

• 基础研究 •

天香丹对冠脉微循环障碍大鼠 Nrf2/ARE 信号通路表达的影响

马学宽¹ 古丽葛娜·萨吾尔¹ 张 华¹ 辛锦钰¹ 王思静¹ 安冬青^{1,2}

摘要 **目的** 探究天香丹对冠脉微循环障碍大鼠核转录因子 NF-E2 相关因子 2/抗氧化反应元件 (Nrf2/ARE) 信号通路相关因子 mRNA 及蛋白表达的影响。**方法** 36 只 SPF 级 SD 大鼠随机分为空白对照组、模型组、尼可地尔组、天香丹组, 每组 9 只。除空白对照组外, 其余大鼠开胸后左心室内注射月桂酸钠建立冠脉微循环障碍大鼠模型。各组大鼠分别给予天香丹 [0.9408 (大鼠体重)^{2/3} g/d]、尼可地尔 [0.7840 (大鼠体重)^{2/3} mg/d]、生理盐水灌胃 28 天, 每只大鼠给药体积均为 2 mL/d。HE 染色观察大鼠心肌形态学变化, RT-PCR 及 Western Blot 法观察各组大鼠心肌中 Nrf2/ARE 信号通路核转录因子 NF-E2 相关因子 2 (Nrf2)、Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1 (Keap1)、醌氧化还原酶 1 (NQO1)、氧化氢酶 (CAT)、血红素加氧酶-1 (HO-1) mRNA 及蛋白的表达变化。**结果** HE 染色显示天香丹可减轻冠脉微循环障碍大鼠微血栓程度。与空白对照组比较, 模型组大鼠 Nrf2、NQO1、CAT mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), Keap1 mRNA 及蛋白表达均降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 尼可地尔组 Nrf2 mRNA 及蛋白表达量明显升高 ($P < 0.05$), CAT mRNA 表达升高 ($P < 0.05$), HO-1 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$); 天香丹组 Nrf2、NQO1、CAT、HO-1 mRNA 及蛋白表达升高 ($P < 0.05$), Keap1 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$); 与尼可地尔组比较, 天香丹组 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT、HO-1 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$), CAT 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。**结论** 天香丹改善冠脉微循环障碍机制可能与调控 Nrf2/ARE 信号通路有关。

关键词 冠脉微循环障碍; 天香丹; Nrf2/ARE 信号通路

Effect of Tianxiangdan on Nrf2/ARE Signaling Pathway Expression in Rats with Coronary Microcirculation Dysfunction MA Xue-kuan¹, GULIGENA Sawuer¹, ZHANG Hua¹, XIN Jin-yu¹, WANG Si-jing¹, and AN Dong-qing^{1,2} ¹ College of Traditional Chinese Medicine, XinJiang Medical University, Urumqi (830011); ² Xinjiang Key Laboratory of Famous Prescription and Science of Formulas, Urumqi (830011)

ABSTRACT **Objective** To research the effect of Tianxiangdan (TXD) on coronary microcirculation dysfunction rat nuclear factor erythroid-2-related factor 2/antioxidant responsive element (Nrf2/ARE) signal pathway related factor mRNA and protein expression. **Methods** Totally 36 SPF SD rats were randomly divided into blank control group, model group, Nicorandil group, and TXD group, 9 rats in each group. Except the rats in the blank control group, the rest rats were injected with sodium laurate into their left ventricle after thoracotomy, thus establishing a rat model of coronary microcirculation dysfunction. The rats in each group were administered intragastrically with TXD [0.9408 (kg)^{2/3} g/d], Nicorandil [0.7840 (kg)^{2/3} mg/d], and normal saline for 28 days. The volume of administration was 2 mL/d for per rat. HE staining method was used to observe the morphological changes of rat myocardium. The Nrf2/ARE signaling pathway nuclear factor NF-E2 related factor 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2), Kelch-like ECH-associated protein-1 (Keap1), NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1), catalase (CAT), heme oxygenase-1 (HO-1) mRNA and protein expression were detected by RT-PCR and Western Blot re-

