

# 基于 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$ 信号通路探讨蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠血管新生及心室重构的影响及作用机制

谢方方<sup>1</sup>, 张念志<sup>2</sup>

(1. 安徽中医药大学研究生院; 2. 安徽中医药大学第一附属医院内科, 安徽 合肥 230031)

**【摘要】目的:** 探讨蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠血管新生及心室重构的影响, 并验证其作用机制与 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  信号通路的关系。**方法:** 60 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型对照组、阳性对照组(卡托普利 10 mg/kg)、蒲参胶囊高、中、低剂量组(750, 500, 250 mg/kg), 每组 10 只。采用结扎冠脉动脉法建立大鼠急性心肌梗死模型后灌胃给予相应剂量药物, 假手术组与模型对照组给予生理盐水(20 mL/kg), 1 次/d, 连续 4 周。收集血液, 采用全自动生化分析仪检测血清心肌酶中乳酸脱氢酶-1(LDH-1)以及肌酸磷酸激酶同工酶(CK-MB)的含量; 放射免疫法检测血清中血管紧张素 II(Ang II)、内皮素(ET)、Ⅲ型前胶原氨基端肽(PⅢP)、层粘连蛋白(LN)、透明质酸(HA)的含量; 剥取心脏, 计算心脏质量指数(HMI)以及左心室质量指数(LVMI); 硝基四氮唑蓝(NBT)染色法测定心肌梗死面积; 免疫组化染色法观察心肌组织微血管密度(MVD); PCR 法检测心肌组织中血管内皮生长因子(VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的表达水平; Western Blot 法检测心肌组织中 SIRT3、 $\beta$ -catenin 和 PPAR $\gamma$  的表达水平。**结果:** 与模型组对照组相比, 蒲参胶囊各剂量均可不同程度降低大鼠血清心肌酶 LDH-1、ET、Ang II、PⅢP、LN、HA、CK-MB 的含量( $P < 0.05$ ); 降低大鼠 HMI、LVMI 值及心肌梗死面积( $P < 0.05$ ); 降低心肌 MVD( $P < 0.05$ ); 升高心肌组织中 VEGF、bFGF 以及 SIRT3、 $\beta$ -catenin 蛋白的表达水平, 同时降低 PPAR $\gamma$  蛋白的表达水平( $P < 0.05$ ); 其中高、中剂量组的综合效果较好。**结论:** 蒲参胶囊对大鼠急性心肌梗塞后血管新生和心室重构具有明显的改善作用, 其机制可能与调节 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  信号通路相关。

**【关键词】** SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$ ; 蒲参胶囊; 急性心肌梗死; 血管新生; 心室重构

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标志码】** A

## Effects of Pu-shen capsule on angiogenesis and ventricular remodeling in acute myocardial infarction model based on SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$ Signaling Pathway

XIE Fang-fang<sup>1</sup>, ZHANG Nian-zhi<sup>2</sup>

(1. Graduate School, Anhui University of Traditional Chinese Medicine; 2. Department of Internal Medicine, the First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China)

**【Abstract】Objective:** To investigate the effect of Pu-shen capsule on angiogenesis and ventricular remodeling in rats with acute myocardial infarction, and to verify whether its mechanism is related to SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  signaling pathway. **Methods:** 60 SD rats were randomly divided into sham operation group, model control group, positive control group (captopril 10 mg/kg), and Pu-shen capsule high, medium and low dose groups (750, 500, 250 mg/kg), 10 rats in each group. The rat model of acute myocardial infarction was established by ligation of coronary artery arteries, and the corresponding dose of drugs was given by intragastric administration. The model control group and the sham operation group were given normal saline (20 mL/kg) once a day for 4 weeks. Blood was collected, and the content of lactate dehydrogenase-1 (LDH-1) and creatine phosphokinase isoenzyme (CK-MB) in serum myocardial enzyme was detected by automatic biochemical analyzer. The serum angiotensin II (Ang II), endothelin (ET), type III procollagen amino terminal peptide (PⅢP), laminin (LN), hyaluronic acid (HA) content was detected by radioimmunoassay. Stripping the heart and calculating heart quality Index (HMI) and left ventricular mass index (LVMI), myocardial infarct size was determined by nitroterazolium blue (NBT) staining, myocardial microvessel density (MVD) was observed by immunohistochemical staining. The expression levels of vas-

cular endothelial growth factor (VEGF) and bFGF were detected by PCR. The expression levels of SIRT3,  $\beta$ -catenin and PPAR $\gamma$  in myocardial tissue were detected by Western Blot. **Results:** Compared with the control group, the doses of ginseng capsules could decrease the contents of serum LDH-1, ET, Ang II, P III P, LN, HA and CK-MB in rats ( $P < 0.05$ ). Decreased HMI, LVMI and myocardial infarct size ( $P < 0.05$ ), decreased myocardial MVD ( $P < 0.05$ ). Increase the expression level of VEGF, bFGF, SIRT3 and  $\beta$ -Catenin, and decrease the expression level of PPAR  $\gamma$  protein ( $P < 0.05$ ). The combined effects of high and medium dose groups were better. **Conclusion:** Pushen Capsule can significantly improve angiogenesis and ventricular remodeling after acute myocardial infarction in rats, and its mechanism may be related to the regulation of SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  signaling pathway.

