rats in each group. The rats were given intragastric administration before operation, and the rats in sham operation group and model group received normal saline. In sham operation group, only threading was performed without ligation. In the other groups, the left anterior descending coronary artery of rats was ligated with sterile suture for 30 min and loosened for 90 min to construct the myocardial ischemia reperfusion model. After the reperfusion, blood was taken immediately and the heart was stripped. Arrhythmia scores were compared among groups, TTC staining was used to calculate the area of myocardial infarction, HE staining was taken to observe pathological changes of myocardial tissue under microscope, and Western blot was used to detect the expression level of ferroptosis-related protein in myocardial tissue. **Results** Compared with sham operation group, model group showed higher arrhythmias scores ($P<0.05$), disordered arrangement of myocardial cells, uneven sizes of nucleus, hypertrophic, edematous and degenerated cells, and the significant increase in infarct area of myocardial tissues ($P<0.05$). In addition, the expression of mixed lineage kinase 3 (MLK3), c-Jun N-terminal kinase (JNK) and tumor suppressor protein p53 (p53) was significantly higher ($P<0.01$). While there was no significant difference between model group and low-dose Chaihu Sanshen Capsule group in arrhythmia score, improvement of myocardial cell injury, myocardial infarction area and the expression of ferroptosis-related proteins MLK3, JNK, p53 ($P>0.05$). Compared with model group, the medium- and high-dose Chaihu Sanshen Capsule groups and diltiazem group demonstrated significantly lower arrhythmia scores ($P<0.05$), improved myocardial cell damage, the neatly arranged cells, the decreased degree of edema, the less infarction area of myocardial tissues ($P<0.05$), and significant lower expression of ferroptosis related proteins MLK3, JNK, and p53 ($P<0.01$). **Conclusion** The medium- and high-dose Chaihu Sanshen Capsule can alleviate arrhythmia in MIRI rats, lessen myocardial infarction area, reduce myocardial pathological damage, and decrease the expression levels of ferroptosis-related proteins. The mechanism may be related to the inhibition of myocardial ferroptosis.

[**Keywords**] Chaihu Sanshen Capsule; myocardial ischemia reperfusion injury; ferroptosis; mixed lineage kinase 3; c-Jun N-terminal kinase; tumor suppressor protein p53

心血管疾病是威胁人类健康最主要的原因之一。《中国心血管健康与疾病报告 2019》指出:至 2017 年底,我国农村地区冠心病病死率达 76.04/10 万人,严重危害居民健康^[1]。目前,再灌注策略是急性心肌梗死的首选治疗措施,溶栓、经皮冠状动脉介入等治疗手段能够快速恢复缺血心肌的血液供应,以挽救濒死的心肌,减少心肌梗死面积,保持左心室的收缩功能,降低死亡率^[2]。然而,再灌注可能会导致额外的心脏损伤,即心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)^[3-4]。因此,如何减轻 MIRI 成为心血管治疗急需解决的问题之一。

有研究表明,铁死亡在 MIRI 病理过程中普遍存在,抑制铁死亡在心肌稳态和心血管疾病中起到重要保护作用^[5-6]。盐酸地尔硫草片能够减轻氧化应激损伤,纠正能量代谢,增加 MIRI 后对心脏的保护作用^[7-8],故本研究选择其作为阳性对照药物。课题组前期研究发现,柴胡三参胶囊通过升高超氧化物

歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平,降低血清血清乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平,从而减轻大鼠 MIRI^[9]。前期研究还表明,柴胡三参胶囊可通过抑制心肌细胞凋亡和炎症损伤,从而保护受损心肌^[10],但柴胡三参胶囊是否通过抑制铁死亡对 MIRI 产生保护作用尚不清楚。因此,本实验通过构建大鼠 MIRI 模型,探讨柴胡三参胶囊对 MIRI 保护作用的相关分子机制,以期柴胡三参胶囊在 MIRI 中的应用提供新的策略。

1 材料

1.1 动物

健康雄性 SD 大鼠 84 只,SPF 级,体质量(220±20) g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号:SYXK(湘)2019-0009。动物饲养于湖南中医药大学动物实验中心,饲养温度为(23±2)℃,相对湿度 59%,昼夜光照交替 12 h。本实验经湖南中

