

研究报告

芝麻乙醇提取物对运动性疲劳大鼠心肌损伤的保护效应
及其作用机制研究李强¹, 毛羽丰²(1. 西北政法大学体育系, 陕西 西安 710122; 2. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院,
陕西 西安 710119)

摘要:目的 研究芝麻乙醇提取物(SEE)对运动性疲劳(EIF)大鼠的心脏保护作用及其对心肌生理生化指标的影响。方法 将大鼠随机分为对照组(Control)、EIF组、EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组,每组12只。对照组和EIF组大鼠连续14d每天灌胃2mL纯净水。EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组大鼠连续14d每天分别灌胃0.5、1.0和2.0g/kg·BW的SEE。通过跑步机运动建立EIF大鼠模型。运动后,检测各组大鼠的超声心动图参数(LVPWd、LVPWs、LVIDs、EF和FS)、血清心肌损伤指标(LDH、CK和cTnI)和心肌组织抗氧化指标(MDA、SOD、CAT和GSH-Px)。通过苏木精和伊红(HE)染色检测心肌形态。利用免疫印迹检测心肌组织中缝隙连接蛋白43(Cx43)、ATP 5D、磷酸化的AMP依赖的蛋白激酶(p-AMPK)和AMPK的蛋白表达。结果 与EIF组比较,EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组的LVPWd、LVPWs和LVIDs均显著降低,而EF和FS均显著升高($P<0.05$)。与EIF组比较,EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组心肌损伤明显减轻,血清LDH、CK和cTnI水平均显著降低($P<0.05$)。与EIF组比较,EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组的心肌组织MDA含量均显著降低,而SOD、CAT和GSH-Px活性均显著升高($P<0.05$)。与EIF组比较,EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组的心肌组织Cx43、ATP 5D和p-AMPK/AMPK蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。结论 SEE有效预防了EIF大鼠的心肌损伤并改善了心脏功能,SEE可能通过改善心肌组织中的抗氧化系统、缝隙连接、能量代谢和线粒体生物发生来发挥心脏保护作用。

关键词:芝麻乙醇提取物; 运动性疲劳; 抗氧化; 缝隙连接; 能量代谢; 线粒体生物发生

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2023)02-0156-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2023.02.002

Protective effect and mechanism of ethanol extract of sesame on myocardial injury in rats with exercise-induced fatigueLI Qiang¹, MAO Yufeng²

(1. Department of Physical Education, Northwest University of Political Science and Law, Shaanxi Xi'an 710122, China; 2. College of Food Engineering & Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Shaanxi Xi'an 710119, China)

Abstract: Objective To study the cardioprotective effect of sesame ethanol extract (SEE) on exercise-induced fatigue (EIF) rats and its effects on myocardial physiological and biochemical parameters. **Methods** Rats were randomly divided into control group (Control), EIF group, EIF+0.5SEE group, EIF+1SEE group and EIF+2SEE group, with 12 rats in each group. The rats in control group and EIF group were daily intragastrically administered 2 mL of purified water for 14 consecutive days. Rats in EIF+0.5SEE group, EIF+1SEE group and EIF+2SEE group were given 0.5, 1.0 and 2.0 g/kg·BW of SEE daily for 14 consecutive days. Then the EIF rat model was established by treadmill exercise. After exercise, the echocardiographic parameters (LVPWd, LVPWs, LVIDs, EF and FS), serum myocardial injury indexes (LDH, CK and cTnI) and myocardial tissue antioxidant indexes (MDA, SOD, CAT and GSH-Px) of the rats in each group were detected. Myocardial morphology was detected by hematoxylin and eosin (HE) staining. The protein expressions of connexin 43 (Cx43), ATP 5D, phosphorylated AMP-dependent protein kinase (p-AMPK) and AMPK in myocardial tissue were detected by Western blot. **Results** Compared with EIF group, the LVPWd, LVPWs and LVIDs of EIF+0.5SEE group, EIF+1SEE group and EIF+2SEE group decreased, while EF and FS increased significantly ($P<0.05$). Compared with

EIF group, the myocardial injury in EIF+0.5SEE group, EIF+1SEE group and EIF+2SEE group was significantly alleviated, and the levels of serum LDH, CK and cTnI decreased significantly ($P<0.05$). Compared with EIF group, the myocardial tissue MDA content in EIF+0.5SEE group, EIF+1SEE group and EIF+2SEE group decreased significantly, while the activities of SOD, CAT and GSH-Px increased significantly ($P<0.05$). Compared with EIF group, the expression levels of Cx43, ATP 5D and p-AMPK/AMPK protein in myocardial tissue of EIF+0.5SEE group, EIF+1SEE group and EIF+2SEE group all increased significantly ($P<0.05$). **Conclusion** SEE can effectively prevent myocardial injury and improve cardiac function in EIF rats. SEE may exert cardioprotective effects by improving antioxidant system, gap junctions, energy metabolism and mitochondrial biogenesis in myocardial tissue.

