

• 基础研究 •

槲皮素通过上调沉默信息调控因子1减轻心肌梗死后心室重构

陈凯 董静 赵学飞

【摘要】 目的:探讨槲皮素 (Que) 对心肌梗死 (心梗) 后心室重构的作用及机制。**方法:**建立大鼠心梗模型, 随机分为心梗组、Que 组、沉默信息调控因子 1 (Sirt1) 抑制剂 EX527 组、Que+EX527 组, 每组 10 只, 另取 10 只大鼠设为假手术组。各组进行对应药物处理后, 检测大鼠血流动力学指标、心脏质量参数, 苏木精-伊红 (HE) 染色观察大鼠心肌组织形态学, Masson 染色观察大鼠心肌组织纤维化, 原位末端转移酶标记技术 (TUNEL) 检测大鼠心肌细胞凋亡, Western blot 法检测大鼠心肌组织中 Sirt1 蛋白、凋亡蛋白及自噬蛋白表达。**结果:**与假手术组比较, 心梗组大鼠左室内压最大上升速率 ($+dp/dt_{max}$)、左室内压最大下降速率 ($-dp/dt_{max}$)、左室收缩压 (LVSP)、平均动脉压 (MAP) 均显著降低, 左室舒张末期压力 (LVEDP)、心脏质量指数 (HMI) 和左心室质量指数 (LVMI) 均显著升高, 心肌组织存在明显病理损伤和大量胶原纤维增生, 心肌组织细胞凋亡指数 (AI) 显著升高, 胱天蛋白酶-3 (caspase-3)、B 淋巴细胞瘤-2 相关蛋白 (Bax)、p62 的蛋白表达水平均显著升高, B 淋巴细胞瘤-2 蛋白 (Bcl-2)、Sirt1、微管相关蛋白轻链 3 (LC3)-II /LC3-I、Beclin-1 的蛋白表达水平均显著降低 (P 均 <0.05); 与心梗组比较, Que 组大鼠 $\pm dp/dt_{max}$ 、LVSP、MAP 均显著升高, LVEDP、HMI、LVMI 均显著降低, 心肌组织病理损伤明显减轻, 胶原纤维增生减少, 心肌组织 AI 显著降低, caspase-3、Bax、p62 的蛋白表达水平均显著降低, Bcl-2、Sirt1、LC3-II /LC3-I、Beclin-1 的蛋白表达水平均显著升高 (P 均 <0.05)。EX527 则显著抑制 Que 对心梗大鼠的改善作用, 逆转 Que 对心梗大鼠凋亡蛋白和自噬蛋白的调控作用 (P 均 <0.05)。**结论:** Que 可能通过上调 Sirt1 表达, 促进心肌细胞自噬, 抑制心肌细胞凋亡, 减轻大鼠心梗后心室重构。

【关键词】 槲皮素; 沉默信息调控因子 1; 心肌梗死; 心室重构; 细胞凋亡; 自噬

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2022.03.008

Quercetin alleviates ventricular remodeling after myocardial infarction by up regulating sirt1 CHEN Kai, DONG Jing, ZHAO Xuefei Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000

【Abstract】 Objective: To investigate the effect and mechanism of quercetin (Que) on ventricular remodeling after myocardial infarction (MI). **Methods:** The MI rat model was established and randomly divided into model group (MI group), Que group, EX527 (Sirt1 inhibitor) group and Que+EX527 group, with 10 rats in each group. The other 10 rats were set as sham operation group. Each group was treated with corresponding drugs, the hemodynamic indexes and cardiac quality parameters of the rats were detected. Morphology of rat myocardium was observed by HE staining, and the fibrosis of rat myocardium was observed by Masson staining. The apoptosis of rat cardiomyocytes was detected by TUNEL staining, and the expression levels of Sirt1 protein, apoptotic protein and autophagy protein in rat myocardium were detected by western blot. **Results:** Compared with sham group, the maximal left ventricular pressure

基金项目:陕西省科技厅重点研发项目 (2020SF-277)

