

引用:张会涛,郅涛.基于AMPK通路降香水提物对急性心肌梗死大鼠心肌细胞线粒体能量代谢的影响[J].中医导报,2021,27(12):15-19,23.

基于AMPK通路降香水提物对急性心肌梗死大鼠心肌细胞线粒体能量代谢的影响

张会涛,郅涛

(保定市第一中心医院西院,河北 保定 071000)

[摘要] 目的:探讨降香水提物(DOA)通过AMPK信号通路对急性心肌梗死(AMI)大鼠心功能及线粒体能量代谢的影响。方法:60只大鼠随机分为假手术组、模型组、降香水提物组、激动剂组和激动剂+降香水提物组,各药物组分别灌胃相应药物,假手术组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,连续7 d,除假手术组外,其余组大鼠建立AMI模型。检测大鼠左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心室舒张末期前内径(LVEDD)、左心室收缩末期前内径(LVESD),以及血清中单磷酸腺苷(AMP)、二磷酸腺苷(ADP)和三磷酸腺苷(ATP)含量;检测心肌梗死面积,丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性,以及AMPK、p-AMPK、过氧化物增殖激活受体 γ 辅助激活因子(PGC-1 α)和p-PGC-1 α 蛋白表达。结果:模型组和激动剂组大鼠心肌细胞排列紊乱、细胞间隙增宽、肌纤维断裂;降香水提物组大鼠心肌细胞病变减轻,趋于正常;激动剂+降香水提物组大鼠心肌细胞病变较降香水提物组加重,较激动剂组减轻。模型组大鼠LVEF、LVFS、ATP含量,以及SOD活性均低于降香水提物组($P<0.05$),高于激动剂组($P<0.05$),而LVEDD、LVESD、心肌梗死面积、ADP含量、AMP含量、MDA含量、p-AMPK蛋白相对表达量和p-PGC-1 α 蛋白相对表达量高于降香水提物组($P<0.05$),低于激动剂组($P<0.05$);激动剂+降香水提物组大鼠LVEF、LVFS、ATP含量及SOD活性均低于降香水提物组,高于激动剂组($P<0.05$),而LVEDD、LVESD、心肌梗死面积、ADP含量、AMP含量、MDA含量、p-AMPK蛋白相对表达量和p-PGC-1 α 蛋白相对表达量均高于降香水提物组($P<0.05$),低于激动剂组($P<0.05$)。结论:降香水提物可改善AMI大鼠心功能障碍,降低氧化应激水平,增强线粒体能量合成,其机制可能是通过调节AMPK/PGC-1 α 信号通路发挥调控作用。

[关键词] 急性心肌梗死;降香水提物;AMPK通路;能量代谢;线粒体;大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2021)12-0015-05

DOI:10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2021.12.004

Effect of Aqueous Extract of Jiangxiang (*Dalbergia Odorifera*) on Mitochondrial Energy Metabolism in Rats with Acute Myocardial Infarction Based on AMPK Pathway

ZHANG Hui-tao, QIE Tao

(West Hospital of Baoding First Central Hospital Baoding, Hebei 071000, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of aqueous extract of *Dalbergia odorifera* (DOA) on cardiac function and mitochondrial energy metabolism in acute myocardial infarction (AMI) rats through AMPK signaling pathway. Methods: 60 rats were randomly divided into sham operation group, model group, DOA group, agonist group, and agonist+DOA group. Each drug groups was gavaged with corresponding drugs respectively, and sham operation group and model group were gavaged with equal volume of normal saline, for consecutive 7 days. Except sham operation group, AMI model was established in other groups. Left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular short axis shortening (LVFS), left ventricular end diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end systolic diameter (LVESD), and the contents of adenosine monophosphate (AMP), adenosine diphosphate (ADP) and adenosine triphosphate (ATP) in serum were measured. Myocardial infarct size, malondialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity, as well as the expression of AMPK, p-AMPK, peroxide proliferation activated receptor γ coactivator (PGC-1 α) and p-PGC-1 α protein were detected. Results: In the model group and agonist group, the arrangement of cardiomyocytes was disordered, the intercellular space was widened and the muscle fibers were broken. In the DOA group, the pathological changes of myocardial cells were reduced and tended to be normal. The cardiomyocyte pathological changes of rats in the agonist+DOA group were more

