延胡索总生物碱对糖尿病心肌病大鼠铜死亡的调控作用及机制Δ

李　君*，齐雅芝，唐　娅，曹　睿，徐　强，韩玉生#（黑龙江中医药大学基础医学院，哈尔滨　150040）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）07-0801-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.07.06

摘　要　目的　基于沉默信息调节因子1（Sirt1）/肿瘤抑制因子53（P53）信号通路，探讨延胡索总生物碱（TAC）对糖尿病心肌病（DCM）大鼠铜死亡的调控作用及机制。**方法**　采用高脂高糖饲料喂养+腹腔注射链脲佐菌素建立DCM大鼠模型。取32只造模成功的大鼠随机分为模型组和TAC低、中、高剂量组（7、10.5、14 mg/kg），每组8只。另取8只大鼠以正常饲料喂养作为正常对照组。各组大鼠灌胃相应药物或生理盐水，每天1次，连续4周。末次给药后，检测大鼠空腹血糖（FBG）水平；检测大鼠血清和心肌组织中肌酸激酶（CK）、CK同工酶MB（CK-MB）、乳酸脱氢酶（LDH）水平；观察大鼠心肌组织病理学形态、纤维化程度及Cu^{2+}沉积情况；检测大鼠心肌组织中Cu^{2+}、谷胱甘肽（GSH）水平以及Sirt1/P53信号通路相关蛋白[Sirt1、P53、溶质家族载体7成员11（SLC7A11）]、铁硫簇相关蛋白[铁氧还蛋白1（FDX1）、硫辛酸合成酶（LIAS）、线粒体乌头酸酶2（ACO2）、泛醌氧化还原酶核心亚基S8（NDUFS8）、二氢硫辛酸乙酰基转移酶（DLAT）、二氢硫辛酸二酰基转移酶（DLST）]、热休克蛋白70（HSP70）表达水平。**结果**　与正常对照组相比，模型组大鼠FBG水平，血清和心肌组织中CK、CK-MB、LDH水平，心肌组织中Cu^{2+}水平以及P53、HSP70蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）；心肌组织中GSH水平和Sirt1、SLC7A11、FDX1、LIAS、ACO2、NDUFS8、DLAT、DLST蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）；心肌组织病理损伤严重，出现较多炎症细胞浸润，且纤维化明显，Cu^{2+}沉积增多。与模型组比较，TAC各剂量组大鼠上述大部分定量指标均显著逆转（$P<0.05$）；心肌组织病理损伤减轻，纤维化和Cu^{2+}沉积减少。**结论**　TAC可改善大鼠DCM，其作用机制可能与激活Sirt1/P53信号通路活性，促进GSH与Cu^{2+}的螯合作用，抑制心肌细胞铜死亡有关。

关键词　延胡索总生物碱；糖尿病心肌病；铜死亡；Sirt/P53信号通路；铁硫簇

Effects and mechanism of total alkaloids of Corydalis Rhizoma on the regulation of cuproptosis in rats with diabetic cardiomyopathy

LI Jun, QI Yazhi, TANG Ya, CAO Rui, XU Qiang, HAN Yusheng (School of Basic Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects and mechanism of total alkaloids of Corydalis Rhizoma (TAC) on the regulation of cuproptosis in rats with diabetic cardiomyopathy (DCM) based on silence information regulator 1 (Sirt1)/tumor protein 53 (P53) signaling pathway. **METHODS** DCM rat model was induced by high-fat and high-sugar diet and intraperitoneal injection of streptozotocin. Thirty-two model rats were randomly divided into model group, TAC low-dose, medium-dose and high-dose groups (7, 10.5, 14 mg/kg), with 8 rats in each group. An additional 8 rats were assigned to normal control group. Related drugs or normal saline were administered intragastrically in each group, once a day, for 4 weeks. After the last medication, the fasting blood glucose (FBG) levels of the rats were measured. The levels of myocardial creatine kinase (CK), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), and lactate dehydrogenase (LDH) in serum and myocardial tissue of rats were all detected. The pathological morphology, fibrosis degree, and Cu^{2+} deposition of myocardial tissue in rats were observed. The levels of Cu^{2+} and glutathione (GSH) in myocardial tissue, the expressions of Sirt1/P53 signaling pathway-related proteins [Sirt1, P53, solute carrier family 7 membrane 11 (SLC7A11)], and iron-sulfur cluster-related proteins [ferredoxin 1 (FDX1), lipoic acid synthetase (LIAS), aconitase 2 (ACO2), NADH-ubiquinone oxidoreductase core subunit S8 (NDUFS8), dihydrolipoamide acetyltransferase (DLAT), dihydrolipoamide succinyltransferase (DLST)], and heat shock protein 70 (HSP70) were all determined. **RESULTS** Compared with normal control group, the model group exhibited significantly elevated levels of FBG, CK, CK-MB and LDH in both serum and myocardial tissue, as well as increased levels of Cu^{2+} in myocardial tissue and the expression of P53 and HSP70 proteins ($P<0.05$); the level of GSH and the expression levels of Sirt1, SLC7A11, FDX1, LIAS, ACO2,