Key words: Sesame ethanolic extract; exercise-induced fatigue; antioxidant; gap junctions; energy metabolism; mitochondrial biogenesis

长时间或剧烈运动会引起疲劳,并对心脏功能产生不利影响^[1]。运动性心脏疲劳特征是左室收缩和舒张期功能下降,并伴随多种心肌生理生化指标的异常^[1-3]。有研究显示,长时间或剧烈运动过程中,为满足运动所需的每搏输出量,左室射血分数(Ejection fraction, EF)增加^[5],心输出量提高,增加了心肌肥厚的风险^[4]。从长远来看,心肌肥厚增加了个体发生心力衰竭、心律失常和猝死的风险。因此,开发具有心脏保护功能的高安全性天然药物可降低运动性疲劳引起的心肌损伤。芝麻(*Sesamum indicum* L.)是重要的油料作物之一,芝麻的种类很多,包括白芝麻、黄白芝麻、黑芝麻、杂色芝麻等。黑芝麻除具有含油量高、风味浓郁等特征外,还含有脂肪酸、维生素、蛋白质、矿物质和木脂素等主要活性成分^[6]。此外,黑芝麻具有多种药用价值,包括补肝健肾、养血润肠等^[7-8]。研究发现,黑芝麻比白芝麻表现出更强的抗氧化活性^[9]。芝麻中含有多种对人体有益的功能成分,例如芝麻素能有效抑制氧化应激产物丙二醛(Malondialdehyde, MDA)的合成,并提高抗氧化酶超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(Catalase, CAT)的活性^[10]。另外,芝麻提取物及其所含化学成分具有心肌保护、抗氧化、抗炎、保肝等作用^[11-13]。芝麻酚通过调节线粒体脂质代谢改善 C57BL/6J 小鼠饮食诱导的肥胖,抑制 3T3-L1 细胞的脂肪生成^[11]。芝麻素可减轻高脂饮食大鼠的肝脏脂肪变性和炎症^[12]。芝麻素预处理可减轻大鼠心肌缺血-再灌注损伤^[13]。目前,尚无文献报道芝麻提取物作为抗疲劳药食同源材料的开发潜力。因此,本研究旨在揭示芝麻乙醇提取物(Sesame ethanol extract, SEE)对运动性疲劳(Exercise-induced fatigue, EIF)大鼠心肌生理生化指标的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

雄性无特定病原体(SPF)级 Sprague-Dawley(SD)

大鼠,体质量 220~280 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证:SCXK(京)2021-0006。实验地点为陕西师范大学实验动物中心,使用许可证:SYXK(陕)2021-003。大鼠饲养在温度(22 ± 2)℃、相对湿度 55%±5% 的 SPF 级动物房里,光照-黑暗周期为 12 h:12 h,自由饮用标准饲料和水。本研究已获得陕西师范大学伦理审查委员会批准,伦理审查标号:(2021)科研第(23)号。

1.1.2 主要仪器与试剂

RE52CS-1 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), LiChrosorb C18 柱(德国默克), Waters 2695 HPLC 系统(美国 Waters), Vevo 770 高分辨率小动物超声影像系统(加拿大 Visual Sonics), YLS-15A 大鼠转轮式跑步机(东莞博之远生物科技发展有限公司)。

芝麻素(产品批号:Q110303,美国 Sigma-Aldrich), 苏木精和伊红(Hematoxylin and eosin, HE)染色试剂盒(产品批号:C0105S,碧云天生物计数研究所),乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH, 产品批号:E-EL-R2547c)、肌酸激酶(Creatine kinase, CK, 产品批号:E-EL-R1327c)和心肌肌钙蛋白 I(Cardiac troponin I, cTnI, 产品批号:E-EL-H0649c)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司),丙二醛(Malondialdehyde, MDA, 产品批号:A003-2-2)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD, 产品批号:A001-1-2)、过氧化氢酶(Catalase, CAT, 产品批号:A007-1-1)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px, 产品批号:A005-1-2)检测试剂盒、蛋白质提取试剂盒(产品批号:W034-1-1)购自南京建成生物工程研究所, GAPDH(产品批号:ab8245)、缝隙连接蛋白 43(Connexin 43, Cx43, 产品批号:ab217676)、ATP 5D(产品批号:ab174438)、磷酸化的 AMP 依赖的蛋白激酶(Phosphorylated AMP-dependent protein kinase, p-AMPK, 产品批号:ab92701)、AMPK 一抗(产品批号:ab32047)、IgG H&L(HRP)二抗(产品批号:ab6702)购自英国 Abcam。