通讯作者:郅涛, E-mail: zhongzhhh_9@163.com

severe than those in the DOA group, and were lower than those in the agonist group. The contents of LVEF, LVFS, ATP and SOD activity in the model group were lower than those in DOA group ($P<0.05$), but higher than those in agonist group ($P<0.05$). The LVEDD, LVESD, myocardial infarction area, the contents of ADP, AMP, MDA, and the relative expression of p-AMPK protein and p-PGC-1 α protein in the model group were higher than those in DOA group ($P<0.05$), but lower than those in agonist group ($P<0.05$). The LVEF, LVFS, the contents of ATP and SOD activity in agonist+DOA group were lower than those in DOA group ($P<0.05$), but higher than those in agonist group ($P<0.05$). The LVEDD, LVESD, myocardial infarction area, the contents of ADP, AMP, MDA, and the relative expression of p-AMPK protein and P-PGC-1 α protein in agonist+DOA group were higher than those in DOA group ($P<0.05$), and lower than agonist group ($P<0.05$). Conclusions: DOA can improve cardiac dysfunction, reduce the level of oxidative stress and enhance mitochondrial energy synthesis in AMI rats, which may play a regulatory role by regulating AMPK/PGC-1 α signaling pathway.

[Keywords] acute myocardial infarction; aqueous extract of Jiangxiang (*Dalbergia Odorifera*); AMPK pathway; energy metabolism; mitochondria; rat

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)属于严重的冠心病类型,在中老年人群中发病率极高,严重危害患者生命安全。研究发现,降低炎症反应和氧化应激水平具有心肌梗死后心脏保护作用^[1]。降香(*dalbergia odorifera*, DO)是一种用于临床治疗心脑血管疾病的中药。既往研究表明,降香提取物对缺血再灌注导致的心脏损伤具有保护作用,可以降低心肌梗死大鼠心脏炎症反应^[2-3]。另外,通过降低氧化应激水平可以改善心功能^[4]。但降香提取物在心肌梗死模型中是否发挥心脏保护作用尚不明确,其具体机制尚不清楚。故本研究通过建立急性心肌梗死模型,探讨降香水提物是否通过腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK)/过氧化物增殖激活受体 γ 辅助激活因子(peroxisome proliferator-activated receptor γ co-activator 1 α , PGC-1 α)信号通路降低氧化应激水平、提高心肌能量代谢、改善心功能,以期降香相关药物的研发及AMI的临床治疗提供参考。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 8周龄SPF级雄性SD大鼠60只,体质量180~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0011,实验动物使用许可证号:SYXK(冀)2018-008。饲养期间自由饮食饮水,室温22~25℃,相对湿度40%~60%,明暗交替。实验严格遵循《实验动物管理条例》,确保动物福利伦理,经医学实验动物管理委员会审核批准,动物伦理福利批准号:BDDYZXY2019051601。

1.2 药物与试剂 降香水提物(aqueous extract of *dalbergia odorifera*, DOA)(纯度>98%,西安小草植物科技有限责任公司,批号:20181206);5-氨基咪唑-4-甲酰胺核苷酸转甲酰酶(5-amino-4-imidazolecarboxamide riboside, AICAR)(美国Sigma-Aldrich公司,批号:20190123);TTC染料(美国Sigma公司,批号:20190322);单磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)试剂盒(批号:20181007)、二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)试剂盒(批号:20180815)和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)试剂盒(批号:20190412)均购自南京卡米洛生物工程有限公司;超氧化物歧化酶(superoxide

dismutase, SOD)试剂盒(批号:20180910)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号:20190405)均购自南京建成生物工程研究所;兔抗大鼠AMPK抗体(批号:20180712)、p-AMPK抗体(批号:20180814)、PGC-1 α 抗体(批号:20190425)、p-PGC-1 α 抗体(批号:20190321)、GAPDH抗体(批号:20180911)均购自美国SantaCruz公司。