Δ**基金项目** 国家自然科学基金面上项目（No.82074530）；黑龙江中医药大学科研基金项目（No.X200902）

＊**第一作者** 硕士研究生。研究方向：中医药防治心脑血管疾病的基础与临床研究。E-mail：li15716801494@163.com

＃**通信作者** 高级实验师，硕士。研究方向：中医药防治心脑血管疾病的基础与临床研究。E-mail：hysh1973@126.com

NDUFS8, DLAT, and DLST proteins in myocardial tissue were all significantly decreased ($P<0.05$); the myocardial tissue exhibited severe pathological damage, with numerous inflammatory cell infiltrations and significant fibrosis, as well as increased deposition of Cu^{2+}. Compared with model group, most of the above quantitative indicators in rats were significantly reversed in TAC groups ($P<0.05$); the pathological damage to the myocardial tissue was alleviated, with reduced fibrosis and Cu^{2+} deposition. **CONCLUSIONS** TAC can ameliorate DCM in rats, and its mechanism of action may be related to activating the activity of the Sirt1/P53 signaling pathway, promoting the chelation of GSH with Cu^{2+}, and inhibiting cuproptosis of cardiomyocyte.

KEYWORDS total alkaloids of Corydalis Rhizoma; diabetic cardiomyopathy; cuproptosis; Sirt1/P53 signaling pathway; iron-sulfur cluster

糖尿病心肌病（diabetic cardiomyopathy，DCM）是导致糖尿病患者死亡的主要原因之一，通常伴有各种金属离子调控功能失调，其中Cu^{2+}代谢紊乱对DCM的发生发展尤其重要[1-2]。最近，Tsvetkov等[3]首次提出了一种与铜依赖相关的、可受调控的新型细胞死亡方式——铜死亡。有研究在此基础上进一步验证了DCM中铜死亡的发生机制：DCM发生时，Cu^{2+}在心肌细胞中大量积累，导致心肌细胞线粒体功能障碍加重，最终造成心肌功能障碍[4]。沉默信息调节因子1（silence information regulator 1，Sirt1）/肿瘤抑制因子53（tumor protein 53，P53）通路的激活可以促进内源性铜螯合剂谷胱甘肽（glutathione，GSH）的产生，而GSH可以螯合因DCM所产生的过多的Cu^{2+}[5]。由此推测，调控该通路可能是对抗DCM铜死亡的有效策略。

延胡索总生物碱（total alkaloids of Corydalis Rhizoma，TAC）是一种高纯度的延胡索块茎提取物，有效成分含量高达85%[6]。TAC可以改善心肌梗死后的心功能损伤以及心肌缺血再灌注损伤[7]。相关研究表明，TAC对糖尿病并发症有一定的治疗作用，可以改善糖尿病大鼠神经病理性疼痛[8]；除此之外，还有研究发现，TAC可以激活Sirt1/P53信号通路，减少神经元凋亡[9]。TAC药理作用研究表明，其有效成分可通过上调GSH生物合成和影响GSH/氧化型GSH比例等机制，促进细胞内GSH含量的增加，从而对细胞功能产生潜在的剂量依赖性影响[10]。但关于TAC能否通过激活Sirt1/P53信号通路，增加GSH的含量，螯合心肌组织中过多游离的Cu^{2+}，抑制DCM大鼠心肌铜死亡的发生并改善心肌组织的损伤，尚未见相关报道。基于此，本研究基于Sirt1/P53信号通路探讨了TAC对DCM大鼠心肌细胞铜死亡的调控作用及机制，旨在为TAC的临床应用提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

YD1508B型组织切片机购自金华市益迪医疗设备厂；Motic3000型显微摄影成像系统购自美国Motic公司；FR-4A型正置荧光显微镜购自上海光学仪器厂；DNM-9602型酶标仪购自北京普朗新技术有限公司；Tanon EPS-300型电泳仪、Tanon-4600型凝胶成像系统均购自上海天能科技有限公司；ICEN-24R型台式高速冷冻离心机购自杭州奥盛仪器有限公司。

