

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.07.005

丹参多酚酸盐通过 SIRT3/ β -catenin-PPAR γ 信号通路 对心肌梗死大鼠的作用及机制研究*

张文强¹ 李 慧¹ 朱芳红² 叶飞林¹ 薛 强^{2Δ}

(1 空军第九八六医院心内科 陕西 西安 710054; 2 空军军医大学西京医院心内科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:通过制备心肌梗死大鼠模型,基于 SIRT3/ β -catenin-PPAR γ 信号通路探讨丹参多酚酸盐对心肌梗死大鼠的作用及相关机制,为将丹参多酚酸盐应用于心肌梗死治疗积累理论基础。**方法:**选取 SPF 级健康 SD 大鼠 60 只,随机分为假手术组(A 组)、模型组(B 组)、丹参多酚酸盐注射低剂量组(C 组)丹参多酚酸盐注射高剂量组(D 组)。B、C、D 组大鼠制备为心肌梗死模型,A 组大鼠仅进行假手术操作。B、C、D 三组大鼠均接受丹参多酚酸盐注射治疗,A 组大鼠注射等量生理盐水。比较各组大鼠心动图指标、血流动力学参数、心肌损伤相关指标、SIRT3/ β -catenin-PPAR γ 信号通路相关蛋白及 mRNA 相对表达量。**结果:**干预后,B、C、D 组大鼠的 LVEF、LVFS 和 dP/dt max、dP/dt min 均下降,且 C、D 组高于 B 组,D 组高于 C 组;同时 B、C、D 组大鼠 LVEDD 高于 A 组,C、D 组低于 B 组且 D 组低于 C 组。B、C、D 组大鼠 CK、CK-MB、LDH 水平均高于 A 组,同时 C、D 组均低于 B 组,且 D 组低于 C 组;干预后,B、C、D 组大鼠 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均高于 A 组,同时 C、D 组均低于 B 组,且 D 组低于 C 组;干预后,B、C、D 组大鼠 SIRT3/ β -catenin 蛋白表达量及 mRNA 表达量均高于 A 组,同时 C、D 组大鼠高于 B 组且 D 组高于 C 组;同时 B、C、D 组 PPAR γ 蛋白表达量及 mRNA 表达量均高于 A 组,且 C、D 组低于 B 组,D 组低于 C 组($P < 0.05$)。**结论:**丹参多酚酸盐能够有效改善心肌梗死大鼠的心功能,缓解心肌损伤,其机制可能与调控 SIRT3/ β -catenin-PPAR γ 信号通路、下调炎症因子水平相关,且高剂量丹参多酚酸盐的治疗效果更优。

关键词:丹参多酚酸盐;心肌梗死;SIRT3/ β -catenin-PPAR γ ;心肌损伤;心功能

中图分类号:R-33;R542.22 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)07-1225-06

Effect and Mechanism of Salvianolate on Myocardial Infarction Rats through SIRT3/ β -catenin-PPAR γ Signaling Pathway*

ZHANG Wen-qiang¹, LI Hui¹, ZHU Fang-hong², YE Fei-lin¹, XUE Qiang^{2Δ}

(1 Department of Cardiology, 986 Air Force Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710054, China;

2 Department of Cardiology, Xijing Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To establish a rat model of myocardial infarction, and explore the effect of salvianolate on myocardial infarction and its related mechanism based on SIRT3/ β -catenin-PPAR γ signaling pathway, which can provide the theoretical basis for the application of salvianolate in the treatment of myocardial infarction. **Methods:** 60 SPF healthy SD rats were randomly divided into sham operation group (group A), model group (group B), low-dose group (group C) and high-dose group (group D). Rats in groups B, C and D were made into myocardial infarction models, while rats in group A only underwent sham operation. Rats in groups B, C and D were treated by injection of salvianolate, while rats in group A were injected with the same amount of normal saline. The indexes of echocardiography, hemodynamic parameters, myocardial injury related indexes, SIRT3/ β -catenin-PPAR γ signal pathway related protein and mRNA relative expression were compared in each group. **Results:** After intervention, the LVEF, LVFS, dP/dt max, dP/dt min of rats in groups B, C and D decreased, and those in groups C and D were higher than those in group B, and those in group D were higher than those in group C. Meanwhile, LVEDD was higher in groups B, C and D than in group A, lower in groups C and D than in group B, and lower in group D than in group C. The levels of CK, CK-MB and LDH of rats in groups B, C and D were higher than those in group A, while those in groups C and D were lower than those in group B, and group D was lower than group C. After intervention, the levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in groups B, C and D were higher than those in group A, while those in groups C and D were lower than those in group B, and those in group D were lower than those in group C. After intervention, the protein and mRNA expression levels of SIRT3 and β -catenin in groups B, C and D were higher than those in group A, and those in groups C and D were higher than those in group B, and those in group D were higher than those in group C. At the same time, the protein expression and mRNA expression of PPAR γ in groups B, C and D were higher than those in group A, and those in groups C and D were lower than those in group B, and those in group

