

原花青素对大鼠运动性心肌损伤的保护作用及机制研究

任鹏¹, 林丹丹², 聂煜³, 王一峰⁴, 董诗稳^{1*}, 王博源^{1*}

¹玉溪师范学院体育学院, 玉溪 653100;

²云南农业大学; ³云南财经大学, 昆明 650500; ⁴长春科技学院军事体育部, 长春 130600

摘要: 该文研究了原花青素 (oligomeric proanthocyanidins, OP) 对长时间、大强度运动导致的心肌损伤的保护作用及其潜在机制。Wistar 大鼠进行连续 6 周过量游泳运动训练, 其中 2 组大鼠每天分别灌胃 50 mg/kg OP (OP50 组) 和 100 mg/kg OP (OP100 组), 模型组 (model, Mod) 灌胃等体积生理盐水, 正常组 (normal, Nor) 作为对照。结果表明, Mod 组血清中运动性心肌损伤标记物乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶 (creatinase, CK) 及心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin, cTnI) 显著升高, 心肌组织出现明显病理形态, 呈现明显炎性细胞浸润; OP50 及 OP100 组中 LDH、CK 及 cTnI 显著下调, 心肌组织病理变化明显减轻 ($P < 0.05$)。心肌组织中, Mod 组丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 明显上升, 抗氧化酶谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 及超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 下降, 核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶-1 (hemeoxygenase-1, HO-1) (Nrf2/HO-1) 抗氧化应激信号通路中关键蛋白的表达量显著下降; OP50 及 OP100 组中 MDA 含量显著下调, GSH 及 SOD 显著上调, Nrf2/HO-1 通路中蛋白表达量显著增多 ($P < 0.05$)。Mod 组血清及心肌中炎症指标肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 含量明显上升, 硫氧还蛋白互作蛋白/NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (thioredoxin-interacting protein/NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, TXNIP/NLRP3) 炎症反应信号通路中关键蛋白的表达量显著上升; OP50 及 OP100 组中炎症因子含量均显著下调, OP100 组中 TXNIP/NLRP3 通路中蛋白表达量显著降低 ($P < 0.05$)。综上所述, 补充 OP 对大鼠运动性心肌损伤具有明显的保护作用, 且这种保护机制与增强心肌 Nrf2/HO-1 抗氧化通路及抑制 TXNIP/NLRP3 炎症反应信号通路有关。

关键词: 原花青素; 运动性心肌损伤; 氧化应激; Nrf2/HO-1 抗氧化通路; 炎症反应; TXNIP/NLRP3 促炎通路

中图分类号: R873

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)8-1401-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.8.014

Protective effect of oligomeric proanthocyanidins on the exercise-induced myocardial injury in rat and its mechanism

REN Peng¹, LIN Dan-dan², NIE Yu³,

WANG Yi-feng⁴, DONG Shi-wen^{1*}, WANG Bo-yuan^{1*}

¹School of Physical Education, Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China; ²Yunnan Agricultural University;

³Yunnan University of Finance and Economics, Kunming 650500, China;

⁴Department of Military Physical Education, Changchun Sci-Tech University, Changchun 130600, China

Abstract: The protective effects of oligomeric proanthocyanidins (OP) on myocardial injury induced by long-time and intensive exercise and its potential mechanisms were investigated in this study. Wistar rats were subjected to six consecutive weeks of excessive swimming exercise training, in which two groups were gavaged with 50 mg/kg OP (OP50 group) and 100 mg/kg OP (OP100 group) daily, respectively, the model group (Mod) received an equal volume of saline, and the normal group (Nor) was used as control. Results showed that the serum levels of lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK) and cardiac troponin (cTnI), the common markers of exercise-induced myocardial injury, were significantly elevated in the Mod

收稿日期: 2023-11-29

接受日期: 2024-04-09

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金 (2023J0995)

* 通信作者 Tel: 86-877-2055578; E-mail: wby@yxnu.edu.cn, DSW@yxnu.edu.cn

group, and myocardial tissues showed obvious pathological morphology, and a marked inflammatory cell infiltration. In the OP50 and OP100 groups, LDH, CK and cTnI were significantly down-regulated, and the pathological changes in myocardial tissue were significantly reduced ($P < 0.05$). In the Mod group, malondialdehyde (MDA) increased significantly in the myocardial tissues, the antioxidant enzymes glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) decreased, and the nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) / heme oxygenase-1 (HO-1) (Nrf2/HO-1) signaling pathway was inhibited. In the OP50 and OP100 groups, the level of GSH and SOD was significantly up-regulated, and the expression of proteins in the Nrf2/HO-1 pathway was significantly increased ($P < 0.05$). The levels of inflammatory indicators, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 β (IL-1 β), were significantly increased in the Mod group, and the expression of key proteins in the thioredoxin-interacting protein/NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (TXNIP/NLRP3) inflammatory response signaling pathway was significantly increased. The levels of the inflammatory factors were significantly down-regulated in both the OP50 and OP100 groups, and the expression of proteins in the TXNIP/NLRP3 pathway was significantly decreased in the OP100 group ($P < 0.05$). In summary, OP supplementation has a significant protective effect on exercise-induced myocardial injury in rats, and this protective mechanism is involved in enhancing the myocardial Nrf2/HO-1 antioxidant pathway and inhibiting the TXNIP/NLRP3 inflammatory response signaling pathway.