1.2 主要药品与试剂

TAC（纯度85%）由黑龙江中医药大学实验实训中心提供；蒂姆（Timm）染色试剂由黑龙江中医药大学解剖与组胚实验室提供；链脲佐菌素（streptozotocin，STZ）、ECL发光试剂盒（批号分别为MB1227、MAO186-1）均购自大连美仑生物技术有限公司；苏木素、伊红（批号分别为20220308、20220608）均购自上海惠世生化试剂有限公司；马松（Masson）染色试剂盒（批号202410922）购自北京索莱宝科技有限公司；兔源Sirt1、P53、二氢硫辛酸二酰基转移酶（dihydrolipoamide succinyltransferase，DLST）、GAPDH、β-肌动蛋白（β-actin）抗体以及辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗（批号分别为bs-0921R、bs-2090R、bs-13008R、bs-2188R、bs-0061R、bs-0295G）均购自北京博奥森生物技术有限公司；兔源溶质家族载体7成员11（solute carrier family 7 membrane 11，SLC7A11）抗体（批号4000000753）购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；兔源铁氧还蛋白1（ferredoxin 1，FDX1）、硫辛酸合成酶（lipoic acid synthetase，LIAS）、线粒体乌头酸酶2（aconitase 2，ACO2）、二氢硫辛酸乙酰基转移酶（dihydrolipoamide acetyltransferase，DLAT）、热休克蛋白70（heat shock protein 70，HSP70）抗体（批号分别为FNab03066、FNab04772、FNab00088、FNab02404、FNab04049）均购自武汉菲恩生物科技有限公司；兔源泛醌氧化还原酶核心亚基S8（NADH-ubiquinone oxidoreductase core subunit S8，NDUFS8）抗体（批号#DF9672）购自江苏亲科生物研究中心有限公司；肌酸激酶（creatine kinase，CK）、CK同工酶MB（creatine kinase isoenzyme，CK-MB）、乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）、Cu^{2+}、GSH测定试剂盒（批号分别为A032-1-1、E006、A020-2-2、E010-1-1、A006-2-1）均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 动物与饲料

本研究所用动物为SPF级SD大鼠，共50只，雄性，体重（180±20）g，购自辽宁长生生物技术股份有限公司，实验动物生产许可证号为SCXK（辽）2020-0001。大鼠在温度为（22±2）℃、相对湿度为45%～60%、12 h光照/12 黑暗循环的环境中适应性饲养1周，自由摄食、饮水。本实验经黑龙江中医药大学实验动物管理及福利伦理审查委员会批准，批准编号为2023113021。

高脂高糖饲料购自江苏省协同医药生物有限公司。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

42只大鼠适应性喂养1周后，将正常饲料更换为高脂高糖饲料，继续喂养16周，诱导肥胖和胰岛素抵抗；禁食12 h后腹腔注射STZ（35 mg/kg）建立2型糖尿病模型，STZ注射1周后，测定大鼠空腹血糖（fasting blood glucose，FBG），当FBG≥11.1 mmol/L时，则表明2型糖尿病模型造模成功[11]；进一步尾静脉取血检测大鼠心肌损伤标志物CK、CK-MB、LDH的水平，当其水平高于不造模大鼠2倍时，表明DCM模型造模成功[12]。最终，35只大鼠造模成功，随机取其中32只分为模型组（Model组）、TAC低剂量组（TAC-L组）、TAC中剂量组（TAC-M组）、TAC高剂量组（TAC-H组），每组8只。另取8只大鼠以正常饲料喂养作为正常对照组（NC组）。依据人与动物体表面积折算等效剂量[13]，并结合本课题组前期研究[9]，TAC-L、TAC-M、TAC-H组大鼠分别灌胃7、10.5、14 mg/kg TAC混悬液；NC、Model组大鼠灌胃等体积生理盐水，每天1次，连续4周。另外，给药期间除NC组外，其余各组大鼠仍保持高脂高糖饲料喂养。

2.2 大鼠FBG水平检测

末次给药后，检测各组大鼠FBG水平。

2.3 大鼠血清、心肌组织中CK、CK-MB、LDH水平检测

给药前，各组大鼠尾尖取血约0.5 mL，离心分离血清备用。末次给药后，大鼠腹腔注射2%戊巴比妥钠（3 mL/kg）进行麻醉，腹主动脉取血约3 mL，离心分离血清备用。随后处死大鼠，取心脏，观察心脏情况后，一部分心肌组织置于－80 ℃冰箱保存，一部分心肌组织置于4%多聚甲醛固定。取各组大鼠给药前和给药后血清以及冻存的心肌组织适量，按试剂盒说明书方法检测其中CK、CK-MB、LDH水平。