1.1.3 SEE提取及主要成分分析

将黑芝麻粉碎,取1 kg黑芝麻粉用10 000 mL 95%乙醇25℃提取10 d,重复2次。再将提取液在50℃下用RE52CS-1旋转蒸发器浓缩,共得到25.2 mL提取物(即SEE),密度为0.84 g/mL,按提取过程中所用种子的质量计算,得率为2.12%(以黑芝麻干质量计)。SEE -20℃储存。

参考文献[14]方法,使用LiChrosorb C₁₈柱(4.6 mm i. d. × 250 mm, 5 μm)在配备光电二极管阵列检测器的Waters 2695 HPLC系统上分析SEE。采用梯度洗脱,流动相为(A)甲醇/(B)蒸馏水:30%~100% A(0~60 min),流速为1.0 mL/min。柱温124℃,检测波长280 nm。将0.1 mL SEE溶解于1 mL甲醇中,用0.2 μm尼龙过滤器过滤,20 μL稀释液进样分析。以标准物质为参照构建标准曲线,测定SEE中芝麻素的含量。芝麻素的含量为15.35%。这一结果与之前的研究相似^[15]。

1.2 方法

1.2.1 EIF动物模型的建立及动物分组处理

大鼠在YLS-15A大鼠转轮式跑步机上适应跑步2 d,跑步参数为15 m/min,60 min/d,跑台角度为0。将大鼠按随机数字表法分为5组:对照组(Control)、EIF组、EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组,每组12只。通过进行6周跑台运动建立EIF大鼠模型,跑台速度每周依次设定为15、22、27、32、35和35 m/min,运动时间每周依次设定为20、25、30、35、40和50 min。在运动最后2周,将SEE用纯净水稀释制备混悬液,对照组和EIF组大鼠每天灌胃2 mL纯净水,连续14 d。EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组大鼠每天分别灌胃2 mL 0.5、1.0和2.0 g/kg·BW的SEE,连续14 d。除Control组大鼠之外,其他组大鼠分别进行6周跑台运动。

1.2.2 超声心动图分析

使用带有17.5 MHz线性阵列传感器的Vevo 770高分辨率小动物超声影像系统评估大鼠左心室功能。测量以下参数作为心脏功能的指标:舒张末期的左心室后壁厚度(Left ventricular posterior wall thickness at the end of diastole, LVPWd)、收缩末期的左心室后壁厚度(Left ventricular posterior wall thickness at the end of systole, LVPWs)、左心室收缩末期内径(Left ventricular end-systolic diameter, LVIDs)、EF和缩短分数(Fractional shortening, FS)。

1.2.3 心肌损伤的评估

采集大鼠尾部静脉血样0.5 mL,4 000 r/min离心10 min,离心半径为6 cm,分离血清。根据试剂

盒说明测定血清LDH、CK和cTnI水平以评估心肌损伤。

1.2.4 免疫印迹(Western blot)检测

从左心室相同区域收集约100 mg心肌组织,该区域位于心尖上方7 mm处。将组织剪碎,用蛋白质提取试剂盒提取组织总蛋白。在10% SDS-PAGE上分离蛋白并转移到聚偏二氟乙烯膜上。在室温下用5%脱脂牛奶封闭膜2 h,然后将膜在4℃下与抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内参蛋白、Cx43、ATP 5D、p-AMPK、AMPK一抗孵育过夜,一抗均按1:1 000稀释。再将膜与1:1 000稀释的IgG H&L (HRP)二抗在室温下孵育1 h,并使用ECL溶液显影。GAPDH作为内参蛋白。

1.2.5 组织学染色

用2%戊巴比妥钠(60 mg/kg·BW)腹腔注射麻醉大鼠,分离大鼠心脏并在4%多聚甲醛溶液中固定48 h,然后进行石蜡切片(5 μm)。按照试剂盒说明对切片进行HE染色。

1.2.6 心肌组织抗氧化指标测定

根据试剂盒说明检测心肌组织抗氧化指标。用黄嘌呤氧化酶法测定SOD、硫代巴比妥酸法(TBA法)测定MDA,用紫外分光光度法测定CAT,用二巯基双硝基苯甲酸法测定GSH-Px。