作者单位:712000 咸阳, 陕西中医药大学第二附属医院心内科

通信作者:赵学飞, E-mail: 251669799@qq.com

increase rate during systolic period ($+dp/dt_{max}$) and the maximal decrease rate during diastolic period ($-dp/dt_{max}$), left ventricular systolic pressure (LVSP), mean arterial pressure (MAP) in MI group were significantly decreased, while the left ventricular end diastolic pressure (LVEDP), heart mass index (HMI) and left ventricular mass index (LVMI) in MI group were significantly increased. There were obvious pathological damage and a large number of collagen fiber hyperplasia in myocardial tissue in MI group. The level of apoptosis index (AI), and the expression levels of caspase-3, Bax and p62 of myocardial tissue in MI group were significantly increased, and the expression levels of Bcl-2, Sirt1, LC3-II / LC3-I and Beclin-1 of myocardial tissue in MI group were significantly decreased (all $P < 0.05$). Compared with MI group, $\pm dp/dt_{max}$, LVSP, MAP in Que group were significantly decreased, while LVEDP, HMI and LVMI in Que group were significantly increased. Myocardial pathological injury and collagen fiber proliferation were significantly decreased in Que group. The level of AI, and the expression levels of caspase-3, Bax and p62 protein in Que group were significantly decreased, and the expression levels of Bcl-2, Sirt1, LC3-II / LC3-I and Beclin-1 protein in Que group were significantly increased (all $P < 0.05$). EX527 significantly inhibited the improvement of Que on MI rats and reversed the regulation of Que on apoptotic protein and autophagy protein in MI rats ($P < 0.05$). **Conclusion:** Que promotes autophagy and inhibits cardiomyocyte apoptosis by up-regulating Sirt1 expression to reduce ventricular remodeling after MI in rats.

【Keywords】 Quercetin; Silent information regulatory factor 1; Myocardial infarction; Ventricular remodeling; Apoptosis; Autophagy

心肌梗死（心梗）是全球范围内心血管疾病患者死亡的主要原因之一^[1]。心室重构是发生于心梗急性期的一种代偿机制，是导致左心室扩张和心力衰竭的主要原因^[2-3]。减轻心梗后不良心室重构是改善心梗患者预后的有效途径。沉默信息调控因子 1（Sirt1）是一种组蛋白去乙酰化酶。研究发现，外周血中 Sirt1 与心室重构程度呈负相关^[4]，提示 Sirt1 在预测和治疗心肌梗死、延缓心室重构等方面具有良好的应用前景。槲皮素（Que）是一种黄酮醇类化合物，具有抗炎、抗氧化、抗癌、扩张冠状动脉（冠脉）、增加冠脉血流量等生物活性，对癌症、心血管疾病的防治具有重要价值。已有研究证实，Que 可通过上调 Sirt1 的表达，降低心肌缺血再灌注微血管的通透性^[5]。本研究旨在观察 Que 对心梗后心室重构的影响及对 Sirt1 的调控作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

SPF 级 SD 雄性大鼠 60 只，8 周龄，体质量 220~250 g。饲养于适宜环境，室温（ 22 ± 3 ）℃，湿度 50%~70%，12 h/12 h 光 / 暗循环，标准饲料喂养，自由饮水、进食。动物适应性饲养 7 d 后用于实验研究。Que（纯度 $\geq 98\%$ ）购于上海阿拉丁生化科技公司；Sirt1 抑制剂 EX527 购于上海源叶生物公司；苏木精 - 伊红（HE）染色试剂盒、

Masson 三色染色试剂盒购于碧云天生物技术研究；原位末端转移酶标记技术（TUNEL）凋亡检测试剂盒购于南京凯基生物科技有限公司；兔抗 Sirt1、胱天蛋白酶 -3（caspase-3）、B 淋巴细胞瘤 -2 蛋白（Bcl-2）、B 淋巴细胞瘤 -2 相关蛋白（Bax）、微管相关蛋白轻链 3（LC3）、Beclin-1、p62 抗体，鼠抗 β -actin 抗体，辣根过氧化物酶（HRP）标记的山羊抗兔 IgG 二抗，HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 二抗购于美国 Abcam 公司；增强化学发光反应液购于北京中源合聚生物科技有限公司。

1.2 大鼠心梗模型建立及实验分组

所有大鼠称量并记录体质量，用 1% 戊巴比妥钠（50 mg/kg）腹腔注射麻醉，仰卧位固定，剪开大鼠颈部皮肤，分离气管后行气管插管，连接小动物呼吸机机械通气，于大鼠左胸部皮肤后第 4 肋间处横切打开胸腔，暴露心脏，剪开心包，在肺动脉圆锥与左心耳交界下方 2 mm 处用 6-0 手术线穿线结扎左前降支，观察大鼠左心室前壁心肌变苍白，术后 24 h 大鼠心电图 ST 段弓背向上抬高或 T 波高耸表明心梗大鼠模型建立成功。将造模成功的大鼠随机分为心梗组、Que 组、EX527 组、Que+EX527 组，每组 12 只。另取 12 只大鼠设为假手术组，假手术组同上述操作，但只穿线不结扎左前降支。术后给予所有大鼠青霉素 1 000 U 预防感染。

1.3 给药方法

Que 组大鼠尾静脉注射 10 mg/kg Que, EX527 组大鼠尾静脉注射 1 mg/kg EX527, Que+EX527 组大鼠尾静脉注射 10 mg/kg Que 和 1 mg/kg EX527, 心梗组和假手术组大鼠尾静脉注射同等剂量的生理盐水。每天 1 次,连续给药 6 周。

