◆实验研究◆

基于GSK-3β/Fyn/Nrf2信号通路探讨槲皮素对自发性高血压大鼠心肌纤维化的影响及内在机制

王海洋[1]，刘琳[1]，柴志勇[1]，刁云辉[2]，李慧[1]，申文宇[1]，门翔[3]

1. 郑州大学附属南阳医院（南阳市中心医院）心内一病区，河南 南阳 473009
2. 郑州大学附属南阳医院（南阳市中心医院）消化内科，河南 南阳 473009
3. 郑州大学附属南阳医院（南阳市中心医院）呼吸重症科，河南 南阳 473009

［摘要］**目的**：探究槲皮素在自发性高血压大鼠（SHR）心肌纤维化中的作用机制。**方法**：50只SHR随机分为SHR组、卡托普利组、槲皮素低、中、高剂量组，每组10只；10只Wky大鼠为Wky组。卡托普利组灌胃给予卡托普利30 mg/kg，槲皮素低、中、高剂量组分别灌胃给予槲皮素20、50、100 mg/kg，Wky组、SHR组给予等量0.9%氯化钠溶液，每天1次，连续12周。尾袖法每2周测定大鼠尾动脉收缩压（SBP）；给药结束，称定心脏质量，大鼠处死，称定其左心室质量（LVM），计算左心室肥厚指数（LVMI）；比色法测血清超氧化物歧化酶（SOD）、总抗氧化能力（T-AOC）活性、丙二醛（MDA）含量；实时荧光定量-聚合酶链式反应法和Western blot法检测左心室组织中糖原合成酶激酶-3β（GSK-3β）、非受体酪氨酸激酶Fyn、核因子相关因子2（Nrf2）的mRNA、蛋白表达，以及Ⅰ型、Ⅲ型胶原（Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ）蛋白表达。**结果**：与Wky组比较，SHR组大鼠SBP、心脏质量、LVMI显著升高（$P<0.01$）；血清SOD、T-AOC活性显著降低，MDA含量显著增加（$P<0.01$）；左心室Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ表达显著升高（$P<0.01$），Nrf2、GSK-3β的mRNA、蛋白表达显著降低（$P<0.01$），Fyn的mRNA、蛋白表达显著升高（$P<0.01$）。与SHR组比较，卡托普利组、槲皮素低、中、高剂量组大鼠SBP、心脏质量、LVM、LVMI均显著降低（$P<0.01$）；血清SOD、T-AOC活性显著升高，MDA含量显著降低（$P<0.05$，$P<0.01$）；槲皮素中、高剂量组左心室中Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ蛋白表达显著降低（$P<0.01$）；槲皮素低、中、高剂量组左心室中Nrf2、GSK-3β mRNA、蛋白表达显著升高，Fyn mRNA、蛋白表达显著降低（$P<0.05$，$P<0.01$）。**结论**：槲皮素可抑制SHR心肌纤维化，其机制可能是通过下调GSK-3β/Fyn信号通路，激活Nrf2诱导的抗氧化通路，减少SHR心肌组织氧化应激反应。

［关键词］自发性高血压大鼠；槲皮素；心肌纤维化；GSK-3β/Fyn/Nrf2信号通路；机制
［中图分类号］R285.5 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2023）11-0001-07
DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2023.11.001

Effects of Quercetin on Myocardial Fibrosis in Spontaneously Hypertensive Rats and Its Underlying Mechanism Based on GSK-3β/Fyn/Nrf2 Signaling Pathway

WANG Haiyang, LIU Lin, CHAI Zhiyong, DIAO Yunhui, LI Hui, SHEN Wenyu, MEN Xiang

Abstract: Objective: To explore the mechanism of quercetin in myocardial fibrosis in spontaneously