**【Key words】** SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR; Pushen capsule; Acute myocardial infarction; Angiogenesis; Ventricular remodeling

心室重构是导致心肌梗死后心力衰竭的主要因素,预防和逆转心室重构是心血管领域的研究热点。心肌梗死发生后,相应梗死区域的心肌组织中心室壁被拉长,同时变薄,而非梗死区域心肌组织的心室壁则发生代偿性肥厚,同时出现部分纤维化为等病理变化,从而导致心室进行重构,而防止心肌梗死后心室重构是预防心功能恶化的关键。临床应用及相关研究均表明,蒲参胶囊用于心血管类疾病时疗效较显著,而目前关于蒲参胶囊的具体药理活性与作用机制相关研究报道较少。本研究通过复制急性心肌梗死大鼠模型,观察蒲参胶囊对大鼠急性心肌梗死后血管新生和心室重构的影响,并基于 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  信号通路探讨其作用机制,为临床合理高效用药提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本实验所用大鼠均由山东大学实验动物中心提供。60 只实验用大鼠均为清洁级 SD 大鼠,雌雄各半,体质量( $220 \pm 20$ )g。于恒温( $24 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 环境下每笼饲养 5 只,适应性喂养 1 周后开始实验。

蒲参胶囊由江苏苏中海欣制药有限公司生产,卡托普利由常州制药厂有限公司生产,试剂盒:ET (20170218)、Ang II (20160927)、P III P (20160709)、LN (20170118)、HA (20170519),由南京建成生物工程研究所生产,硝基四氮唑蓝购于 NBT-Ruibio 公司,免疫组化检测试剂盒购于 DaKo 公司,CD31 单克隆一抗、兔抗 SIRT3 一抗、 $\beta$ -catenin 抗体、兔抗 PPAR $\gamma$  一抗、鼠抗 GAPDH 一抗由武汉博士德提供,HRP 标记的山羊抗鼠由北京中杉金桥提供,VEGF (20180519)、bFGF (20160927) 试剂盒由大连宝生物公司生产。PVDF 膜购于美国 Millipore 公司,RIPA 裂解液(P0013B)、BCA 蛋白检测试剂盒(P0006C)、PMSF、SDS-PAGE 配制试剂盒(P0012)、蛋白上样缓冲液,ECL 化学发光显影液购于上海碧云天。ALC-V8S 小动物呼吸机由上海奥尔科特生物技术有限公司生产,手术器械购于上海金钟公司, Ken2 Cardio302 心电图机购于北京明成森木医疗器械有限公

司,光学显微镜由日本 Olympus 生产,十万分之一天平购于陕西海联化玻仪器化工有限公司,酶标仪购于 Thermo,电泳槽、转膜槽、电泳仪、凝胶成像仪购于美国 BioRad,平板摇床由北京六一仪器厂生产。

### 1.2 方法

1.2.1 动物分组与模型制备 参考文献<sup>[1-3]</sup>,采用开胸结扎冠状动脉法制备大鼠 AMI 模型:大鼠称重后按照 1 mL/kg 剂量用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉,仰位固定于解剖台,切开气管,插管,连接呼吸机调节呼吸频率为 70 次/min,潮气量 20 mL,呼吸比 1:2,胸部去毛,打开胸腔,在肺动脉圆锥和左心耳之间,于左心耳根部下方 2 mm 处穿无创丝线,结扎该段冠状动脉,局部心肌由红色变为白色,缝合伤口,假手术组大鼠不结扎冠脉。手术 24 h 后,采用心电图仪筛查出存活大鼠中造模成功大鼠后随机分为 5 个亚组:模型对照组,阳性对照组、蒲参胶囊高、中、低剂量组,另设假手术组,每组 10 只。

1.2.2 动物给药剂量及途径 实验开始后,阳性对照组给予卡托普利(10 mg/kg),蒲参胶囊高、中、低剂量给予蒲参胶囊组(750、500、250 mg/kg),假手术组、模型对照组给予生理盐水(20 mL/kg),均灌胃给予,1 次/1 d,连续干预 4 周。

