

网络出版时间:2022-7-28 14:12 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220727.1754.004.html

恩格列净上调沉默信息调节因子1减轻心肌缺血再灌注损伤

张帆,陈丽,曹旭东,赵春辉,陈小林

摘要 目的 探讨恩格列净(EMPA)在心肌缺血再灌注(MI/R)损伤中的作用及机制。方法 利用大鼠离体心脏缺血40 min再灌注2 h模型,40只雄性SD大鼠随机分为:对照组(Control)、MI/R组、2.5 mol/L EMPA + MI/R组(EMPA + MI/R)以及EMPA + 10 mol/L沉默信息调节因子1(SIRT1)抑制剂EX527 + MI/R组(EMPA + EX527 + MI/R),记录心脏功能、心肌纤维形态、心肌梗死面积,ELISA检测心肌中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和琥珀酸脱氢酶(SDH)活性,Western blot检测Cytochrome c、Cleaved caspase-3、SOD2、gp91^{phox}和SIRT1蛋白表达,DHE染色检测ROS的含量。结果 和对照组比较,MI/R组心脏功能降低,心肌纤维断裂,心肌梗死面积、Cytochrome c和Cleaved caspase-3以及gp91^{phox}表达、MDA含量均增加,而SOD和SDH活性以及SOD2和SIRT1表达减少,ROS含量增加;和MI/R组比较,EMPA + MI/R组能提高心脏功能,减轻心肌纤维断裂,降低心肌梗死面积、Cytochrome c、Cleaved caspase-3和gp91^{phox}表达以及MDA含量,并能增加SOD和SDH活性以及SOD2和SIRT1表达,同时降低ROS含量;然而,EX527可以逆转EMPA对MI/R心脏的保护作用。结论 EMPA激活SIRT1抑制线粒体氧化应激和细胞凋亡,减轻MI/R损伤。

关键词 恩格列净;缺血再灌注;沉默信息调节因子1;氧化应激;细胞凋亡

中图分类号 R 542

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)08-1195-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.08.004

缺血性心脏病是世界范围内严重危害人类健康的重要原因,再灌注治疗是挽救缺血心肌的关键^[1],然而再灌注损伤的存在极大限制了治疗效果,因此探讨心肌缺血再灌注(myocardial ischemia reperfusion, MI/R)损伤的发病机制,寻找有效的治疗方法一直是基础和临床研究的热点和难点。Sirtuins是一类高度保守的组蛋白去乙酰化酶家族,其中沉默信息调节因子1(silent information regulator,

SIRT1)在心血管系统中研究最为广泛^[2],在应激下调控心肌细胞的存活和生长;此外,SIRT1在缺血再灌注损伤中保护心肌细胞免受氧化应激和细胞凋亡的影响^[3]。

钠-葡萄糖协同转运蛋白2(sodium-glucose co-transporter 2, SGLT2)抑制剂如恩格列净(empagliflozin, EMPA)是一类新型的降糖物,选择性抑制肾近端小管SGLT2对葡萄糖的重吸收,降低血糖^[4]。EMPA还表现出了不依赖降糖的心血管保护功能,包括降低血压、血脂和尿酸,控制体质量和改善肾功能损伤等^[5]。EMPA-REG OUTCOME试验首次证实了EMPA具有心血管保护作用^[6]。因此,该研究拟采用离体心脏MI/R模型,探讨EMPA通过激活SIRT1信号改善非糖尿病大鼠MI/R中氧化应激和细胞凋亡的作用。

1 材料与方法

1.1 试剂与动物 EMPA和氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)购自美国Sigma公司;丙二醛(malonaldehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和琥珀酸脱氢酶(succinodehydrogenase, SDH)含量和活性检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;EX527购自美国Sigma公司,先用DMSO溶解后再用灌流液稀释;Cytochrome c、Cleaved caspase-3、SOD2、gp91^{phox}和SIRT1抗体购自美国Cell Signaling Technology公司;GAPDH、辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠和山羊抗兔二抗购自武汉三鹰生物技术有限公司;40只8周龄雄性SD大鼠购自南方科技大学实验动物中心,体质量约220 g,实验动物生产使用许可证:SYXK(粤)2017-0170,实验动物在标准环境下饲养,自由饮水、饮食,所有动物操作经南方科技大学实验动物伦理委员会同意,并严格按照标准实施。