* 基金项目:国家自然科学基金项目(82104718)

作者简介:张文强(1986-),男,硕士研究生,主治医师,研究方向:心血管内科相关,E-mail:zwqq986@163.com

Δ 通讯作者:薛强(1981-),男,博士研究生,副主任医师,研究方向:冠心病中西医结合基础及临床研究,E-mail:zwqq986@163.com

(收稿日期:2022-11-28 接受日期:2022-12-23)

D were lower than those in group C ($P < 0.05$). **Conclusion:** Salvianolate can effectively improve the cardiac function and alleviate myocardial injury in rats with myocardial infarction, and its mechanism may be related to regulating SIRT3/ β -catenin-PPAR γ signal pathway and down-regulating the level of inflammatory factors, and the therapeutic effect of high-dose Salvianolate is better.

Key words: Salvianolate; Myocardial infarction; SIRT3/ β -catenin-PPAR γ ; Myocardial injury; Cardiac function

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R542.22 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)07-1225-06

前言

心肌梗死是指患者存在冠状动脉阻塞的病理基础上,因冠脉血供发生中断或急剧下降,引起心肌组织的供血障碍,继而发生严重的心肌缺血缺氧和代谢紊乱,造成心肌受损^[1,2]。心肌缺血发生后,引起活性氧物质的水平升高,激活体内的氧化应激反应,并上调趋化因子、炎性因子表达,加重心肌细胞的凋亡和受损程度^[3-5]。临床中,患者多表现为胸骨后持续性剧烈疼痛并伴有心肌酶活性升高,常可伴有心律失常^[6]。在我国,心肌梗死的发病率约为十万分之五十,其中有效治愈者不足三成,每年心肌梗死患者死亡数可达一百万^[7]。研究表明,在心肌梗死发生过程中,沉默信息调节因子(SIRT3)/ β -连环蛋白(β -catenin)/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)被激活,可在一定程度上保护心肌^[8,9]。丹参多酚酸属于水溶性酚酸类,常用于缺血性心肌病的治疗,可改善心肌缺血受损,对心室重构也有一定的作用,近年来已逐渐应用到心血管疾病的治疗中,取得了一定的疗效^[10-12]。但丹参多酚酸对 SIRT3/ β -catenin-PPAR γ 信号通路的调控作用尚未明确。基于此,本研究基于 SIRT3/ β -catenin-PPAR γ 信号通路探究丹参多酚酸盐对心肌梗死大鼠的保护作用机制,为临床中应用丹参多酚酸盐治疗心肌梗死积累理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验仪器设备及试剂 主要设备包括:超低温冰箱(日本,三洋),普通冰箱(中国,海尔),高速冷冻离心机(美国, Bio-Rad), ECG-6951D 大鼠心电图机(日本, 尼康),动物心脏超声机(德国, 西门子),电泳系统(转膜仪,凝胶成像系统,电泳槽)(美国, Bio-Rad),光学显微镜(美国, USCAMEL),倒置荧光显微镜(日本,奥林巴斯)制冰机(意大利, Scotsman),超洁净工作台(美国, Thermo)。

主要试剂:乙醇(鼎国生物技术),石蜡(索莱宝科技),多聚甲醛(国药集团化学技术),二甲苯(国药集团化学技术),RIPA 裂解液(碧云天生物科技),BCA 试剂盒(碧云天生物科技),兔源 β -catenin 抗体、兔抗 PPAR γ 一抗、兔抗 SIRT3 一抗(美国 Abbiotec)。

1.1.2 实验动物 选择 SPF 级健康 SD 大鼠 60 只, 体重 $200 \text{ g} \pm 20 \text{ g}$, 大鼠购于亿斯实验动物技术有限责任公司, 证书编号: SCXK(吉)20180007。所有动物均适应性饲养一周, 温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 50%。适应性饲养期间所有大鼠均自由进食饮水, 光照保持 12 小时明暗交替循环。