1.3 统计学分析

所有数据均表示为平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)。使用单因素方差分析进行统计分析,使用LSD事后检验进行多重比较。使用GraphPad Prism 8软件分析数据。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 SEE对EIF大鼠心脏功能的影响

超声心动图分析结果显示,与Control组比较,EIF组的LVPWd、LVPWs和LVIDs均显著升高,而EF和FS均显著降低($P < 0.05$)。与EIF组比较,EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组的LVPWd、LVPWs和LVIDs均显著降低,而EF和FS均显著升高($P < 0.05$)。见表1。

2.2 SEE对EIF大鼠心肌损伤的影响

HE染色结果显示(图1),Control组心肌结构排列规则,心肌纤维正常,无坏死。与Control组比较,EIF组大鼠心肌纤维出现断裂、坏死的现象,并伴有炎性细胞浸润。EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组心肌损伤明显轻于EIF组,心肌纤维断裂、坏死和炎性细胞浸润较少。

与Control组比较,EIF组的血清LDH、CK和

表1 各组大鼠的超声心动图参数水平

Table 1 Echocardiographic parameter levels of rats in each group

分组	LVPWd/mm	LVPWs/mm	LVIDs/mm	EF	FS
Control	2.03±0.14	3.12±0.22	2.98±0.21	81.06±5.67	51.46±3.60
EIF	2.86±0.27*	3.94±0.37*	4.05±0.38*	61.38±5.71*	30.86±2.87*
EIF+0.5SEE	2.71±0.17#	3.72±0.24#	3.61±0.23#	70.92±4.54#	42.78±2.74#
EIF+1SEE	2.52±0.22#	3.55±0.31#	3.42±0.29#	74.65±6.42#	46.44±3.99#
EIF+2SEE	2.36±0.18#	3.41±0.27#	3.33±0.26#	77.96±6.08#	48.94±3.82#
F	30.751	14.038	23.577	21.228	65.888
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: *与 Control 组相比, $P<0.05$; #与 EIF 组相比, $P<0.05$

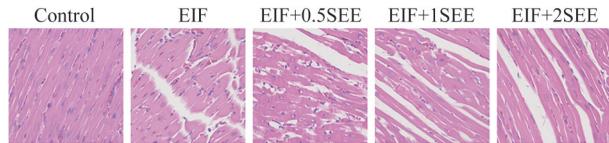


图1 各组大鼠心肌组织HE染色(×200)

Figure 1 HE staining of myocardial tissue of rats in each group

cTnI 水平均显著升高 ($P<0.05$)。与 EIF 组比较, EIF+0.5SEE 组、EIF+1SEE 组和 EIF+2SEE 组的血清 LDH、CK 和 cTnI 水平均显著降低 ($P<0.05$)。见表 2。

2.3 SEE 对 EIF 大鼠心肌组织抗氧化指标的影响

与 Control 组比较, EIF 组的心肌组织 MDA 含量升高, 而 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性均显著降低

表2 各组大鼠的血清心肌损伤指标水平

Table 2 Serum myocardial injury index levels of rats in each group

分组	LDH/(U/L)	CK/(U/L)	cTnI/(pg/mL)
Control	1 897.65±132.84	1 635.87±114.51	112.65±7.89
EIF	2 825.65±262.79*	2 574.79±239.46*	208.64±19.40*
EIF+0.5SEE	2 367.48±151.52#	2 154.86±137.91#	163.58±10.47#
EIF+1SEE	2 217.79±190.73#	1 956.64±168.27#	145.32±12.50#
EIF+2SEE	2 161.76±168.62#	1 768.48±137.94#	133.70±10.43#
F	40.273	59.291	97.147
P	<0.001	<0.001	<0.001

注: *与 Control 组相比, $P<0.05$; #与 EIF 组相比, $P<0.05$

($P<0.05$)。与 EIF 组比较, EIF+0.5SEE 组、EIF+1SEE 组和 EIF+2SEE 组的心肌组织 MDA 含量均显著降低, 而 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性均显著升高 ($P<0.05$)。见表 3。