1.3 主要仪器 RWD407型呼吸机(中国瑞沃德生命科技有限公司);倒置显微镜(日本Olympus公司);电泳仪(北京六一电子仪器厂);多功能酶标仪(美国Bio-Rad公司)。

1.4 分组与给药 60只SD大鼠,适应性喂养3 d后,随机分为假手术组、模型组、降香水提物组、激动剂组、激动剂+降香水提物组,每组12只。降香水提物组和激动剂+降香水提物组大鼠灌胃降香水提物,2.5 g/(kg·d),连续7 d,其余3组大鼠灌胃等体积生理盐水;激动剂组和激动剂+降香水提物组大鼠同时腹腔注射AICAR(AICAR溶于生理盐水),20 mg/(kg·d),连续7 d,其余各组大鼠腹腔注射等体积生理盐水。

1.5 造模方法 第7天给药结束2 h后,除假手术组外,其余各组大鼠建立急性心肌梗死模型。1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠,连接心电图机,分离颈部肌肉,暴露气管,连接呼吸机,辅助呼吸。于第3~4肋间分离皮层、肌肉层,暴露心脏,剪开心包,于肺动脉圆锥与左心耳之间距离主动脉3~4 mm处,6-0号无创缝合线结扎左冠状动脉前降支。以ST段抬高,左心室前壁变苍白并持续30 min,为急性心肌梗死模型建造成功。假手术组大鼠仅开胸后,左冠状动脉前降支相同部位穿线,但不结扎^[5]。造模过程中模型组和激动剂+降香水提物组大鼠各死亡2只,其余各组大鼠未死亡。

1.6 观察指标

1.6.1 心功能 术后第2天,戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠,胸部剃毛,彩色多普勒超声心动图检测各组大鼠左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)、左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic dimension, LVESD)、左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDD)。

1.6.2 心肌能量代谢 脱颈处死大鼠,主动脉采血,室温静置

30 min, 3 000 r/min离心15 min, 离心半径为8 cm。收集上清液, 严格按照ELISA试剂盒说明书操作, 加入终止液后, 置于酶标仪上, 450 nm波长处测定A值, 并根据做出的标准曲线, 计算血清中ATP、ADP、AMP含量。

1.6.3 心肌梗死面积 剥离心脏, 切取心尖部1/2部分, 将心尖部横向切成1~2 mm的薄片, 置于1% TTC磷酸缓冲液中, 37 °C恒温箱孵育20 min, 避光并振荡。之后, 用水洗去多余染料, 梗死区显示为灰白色, 非梗死区为砖红色。甲醛固定后扫描, Image pro plus 6.0计算心肌梗死面积百分比=(心肌梗死面积之和/心肌总面积之和)×100%。

1.6.4 心肌组织病理学变化 取部分心肌组织置于4%多聚甲醛中固定24 h, 经包埋、脱水、切片(片厚4 μm)后, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 行HE染色, 中性树胶封片后, 置于显微镜下观察。

1.6.5 线粒体氧化应激水平 取200 mg心肌组织, 置入盛有2 mL冰生理盐水的EP管中, 匀浆至无组织块, 4 °C 3 000 r/min离心15 min, 离心半径为8 cm, 收集上清液。SOD活性和MDA含量测定均按照说明书操作。SOD活性测定用黄嘌呤氧化酶法, 硫代巴比妥酸法测定MDA含量, 于波长550 nm处测定吸光度(A)值并计算SOD活性, 波长532 nm处测定A值并计算MDA含量。