1.2.3 指标检测 (1)血清心肌酶中乳酸脱氢酶-1(LDH-1)和肌酸磷激酶同工酶(CK-MB)含量测定:试验结束后麻醉大鼠,腹腔静脉采血,低温高速离心机离心(3 500 rpm,10 min),分离血清后,严格按照采用全自动生化分析仪说明书操作步骤,测定血清心肌酶中乳酸脱氢酶-1(LDH-1)以及肌酸磷激酶同工酶(CK-MB)的含量。(2)血清中血管紧张素 II(Ang II)、内皮素(ET)、III 型前胶原氨端肽(P III P)、层粘连蛋白(LN)、透明质酸(HA)含量测定:试验结束后麻醉大鼠,腹腔静脉采血,低温高速离心机离心(3 500 rpm,10 min),分离血清,严格按照试剂盒说明书操作步骤,测定血清中 Ang II、ET、P III P、LN、HA 的含量。(3)心脏质量指数(HMI)以及左心室质量指数(LVMI)测定与计算:采血完毕后处死大鼠,剥取心脏,以 4 $^{\circ}\text{C}$  恒温预冷的生理盐水清洗心腔,至心腔内无血迹后立即用滤纸吸干水分。采用万分

之一分析天平精密称量心脏质量,结合大鼠体质量计算心脏质量指数(HMI = 全心重/体重,mg/g);称量结束后剪除右室壁及心房,保留左心室及室间隔,采用万分之一分析天平精密称量其质量,结合大鼠体质量计算左心室质量指数(LVMI = 左心重/体重,mg/g)。(4)心肌梗死面积测定:左心室称量结束后,立即置于-80℃冰箱冷冻15 min,沿垂直长轴将心脏切制厚度为0.1 cm的组织切片,使用浓度为0.1%的硝基四氮唑蓝(NBT)溶液进行组织切片染色,染色至均匀后37℃恒温水浴1 h,再置于10%的福尔马林中固定48 h,取出固定切片,将每个心肌切片中被染色的非梗死心肌组织准确剪除,然后精密称重未染色的梗死心肌质量,所得质量除去左心室称重质量,即为心肌梗死面积(%)。(5)心肌组织微血管密度(MVD)测定:将已检测的梗死区心肌组织切片进行脱蜡、水化等常规步骤,封闭内源性过氧化物酶性,按照试剂盒说明书操作:滴加CD31单克隆一抗(1:50),孵育过夜,依次滴聚合物辅助剂、HRP标记抗山羊IgG抗体,DAB显色,在显微镜下观察左心室中CD31阳性细胞的表达情况,以细胞呈现棕色或褐色颗粒视为CD31阳性细胞表达,使用PBS代替阴性对照一抗。随机选取10个视野,计数单位面积内CD31阳性微血管数目,计算平均值,即MVD。(6)心肌组织中血管内皮生长因子(VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的表达水平测定:将所制备的心肌组织病理切片,各标本均以100 μm为间隔切取厚度为3 μm的全心脏长轴面切片,每个标本共切取6张。采用免疫组织化学SP法,严格按照试剂盒说明书分别检测心肌梗死区域VEGF及碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的表达,VEGF及bFGF阳性表达均位于心肌细胞的胞浆内,以胞浆呈棕黄色视为阳性反应,采用免疫组化图像定量分析系统进行各实验组大鼠心肌组织VEGF及bFGF阳性反应强度分析。IOD(阳性反应强度)值 = 阳性反应面积/平均光密度。(7)心肌组织中SIRT3、β-catenin和PPARγ的表达水平测定:常规提取大鼠心肌梗死周边区心肌组织总蛋白,BCA法测定各组蛋白浓度,每孔40 μg上样。取蛋白沸水变性,SDS-PAGE电泳分离,湿法转膜至PVDF膜上,脱脂奶粉室温下封闭2 h后,4℃孵育一抗[兔抗SIRT3(1:100)、鼠抗β-catenin(1:200)、兔抗PPARγ(1:1000)、鼠抗GAPDH(1:500)],静置过夜;加入相应HRP标记的二抗(1:1000)稀释,室温下孵育1 h,采用ECL显影后暗室发光,以Bio-rad凝胶电泳图像分析系统进行图像扫描,扫描所得图像以Quantity One软件进行样本灰度值分析。

### 1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0软件对数据进行统计分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠血清心肌酶LDH-1、CK-MB的影响

与假手术组相比,模型对照组大鼠血清中心肌酶LDH-1、CK-MB含量显著升高( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,蒲参胶囊中、高剂量组大鼠血清中心肌酶CK-MB含量显著降低( $P < 0.01$ );中剂量组大鼠血清中心肌酶LDH-1含量明显降低( $P < 0.05$ );高剂量组大鼠心肌酶LDH-1显著降低( $P < 0.01$ )。血清心肌酶的含量与蒲参胶囊的给药剂量存在一定负相关,即呈剂量依赖性降低趋势。见图1。