Key words: proanthocyanidins; exercise-induced myocardial injury; oxidative stress; Nrf2/HO-1 antioxidant pathway; inflammatory response; TXNIP/NLRP3 pro-inflammation pathway

运动员为了提高比赛成绩,需要在休赛期进行大量的练习^[1]。高强度、持久性的运动使血液中去甲肾上腺素、肾上腺素和多巴胺等儿茶酚胺类激素含量显著升高,儿茶酚胺可以增强心肌收缩力、加快心率,从而提高心搏输出量,满足运动时肌肉的高耗氧需求。但随着氧气消耗的增加,细胞代谢过程中产生的超氧阴离子(O₂⁻)、过氧化氢(H₂O₂)及羟自由基(OH[·])等活性氧(reactive oxygen species, ROS)显著增加,引起氧化应激,诱导肌肉组织炎症反应甚至肌肉细胞凋亡。心脏是血液循环系统的动力来源,这种过量运动诱导的心肌氧化损伤,可导致心肌一系列病理和功能的改变,甚至威胁生命,对运动员的成绩及健康的影响尤为严重。寻找预防和改善运动员运动性心肌损伤的方案一直是运动医学及心血管健康领域的热点内容。

一些传统的药物在治疗运动员运动性心肌损伤的过程中可能会带来违禁药品的药物残留并被作为兴奋剂使用证据的风险,对运动员职业发展造成潜在威胁。近年来,利用一些天然产物固有的抗氧化及抗炎特性来对抗过量运动造成的心肌损伤成为潜在的可行方案^[2,3]。黑枸杞^[2]、黑加仑葡萄^[4]提取物对过量运动诱导的氧化应激和炎症反应具有明显的改善作用,这可能与其中含量丰富花青素类成分有关。花青素,是植物中广泛存在的水溶性天然色素,其在植物体内通常以糖苷或者前体低聚原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OP)的形式存在,OP进入体内后会分解成花青素。OP广泛存在于许

多蔬菜、水果和种子中,它是国际公认的一种抗氧化、抗炎天然产物,广泛应用于炎症、过敏等多种疾病的治疗^[5]。核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)和血红素加氧酶-1(hemeoxygenase-1, HO-1)是抗氧化通路中的关键蛋白,硫氧还蛋白互作蛋白(thioredoxin-interacting protein, TXNIP)和NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)是炎症通路中的关键蛋白。OP可以通过增强机体Nrf2/HO-1抗氧化应激信号通路^[6],以及抑制NLRP3炎症反应信号通路^[7],从而抑制氧化应激和炎症反应,缓解组织损伤。但其对过量运动造成的心肌损伤的保护作用及其潜在机制尚未见详细报道。本研究,通过对大鼠进行连续6周的训练时长和训练负荷递增的耐力游泳训练,制备运动性心肌损伤模型,并在训练过程中补充不同剂量的OP对损伤进行干预,训练结束后检测心肌损伤标记物、氧化产物及抗氧化酶水平、炎症标记物等指标,评估OP对大鼠运动性心肌损伤的保护作用,并测定了Nrf2/HO-1抗氧化及TXNIP/NLRP3抗炎信号通路中关键蛋白的表达量,初步探究其中所涉及的潜在保护机制,旨在为原花青素在运动医学及心血管健康领域的临床应用提供部分基础资料和科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级雄性Wistar大鼠,42日龄,体重180~

210 g,购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司(生产许可证号:SCXK(吉)2020-0002),操作符合实验动物伦理要求(玉溪师范学院伦理委员会审批,审批号 YNU2022115)。

1.2 药物及试剂

原花青素(纯度 $\geq 95\%$,批号:S30598,上海源叶生物科技有限公司);丙二醛(malondialdehyde,MDA)、谷胱甘肽(glutathione,GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)、肌酸激酶(creatine kinase,CK)检测试剂盒(批号分别为:A003-1-2、A006-1-1、A001-1-2、A032-1-1,南京建成生物工程研究所有限公司);乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)(批号:C0017,上海碧云天生物工程有限公司);心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin,cTnI)检测试剂盒(批号:ml037292,上海酶联生物科技有限公司);肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β)ELISA检测试剂盒(批号分别为:438204、431307、503505,Biolegend生物科技有限公司);腺苷酸活化蛋白激酶 α (adenosine 5' monophosphate-activated protein kinase,AMPK α)、p-AMPK α 、Nrf2、HO-1、谷氨酸半胱氨酸连接酶催化亚基(glutamate cysteine ligase catalytic,GCLC)、TXIP、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶1(cysteinyI aspartate specific proteinase 1,Caspase 1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH)抗体(批号分别为:2532、2535、20733、43966、52183、14715、83383、2118,美国Cell Signaling Technology有限公司);IL-1 β (批号:BA14789,武汉博士德生物工程有限公司);非竞争性氧化还原酶1(Non-Q-dependent Reductase,NQO1)、NLRP3、白细