基金资助: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81760843)

作者单位: 1. 新疆医科大学中医学院 (乌鲁木齐 830011); 2. 新疆名医方与特色方剂学重点实验室 (乌鲁木齐 830011)

通讯作者: 安冬青, Tel: 0991-4362444, E-mail: andongqing3@gmail.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20201102. 052

spectively. **Results** According to HE staining method, TXD could reduce the degree of micro thrombosis in coronary microcirculation dysfunction rats. Compared with the blank control group, the expression of Nrf2, NQO1, CAT mRNA in the model group reduced ($P < 0.05$), and the expression of Keap1 mRNA and protein decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression of Nrf2 mRNA and protein in the Nicorandil group was significantly increased ($P < 0.05$). The expression of CAT mRNA increased ($P < 0.05$), and the expression of HO-1 mRNA was decreased ($P < 0.05$). In TXD group, Nrf2, NQO1, CAT, HO-1 mRNA and protein expression increased ($P < 0.05$), the expression of Keap1 mRNA increased ($P < 0.05$). Compared with the Nicorandil group, the expression of Nrf2, Keap1, NQO1, CAT, HO-1 mRNA in TXD group increased ($P < 0.05$), and the expression of CAT protein increased ($P < 0.05$). **Conclusion** TXD's mechanism for improving coronary microcirculation dysfunction may be associated with the regulation of the Nrf2/ARE signal pathway.

KEYWORDS coronary microcirculation dysfunction; Tianxiangdan; Nrf2/ARE signaling pathway

冠脉微循环障碍 (coronary microcirculation dysfunction, CMD) 伴随有典型的心绞痛症状, 但冠状动脉造影正常或无明显狭窄病变, 是目前心血管病领域研究的热点^[1]。CMD 为多因素、多机制相互作用所致, 其中包括微血管功能异常、血管内皮功能障碍、炎症反应、氧化应激等, 这些生理病理性改变在冠脉微循环发生发展的过程中发挥了不同程度的作用^[2-4]。以尼可地尔为代表的西药可通过舒张微血管, 增大冠脉血流量, 改善 CMD^[5]。天香丹为“通补开泄法”代表的名老中医经验方, 前期研究显示天香丹能够改善冠心病患者的胸闷胸痛、心悸等症状, 可保护血管内皮, 减轻自由基损伤, 保护微循环, 改善心肌缺血^[6,7]。本研究采用化学损伤法制作大鼠 CMD 动物模型, 天香丹给药后检测大鼠核转录因子 NF-E2 相关因子 2/抗氧化反应元件 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2/ antioxidant responsive element, Nrf2/ARE) 信号通路相关因子的表达, 探究其改善 CMD 的作用机制。

材料与方法

1 动物 36 只 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 (180 ± 20) g, 购于新疆医科大学动物实验中心, 动物许可证号: SYXK (新) 2018-003, 饲养于新疆医科大学动物实验中心 SPF 级环境中。本实验通过新疆医科大学第一附属医院动物伦理委员会批准 (No. IACUC-20170222027)。

2 药物 天香丹由红景天、丹参、新塔花、降香四味药组成 (药物组成比为 8:8:6:3), 天香丹颗粒剂由新疆华世丹药业有限公司制备 (每袋 9 g, 含生药量 3.125 g, 批号: 18091201); 尼可地尔 (1 g/瓶, 上海梯希爱公司, 批号: N0837)。