医药大学实验动物伦理委员会批准, 批准号: SCXK(湘)2019-0004。

1.2 实验药品及制备方法

柴胡三参胶囊购自湖南中医药大学第一附属医院制剂室(批号:20200630)。由柴胡、黄连、法半夏、丹参、苦参、党参、青蒿、甘草组成, 药物剂量比例为 15:6:10:10:10:15:10:6, 用生理盐水将胶囊内容物溶解成灌胃液^[4]。盐酸地尔硫草片(规格:30 mg/片, 天津田边制药有限公司, 批准文号:国药准字 H12020126)。

1.3 主要试剂

氯化三苯基四氮唑(2,3,5-Triphenyl-2H-tetrazolium chloride, TTC)(批号:T8877-10G, 美国 Sigma 公司);6-0 手术缝合针(批号:20111, 宁波市成和显微器械厂);BCA 蛋白定量试剂盒(批号:BL521A, 北京兰杰柯科技有限公司);PVDF 膜(批号:IPV00010, 美国 Millipore 公司);ECL 显色液(批号:GE2301, 北京鼎国昌盛生物技术有限公司);高效 RIPA 组织快速裂解液(批号:SL1020, 北京酷来搏科技有限公司);蛋白酶抑制剂混合液(批号:GRF101, 上海雅酶生物科技有限公司);兔抗混合谱系激酶 3(mixed lineage kinase 3, MLK3)单克隆抗体(批号 11996-1-AP, 武汉三鹰生物技术有限公司);兔抗 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)多克隆抗体(批号:CY5490)、兔抗 p38 多克隆抗体(批号:CY5488)、兔抗 p53 单克隆抗体(批号:CY2167)、兔抗 NLRP3 多克隆抗体(批号:CY5651)、兔抗 β -actin 多克隆抗体(批号:AB0035)、山羊抗兔 Ig G(H+L)HRP(批号:AB0101)均购自上海 Abways 公司;PBS 缓冲液(批号:WH0321E111, 武汉普诺赛生命科技有限公司);脱脂奶粉(批号:A800889-0250, 上海生工生物工程有限公司)。

1.4 主要仪器

RWD407 小型动物呼吸机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);ECG-2303B 数字心电图机(广州市三锐电子科技有限公司);JEB2002 电子天平(上海浦春计量仪器有限公司);Cytation3 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司);DYY-6C 电泳仪、DYCZ-40D 转膜仪(美国 Bio-Rad 公司);Chemi Doc XRS 化学发光凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司);A1+激光共聚焦显微镜(日本 Nikon 公司);HM325 石蜡切片

机(上海徠卡仪器有限公司);KD-BM II 电脑生物组织包埋机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);160HR 高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 分组及给药方法

将大鼠随机分为 6 组, 分别为假手术组、模型组、地尔硫草组和柴胡三参胶囊高、中、低剂量组, 每组 14 只。灌胃剂量根据人与动物体表面积换算, 70 kg 成人临床剂量等效 300 g 大鼠灌胃剂量, 低剂量、高剂量分别为 1/2、2 倍中剂量。柴胡三参胶囊每粒 400 mg, 中剂量为每次 4 粒, 每日 3 次, 总计 4800 mg, 换算成大鼠等效剂量为 432 mg/kg。故柴胡三参胶囊高、中、低剂量组分别给予柴胡三参胶囊溶液 864、432、216 mg/(kg·d)灌胃, 地尔硫草组给予地尔硫草溶液 51 mg/(kg·d)灌胃。适应性喂养 1 周后对大鼠进行灌胃, 每日灌胃 1 次, 连续 7 d, 假手术组及模型组给予等容积的生理盐水灌胃。