表3 各组大鼠心肌组织抗氧化指标水平

Table 3 Levels of antioxidant indexes in myocardial tissue of rats in each group

分组	SOD/(U/mg prot)	MDA/(nmol/mg prot)	CAT/(U/g prot)	GSH-Px/(U/0.1 mL)
Control	89.76±6.28	8.13±0.57	0.15±0.01	48.68±3.41
EIF	80.21±7.46*	10.76±1.00*	0.11±0.01*	44.34±4.12*
EIF+0.5SEE	87.87±5.62#	9.13±0.58#	0.16±0.01#	47.87±3.06#
EIF+1SEE	89.96±7.74#	8.13±0.70#	0.17±0.01#	48.59±4.18#
EIF+2SEE	92.55±7.22#	7.32±0.57#	0.19±0.01#	49.64±3.87#
F	5.550	42.298	105.600	3.570
P	<0.001	<0.001	<0.001	0.012

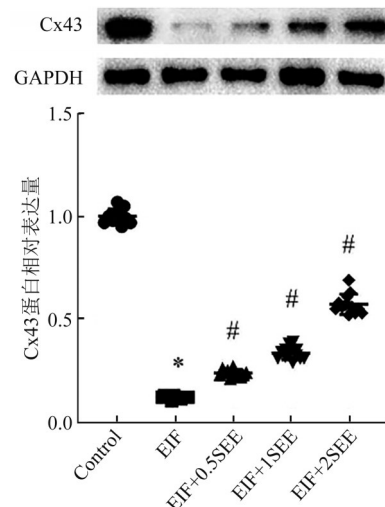
注: *与 Control 组相比, $P<0.05$; #与 EIF 组相比, $P<0.05$

2.4 SEE 对 EIF 大鼠心肌组织 Cx43 和 ATP 5D 蛋白表达及 AMPK 信号通路活化的影响

各组大鼠心肌组织 Cx43 蛋白表达水平差异显著 ($F=1 481.340, P<0.001$)。与 Control 组比较, EIF 组的心肌组织 Cx43 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$)。与 EIF 组比较, EIF+0.5SEE 组、EIF+1SEE 组和 EIF+2SEE 组的心肌组织 Cx43 蛋白表达水平均显著升高 ($P<0.05$)。见图 2。

各组大鼠心肌组织 ATP 5D 蛋白表达水平差异显著 ($F=319.059, P<0.001$)。与 Control 组比较, EIF 组的心肌组织 ATP 5D 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$)。与 EIF 组比较, EIF+0.5SEE 组、EIF+1SEE 组和 EIF+2SEE 组的心肌组织 ATP 5D 蛋白表达水平均显著升高 ($P<0.05$)。见图 3。

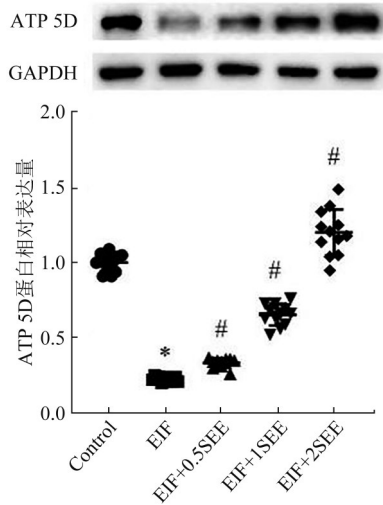
各组大鼠心肌组织 AMPK 蛋白磷酸化水平差异显著 ($F=328.434, P<0.001$)。与 Control 组比较,



注: *与 Control 组相比, $P<0.05$; #与 EIF 组相比, $P<0.05$

图2 各组大鼠心肌组织 Cx43 的蛋白表达水平

Figure 2 Protein expression levels of Cx43 in myocardial tissue of rats in each group

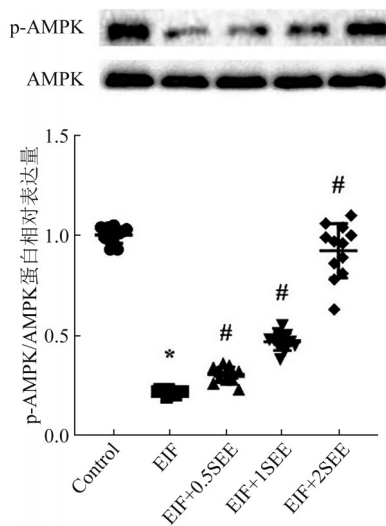


注: *与Control组相比, $P < 0.05$; #与EIF组相比, $P < 0.05$

图3 各组大鼠心肌组织ATP 5D的蛋白表达水平

Figure 3 Protein expression levels of ATP 5D in myocardial tissue of rats in each group

EIF组的心肌组织 p-AMPK/AMPK 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。与EIF组比较, EIF+0.5SEE组、EIF+1SEE组和EIF+2SEE组的心肌组织 p-AMPK/AMPK 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$)。见图3。