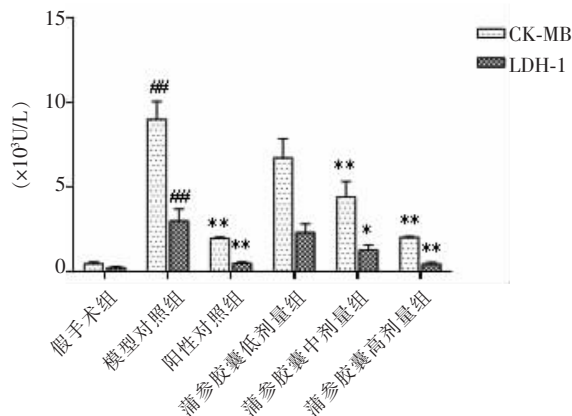


图1 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠血清心肌酶LDH-1、CK-MB的影响

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ,与模型对照组相比;### $P < 0.01$ ,与假手术组相比。

### 2.2 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠血清Ang II、ET、PⅢP、LN、HA的影响

与假手术组相比,模型对照组大鼠血清心肌酶Ang II、ET、LN明显升高( $P < 0.05$ ),PⅢP、HA显著升高( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,蒲参胶囊中剂量组大鼠血清Ang II、ET、LN、HA明显升高( $P < 0.05$ );高剂量组大鼠血清ET、LN、PⅢP明显升高( $P < 0.05$ ),Ang II、HA显著升高( $P < 0.01$ )。血清Ang II、ET、LN、HA、PⅢP的含量与蒲参胶囊的给药剂量存在一定负相关,即呈剂量依赖性降低趋势。见图2。

### 2.3 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠HMI、LVMI的影响

与假手术组相比,模型对照组大鼠HMI、LVMI显著降低( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,蒲参胶

囊中剂量组大鼠 HMI 明显降低 ( $P < 0.05$ );高剂量组大鼠 HMI、LVMI 显著降低 ( $P < 0.01$ )。大鼠

HMI、LVMI 与蒲参胶囊的给药剂量存在一定负相关,即呈剂量依赖性降低趋势。见图 3。

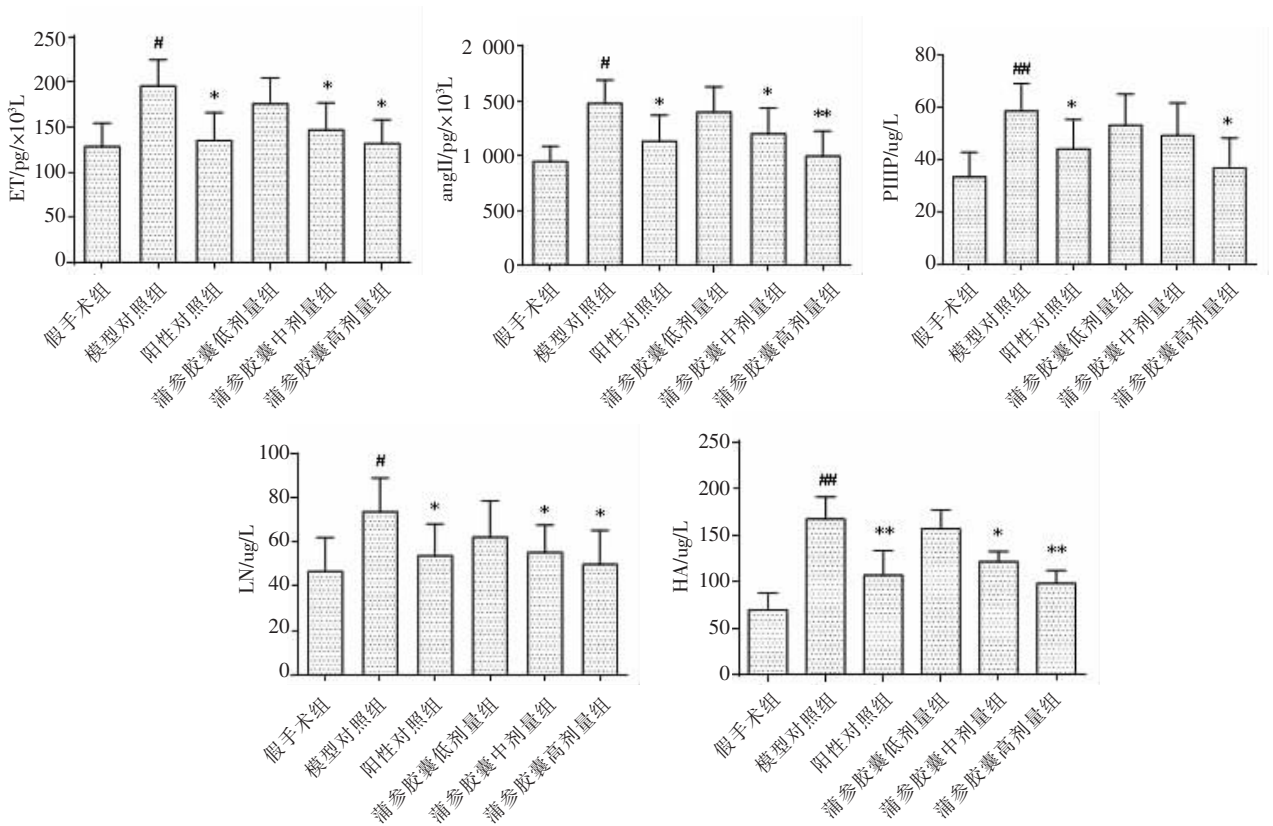


图 2 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠血清 Ang II、ET、PIIIP、LN、HA 的影响