2.2 MIRI 模型的制备

除假手术组外, 其余各组参照本团队前期基础进行手术^[12-13]。造模前 12 h 禁食, 自由饮水, 末次灌胃 30 min 后, 腹腔注射戊巴比妥钠(10 mg/kg)麻醉大鼠。取仰卧位, 将四肢固定于手术台上, 心电图机全程记录大鼠 II 导联心电图, 颈部、胸前区去毛, 剪开颈部皮肤, 逐层钝性分离颈部肌肉, 直至暴露气管。用无菌刀片小心横向切开气管, 并连接小型动物呼吸机, 随后从胸骨左缘 0.5~1 cm 处纵行剪开皮肤, 逐层钝性分离两侧肌肉, 直至暴露胸骨。沿胸骨左侧第 3~4 肋间打开胸腔, 暴露心脏, 剥离心包膜, 运用 6-0 缝合线小心结扎冠状动脉左前降支, 以 II 导联 ST 段明显抬高或 T 波高耸, 结扎线以下心脏表面颜色变暗为造模成功的标志。结扎 30 min 后松开缝合线, 再灌注 90 min。再灌注结束后立即取材。假手术组大鼠只穿线, 不结扎, 同样全程记录 II 导联心电图。有以下情况之一的大鼠退出实验: 结扎前心电图异常者; 结扎冠状动脉失败或未发现再灌注者; 心脏破裂致大鼠死亡者。

2.3 大鼠心电图监测及心律失常评分

使用 RM-6280 生物信号采集系统, 麻醉固定后

在大鼠四肢连接电极,分别记录造模前以及造模全过程心电图,记录每组大鼠恶性心律失常发生情况,根据 Curtis-Walker 心律失常评分标准进行评分^[4]:发生室性前期收缩<50次计0分;发生室性前期收缩<500次计1分;发生室性前期收缩>500次和(或)发作一过性室性心动过速或室颤计2分;室性心动过速或室颤持续时间<1 min计3分;室性心动过速或室颤持续时间 ≥ 1 min且<2 min计4分;室性心动过速或室颤持续时间 ≥ 2 min计5分;梗死15 min之后发生致命性室颤计6分;梗死4~15 min之内发生致命性室颤计7分;梗死1~3 min之内发生致命性室颤计8分;梗死1 min之内发生致命性室颤计9分。最后进行统计学分析。

2.4 TTC 测定心肌梗死面积

取出大鼠心脏后,用 PBS 缓冲液由内至外清洗2遍,用15 mL离心管装好置于-20℃冰箱冷冻30 min,取出后置于冰上,沿垂直于心尖与心底连线方向进行切片,切弃心尖,余下组织共切5~6片,每片约2 mm,置于1% TTC 磷酸缓冲液中,避光,并放入37℃水浴箱中孵育20 min,取出切片,置于10%甲醛溶液中固定过夜,24 h后利用高清单反相机拍照。运用 Image Pro Plus 软件计算梗死面积、心脏切片总面积。

心肌梗死面积百分率=组织切片梗死面积/总面积 $\times 100\%$

2.5 HE 染色观察各组大鼠心脏病理学变化

于再灌注结束后,用预冷的 PBS 冲洗2遍,取全心,用4%多聚甲醛溶液30 mL固定于50 mL的EP管中,经梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋处理,后置于切片机上切片,脱蜡,切片常规梯度乙醇脱水,行苏木精、伊红染色,二甲苯透明,中性树胶进行封片,最后于显微镜下观察各组大鼠心肌组织的病理学变化。

2.6 Western blot 法检测心肌组织铁死亡相关蛋白表达

每组取约100 mg缺血区心肌组织装入经过高温高压蒸汽灭菌之后的1.5 mL EP管中,剪碎心肌组织,加2~3颗小钢珠,并加入适量 RIPA 裂解液及总体积1%的蛋白酶抑制剂,置于预冷的匀浆机中匀浆,直至组织被匀浆成碎片,于4℃、12 000 r/min、半径17.8 cm的低温超速离心机中离心10 min。取上清液,随后用 BCA 蛋白定量法测定各组蛋白浓