3 主要试剂及仪器 戊巴比妥钠 (25 g/瓶, Sigma 公司, 批号: P3761); 月桂酸钠 (25 g/瓶, Sigma 公司, 批号: BCBV3875); 苏木素 (中杉金桥公司, 批号: ZLI-9610); 伊红 (中杉金桥公司, 批号: ZLI-9613); 核转录因子 NF-E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2, 伊莱瑞特公司, 批号: E-AB-33607); Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1 (Kelch-like ECH-associated protein-1, Keap1, 博奥森公司, 批号: bs-4648R); 醌氧化还原酶 1, [NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, NQO1, 博奥森公司, 批号: bs-23407R]; 氧化氢酶 (catalase, CAT, 博奥森公司, 批号: bs-6874R); 血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1, Abcam 公司, 批号: EPR18161-128); GAPDH (Abcam 公司, 批号: EPR16891); Trizol (transgen 公司, 批号: N10315); 逆转录试剂盒 (thermo 公司, 批号: 00705427); 荧光定量试剂盒 (QIAGEN 公司, 批号: 208054); 泰盟 HX-300S 动物呼吸机。

4 动物造模及分组 参考文献[8]制作 CMD 动物模型。27 只 SD 大鼠, 腹腔注射戊巴比妥钠麻醉 (40 mg/kg), 使用动物呼吸机辅助通气。经左侧第三、四肋间开胸后暴露心脏及主动脉根部, 使用一次性 1 mL BD 胰岛素针经左心室注入月桂酸钠 (2 mg/kg), 同时夹闭主动脉 10 s, 关胸, 加热垫保持体温, 回笼复苏。术中全程无菌操作, 左心室内注射月桂酸钠时为操作熟练的一人进行。术后常规给予青霉素 80 万 U 腹腔连续注射 3 日, 预防感染。造模后随机抽取 3 只大鼠, 以病理切片中观察到微血栓为造模成功。将术后存活的大鼠, 随机分为模型组、尼可地尔组和天香丹组, 每组补足 9 只。并将 9 只未做处理的大鼠作为空白对照组。

5 给药剂量 按照体表面积法大鼠给药剂量 $g/(kg \cdot d) = \text{成人每日剂量}(g) \times \text{大鼠体表面积}/\text{人体表面积}^{[9]}$ 。天香丹组大鼠给予 0.9408 (大鼠体重) $^{2/3}g/d$ 天香丹颗粒灌胃, 尼可地尔组给予尼可地尔每日 0.7840 (大鼠体重) $^{2/3}mg/d$ 尼可地尔灌胃, 相当于成人临床用量的 6.3 倍 $^{[10]}$ 。空白对照组、模型组每日给予生理盐水灌胃。天香丹、尼可地尔溶于生理盐水中, 每只大鼠给药体积均为 2 mL/d。每日给药 1 次, 每周按体重调整给药剂量, 共给药 28 日。各组大鼠均自由饮水饮食, 不限制活动。

6 检测指标及方法

6.1 HE 染色 过量麻醉法处死大鼠, 开胸取出心脏, 沿心脏中线切为一半, 中性甲醛溶液固定 48 h。脱水后石蜡包埋, 将组织切成 4 μm 厚的切片, HE 染色后观察冠脉微血管病理形态变化。

6.2 实时荧光定量 PCR 检测 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT、HO-1 mRNA 表达 使用 Trizol 试剂提取心肌组织内总 RNA, 并逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板进行 5 倍稀释, GAPDH 为内参, 在 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪上使用荧光定量试剂盒对各基因进行荧光定量 PCR 扩增。反应体系为: 1 μL cDNA 产物, 正反向引物各 0.5 μL , 5 μL 2 $\times$ SYBR Green PCR Master Mix, 2 μL RNase-free 水, 1 μL QN ROX Reference Dye (50 $\times$), 总体积为 10 μL 。引物序列见表 1。反应条件: 95 $^{\circ}C$ 预变性 2 min; 95 $^{\circ}C$ 5 s, 60 $^{\circ}C$ 10 s, 重复 39 个循环。每个样品重复 3 次。各基因相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