1.2 Langendorff 离体心脏灌流和实验分组 采用以往离体心脏灌流的方法^[7],简述如下:2%异氟烷吸入式麻醉大鼠,固定在恒温手术台,快速暴露心脏并游离,将心脏固定在Langendorff主动脉逆行灌流管口,用Krebs-Henseleit(KH)液灌流20 min, KH液

2022-05-09 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:32070625)

作者单位:南方科技大学医院心内科,深圳 518055

作者简介:张帆,硕士,主治医师;

陈小林,教授,主任医师,责任作者, E-mail: biss7251@163.com

包含: 118 mmol/L NaCl、25 mmol/L NaHCO₃、4.75 mmol/L KCl、0.94 mmol/L KH₂PO₄、1.2 mmol/L MgSO₄、1.4 mmol/L CaCl₂、7 mmol/L Glucose、0.4 mmol/L oleate、1% 牛血清白蛋白、10 mU/ml 胰岛素, 维持 37 °C, pH 7.4; 将含有液体的球囊插入左室, 连接 Chart 8 数据采集系统, 监测左室压力变化, 调节球囊内液体使各组初始左室舒张末压为 0.67 kPa。实验随机分为: 对照组 (Control)、心肌缺血再灌注组 (MI/R)、EMPA 联合 MI/R 组 (EMPA + MI/R) 以及 EMPA 和 EX527 联合 MI/R 组 (EMPA + EX527 + MI/R); 心脏缺血 40 min, 再灌注 2 h, EMPA + MI/R 组再灌注开始前给予 2.5 mol/L EMPA 处理 10 min, EMPA + EX527 + MI/R 组再灌注开始前先给予 10 mol/L EX527 处理 5 min, 再给予 2.5 mol/L EMPA 处理 10 min。根据以往文献报道^[7] 确定 EMPA 的浓度。

1.3 心肌梗死面积的测量 实验结束后, 快速用干冰将心脏冰冻, 沿心脏纵轴将心脏切成约 2 mm 薄片, 将中间的一片放入 1% TTC 溶液中 37 °C 避光水浴 15 min, 再放入 4% 多聚甲醛中固定 2 d, 拍照后用 Image J 软件测量面积, 心肌梗死面积比例 = 白色区面积/总面积 100%。

1.4 心脏功能的记录 利用 Chart 8 数据采集系统 (AdInstruments) 记录左室压力 (Left ventricular pressure, LVP)、左室收缩峰压 (Left ventricular systolic peak pressure, LVSP) 和左室舒张末压 (left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP) 的变化, 比较各组 LVSP 和 LVEDP 数值的变化。

1.5 HE 染色 再灌注结束后, 取下心脏并浸泡在 4% 多聚甲醛中固定 2 d, 再采用脱水复蜡将各组心脏包埋制备成蜡块切片, 常规 HE 染色, 并在镜下拍照观察。

1.6 ELISA 检测 按照 MDA、SOD 和 SDH 试剂盒说明书的步骤, 提取心肌组织样品, 配制工作液和标准品, 并测定样品浓度, 根据标准曲线计算各组心肌组织中 MDA 含量, SOD 和 SDH 活性。

1.7 DHE 染色 再灌注结束后, 立即用 OCT 包埋剂将心脏包埋并切成薄片; 用浓度为 10 μmol/L 的 DHE 染液按照说明书步骤在 37 °C 水浴避光孵育 1 h, 利用激光共聚焦显微镜观察并保存各组 ROS 图像。

1.8 Western blot 检测蛋白表达 称量左室前壁部位心肌组织, 加 RIPA 裂解液和蛋白酶抑制剂在冰上研磨裂解 30 min, 低温高速离心机 26 000 r/min

4 °C 离心 20 min, 弃沉淀, 上清液中加入上样缓冲液, 金属浴煮 10 min, 分装并冻存于 -80 °C 冰箱; 经过聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 低温湿转, 将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜 (PVDF), 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 切膜并放入相应一抗 Cytochrome c、Cleaved caspase-3、SOD2、gp91^{phox}、SIRT1 和 GAPDH 中 4 °C 过夜; TBST 洗膜 6 次, 每次 5 min, 用相应 HRP 标记的二抗室温孵育 2 h, TBST 洗膜 6 次, 每次 5 min, ECL 化学发光, Image J 图像分析软件分析条带灰度, GAPDH 作为内参对照。