度,根据标准曲线公式制备相同浓度的上样缓冲体系,100℃加热20 min使蛋白失活。制胶,上样,电泳,先于80 V恒压电泳30 min,待样本跑出浓缩胶后,改100 V恒压90 min,200 mA恒流转膜90 min,将含有蛋白的凝胶小心转移至PVDF膜上,5%脱脂牛奶封闭1 h,并于摇床上均一化。TBST洗脱3次,每次1 min,参照 biomarker 条带位置,在相应蛋白质分子量范围内分别孵育 MLK3(1:1000)、JNK(1:2000)、p53(1:2000)、及 β -actin(1:20 000)抗体,4℃孵育过夜,次日于冰箱中取出目的条带,用TBST洗涤3次,每次10 min,于室温下孵育山羊抗兔 IgG (H+L)HRP(1:30 000配置)1 h,TBST清洗3次,每次10 min,以洗去多余的二抗。ECL显色液进行目的条带显影,显影后保存图像,用 Image J 软件分析各条带的灰度值并进行统计分析。

2.7 统计学分析

数据采用 SPSS 21.0 统计学软件进行分析。计量资料符合正态分布以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,若各组数据均符合正态分布,则进行单因素方差分析,不满足正态性、方差齐性的多组比较采用 Tamhane's T2 检验,两组之间比较用独立样本 *t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠死亡情况统计

在大鼠喂养期间无死亡,因麻醉意外、多次结扎致心脏破裂等死亡不纳入心电图统计分析及数据统计,但因恶性心律失常而死亡的大鼠纳入心电图统计分析,不进入最后的数据统计。在实验过程中,假手术组大鼠无死亡;模型组大鼠因室颤死亡2只;地尔硫草组大鼠因手术意外死亡2只;柴胡三参胶囊高剂量组因手术意外死亡2只;柴胡三参胶囊中剂量组死亡2只,其中因室颤死亡1只,因多次结扎心脏破裂死亡1只;柴胡三参胶囊低剂量组死亡4只,其中因室颤死亡2只,因手术意外死亡2只。

3.2 各组大鼠心电图监测及心律失常评分

与假手术组相比,模型组大鼠心律失常评分显著升高($P<0.05$);与模型组比较,柴胡三参胶囊高、中剂量组及地尔硫草组心律失常评分降低($P<0.05$),

柴胡三参胶囊低剂量组心律失常评分差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠心律失常评分($\bar{x}\pm s$,分)

组别	n	评分
假手术组	15	0.13±0.35
模型组	15	3.00±0.65*
CHSS 高剂量组	13	1.69±0.48**
CHSS 中剂量组	14	1.14±0.66**
CHSS 低剂量组	13	2.46±0.52*
地尔硫草组	13	0.46±0.52#

注:CHSS.柴胡三参胶囊。与假手术组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,** $P<0.05$ 。

3.3 大鼠心肌梗死面积测定

TTC 与活细胞线粒体内的琥珀酸脱氢酶反应而呈红色,而缺血组织内脱氢酶数量减少,活性下降,而呈白色,以此区分梗死区域与非梗死区域。TTC 染色结果显示,假手术组心肌组织无明显梗死,与假手术组比较,模型组心肌组织梗死区域显著增加

($P<0.05$);与模型组相比,柴胡三参胶囊低剂量组大鼠心肌梗死面积无明显变化($P>0.05$),柴胡三参胶囊中、高剂量组及地尔硫草组大鼠心肌梗死面积均减少($P<0.05$)。详见图 1。

3.4 心肌组织病理改变

假手术组大鼠心肌细胞排列整齐,细胞核整齐均一,肌纤维走向有序,染色正常。模型组大鼠梗死区域心肌细胞排列紊乱,细胞核大小参差不齐,大量细胞肥大、水肿、变性,但无明显细胞坏死;梗死远端区心肌组织无明显损伤,细胞形态、大小、走行方向与假手术组基本一致。与模型组相比,柴胡三参胶囊低剂量组梗死区域心肌组织损伤程度无明显改善;柴胡三参胶囊中、高剂量组缺血区心肌组织有较明显改善,细胞排列较紊乱,部分细胞水肿变性,且高剂量组较中剂量组损伤减小;地尔硫草组缺血区心肌组织明显改善,仅有少量细胞水肿,细胞排列相对整齐。详见图 2。