表 1 引物序列

基因	引物序列 (5'-3')	产物长度 (bp)
Nrf2	F-GCACATCCAGACAGACACCA R-CTCTCAACGTGGCTGGGAAT	189
Keap1	F-CTTCGGGGAGGAGGAGTTCT R-GGGCAGTCGTATTGACCCA	132
NQO1	F-GCTTGTAGCAGGATTGCGCT R-ATGACGTTTCATGTCCCGTG	144
CAT	F-ACTGACGTCCACCCTGACTA R-CCCTGGCAGCTATGTGAGA	122
HO-1	F-CCACGCATATACCCGCTACC R-CGATGCTCGGGAAGGTGAAA	125

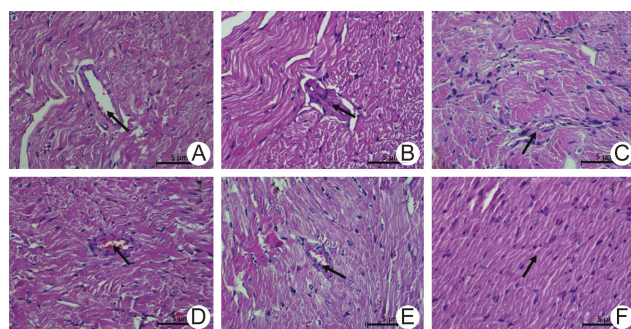
6.3 Western Blot 检测 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT、HO-1 蛋白表达 取适量心肌组织, 在盛有液氮的研钵中进行研磨, 研磨为粉末后, 加入 RIPA 裂解液及蛋白酶抑制剂, 冰上裂解 30 min。4 $^{\circ}C$, 12 000 r/min 离心 10 min。取上清液, 用 BCA 试剂

盒进行蛋白定量。蛋白浓度为 2 $\mu g/\mu L$, 样品的上样量为每孔 15 μL , 依次进行 SDS-PAGE 电泳、转膜、使用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h。1 $\times$ TBST 洗膜后, 加入 Nrf2 (1:1 000)、Keap1 (1:500)、NQO1 (1:1 000)、CAT (1:1 000)、HO-1 (1:2 000)、GAPDH (1:10 000), 在 4 $^{\circ}C$ 条件下孵育过夜。洗膜, 加入 ECL 二抗 (1:2 000) 室温避光孵育 2 h。洗膜后, 加入 ECL 显色液, 采用凝胶图像扫描仪扫描, 并采用灰度分析软件 Image Lab 计算各蛋白条带的灰度值。

7 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件分析, 数值用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计推断采用单因素方差分析和 LSD-t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

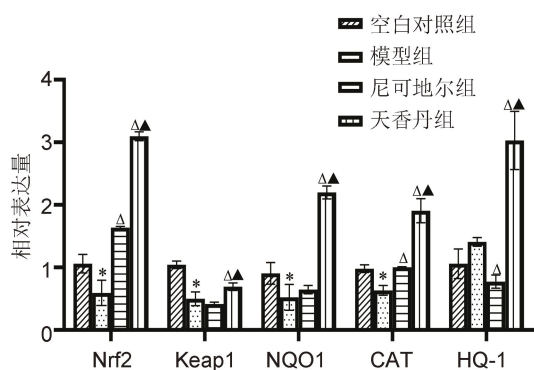
1 各组大鼠心肌病理学变化(图 1) HE 染色显示模型组大鼠冠脉微血管内有微血栓形成, 血栓多为红细胞、血小板和纤维蛋白构成的红色血栓或富含纤维素的白色血栓, 并可见局部心肌纤维化。空白对照组微血管内偶尔可见少量散在红细胞, 未发现微血栓。尼可地尔组及天香丹组心肌排列正常, 无纤维化, 微血栓程度减轻。



注: A 为空白对照组; B 为模型组; C 为模型组; D 为尼可地尔组; E 为天香丹组; F 为天香丹组心肌细胞

图 1 各组冠脉微血管病理学结果 (HE, $\times 400$)