［收稿日期］2023-02-07
［基金项目］河南省科技发展计划项目（182102310184）
［作者简介］王海洋（1983-），男，主治医师，E-mail：wanghaiy55@163.com。
［通信作者］刘琳（1984-），女，主治医师，E-mail：luohui2586hu@163.com。

hypertensive rats (SHR). **Methods**: Fifty SHRs were randomly divided into SHR group, Captopril group, low-, medium-, and high-dose of quercetin groups, with 10 in each group. Ten Wky rats were included in the Wky group. Captopril group was given Captopril 30 mg/kg by gavage, quercetin low-, medium-, and high-dose groups were given quercetin 20, 50, and 100 mg/kg by gavage, respectively. Wky group and SHR groups were given equal amounts of 0.9% sodium chloride solution once a day for 12 consecutive weeks. The systolic blood pressure (SBP) of the rat tail artery was measured every 2 weeks using the tail cuff method.After administration, weigh the heart mass, and the rats were killed. Measure their left ventricular mass (LVM), and calculate the left ventricular mass index (LVMI), serum superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (T-AOC) activity, and malondialdehyde (MDA) content were measured by colorimetry. mRNA and protein expressions of glycogen synthase kinase 3β(GSK-3β) in left ventricular tissue and non-receptor tyrosine kinase Fyn, nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2), and protein expressions of collagen type Ⅰ and Ⅲ (Collagen-Ⅰ and Collagen-Ⅲ) were detected by real-time fluorescence quantification-polymerase chain neaction (RT-PCR) and Western blot. **Results**: Compared with Wky group, SBP, heart mass, and LVMI in SHR group were significantly increased ($P<0.01$). The activities of SOD and T-AOC in serum were significantly decreased, while the content of MDA was significantly increased ($P<0.01$). The expressions of Collagen-Ⅰ and Collagen-Ⅲ in left ventricle were significantly increased ($P<0.01$). The mRNA and protein expressions of Nrf2 and GSK-3β were significantly decreased ($P<0.01$), while the mRNA and protein expressions of Fyn were significantly increased ($P<0.01$). Compared with SHR group, the SBP, heart mass, LVM, and LVMI of rats in Captopril group, quercetin low-, medium-, and high-dose groups were significantly decreased ($P<0.01$). The activities of SOD and T-AOC in serum were significantly increased, while the content of MDA was significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). The protein expressions of Collagen-Ⅰ and Collagen-Ⅲ in the left ventricle of the medium- and high-dose quercetin groups were significantlys decreased ($P<0.01$). The mRNA and protein expressions of Nrf2, GSK-3β in left ventricle of quercetin low-, medium-, and high-dose groups were significantly increased, while the mRNA and protein expressions of Fyn were significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion**: Quercetin can inhibit myocardial fibrosis in SHR, and its mechanism may be through down-regulating GSK-3β/Fyn signaling pathway, activates Nrf2-induced antioxidant pathway and reduces oxidative stress response in SHR myocardial tissue.

Keywords: Spontaneously hypertensive rats; Quercetin; Myocardial fibrosis; GSK-3β/Fyn/Nrf2 signaling path; Mechanism

高血压左心室肥厚的组织学特征主要为心肌重塑、心肌细胞肥大、心肌纤维化。心肌纤维化的病理特征是心肌胶原比例的失调及排列紊乱[1]，主要是由于心脏间质成纤维细胞的过度增殖及细胞外基质(ECM)的过度沉积造成的[2]。研究显示，氧化应激是导致心肌纤维化的重要因素，氧化应激反应能够通过破坏细胞膜、促进心肌细胞凋亡、促进心肌纤维细胞增殖等途径加快心肌细胞纤维化[3]；核因子相关因子2(Nrf2)在调控细胞氧化应激损伤中具有至关重要的作用；糖原合成酶激酶3β(GSK-3β)参与了调节细胞的氧化应激反应[4]；非受体酪氨酸激酶(Fyn)参与肝细胞纤维化、脂质过氧化、细胞凋亡、肿瘤的侵袭、转移等多种病理状态[5]。

槲皮素是一种黄酮类化合物，具有多种生物学活性。研究显示，槲皮素能够舒张离体大鼠的肠系膜主动脉、动脉及冠状动脉，降低高血压大鼠的血

压，抑制心肌纤维化的发展[6-7]。其主要是通过抑制活性氧(ROS)自由基介导的丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)信号通路来实现的[8]。也有研究表明使用槲皮素使得 GSK-3β、Fyn、Nrf2 表达水平降低。有鉴于此，本研究以自发性高血压大鼠(SHR)为研究对象，考察槲皮素对 SHR 大鼠心肌纤维化及 GSK-3β/Fyn/Nrf2 途径的影响，为高血压患者临床治疗提供参考。