1.2 实验方法

选用结扎左冠状动脉前降支的方法制备大鼠心肌梗死模

型。将大鼠称重后,将戊巴比妥钠经腹膜内注射,剂量为 $5 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 。将大鼠腋下、胸部毛发使用生理盐水浸湿后剔除,并用 75%乙醇消毒。大鼠麻醉成功后接通呼吸机,呼吸频率 $90 \text{ 次}/\text{min}$,潮气量 $2 \text{ mL}/100 \text{ g}$,呼气、吸气比 5:4,连接心电图机。随后使用手术剪剪开胸部皮肤,剪开胸骨并暴露心脏,剪开新包,将左冠状动脉前降支充分暴露,使用 4.0 缝合线在其根部 3 mm 处进行结扎,观察心脏表面颜色和心电图机,当出现结扎局部心肌颜色发白,同时心电图提示 ST 段弓背太高、T 波高耸,并出现 QRS 波电压增高、波幅增宽,则提示大鼠心肌梗死模型制备成功,将心脏放回胸腔并对胸壁进行缝合。观察大鼠生命体征平稳后将呼吸机撤掉,并经腹腔注射青霉素 40 万单位防止发生感染,连续注射 3 天。

假手术组大鼠仅将缝合线穿过左冠状动脉前降支根部处,不进行结扎操作。

1.3 实验分组及干预方法

将 60 只大鼠随机分为假手术组(A 组)、模型组(B 组)、丹参多酚酸注射低剂量组(C 组)、丹参多酚酸注射高剂量组(D 组)。其中 A 组大鼠进行假手术操作,其余各组大鼠均进行心肌梗死模型制备。C 组大鼠经腹腔注射低剂量丹参多酚酸盐(上海绿谷制药,批准文号:国药准字 Z20050249,规格:200 mg),剂量为 $2 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 。D 组大鼠经腹腔注射高剂量丹参多酚酸盐,剂量为 $3 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 。模型组大鼠和假手术组大鼠注射等体积生理盐水。每日注射治疗 1 次,连续干预 4 周。

1.4 实验指标

1.4.1 心动图指标及血流动力学参数比较 通过吸入 2%乙醚对大鼠进行轻度麻醉,将大鼠呈仰卧位固定于操作台,使用超声机检查各组大鼠超声心动图。比较各组大鼠左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室舒张末期内径(Left ventricular end diastolic dimension, LVEDD)和左心室短轴缩短率(Left ventricular fractional shortening, LVFS)。将肝素化盐溶液置于导管换能器并置入大鼠右侧颈动脉内进行血流动力学分析,导管另一侧连接至血流动力学分析装置,待大鼠稳定 15 min 后,将主动脉导管插入左心室,使用 Lab Chart pro 软件测量左心室压力上升/下降速率($\text{dP}/\text{dt max}$, $\text{dP}/\text{dt min}$)。

1.4.2 心肌损伤相关指标测定 采用心尖穿刺法取大鼠心尖血,置于 EDTA 抗凝管中,静置 20 min 后,以 4°C 、离心半径 10 cm 、 $3500 \text{ rad}/\text{min}$ 离心 30 min,随后取上层清液,置于 -80°C 超低温冰箱中保存。使用全自动生化分析仪对各组大鼠血清肌酸激酶(Creative Kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(Creation Kinase Isoenzyme, CK-MB)、乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)水平进行测定。

1.4.3 血清炎症因子水平测定 采血方法同上,选用 ELISA 对各组大鼠血清白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、

肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平测定。向样品中加入等体积稀释液进行标准品稀释,设立空白孔、标准品孔及待测样品孔,加样后 37℃温育 30 min,加入 20 倍体积蒸馏水稀释后弃去各孔内液体,加满洗涤液并静置后弃去液体,重复 5 次。向空白孔外的各孔内加入酶标试剂,重复进行温育、洗涤的步骤,拍干后想各孔内加入显色剂 A、显色剂 B 各 50 μ L,混匀后避光显示 10 min。随后向各样品孔加入终止液 50 μ L,停止反应。停止反应后的 15 min 内,以空白孔调零,选择 450 nm 波长依次测序各孔吸光度。上述所有操作均严格遵照试剂盒操作步骤进行。

1.4.4 SIRT3/ β -catenin-PPAR γ 信号通路相关蛋白测定 待大鼠取血样本后,取出心脏并用预冷的生理盐水冲洗,置于液氮中保存。检测时取适量组织,剪成 1 mm³ 组织块制成匀浆,加入 RIPA 裂解液后进行样品总蛋白提取,随后采用 BCA 法测定蛋白浓度,配置蛋白标准品后将不同体积标准品加入蛋白孔内,加入 PBS 缓冲液补齐并加入样品,配置 BCA 工作液后置于孵育箱内,37℃孵育 60 min。随后进行电泳,制胶后上样,并将电泳液放入电泳槽内,待溴酚蓝移动至浓缩胶层。转膜、封闭后,依次加入兔源单克隆 SIRT3 抗体(1:500)、兔源 β -catenin 抗体(1:500),兔源 PPAR γ 抗体(1:500),GAPDH(1:500)一抗,和经辣根过氧化物酶标记的鼠抗兔二抗(1:2000)。选用化学底物发光法对样品进行显色,使用 Image Quant 软件测量样品的光密度,并将 GAPDH 作为内参,对各组样品表达量进行分析。