1.4 大鼠血流动力学指标测定

末次给药结束 12 h 后,称量大鼠体质量,1%戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 腹腔注射麻醉,分离左侧颈总动脉,将内径约 1 mm、充有肝素-生理盐水的导管逆行插入左心室,连接四导生理记录仪,稳定 20 min 后测量压力曲线,计算左室内压最大上升速率 (+dp/dtmax)、左室内压最大下降速率 (-dp/dtmax)、左室收缩压 (LVSP) 和左室舒张末期压力 (LVEDP),同时测量计算平均动脉压 (MAP)。

1.5 标本采集和心脏质量参数测定

血流动力学测定后,收集大鼠颈动脉血液样本,3 000 g 离心 10 min,分离并收集血清,储存于 -80 °C 冰箱中备用。采血结束后,经插管向大鼠左心室推注 10% 氯化钾溶液 2~3 mL,使大鼠心脏停搏于舒张期,迅速打开胸腔取出心脏,用预冷生理盐水冲洗,滤纸吸干,称量心脏质量;沿房室环剪去左右心房和右心室,称量左心室 (包括室间隔) 质量,计算心脏质量指数 (HMI)、左心室质量指数 (LVMI)。HMI=心脏质量/体质量, LVMI=左心室质量/体质量。

1.6 HE 染色观察大鼠心肌组织病理形态学变化

大鼠左室心肌组织固定于 4% 多聚甲醛,常规处理后石蜡包埋,制成厚度为 5 μ m 的石蜡切片,根据 HE 染色试剂盒说明书,用苏木精和伊红染液染色,光学显微镜下观察组织形态学变化。

1.7 Masson 染色观察大鼠心肌组织纤维化

取大鼠石蜡切片,脱蜡至水,用 Weigert 氏铁苏木精染液染色 10 min,盐水酒精分化 10 s,蒸馏水洗 1 min,丽春红酸性品红染色 5 min,2% 冰醋酸水溶液浸洗、1% 磷钼酸水溶液分化 3 min,苯胺蓝复染 5 min,依次水洗、脱水、二甲苯透明,封片后光学显微镜下观察染色结果,其中心肌细胞被染成红色,胶原纤维被染成蓝色。

1.8 TUNEL 染色检测大鼠心肌细胞凋亡

取大鼠石蜡切片,脱蜡至水,加入蛋白酶 K 溶液消化组织蛋白,磷酸缓冲液 (PBS) 漂洗后,加入 TUNEL 反应液 50 μ L,37 °C 孵育 60 min,加入

抗荧光素抗体,DAB 显色,随后苏木素复染,脱水、透明、封片,显微镜下观察细胞凋亡情况,光镜下凋亡细胞核呈绿色,正常细胞核呈蓝色,计算细胞凋亡指数 (AI),AI=凋亡细胞数/总细胞数 \times 100%。

1.9 Western blot 法检测大鼠心肌组织中 Sirt1 蛋白、凋亡蛋白及自噬蛋白表达

取大鼠左室心肌组织,加入蛋白裂解缓冲液裂解提取总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度。取 50 μ g 蛋白上样,用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离,然后转移到 PVDF 膜上,室温下将膜与含 5% 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液混合封闭 2 h,加入一抗 (Sirt1、caspase-3、Bcl-2、Bax、LC3、Beclin-1、p62、 β -actin) 稀释液 (1 : 1 000),4 °C 孵育过夜,加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (1 : 3 000) 或山羊抗鼠 IgG (1 : 3 000) 二抗,室温下孵育 2 h,增强化学发光反应液显影,分析蛋白条带图。目的蛋白相对表达量=目的蛋白条带值/ β -actin 条带值。

1.10 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数 \pm 标准差表示,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 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Que 改善大鼠心梗后血流动力学指标

与假手术组比较,心梗组大鼠 \pm dp/dtmax、LVSP、MAP 均显著降低,LVEDP 显著升高 (P 均 <0.05);与心梗组比较,Que 组大鼠 \pm dp/dtmax、LVSP、MAP 均显著升高,LVEDP 显著降低 (P 均 <0.05),EX527 组大鼠 \pm dp/dtmax、LVSP、MAP、LVEDP 均无显著变化;与 Que 组比较,Que+EX527 组大鼠 \pm dp/dtmax、LVSP、MAP 均显著降低,LVEDP 显著升高 (P 均 <0.05)。见表 1。

2.2 Que 改善大鼠心梗后心脏质量参数

与假手术组比较,心梗组大鼠 HMI、LVMI 均显著升高 (P 均 <0.05);与心梗组比较,Que 组大鼠 HMI、LVMI 均显著降低 (P 均 <0.05),EX527 组大鼠 HMI、LVMI 均无显著变化;与 Que 组比较,Que+EX527 组大鼠 HMI、LVMI 均显著升高 (P 均 <0.05)。见表 2。