1.6.6 心肌组织中p-AMPK、AMPK、p-PGC-1α、PGC-1α蛋白表达 取部分心肌组织, 匀浆后, 清洗3次, 加入RIPA裂解液静置30 min, 4 °C 12 000 r/min离心15 min(离心半径10 cm), 收集上清液, BCA法测定蛋白浓度, 100 °C煮沸5 min。按照分组依次上样, 每孔加入样品20 μL, 120 V电泳2 h, 0.3 A湿转2 h, TBST洗膜3次, 室温封闭1 h, p-AMPK、AMPK、p-PGC-1α、PGC-1α和GAPDH(1:1 000)抗体4 °C孵育过夜, TBST洗膜3次, 二抗(1:5 000)室温孵育2 h, TBST洗膜3次, ECL法显色。

表1 各组大鼠心功能指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	给药剂量(mg/kg)		LVEF(%)	LVFS(%)	LVEDD(mm)	LVESD(mm)
		降香水提物	AICAR				
假手术组	12	-	-	82.73±6.19	53.75±6.23	5.17±0.71	3.29±0.53
模型组	10	-	-	60.38±5.24 ^a	32.85±5.56 ^a	10.23±0.82 ^a	7.82±0.54 ^a
降香水提物组	12	500	-	75.27±6.26 ^b	47.90±4.27 ^{ab}	6.54±0.66 ^{ab}	5.17±0.62 ^{ab}
激动剂组	12	-	4	54.82±4.34 ^{abc}	25.96±4.13 ^{abc}	13.62±0.74 ^{abc}	9.64±0.55 ^{abc}
激动剂+降香水提物组	10	500	4	68.17±7.64 ^{abcd}	40.52±5.71 ^{abcd}	8.69±0.71 ^{abcd}	6.23±0.66 ^{abcd}
F				40.959	54.114	245.440	208.143
P				0.000	0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,^aP<0.05;与模型组比较,^bP<0.05;与降香水提物组比较,^cP<0.05;与激动剂组比较,^dP<0.05

表2 各组大鼠血清中ATP、ADP、AMP含量比较 ($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	动物数(只)	给药剂量(mg/kg)		ATP	ADP	AMP
		降香水提物	AICAR			
假手术组	12	-	-	691.79±102.43	145.29±84.43	126.74±86.23
模型组	10	-	-	327.64±98.57 ^a	397.12±96.47 ^a	438.28±90.79
降香水提物组	12	500	-	564.90±105.38 ^{ab}	198.34±99.21 ^{ab}	222.57±84.34
激动剂组	12	-	4	214.65±95.40 ^{abc}	527.40±102.52 ^{abc}	574.22±97.25
激动剂+降香水提物组	10	500	4	451.66±100.24 ^{abcd}	300.47±92.63 ^{abcd}	345.37±94.68
F				41.381	30.798	44.622
P				0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,^aP<0.05;与模型组比较,^bP<0.05;与降香水提物组比较,^cP<0.05;与激动剂组比较,^dP<0.05

Image J软件计算条带灰度值,以目的条带灰度值与内参GAPDH灰度值的比值表示蛋白相对表达量。

1.7 统计学方法 采用SPSS 21.0统计学软件分析数据,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,多样本计量资料比较采用单因素方差分析,两两样本比较采用LSD-t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

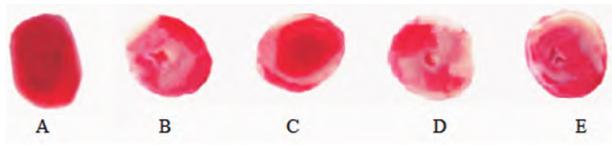
2 结 果

2.1 各组大鼠心功能指标比较 模型组大鼠LVEF和LVFS均低于假手术组和降香水提物组(P<0.05),而高于激动剂组(P<0.05);模型组大鼠LVEDD和LVESD均长于假手术组和降香水提物组(P<0.05),而短于激动剂组(P<0.05)。激动剂+降香水提物组大鼠LVEF和LVFS均低于降香水提物组(P<0.05),而高于激动剂组(P<0.05);激动剂+降香水提物组大鼠LVEDD和LVESD均长于降香水提物组(P<0.05),而短于激动剂组(P<0.05),提示模型组大鼠心功能障碍,DOA可改善心功能。(见表1)