1.4.5 SIRT3、 β -catenin、PPAR γ mRNA 相对表达量测定 取适量心肌梗死灶及周围组织块,在预冷的 PBS 缓冲液中冲洗 3 次,加入 1 mL Trizol 溶液后研磨成匀浆,室温下精致 5 min。加入 200 μ L 氯仿后振荡并静置,随后以 4℃、12000 $\times$ g 离心 15 min,将上层液体移入洁净 EP 管后加入液体体积 1/10 的醋酸钠,并将等体积预冷的异丙醇加入样品中,混匀后静置 20 min,以 4℃、12000 $\times$ g 离心 15 min,弃去上层清液后,加入 1 mL 75%乙醇吹打均匀,以 4℃、12000 $\times$ g 离心 5 min,弃去上清后干燥处理,随后将沉淀加入 DEPC 水中充分溶解。提取总 mRNA 后,依据 RT-PCR 操作步骤,依次进行反转录和 PCR 扩增操作,随后将 PCR 扩增产物置于琼脂糖凝胶中电泳,随后使用凝胶成像系统扫描并测定目标基因吸光度。

1.5 统计学分析

选用 SPSS 22.0 分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较选用 One-Way ANOVA 法进行检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心动图相关指标及血流动力学参数比较

干预后,B、C、D 组大鼠 LVEF、LVFS、dP/dt max 及 dP/dt min 均低于 A 组,C、D 组大鼠 LVEF、LVFS 高于 B 组且 D 组高于 C 组;同时 B、C、D 组 LVEDD 均高于 A 组,且 C、D 组低于 B 组,D 组低于 C 组($P<0.05$)。详见表 1。

表 1 各组心电图指标及血流动力学参数比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of cardiography indexes and hemodynamic parameters in each group ($\bar{x}\pm s$)

Groups	N	LVEF(%)	LVEDD(mm)	LVFS(%)	dP/dt max (mmHg/s)	dP/dt min (mmHg/s)
Group A	15	83.35 $\pm$ 5.32	5.18 $\pm$ 0.36	52.13 $\pm$ 6.32	4783.35 $\pm$ 166.87	6094.51 $\pm$ 98.53
Group B	15	37.28 $\pm$ 3.10 ^a	7.82 $\pm$ 0.75 ^a	18.35 $\pm$ 3.27 ^a	3190.42 $\pm$ 93.67 ^a	4096.58 $\pm$ 69.27 ^a
Group C	15	41.21 $\pm$ 4.07 ^{ab}	7.32 $\pm$ 0.56 ^{ab}	19.90 $\pm$ 6.22 ^{ab}	4109.78 $\pm$ 85.03 ^{ab}	4390.22 $\pm$ 59.18 ^{ab}
Group D	15	55.86 $\pm$ 5.15 ^{abc}	6.28 $\pm$ 0.50 ^{abc}	32.55 $\pm$ 5.64 ^{abc}	4350.28 $\pm$ 92.40 ^{abc}	5007.90 $\pm$ 75.81 ^{abc}
F		322.791	65.551	120.830	517.968	1973.257
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the Group A, ^a $P<0.05$; compared with the Group B, ^b $P<0.05$; compared with the Group C, ^c $P<0.05$.

2.2 各组大鼠 CK、CK-MB、LDH 水平比较

干预后,B、C、D 组大鼠 CK、CK-MB、LDH 水平均高于 A

组,同时 C、D 组均低于 B 组,且 D 组低于 C 组($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 各组 CK、CK-MB、LDH 水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of level of CK, CK-MB, LDH in each group ($\bar{x}\pm s$)

Groups	N	CK(U/L)	CK-MB(U/L)	LDH(U/L)
Group A	15	103.63 $\pm$ 7.53	30.28 $\pm$ 2.39	62.16 $\pm$ 4.53
Group B	15	267.52 $\pm$ 9.81 ^a	105.12 $\pm$ 8.77 ^a	141.52 $\pm$ 8.02 ^a
Group C	15	234.64 $\pm$ 8.06 ^{ab}	92.56 $\pm$ 7.32 ^{ab}	119.67 $\pm$ 6.75 ^{ab}
Group D	15	176.58 $\pm$ 6.97 ^{abc}	59.58 $\pm$ 5.67 ^{abc}	82.15 $\pm$ 4.67 ^{abc}
F		1164.572	405.617	506.363
P		<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the Group A, ^a $P<0.05$; compared with the Group B, ^b $P<0.05$; compared with the Group C, ^c $P<0.05$.