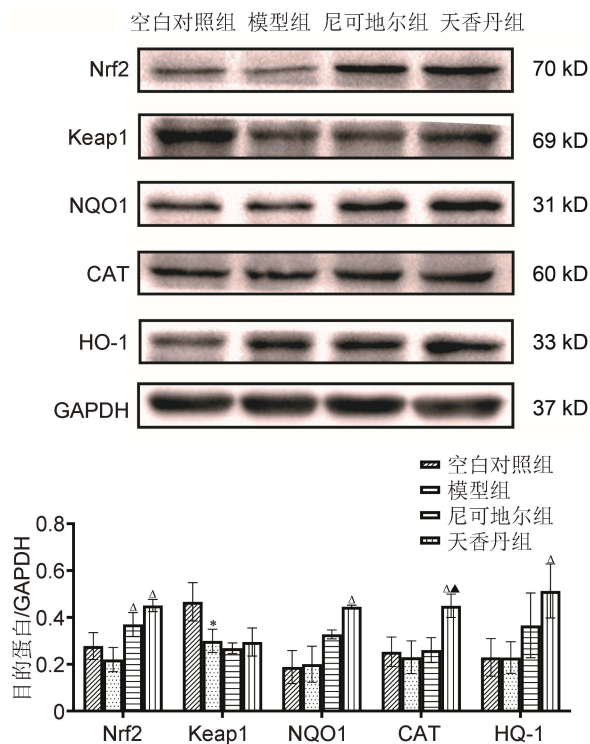
2 各组大鼠心肌 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT、HO-1 mRNA 表达比较(图 2) 与空白对照组比较, 模型组大鼠 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 尼可地尔组 Nrf2、CAT 表达升高 ($P < 0.05$), HO-1 表达降低 ($P < 0.05$), 天香丹组 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT、HO-1 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$); 与尼可地尔组比较, 天香丹组 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT、HO-1 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$)。



注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$; 模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与尼古地尔组比较, $\Delta P < 0.05$

图 2 大鼠心肌组织中 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT、HO-1 mRNA 的表达情况

3 各组大鼠心肌 Nrf2、Keap1、NQO1、CAT、HO-1 蛋白表达比较(图 3) 与空白对照组比较,模型组 Keap1 蛋白表达量降低($P < 0.05$);与模型组比较,尼古地尔可以明显升高 Nrf2 蛋白表达量($P < 0.05$),天香丹组 Nrf2、NQO1、CAT、HO-1 蛋白表达量明显升高($P < 0.05$);与尼古地尔组比较,天香丹组 CAT 蛋白表达量明显升高($P < 0.05$)。



注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$; 模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与尼古地尔组比较, $\Delta P < 0.05$

