DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.02.023

电针预处理调控NLRP3/TRIF/Beclin 1信号通路改善大鼠心肌缺血再灌注损伤

贺丽丽,姜春宏,刘顺畅,白桦,顾一煌,李开平
(南京中医药大学,江苏 南京 210000)

摘要:目的 观察电针预处理对心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia-reperfusion injury,MIRI)大鼠心功能、心肌损伤相关指标及自噬水平的影响,探讨电针预处理改善心肌缺血再灌注损伤的可能机制,进一步发挥中医"治未病"思想指导临床实践的优势。方法 将60只雄性SD大鼠随机分为5组:假手术组、模型组、电针组、电针+生理盐水组、电针+激动剂组,每组12只。大鼠结扎左冠状动脉前降支30 min再灌注4 h建立I/R模型。电针组、电针+生理盐水组、电针+激动剂组于"内关"行电针干预,每次20 min,1次/d,连续4 d;电针+激动剂组在每次电针前30 min于腹腔注射NLRP3受体激动剂尼日利亚菌素钠盐Nigericin(1 mg/kg);电针+生理盐水组在每次电针前30 min于腹腔注射生理盐水,剂量同激动剂组。采用超声心动图观察造模后4h后大鼠左心室射血分数(left ventricular ejection fraction,LVEF)、左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening,LVFS)评估心功能;ELISA法检测血清中炎性因子白细胞介素-6(IL-6)水平;苏木素-伊红(HE)染色法观察大鼠心肌组织形态;实时荧光定量PCR(RT-qPCR)和Western blot法检测NLRP3、Beclin 1、TRIF、Caspase-1、LC3、IL-18 mRNA和蛋白表达。结果 与假手术组相比,模型组大鼠LVEF、LVFS值明显降低($P<0.05$),心肌纤维排列紊乱、结构模糊、有大片炎性浸润,心肌组织中IL-6水平及NLRP3、TRIF、Beclin 1、LC3 mRNA和蛋白等指标含量均升高($P<0.05$);与模型组相比,电针组大鼠LVEF、LVFS明显升高($P<0.05$),心肌纤维断裂减轻,少量炎性细胞浸润,心肌组织中IL-6水平、NLRP3 mRNA及蛋白表达均降低($P<0.05$),TRIF、Beclin 1、LC3 mRNA和蛋白含量均升高($P<0.05$);与电针组相比,电针+生理盐水组LVEF、LVFS及心肌组织中IL-6水平及NLRP3、TRIF、Beclin 1、LC3 mRNA和蛋白含量均无明显变化($P>0.05$),而电针+激动剂组大鼠LVEF、LVFS明显降低($P<0.05$),心肌结构异常,有明显的组织纤维化和炎性浸润,心肌组织中IL-6水平、NLRP3 mRNA及蛋白表达均升高($P<0.05$),TRIF、Beclin 1、LC3 mRNA和蛋白含量均降低($P<0.05$)。结论 电针预处理可通过调控自噬水平减轻I/R大鼠心肌损伤,其机制可能与NLRP3/TRIF/Beclin 1信号通路有关,对中医疗法防治心肌缺血再灌注损伤有一定指导意义。

关键词:电针预处理;心肌缺血再灌注损伤;自噬;NLRP3;Beclin 1
中图分类号:R245.97 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)02-0100-09

Electroacupuncture Preconditioning Regulates NLRP3/TRIF/Beclin 1 Signaling Pathway to Improve Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats

HE Lili,JIANG Chunhong,LIU Shunchang,BAI Hua,GU Yihuang,LI Kaiping
(Nanjing University of Chinese Medicine,Nanjing 210000,Jiangsu,China)

Abstract:*Objective* To observe the effects of electroacupuncture(EA) preconditioning on cardiac function,myocardial injury related indexes and autophagy level in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury(MIRI),and to explore the possible mechanism of electroacupuncture preconditioning in improving MIRI. *Methods* Sixty male SD rats were randomly divided into five groups:sham operation group,model group,EA group,EA+saline group and EA+agonist group,with 12 rats in each group. The I/R model was established by ligation of left anterior descending coronary artery for 30 min and reperfusion for 4 h in rats. The EA group,EA+saline group and EA+agonist group were treated with EA intervention at Neiguan(PC6) for 20 min,once a day for successive 4 days. In EA+agonist group,nigericin(1 mg/kg),an agonist of NLRP3 receptor,was injected intraperitoneally 30 min before each EA. In EA+saline group,saline was injected into abdominal cavity 30 min before each EA,and the dose was the same as that in agonist group. The echocardiography was used to observe left ventricular ejection fraction(LVEF) and left ventricular fractional shortening(LVFS) of rats 4 hours after modeling to evaluate cardiac function. Serum levels of IL-6 were de-

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81974583)
作者简介:贺丽丽(1999-),女,陕西商洛人,医师,硕士,研究方向:中医养生治未病的基础与研究。
通讯作者:李开平(1967-),男,安徽马鞍山人,副教授,硕士研究生导师,博士,研究方向:中医养生治未病的基础与研究。E-mail:lkp67@163.com。

tected by ELISA. HE staining was used to observe the myocardial tissue morphology of rats. The mRNA and protein expressions of NLRP3, Beclin 1, TRIF, Caspase - 1, LC3 and IL - 18 were detected by RT - qPCR and Western blot. *Results* Compared with those of the sham operation group, the values of LVEF and LVFS in the model group were significantly decreased ($P < 0.05$), and the myocardial fibers were disordered, with vague structure and large inflammatory infiltration. The level of IL - 6 and the contents of NLRP3, TRIF, Beclin 1, LC3 mRNA and protein in the myocardial tissue were all increased ($P < 0.05$). Compared with those of the model group, the myocardial fiber breakage was reduced and a small amount of inflammatory cells infiltrated. In the EA group, the values of LVEF and LVFS were significantly increased ($P < 0.05$), the level of IL - 6 and the expressions of NLRP3 mRNA and protein in myocardial tissue were all decreased ($P < 0.05$), while the contents of TRIF, Beclin 1 and LC3 mRNA and protein were all increased ($P < 0.05$). Compared with those of the EA group, the levels of IL - 6 and the contents of NLRP3, TRIF, Beclin 1, LC3 mRNA and protein and the values of LVEF and LVFS in the EA + saline group had no obvious changes ($P > 0.05$). In the EA + agonist group, the myocardial structure of rats was abnormal, with obvious tissue fibrosis and inflammatory infiltration, and the values of LVEF and LVFS in rats were obviously decreased ($P < 0.05$). The level of IL - 6 and the expressions of NLRP3 mRNA and protein in myocardial tissue decreased ($P < 0.05$), while the contents of TRIF, Beclin 1 and LC3 mRNA and protein increased ($P < 0.05$). *Conclusion* EA preconditioning can alleviate myocardial injury in I/R rats by regulating autophagy level, and its mechanism may be related to activating NLRP3/TRIF/Beclin 1 signal pathway.