1.9 统计学处理 统计数据采用表示, 并用 Graph-Pad Prism 8.0 统计软件进行分析。各组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心脏结构和功能的比较 如图 1, Control 组大鼠心肌纤维排列有序, 心脏 LVSP 和 LVEDP 正常; MI/R 组大鼠心肌纤维出现断裂, LVSP 降低, LVEDP 升高, 与 Control 组比较, 差异有统计学意义 ($F = 134.7, P < 0.001$); EMPA + MI/R 组能改善心肌纤维排列, 减轻断裂, LVSP 增加, LVEDP 降低, 和 MI/R 组比较, 差异有统计学意义 ($F = 106.3, P < 0.001$); 而使用 SIRT1 抑制剂 EX527 后, 能逆转 EMPA 对心脏结构和功能的保护作用, 心肌纤维出现断裂, LVSP 降低, LVEDP 升高, 和 EMPA + MI/R 组比较, 差异有统计学意义 ($F = 142, P < 0.001$)。

2.2 各组大鼠心肌梗死面积和细胞凋亡的比较 如图 2, TTC 染色和 Western blot 结果表明: Control 组心肌组织梗死面积为 $(0.87 \pm 0.62)\%$, 凋亡蛋白 Cleaved caspase-3 和 Cytochrome c 蛋白表达量低; 与 Control 组比较, MI/R 组心肌梗死面积为 $(33.2 \pm 6.90)\%$, Cleaved caspase-3 和 Cytochrome c 蛋白表达增加 ($F = 116, P < 0.001$); 与 MI/R 组比较, EMPA + MI/R 组心肌梗死面积为 $(10.1 \pm 7.24)\%$, Cleaved caspase-3 和 Cytochrome c 蛋白表达降低 ($F = 91.6, P < 0.001$)。与 EMPA + MI/R 组比较, EMPA + EX527 + MI/R 组心肌梗死面积为 $(32.8 \pm 7.06)\%$, Cleaved caspase-3 和 Cytochrome c 蛋白表达量增加 ($F = 99.8, P < 0.001$)。

2.3 各组大鼠心肌 SIRT1、gp91^{phox} 和 SOD2 蛋白表达的比较 如图 3, Western blot 结果表明: 和 Control 组比较, MI/R 组心肌组织中 SIRT1 和 SOD2

蛋白表达降低, gp91^{phox} 蛋白表达增加 ($P < 0.01$); 和 MI/R 组比较, EMPA + MI/R 组心肌组织中 SIRT1 和 SOD2 蛋白表达增加, gp91^{phox} 蛋白表达降低 ($P <$

0.01); 而和 EMPA + MI/R 组比较, EMPA + EX527 + MI/R 组心肌组织中 SIRT1 和 SOD2 蛋白表达降低, gp91^{phox} 蛋白表达增加 ($P < 0.01$)。

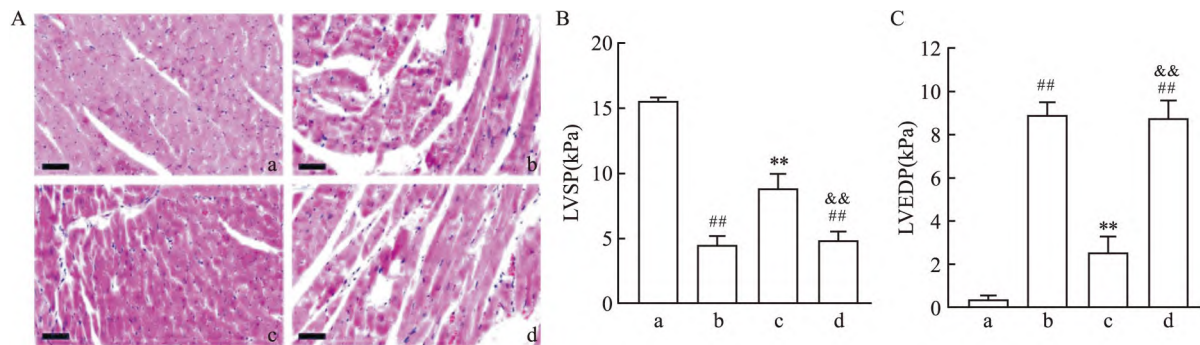


图1 各组间心脏结构和功能的比较

A: 心肌 HE 染色 400; B: 左室收缩峰压; C: 左室舒张末压; a: Control 组; b: MI/R 组; c: EMPA + MI/R 组; d: EMPA + EX527 + MI/R 组; 与 Control 组比较: $^{##}P < 0.01$; 与 MI/R 组比较: $^{**}P < 0.01$; 与 EMPA + MI/R 组比较: $^{&&}P < 0.01$