2.4 大鼠心肌组织病理学形态、纤维化程度及Cu^{2+}沉积观察

取各组大鼠于4%多聚甲醛中固定的心肌组织进行常规脱水、透明、石蜡包埋和切片，取切片分别进行苏木素-伊红（HE）、Masson、Timm染色，采用显微镜观察大鼠心肌组织病理学形态、纤维化程度以及Cu^{2+}沉积情况（Cu^{2+}富集区会出现棕黑色颗粒状或点状沉积）。

2.5 大鼠心肌组织中Cu^{2+}、GSH水平检测

取各组大鼠冻存的心肌组织适量，按试剂盒说明书方法处理，检测心肌组织中Cu^{2+}、GSH水平。

2.6 大鼠心肌组织中Sirt1/P53信号通路和铁硫簇相关蛋白以及HSP70表达水平检测

取各组大鼠冻存的心肌组织适量，加入裂解液后研磨提取总蛋白，离心；取上清液，测定蛋白浓度后，进行蛋白变性。取变性蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，再于200 mA恒流条件下转膜；以5%脱脂奶粉封闭2 h，再加入Sirt1、P53、SLC7A11、FDX1、LIAS、DLAT、DLST、ACO2、NDUFS8、HSP70一抗（稀释度均为1∶2 000）于4 ℃条件下孵育过夜；次日，加入二抗（稀释度为1∶5 000）于室温条件下孵育90 min。采用ECL显影，再进行凝胶成像，利用Image J软件分析条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白（GAPDH或β-actin）的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

2.7 统计学方法

采用SPSS 26.0统计分析软件处理数据。采用Shapiro-Wilk法进行正态性分布检验，对于符合正态分布的计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 大鼠FBG水平检测结果

与NC组[（7.53±1.58）mmol/L]相比，Model组大鼠FBG水平[（17.81±2.16）mmol/L]显著升高（$P<0.05$）。与Model组相比，TAC-L、TAC-M、TAC-H组大鼠FBG水平[（13.88±1.59）、（12.26±0.87）、（11.48±0.97）mmol/L]均显著降低（$P<0.05$）。

3.2 大鼠血清中CK、CK-MB、LDH水平检测结果

给药前，与NC组相比，Model组和TAC各剂量组大鼠血清中CK、CK-MB、LDH水平均显著升高（$P<0.05$）。给药后，与NC组相比，Model组大鼠血清中CK、CK-MB、LDH水平均显著升高（$P<0.05$）；与Model组相比，TAC各剂量组大鼠血清中CK、CK-MB、LDH水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见表1。

3.3 大鼠心肌组织中CK、CK-MB、LDH水平检测结果

与NC组相比，Model组大鼠心肌组织中CK、CK-MB、LDH水平均显著升高（$P<0.05$）；与Model组相比，TAC各剂量大鼠心肌组织中CK、CK-MB、LDH水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见表2。

表1　各组大鼠血清中CK、CK-MB、LDH水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组别	给药前			给药后		
	CK/(U/mL)	CK-MB/(U/L)	LDH/(U/L)	CK/(U/mL)	CK-MB/(U/L)	LDH/(U/L)
NC组	0.46±0.05	10.63±1.96	6.25±1.29	0.48±0.04	12.13±1.85	6.75±081
Model组	1.63±0.13[a]	32.73±3.76[a]	15.74±1.99[a]	1.75±0.10[a]	53.73±4.86[a]	22.24±1.27[a]
TAC-L组	1.55±0.08[a]	37.07±6.43[a]	14.97±1.46[a]	1.20±0.10[b]	27.57±4.61[b]	11.47±1.49[b]
TAC-M组	1.57±0.07[a]	33.38±4.35[a]	14.28±2.53[a]	1.01±0.09[b]	22.88±3.44[b]	9.28±0.65[b]
TAC-H组	1.55±0.11[a]	31.54±0.97[a]	14.19±2.15[a]	0.67±0.09[b]	15.04±2.49[b]	7.19±0.86[b]

a：与NC组相比，$P<0.05$；b：与Model组相比，$P<0.05$。

表2　各组大鼠心肌组织中CK、CK-MB、LDH水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组别	CK/(U/mg prot)	CK-MB/(U/L)	LDH/(U/g prot)
NC组	1.27±0.07	37.62±14.48	292.94±14.95
Model组	2.22±0.13[a]	668.81±284.24[a]	357.42±22.47[a]
TAC-L组	1.61±0.33[b]	204.82±119.11[b]	302.59±18.25[b]
TAC-M组	1.58±0.19[b]	153.54±68.97[b]	302.14±21.42[b]
TAC-H组	1.56±0.26[b]	52.25±40.02[b]	299.36±17.02[b]