2.3 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较 组,同时 C、D 组均低于 B 组,且 D 组低于 C 组($P<0.05$)。详见表 3。

表 3 各组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平的三次比较($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Comparison of level of IL-1 β , IL-6, TNF- α in each group($\bar{x}\pm s$)

Groups	N	IL-1 β (ng/L)	IL-6(ng/L)	TNF- α (ng/L)
Group A	15	21.56 $\pm$ 2.15	37.62 $\pm$ 6.53	12.31 $\pm$ 1.85
Group B	15	96.62 $\pm$ 16.08 ^a	135.81 $\pm$ 10.07 ^a	75.26 $\pm$ 6.70 ^a
Group C	15	73.56 $\pm$ 7.20 ^{ab}	109.15 $\pm$ 9.53 ^{ab}	61.57 $\pm$ 6.27 ^{ab}
Group D	15	51.25 $\pm$ 5.09 ^{abc}	69.52 $\pm$ 7.86 ^{abc}	32.61 $\pm$ 3.06 ^{abc}
F		180.494	378.415	497.297
P		<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the Group A, ^a $P<0.05$; compared with the Group B, ^b $P<0.05$; compared with the Group C, ^c $P<0.05$.

2.4 各组大鼠 SIRT3、 β -catenin、PPAR γ 蛋白表达量比较 C、D 组 PPAR γ 蛋白表达量均高于 A 组,且 C、D 组低于 B 组,干预后,B、C、D 组大鼠 SIRT3、 β -catenin 蛋白表达量均高 D 组低于 C 组($P<0.05$)。详见表 4。

于 A 组,同时 C、D 组大鼠高于 B 组且 D 组高于 C 组;同时 B、

表 4 各组 SIRT3、 β - 连环蛋白、PPAR γ 蛋白表达水平的比较($\bar{x}\pm s$)
Table 4 Comparison of level of expression of protein SIRT3, β -catenin, PPAR γ in each group ($\bar{x}\pm s$)

Groups	N	SIRT3	β -catenin	PPAR γ
Group A	15	0.35 $\pm$ 0.04	0.17 $\pm$ 0.03	0.36 $\pm$ 0.05
Group B	15	0.42 $\pm$ 0.08 ^a	0.32 $\pm$ 0.06 ^a	0.88 $\pm$ 0.09 ^a
Group C	15	0.51 $\pm$ 0.10 ^{ab}	0.41 $\pm$ 0.08 ^{ab}	0.79 $\pm$ 0.06 ^{ab}
Group D	15	0.72 $\pm$ 0.11 ^{abc}	0.65 $\pm$ 0.10 ^{abc}	0.47 $\pm$ 0.05 ^{abc}
F		51.429	116.053	223.353
P		<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the Group A, ^a $P<0.05$; compared with the Group B, ^b $P<0.05$; compared with the Group C, ^c $P<0.05$.

2.5 各组大鼠 SIRT3、 β -catenin、PPAR γ mRNA 相对表达量比较 高于 A 组,同时 C、D 组大鼠高于 B 组且 D 组高于 C 组;同时 B、C、D 组 PPAR γ mRNA 表达量均高于 A 组,且 C、D 组低于 B 组,D 组低于 C 组($P<0.05$)。详见表 5。

干预后,B、C、D 组大鼠 SIRT3、 β -catenin mRNA 表达量均

表 5 各组 SIRT3、 β - 连环蛋白、PPAR γ mRNA 表达水平的比较($\bar{x}\pm s$)
Table 5 Comparison of level of expression of SIRT3, β -catenin, PPAR γ mRNA in each group ($\bar{x}\pm s$)

Group	N	SIRT3	β -catenin	PPAR γ
Group A	15	0.38 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.05	0.46 $\pm$ 0.06
Group B	15	0.43 $\pm$ 0.06 ^a	0.38 $\pm$ 0.07 ^a	0.98 $\pm$ 0.09 ^a
Group C	15	0.54 $\pm$ 0.09 ^{ab}	0.79 $\pm$ 0.06 ^{ab}	0.67 $\pm$ 0.05 ^{ab}
Group D	15	0.80 $\pm$ 0.13 ^{abc}	0.87 $\pm$ 0.10 ^{abc}	0.54 $\pm$ 0.09 ^{abc}
F		71.373	310.190	140.695
P		<0.001	<0.001	<0.001

Note: compared with the Group A, ^a $P<0.05$; compared with the Group B, ^b $P<0.05$; compared with the Group C, ^c $P<0.05$.