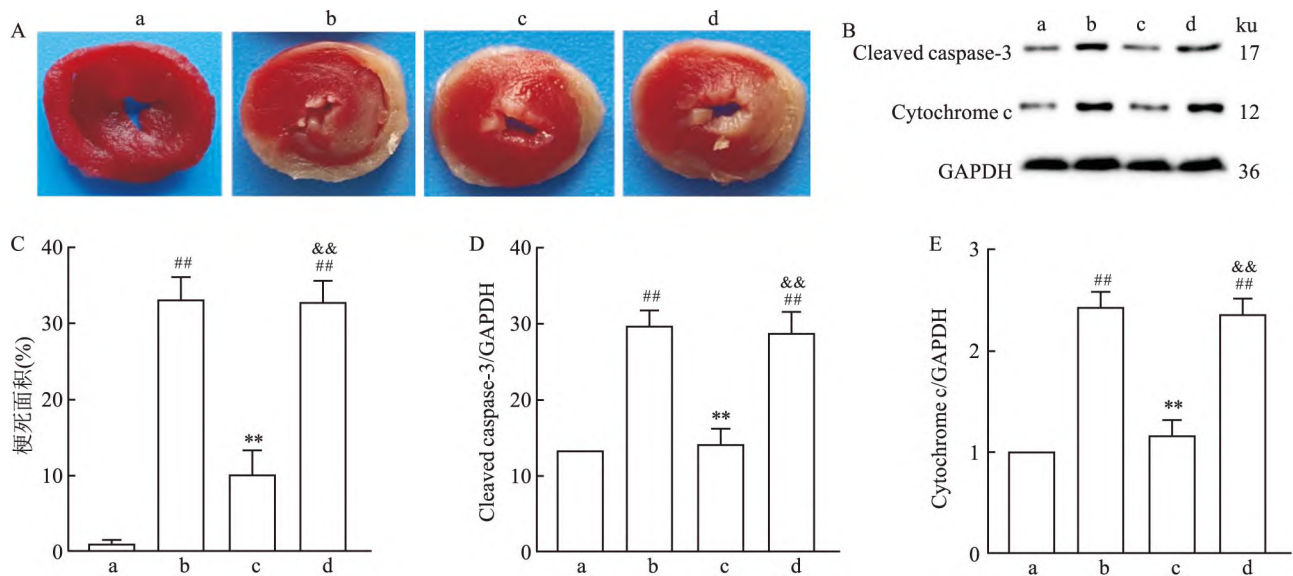


图2 各组间心肌梗死面积和细胞凋亡的比较

A: TTC 染色图; B: Western blot 原始图; C: 梗死面积统计图; D: Cleaved caspase-3 的相对表达量; E: Cytochrome c 的相对表达量; a: Control 组; b: MI/R 组; c: EMPA + MI/R 组; d: EMPA + EX527 + MI/R 组; 与 Control 组比较: $^{##}P < 0.01$; 与 MI/R 组比较: $^{**}P < 0.01$; 与 EMPA + MI/R 组比较: $^{&&}P < 0.01$