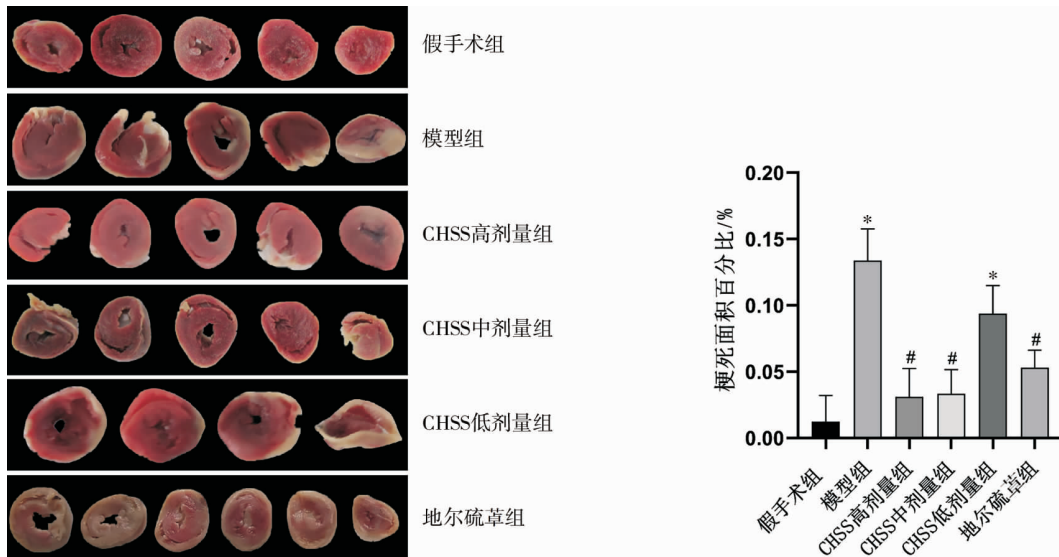


图 1 各组大鼠心脏 TTC 染色及心肌梗死面积测定结果

注:CHSS.柴胡三参胶囊。与假手术组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,** $P<0.05$ 。

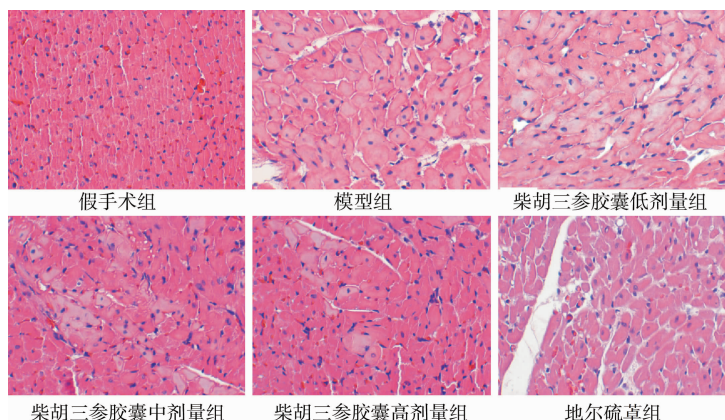


图 2 各组 MIRI 大鼠心肌组织病理变化(HE,×400)