2.2 各组大鼠血清中ATP、ADP、AMP含量比较 模型组大鼠血清ATP含量低于假手术组和降香水提物组(P<0.05),高于激动剂组(P<0.05),而ADP、AMP含量均高于假手术组和降香水提物组(P<0.05),低于激动剂组(P<0.05)。激动剂+降香水提物组大鼠血清ATP含量低于降香水提物组(P<0.05),高于激动剂组(P<0.05),而ADP、AMP含量均高于降香水提物组(P<0.05),低于激动剂组(P<0.05)。提示模型组大鼠线粒体能量代谢障碍,DOA可提高线粒体能量代谢。(见表2)

2.3 各组大鼠心肌梗死面积比较 假手术组大鼠心肌未见梗死区域,模型组大鼠心肌梗死明显,降香水提物组大鼠心肌梗死面积明显小于模型组(P<0.05);激动剂组大鼠心肌梗死面积明显大于模型组(P<0.05);激动剂+降香水提物组心肌梗死面积大于降香水提物组(P<0.05),而小于激动剂组(P<

0.05)。提示降香水提物可减小心肌梗死面积。(见表3、图1)



注:A.假手术组;B.模型组;C.降香水提物组;D.激动剂组;E.激动剂+降香水提物组

图1 各组大鼠心肌组织 TTC 染色图

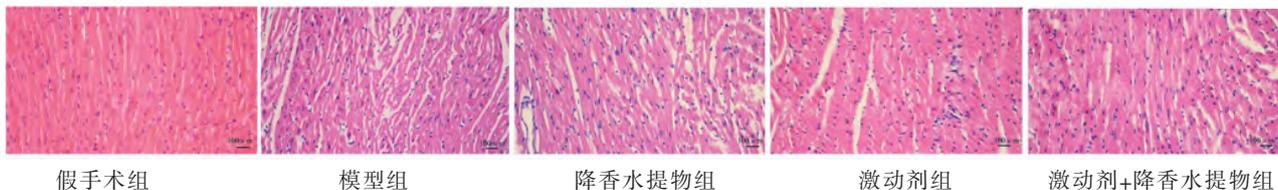
表3 各组大鼠心肌梗死面积比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	给药剂量(mg/kg)		心肌梗死面积(%)
		降香水提物	AICAR	
假手术组	12	-	-	-
模型组	10	-	-	51.17±6.80
降香水提物组	12	500	-	32.69±5.24 ^a
激动剂组	12	-	4	62.74±6.81 ^{ab}
激动剂+降香水提物组	10	500	4	44.96±5.33 ^{abc}
<i>F</i>				50.423
<i>P</i>				0.000

注:与模型组比较,^a $P<0.05$;与降香水提物组比较,^b $P<0.05$;与激动剂组比较,^c $P<0.05$

2.4 各组大鼠心肌组织病理学改变情况 假手术组大鼠心肌细胞排列整齐致密,间质无水肿;模型组和激动剂组大鼠心肌细胞排列紊乱,细胞间隙增宽,肌纤维断裂,间质水肿,且激动剂组较模型组病变严重;降香水提物组大鼠心肌细胞病变减轻,趋于正常;激动剂+降香水提物组大鼠心肌细胞病变较降香水提物组加重,较激动剂组减轻。(见图2)