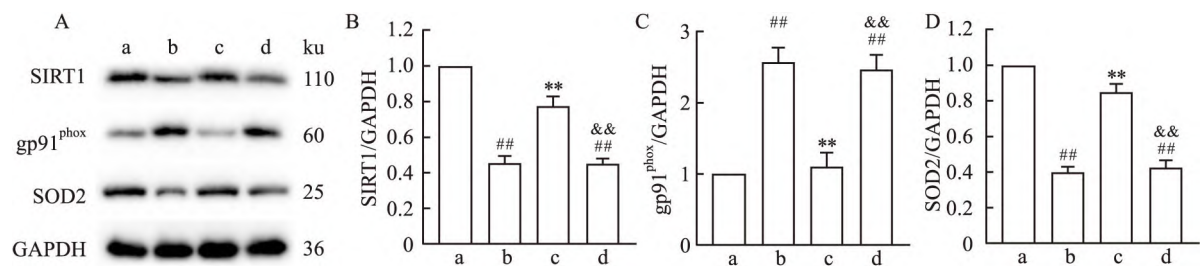


图3 各组心肌 SIRT1、gp91^{phox} 和 SOD2 蛋白表达的比较

A: Western blot 原始图; B: SIRT1 的相对表达量; C: gp91^{phox} 的相对表达量; D: SOD2 的相对表达量; a: Control 组; b: MI/R 组; c: EMPA + MI/R 组; d: EMPA + EX527 + MI/R 组; 与 Control 组比较: $^{##}P < 0.01$; 与 MI/R 组比较: $^{**}P < 0.01$; 与 EMPA + MI/R 组比较: $^{&&}P < 0.01$

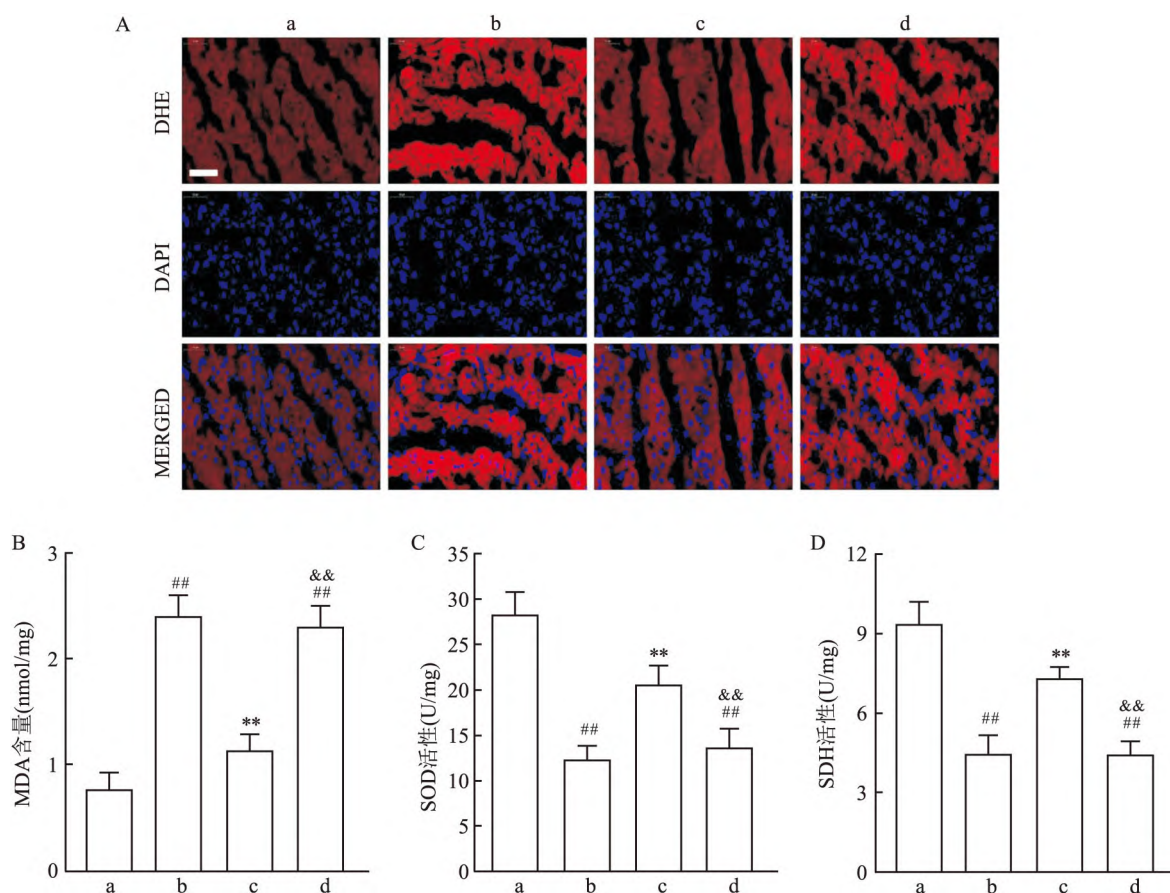


图4 各组心肌氧化应激损伤的比较

A: DHE 染色图 $\times 400$; B: MDA 含量统计图; C: SOD 活性统计图; D: SDH 活性统计图; a: Control 组; b: MI/R 组; c: EMPA + MI/R 组; d: EMPA + EX527 + MI/R 组; 与 Control 组比较: [#] $P < 0.01$; 与 MI/R 组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与 EMPA + MI/R 组比较: ^{&&} $P < 0.01$