胞介素-18(interleukin-18,IL-18)抗体(批号分别为:67240-1-Ig、68102-1-Ig、10663-1-AP,武汉三鹰生物技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 过量运动模型制备

Wistar大鼠48只,在恒温动物实验室饲养,温度(23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,实验期间每日12 h光照维持昼夜循环,自由进食进水,饲养环境符合实验动物环境设施要求。将大鼠在动物房饲养1周后,进行3天的适应性游泳训练,每天训练20 min,淘汰不适个体。随后将40只大鼠,随机分成4组:正常组(normal,Nor),模型组(model,Mod),50 mg/kg OP组(OP50),100 mg/kg OP组(OP100),每组10只,自由饮水和采食。每天使用大鼠灌胃针灌胃一次,花青素的使用剂量及方式参考Yang等研究方法^[8],OP采用混悬液灌胃方式,将OP粉末放入含有0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)的生理盐水中制成混悬液,用涡旋仪充分涡旋混匀后,OP50组按体重灌胃50 mg/kg剂量的OP,OP100组按体重灌胃100 mg/kg剂量的OP,灌胃体积为5 mL/kg,Nor及Mod组灌胃等量含0.5% CMC-Na的生理盐水。

按照表1的训练安排,Nor、OP50及OP100组在特制游泳池中进行6周游泳训练,随着训练时间的推移,训练时长、负重按照表1安排逐渐递增,每周训练6 d,其中,1~3周训练时长逐日增加,4~6周,训练时长不再增加,负重每3天增加一次^[9,10]。游泳池规格为:1.5 m \times 0.8 m \times 1.0 m,水深为0.5 m,水温30~33 $^{\circ}\text{C}$,泳池内壁光滑。

1.3.2 运动损伤、炎症及氧化应激指标检测

最后一次训练结束后,用2%戊巴比妥钠麻醉大鼠,并于腹主动脉处取全血5 mL,制备血清,备用。

表1 大鼠游泳训练方案

Table 1 The program of swimming training

周次 Week	训练时长 Length of training(min)					
	第一天 Day 1	第二天 Day 2	第三天 Day 3	第四天 Day 4	第五天 Day 5	第六天 Day 6
1	20	30	40	50	60	60
2	70	75	80	85	90	90
3	95	100	105	110	115	120
4	120(+1%)	120(+1%)	120(+1%)	120(+2%)	120(+2%)	120(+2%)
5	120(+3%)	120(+3%)	120(+3%)	120(+4%)	120(+4%)	120(+4%)
6	120(+5%)	120(+5%)	120(+5%)	120(+6%)	120(+6%)	120(+6%)

注:括号内百分数表示小鼠负重游泳训练时负重占自身体重的比例。

Note:Percentage in parentheses indicates the ratio of the weight carried by mice during training to its own body weight.

取出心脏,采集左心室前壁心肌组织 0.5 g,备用。

参照 LDH、CK 及 cTnI 检测试剂盒说明书,测定血清中这 3 种运动性心肌损伤指标的水平;参照 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 检测试剂盒说明书,测定血清中这 3 种炎症因子指标水平;参照 MDA、GSH 及 SOD 检测试剂盒说明书,测定心肌组织中这 3 种氧化应激及抗氧化能力指标的水平。

1.3.3 Nrf2/HO-1 及 TXNIP/NLRP3 信号通路相关蛋白表达量测定

将“1.2.2”中的心肌组织剪碎后,加入裂解液和苯甲基磺酰氟 (phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF),置于冰上,借助机械破碎待其组织充分裂解后,12 000 \times g 离心,取上清液并煮沸后备用。利用 BCA 法测定蛋白浓度后,经上样、电泳、转膜、封闭等操作后,分别利用 Nrf2/HO-1 信号通路中 p-AMPK α 、AMPK α 、Nrf2、HO-1、NQO-1 及 GCLC 抗体, TXNIP/NLRP3 信号通路中 TXNIP、NLRP3、Caspase 1、IL-1 β 及 IL-18 抗体,以及 GAPDH 抗体为一抗,山羊抗兔 IgG-HRP 为二抗,进行蛋白免疫印迹,利用 ECL 方法曝光条带后,使用 Image Lab 软件,分析条带光密度,评估蛋白表达量。

1.3.4 心肌组织 HE 染色

将“1.2.2”中的部分心肌组织在 10% 福尔马林

固定液中固定 48 h,随后经过酒精脱水、透明处理后,将组织在石蜡块中包埋并切片,经过苏木精及伊红染色后,于光学显微镜下观察心肌组织病理变化。

1.3.5 统计学方法

利用 Excel 软件和 SPSS 25.0 进行数据的整理和统计分析。利用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 方法分析多组间的差异,Student *t* 检验分析两组之间的差异显著性,数值用均值 \pm 标准偏差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 原花青素对大鼠运动性心肌损伤的保护作用