2.5 各组大鼠心肌组织中MDA含量和SOD活性比较 模型组大鼠心肌组织中MDA含量高于假手术组和降香水提物组($P<0.05$),而低于激动剂组($P<0.05$),SOD活性低于假手术组和降香水提物组($P<0.05$),而高于激动剂组($P<0.05$);激动剂+降香水提物组大鼠MDA含量高于降香水提物组($P<0.05$),而低于激动剂组($P<0.05$),SOD活性低于降香水提物组($P<$



假手术组 模型组 降香水提物组 激动剂组 激动剂+降香水提物组

图2 各组大鼠心肌组织病理改变图 (HE,×400)

表5 各组大鼠心肌组织中 p-AMPK、AMPK、p-PGC-1α 和 PGC-1α 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	给药剂量(mg/kg)		p-AMPK	AMPK	p-PGC-1α	PGC-1α
		降香水提物	AICAR				
假手术组	12	-	-	0.12±0.04	1.36±0.11	0.10±0.02	1.14±0.10
模型组	10	-	-	0.64±0.05 ^a	1.34±0.09	0.76±0.04 ^a	1.15±0.12
降香水提物组	12	500	-	0.31±0.04 ^{ab}	1.32±0.12	0.35±0.03 ^{ab}	1.21±0.13
激动剂组	12	-	4	0.82±0.03 ^{abc}	1.38±0.12	0.86±0.04 ^{abc}	1.17±0.11
激动剂+降香水提物组	10	500	4	0.54±0.04 ^{abcd}	1.33±0.13	0.57±0.04 ^{abcd}	1.15±0.11
<i>F</i>				556.815	0.514	935.061	0.699
<i>P</i>				0.000	0.726	0.000	0.596

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与降香水提物组比较,^c $P<0.05$;与激动剂组比较,^d $P<0.05$

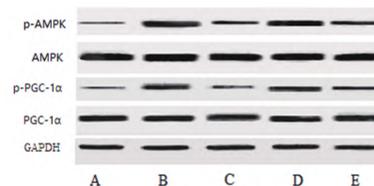
0.05),而高于激动剂组($P<0.05$)。提示DOA能降低心肌梗死大鼠氧化应激水平。(见表4)

表4 各组大鼠心肌组织中MDA含量和SOD活性比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	给药剂量(mg/kg)		MDA(nmol/mg)	SOD(U/mg)
		降香水提物	AICAR		
假手术组	12	-	-	1.69±0.34	34.92±4.35
模型组	10	-	-	6.73±0.52 ^a	23.18±3.66 ^a
降香水提物组	12	500	-	3.57±0.55 ^{ab}	30.77±3.42 ^{ab}
激动剂组	12	-	4	8.22±0.47 ^{abc}	16.68±2.10 ^{bc}
激动剂+降香水提物组	10	500	4	5.55±0.62 ^{abcd}	26.87±3.54 ^{abcd}
<i>F</i>				308.844	48.182
<i>P</i>				0.000	0.000

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与降香水提物组比较,^c $P<0.05$;与激动剂组比较,^d $P<0.05$

2.6 各组大鼠心肌组织中 p-AMPK、AMPK、p-PGC-1α 及 PGC-1α 蛋白表达比较 5组大鼠心肌组织中AMPK、PGC-1α 蛋白相对表达量比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。模型组大鼠心肌组织中p-AMPK和p-PGC-1α蛋白相对表达量均高于假手术组和降香水提物组($P<0.05$),而低于激动剂组($P<0.05$);激动剂+降香水提物组大鼠心肌组织中p-AMPK、p-PGC-1α蛋白相对表达量均高于降香水提物组($P<0.05$),而低于激动剂组($P<0.05$)。提示DOA能抑制心肌梗死大鼠心肌组织中AMPK/PGC-1α信号通路。(见表5、图3)