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ,与模型对照组相比;# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ ,与假手术组相比。

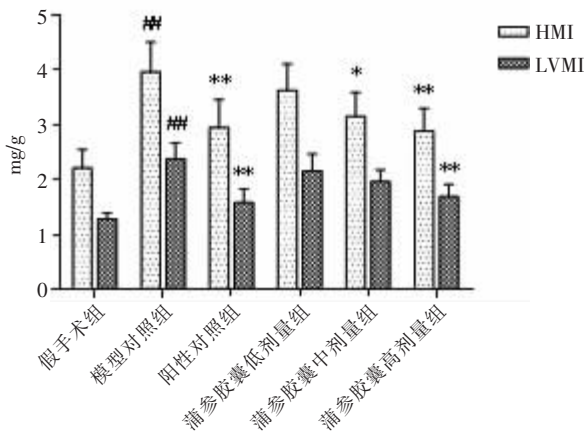


图 3 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠 HMI、LVMI 的影响

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ,与模型对照组相比;## $P < 0.01$ 与假手术组相比。

#### 2.4 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠心肌梗死面积的影响

与假手术组相比,模型对照组大鼠心肌梗死面积显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,蒲参胶囊中剂量组大鼠心肌梗死面积明显降低 ( $P <$

0.05);高剂量组大鼠心肌梗死面积显著降低 ( $P < 0.01$ )。大鼠心肌梗死面积与蒲参胶囊的给药剂量存在一定负相关,即呈剂量依赖性降低趋势。见图 4、图 5。

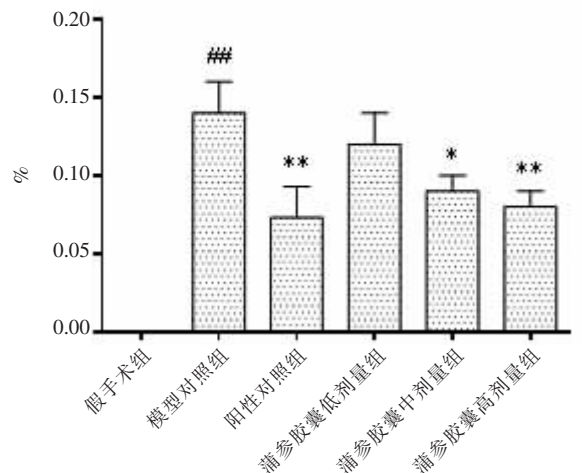


图 4 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠心肌梗死面积的影响

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ,与模型对照组相比;## $P < 0.01$ 与假手术组相比。

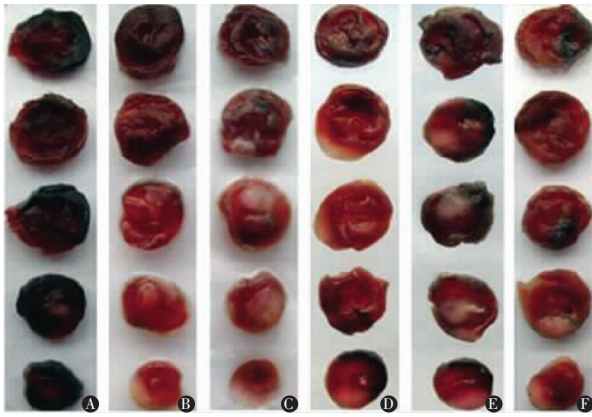


图 5 各组大鼠心肌梗死情况

A.假手术组;B.模型对照组;C.蒲参胶囊低剂量;D.蒲参胶囊中剂量;E.蒲参胶囊高剂量;F.阳性对照组

### 2.5 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠 MVD 的影响

与假手术组相比,模型对照组大鼠 MVD 显著升高( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,蒲参胶囊高