表1 各组大鼠心梗后血流动力学指标比较 ($n=10$)

组别	+dp/dtmax/mmHg · s ⁻¹	-dp/dtmax/mmHg · s ⁻¹	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	MAP/mmHg
假手术组	1157.62±116.41	563.15±55.40	104.29±11.64	4.69±1.05	118.56±12.30
心梗组	542.58±56.94 ⁽¹⁾	345.27±36.71 ⁽¹⁾	74.63±8.42 ⁽¹⁾	26.39±4.76 ⁽¹⁾	86.37±8.19 ⁽¹⁾
Que组	859.35±86.47 ⁽²⁾	426.38±40.46 ⁽²⁾	93.15±9.36 ⁽²⁾	13.83±2.58 ⁽²⁾	106.25±10.65 ⁽²⁾
EX527组	557.19±56.44	341.79±36.55	73.81±8.29	27.33±4.52	88.15±8.54
Que+EX527组	712.53±73.28 ⁽³⁾	382.50±38.76 ⁽³⁾	81.52±8.65 ⁽³⁾	18.36±3.12 ⁽³⁾	95.61±9.51 ⁽³⁾

注：与假手术组比较，⁽¹⁾ $P<0.05$ ；与心梗组比较，⁽²⁾ $P<0.05$ ；与Que组比较，⁽³⁾ $P<0.05$

表2 各组大鼠心梗后心脏质量参数比较 ($n=10$)

组别	HMI/mg · g ⁻¹	LVMI/mg · g ⁻¹
假手术组	2.35±0.36	2.08±0.19
心梗组	4.38±0.44 ⁽¹⁾	3.42±0.31 ⁽¹⁾
Que组	2.95±0.30 ⁽²⁾	2.65±0.25 ⁽²⁾
EX527组	4.33±0.45	3.37±0.33
Que+EX527组	3.31±0.33 ⁽³⁾	2.97±0.30 ⁽³⁾

注：与假手术组比较，⁽¹⁾ $P<0.05$ ；与心梗组比较，⁽²⁾ $P<0.05$ ；与Que组比较，⁽³⁾ $P<0.05$

2.3 Que改善大鼠心梗后心肌组织病理形态学变化

假手术组大鼠心肌细胞排列整齐，形态结构完整，心肌纤维呈束状排列，结构均匀，细胞间质无明显水肿和结缔组织增生；心梗组和 EX527 组大鼠心

肌细胞排列紊乱，大量变性坏死，细胞间隙增宽，心肌纤维断裂，细胞间质水肿充血，可见较多结缔组织增生及炎性细胞浸润；Que 组和 Que+EX527 组大鼠心肌细胞排列较为整齐，心肌纤维基本完整，部分心肌纤维断裂，细胞间质水肿减轻，结缔增生组织减少，少量炎性细胞浸润，心肌组织损伤明显减轻，且 Que 组大鼠心肌组织损伤改善较 Que+EX527 组明显。见图 1。

2.4 Que改善大鼠心梗后心肌组织纤维化

假手术组大鼠心肌细胞间质有少量胶原纤维，胶原组织分布较少；心梗组和 EX527 组大鼠心肌组织存在大量胶原纤维增生，心肌纤维化严重；Que 组和 Que+EX527 组大鼠心肌组织胶原纤维增生减少，心肌纤维化改善，且 Que 组大鼠心肌纤维化改善较 Que+EX527 组明显。见图 2。

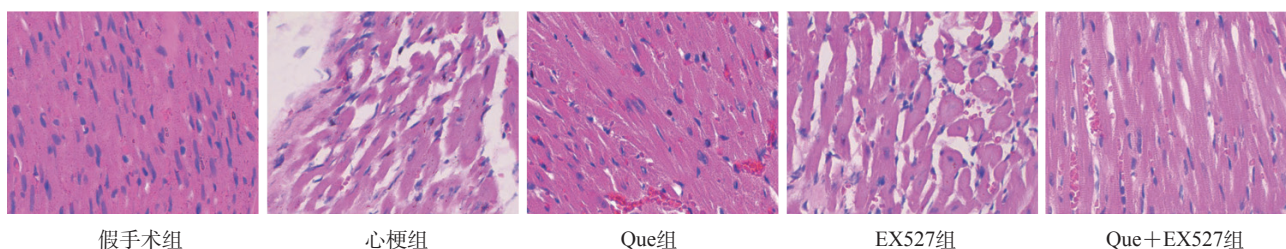


图1 各组大鼠心梗后心肌组织病理形态学变化 (HE染色, ×400)