注:A.假手术组;B.模型组;C.降香水提物组;D.激动剂组;E.激动剂+降香水提物组

图3 各组大鼠心肌组织中 p-AMPK、AMPK、p-PGC-1α、PGC-1α 蛋白表达 Western blotting 图

3 讨 论

AMI常见于动脉粥样硬化斑块破裂,动脉粥样硬化斑块破裂造成急性冠状动脉阻塞,限制或阻断血液回流入心脏,引起心肌细胞缺血缺氧,造成心肌细胞死亡,心肌细胞的丧失和心肌纤维化导致心脏收缩和舒张功能障碍,最终导致心力衰竭。线粒体为主要的能量合成场所,由于心肌细胞缺氧和缺少营养物质的供应,线粒体功能障碍,ATP产生异常,活性氧生成过度,导致心肌细胞氧化应激水平升高^[7-8]。降香通过降低氧化应激水平,抑制细胞衰老进程^[9]。降香能激活HO-1降低炎症反应,对伴有小胶质细胞激活的神经退行性疾病具有改善作用^[10]。冠心丹参方主要成分包括降香、丹参、三七,研究发现,冠心丹参方可有效拮抗糖尿病心脏病^[11]。本研究的目的在于探讨降香水提物是否对AMI大鼠具有心脏保护作用,并探讨其作用机制。

本研究通过预先灌胃DOA,再进行左冠状动脉结扎的方法建立AMI大鼠模型,以探讨DOA的作用。实验结果表明,AMI大鼠LVEF、LVFS降低,LVEDD、LVESD增长,心功能下降,同时心肌梗死面积明显增加,服用DOA的大鼠LVEF、LVFS升高,LVEDD、LVESD缩短,心肌梗死面积减少,提示DOA可改善AMI大鼠心功能。大鼠发生AMI时,线粒体能量代谢异常,ATP合成降低,ADP、AMP合成增加。本研究结果显示,DOA可使AMI大鼠心肌线粒体ATP合成增加,ADP、AMP降低,改善线粒体功能障碍。

AMPK广泛存在于真核细胞,可降低结肠炎小鼠模型炎症反应,减轻肠道损伤,增强衰老大鼠模型神经元细胞自噬改善脑功能下降。雷诺拉嗪可通过抑制AMPK信号通路降低炎症反应和氧化应激水平,减轻异丙肾上腺素诱导的心肌损伤程度。葫芦巴昔牡荆可通过调节AMPK/ACC通路改善肥胖诱导的糖尿病肾病^[12-15]。研究发现,盐酸小檗碱可通过AMPK信号通路降低糖尿病肾病大鼠血糖水平,增强SOD活性,降低MDA水平,改善肾功能^[16]。此外,AMPK还可以调节机体和细胞能量代谢^[17]。PGC-1 α 是细胞代谢的中枢调节因子,AMPK/PGC-1 α 信号可通过参与调节线粒体生物合成和能量代谢,降低氧化应激水平,改善线粒体功能障碍^[18-19]。本研究中,大鼠发生AMI时,由于心肌细胞缺乏营养物质和缺氧,AMPK/PGC-1 α 信号通路被激活,p-AMPK和p-PGC-1 α 蛋白表达增加。降香水提物是否能调节该信号通路仍需进一步研究。本研究通过AMI大鼠腹腔注射信号通路激动剂AICAR,同时灌胃DOA,探讨两者之间的相互关系。结果表明,DOA可降低p-AMPK、p-PGC-1 α 蛋白表达,表明DOA可以调节AMPK/PGC-1 α 信号通路。

综上所述,DOA可降低AMI大鼠氧化应激水平,增强线粒体能量合成,改善AMI大鼠心功能障碍,可能是通过调节AMPK/PGC-1 α 信号通路发挥调控作用。

参考文献

[1] WANG L, NIU H, ZHANG J. Homocysteine induces mitochondrial dysfunction and oxidative stress in myocardial ischemia/reperfusion injury through stimulating ROS

production and the ERK1/2 signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(2):938-944.

[2] LAI X X, ZHANG N, CHEN L Y, et al. Latifolin protects against myocardial infarction by alleviating myocardial inflammatory via the HIF-1 α /NF- κ B/IL-6 pathway[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1):1156-1166.