如图 1 所示,相较于 Nor 组,Mod 组血清中心肌损伤标记物 LDH、CK 及 cTnI 水平均显著上升 ($P < 0.01$)。OP 处理后,相较于 Mod 组,OP50 及 OP100 组中以上 3 种心肌损伤标记物均显著下降 ($P < 0.01$)。心肌组织染色结果显示,Nor 组中心肌组织形态正常,而长时间过量运动后,Mod 组部分心肌纤维肿胀变形、心肌细胞排列不规则、并出现炎性浸润 (见图 2)。OP 处理后,相较于 Mod 组,心肌病理形态得到明显改善,尤其是在 OP100 组,细胞排列规则、形态趋于正常 (见图 2)。

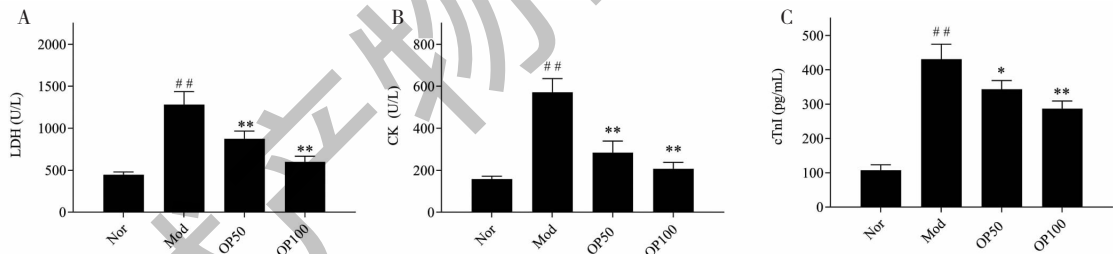


图 1 原花青素对大鼠运动性心肌损伤标记物水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effect of OP on the levels of markers of exercise-related myocardial injury in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

注:与 Nor 组比,^{##} $P < 0.01$;与 Mod 组比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,下同。Note:Compared with Nor group,^{##} $P < 0.01$;Compared with Mod group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,the same below.

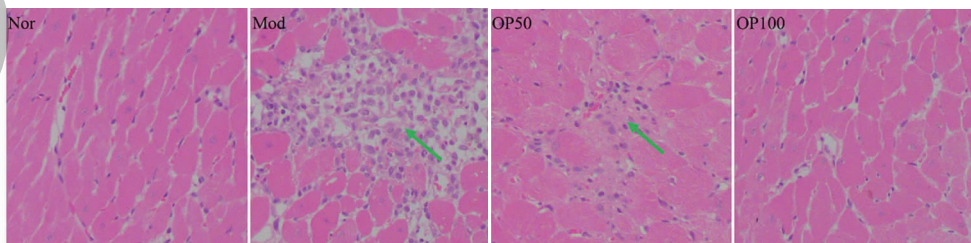


图 2 原花青素对运动心肌损伤大鼠心肌组织病理变化的影响

Fig. 2 Effects of OP on histopathological changes of exercise-induced myocardial injury in rats

注:图中箭头所指区域出现明显炎性细胞浸润。Note:Significant inflammatory cell infiltration was seen in the area indicated by the arrow in the figure.

2.2 原花青素对过量运动后大鼠心肌中氧化应激水平及抗氧化能力的影响

如图3所示,相较于Nor组,Mod组心肌中氧化应激指标MDA含量显著上升($P < 0.01$),而抗氧化

物酶GSH、SOD含量则显著下降($P < 0.01$)。OP处理后,相较于Mod组,OP50及OP100组中氧化应激指标MDA含量均显著下调($P < 0.01$),抗氧化物酶GSH、SOD含量则均显著上调($P < 0.01$)。

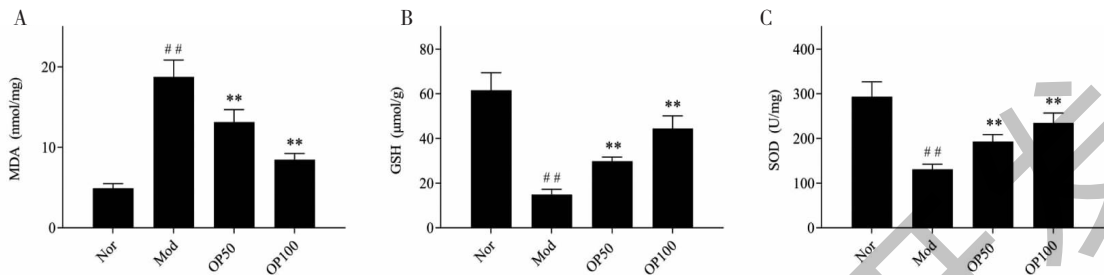


图3 原花青素对过量运动后大鼠心肌中MDA、GSH及SOD水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.3 Effects of OP on MDA,GSH and SOD levels in rat myocardium after overexercise($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.3 原花青素对过量运动后大鼠心肌中抗氧化应激 Nrf2/HO-1 信号通路的影响