图 3 大鼠心肌组织中 Nrf2/ARE 信号通路相关因子的蛋白表达量比较

结 论

CMD 常表现为经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)术后的无复流、慢血流、缺血再灌注损伤及 X 综合征等^[11-13]。改善微血管的结构损伤及功能障碍,提高心肌微血管灌注水平,保护缺血心肌,已成为心血管疾病治疗的首要目标。CMD 的病理机制目前尚无统一,氧化应激被认为是主要的机制之一。细胞缺血缺氧时产生大量的 ROS,当超过机体的抗氧化能力时,可导致血管内皮细胞发生脂质过氧化,逐渐剥落脱离血管,造成内皮下的胶原纤维逐渐裸露,激活内源性凝血系统。进一步造成血小板活化、黏附因子上调,纤维蛋白聚集,纤溶酶活性下降,形成微血栓,这些变化加重了局部缺血并形成恶性循环,机体发生 CMD^[14,15]。Nrf2/ARE 信号通路是介导内源性氧化应激的重要途径。Nrf2 参与调节细胞内抗氧化物的表达,Keap1 是 Nrf2 的负调节因子,生理状态下 Nrf2 与 Keap1 耦联于细胞质中并稳定存在。氧化应激时,Nrf2 与 Keap1 解耦联,移至细胞核内,在核内与 maf 蛋白结合成异二聚体后与抗氧化反应元件(antioxidant responsive element, ARE)序列结合,进而启动下游 HO-1、CAT 及 NQO1^[16,17]。HO-1 阻止游离血红素参与氧化应激,具有抗氧化、抗炎、扩血管和改善组织微循环等作用^[18]。CAT、NQO1 催化超氧阴离子生成相对稳定的过氧化氢,保护内皮细胞免受损害^[19]。通过激活 Nrf2/ARE 信号通路能够减轻氧化应激,从而改善 CMD^[20]。CMD 发生后使 Nrf2 与 Keap1 解耦联,Nrf2 从细胞质转至细胞核内,激活下游的抗氧化酶。伴随着一系列抗氧化因子的增多,增强了心肌及机体的抗氧化水平。但过多的 ROS 持续消耗抗氧化因子,超过了由应激产生的活化作用,抗氧化能力下降,心肌细胞损伤加重。因此仍然需要有效的药物进一步激活 Nrf2/ARE 信号通路,促进抗氧化因子的表达,减轻氧化应激损伤^[21]。近年来研究发现中西药都可通过激活 Nrf2/ARE 通路改善微循环,如黄芪多糖能够促进 Nrf2/ARE 信号通路活化改善干燥综合症大鼠心肌组织的损伤及心功能^[22]。吡那地尔增加活性氧的产生而激活 Nrf2/ARE 通路,使再灌注心肌抗氧化能力增加,从而减轻缺血再灌注心肌的氧化损伤^[23]。左旋肉碱及银杏叶提取物可以增强 Nrf2 及 HO-1 的表达,减少心肌细胞的氧化应激和凋亡,从而减轻 CMD^[24,25]。在 Nrf2 基因敲除的大鼠中可表现为内皮功能障碍及微血管稀疏^[26]。也有研究表明 Nrf2 减少可能会降低

心脏中的毛细血管密度,并对心脏血管生成和(或)生理或病理刺激引起的侧支形成产生负面影响^[27]。

CMD 可归属中医学“胸痹”“心痛”,其病机多为脉络绌急、气滞血瘀等。微循环类似中医“络脉”概念,《灵枢·经脉》认为“经脉十二者,伏行分肉之间,深而不见;其常见者,足太阴过于外踝之上,无所隐故也。诸脉之浮而常见者,皆络脉也。”《针灸四书》^[28]云“络有一十五,有横络三百余,有丝络一万八千,有孙络不知其纪。”气滞、痰浊或寒邪入侵,均可致心络不畅,血停成瘀,导致冠脉微循环障碍的发生。天香丹以通补开泄法治疗冠心病,通阳宣痹,芳香开泄,已在临床应用 30 余年并取得良好疗效^[29]。本研究中发现应用天香丹后 CMD 大鼠冠脉微血栓程度减轻,可能与天香丹中活血化瘀类药物有关。天香丹组方中红景天补气养血、活血化瘀;丹参益气养血、活血通络;降香辛香走窜、开窍辟秽;新塔花芳香开泄,通阳宣痹。红景天、丹参、降香及新塔花均具有很强的抗氧化性。红景天苷通过调节 Nrf2 及下游抗氧化酶的表达,降低氧化应激水平而发挥心功能保护作用^[30]。丹参素通过调节 Nrf2/HO-1 信号通路减轻氧化应激发挥抗大鼠肝纤维化的作用^[31]。降香新黄酮能够增加 Nrf2/HO-1 蛋白表达以对抗细胞缺氧复氧所导致的损伤^[32]。新塔花挥发油能够清除二苯代苦味酰自由基,羟自由基和超氧阴离子自由基,具有抑制脂质过氧化和清除亚硝酸盐的作用^[33]。