1 动物、材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 SHR 50 只、血压正常的大鼠(Wky)10 只，均为雌性，鼠龄 8 周龄，体质量为 200～230 g，购自中国科学院上海实验动物中心，动物生产许可证号为 SCXK(沪)2017-0005。饲养环境：温度(25±1)℃、相对湿度(45±5)%，饮食自由，适应性喂养 1 周。动物使用遵循国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》及我国相关法规动物实验通过了伦理委员会批准，批准号：20220475。

1.2 主要仪器 大鼠电脑血压心率测量仪(型号：MRS-Ⅲ，上海市高血压研究所)、高速离心机(型号：TGL-20B-C，上海安亭科学仪器厂)、高速组织匀浆器(型号：EUR-04，美国 Biospec 公司)、荧光定量-聚合酶链式反应(PCR)仪(型号：IQ5，美国 ABI 公司)、全自动蛋白质表达分析系统(型号：Simon，美国 Protein Simple 公司)、紫外分光光度计(型号：UV-2700，日本 shimadzu 公司)、倒置显微镜(型号：IX70，日本 Olympus 公司)。

1.3 主要药品与试剂 槲皮素(批号 Q4951，纯度≥98%)购自美国 Sigma 公司；苦味酸染色剂(批号 1400056)购自河北博海生物工程开发有限公司；卡托普利片(批号 H31022986，规格：12.5 mg)购自中美上海施贵宝制药有限公司；超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)试剂盒(批号 1711215、170923、170517)购于南京建成生物工程研究所；天狼星红染色液试剂盒(批号 160528)购于北京华越洋生物科技有限公司；BCA 试剂盒(批号 160528)购于北京拜尔迪生物技术有限公司；RT-PCR 试剂盒(批号 01512578)购自上海雅吉生物科技有限公司；兔抗人 GSK-3β、Fyn、rf2 一抗、兔抗大鼠胶原蛋白Ⅰ(Collagen-Ⅰ)、胶原蛋白Ⅲ(Collagen-Ⅲ)、β-肌动蛋白(β-actin)抗体(批号分别为 23269-1-AP、10494-1-AP、55135-1-AP、20536-1-AP、52132-1-AP、22512-1-AP)均购自美国 Proteintech 公司；山羊抗兔免疫球蛋白 G(lgG)二抗(批号 C86-SSA004)购自上海创赛科技有限公司。

1.4 分组与给药 50 只 SHR 按随机数字表法分为 SHR 组、卡托普利组(30 mg/kg)、槲皮素低、中、高剂量组(20、50、100 mg/kg)，每组 10 只；10 只 Wky 作为 Wky 组。阳性药物、槲皮素给药剂量均参考预实验结果设置，用 0.1%的 DMSO 溶解。各给药组大鼠灌胃相应药物，Wky 组和 SHR 组给予等体积 0.9%氯化钠溶液，灌胃体积均为 3 mL，每天 1 次，连续给药 12 周。

1.5 大鼠 SBP 检测及血清中 SOD、T-AOC 活性及 MDA 含量检测 给药期间，采用尾袖法每 2 周测定 1 次各组大鼠清醒状态时的尾动脉收缩压(SBP)。末次给药后 24 h，腹腔注射 10%水合氯醛麻醉，腹主动脉采血 5 mL，离心 15 min(3 000 r/min，半径 8 cm)，取血清，采用比色法检测血清中 SOD、T-AOC 活性及 MDA 含量。

1.6 大鼠左心室肥厚指数、左心室组织中胶原蛋白沉积检测 取血后处死大鼠，取出心脏，0.9%氯化钠溶液冲洗干净，用滤纸吸干水分，称定心脏质量，然后剔除心房、大血管、心包组织，称定左心室(含室间隔)质量(LVM)，并计算左心室肥厚指数(LVMI)，LVMI＝LVM/体质量。采用苦味酸-天狼猩红染色法检测左心室组织中胶原蛋白沉积。取左心室心肌组织，4%多聚甲醛固定，石蜡包埋、切片(厚度 6 μm)，按照试剂盒说明书染色，光学显微镜下观察心室组织结构改变和胶原沉积情况，并采用 image-Pro Plus 软件对胶原沉积进行定量分析。