注: *与Control组相比, $P < 0.05$; #与EIF组相比, $P < 0.05$

图4 各组大鼠心肌组织AMPK的磷酸化水平

Figure 4 Phosphorylation levels of AMPK in myocardial tissue of rats in each group

3 讨论

天然药物在缓解运动性疲劳方面具有良好效果。例如仙鹤草提取物通过干预机体能量代谢、保护缺氧组织来缓解运动性疲劳小鼠的中枢疲劳并提高耐缺氧能力^[16]。人参水提物通过改善游泳大鼠能量代谢异常、氧化应激、脂质过氧化、炎症反应、胆汁酸、氨基酸、脂肪酸和脂质的代谢紊乱以及肠

道菌群失调,从而缓解运动性疲劳^[17]。芝麻中富含多种生物活性物质,其中包括芝麻素。有文献报道芝麻素具有心肌保护作用,如芝麻素可减轻肾性高血压伴高血脂大鼠的心肌肥厚^[18],并且抑制AngII诱导的心肌成纤维细胞增殖和胶原合成^[19]。芝麻素预处理可减轻大鼠心肌缺血-再灌注损伤,降低血清cTnI和LDH水平,其机制与增强机体抗氧化能力、激活蛋白激酶B/内皮型一氧化氮合酶信号通路、增加一氧化氮合成,抑制心肌细胞凋亡有关^[13]。由于芝麻素是一种SEE中的药效成分,因此,本研究推测SEE可作为一种心脏保护药食同源材料应用于EIF的预防。为验证这一推论,本研究建立了EIF大鼠模型。该模型大鼠主要表现为毛色暗淡、食欲下降、活动性降低、对刺激不敏感等特征,符合EIF的临床表现。对EIF大鼠分别连续14d灌胃0.5、1.0和2.0g/kg的SEE,超声心动图检测结果表明,SEE改善了EIF大鼠的心脏功能,表现为LVPWd、LVPWs和LVIDs均明显降低,而EF和FS均明显升高。HE染色结果表明,SEE减轻了EIF大鼠的心肌损伤。另外,EIF大鼠血清LDH、CK和cTnI水平的降低也证实了SEE的心脏保护作用。这些结果首次证实了SEE对EIF大鼠的心脏保护功能,其有望成为一种新型抗疲劳药食同源材料。

人体内存在两种抗氧化防御系统。一种是酶防御系统,如SOD、GSHPx、CAT和谷胱甘肽还原酶。另一种是非酶防御系统,如维生素C、维生素E和谷胱甘肽。通常,身体在自由基的产生和去除之间保持动态平衡。但在过度运动条件下,体内自由基显著增加。当脂质过氧化水平超过机体的抗氧化能力时,会导致氧化应激的发生,直接导致生物膜损伤,细胞内蛋白质退化,从而导致细胞死亡和组织损伤。为进一步揭示SEE对EIF的心脏保护机制,本研究考察了EIF大鼠心肌组织中的抗氧化指标变化,结果表明,0.5、1.0和2.0g/kg的SEE均有效降低了EIF大鼠心肌组织中的MDA含量,并提高了SOD、CAT和GSH-Px活性。因此,SEE对EIF的心脏保护机制与其抗氧化活性密切相关。

缝隙连接提供细胞之间的连接和通信,允许离子和小分子(如ATP)通过,这对心肌细胞的同步收缩至关重要。

Cx43是一种在心肌细胞中表达的缝隙连接蛋白,已知其分布在心肌细胞表面,当心肌损伤或发生肥厚时表达减少^[20]。本研究观察到EIF大鼠心肌组织中Cx43的表达减少,然而,0.5、1.0和2.0g/kg的SEE给药均有效升高了EIF大鼠心肌组织中Cx43的表达。因此,SEE改善缝隙连接可能也是一种心

脏保护机制。

在肥厚型心肌病患者中发现了能量平衡的改变^[21]。有研究表明,能量代谢受损通过发生在心肌肥厚^[22]和收缩异常^[23]之前。根据这些报道,本研究观察到 EIF 大鼠的心肌能量代谢紊乱,表现为 ATP 5D 表达减少。然而,0.5、1.0 和 2.0 g/kg 的 SEE 给药均有效升高了 EIF 大鼠心肌组织中 ATP 5D 的表达。因此,SEE 的心脏保护机制与其改善心脏能量代谢有关。