本研究发现 CMD 模型组大鼠 Nrf2、NQO1、CAT mRNA 表达降低,但与空白对照组比较,蛋白表达水平并无差异。给予天香丹治疗后,Nrf2/ARE 信号通路中的 Nrf2、NQO1、CAT、HO-1 mRNA 及蛋白表达均增强,提示天香丹激活了 Nrf2/ARE 信号通路,促进下游抗氧化因子的释放。研究中发现蛋白与 mRNA 的表达趋势并不完全一致,这可能与转录到翻译的时空间隔有关^[34]。本研究揭示了天香丹改善 CMD 的抗氧化作用机制,对中医药治疗 CMD 具有指导意义。然而 CMD 的病理机制非氧化应激一种,为多种因素相互作用,Nrf2/ARE 信号通路也与炎症及自噬密切相关,天香丹改善 CMD 的具体机制需进一步的深入研究。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会心血管病学分会基础医学组. 冠状动脉微血管疾病诊断和治疗的中国专家共识[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(5): 421-430.
- [2] Gonzalez-Montero J, Brito R, Gajardo AI, et al. Myocardial reperfusion injury and oxidative stress: Therapeutic opportunities [J]. World J Cardiol, 2018, 10(9): 74-86.
- [3] 李牧蔚, Wende C. 冠状动脉微循环功能障碍[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(9): 838-842.
- [4] Vijay K, Alaide C, GCP, et al. An EAPCI Expert Consensus Document on Ischaemia with Non-Obstructive Coronary Arteries in Collaboration with European Society of Cardiology Working Group on Coronary Pathophysiology & Microcirculation Endorsed by Coronary Vasomotor Disorders International Study Group [J]. Eur Heart J, 2020; ehaa503.
- [5] Zhan B, Xu Z, Zhang Y, et al. Nicorandil reversed homocysteine-induced coronary microvascular dysfunction via regulating PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. Miomed Pharmacotherapy, 2020, 127: 110121.
- [6] 王昕宇,焦玉洁,安冬青. 不同剂量天香丹对动脉粥样硬化小鼠血脂及血管内皮生长因子的影响[J]. 中国中医急症, 2014, 23(3): 400-403, 415.
- [7] 安冬青,周铭心,张晓天,等. 天香丹对心肌缺血大鼠血栓形成及心肌细胞结构的影响[J]. 新疆医科大学学报, 2007, 30(5): 434-437.
- [8] Zhang Y, Ma XJ, Guo CY, et al. Pretreatment with a combination of ligustrazine and berberine improves cardiac function in rats with coronary microembolization [J]. Acta Pharmacol Sinica, 2016, 37(4): 463-472.
- [9] 高敏,李德刚,沙妙清,等. 利胆软坚方降脂减肥作用及其对胆汁酸代谢轮廓谱的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(11): 85-92.
- [10] 徐叔云,卞如濂,陈修主编. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1052-1053.
- [11] Alidoosti M, Lotfi R, Lotfi-Tokaldany M, et al. Correlates of the “No-Reflow” or “Slow-Flow” phenomenon in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention [J]. J Tehran Heart Cent, 2018, 13(3): 108-114.
- [12] Vancheri F, Longo G, Vancheri S, et al. Coronary microvascular dysfunction [J]. J Clin Med, 2020, 9(9): 2880.
- [13] Zhou H, Zhang Y, Hu S, et al. Melatonin protects cardiac microvasculature against ischemia/reperfusion injury via suppression of mitochondrial fission-VDAC1-HK2-mPTP-mitophagy axis [J]. J Pineal Res, 2017, 63(1): e12413.
- [14] 庞天舒,丁国平,阙日升,等. 急危重症氧化应激及微循环障碍的研究进展 [J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22(5): 553-555.
- [15] Sheng J, Meng Q, Yang Z, et al. Identification of