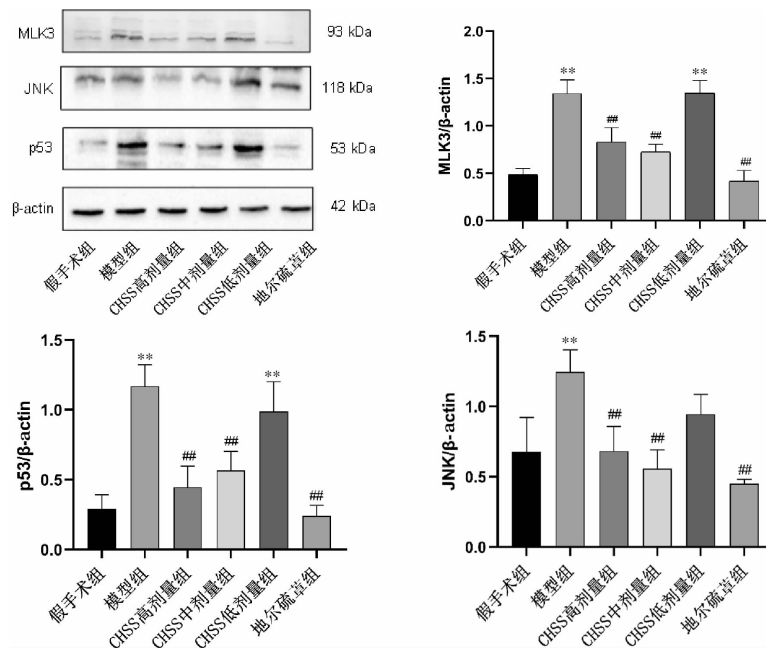


图3 各组大鼠心肌组织蛋白表达情况

注:CHSS.柴胡三参胶囊。与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,## $P<0.01$ 。

3.5 心肌组织中铁死亡相关蛋白的表达情况

与假手术组相比,模型组大鼠缺血区心肌组织 MLK3、JNK、p53 蛋白表达明显升高 ($P<0.01$);与模型组比较,柴胡三参胶囊中、高剂量组和地尔硫草组 MLK3、JNK、p53 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$),柴胡三参胶囊低剂量组 MLK3、JNK、p53 蛋白表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)。详见图 3。

4 讨论

MIRI 为现代医学命名,中医典籍对其无相关论述,然根据其临床表现,多归属于“胸痹”“心痛”等范畴。柴胡三参胶囊由柴胡、法半夏、党参、丹参、苦参、黄连、青蒿、甘草组成,针对气滞血瘀痰阻之病机而设。方中柴胡为君,疏泄肝气、调畅气机;臣以苦寒之黄连清泄少阳,与柴胡相伍,取疏泄和解之意;法半夏下气化痰,丹参活血清心,亦为臣药;佐以青蒿辛开苦泄,化痰定悸,苦参燥湿清火,共助柴胡和解少阳之功;党参健脾益气,有助血液运行,甘草缓急,调和诸药,共为佐使。全方合用具有疏肝行气、化痰活血、和解伏邪之用。

MLK3 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,被认为参与包括癌症、肺纤维化和缺血性脑损伤在内的多种疾病^[15-17]。同时,MLK3 也被认为在心肌细胞损伤的保护中发挥重要作用,研究发现,MLK3 的下调

可以保护 H9c2 细胞免受缺氧引起的凋亡和缺血再灌注损伤^[18]。上调 miR-138,可以通过负向调控 MLK3 保护 H9c2 细胞免受缺氧诱导引发的细胞死亡^[19]。JNK 是 MLK3 信号传导的一种重要下游介质,可以激活 p53 的表达,抑制 System Xc-的活性,致使 GPX4 的底物谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 合成受阻,从而诱导 ROS 的蓄积,导致铁死亡的发生^[20-21]。因此,降低 MLK3 的表达,可通过抑制 MLK3、JNK、p53 通路减少缺血再灌注所致的铁死亡。

本研究构建 MIRI 大鼠模型,结果发现心肌缺血 30 min 再灌注 90 min 后大鼠左心室发生较明显梗死,心肌细胞排列紊乱,细胞间隙水肿,心脏功能发生紊乱,铁死亡相关蛋白 MLK3、JNK、p53 表达明显上升;给予柴胡三参胶囊中、高剂量预处理的大鼠心脏功能较前显著改善,心律失常的发生率降低,心肌细胞排列整齐,细胞之间无水肿,且心肌梗死面积减少,MLK3、JNK、p53 的表达下降,表明柴胡三参胶囊中、高剂量预处理可以减少缺血再灌注大鼠铁死亡的发生。

综上所述,柴胡三参胶囊中、高剂量预给药能够有效改善 MIRI 大鼠模型心肌梗死病理状况,减轻心肌梗死再灌注大鼠铁死亡进程,其机制可能与抑制大鼠 MLK3、JNK、p53 蛋白表达有关。