Keywords: electroacupuncture pretreatment; myocardial ischemia - reperfusion injury; autophagy; NLRP3; Beclin 1

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是世界范围内心血管疾病的主要死亡原因之一[1]。目前,临床上最有效的治疗策略是通过经皮冠状动脉介入治疗或者溶栓疗法以重建血运,但再灌注会对心肌造成巨大损伤,即心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia - reperfusion injury, MIRI)[2]。MIRI 发生的主要病理机制多且复杂,主要有自噬、氧化应激、炎症、凋亡和线粒体功能障碍等因素[3],其中自噬途径至关重要。自噬在 MIRI 中具有双面作用,适度活化的自噬可以清除或再次利用缺血缺氧后受损的细胞器,但若过度激活,可能会引发细胞凋亡,从而加剧细胞损伤[4]。因此心肌再灌注期间适度激活自噬可能成为减轻细胞损伤潜在的治疗靶点。课题组前期研究显示,针灸可上调缺血期自噬水平而抑制再灌注期的自噬水平,但具体机制仍需进一步探讨。

有研究显示,炎症在调控自噬水平中发挥重要作用。NLRP3 炎症小体是目前 NOD 样受体家族研究最成熟的一员,含 TIR 结构域的转接蛋白(TIR - domain - contains adapteror protein include IFN - β, TRIF)是触发自噬反应的重要蛋白之一[5-6]。NLRP3/TRIF/Beclin 1 信号通路是调控细胞自噬水平的重要通路之一,在维持细胞稳态中发挥着重要作用[7]。本研究通过建立 I/R 大鼠模型,探讨电针预处理通过 NLRP3/TRIF/Beclin 1 信号通路对 I/R 大鼠心肌自噬水平的调控作用及心肌损伤的保护作用,以期为临床治疗 I/R 心肌损伤提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 清洁级雄性 SD 大鼠 60 只,购自上海必凯科翼生物科技有限公司,体质量(240 ± 10)g,生产许可证号:SCXK(沪)2018 - 0006,饲养于南京中医药大学 SPF 级实验动物中心,昼夜节律为 12 h 光照/12 h 黑暗,自由饮食,室温(25 ± 2)℃,湿度(50 ± 5)%,适应性饲养 1 周。按照随机数字表法将其分为假手术组、模型组、电针组、电针加生理盐水组、电针加激动剂组,每组 12 只。实验过程中对动物的处置符合《关于善待实验动物的指导性意见》中相关规定。

1.2 主要仪器与试剂 主要仪器:小动物呼吸机、异氟烷麻醉机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);MYLAB 多普勒超声仪(意大利 ESAOTE);显微镜(日本 OLYMPUS);病理切片机(德国 LEICA);电泳仪、电泳槽(美国 BIO - RAD);电子天平(瑞士 METTERAE100);韩氏电针仪(南京济生医疗科技有限公司);华佗牌一次性不锈钢针灸针(苏州医疗用品厂有限公司);实时荧光定量 PCR 仪(美国 StrataGene 公司),高速离心机(德国 Eppendorf 公司),酶标仪(美国 BIOTEK),化学发光成像系统(上海天能),PowerPac 电泳仪(美国 Bio - rad)。

主要试剂:异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司),RIPA 裂解液(上海碧云天生物技术有限公司),BCA 蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司),NLRP3 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司),Beclin 1 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司),TRIF 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司),LC3 Ⅰ/Ⅱ抗体(武汉三鹰生物技术有限公司),NLRP3 受体激动剂尼日利亚菌素钠盐(美国 MedChemExpress 公司)。

1.3 模型制备 使用目前较为成熟的在体 MIRI 模型[8]:采用冠状动脉左前降支结扎法复制 MIRI 大鼠模型:5% 异氟烷快速麻醉大鼠后,1% ~2% 的浓度维持,使其仰卧位于加热实验板[(37 ± 3)℃]上,气管插管后接呼吸机机械通气(呼吸频率为 65 ~ 70 次/min,潮气量为 1.0 mL/100 mg)。打开胸腔暴露心脏,用 6 - 0 的丝线将冠状动脉左前降支与一软管共同结扎,缺血 30 min 后剪开,行再灌注。逐层缝合,关闭胸腔,关闭呼吸机并拔掉气管插管,清除呼吸道分泌物。以结扎线下端心脏表面变紫绀或灰白为造模成功标志,心电图显示 ST 段弓背向上抬高为造模成功标志。假手术组仅穿线不结扎。

1.4 干预方法 电针组:于造模前进行 4 d 的电针预处理,"内关"定位参照《实验针灸学》[9]大鼠穴位图谱。采用 0.18 mm × 13 mm 一次性不锈钢毫针,双侧"内关"直刺 2 ~ 3mm,接韩氏电针仪,采用疏密波,频率 2 Hz/100 Hz,强度 2 mA,电针 20 min,1 次/d,连续 4 d,电针干预 4 d 结束后,第 5 天进行 MIRI 模型制备。

电针加激动剂组:在每次电针干预前 30 min 于腹腔注射 NLRP3 受体激动剂尼日利亚菌素钠盐(1 mg/kg)[10],大鼠麻醉及电针干预方法、时间同电针组,第 5 天进行 MIRI 模型制备。

电针加生理盐水组:给予与电针组相同浓度、时间的异氟烷维持麻醉和固定,在每次电针干预前 30 min 予生理盐水,剂量同激动剂组,大鼠麻醉及电针干预方法、时间同电针组,第 5