3 讨论

心肌梗死多由冠状动脉粥样硬化形成的斑块脱落、聚集而形成血栓、阻塞冠状动脉血流引起心肌供血中断、诱发心肌缺

氧缺血性坏死,继而引发心脏功能受损,严重者可能引起死亡^[13,14]。因而寻找有效的治疗方法具有重要的临床意义。

丹参多酚酸是由丹参提取制备所得,其主要成分为丹酚酸 B、丹酚酸 Y、紫草酸等,相关研究证实,其具有较好的改善微循

环、抗氧化、消炎、抗血小板作用^[15-17],注射用丹参多酚酸已逐渐应用到缺血性心脑血管疾病中,可有效改善纤维化程度^[18,19],但对于心肌梗死的效果及相关作用机制尚未明确,故本研究通过将丹参多酚酸应用于心肌梗死大鼠的治疗以探究其作用机制。本研究中,B、C、D组大鼠LVEF、LVFS下降,LVEDD升高,dP/dt max、dP/dt min均下降,提示心肌梗死大鼠造模成功,心功能受损。经丹参多酚酸盐治疗后,C、D组大鼠的LVEF、LVFS和dP/dt明显高于B组且LVEDD低于B组,提示丹参多酚酸治疗可有效改善心肌梗死大鼠的左心室射血功能,提高心肌收缩和排血量,改善心功能,且D组大鼠的相关指标优于C组,提示高剂量的丹参多酚酸盐治疗效果更优。CK、CK-MB和LDH可作为特异性心肌酶对心肌受损程度进行判断,当心肌组织发生缺血性损伤后,上述生物标记物的水平升高^[20-22]。本研究中,B、C、D组大鼠CK、CK-MB和LDH水平均显著高于A组,提示B、C、D组大鼠发生缺血性心肌损伤,而C、D组大鼠经丹参多酚酸盐治疗后,心肌酶各项指标均低于B组,且D组大鼠低于C组,提示丹参多酚酸盐能够有效改善心肌受损程度,且高剂量丹参多酚酸盐的治疗效果更佳,更利于受损心肌的修复。

血栓形成是发生心肌梗死的重要的病理基础,近年研究证实,炎症反应是引起血栓形成的关键因素之一^[23]。患者发生心肌梗死后会伴有系统性炎症反应,同时心肌梗死的发病过程中,炎症因子也起到关键性作用^[24,25]。当心肌梗死发生后,心肌细胞内的线粒体氧自由基损伤并产生大量的过氧化物,抗氧化酶被消耗后水平下降,同时大量的炎症因子如TNF- α 、IL-6等生成,而这些炎症因子可作用于心肌细胞,引起心脏组织结构改变,心肌肥厚增大,加重心肌细胞死亡^[26]。因此通过抑制炎症反应并调控相关炎症因子可能是治疗心肌梗死的潜在靶点。本研究中,B、C、D组大鼠的IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平明显高于A组,提示心肌梗死会引起上述炎症因子的水平上调,而经治疗的C组、D组大鼠IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平明显低于B组,且D组低于C组,提示丹参多酚酸盐能有效降低炎症因子水平,继而减轻心肌损伤,且高剂量治疗效果更好。

SIRT3是Sirtuins蛋白家族的一种形式,属于乙酰化酶,研究证实,其在心血管疾病发生发展中起到重要作用,敲除SIRT基因后血管平滑肌的增殖速度明显增加,粥样硬化的发生率升高,且其与心肌肥厚性改变和心肌梗死的发生也密切相关^[27,28]。 β -catenin具有促进心肌成纤维细胞转化的作用,与SIRT共同调控心肌细胞,SIRT3对 β -catenin负向调控作用,当SIRT3表达量升高时, β -catenin的水平下调^[29]。PPAR- γ 是核受体之一,可与SIRT3、 β -catenin结合并参与炎症反应、脂肪细胞分化、细胞增殖和糖脂代谢等多种生理进程中,且相关研究表明,SIRT3通路相关蛋白的水平可能与心肌梗死后的炎症反应水平相关^[30]。本研究中,B、C、D组大鼠的SIRT3、 β -catenin、PPAR- γ 蛋白表达量及mRNA相对表达量均明显升高,提示大鼠发生心肌梗死后,SIRT3/ β -catenin-PPAR- γ 信号通路被激活。C、D组大鼠经丹参多酚酸盐治疗后,SIRT3、 β -catenin蛋白表达量及mRNA相对表达量升高且高于B组,同时PPAR- γ 蛋白表达量及mRNA相对表达量下降且低于B组,提示丹参多酚酸盐可能通过调控SIRT3/ β -catenin-PPAR- γ 信号通路,上调SIRT3、