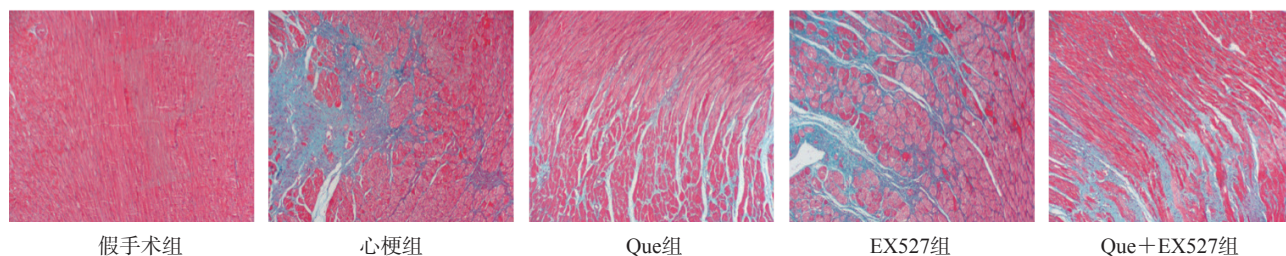


图2 各组大鼠心梗后心肌组织纤维化情况 (Masson染色, ×100)

2.5 Que抑制大鼠心梗后心肌组织细胞凋亡

与假手术组比较，心梗组大鼠心肌组织 AI 及

caspase-3、Bax 的蛋白表达水平显著升高，Bcl-2 蛋白表达水平显著降低 (P 均 <0.05)；与心梗组比

较, Que 组大鼠心肌组织 AI 及 caspase-3、Bax 的蛋白表达水平均显著降低, Bcl-2 的蛋白表达水平显著升高 (P 均 <0.05), EX527 组大鼠心肌组织 AI 及 caspase-3、Bax、Bcl-2 的蛋白表达水平均无

显著变化;与 Que 组比较, Que+EX527 组大鼠心肌组织 AI 及 caspase-3、Bax 的蛋白表达水平均显著升高, Bcl-2 的蛋白表达水平显著降低 (P 均 <0.05)。见图 3、图 4、表 3。

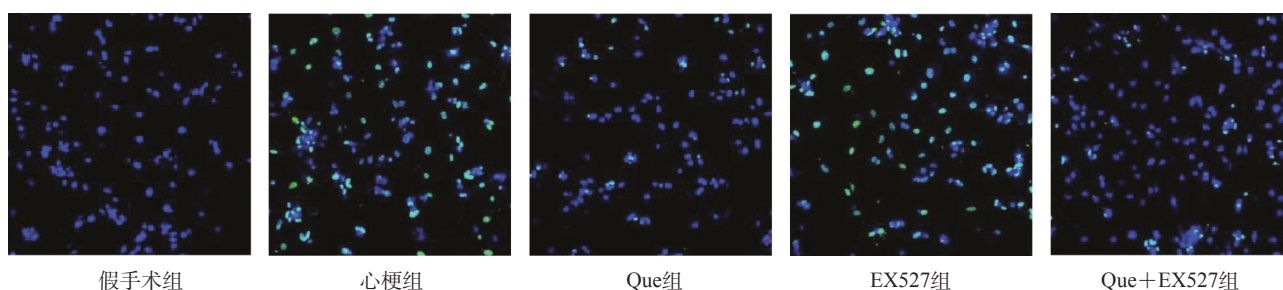


图3 各组大鼠心梗后心肌组织细胞TUNEL染色情况

表3 各组大鼠心梗后心肌组织细胞凋亡指数及凋亡蛋白表达水平比较 ($n=10$)

组别	AI/%	caspase-3	Bax	Bcl-2
假手术组	4.68±0.65	0.12±0.01	0.16±0.02	0.98±0.10
心梗组	31.57±3.10 ⁽¹⁾	0.73±0.07 ⁽¹⁾	0.64±0.06 ⁽¹⁾	0.32±0.03 ⁽¹⁾
Que组	13.06±1.15 ⁽²⁾	0.23±0.02 ⁽²⁾	0.25±0.02 ⁽²⁾	0.60±0.06 ⁽²⁾
EX527组	30.87±3.02	0.70±0.07	0.65±0.06	0.34±0.03
Que+EX527组	19.74±2.21 ⁽³⁾	0.35±0.03 ⁽³⁾	0.30±0.03 ⁽³⁾	0.42±0.04 ⁽³⁾