天进行 MIRI 模型制备。

假手术组、模型组常规饲养，予等时长和方式的抓取、固定。

1.5 观察指标及检测方法 超声心动检测大鼠心功能变化情况：大鼠麻醉后仰卧位固定于手术台，连接超声心动图机，测量大鼠左室射血分数（left ventricular ejection fraction，LVEF）、左室短轴缩短率（left ventricular fractional shortening，LVFS）。

ELISA 法检测各组大鼠心肌组织白细胞介素 -6（IL-6）含量：严格按照 ELISA 试剂盒使用说明进行标准品的制备、加样及孵育，经酶标仪测得吸光度值，依据样品标准曲线图计算各组大鼠心肌组织 IL-6 含量。

苏木素 - 伊红（HE）染色法观察大鼠心肌组织形态：心肌组织切片经二甲苯脱蜡，梯度乙醇水化，苏木素 - 伊红染色后，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片，在光学显微镜下观察记录大鼠心肌组织形态变化，并采集图像。

Western blot 法测定梗死区心肌组织中 NLRP3、TRIF、Beclin 1、LC3 蛋白表达：根据蛋白提取试剂盒提取总蛋白并用 BCA 法将蛋白定量。然后将等量的蛋白质经 SDS - 聚丙烯酰胺凝胶电泳后电转移到 PVDF 膜上。然后加入一抗 NLRP3（1∶2000），TRIF（1∶2000），Beclin 1（1∶2000），LC3（1∶2000），GAPDH（1∶5000），4℃孵育过夜。孵育结束后用 TBST 将膜清洗 5 次 ×5 min。加入二抗，摇床常温孵育 2 h，TBST 洗膜 5 次 ×5 min。化学发光试剂显影，以 GAPDH 蛋白作为内参。以条带灰度值作为蛋白表达量的定量标准，采用 Image - J 软件分析目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值并得出相对表达量。

RT - qPCR 法检测心肌组织中 NLRP3、Beclin 1、Caspase - 1、LC3、IL - 18 基因表达：取 -80 ℃冻存的组织标本剪碎，将 TRIzol 试剂加入放有组织的试管中进行组织匀浆后加入 200 μL 氯仿快速震荡 30s 室温孵育离心，取水相，异丙醇沉淀，乙醇清洗，弃上清，晾干沉淀后溶解。用超微紫外可见分光光度计测定浓度和纯度，反转录后进行 PCR 扩增，以 GAPDH 作为内参对照。PCR 引物序列见下表 1。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列（5 - 3）
NLRP3	F：TGTTGTCAGGATCTCGCA
	R：AGTGAAGTAAGGCCGGAAT
Beclin 1	F：GGCGGCTCCTATTCCATCAA
	R：TGAGGACACCCAAGCAAGAC
Caspase - 1	F：CAGATGCCAACCACTGAA
	R：CATGATTCCCAACACAGGT
LC3	F：TCCAAAAGGCTCTGGCT
	R：GCTGAATCCTGGGGTGT
IL - 18	F：AACGAATCCCAGACCAGAC
	R：AGAGGGTAGACATCCTTCCAT
GAPDH	F：GTTACCAGGGCTGCCTTCTC
	R：GATGGTGATGGGTTTCCCGT

1.6 统计学处理 数据使用 SPSS 26.0 软件分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。当数据符合正态分布及方差齐性检验时，组间比较使用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法。以 $P \leqslant 0.05$ 作为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组大鼠超声心动图 LVEF、LVFS 比较 再灌注 4 h 后心超结果显示，与假手术组比较，模型组 LVEF、LVFS 均降低（$P < 0.01$）。与模型组比较，电针组、电针 + 生理盐水组 LVEF、LVFS 均升高（$P < 0.01$）电针 + 激动剂组 LVEF、LVFS 均升高（$P < 0.01$）。与电针组相比，电针 + 激动剂组 LVEF、LVFS 均降低（$P < 0.01$），电针 + 生理盐水组 LVEF、LVFS 均升高，但差异无统计学意义（$P > 0.05$）。见插页 X 图 1。

2.2 各组大鼠心肌组织病理切片形态学比较 光镜下假手术组心肌结构正常，未见水肿、组织纤维化及炎性浸润；模型组心肌结构整体异常，心肌纤维排列紊乱，可见明显炎症细胞浸润；电针组、电针 + 生理盐水组心肌结构基本正常，未见明显心肌纤维肿胀断裂，少量炎症细胞浸润；电针 + 激动剂组心肌结构整体异常，心肌纤维排列紊乱，大量炎症细胞浸润。见插页 XI 图 2。

2.3 各组大鼠心肌组织 IL - 6 水平比较 再灌注 4 h 后，与假手术组相比，模型组 IL - 6 水平显著升高（$P < 0.01$）。与模型组比较，电针组、电针 + 生理盐水组 IL - 6 水平均下降（$P < 0.01$）。与电针组相比，电针 + 激动剂组 IL - 6 水平降低（$P < 0.01$）。见插页 X 图 3。

2.4 各组大鼠心肌组织 NLRP3、Beclin 1、Caspase - 1、LC3、IL - 18 mRNA 表达比较 由插页 XII 图 4 可知，与假手术组比较，模型组大鼠心肌组织 NLRP3、Beclin 1、Caspase - 1、LC3、IL - 18 mRNA 表达均显著上升（$P < 0.05$）；与模型组比较，电针组心肌组织 NLRP3、Caspase - 1、IL - 18 mRNA 表达均明显下降（$P < 0.05$），Beclin 1、LC3 mRNA 表达均明显上升（$P < 0.05$）；与电针组相比，电针 + 生理盐水组心肌组织 NLRP3、Beclin 1、Caspase - 1、LC3、IL - 18 mRNA 表达差异无统计学意义（$P > 0.05$），电针 + 激动剂组心肌组织 NLRP3、Caspase - 1、IL - 18 mRNA 表达明显上升（$P < 0.05$），Beclin 1、LC3 mRNA 表达明显下降（$P < 0.05$）。