a：与NC组相比，$P<0.05$；b：与Model组相比，$P<0.05$。

3.4　大鼠心肌组织病理学形态观察结果

NC组大鼠心肌组织结构相对致密，细胞排列整齐，细胞间隙较小；与NC组相比，Model组大鼠心肌组织可见明显病理损伤，心肌组织结构疏松，细胞排列紊乱，局部细胞质明显深染，细胞核固缩增多，细胞间隙明显增大，且出现较多炎症细胞浸润；与Model组相比，TAC各剂量组大鼠心肌组织病理损伤明显减轻，组织结构相对致密，细胞排列整齐，细胞间隙减小，仅见少量炎症细胞浸润。结果见图1。

3.5　大鼠心肌组织纤维化程度观察结果

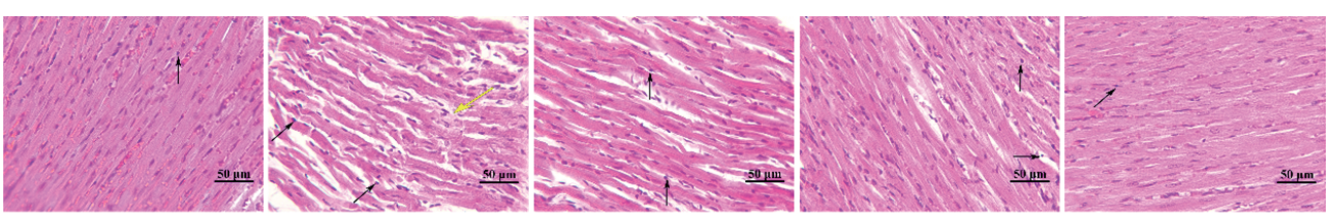
NC组大鼠心肌组织无纤维化情况；与NC组相比，Model组大鼠心肌组织出现明显的蓝绿色胶原纤维，且染色不均匀；与Model组相比，TAC各剂量组大鼠心肌组织的蓝绿色胶原纤维均明显减少，且染色相对均匀。结果见图2。

3.6　大鼠心肌组织Cu^{2+}沉积观察结果

NC组大鼠心肌组织几乎无Cu^{2+}沉积；与NC组相比，Model组大鼠心肌组织Cu^{2+}沉积增多；与Model组相比，TAC各剂量组大鼠心肌组织Cu^{2+}沉积均减少。结果见图3。

3.7　大鼠心肌组织中Cu^{2+}、GSH水平检测结果

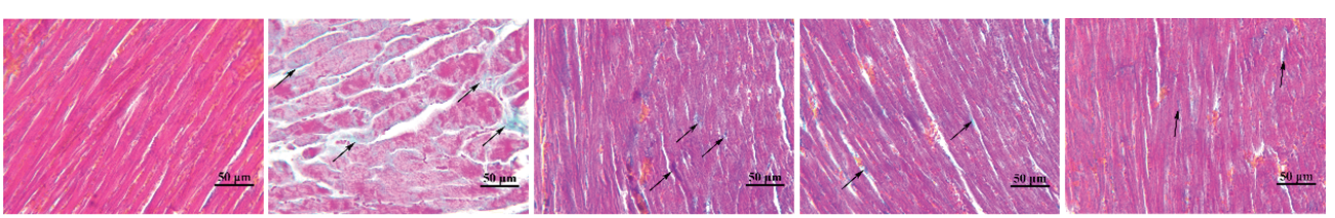
与NC组相比，Model组大鼠心肌组织中Cu^{2+}水平显著升高（$P<0.05$），GSH水平显著降低（$P<0.05$）；与Model组相比，TAC各剂量组大鼠心肌组织中Cu^{2+}水平均显著降低（$P<0.05$），GSH水平（TAC-L、TAC-M组除外）显著升高（$P<0.05$）。结果见表3。