剂量组大鼠 MVD 显著降低( $P < 0.01$ )。大鼠 MVD 与蒲参胶囊的给药剂量存在一定负相关,即呈剂量依赖性降低趋势。结果见图 6 及图 7。

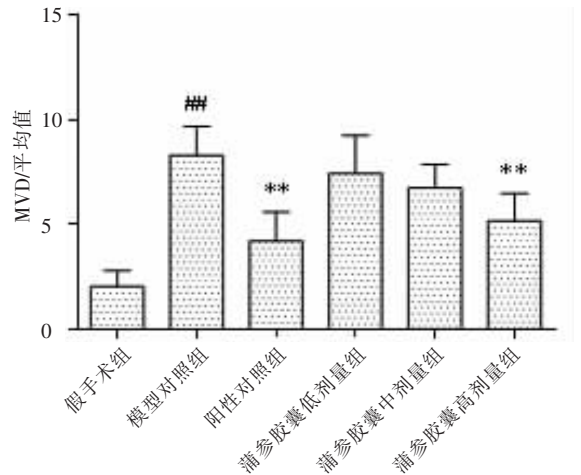


图 6 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠 MVD 的影响

\*\* $P < 0.01$ ,与模型对照组相比;### $P < 0.01$ ,与假手术组相比。

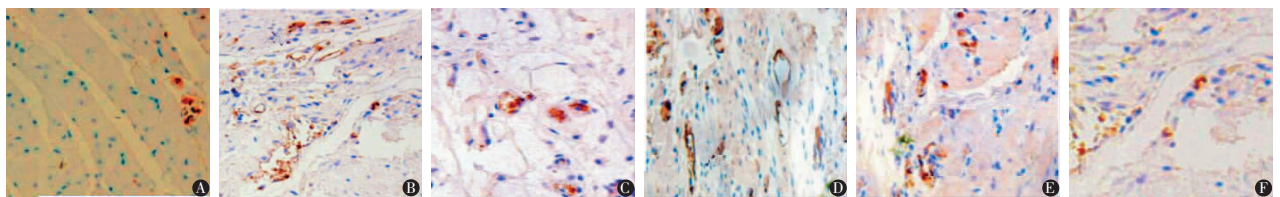


图 7 各组心肌组织微血管密度

A.假手术组;B.模型对照组;C.蒲参胶囊低剂量;D.蒲参胶囊中剂量;E.蒲参胶囊高剂量;F.阳性对照组

### 2.6 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠心肌组织 VEGF、bFGF 表达水平的影响

与假手术组相比,模型对照组大鼠 VEGF、bFGF 表达水平明显升高( $P < 0.05$ )。与模型对照组相比,蒲参胶囊低剂量组大鼠 bFGF 明显升高( $P < 0.05$ );中剂量组大鼠 VEGF 表达水平明显升高( $P < 0.05$ ),bFGF 表达水平显著升高( $P < 0.01$ );高剂量组大鼠 VEGF、bFGF 表达水平显著升高( $P < 0.01$ )。大鼠心肌组织 VEGF、bFGF 表达水平与蒲参胶囊的给药剂量存在一定正相关,即呈剂量依赖性升高趋势。结果见图 8。

### 2.7 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠心肌组织 SIRT3、 $\beta$ -catenin 和 PPAR $\gamma$ 表达水平的影响

与假手术组相比,模型对照组大鼠 SIRT3、 $\beta$ -catenin 和 PPAR $\gamma$  的表达水平显著升高( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,蒲参胶囊低剂量组大鼠  $\beta$ -catenin 明显降低( $P < 0.05$ );蒲中剂量组大鼠  $\beta$ -catenin、PPAR $\gamma$  表达水平明显降低( $P < 0.05$ );高剂量

组大鼠 SIRT3、PPAR $\gamma$  表达水平明显降低( $P < 0.05$ ), $\beta$ -catenin 表达水平显著降低( $P < 0.01$ )。大鼠心肌组织 SIRT3、 $\beta$ -catenin 和 PPAR $\gamma$  的表达水平与蒲参胶囊的给药剂量存在一定负相关,即呈剂量依赖性降低趋势。结果见图 9、图 10。

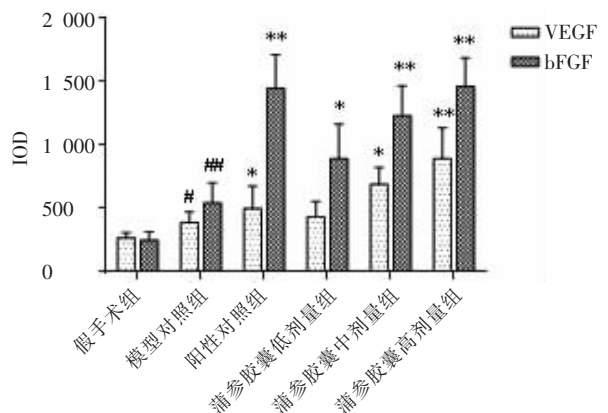


图 8 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠心肌组织 VEGF、bFGF 表达水平的影响

\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,与模型对照组相比;# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ 与假手术组相比。