2.5 各组大鼠心肌组织 NLRP3、TRIF、Beclin 1、LC3 蛋白表达比较 与假手术组比较，模型组大鼠心肌组织 NLRP3、TRIF、Beclin 1、LC3 蛋白表达均显著上升（$P < 0.05$）；与模型组比较，电针组心肌组织 NLRP3 蛋白表达明显下降（$P < 0.01$），TRIF、Beclin 1、LC3 蛋白表达均明显上升（$P < 0.01$）；与电针组相比，电针 + 生理盐水组心肌组织 NLRP3、TRIF、Beclin 1、LC3 蛋白表达无显著性差异（$P > 0.05$），电针 + 激动剂组心肌组织 NLRP3 蛋白表达明显上升（$P < 0.05$），TRIF、Beclin 1、LC3 蛋白表达均明显下降（$P < 0.05$）。见插页 XIII 图 5。

3 讨论

中医学中 MIRI 属“胸痹”“厥心痛”等范畴，其主要病机是心脉痹阻[11]。古代医家最多选用针刺疗法治疗心胸疾病。早在《灵枢》有云：“上工，刺其未生者也；其次，刺其未盛者也；其次，刺其已衰者也”。针刺预处理便是源于中医治未病思想。治未病思想提倡以疾病为参照，因人制宜，选择合适的干预治疗方法，重在“防治结合”，预防疾病发生，促进疾病康复[12]。针刺疗法作为中国传统医学特色疗法之一，更侧重于治未病思想中防微杜渐和既病防变这两方面，因其安全、无创伤、无不良反应、可操作性强等优点[13]成为现代医学的研究热点。大量研究表明针刺可以减轻冠心病症状，增强心肌缺血耐受性，阻止冠状动脉粥样硬化，以及减轻缺血再灌注损伤，保护缺血心肌[14]。依据“经脉所过，主治所及”的理论，内关穴是手厥阴心包经之络穴，主要有宁心安神，理气止痛之效，是预防

和治疗心胸疾病的常用穴位[15]。目前现代大量的临床研究结果也显示:电针内关穴可明显降低 LDH/CK－MB 含量,减少心肌梗死面积,降低大鼠 TLR4、MyD88 及 NF－KB mRNA 的表达,抑制细胞凋亡,保护心肌[16]。本研究超声心动图结果表明,电针预处理后大鼠 LVEF、LVFS 水平升高,表明电针预处理能够增强左室舒张及收缩能力,改善大鼠心功能。IL－6 水平和 HE 染色结果反映了心肌炎性反应及受损程度,结果发现电针预处理后 IL－6、IL－18 含量降低,提示电针预处理可以抑制再灌注后心肌炎性反应的扩大,对保护心肌有一定作用。

心肌 I/R 损伤的特征是复杂信号和分子级联的动态变化。再灌注会引发大量凋亡细胞的积累,破坏心肌的稳态,造成恶性循环,加剧心肌损伤[17]。自噬作为一种高度保守的分解代谢过程,是清除凋亡细胞和受损细胞器的重要途径,在维持细胞内环境稳态方面起着重要作用[18]。有研究表明[19],通过抑制 miR－490－3p 可促进 LC3 的表达,增加自噬体,缩小梗死范围。此外,虫草素可通过 AMPK－mTOR 途径诱导自噬,减少心肌梗死面积和细胞凋亡,改善心功能[20]。本课题组前期研究发现,电针预处理内关穴可减轻心肌组织中线粒体损伤,调控自噬水平,保护心肌,其机制主要与促进 MIRI 后急性促炎期向抗炎修复期平衡和快速转化有关,以及与减轻 MIRI 大鼠心肌细胞的焦亡程度有关[21－23]。本实验结果表明,相较于模型组,电针组大鼠心肌组织中 Beclin 1 和 LC3 的表达显著升高,提示电针预处理可以上调心肌组织中的自噬水平,从而减轻 MIRI 损伤。因此,自噬也可能是 I/R 损伤中的一种保护机制,I/R 期诱导一定水平的自噬可发挥心肌保护作用。

自噬的调节是复杂的,由许多受体介导,包括 Toll 样受体(TLRS)和 NOD 样受体(NLR)家族成员[24]。与自噬密切相关的还有酵母自噬基因 6(ATG6)的同源物 Beclin1,它可以和 TRIF 相互作用,介导自噬体的形成。LC3 作为线粒体外膜上的自噬标记蛋白,在外界刺激下,LC3I 变为 LC3Ⅱ,自噬被激活,标志着自噬体形成[25]。因此,LC3Ⅱ是衡量自噬水平的重要指标。JABIR M S 等[26]发现 NLRP3 炎症小体能够抑制自噬的原因是通过 NLRP3 炎症小体激活的 caspase－1 对信号分子 TRIF 的切割,TRIF 信号分子的减少导致 NLRP3/TRIF 信号通路诱导的自噬减少。上述证实 TLR 衔接分子 TRIF 的裂解是自噬和炎症小体之间负调控的分子机制,TRIF 起自噬激动剂的作用,TLR 信号增强复合体中 Beclin 1 的表达相应升高,从而促进自噬。此外,在神经炎症巨噬细胞和小胶质细胞中,长链非编码 RNA(lnc RNAs)诱导 TRIF 裂解以抑制自噬[27]。LincRNA－Cox2 的敲除减弱了 NLRP3 炎症小体中 Caspase－1 的激活,增加了 TRIF 介导的自噬,促进了自噬蛋白 Beclin1 和 LC3 的表达[28]。为了验证激活 NLRP3 通路对自噬的影响,本研究设立了电针＋激动剂组,通过查阅相关文献[29],选择了认可度较高的 NLRP3 激动剂(Nigericin),实验结果显示,电针＋激动剂组中 NLRP3、Caspase－1 表达显著升高,相应的 TRIF、Beclin1 和 LC3 的表达下降,自噬水平下调,表明在 I/R 期间自噬水平受 NLRP3 炎症小体的影响。

综上所述,本研究提示电针预处理内关穴可以上调 I/R 期自噬水平,减少心肌梗死面积,改善心功能,其机制可能是通过调节 NLRP3/TRIF/Beclin 1 通路,降低 NLRP3 炎症小体表达,上调 TRIF、Beclin1、LC3Ⅱ表达,进而促进细胞自噬实现心肌保护作用。但是目前尚不明确心肌再灌注期发挥保护效应的自噬水平区间,仍有待进一步研究。

参考文献

[1] ZOU J, FEI Q, XIAO H, et al. VEGF－A promotes angiogenesis after acute myocardial infarction through increasing ROS production and enhancing ER stress－mediated autophagy[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(10): 17690－17703.