1.7 实时荧光定量 PCR 检测左心室组织中 GSK-3β、Fyn、Nrf2 的 mRNA 表达 取左心室心肌组织 100 mg，Trizol 法提取总 RNA，按照 RT-PCR 试剂盒反转录合成 cDNA。然后以 cDNA 为模板按照 RT-PCR 试剂盒说明书方法进行 PCR 扩增。反应体系(总体积 50 μL)为：2×Phanta Max Buffer 25 μL；dNTP Mix 1 μL；上游引物 1 μL；下游引物 1 μL；Phanta Max Super-

Fidelity DNA Polymerase 1μL；模板 5 μL。设置 PCR 反应条件如下：95 ℃，3 min；95 ℃，15 s；64 ℃下，15 s；72 ℃，1 min；15 s 为一个退火程序，循环 35 次；72 ℃下持续 5 min 进行延伸并设置 16 ℃无限时间对产物进行保存。以 β-actin 为内参，采用免疫荧光法计算各待测指标的 mRNA 表达。PCR 引物序列及产物扩增长度见表 1。

表 1 PCR 引物序列与产物扩增长度

基因名称	引物序列	产物扩增长度(bp)
GSK-3β	5′-CCCACACATCTGCTAAGGTC-3′ 5′-TACACACACGGTCGGAGAAG-3′	143
Fyn	5′-ACCTCCATCCCGAACTACAAC-3′ 5′-CGCCACAAACAGTGTCACTC-3′	185
Nrf2	5′-ACCAGGAGAGGAAGAAUAAAGUU-3′ 5′-AAUUUAUUCUUCCUCUCCUGCGU-3′	298
β-actin	5′-GAGACCTTCAACACCCCAGC-3′ 5′-CCACAGGATTCCATACCCAA-3′	128

1.8 Western blot 法检测左心室组织中 GSK-3β、Fyn、Nrf2、Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ的蛋白表达 取左心室心肌组织，加入 RIPA 冰浴裂解，离心 15 min(4 ℃，12 000 r/min，半径 8 cm)，取上清液，BCA 试剂盒进行蛋白定量。蛋白高温变性后上样，SDS-PAGE 电泳，转膜，5%BSA 封闭 2 h，加入一抗(1∶1 000)，4 ℃孵育过夜；TBST 洗涤 3 次、每次 5 min，加入二抗(1∶4 000)，室温下孵育 2 h；TBST 洗涤 3 次、每次 5 min，加入 ECL 显色成像。Image J 软件测定目标条带的灰度值，目标蛋白的表达水平以目标蛋白与内参蛋白(β-actin)条带灰度的比值表示。

1.9 统计学方法 数据的统计分析采用 SPSS22.0 软件，计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，多组间比较采用单因素方差分析，两组间比较采用 LSD 检验。检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 各组大鼠 SBP 比较 见表 2。与 Wky 组比较，SHR 组大鼠从给药 2 周起 SBP 明显升高($P<0.01$)；与 SHR 组比较，除槲皮素低剂量组给药 2 周的 SBP 降低不显著外，其余各给药组大鼠在不同给药周期内 SBP 均显著降低($P<0.01$)，且呈现一定的剂量、时间的依赖性。

表 2 各组大鼠 SBP 比较($\bar{x}\pm s$) mm Hg

组 别	鼠数	2 周	4 周	8 周	12 周
Wky 组	10	112.25±5.15	113.24±8.56	111.29±9.65	115.43±8.97
SHR 组	10	172.35±4.32①	175.49±7.38①	176.28±6.85①	182.28±4.35①
卡托普利组	10	135.26±5.64②	129.58±4.68②	121.67±3.95②	115.84±4.96②
槲皮素低剂量组	10	163.18±6.61	157.36±4.32②	152.39±6.86②	136.42±8.03②
槲皮素中剂量组	10	156.96±6.28②	151.58±6.62②	136.59±5.14②	125.18±4.44②
槲皮素高剂量组	10	148.31±6.32②	145.26±5.39②	131.85±5.27②	119.36±4.23②
F 值		8.364	18.325	24.685	26.254
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注：①与 Wky 组比较，$P<0.01$；②与 SHR 组比较，$P<0.01$ 1 mm Hg≈0.133 kPa