参考文献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告2019[J].心肺血管病杂志,2020,39(9):1145-1156.
- [2] TAKEMURA G, NAKAGAWA M, KANAMORI H, et al. Benefits of reperfusion beyond infarct size limitation[J]. Cardiovascular Research, 2009, 83(2): 269-276.
- [3] 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 of Inflammation, 2017, 2017: 7018393.
- [4] TIAN L, CAO W J, YUE R J, et al. Pretreatment with Tiliainin improves mitochondrial energy metabolism and oxidative stress in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury via AMPK/SIRT1/PGC-1 alpha signaling pathway[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019, 139(4): 352-360.
- [5] ZHAO W K, ZHOU Y, XU T T, et al. Ferroptosis: Opportunities and challenges in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2021, 2021: 9929687.
- [6] LV Z Q, WANG F E, ZHANG X F, et al. Etomidate attenuates the ferroptosis in myocardial ischemia/reperfusion rat model via Nrf2/HO-1 pathway[J]. Shock, 2021, 56(3): 440-449.
- [7] CHEN C X, CHEN W, NONG Z H, et al. Cardioprotective effects of combined therapy with hyperbaric oxygen and diltiazem pretreatment on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2016, 38(5): 2015-2029.
- [8] PENG Y H, FU X H, LI W, et al. Effect of intracoronary anisodamine and diltiazem administration during primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction[J]. Coronary Artery Disease, 2014, 25(8): 645-652.
- [9] 刘建和,李群,何少平,等.柴胡三参胶囊对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J].中国中医药信息杂志,2010,17(11):29-31.
- [10] 谭彩,曹蛟,张抒惠,等.柴胡三参胶囊通过调控 PI3K/Akt 和 p38MAPK 通路抑制阿霉素诱导的心脏毒性[J].湖南中医药大学学报,2022,42(9):1434-1441.
- [11] 刘建和,毛宗裕,肖冰凌,等.柴胡三参胶囊对缺血性心律失常大鼠心肌细胞 Bcl-2 及 Fas 表达的影响[J].中国中医急症,2020,29(6):962-965,977.
- [12] 徐叔云.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:1052-1053.
- [13] 刘建和,肖冰凌,杨成龙,等.柴胡三参胶囊对缺血性心律失常大鼠心肌细胞 RyR2 mRNA 表达的影响[J].中医药导报,2020,26(10):32-35.
- [14] CURTIS M J, WALKER M J. Quantification of arrhythmias using scoring systems: An examination of seven scores in an in vivo model of regional myocardial ischaemia[J]. Cardiovascular Research, 1988, 22(9): 656-665.
- [15] ZHANG F, ZHU Y, WU S H, et al. MLK3 is a newly identified microRNA-520b target that regulates liver cancer cell migration[J]. PLoS One, 2020, 15(3): e0230716.
- [16] PAN C L, SI Y N, MENG Q H, et al. Suppression of the RAC1/MLK3/p38 signaling pathway by β -elemene alleviates Sepsis-associated encephalopathy in mice[J]. Frontiers in Neuroscience, 2019, 13: 358.
- [17] DAS S, NAIR R S, MISHRA R, et al. Mixed lineage kinase 3 promotes breast tumorigenesis via phosphorylation and activation of p21-activated kinase 1[J]. Oncogene, 2019, 38(19): 3569-3584.
- [18] HE S Y, LIU S B, WU X C, et al. Protective role of down-regulated MLK3 in myocardial adaptation to chronic hypoxia[J]. Journal of Physiology and Biochemistry, 2016, 73(3): 371-380.
- [19] ZHANG X Z, QIN Q J, DAI H Y, et al. Emodin protects H9c2 cells from hypoxia-induced injury by up-regulating miR-138 expression[J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2019, 52(3): e7994.
- [20] WANG J Y, DENG B, LIU Q, et al. Pyroptosis and ferroptosis induced by mixed lineage kinase 3 (MLK3) signaling in cardiomyocytes are essential for myocardial fibrosis in response to pressure overload[J]. Cell Death & Disease, 2020, 11: 574.
- [21] 张玉婷,谢小娟,王彩云,等.灵芝酸 A 通过 Nrf2/GPX4 信号通路减轻七氟烷诱导的 HT22 细胞铁死亡[J].湖南中医药大学学报,2022,42(7):1064-1069.

(本文编辑 匡静之)