[2] XING Y H, SUI Z H, LIU Y C, et al. Blunting TRPML1 channels protects myocardial ischemia/reperfusion injury by restoring impaired cardiomyocyte autophagy[J]. Basic Res Cardiol, 2022, 117(1): 20.

[3] CAI C, GUO Z Z, CHANG X, et al. Empagliflozin attenuates cardiac microvascular ischemia/reperfusion through activating the AMPKα1/ULK1/FUNDC1/mitophagy pathway[J]. Redox Biol, 2022, 52: 102288.

[4] HE J,LIU D,ZHAO L,et,al. Myocardial ischemia/reperfusion injury: Mechanisms of injury and implications for management (Review)[J]. Exp Ther Med,2022, 23(6):430.

[5] SHEN S,WANG Z. Role of NLRP3 Inflammasome in Myocardial Ischemia－Reperfusion Injury and Ventricular Remodeling[J]. Med Sci Monit,2022 ,28:e934255.

[6] LI W J, FENG G S, GAUTHIER J M, et al. Ferroptotic cell death and TLR4/Trif signaling initiate neutrophil recruitment after heart transplantation[J]. J Clin Investig, 2019, 129(6): 2293－2304.

[7] RATHINAM VAK, VANAJA S K, WAGGONER L, et al. TRIF licenses caspase－11－dependent NLRP3 inflammasome activation by gram－negative bacteria[J]. Cell, 2012, 150(3): 606－619.

[8] 李言明, 刘晶, 张成成, 等. 一种改良的 SD 大鼠心肌缺血再灌注模型的建立[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(4): 413－417.

[9] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.

[10] SHAN W Y, LIAO X Y, TANG Y X, et al. Dexmedetomidine alleviates inflammation in neuropathic pain by suppressing NLRP3 via Nrf2 activation[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(4): 1046.

[11] 张艳琳, 吴松, 梁凤霞, 等. 标本配穴电针预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞自噬的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(10): 5956－5961.

[12] 郭月圆, 尹海燕. 针灸治未病研究现状与展望[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(11): 6592－6594.

[13] 张燚格, 何妙赢, 柳冬冬, 等. 电针预处理内关穴对心肌缺血再灌注大鼠自噬调控基因和自噬微管相关蛋白轻链 3 表达的影响[J]. 陕西中医, 2022, 43(12): 1677－1681.

[14] 杜琳. 电针、艾灸预处理对心肌缺血/再灌注损伤大鼠心肌细胞自噬和凋亡的影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2018.

[15] 孙珂, 吴嘉宏, 徐森磊, 等. 电针“内关”穴对急性心肌缺血大鼠心功能及穴区炎性因子的影响[J]. 中国针灸, 2021, 41(11): 1249－1255.

[16] 朱怡, 李毅, 张楠, 等. 电针预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠“内关”穴区 Toll 样受体 4、髓样分化因子 88 及核转录因子－κB 基因表达的影响[J]. 针刺研究, 2018, 43(5): 302－306, 329.

[17] ZHANG J, HU S Y, GAO Y, et al. Galangin alleviated myocardial ischemia－reperfusion injury by enhancing autophagic flux and inhibiting inflammation[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 945: 175621.

[18] CAO Z R, WANG Y H, LONG Z M, et al. Interaction between autophagy and the NLRP3 inflammasome[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2019, 51(11): 1087－1095.

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.02.024

运动联合赤芍对非酒精性脂肪肝大鼠模型的治疗作用

贾媛媛[1],曲艺[1],白剑[2],王正东[1],田伟[1]
(1.沈阳医学院,辽宁 沈阳 110034;2.辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847)

摘要:目的 研究运动联合赤芍改善大鼠非酒精性脂肪肝病的作用。方法 将大鼠分为空白对照组、模型组、运动组、赤芍组和运动联合赤芍组,除空白对照组外其余各组均给与高脂饮食持续喂养4周后,检测大鼠体质量和肝脏重量;检测血浆中丙氨酸转氨酶(ALT)、天门冬氨酸转氨酶(AST)、甘油三酯(TC)、总胆固醇(TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)、游离脂肪酸(FFA)和瘦素(LP)的浓度。结果 高脂饮食连续喂养4周能形成非酒精性脂肪肝大鼠模型。赤芍组和运动联合赤芍组中ALT、AST、TC、TG、LDL-C和FFA明显低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$);赤芍组和运动联合赤芍组中HDL-C和LP明显高于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 运动联合赤芍对非酒精性脂肪肝具有治疗作用,可以通过降低ALT、AST、TC、TG、LDL-C和FFA,升高HDL-C和LP,降低血脂并改善肝脏功能。

关键词:赤芍;瘦素;游离脂肪酸;非酒精性脂肪肝病
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)02-0104-04

Therapeutic Effect of Exercise with Chishao(Paeoniae Radix Rubra) in Rats Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease

JIA Yuanyuan[1],QU Yi[1],BAI Jian[2],WANG Zhengdong[1],TIAN Wei[1]
(1. Shenyang Medical College,Shenyang 110034,Liaoning,China;
2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Shenyang 110032,Liaoning,China)