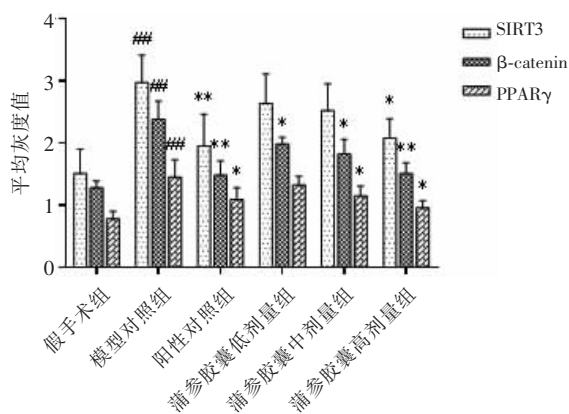


图9 蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠心肌组织 SIRT3、 $\beta$ -catenin 和 PPAR $\gamma$  表达水平的影响

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , 与模型对照组相比; ## $P < 0.01$ , 与假手术组相比。

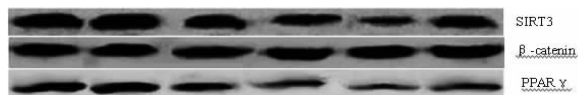


图10 各组心肌组织 SIRT3、 $\beta$ -catenin 和 PPAR $\gamma$  表达水平

### 3 讨论

蒲参胶囊由蒲黄、何首乌、丹参、赤芍等药组成,具有活血化瘀、滋阴化浊的功效,因其具有抗缺氧、抗氧化、调节一氧化碳合成、改善内皮素动态平衡、维持内皮细胞功能、减轻血管炎症反应、改善冠状动脉供血等多种药理活性,因此成为冠心病合并高脂血症患者较为理想的治疗药物之一<sup>[4-7]</sup>。但蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠血管新生及心室重构是否有影响,及作用机制是否与 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  信号通路有关,目前尚无研究报道。故本实验基于 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  信号通路探讨蒲参胶囊对急性心肌梗死模型大鼠血管新生及心室重构的影响及作用机制,为蒲参胶囊临床合理用药提供实践基础。

血清 Ang II、ET、PⅢP、LN、HA 为临床认可的可提高诊断准确性、可靠性的指标,也被作为评价心肌纤维化或心室重构的重要间接指标。MVD 被公认是反映血管新生强度与侧支循环的有效解剖学指标,且 CD34 具有较高的特异性、敏感性及重复性,可作为较好的血管内皮细胞生长表面标志物,因此普遍采用 CD34 的表达来计算 MVD,了解血管生成。HMI、LVMI 以及心肌梗死面积,均可反映急性心肌梗死后心肌重构的严重程度,不仅与重构的发生发展直接相关,在一定程度上还可间接反映重构。基于分子生物学的相关研究则表明,生长因子影响引起心肌缺血、缺氧后血管生成的主要原因,尤其以 VEGF 和 bFGF 的影响作用最为突出。VEGF 是一

种作用于血管内皮细胞,可促进血管形成、具有高度特异性的生长刺激因子;bFGF 则是一种生成生长刺激因子,特异性作用于血管内皮及平滑肌细胞、成纤维细胞、神经细胞。二者对于促进血管新生具有较好的协同作用。SIRT3 是 Sirtuins 家族 7 个成员 (SIRT1 ~ SIRT3) 中主要调控细胞能量代谢、生物合成及细胞凋亡,并与心血管病密切相关的成员<sup>[8]</sup>。Mozaffarian 等<sup>[9]</sup>在研究心血管的发病机制时发现在正常生理状态时 SIRT3 表达稳定,但在交感神经兴奋和高血压等情况下,当血管紧张素 II (Ang II) 水平升高时,血管平滑肌细胞中 SIRT3 表达增加,血管平滑肌细胞增殖被抑制,而当 SIRT3 基因被敲除后,血管平滑肌细胞增殖明显加快,诱发动脉粥样硬化的发生。另有研究<sup>[10]</sup>表明,SIRT3 与心肌肥厚和心肌梗死等心血管病有密切关系。PPAR $\gamma$  则有诱导肿瘤细胞的分化及凋亡、抑制肿瘤血管的生成、调控糖和脂肪代谢、平衡能量,抗动脉粥样硬化,改善心功能衰竭和参与心室重构等多种功能,且与肥胖,心血管病、糖尿病、高血压、肾病等多种疾病相关。Yin 等<sup>[11]</sup>研究发现激活的 PPAR $\gamma$  能够抑制 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  信号的表达,可能有益于改善动脉粥样硬化中的炎症反应。 $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 作为 Wnt 信号通路中的关键因子,能够促进心肌组织中成纤维细胞的转化及分化增殖,从而引起心肌纤维化的发生<sup>[12]</sup>。此外,许多研究发现  $\beta$ -catenin 和 PPAR $\gamma$  之间能相互调控,SIRT3 过表达时则  $\beta$ -catenin 的表达相应减少,而 SIRT3 的表达处于抑制状态时则  $\beta$ -catenin 表达相应增多;同时,PPAR $\gamma$  激活时  $\beta$ -catenin 表达减少,PPAR $\gamma$  抑制时则  $\beta$ -catenin 表达增多<sup>[13]</sup>。研究还发现 SIRT3 和 PPAR $\gamma$  能抑制 Ang II 诱导的心肌成纤维细胞转分化,同时研究显示 SIRT3 可通过  $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  抑制心肌成纤维细胞的转分化<sup>[14]</sup>。