如图4所示,Mod组心肌组织中抗氧化应激 Nrf2/HO-1 信号通路中关键蛋白 AMPK 的磷酸化比例显著低于 Nor 组($P < 0.01$),而 OP 处理后,OP50

及 OP100 组中,AMPK 蛋白的磷酸化比例则均显著升高($P < 0.01$)。相较于 Nor 组,Mod 组中 Nrf2、HO-1、NQO-1 及 GCLC 的蛋白表达量均显著下调($P < 0.05, P < 0.01$)。而 OP 处理后,这些 Nrf2/HO-1 通路中的关键蛋白表达量均显著上升($P < 0.05, P < 0.01$)。

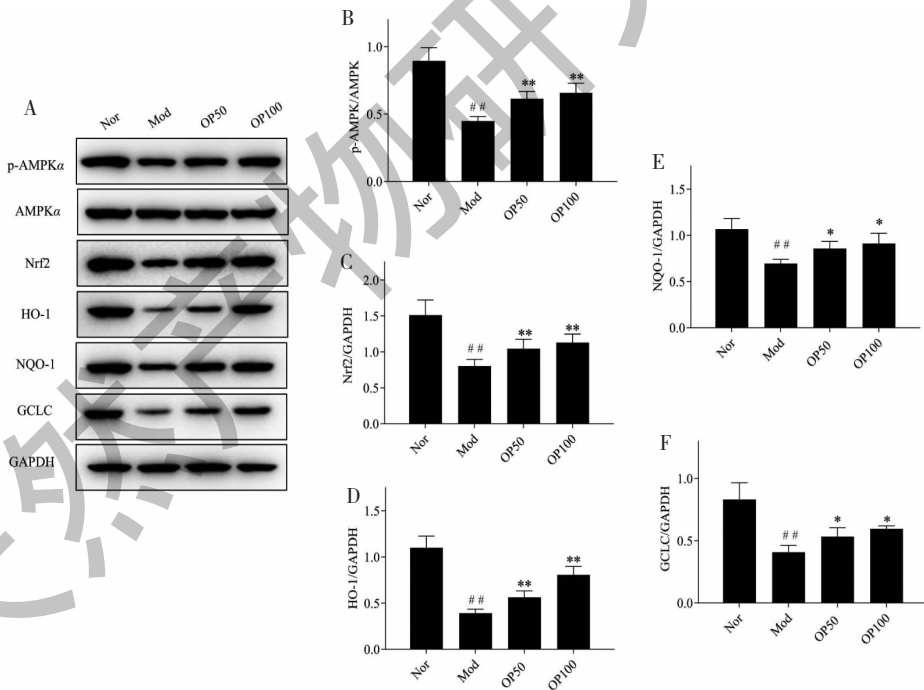


图4 原花青素对过量运动后大鼠心肌中 Nrf2/HO-1 通路蛋白表达量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.4 Effect of OP on the protein expression of Nrf2/HO-1 pathway in rat myocardium after overexercise($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.4 原花青素对过量运动后大鼠炎症反应的影响

如图5所示,相较于Nor组,Mod组血清及心肌组织中炎症反应指标IL-1β、IL-6和TNF-α含量显著

上升($P < 0.01$)。OP处理后,相较于Mod组,OP50及OP100组中这三种炎症指标均显著下调($P < 0.05, P < 0.01$)。

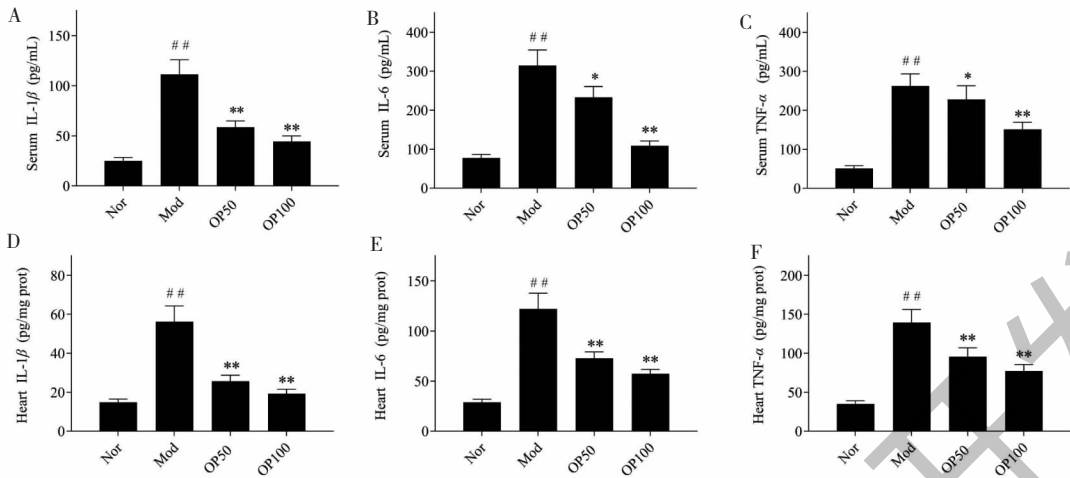


图5 原花青素对过量运动后大鼠血液及心肌组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 Effects of OP on the levels of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in serum and heart tissues of rats after excessive exercise($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.5 原花青素对过量运动后大鼠心肌中炎症反应 TXNIP/NLRP3 信号通路的影响