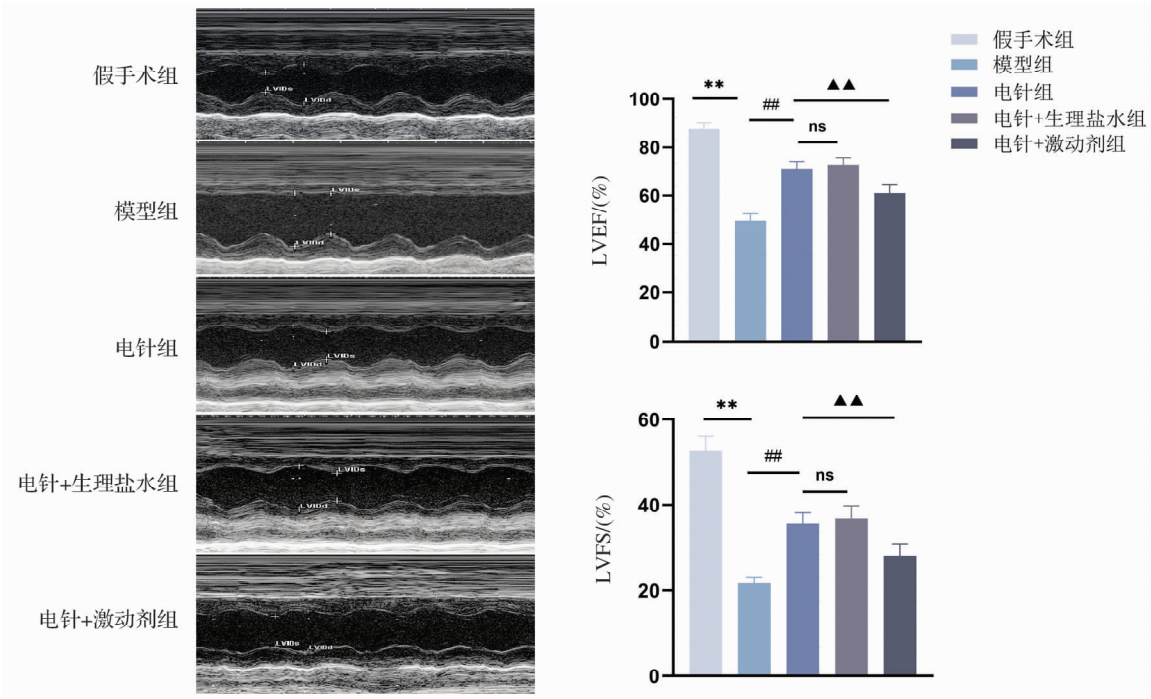
Abstract:*Objective* To investigate the therapeutic effect of exercise combined with Chishao(Paeoniae Radix Rubra) on the rat model of non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD). *Methods* Forty male rats were divided into the blank control group,the

基金项目:教育部产学合作协同育人项目(230828322107216,231005236194942);教育部供需对接项目(2023122730294);辽宁省教育厅基本科研项目(LJ212410164005)
作者简介:贾媛媛(1982-),女,辽宁大石桥人,讲师,硕士,研究方向:消化系统肿瘤。
通讯作者:田伟(1972-),男,辽宁沈阳人,副教授,博士,研究方向:消化系统肿瘤。E-mail:tianwei@symc.edu.cn。

[19] WU Y F, MAO Q, LIANG X L. Targeting the microRNA-490-3p-ATG4B-autophagy axis relieves myocardial injury in ischemia reperfusion[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2021, 14(1): 173-183.
[20] XU H. Cordycepin alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by enhancing autophagy via AMPK-mTOR pathway[J]. J Physiol Biochem,2022,78(2):401-413.
[21] 吴嘉宏, 孙珂, 刘雨晨, 等. 电针预处理对心肌缺血大鼠心肌TRPV1/CGRP通路及凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(1): 248-251.
[22] 吴嘉宏, 孙珂, 卢圣锋, 等. 电针预处理对急性心肌缺血大鼠心肌瞬时受体电位亚型1/降钙素基因相关肽信号及核因子-κB亚型p65蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2021, 46(1): 58-63.
[23] BAI H, GU R J, CHEN L Y, et al. Electroacupuncture interventions alleviates myocardial ischemia reperfusion injury through regulating gut microbiota in rats[J]. Microvasc Res, 2021, 138: 104235.
[24] LARABI A, BARNICH N, NGUYEN HTT. New insights into the interplay between autophagy, gut microbiota and inflammatory responses in IBD[J]. Autophagy, 2020, 16(1): 38-51.
[25] CHEN J J, HUANG Q X, LI J, et al. *Panax ginseng* against myocardial ischemia/reperfusion injury: a review of preclinical evidence and potential mechanisms[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 300: 115715.
[26] JABIR M S,RITCHIE N D,LI D,et,al. Caspase-1 cleavage of the TLR adaptor TRIF inhibits autophagy and β-interferon production during Pseudomonas aeruginosa infection[J]. Cell Host Microbe, 2014,15(2):214-227.
[27] LAI M Y, YAO H, SHAH S Z A, et al. The NLRP3-caspase 1 inflammasome negatively regulates autophagy via TLR4-TRIF in prion peptide-infected microglia[J]. Front Aging Neurosci, 2018, 10: 116.
[28] XUE Z,LIU H. lincRNA-Cox2 regulates NLRP3 inflammasome and autophagy mediated neuroinflammation[J]. Cell Death Differ, 2019,26(1):130-145.
[29] NIU W X, BAO Y Y, ZHANG N, et al. Dehydromevalonolactone ameliorates liver fibrosis and inflammation by repressing activation of NLRP3 inflammasome[J]. Bioorg Chem, 2022, 127: 105971.

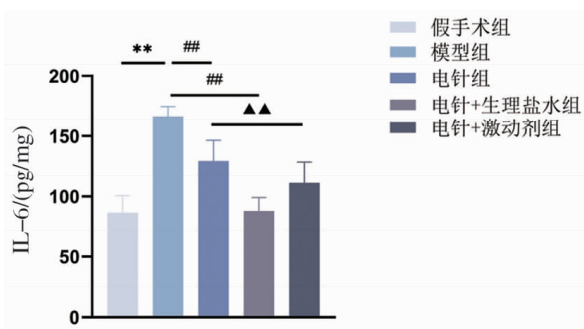
电针预处理调控 NLRP3/TRIF/Beclin 1 信号通路改善大鼠心肌缺血再灌注损伤

（正文见 100－104 页）



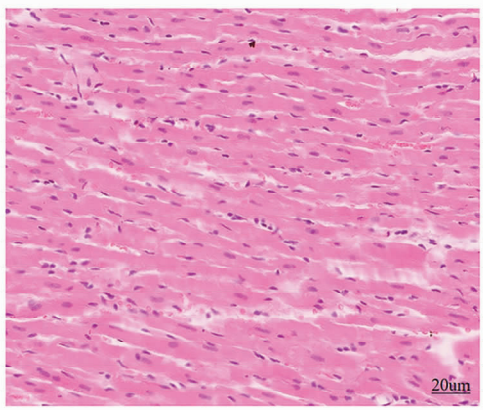
注：＊与假手术组比较，$P<0.05$；＊＊与假手术组比较，$P<0.01$；#与模型组比较，$P<0.05$；##与模型组比较，$P<0.01$；▲与电针组比较，$P<0.05$；▲▲与电针组比较，$P<0.01$。