注: 与假手术组比较, ⁽¹⁾ $P<0.05$; 与心梗组比较, ⁽²⁾ $P<0.05$; 与Que组比较, ⁽³⁾ $P<0.05$

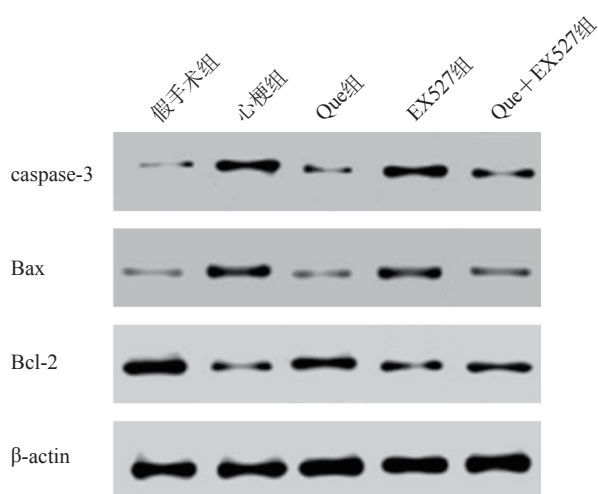


图4 各组大鼠心梗后心肌组织细胞凋亡蛋白表达情况

2.6 Que上调大鼠心梗后心肌组织中Sirt1蛋白表达并调控自噬蛋白表达

与假手术组比较, 心梗组大鼠心肌组织 Sirt1 的蛋白表达水平, 自噬蛋白 LC3-II /LC3-I、Beclin-1 的蛋白表达水平均显著下调, p62 的蛋白表达水平显著上调 (P 均 <0.05);与心梗组比较, Que 组大鼠心肌组织 Sirt1、LC3-II /LC3-I、Beclin-1 的蛋白表

达水平均显著上调, p62 的蛋白表达水平显著下调 (P 均 <0.05), EX527 组大鼠心肌组织 Sirt1 蛋白和自噬蛋白的表达水平均无显著变化;与 Que 组比较, Que+EX527 组大鼠心肌组织 Sirt1、LC3-II /LC3-I、Beclin-1 的蛋白表达水平均显著上调, p62 的蛋白表达水平显著下调 (P 均 <0.05)。见图 5、表 4。

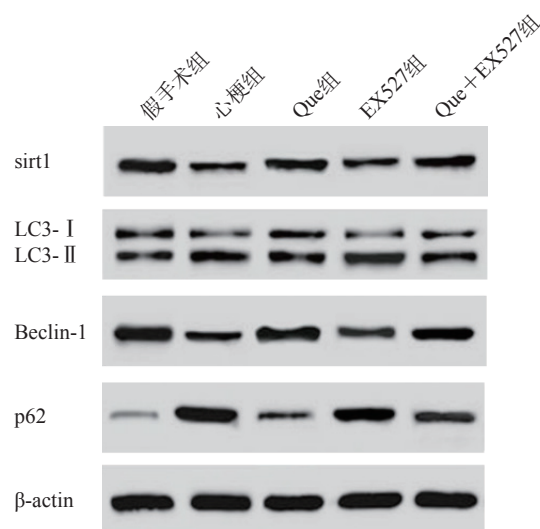


图5 各组大鼠心梗后心肌组织Sirt1蛋白及自噬蛋白表达情况

表4 各组大鼠心梗后心肌组织Sirt1蛋白及自噬蛋白表达水平比较 (n=10)

组别	Sirt1	LC3-II/LC3-I	Beclin-1	p62
假手术组	0.89±0.09	0.72±0.07	0.97±0.10	0.14±0.01
心梗组	0.35±0.03 ⁽¹⁾	0.32±0.03 ⁽¹⁾	0.39±0.04 ⁽¹⁾	0.71±0.07 ⁽¹⁾
Que组	0.68±0.07 ⁽²⁾	0.53±0.05 ⁽²⁾	0.77±0.08 ⁽²⁾	0.25±0.03 ⁽²⁾
EX527组	0.37±0.04	0.31±0.03	0.40±0.04	0.69±0.07
Que+EX527组	0.57±0.06 ⁽³⁾	0.43±0.04 ⁽³⁾	0.61±0.06 ⁽³⁾	0.42±0.04 ⁽³⁾

注：与假手术组比较，⁽¹⁾P<0.05；与心梗组比较，⁽²⁾P<0.05；与Que组比较，⁽³⁾P<0.05

3 讨论

心室重构是心梗后心力衰竭进展的决定性因素，在缺血性损伤的过程中，缺血心肌和远处非梗死心肌发生进行性左心室重构，包括心肌细胞凋亡、肥大和纤维化等，使得心室功能持续下降，严重影响患者心功能^[6-7]。本研究结果显示，心梗后大鼠左心收缩和舒张功能明显受损，表现为心梗组大鼠 $\pm dp/dt_{max}$ 、LVSP、MAP明显下降，LVEDP明显升高，这与文献报道结果一致^[8]。Que作为一种具有广泛生物活性的天然化合物，被证实在心肌缺血再灌注损伤和心肌梗死等多种心血管疾病中对心肌细胞具有保护作用^[9-10]。在本研究中，Que可以有效改善心梗后左心室收缩和舒张功能，还能够减轻心梗大鼠左心室重构和心肌组织病理损伤，这对于改善心梗后不良预后具有重要意义。