2.4 各组大鼠心肌氧化应激损伤指标的比较 如图4, DHE 染色和 ELISA 结果表明: 和 Control 组比较, MI/R 组 ROS 表达和 MDA 含量增加, SOD 和 SDH 活性降低, 差异有统计学意义 ($F = 64.2, P < 0.001$); 和 MI/R 组比较, EMPA + MI/R 组 ROS 表达和 MDA 含量降低, SOD 和 SDH 活性增加, 差异有统计学意义 ($F = 57.5, P < 0.001$); 和 EMPA + MI/R 组比较, EMPA + EX527 + MI/R 组 ROS 表达和 MDA 含量增加, SOD 和 SDH 活性降低, 差异有统计学意义 ($F = 72.7, P < 0.001$)。

3 讨论

尽管在药物和手术治疗方面均取得了巨大进步, 缺血性心脏病仍然是全世界范围内导致死亡的重要原因^[8]。冠状动脉持续的缺血或缺氧会导致不可逆的心肌坏死, 并可能伴有心律失常、休克或心力衰竭等严重事件^[9]。随着再灌注治疗的发展, 急性心肌梗死患者缺血引起的心肌损伤已明显减轻, 然而, 再灌注引起的心肌损伤却越来越明显, 这也成

为了严重限制再灌注治疗效果的瓶颈因素。本研究探讨了 SGLT2 抑制剂 EMPA 在大鼠离体心脏缺血再灌注模型中的保护作用 and 机制, 为 EMPA 在心血管疾病中的应用提供了新的依据。

研究^[5-6]表明, SGLT2 抑制剂具有良好的心血管保护作用。而 EMPA 在糖尿病心肌损伤尤其是糖尿病 MI/R 损伤中具有明确的保护作用, EMPA 能减小糖尿病小鼠 MI/R 后心肌梗死面积, 改善左室舒张功能^[10]。另外, EMPA 还能改善肥胖和糖尿病小鼠心肌纤维化, 降低心肌氧化应激和细胞凋亡^[11]。然而, EMPA 在非糖尿病 MI/R 中的作用尚不清楚。本研究显示, EMPA 能够减轻非糖尿病大鼠离体心脏缺血再灌注后心肌纤维断裂, 改善心脏功能, 抑制细胞凋亡, 这些结果证明了 EMPA 在非糖尿病大鼠 MI/R 中的保护作用。另外, SIRT1 抑制剂 EX527 能够逆转 EMPA 的这些保护作用, 这说明 SIRT1 参与 EMPA 的 MI/R 保护作用。

线粒体结构和功能损伤是心血管疾病发生发展的重要病理基础。在心肌缺血再灌注损伤中, ROS

导致的线粒体氧化应激促进了心肌细胞凋亡并加重心肌氧化应激损伤^[12]。细胞内 ROS 的主要来源是 NADPH 氧化酶家族,而其中 gp91^{phox} 亚型在心肌病理性重塑中发挥重要作用^[13]。SIRT1 在心肌缺血再灌注中发挥重要的抗氧化和抗凋亡作用,增加 SIRT1 表达和去乙酰化酶活性可以抑制 ROS 累积和 MDA 含量并上调抗氧化酶如 SOD 和 SDH 活性^[14];同时,SIRT1 抑制凋亡蛋白 Caspase-3 激活和 Bax 的表达,增加抗凋亡蛋白 Bcl2 的表达^[15]。本研究显示,MI/R 后心肌线粒体氧化应激损伤增加,表现为 ROS 和 MDA 含量以及 gp91^{phox} 表达增加,SOD 和 SDH 活性降低;而 EMPA 能明显降低 MI/R 中 ROS 和 MDA 含量以及 gp91^{phox} 表达,增加 SOD 和 SDH 活性;而应用 EX527 后能逆转 EMPA 抗氧化应激损伤的作用。与此同时,EMPA 能够上调 MI/R 处理后 SIRT1 的表达,而 EX527 可以阻断 EMPA 的这一作用,这些结果都表明 SIRT1 参与 EMPA 抗 MI/R 氧化应激损伤的作用。