A. NC组　B. Model组　C. TAC-L组　D. TAC-M组　E. TAC-H组

黑色箭头：炎症细胞浸润；黄色箭头：染色不均匀。

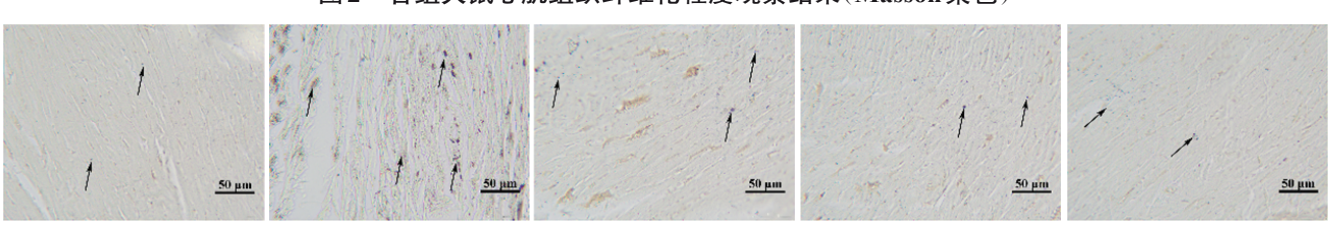
图1　各组大鼠心肌组织病理学形态观察结果（HE染色）



A. NC组　B. Model组　C. TAC-L组　D. TAC-M组　E. TAC-H组

黑色箭头：胶原纤维。

图2　各组大鼠心肌组织纤维化程度观察结果（Masson染色）



A. NC组　B. Model组　C. TAC-L组　D. TAC-M组　E. TAC-H组

黑色箭头：沉积的Cu^{2+}。

图3　各组大鼠心肌组织Cu^{2+}沉积观察结果（Timm染色）

表3　各组大鼠心肌组织中Cu^{2+}、GSH水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组别	Cu^{2+}/（μmol/g）	GSH/（μg/g）
NC组	3.16±1.09	10.79±2.47
Model组	9.17±1.85[a]	6.33±1.57[a]
TAC-L组	5.68±1.05[b]	6.47±1.03
TAC-M组	3.75±0.69[b]	8.10±1.22
TAC-H组	2.94±0.69[b]	8.83±1.59[b]

a：与NC组相比，$P<0.05$；b：与Model组相比，$P<0.05$。

3.8　大鼠心肌组织中Sirt1/P53信号通路和铁硫簇相关蛋白以及HSP70表达水平检测结果

与NC组相比，Model组大鼠心肌组织中Sirt1、SLC7A11、FDX1、LIAS、DLAT、DLST、ACO2、NDUFS8蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$），P53、HSP70蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）；与Model组相比，TAC各剂量组大鼠心肌组织中上述蛋白表达水平均显著逆转（$P<0.05$）。结果见图4、表4。

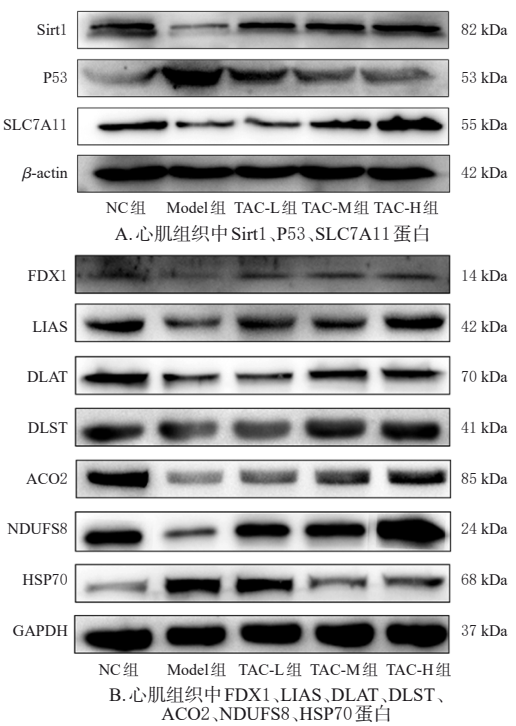


图4　各组大鼠心肌组织中Sirt1/P53信号通路和铁硫簇相关蛋白以及HSP70表达的电泳图

4　讨论

DCM是1型和2型糖尿病的主要并发症之一[14]，其传统的治疗方式多为降糖药配合治疗心脏方面疾病药物使用，缺乏有效且针对性强的药物。TAC是一种中药提取物，具有降糖和抗心肌缺血再灌注损伤的作用[7]。本研究结果发现，TAC可减轻DCM大鼠心肌组织病理损伤，降低心肌组织中CK、CK-MB、LDH水平，这表明TAC对DCM大鼠有一定的改善作用。目前，DCM的发病机制尚不明确，研究表明，DCM进程中铜转运蛋白功