2.2 各组大鼠血清中 SOD、T-AOC 活性及 MDA 含量比较 见表 3。与 Wky 组比较，SHR 组大鼠血清中 SOD、T-AOC 活性均显著降低($P<0.01$)，MDA 含量显著增加($P<0.01$)；与 SHR 组比较，槲皮素低、中、高剂量组大鼠血清中 SOD、T-AOC 活性均显著升高($P<0.05$，$P<0.01$)，MDA 含量均显著减少($P<0.05$，$P<0.01$)。

表 3 各组大鼠血清中 SOD、T-AOC 活性及 MDA 含量比较($\bar{x}\pm s$)

组 别	鼠数	SOD(U/L)	T-AOC(U/L)	MDA(mmol/L)
Wky 组	10	139.22±8.24	8.25±0.68	4.08±0.24
SHR 组	10	63.45±4.81①	3.01±0.21①	11.35±1.13①
卡托普利组	10	115.36±7.49②	6.97±0.56②	6.05±0.33②
槲皮素低剂量组	10	75.61±4.48③	3.97±0.32③	9.57±0.52③
槲皮素中剂量组	10	92.66±5.16②	5.14±0.44②	8.14±0.41②
槲皮素高剂量组	10	109.81±6.53②	6.45±0.53②	6.27±0.39②
F 值		15.015	9.987	11.256
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注：①与 Wky 组比较，$P<0.01$；②与 SHR 组比较，$P<0.01$；③与 SHR 组比较，$P<0.05$

2.3 各组大鼠心脏质量、LVM 及 LVMI 比较 见表 4。与 Wky 组比较，SHR 组大鼠心脏质量、LVMI 均显著升高($P<0.01$)，表明 SHR 左心室肥厚；与 SHR 组比较，卡托普利组、槲皮素中、高剂量组大鼠心脏质量、LVM、LVMI 均显著降低($P<0.01$)。

表4　各组大鼠心脏质量、LVM及LVMI比较($\bar{x}\pm s$)

组　别	鼠数	心脏质量(g/kg)	LVM(g/kg)	LVMI
Wky组	10	1.06±0.14	0.72±0.56	2.16±0.22
SHR组	10	1.46±0.35①	0.95±0.62①	2.73±0.25①
卡托普利组	10	1.26±0.21②	0.78±0.59②	2.41±0.23②
槲皮素低剂量组	10	1.39±0.32	0.86±0.27	2.64±0.25
槲皮素中剂量组	10	1.31±0.33②	0.82±0.22②	2.51±0.24②
槲皮素高剂量组	10	1.27±0.31②	0.79±0.47②	2.44±0.22②
F值		9.685	13.156	14.965
P值		<0.01	<0.01	<0.01

注：①与Wky组比较，$P<0.01$；②与SHR组比较，$P<0.01$

2.4　各组大鼠左心室胶原蛋白沉积比较　见图1。与Wky组比较，SHR组大鼠左心室呈红色部分明显增加，胶原蛋白沉积量大，发生明显的心肌纤维化；与SHR组比较，槲皮素中、高剂量组大鼠左心室呈红色部分明显减少。