心梗引起心肌组织损伤后，心肌细胞外基质增生，诱导心肌纤维化发生，而心肌纤维化可加重心室重构，降低心脏顺应性，增加心源性猝死风险^[11-12]。相关研究报道，血管紧张素受体奈普利蛋白酶抑制剂LCZ696通过减少心肌纤维化，减轻心梗后的心脏重构和功能障碍^[13]，提示改善心肌纤维化有助于减轻心梗后心室重构。本实验显示，心梗大鼠心肌组织存在大量胶原纤维增生，经过Que干预后，心梗大鼠心肌组织胶原纤维增生明显减少，表明Que能够有效抑制心肌纤维化，这与既往研究结果一致^[14]。

心肌细胞凋亡是心梗后心室重构的重要机制之一，抑制心肌细胞凋亡可以减轻心室重构，改善心功能。Hou等^[15]报道，心肌细胞二甲基精氨酸二甲胺水解酶1通过调节细胞内氧化应激水平和细胞凋亡，减轻心梗后左心室重构。Wang等^[16]研究发现，过表达精氨酸甲基转移酶4可促进心肌细胞凋亡，加重心梗后的心室重构。上述结果均提示心肌细胞凋亡与心梗后心室重构关系密切。本研究结果显示，心梗大鼠心肌组织存在大量细胞凋亡，AI明显升高，Que干预显著降低心梗大鼠心

肌细胞凋亡，提示Que可抑制心肌细胞凋亡。Li等^[17]研究表明，Que可以通过调控凋亡相关蛋白Bcl-2、Bax和caspase-3的水平，抑制心肌细胞凋亡，进而发挥心肌保护作用。本研究进一步检测凋亡相关蛋白Bax、Bcl-2和caspase-3的表达，发现在心梗大鼠模型中，Que可显著下调caspase-3和Bax蛋白表达，显著上调Bcl-2蛋白表达，证实Que可通过调控凋亡蛋白表达，抑制心梗后大鼠心肌细胞凋亡，进而减轻心梗后心室重构。

自噬是维持细胞内环境稳态的生理过程。多项研究表明，自噬激活可作为适应性机制，应对缺血性心脏病引起的心力衰竭^[18-19]。Sciarretta等^[20]报道，海藻糖诱导的自噬激活可改善心梗后的心室重构，提示自噬激活是减轻心室重构和心功能障碍的有效策略。LC3是自噬体形成的关键蛋白，有I型和II型之分，LC3-II/LC3-I的比值与自噬呈正相关；Beclin-1被称为自噬基因，主要作用是调节自噬过程；p62是自噬选择性底物，自噬-溶酶体通路可调控其降解，该降解过程是通过与LC3相互作用实现的，p62表达水平与自噬呈负相关^[21]。本研究结果显示，心梗大鼠心肌组织中LC3-II/LC3-I、Beclin-1蛋白表达水平明显下降，p62蛋白表达水平明显升高，而Que能够显著上调LC3-II/LC3-I、Beclin-1的蛋白表达水平，显著下调p62的蛋白表达水平，提示Que通过激活心梗大鼠心肌细胞自噬，改善心梗后的心室重构。

Sirt1作为一种去乙酰化酶，可通过调控相应蛋白的去乙酰化，在细胞代谢、细胞凋亡、自噬等生物学过程中发挥重要作用。Luo等^[22]研究报道，Sirt1通过促进细胞自噬、抑制缺氧诱导的细胞凋亡保护心肌细胞免受缺氧应激的损伤。Pires等^[23]研究结果显示，Sirt1通过促进真核细胞延伸因子2激酶(eEF2K)/真核细胞延伸因子2(eEF2)依赖的自噬，保护心脏免受内质网应激诱导的损伤，表明Sirt1通过调控自噬和细胞凋亡保护心肌组织。

本研究结果显示, Que 显著上调梗大鼠心肌组织中 Sirt1 的表达水平, 提示 Que 可能通过调控 Sirt1 发挥心脏保护作用。因此, 本研究采用 Sirt1 抑制剂 EX527 干预梗大鼠, 结果发现, EX527 显著降低 Que 对梗大鼠心功能、左室重构、心肌损伤、心肌纤维化及心肌细胞凋亡的改善作用, 且显著逆转 Que 对梗大鼠心肌凋亡蛋白和自噬蛋白表达的调控作用, 提示 Que 可能是通过上调 Sirt1, 激活自噬, 抑制凋亡, 改善大鼠梗后的心室重构。