β -catenin蛋白表达并下调PPAR- γ 蛋白表达进而发挥对心肌梗死大鼠的治疗作用,且高剂量治疗效果更明显。

综上,丹参多酚酸盐能够有效改善心肌梗死大鼠的心功能,缓解心肌损伤,其机制可能与调控SIRT3/ β -catenin-PPAR- γ 信号通路、下调炎症因子水平相关,且高剂量丹参多酚酸盐的治疗效果更优。

参考文献(References)

- [1] 张莹莹,郭绪昆,郑君毅,等. 心肌梗死溶栓危险指数与GRACE评分的相关性及其与NSTEMI患者远期预后的关系[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2021, 38(5): 541-545
- [2] Femia G, French JK, Juergens C, et al. Right ventricular myocardial infarction: pathophysiology, clinical implications and management[J]. Rev Cardiovasc Med, 2021, 22(4): 1229-1240
- [3] Bugger H, Pfeil K. Mitochondrial ROS in myocardial ischemia reperfusion and remodeling[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020, 1866(7): 165768
- [4] Ramachandra CJA, Hernandez-Resendiz S, Crespo-Avilan GE, et al. Mitochondria in acute myocardial infarction and cardioprotection[J]. EBioMedicine, 2020, Jul;57: 102884
- [5] Lorenzon Dos Santos J, Quadros AS, Weschenfelder C, et al. Oxidative Stress Biomarkers, Nut-Related Antioxidants, and Cardiovascular Disease[J]. Nutrients, 2020, 12(3): 682
- [6] 吕晓,李树仁,申泽雪,等. 高龄急性非ST段抬高型心肌梗死介入治疗情况及其影响因素分析[J]. 中国全科医学, 2021, 24(35): 4463-4468
- [7] Muthiah MD, Zheng H, Chew NWS, et al. Outcomes of a multi-ethnic Asian population on combined treatment with clopidogrel and omeprazole in 12,440 patients [J]. J Thromb Thrombolysis, 2021, 52(3): 925-933
- [8] Zhang Q, Wang L, Wang S, et al. Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction [J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 78
- [9] 荣霞,史艳霞,杜宇. 积雪草酸通过SIRT3/ β -catenin/PPAR- γ 信号通路影响急性心肌梗死模型大鼠血管新生及心室重构[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 10(6): 593-599
- [10] Ren J, Fu L, Nile SH, et al. Salvia miltiorrhiza in Treating Cardiovascular Diseases: A Review on Its Pharmacological and Clinical Applications[J]. Front Pharmacol, 2019, 10(2): 753
- [11] Chen R, Zhu C, Xu L, et al. An injectable peptide hydrogel with excellent self-healing ability to continuously release salvianolic acid B for myocardial infarction[J]. Biomaterials, 2021, 274(3): 120855
- [12] 马丽霞,罗辉,傅广. 丹参多酚酸通过调节激活素A/卵泡抑素系统对心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化的影响[J]. 中药材, 2021, 44(6): 1457-1462
- [13] Cheema AN, Yanagawa B, Verma S, et al. Myocardial infarction with nonobstructive coronary artery disease (MINOCA): a review of pathophysiology and management[J]. Curr Opin Cardiol, 2021, 36(5): 589-596
- [14] Xie Y, Wang Y, Zhao L, et al. Identification of potential biomarkers and immune cell infiltration in acute myocardial infarction (AMI) using bioinformatics strategy [J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 2890-2905
- [15] 甄凤亚,于鲁璐,王岚,等. 丹参多酚酸对抑郁模型大鼠行为及脑