图 1　各组大鼠超声心动图 LVEF、LVFS 比较（$n=6$）

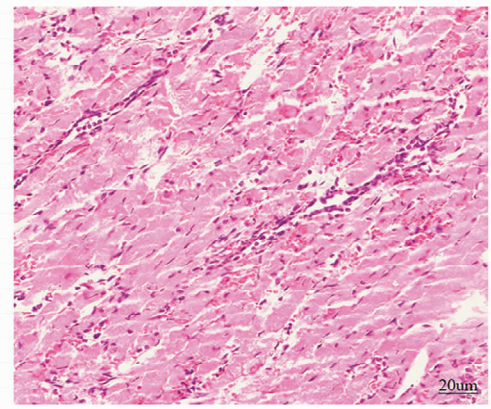


注：＊与假手术组比较，$P<0.05$；＊＊与假手术组比较，$P<0.01$；#与模型组比较，$P<0.05$；##与模型组比较，$P<0.01$；▲与电针组比较，$P<0.05$；▲▲与电针组比较，$P<0.01$。

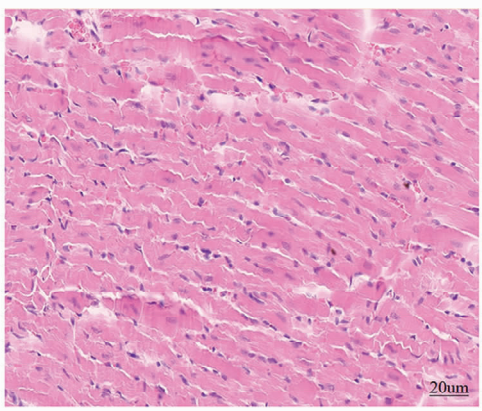
图 3　各组大鼠心肌组织 IL－6 水平比较（$n=5$）



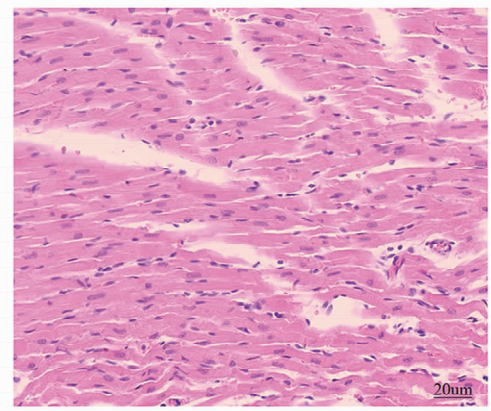
假手术组



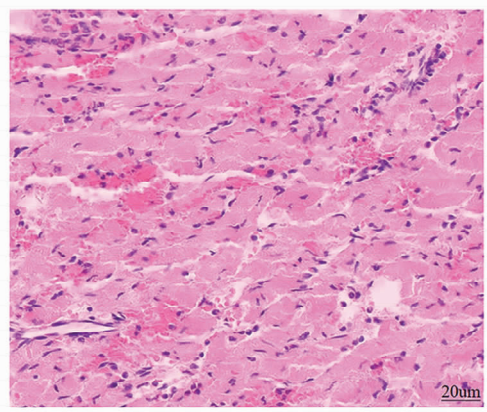
模型组



电针组

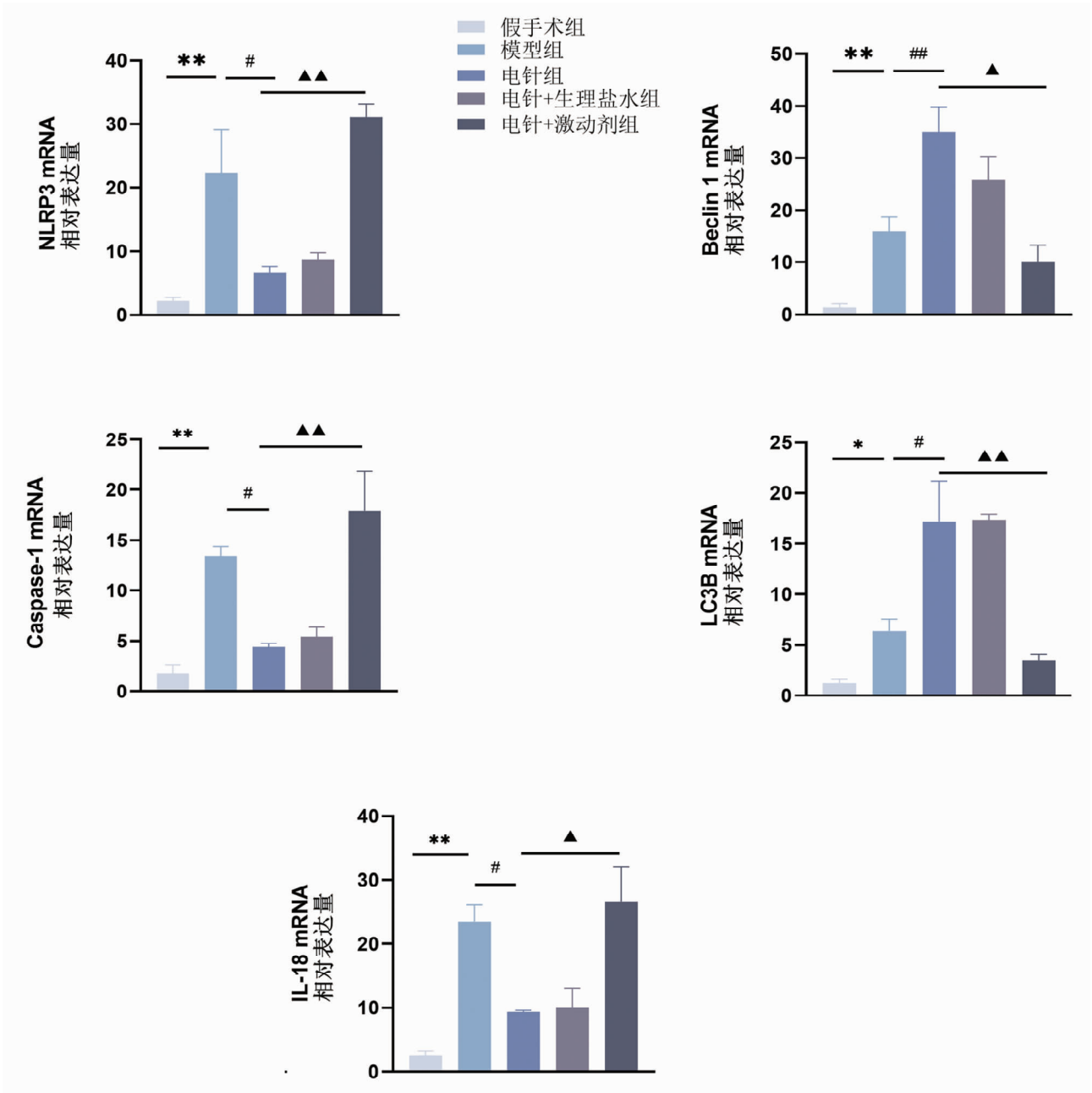


电针+生理盐水组