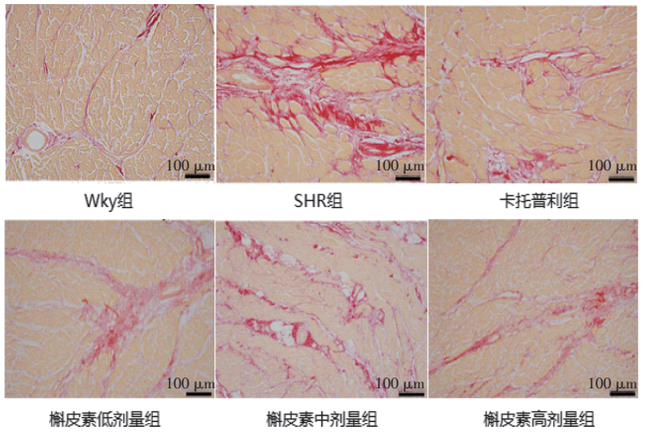
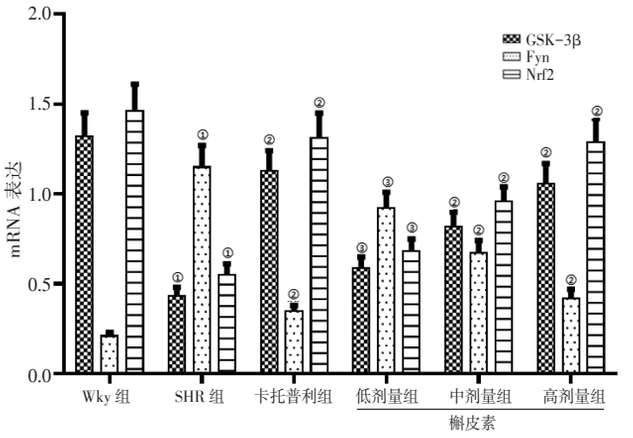


图1　各组大鼠左心室胶原蛋白沉积情况检测的显微图(苦味酸-天狼猩红染色，40×)

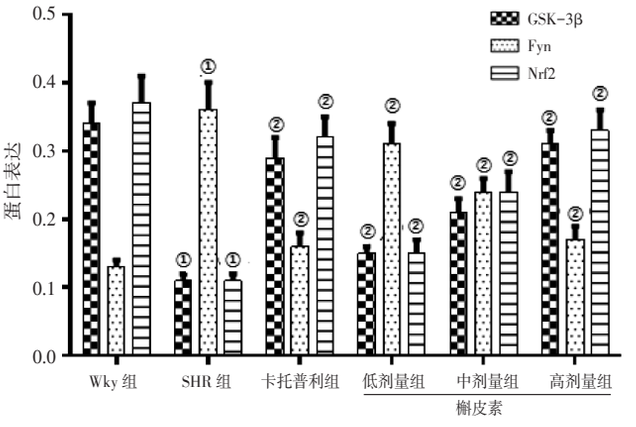
2.5　各组大鼠左心室组织中GSK-3β、Fyn、Nrf2 mRNA表达水平比较　见图2。与Wky组比较，SHR组大鼠左心室组织中GSK-3β、Nrf2 mRNA表达水平均显著降低($P<0.01$)，Fyn mRNA表达水平显著升高($P<0.01$)；与SHR组比较，各给药组大鼠左心室组织中GSK-3β、Nrf2 mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$，$P<0.01$)，Fyn mRNA表达水平均显著降低($P<0.05$，$P<0.01$)。

2.6　各组大鼠左心室组织中GSK-3β、Fyn、Nrf2蛋白表达比较　见图3。与Wky组比较，SHR组大鼠左心室组织中GSK-3β、Nrf2蛋白表达水平均显著降低($P<0.01$)，Fyn蛋白表达水平显著升高($P<0.01$)；与SHR组比较，各给药组大鼠左心室组织中GSK-3β、Nrf2蛋白表达水平均显著升高($P<0.01$)，Fyn蛋白表达水平均显著降低($P<0.01$)。



注：①与Wky组比较，$P<0.01$；②与SHR组比较，$P<0.01$；③与SHR组比较，$P<0.05$

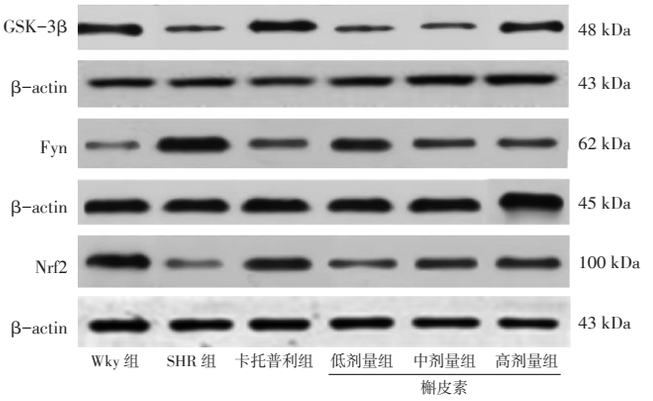
图2　各组大鼠左心室组织中GSK-3β、Fyn、Nrf2 mRNA表达水平比较($\bar{x}\pm s$，$n=10$)