如图6所示, Mod组心肌组织中 TXNIP/NLRP3 炎症信号通路中 TXNIP、NLRP3、Caspase 1、IL-1 β 及 IL-18 的蛋白表达量均显著高于 Nor 组($P < 0.01$),

而 OP 处理后, OP100 组中, 这些关键蛋白的表达量均显著下调($P < 0.01$)。但当用 50 mg/kg 剂量 OP 处理时, OP50 组中仅 TXNIP、IL-1 β 及 IL-18 的蛋白表达量显著下调($P < 0.05$)。

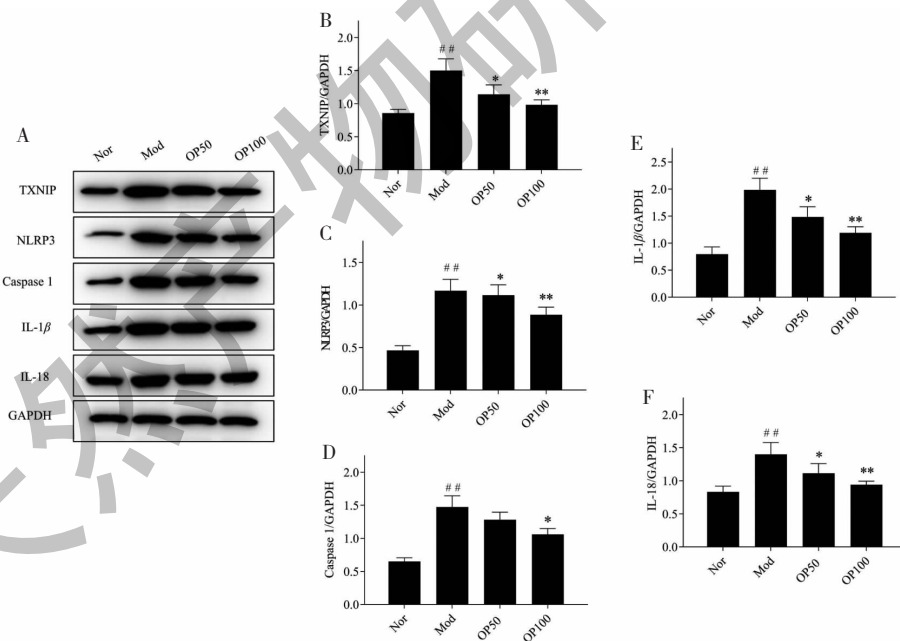


图6 原花青素对过量运动后大鼠心肌中 TXNIP/NLRP3 通路蛋白表达量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 6 Effect of OP on the protein expression of TXNIP/NLRP3 pathway in rat myocardium after overexercise($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3 讨论和结论

适量的运动可以提高身体素质, 相反, 长时间的过度运动会引起机体疲劳进而逐渐出现运动损伤。

但对于运动员而言, 长周期、高负荷的训练是保持竞技状态和提高竞技水平的必备条件^[1], 运动损伤是运动员提高竞技成绩和保持健康的一大难题。本研

究结果表明,大鼠在进行长时间的负荷游泳训练后,血清中运动性心肌损伤标记物 ALT、LDH、CK 及 cTnI 的水平显著上升,部分心肌细胞肿胀变形、排列不规则,呈明显空泡化,并伴有炎性细胞浸润,这说明心肌出现明显损伤。而在训练过程中服用 50 或 100 mg/kg 花青素前体原花青素 OP 后,血清中这些运动性心肌损伤标记物水平显著下调,运动损伤被有效阻止。OP 对过量运动时心肌损伤的保护作用源于其高效的抗氧化、抗炎特性,除了本研究中发现的抗运动性心肌损伤外,OP 对缺血再灌注时心肌细胞凋亡情况也有很好的改善作用^[11]。OP 还可以减轻机械性创伤所致的继发性心肌损伤,具体表现为心肌细胞中线粒体肿胀减少,细胞核形态恢复正常,凋亡心肌细胞数量明显减少,心脏舒张压趋于正常水平^[12]。OP 还对心肌细胞的缺氧复氧性损伤具有很好的保护作用,在缺氧大鼠模型中,服用 OP 后,心肌细胞存活率显著提高^[13]。本研究的结果是对 OP 心肌损伤保护功能很好的补充,这使临床中该补充剂的适应症更加广泛,同时,本研究也很好地佐证了 OP 对运动性损伤的保护作用,这对运动医疗具有一定帮助。