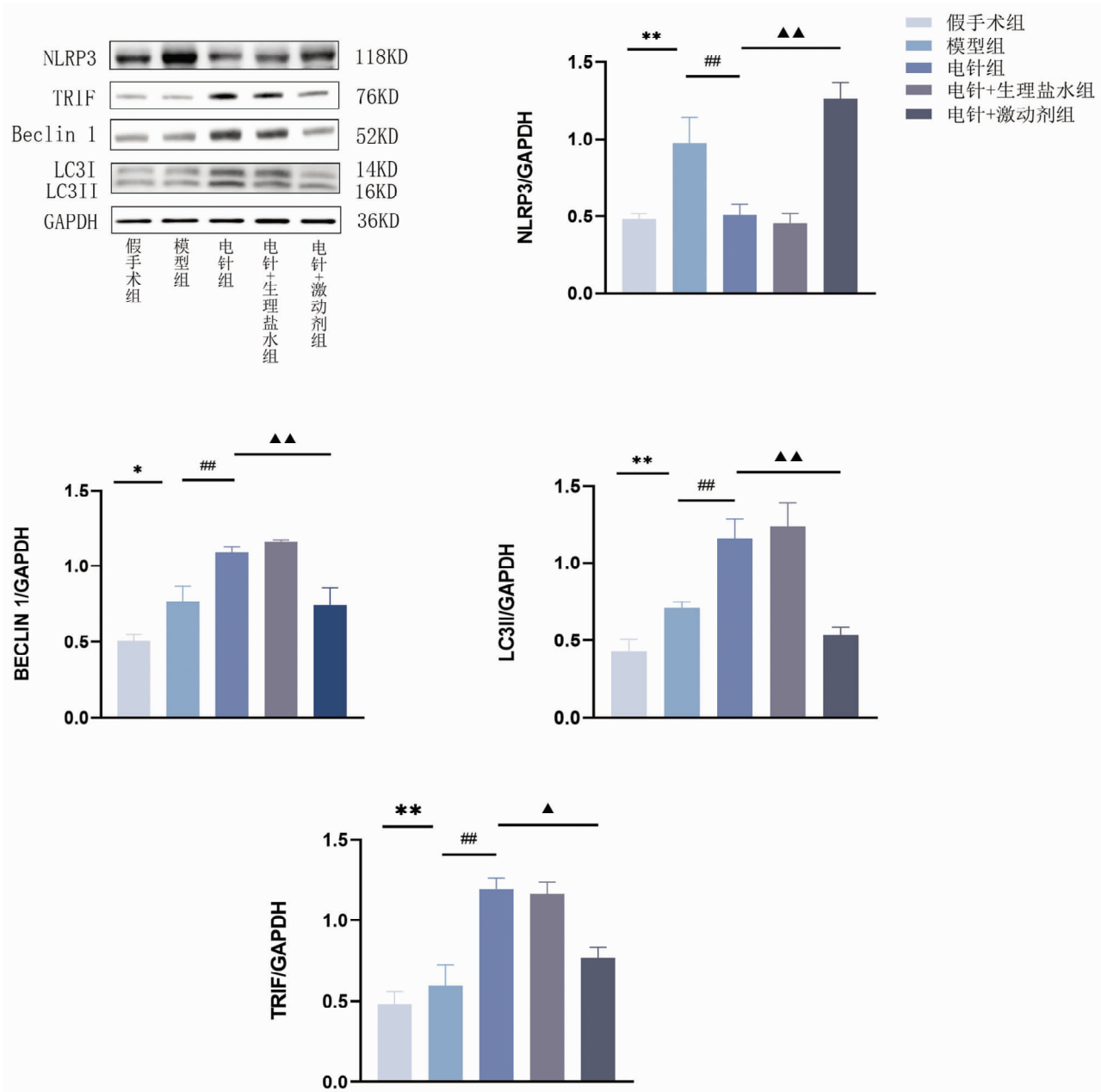
电针+激动剂组

图 2　各组大鼠心肌组织病理变化（$n=5$）



注：＊与假手术组比较，$P<0.05$；＊＊与假手术组比较，$P<0.01$；#与模型组比较，$P<0.05$；##与模型组比较，$P<0.01$；▲与电针组比较，$P<0.05$；▲▲与电针组比较，$P<0.01$。

图 4　各组大鼠心肌组织 NLRP3、Beclin 1、Caspase－1、LC3、IL－18 mRNA 表达比较（$n=3$）



注：＊与假手术组比较，$P<0.05$；＊＊与假手术组比较，$P<0.01$；#与模型组比较，$P<0.05$；##与模型组比较，$P<0.01$；▲与电针组比较，$P<0.05$；▲▲与电针组比较，$P<0.01$。

图 5　各组大鼠心肌组织 NLRP3、TRIF、Beclin 1、LC3 蛋白表达比较（$n=3$）