能量代谢受一系列蛋白质的调节。运动刺激心肌细胞的收缩活动,从而诱导线粒体生物发生并增加葡萄糖的运输能力。AMPK 是重要的线粒体生物发生调控蛋白。激活的 AMPK 诱导 PGC-1 的表达,并通过增加其下游蛋白 NRF-1^[24]的表达来促进线粒体生物发生^[25]。此外,AMPK 的激活还可增加细胞内 ATP 水平、线粒体代谢、线粒体钙摄取和氧气消耗^[26]。AMPK 可以抑制 mTORC1,减轻血管紧张素 II 诱导的和压力超负荷诱导的小鼠病理性肥厚和心力衰竭^[27]。抑制 AMPK 会加剧病理性肥厚和心力衰竭,而激活 AMPK 可以预防病理性肥厚^[28]。本研究观察到 EIF 大鼠心肌组织中 AMPK 的磷酸化水平降低。然而,0.5、1.0 和 2.0 g/kg 的 SEE 给药均有效升高了 EIF 大鼠心肌组织 AMPK 的磷酸化水平。因此,SEE 的心脏保护机制与其对 AMPK 的激活有关。

综上所述,SEE 有效预防了 EIF 大鼠的心肌损伤并改善了心脏功能,SEE 可能通过改善心肌组织中的抗氧化系统、缝隙连接、能量代谢和线粒体生物发生来发挥心脏保护作用。SEE 可能是一种具有较高应用价值的药食同源材料,值得深入开发。

参考文献

- [1] DAWSON E, GEORGE K, SHAVE R, et al. Does the human heart fatigue subsequent to prolonged exercise? [J]. *Sports Medicine: Auckland, N Z*, 2003, 33(5): 365-380.
- [2] KONDASHEVSKAYA M V, TSEYLIKMAN V E, KOMELKOVA M V, et al. Physical fatigue and morphofunctional state of the myocardium in experimental chronic stress [J]. *Doklady Biological Sciences*, 2019, 485(1): 30-32.
- [3] VITIELLO D, PALACIN F, POINSARD L, et al. Marathon-induced cardiac fatigue: A review over the last decade for the preservation of the athletes' health [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(16): 8676.
- [4] BRYDE R, APPLEWHITE A I, ABU DABRH A M, et al. Cardiac structure and function in elite female athletes: A systematic review and meta-analysis [J]. *Physiological Reports*, 2021, 9(23): e15141.
- [5] ENGEL D J, SCHWARTZ A, HOMMA S. Athletic cardiac remodeling in US professional basketball players [J]. *JAMA Cardiology*, 2016, 1(1): 80-87.
- [6] KANU P J. Biochemical analysis of black and white sesame seeds from China [J]. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, 1(2): 145-157.
- [7] 杨雪, 郝二伟, 张帆, 等. 种子类中药及其活性成分改善动脉粥样硬化的作用机制研究 [J]. *中国药房*, 2020, 31(7): 884-889.
YANG X, HAO E W, ZHANG F, et al. Study on the mechanism of seed Chinese Medicine and its active components in improving atherosclerosis [J]. *China Pharmacy*, 2020, 31(7): 884-889.
- [8] 张江山, 张振凌, 林秀敏, 等. 基于可视化思维探讨黑芝麻炮制历史沿革及现代研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(18): 4528-4536.
ZHANG J S, ZHANG Z L, LIN X M, et al. Discussion on historical evolution and modern research progress of Sesami Semen Nigrum processing based on visual thinking [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(18): 4528-4536.
- [9] ZHOU L, LIN X H, ABBASI A M, et al. Phytochemical contents and antioxidant and antiproliferative activities of selected black and white sesame seeds [J]. *BioMed Research International*, 2016, 2016: 8495630.
- [10] 饶海军, 唐向阳, 周远辉, 等. 芝麻素通过抑制氧化应激以及抗凋亡作用保护大鼠脊髓损伤 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2018, 13(5): 244-246.
RAO H J, TANG X Y, ZHOU Y H, et al. Sesame protects spinal cord injury in rats by inhibiting oxidative stress and anti-apoptosis [J]. *Neural Injury and Functional Reconstruction*, 2018, 13(5): 244-246.
- [11] LIU Z G, QIAO Q L, SUN Y L, et al. Sesamol ameliorates diet-induced obesity in C57BL/6J mice and suppresses adipogenesis in 3T3-L1 cells via regulating mitochondria-lipid metabolism [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2017, 61(8): 1600717.
- [12] ZHANG R J, YU Y, HU S K, et al. Sesamin ameliorates hepatic steatosis and inflammation in rats on a high-fat diet via LXR α and PPAR α [J]. *Nutrition Research*, 2016, 36(9): 1022-1030.
- [13] 赵梦秋, 涂鹏程, 任尤楠, 等. 芝麻素预处理激活 Akt/eNOS 通路减轻大鼠心肌缺血-再灌注损伤 [J]. *中药材*, 2016, 39(7): 1633-1637.
ZHAO M Q, TU P C, REN Y N, et al. Sesamin preconditioning attenuates myocardial ischemia reperfusion injury in rats through activation of Akt/eNOS signaling pathway [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2016, 39(7): 1633-1637.
- [14] YANG Y, WANG J J, ZHANG Y M, et al. Black sesame seeds ethanol extract ameliorates hepatic lipid accumulation, oxidative stress, and insulin resistance in fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(40): 10458-10469.
- [15] RYU S N, HO C T, OSAWA T. High performance liquid chromatographic determination of antioxidant lignan glycosides in some varieties of sesame [J]. *Journal of Food Lipids*, 1998, 5