当然,需要指出的是,本研究并非首次发现 OP 对运动性损伤的改善作用,Zhang 等^[14]发现 OP 和淫羊藿联用对大鼠运动性肾缺血再灌注损伤具有很好的保护作用,肾脏中组织病理学变化减轻,水肿减少。OP 还可以减少运动性肾脏裂孔隔膜损伤,减少肾小球淤血、肿胀和红细胞渗出,减轻蛋白尿症状。另外,研究表明葡萄及黑醋栗的提取物在提高运动表现,消除运动损伤方面具有良好效果,这可能与这些食物中含有丰富的 OP 有关。但是需要指出的是,葡萄、黑醋栗中还含有白藜芦醇、单宁、类黄酮等成分,他们也具有明显的抗氧化活性^[15],因此,为了明确 OP 在各类运动损伤中是否发挥主要的保护作用,还需要观察 OP 单独使用时是否还能取得以上相似的运动损伤保护效果。此外,揭示 OP 在运动损伤保护过程中具体生物学机制也有助于更加明确 OP 对各类运动损伤的保护作用。

本研究从常见的抗氧化通路 Nrf2/HO-1 及炎症通路 TXNIP/NLRP3 入手,初步揭示了 OP 对运动性心肌损伤保护作用的背后机制。在疾病感染等不利因素下,靶向激活 Nrf2/HO-1 信号通路对细胞和组织具有明显的保护作用。AMPK 是一种腺苷酸活化蛋白激酶,它能够参与调节氧化应激反应,磷酸化后

的 AMPK 处于活化状态并能够激活 Nrf2,从而促进抗氧化因子 HO-1 的表达并加速 ROS 的清除速度。本研究结果表明,OP 对运动性心肌损伤的保护作用与激活 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路有关,服用 OP 后,AMPK 蛋白磷酸化比例显著增高,Nrf2/HO-1 信号通路中关键的抗氧化因子表达显著上调,这增强了机体的抗氧化能力,心肌组织中 GSH、SOD 等抗氧化酶的水平显著上升,氧化产物 MDA 的含量显著下降,这说明心肌组织中的氧化应激反应被明显改善,这是心肌损伤减轻的重要原因。激活 Nrf2/HO-1 信号通路是缓解运动性心肌损伤的热门方案,研究表明曲美他嗪可通过调节 Nrf2/HO-1 信号通路减轻大鼠力竭运动性心肌损伤^[16]。大麻二酚通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路缓解力竭运动训练小鼠的心肌损伤^[17,18]。天麻素通过调节 Nrf2/HO-1 通路减轻小鼠运动性疲劳^[19]。黄芩苷可通过激活 Nrf2/HO-1 通路对急性力竭运动后大鼠心肌损伤发挥明显的保护作用^[20]。

此外,OP 对运动性心肌损伤的保护作用还与抗炎有关。TXNIP/NLRP3 是在炎症反应中常见的信号通路,TXNIP 可以与 NLRP3 结合,促进 NLRP3 炎症小体的聚集和活化,导致 IL-1 β 和 IL-18 等炎症因子的释放,并最终诱导细胞凋亡^[21,22]。本研究结果表明,OP 可以抑制 TXNIP/NLRP3 信号通路的表达,减少机体的炎症反应,从而减轻心肌的炎症损伤。利用花青素的抗炎特性对抗各类损伤也是医疗健康领域的热点内容,研究表明柿子中提取的 OP 可通过调节炎症反应和氧化应激减轻紫外线诱导的皮肤损伤^[23]。在抑郁症大鼠模型中,OP 能够通过抑制 NLRP3 信号通路,提高大脑海马区的抗凋亡能力,缓解大鼠抑郁样行为^[7]。同样地,基于抑制 NLRP3 炎症小体聚集和活化的原理,OP 对脑缺血再灌注损伤、痛风、百草枯中毒所致急性肺损伤等均有良好的保护作用。

值得注意的是,虽然本研究初步揭示了 OP 对运动性心肌损伤的保护作用与激活 Nrf2/HO-1 抗氧化通路及抑制 TXNIP/NLRP3 炎症反应信号通路有关,但并未深入揭示各个通路间的动态变化,也未揭示这两条通路间的动态联系,在后续研究中,我们将重点开展相关研究,以便更详细地揭示 OP 对运动性心肌损伤的保护机制。此外,考虑到红景天苷、葡萄多酚、三叶苷等一些其他天然植物提取物也对运动性心肌损伤表现出一定的保护作用,因此,在探究

OP 保护运动性心肌损伤机制的研究中,也可多借鉴相关研究的最新进展。另外,当 OP 同其他天然提取物等联合使用时,其对组织损伤的保护效果通常更强^[24]。因此,在未来应用于改善运动性损伤时,可考虑将 OP 同其他天然产物联用,以期取得更好的保护效果。同时,可以继续挖掘 OP 在此类联用方案中的新机制,为 OP 的更广泛应用提供参考依据。