表4　各组大鼠心肌组织中Sirt1/P53信号通路和铁硫簇相关蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组别	Sirt1/β-actin	P53/β-actin	SLC7A11/β-actin	FDX1/GAPDH	LIAS/GAPDH
NC组	1.39±1.48	0.48±0.04	0.93±0.20	0.33±0.03	0.56±0.04
Model组	0.30±0.02[a]	1.14±0.19[a]	0.32±0.01[a]	0.14±0.02[a]	0.30±0.01[a]
TAC-L组	0.89±0.05[b]	0.84±0.07[b]	0.42±0.04[b]	0.20±0.01[b]	0.43±0.02[b]
TAC-M组	1.18±0.12[b]	0.64±0.68[b]	0.82±0.04[b]	0.21±0.01[b]	0.49±0.01[b]
TAC-H组	1.19±0.05[b]	0.48±0.41[b]	1.14±0.04[b]	0.27±0.02[b]	0.66±0.01[b]
组别	DLAT/GAPDH	DLST/GAPDH	ACO2/GAPDH	NDUFS8/GAPDH	HSP70/GAPDH
NC组	0.38±0.03	0.49±0.03	0.61±0.04	0.48±0.03	0.22±0.01
Model组	0.17±0.01[a]	0.32±0.02[a]	0.35±0.01[a]	0.22±0.01[a]	0.72±0.01[a]
TAC-L组	0.44±0.02[b]	0.36±0.01[b]	0.41±0.01[b]	0.60±0.01[b]	0.61±0.01[b]
TAC-M组	0.57±0.02[b]	0.52±0.01[b]	0.60±0.02[b]	0.69±0.01[b]	0.33±0.03[b]
TAC-H组	0.58±0.02[b]	0.58±0.01[b]	0.70±0.02[b]	0.71±0.01[b]	0.32±0.01[b]

a：与NC组相比，$P<0.05$；b：与Model组相比，$P<0.05$。

能异常，导致心肌细胞内Cu^{2+}浓度异常升高，最终造成心肌细胞死亡[4]，这表明Cu^{2+}稳态失衡可能是DCM的重要驱动因素。此次研究中，Model组大鼠心肌组织中Cu^{2+}水平显著高于NC组，这与之前的研究结果一致[4]。

Cu^{2+}在线粒体呼吸、抗氧化防御和生物合成等重要过程中发挥着关键作用[15]。在铜死亡过程中，过量的Cu^{2+}会直接和参与有氧呼吸三羧酸循环中的硫辛酰化蛋白DLAT和DLST结合，导致这些蛋白发生寡聚化，进而阻碍三羧酸循环的正常进行；同时，铁硫簇相关蛋白降解可进一步影响氧化磷酸化和三羧酸循环速率，最终抑制线粒体能量的生成，引发蛋白毒性应激和细胞死亡[3]。在应激情况下，HSP70会大量表达，响应外在刺激，维持细胞稳态[16]。关于DCM的最新研究发现，当DCM中铜死亡发生时，铁硫簇相关蛋白FDX1、LIAS、ACO2、NDUFS8的表达水平降低[4]。本研究结果发现，相较于NC组，Model组大鼠心肌组织中铁硫簇相关蛋白的表达水平均显著降低，HSP70表达水平显著升高，这表明Model组大鼠的线粒体代谢出现异常并且发生了蛋白质的毒性应激。

P53可以促进不同类型的细胞程序性死亡，其调控细胞凋亡的作用与Cu^{2+}稳态存在一定的关系[17]：生理浓度的Cu^{2+}可抑制P53表达，而高浓度的Cu^{2+}可激活P53并诱导细胞凋亡[18]。激活的P53可抑制*SLC7A11*基因的转录，从而减少胱氨酸的摄取，导致GSH合成受阻[5,19]。GSH是一种重要的内源性铜螯合剂，其水平降低会使细胞无法有效地螯合游离的Cu^{2+}，进一步导致Cu^{2+}浓度增加并诱导铜死亡[20]。Sirt1是NAD^+依赖性的蛋白去乙酰化酶，促进其表达可改善糖尿病大鼠的心脏功能[21]。Sirt1可以调节P53在K328位点的乙酰化[22]，促进P53的降解，降低心肌细胞的死亡率[23]。本研究结果发现，经TAC干预后，大鼠心肌组织中Sirt1以及铁硫簇相关蛋白的表达水平均升高，P53、HSP70蛋白的表达水平均降

低，GSH水平升高。这提示，TAC可激活Sirt1/P53信号通路活性，促进GSH与Cu^{2+}的螯合作用，从而减少线粒体代谢障碍与蛋白质毒性应激，最终改善铜死亡相关心肌损伤。

综上所述，TAC可改善大鼠DCM，其作用机制可能与激活Sirt1/P53信号通路活性，促进GSH与Cu^{2+}的螯合作用，抑制心肌细胞铜死亡有关。

参考文献

[1] GU K F，LI X K，XIANG W Z，et al. The relationship between serum copper and overweight/obesity：a meta-analysis[J]. Biol Trace Elem Res，2020，194(2)：336-347.

[2] JOMOVA K，MAKOVA M，ALOMAR S Y，et al. Essential metals in health and disease[J]. Chem Biol Interact，2022，367：110173.