注：①与Wky组比较，$P<0.01$；②与SHR组比较，$P<0.01$；③与SHR组比较，$P<0.05$

图3　各组大鼠左心室组织中GSK-3β、Fyn、Nrf2蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$，$n=10$)

2.7　各组大鼠左心室组织中Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ蛋白表达比较　见图4。与Wky组比较，SHR组大鼠左心室组织中Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ蛋白表达水平均显著升高($P<0.01$)；与SHR组比较，槲皮素中、高剂量组大鼠左心室组织中Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ蛋白水平显著降低($P<0.01$)。



注：①与 Wky 组比较，$P<0.01$；②与 SHR 组比较，$P<0.01$

图 4　各组大鼠左心室组织中 Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

3　讨论

心肌纤维化是许多心血管疾病的共同病理学特征，而氧自由基与心肌纤维化的发生密切相关[9]。心肌肥厚和 ECM 的过度沉积会使心肌组织处于相对缺氧的状态，此时氧化途径会被激活，引起 ROS 的合成增加，而心肌细胞的抗氧化能力便会下降，使得机体发生氧化应激损伤[10]。SOD 是心肌内关键的抗氧化酶，能够抑制 ROS 的合成[11]，对于细胞抗氧化应激非常重要。T-AOC 可以较为全面地表现组织抗氧化物质的总体活性[12]。本研究结果显示，给予槲皮素干预后，SHR 心肌组织中 SOD、T-AOC 活性均明显升高，MDA 含量显著降低，这提示槲皮素可增强 SHR 心肌组织中抗氧化酶的活性、减少心肌组织中氧化产物的聚集，从而抑制其心肌纤维化。Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ是心脏 ECM 的主要组成成分[13-14]。本研究结果显示：与 Wky 组相比，SHR 组大鼠心脏质量、LVMI 均显著升高（$P<0.01$），表明 SHR 左心室肥厚；与 SHR 组比较，卡托普利组和槲皮素中、高剂量组大鼠心脏质量、LVM、LVMI 均显著降低（$P<0.05$，$P<0.01$），SBP 心肌组织中 Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ蛋白表达水平均显著升高，给予低、中、高剂量槲皮素干预后，均能显著降低大鼠心肌组织中 Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ蛋白表达水平。以上结果提示，槲皮素可调控胶原蛋白的合成，改善 SHR 心肌胶原蛋白比例失调的现象，从而减轻 SHR 的心肌纤维化。

研究表明，血管紧张素转化酶抑制剂（ACEI）类药物不仅可以降压，还可通过多重途径抑制心肌组织胶原的合成，并促进其降解，预防或逆转 SHR 大鼠的心肌纤维化[15]。本研究以 ACEI 类药物卡托普利为阳性对照药，预实验表明槲皮素可抑制 SHR 心肌纤维化，且作用与常规剂量的卡托普利相当。

Nrf2 是人体内一种重要的氧化应激调控因子，具有维持细胞氧化-抗氧化平衡的生物学活性。有研究报道，激活 Nrf2 抗氧化通路后能够明显加强缺血导致的高血压大鼠模型的心肌重塑和减少糖尿病心肌损害[16]。本研究结果显示，SHR 心肌组织内 Nrf2 蛋白表达水平降低，而给予槲皮素干预后能够显著升高 SHR 心肌组织中 Nrf2 蛋白表达水平，提示槲皮素可激活 Nrf2 通路，增强心肌组织抗氧化能力，从而抑制 SHR 的心肌纤维化。GSK-3β 可通过 Fyn 反向调控 Nrf2 的活性，Fyn 激活后可进入细胞核，抑制 Nrf2 核内转运[17]，从而抑制 Nrf2 的抗氧化作用。本研究结果显示，SHR 左心室组织中 SBP 水平较高，左心室肥厚指数高，胶原蛋白沉积水平高，GSK-3β、Nrf2 表达降低，而 Fyn 表达升高；给予槲皮素干预后，SHR 左心室组织中 Nrf2 表达、GSK-3β 磷酸化水平显著升高，Fyn 的表达显著降低，SHR 其他指标得到改善，从而提示槲皮素可能通过促进 GSK-3β 磷酸化、抑制 Fyn 表达，从而上调 SHR 肌组织中 Nrf2 的活性，起到体内抗氧化的作用，减少 SHR 心肌组织氧化应激反应，从而抑制心肌纤维化发展进程。