- (1): 17-28.
- [16] 康林之, 罗云, 邵峰, 等. 仙鹤草不同提取物对小鼠运动性疲劳及耐缺氧能力的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(19): 2094-2097.
- KANG L Z, LUO Y, SHAO F, et al. Effect of different extraction of *Agrimonia Pilosa* Ledeb on exercise fatigue and hypoxia tolerance in mice [J]. *Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2020, 29 (19) : 2094-2097.
- [17] ZHOU S S, ZHOU J, XU J D, et al. Ginseng ameliorates exercise-induced fatigue potentially by regulating the gut microbiota [J]. *Food & Function*, 2021, 12(9): 3954-3964.
- [18] 孔祥, 杨解人, 郭莉群, 等. 芝麻素对肾性高血压伴高血脂大鼠心肌肥厚的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12): 44-47.
- KONG X, YANG J R, GUO L Q, et al. Effects of sesamin on myocardial hypertrophy in renal hypertensive-hyperlipidemia rats [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2008, 14(12): 44-47.
- [19] 曹雨朦, 郑书国, 赵梦秋, 等. 芝麻素对AngII诱导的心肌成纤维细胞增殖和胶原分泌的影响[J]. 皖南医学院学报, 2015, 34(2): 107-109.
- CAO Y M, ZHENG S G, ZHAO M Q, et al. Effect of sesamin on collagen secretion and cardiac fibroblasts proliferation induced by angiotensin II [J]. *Acta Academiae Medicinae Wannan*, 2015, 34(2): 107-109.
- [20] TEUNISSEN B E J, JONGSMA H J, BIERHUIZEN M F A. Regulation of myocardial connexins during hypertrophic remodelling [J]. *European Heart Journal*, 2004, 25(22): 1979-1989.
- [21] SHIVU G N, ABOZGUIA K, PHAN T T, et al. 31P magnetic resonance spectroscopy to measure *in vivo* cardiac energetics in normal myocardium and hypertrophic cardiomyopathy: Experiences at 3 T [J]. *European Journal of Radiology*, 2010, 73 (2) : 255-259.
- [22] CRILLEY J G, BOEHM E A, BLAIR E, et al. Hypertrophic cardiomyopathy due to sarcomeric gene mutations is characterized by impaired energy metabolism irrespective of the degree of hypertrophy [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2003, 41(10): 1776-1782.
- [23] ABRAHAM M R, BOTTOMLEY P A, DIMAANO V L, et al. Creatine kinase adenosine triphosphate and phosphocreatine energy supply in a single kindred of patients with hypertrophic cardiomyopathy [J]. *The American Journal of Cardiology*, 2013, 112(6): 861-866.
- [24] WANG S X, FU C Y, WANG H, et al. Polymorphisms of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha gene are associated with hypertrophic cardiomyopathy and not with hypertension hypertrophy [J]. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2007, 45(8): 962-967.
- [25] KAHN B B, ALQUIER T, CARLING D, et al. AMP-activated protein kinase: Ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism [J]. *Cell Metabolism*, 2005, 1 (1): 15-25.
- [26] TRONCOSO R, VICENCIO J M, PARRA V, et al. Energy-preserving effects of IGF-1 antagonize starvation-induced cardiac autophagy [J]. *Cardiovascular Research*, 2011, 93(2): 320-329.
- [27] SHIOI T, MCMULLEN J R, TARNAVSKI O, et al. Rapamycin attenuates load-induced cardiac hypertrophy in mice [J]. *Circulation*, 2003, 107(12): 1664-1670.
- [28] NAKAMURA M, SADOSHIMA J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy [J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2018, 15(7): 387-407.