综上所述,本研究表明原花青素 OP 可改善大鼠运动性心肌损伤,这与其可激活心肌中 Nrf2/HO-1 抗氧化通路及抑制 TXNIP/NLRP3 炎症反应信号通路有关。研究结果可为后续深入发掘花青素在运动损伤方面的保护功能提供一定的理论依据,并为将花青素或者富含花青素的天然产物等开发成提高运动员运动成绩和健康水平的功能性食品提供一些基础数据。

参考文献

- Schelling X, Torres L. Accelerometer load profiles for basketball-specific drills in elite players [J]. *J Sport Sci Med*, 2016, 15:585-591.
- Hou CW, Chen IC, Shu FR, et al. Protective effect of supplementation with *Lycium ruthenicum* Murray extract from exhaustive exercise-induced cardiac injury in rats [J]. *Chin Med J*, 2019, 132:1005-1006.
- Ping Z, Zhang LF, Cui YJ, et al. The protective effects of salidroside from exhaustive exercise-induced heart injury by enhancing the PGC-1 α -NRF1/NRF2 pathway and mitochondrial respiratory function in rats [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015:876825.
- Lyall KA, Hurst SM, Cooney J, et al. Short-term blackcurrant extract consumption modulates exercise-induced oxidative stress and lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses [J]. *Am J Physiol-Reg I*, 2009, 297: R70-R81.
- Liu H, Sun J, Fei XW, et al. Research progress on physiological efficacy and analysis of procyanidins [J]. *Food Res Dev (食品研究与开发)*, 2023, 44:211-217.
- Liu YT, Che N, Li L, et al. Anthocyanins regulate the airway inflammation through Nrf2/HO-1 signaling pathway in asthmatic mice [J]. *Immunol J (免疫学杂志)*, 2019, 35:36-41.
- Zhang YH, Gao C. Procyanidin A1 alleviates hippocampal neuron injury by inhibiting NLRP3 signaling pathway in depressed rat models [J]. *J Southeast Univ: Med Sci (东南大学学报:医学版)*, 2023, 42:425-432.
- Yang B, Sun Y, Lv C, et al. Procyanidins exhibits neuroprotective activities against cerebral ischemia reperfusion injury by inhibiting TLR4-NLRP3 inflammasome signal pathway [J]. *Psychopharmacology*, 2020, 237:3283-3293.
- Cui JF, Cao JM, Zhou HT, et al. The protective effects of *Lycium ruthenicum* Murr. on exercise-induced myocardial injury in rat [J]. *China Sport Sci Technol (中国体育科技)*, 2016, 52:46-51.
- Zhang K, Cao JM, Guo X, et al. The protective effects of lycium ruthenicum murr. on exercise-related renal ischemia-reperfusion injury in rat [J]. *J Capital Univ Phys Educ Sports (首都体育学院学报)*, 2015, 27:85-89.
- Liu D. Effects of procyanidin on cardiomyocyte apoptosis after myocardial ischemia reperfusion in rats [J]. *BMC cardiovasc disor*, 2018, 18:35.
- Ma S, Chen C, Cao T, et al. Mitigation effect of proanthocyanidin on secondary heart injury in rats caused by mechanical trauma [J]. *Sci Rep*, 2017, 7:44623.
- Hu Y, Li L, Yin W, et al. Protective effect of proanthocyanidins on anoxia-reoxygenation injury of myocardial cells mediated by the PI3K/Akt/GSK-3 β pathway and mitochondrial ATP-sensitive potassium channel [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10:2051-2058.
- Zhang H, Sun XQ, Cao JM, et al. Protective effect of epimedium combined with oligomeric proanthocyanidins on exercise-induced renal ischemia-reperfusion injury of rats [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7:5730-5736.
- Haiwen L, Jia RL, Kequan Z, et al. Antioxidant activity, anti-proliferation of colon cancer cells, and chemical composition of grape pomace [J]. *Food Nutr Sci*, 2011, 2011.
- Zhang H, Liu M, Zhang Y, et al. Trimetazidine attenuates exhaustive exercise-induced myocardial injury in rats via regulation of the Nrf2/NF- κ B signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:175.
- Zhang J, Luo Z, Zhang Z, et al. Protective effect and mechanism of cannabidiol on myocardial injury in exhaustive exercise training mice [J]. *Chem Biol Interact*, 2022, 365:110079.
- Zhang Z. Protective effects of cannabidiol on myocardial injury in extensive exercise training mice and the mechanism of Keap1/Nrf2/HO-1 signaling pathway [D]. *Qinhuangdao: Yanshan Univ (燕山大学)*, 2021.
- Zhang M, Cui S, Mao B, et al. Effects and mechanism of gastrodin supplementation on exercise-induced fatigue in mice [J]. *Food Funct*, 2023, 14:787-795.
- Jin LD. Protective effects of baicalin on myocardial injury in rats after exhaustive exercise [J]. *Mol Plant Breed (分子植物育种)*, 2022, 20:2070-2075.