综上可知，槲皮素可抑制 SHR 大鼠的心肌纤维化，可能是通过调控 GSK-3β/Fyn 通路，激活 Nrf2 发挥抗氧化作用，抑制 SHR 大鼠心肌组织的氧化应激反应，从而抑制其心肌纤维化。

［参考文献］

[1] 周源. 肥厚型心肌病基因学发病机制研究进展[J]. 儿科药学杂志，2021，27(7)：60-64.

[2] 邱羽菲，史嘉翊，宋旭东，等. 心肌纤维化的发生机制及治疗研究进展[J]. 心脏杂志，2021，33(5)：553-557.

[3] 江丽娟，任钧国，李军梅，等. 血府逐瘀胶囊对自发性高血压大鼠心肌纤维化的影响[J]. 中药药理与临床，2012，28(3)：5-9.

[4] WANG Z，GE Y，BAO H，et al. Redox-sensitive glycogen synthase 3β-directed control of mitochondrial permeability transition：rheostatic regulation of acute kidney injury[J]. Free Radic Biol Med，

2013，65：849-858.

[5] 张莉. 酪氨酸激酶Fyn在大鼠脑出血后炎症反应和细胞凋亡中的作用及机制研究[D]. 重庆：重庆医科大学，2020.

[6] 张明磊，杨清泉，李贞彩，等. ENST00000418539.1调控miR-24对H_2O_2诱导心肌细胞氧化应激损伤的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2021，19(6)：939-944.

[7] MARTINSMARQUES T. Connecting different heart diseases through intercellular communication[J]. Biology Open，2021，10(9)：bio 058777.

[8] HOU X M，LIU Y，NIU L G，et al. Enhancement of voltage-gated K^+ channels and depression of voltage-gated Ca^{2+} channels are involved in quercetin-induced vasorelaxation in rat coronary artery[J]. Planta Med，2014，80(6)：465-472.

[9] 孟哲，腾帅，王琛，等. 积雪草酸通过激活Nrf2抗氧化通路抑制自发性高血压大鼠心肌纤维化[J]. 中国药理学通报，2018，34(8)：1073-1078.

[10] 张小林，赵琦，邹娜，等. 胎膜早破患者胎膜、胎盘组织TRPC3和PDIA3的表达及意义[J]. 中国妇产科临床杂志，2021，22(5)：486-488.

[11] 高燕，杨龙飞，丁晓彦，等. 丹参水溶性成分对尾动脉血管狭窄斑马鱼血管舒张作用的研究[J]. 中华中医药杂志，2019，34(11)：5384-5387.

[12] 朱凯媛，蔡辉. 氧化应激致心室重构的研究进展[J]. 安徽医药，2015，19(9)：1633-1636.

[13] 范军朝，宋俊杰，陈勇. 七氟醚预处理对大鼠肺缺血-再灌注损伤的保护作用及对TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的影响[J]. 器官移植，2021，12(4)：436-444.

[14] 徐涛，王超. miR-21靶向调控配体蛋白1在心肌梗死大鼠心肌纤维化中的作用机制[J]. 中国临床药理学杂志，2020，36(16)：2411-2414.

[15] QI R，LIN E，SONG J，et al. Proteomic Insights into Cardiac Fibrosis：From Pathophysiological Mechanisms to Therapeutic Opportunities[J]. Molecules，2022，27(24)：8784.

[16] PAN H，NIU L，WU Y H，et al. Lycium barbarum polysaccharide protects rats and cardiomyocytes against ischemia/reperfusion injury via Nrf2 activation through autophagy inhibition[J]. Mol Med Rep，2021，24(5)：778.

[17] LIAO H H，ZHU J X，FENG H，et al. Myricetin possesses potential protective effects on diabetic cardiomyopathy through inhibiting IκBα/NF-κB and enhancing Nrf2/HO-1[J]. Oxid Med Cell Longev，2017，2017：8370593.

（责任编辑：吴凌，李海霞）