综上所述, 本研究证实 Que 通过影响 Sirt1 表达, 调控自噬和抑制凋亡, 改善梗后的心室重构, 这为 Que 治疗梗后心室重构提供了依据。

参 考 文 献

- [1] Tibaut M, Mekis D, Petrovic D. Pathophysiology of myocardial infarction and acute management strategies[J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2017, 14(3):150-159.
- [2] Schirone L, Forte M, Palmerio S, et al. A review of the molecular mechanisms underlying the development and progression of cardiac remodeling[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017:3920195.
- [3] Ushakov A, Ivanchenko V, Gagarina A. Regulation of myocardial extracellular matrix dynamic changes in myocardial infarction and postinfarct remodeling[J]. *Curr Cardiol Rev*, 2020, 16(1):11-24.
- [4] Wang Y, Hu HF, Liu HL, et al. Using ultrasound three-dimensional speckle tracking technology to explore the role of SIRT1 in ventricular remodeling after myocardial infarction[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(20):10632-10645.
- [5] 刘振华, 张艳红, 董杰, 等. 槲皮素通过上调SIRT1降低心肌缺血/再灌注微血管通透性[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(4):644-651.
- [6] Fujisue K, Sugamura K, Kurokawa H, et al. Colchicine improves survival, left ventricular remodeling, and chronic cardiac function after acute myocardial infarction[J]. *Circ J*, 2017, 81(8):1174-1182.
- [7] Yu Y, Sun J, Liu J, et al. Ginsenoside Re preserves cardiac function and ameliorates left ventricular remodeling in a rat model of myocardial infarction[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2020, 75(1):91-97.
- [8] He J, Lu Y, Song X, et al. Inhibition of microRNA-146a attenuated heart failure in myocardial infarction rats[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(12):BSR20191732.
- [9] Lu L, Ma X, Zheng J, et al. Quercetin for myocardial ischemia reperfusion injury: a protocol for systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(26):e20856.
- [10] Albadrani GM, Binmowyna MN, Bin-Jumah MN, et al. Quercetin protects against experimentally-induced myocardial infarction in rats by an antioxidant potential and concomitant activation of signal transducer and activator of transcription 3[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2020, 71(6):875-890.
- [11] 张蕾, 段文慧, 刘剑刚, 等. 西洋参赤芍配伍对大鼠心肌梗死后早期心室重构心肌纤维化的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(4):430-437.
- [12] Gao R, Shi H, Chang S, et al. The selective NLRP3-inflammasome inhibitor MCC950 reduces myocardial fibrosis and improves cardiac remodeling in a mouse model of myocardial infarction[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74:105575.
- [13] vonLueder TG, Wang BH, Kompa AR, et al. Angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 attenuates cardiac remodeling and dysfunction after myocardial infarction by reducing cardiac fibrosis and hypertrophy[J]. *Circ Heart Fail*, 2015, 8(1):71-78.
- [14] Min Z, Yangchun L, Yuquan W, et al. Quercetin inhibition of myocardial fibrosis through regulating MAPK signaling pathway via ROS[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2019, 32(3 Special):1355-1359.
- [15] Hou L, Guo J, Xu F, et al. Cardiomyocyte dimethylarginine dimethylaminohydrolase1 attenuates left-ventricular remodeling after acute myocardial infarction: involvement in oxidative stress and apoptosis[J]. *Basic Res Cardiol*, 2018, 113(4):28.
- [16] Wang Y, Ju C, Hu J, et al. PRMT4 overexpression aggravates cardiac remodeling following myocardial infarction by promoting cardiomyocyte apoptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 520(3):645-650.
- [17] Li C, Wang T, Zhang C, et al. Quercetin attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways[J]. *Gene*, 2016, 577(2):275-280.
- [18] Zhang X, Wang Q, Wang X, et al. Tanshinone II A protects against heart failure post-myocardial infarction via AMPKs/mTOR-dependent autophagy pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112:108599.
- [19] Riquelme JA, Chavez MN, Mondaca-Ruff D, et al. Therapeutic targeting of autophagy in myocardial infarction and heart failure[J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2016, 14(9):1007-1019.
- [20] Sciarretta S, Yee D, Nagarajan N, et al. Trehalose-induced activation of autophagy improves cardiac remodeling after myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(18):1999-2010.
- [21] Zhang X, Lv S, Zhang W, et al. Shenmai injection improves doxorubicin cardiotoxicity via miR-30a/Beclin 1[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 139:111582.
- [22] Luo G, Jian Z, Zhu Y, et al. Sirt1 promotes autophagy and inhibits apoptosis to protect cardiomyocytes from hypoxic stress[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(5):2033-2043.
- [23] Pires DJ, Monceaux K, Guilbert A, et al. SIRT1 protects the heart from ER stress-induced injury by promoting eEF2K/eEF2-dependent autophagy[J]. *Cells*, 2020, 9(2):426.

(收稿:2021-09-07 修回:2022-03-02)

(本文编辑:胡晓静)