本研究结果显示,蒲参胶囊中、高剂量组均可不同程度降低血清 LDH-1、CK-MB、Ang II、ET、LN、HA、PⅢP 的含量,降低大鼠 HMI 及 LVMI 值,不仅通过肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 延缓心室重构进程,同时抑制左心室心肌细胞肥大及随心肌细胞外基质的增殖等<sup>[15]</sup>;蒲参胶囊中、高剂量组均可缩小心肌梗死面积、降低 MVD,表明蒲参胶囊对大鼠心肌梗死及梗死后心室重构具有保护作用;蒲参胶囊不同剂量均可上调心肌组织 VEGF 和 bFGF 的蛋白表达水平,通过诱导心肌血管新生方式改善心肌缺血状态,增加血液供应,在抑制心室重构和缓解心肌纤维化过程中发挥重要作用。蒲参胶囊不同剂量均可下调心肌组织 SIRT3、PPAR $\gamma$  蛋白的表

达,同时上调 PPAR $\gamma$  蛋白的表达,提示蒲参胶囊改善心室重构的作用机制可能与 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  信号通路有关。

综上所述,蒲参胶囊可通过调节 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  信号通路改善急性心肌梗死大鼠血管新生及心室重构,且综合效果与给药剂量呈一定正相关。

#### 参考文献

[1] 张晓东,袁权,林德智,等. 川芎嗪注射液对急性心肌梗死大鼠心肌损伤标志物及心功能的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018,13(5):921-924.

[2] 荣霞,史艳霞,杜宇. 积雪草酸通过 SIRT3/ $\beta$ -catenin/PPAR $\gamma$  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(6):593-599.

[3] 王晓敏,高增光,席晓甜,等. 红花黄色素注射液对急性心肌梗死模型大鼠低氧诱导因子和血管内皮生长因子的影响[J]. 医药导报,2016,35(6):570-573.

[4] De Luca A, Carotenuto A, Rachiglio A, et al. The role of the EGFR signaling in tumor micro-environment[J]. J Cell Physiol, 2008, 214(3):559-567.

[5] 李妍. 蒲参胶囊联合阿托伐他汀治疗高脂血症(血瘀证)的临床观察[D]. 太原:山西医科大学,2017.

[6] Dragneva G, Korpisalo P, Herttuala S. Promoting blood vessel growth in ischemic diseases: Challenges in translating preclinical potential into clinical success[J]. Dis Model Mech, 2013, 6(2):312-322.

[7] 曹美静,闫晨,郝丽娜. 蒲参胶囊对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 陕西医学杂志,2018,47(7):819-822.

[8] Nebbioso A, Manzo F, Miceli M, et al. Selective class II HDAC inhibitors impair myogenesis by modulating the stability and activity of HDAC-MEF2 complexes[J]. EMBO Rep, 2009, 10(7):776-782.

[9] Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Heart disease and stroke statistics-2015 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2015, 131(4):e29-322.

[10] Albrecht-Schgoer K, Schgoer W, Holfeld J, et al. The angiogenic factor secretoneurin induces coronary angiogenesis in a model of myocardial infarction by stimulation of vascular endothelial growth factor signaling in endothelial cells[J]. Circulation, 2012, 126(21):249-501.

[11] Yin H, Liu Z, Li F, et al. Ginsenoside-Rg1 enhances angiogenesis and ameliorates ventricular remodeling in a rat model of myocardial infarction[J]. J Mol Med, 2011, 89(4):363-375.

[12] 黄警,黄燮南,张纾,等. 人参总皂苷对 PDGF-BB 所致血管平滑肌细胞增殖周期的影响[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(6):787-791.

[13] Huang J, Huang XN, Zhang S, et al. Effect of total ginsenosides on the cell cycle of rat vascular smooth muscle cell proliferation induced by PDGF-BB[J]. Chin Pharmacol Bull, 2010, 26(6):787-791.

[14] 郁秀娟,朱红军,黄飞燕,等. 多西环素抑制基质金属蛋白酶对心肌梗死大鼠左室重构和心功能的影响[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(6):841-845.

[15] Ng EW, Adamis AP. Targeting angiogenesis, the underlying disorder in neovascular age-related macular degeneration[J]. Can J Ophthalmol, 2005, 40(3):352.

(收稿日期:2019-06-12)

学术编辑:杨颖)