- 组织炎症因子的影响 [J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2022, 10 (1): 10-16
- [16] Du G, Song J, Du L, et al. Chemical and pharmacological research on the polyphenol acids isolated from Danshen: A review of salvianolic acids[J]. Adv Pharmacol, 2020, 87(18): 1-41
- [17] 贾壮壮, 袁庆, 陈红阳, 等. 丹参多酚酸配伍三七总皂苷通过调节 PI3K/AKT 信号通路对大鼠脑缺血 / 再灌注损伤神经元凋亡的影响[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(9): 1214-1220
- [18] Li Z, Hou J, Deng Y, et al. Exploring the protective effects of Danqi Tongmai tablet on acute myocardial ischemia rats by comprehensive metabolomics profiling[J]. Phytomedicine, 2020, 74(15): 152918
- [19] Zhou M, Yu Y, Luo X, et al. Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury: Therapeutics from a Mitochondria-Centric Perspective [J]. Cardiology, 2021, 146(6): 781-792
- [20] Zhang G, Wang X, Li C, et al. Integrated Stress Response Couples Mitochondrial Protein Translation With Oxidative Stress Control[J]. Circulation, 2021, 144(18): 1500-1515
- [21] Dai Y, Wang Z, Quan M, et al. Asiatic acid protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via modulation of glycometabolism in rat cardiomyocyte [J]. Drug Des Devel Ther, 2018, 12(2): 3573-3582
- [22] Zhang J, Huang L, Shi X, et al. Metformin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury and cell pyroptosis via AMPK/NLRP3 inflammasome pathway [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(23): 24270-24287
- [23] Kim Y, Nurakhayev S, Nurkesh A, et al. Macrophage Polarization in Cardiac Tissue Repair Following Myocardial Infarction [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(5): 2715
- [24] Jia D, Chen S, Bai P, et al. Cardiac Resident Macrophage-Derived Legumain Improves Cardiac Repair by Promoting Clearance and Degradation of Apoptotic Cardiomyocytes After Myocardial Infarction[J]. Circulation, 2022, 145(20): 1542-1556
- [25] Berezin AE, Berezin AA. Adverse Cardiac Remodelling after Acute Myocardial Infarction: Old and New Biomarkers [J]. Dis Markers, 2020, 15(2): 1215802
- [26] Dikalova AE, Pandey A, Xiao L, et al. Mitochondrial Deacetylase Sirt3 Reduces Vascular Dysfunction and Hypertension While Sirt3 Depletion in Essential Hypertension Is Linked to Vascular Inflammation and Oxidative Stress [J]. Circ Res, 2020, 126 (4): 439-452
- [27] Ma LL, Kong FJ, Dong Z, et al. Hypertrophic Preconditioning Attenuates Myocardial Ischaemia-Reperfusion Injury by Modulating SIRT3-SOD2-mROS-Dependent Autophagy [J]. Cell Prolif, 2021, 54 (7): e13051
- [28] Yan W, Lin C, Guo Y, et al. N-Cadherin Overexpression Mobilizes the Protective Effects of Mesenchymal Stromal Cells Against Ischemic Heart Injury Through a β -Catenin-Dependent Manner [J]. Circ Res, 2020, 126(7): 857-874
- [29] Wagner KD, Wagner N. PPARs and Myocardial Infarction [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9436
- [30] Chu X, Wang Y, Pang L, et al. miR-130 aggravates acute myocardial infarction-induced myocardial injury by targeting PPAR- γ [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(9): 7235-7244

(上接第 1247 页)

- [19] Kubes P, Jenne C. Immune Responses in the Liver [J]. Annu Rev Immunol, 2018, 36(8): 247-277
- [20] Koyama Y, Brenner DA. Liver inflammation and fibrosis [J]. J Clin Invest, 2017, 127(1): 55-64
- [21] Feng Y, Feng Q, Qu H, et al. Stress adaptation is associated with insulin resistance in women with gestational diabetes mellitus[J]. Nutr Diabetes, 2020, 10(1): 4
- [22] Hussain T, Murtaza G, Metwally E, et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidant Balance in Pregnancy [J]. Mediators Inflamm, 2021, 15(1): 9962860
- [23] Robinson MW, Harmon C, O'Farrelly C. Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis [J]. Cell Mol Immunol, 2016, 13(3): 267-276
- [24] Rodríguez MJ, Sabaj M, Tolosa G, et al. Maresin-1 Prevents Liver Fibrosis by Targeting Nrf2 and NF- κ B, Reducing Oxidative Stress and Inflammation[J]. Cells, 2021, 10(12): 3406
- [25] Ji Y, Gao Y, Chen H, et al. Indole-3-Acetic Acid Alleviates Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice via Attenuation of Hepatic Lipogenesis, and Oxidative and Inflammatory Stress [J]. Nutrients, 2019, 11(9): 2062
- [26] Górate-Rascón M, Recalde M, Jimenez M, et al. Splicing Factor SLU7 Prevents Oxidative Stress-Mediated Hepatocyte Nuclear Factor 4 α Degradation, Preserving Hepatic Differentiation and Protecting From Liver Damage[J]. Hepatology, 2021, 74(5): 2791-2807
- [27] Juan J, Yang H. Prevalence, Prevention, and Lifestyle Intervention of Gestational Diabetes Mellitus in China [J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(24): 9517
- [28] Szmuiłowicz ED, Josefson JL, Metzger BE. Gestational Diabetes Mellitus[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2019, 48(3): 479-493
- [29] Liu X, Zhang Y, Liu L, et al. Protective and therapeutic effects of nanoliposomal quercetin on acute liver injury in rats [J]. BMC Pharmacol Toxicol, 2020, 21(1): 11
- [30] Li J, Shen Y, Tian H, et al. The role of complement factor H in gestational diabetes mellitus and pregnancy [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2021, 21(1): 562