[3] TSVETKOV P，COY S，PETROVA B，et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins [J]. Science，2022，375(6586)：1254-1261.

[4] HUO S Q，WANG Q，SHI W，et al. ATF3/SPI1/SLC31A1 signaling promotes cuproptosis induced by advanced glycosylation end products in diabetic myocardial injury[J]. Int J Mol Sci，2023，24(2)：1667.

[5] ZHANG W，QIAN S H，TANG B，et al. Resveratrol inhibits ferroptosis and decelerates heart failure progression via Sirt1/P53 pathway activation[J]. J Cell Mol Med，2023，27(20)：3075-3089.

[6] 王淼，孙宏宇，田明. 延胡索总生物碱提取工艺研究[J]. 黑龙江医药，2015，28(4)：760-762.

[7] LI J Y，WU J X，HUANG J Y，et al. Uncovering the effect and mechanism of Corydalis Rhizoma on myocardial infarction through an integrated network pharmacology approach and experimental verification[J]. Front Pharmacol，2022，13：927488.

[8] 程连芝，周家梅，马俊龙，等. 延胡索乙素通过抑制p38 MAPK信号通路介导的小胶质细胞活化改善糖尿病大鼠神经病理性疼痛[J]. 中国中药杂志，2022，47(9)：2533-2540.

[9] 李君，齐雅芝，唐娅，等. 延胡索总生物碱对慢性脑缺血大鼠海马沉默信息调节因子1/肿瘤抑制基因P53蛋白信号通路的调控作用及其机制研究[J]. 中国脑血管病杂志，2023，20(12)：837-845.

[10] JOBBAGY S，VITTURI D A，SALVATORE S R，et al. Electrophiles modulate glutathione reductase activity via alkylation and upregulation of glutathione biosynthesis[J]. Redox Biol，2019，21：101050.

[11] 韩旭，王璇，余芝，等. STZ制备糖尿病大鼠模型影响因素的研究进展[J]. 中国实验动物学报，2020，28(5)：716-725.

[12] RIT U，VERMA R，KAUSHIK S，et al. Hesperetin-supplemented soybean and ginger hydroalcoholic extracts alleviate diabetic cardiomyopathy in streptozotocin induced diabetic rats by modulating NF-κB/MMP-9/TIMPs pathway[J]. S Afr N J Bot，2025，179：11-21.

[13] 黄继汉，黄晓晖，陈志扬，等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学，2004，9(9)：1069-1072.

[14] KYRIAZIS I D，HOFFMAN M，GAIGNEBET L，et al. KLF5 is induced by FOXO1 and causes oxidative stress and diabetic cardiomyopathy[J]. Circ Res，2021，128(3)：335-357.

[15] TSANG T，DAVIS C I，BRADY D C. Copper biology[J]. Curr Biol，2021，31(9)：R421-R427.

[16] CAPPELLETTI P，BINDA E，TUNESI M，et al. Recombinant human tat-Hsp70-2：a tool for neuroprotection[J]. Protein Expr Purif，2017，138：18-24.

[17] TSYMBAL S A，REFELD A G，KUCHUR O A. The p53 tumor suppressor and copper metabolism：an unrevealed but important link[J]. Mol Biol（Mosk），2022，56(6)：1057-1071.

[18] ALFADUL S M，MATNUROV E M，VARAKUTIN A E，et al. Metal-based anticancer complexes and p53：how much do we know?[J]. Cancers（Basel），2023，15(10)：2834.

[19] URSINI F，MAIORINO M. Lipid peroxidation and ferroptosis：the role of GSH and GPx4[J]. Free Radic Biol Med，2020，152：175-185.

[20] LIU J，TANG H，CHEN F Q，et al. NFE2L2 and SLC25A39 drive cuproptosis resistance through GSH metabolism[J]. Sci Rep，2024，14(1)：29579.

[21] KARBASFOROOSHAN H，KARIMI G. The role of SIRT1 in diabetic cardiomyopathy[J]. Biomed Pharmacother，2017，90：386-392.

[22] JIANG D H，LI M H，YU Y，et al. microRNA-34a aggravates coxsackievirus B3-induced apoptosis of cardiomyocytes through the SIRT1-p53 pathway[J]. J Med Virol，2019，91(9)：1643-1651.

[23] MA S X，SUN L Y，WU W H，et al. USP22 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via the SIRT1-p53/SLC7A11-dependent inhibition of ferroptosis-induced cardiomyocyte death[J]. Front Physiol，2020，11：551318.

（收稿日期：2024-11-19　修回日期：2025-02-14）

（编辑：唐晓莲）