综上所述,本研究首次在非糖尿病大鼠心脏缺血再灌注损伤中证实,EMPA 具有通过减轻心肌细胞凋亡和线粒体氧化应激水平改善大鼠心脏损伤的作用,而这一作用与调控 SIRT1 信号通路有关。本实验结果为 EMPA 在非糖尿病心血管疾病中发挥保护作用提供了实验证据,也为 EMPA 在临床治疗心血管疾病的应用提供了依据。

参考文献

- [1] Davidson S M, Ferdinandy P, Andreadou I, et al. Multitarget strategies to reduce myocardial ischemia/reperfusion injury: JACC review topic of the week[J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 73(1): 89-99.
- [2] Granchi C, Minutolo F. Activators of sirtuin-1 and their involvement in cardioprotection[J]. Curr Med Chem, 2018, 25(34): 4432-56.
- [3] Wang Z K, Chen R R, Li J H, et al. Puerarin protects against myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting inflammation and the NLRP3 inflammasome: the role of the SIRT1/NF- κ B pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 89(Pt B): 107086.
- [4] Zelniker T A, Braunwald E. Mechanisms of cardiorenal effects of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors: JACC state-of-the-art review[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 75(4): 422-34.
- [5] 吴易航,张宇辉,张健. SGLT2i 恩格列净对 2 型糖尿病患者心脏保护作用的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2020, 41(8): 787-9, 829.
- [6] Zinman B, Wanner C, Lachin J M, et al. Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes[J]. N Engl J Med, 2015, 373(22): 2117-28.
- [7] Lu Q, Liu J, Li X, et al. Empagliflozin attenuates ischemia and reperfusion injury through LKB1/AMPK signaling pathway[J]. Mol Cell Endocrinol, 2020, 501: 110642.
- [8] Ray K K, Corral P, Morales E, et al. Pharmacological lipid-modification therapies for prevention of ischaemic heart disease: current and future options[J]. Lancet, 2019, 394(10199): 697-708.
- [9] Heusch G. Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective[J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(12): 773-89.
- [10] Hammoudi N, Jeong D, Singh R, et al. Empagliflozin improves left ventricular diastolic dysfunction in a genetic model of type 2 diabetes[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2017, 31(3): 233-46.
- [11] Bertero E, Prates Roma L, Ameri P, et al. Cardiac effects of SGLT2 inhibitors: the sodium hypothesis[J]. Cardiovasc Res, 2018, 114(1): 12-8.
- [12] Zhou H, Wang J, Hu S, et al. B11 alleviates cardiac microvascular ischemia-reperfusion injury via modifying mitochondrial fission and inhibiting XO/ROS/F-actin pathways[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(4): 5056-69.
- [13] Parajuli N, Patel V B, Wang W, et al. Loss of NOX2 (gp91^{phox}) prevents oxidative stress and progression to advanced heart failure[J]. Clin Sci (Lond), 2014, 127(5): 331-40.
- [14] Zhou Y, Li K S, Liu L, et al. MicroRNA-132 promotes oxidative stress-induced pyroptosis by targeting sirtuin 1 in myocardial ischaemia-reperfusion injury[J]. Int J Mol Med, 2020, 45(6): 1942-50.
- [15] Ren B C, Zhang Y F, Liu S S, et al. Curcumin alleviates oxidative stress and inhibits apoptosis in diabetic cardiomyopathy via Sirt1-Foxo1 and PI3K-Akt signalling pathways[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(21): 12355-67.

Empagliflozin alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury via regulating SIRT1

Zhang Fan, Chen Li, Cao Xudong, Zhao Chunhui, Chen Xiaolin

(Dept of Cardiology, the Hospital of South University of Science and Technology, Shenzhen 518055)

Abstract Objective To investigate the role and mechanisms of empagliflozin (EMPA) on myocardial ischemia/reperfusion (MI/R) injury. **Methods** Forty male SD rats were randomly divided into Control group, MI/R group,