- cryptotanshinone from Tongmai to inhibit thrombosis in zebrafish via regulating oxidative stress and coagulation cascade [J]. *Phytomedicine*, 2020, 76: 153263.
- [16] Lu M, Shao H, Liu T, et al. Discovery of 2-oxy-2-phenylacetic acid substituted naphthalene sulfonamide derivatives as potent KEAP1-NRF2 protein-protein interaction inhibitors for inflammatory conditions[J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 207: 112734.
- [17] Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2018, 1865(5): 721–733.
- [18] Chen Y, Bian W, Xu B. Pretreatment with dexmedetomidine alleviates lung injury in a rat model of intestinal ischemia reperfusion[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(3): 1233–1241.
- [19] 杨艳秋, 刘森, 王丹, 等. 绿原酸改善 db/db 小鼠血管内皮功能障碍的作用初探[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(3): 400–405.
- [20] Jiang MM, Ni JY, Cao YL, et al. Astragaloside IV attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury from oxidative stress by regulating succinate, lysophospholipid metabolism, and ROS scavenging system [J]. *Oxi Med Cell Longev*, 2019, 2019: 9137654.
- [21] Pries AR, Kuebler WM, Habazettl H. Coronary microcirculation in ischemic heart disease[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(25): 2893–2899.
- [22] 王芳, 刘健, 叶英法, 等. 基于 Keap1-Nrf2/ARE 信号传导通路探讨黄芪多糖改善干燥综合征模型大鼠心功能的机制[J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(5): 566–574.
- [23] 王海英, 杨义辉, 喻田, 等. Nrf2-ARE 通路在缺血后处理和吡那地尔后处理减轻大鼠离体心脏缺血再灌注损伤中的作用[J]. *中华麻醉学杂志*, 2012, 32(4): 481–484.
- [24] Chen XJ, Ren SM, Dong JZ, et al. Ginkgo biloba extract-761 protects myocardium by regulating Akt/Nrf2 signal pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 647–655.
- [25] Zhao T, Chen S, Wang B, et al. L-Carnitine reduces myocardial oxidative stress and alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by activating nuclear transcription-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1) signaling pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e923251.
- [26] Priestley JRC, Fink KE, Mccord JM, et al. NRF2 activation with Protandim attenuates salt-induced vascular dysfunction and microvascular rarefaction[J]. *Microcirculation*, 2019, 26(7): e12575.
- [27] Bai Q, Lyu Z, Yang X, et al. Epigallocatechin-3-gallate promotes angiogenesis via up-regulation of Nrf2 signaling pathway in a mouse model of ischemic stroke[J]. *Behav Brain Res*, 2017, 321: 79–86.
- [28] 窦桂芳主编. 针灸四书[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 151–152.
- [29] 杨建梅, 安冬青, 王晓峰, 等. 天香丹颗粒治疗冠心病心绞痛 33 例[J]. *上海中医药大学学报*, 2006, 20(2): 29–31.
- [30] 徐鹏, 孙卫卫, 曹雪滨. 红景天苷通过 Nrf2 降低氧化应激改善力竭运动大鼠心功能[J]. *中国循环杂志*, 2017, 32(1): 51.
- [31] 王蓉, 王静, 宋复兴, 等. 丹参素通过调节 Nrf2/HO-1 和 NF- κ B/ κ B α 信号通路发挥抗大鼠肝纤维化的作用[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(10): 168–168.
- [32] 张妮, 陈兰英, 骆瑶, 等. 降香新黄酮 latifolin 通过 Nrf2/HO-1 通路抗 H9c2 细胞缺氧复氧损伤作用研究[J]. *中药材*, 2019, 42(7): 1629–1634.
- [33] Shahbazi Y. Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial properties of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oils collected from different parts of Iran [J]. *J Food Sci Technol*, 2017, 54(11): 3491–3503.
- [34] de Sousa Abreu R, Penalva LO, Marcotte EM, et al. Global signatures of protein and mRNA expression levels[J]. *Mol Biosyst*, 2009, 5(12): 1512–1526.
- (收稿: 2019-10-30 在线: 2020-12-02)
责任编辑: 白 霞