富含鱼油饮食对轻型颅脑爆炸冲击伤大鼠的神经保护作用研究

张雯倩^{1,2}, 王 涛², 王 佳³, 王培新², 顾建文², 赵全军^{1,2}

摘要 目的 研究轻型颅脑爆炸冲击伤后大鼠不同时间脑组织星形胶质细胞、小胶质细胞和神经元损伤反应的病理改变和过程。同时探讨富含鱼油饮食对轻型颅脑爆炸冲击伤大鼠的神经保护作用。方法 收集 54 只刚断乳 SD 大鼠,随机均分为对照组、模型组、治疗组,模型组及治疗组大鼠分别在喂养普通饲料和富含鱼油的饲料 33 d 后建立由冲击波诱导的轻型颅脑爆炸冲击损伤模型,对照组大鼠在喂养普通饲料 33 d 后不建立爆炸冲击波损伤模型。结果 与对照组相比,模型组和治疗组的大鼠体质量在致伤后出现一定程度的减轻,随后恢复至致伤前水平;轻型爆炸伤后 6 h、24 h、3 d,模型组和治疗组大鼠大脑海马区 GFAP 阳性染色星形胶质细胞数量及海马区锥体细胞数量均减少。反之,模型组和治疗组大鼠脑组织中海马区的激活态小胶质细胞和皮层区域凋亡神经元数量均增加,且具有时间依赖性。此外,与模型组相比,治疗组可增加伤后星形胶质细胞和海马区锥体细胞数量,并降低激活态小胶质细胞和皮层区域凋亡神经元数量。结论 富含鱼油饮食可通过减轻颅脑爆炸伤后神经细胞损伤,抑制神经炎症反应等方面发挥其神经保护作用。

关键词 颅脑爆炸冲击伤;星形胶质细胞;小胶质细胞;凋亡神经元

中图分类号 R 651.1;R 642;R 459.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)08-1200-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.08.005

2022-05-12 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:31770386);中心级课题(编号:19ZX11)

作者单位:¹ 安徽医科大学解放军 306 临床学院,安徽医科大学第五临床医学院,北京 100101

² 战略支援部队特色医学中心神经外科,北京 100101

³ 商洛市中心医院神经内科,陕西 726000

作者简介:张雯倩,女,硕士研究生;

赵全军,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail:docto@sina.com;

王 涛,男,主治医师,责任作者, E-mail:wangtao0111@gmail.com

爆炸冲击波导致的颅脑损伤是军队作战最常见的损伤之一,而其中很大一部分比例属于轻型颅脑损伤^[1],该损伤经常导致记忆与认知功能障碍、情绪障碍等神经功能障碍^[2],因此,研究颅脑爆炸冲击伤是现代军事医学的重要热点和研究方向。过去几十年,鱼油已被普遍证实其对于神经系统有改善作用,促进脑细胞神经元的发育,尤其在一些神经退行性病变和精神疾病模型中显示出一定的保护作用。该研究将寻找神经保护因素聚焦于“鱼油”,以一种全新的密闭气压引爆装置来建立颅脑爆炸冲击伤模型,探索其对于轻型颅脑爆炸冲击伤模型的神

2.5 $\mu\text{mol/L}$ EMPA combined with MI/R group (EMPA + MI/R) as well as EMPA and 10 $\mu\text{mol/L}$ SIRT1 inhibitor EX527 combined with MI/R group (EMPA + EX527 + MI/R). Cardiac function, myocardial fiber morphology and infarct size were detected. The content of malonaldehyde (MDA), the activities of superoxide dismutase (SOD) and succinodehydrogenase (SDH) in myocardium were determined by ELISA. The protein expressions of Cytochrome c, Cleaved caspase-3, SOD2, gp91^{phox} and SIRT1 were observed by Western blot. The ROS level was detected by DHE staining. **Results** Compared with Control group, MI/R group manifested the decreased cardiac function and myocardial fiber rupture. Myocardial infarction area, the expressions of Cytochrome c, Cleaved caspase-3 and gp91^{phox}, as well as the MDA content and ROS level increased, while decreased the activities of SOD and SDH, and the expressions of SOD2 and SIRT1. Compared with MI/R group, EMPA + MI/R group improved cardiac function and inhibited myocardial fiber rupture, myocardial infarction area, the expressions of Cytochrome c and Cleaved caspase-3. The expression of gp91^{phox}, the MDA content and ROS level were also downregulated, while the activities of SOD and SDH and the expressions of SOD2 and SIRT1 were upregulated. However, the protective effects of EMPA on MI/R heart were blocked by EX527. **Conclusion** EMPA alleviates MI/R injury by inhibiting mitochondrial oxidative stress and apoptosis via activating SIRT1.

Key words empagliflozin; ischemia/reperfusion; silent information regulator 1; oxidative stress; apoptosis