[3] LIN R, DUAN J, MU F, et al. Cardioprotective effects and underlying mechanism of Radix Salvia miltiorrhiza and Lignum Dalbergia odorifera in a pig chronic myocardial ischemia model[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(5):2628-2640.

[4] 赵美娜,肖凡,李国华,等.降香通过抗氧化应激改善后负荷增加型心衰小鼠的心脏功能[J].*现代生物医学进展*, 2018, 18(10):1842-1848.

[5] 占天为,郭书文,陈曦,等.益气活血方对心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡影响的研究[J].*环球中医药*, 2020, 13(4):540-545.

[6] LIU L, GAN S Y, LI B, et al. Fisetin alleviates atrial inflammation, remodeling, and vulnerability to atrial fibrillation after myocardial infarction[J]. *Int Heart J*, 2019, 60(6):1398-1406.

[7] BAI M, PAN C L, JIANG G X, et al. Effects of butylphthalide on oxidative stress and inflammatory response in rats with myocardial infarction through Akt/Nrf2 signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(21):9642-9650.

[8] JIN Y Z, GONG Y X, LIU Y, et al. Peroxiredoxin V silencing elevates susceptibility to doxorubicin-induced cell apoptosis via ROS-dependent mitochondrial dysfunction in AGS gastric cancer cells[J]. *Anticancer Res*, 2021, 41(4):1831-1840.

[9] YIN Z, PARK R, CHOI B M. Isoparvifuran isolated from Dalbergia odorifera attenuates H₂O₂-induced senescence of BJ cells through SIRT1 activation and AKT/mTOR pathway inhibition[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 533(4):925-931.

[10] KIM D C, LEE D S, KO W, et al. Heme Oxygenase-1-Inducing activity of 4-Methoxydalbergione and 4'-Hydroxy-4-methoxydalbergione from Dalbergia odorifera and their Anti-inflammatory and cytoprotective effects in murine hippocampal and BV2 microglial cell line and primary rat microglial cells[J]. *Neurotox Res*, 2018, 33(2):337-352.

[11] ZHANG B, ZHANG C Y, ZHANG X L, et al. Guan Xin Dan Shen formulation protects db/db mice against diabetic cardiomyopathy via activation of Nrf2 signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24:531.

[12] BANSKOTA S, WANG H, KWON Y H, et al. Salicylates ameliorate intestinal inflammation by activating macrophage AMPK[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2021, 27(下转第23页)

汀阳性对照组有降低LDL-C的作用,即具有降血脂作用;辛伐他汀阳性对照组,山萘荷甘发酵前低、中剂量组,以及山萘荷甘发酵后低、中剂量组均有降低GLU的作用,即这5组皆具有降低血糖的作用。

本实验方法系参照国家食品药品监督管理局2014年下发的保健食品9个功能检验方法中附件6辅助降血脂功能评价方法,“用含有胆固醇、蔗糖、猪油、胆酸钠的饲料喂养动物可形成脂代谢紊乱动物模型,再给予动物受试样品,可检测受试样品对高脂血症的影响,并可判定受试样品对脂质的吸收、脂蛋白的形成、脂质的降解或排泄产生的影响”。

TC测定数据中空白对照组与高脂血症模型组比较,差异无统计意义($P>0.05$),表明造模不成功,实验误差太大,导致结果异常,故本实验相当于探索性的预实验。本实验结果表明山萘荷甘发酵后的降血脂作用优于不发酵,发酵工序不可缺少,下一步按保健食品研究与开发进行功能试验时,必须在第三方认证机构进行实验,以减少操作误差。

参考文献

- [1] MOGENSEN S S, SCHMIEGELOW K, GRELL K, et al. Hyperlipidemia is a risk factor for osteonecrosis in children and young adults with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Haematologica*, 2017, 102(5): e175-e178.
- [2] 李占东, 王丁, 李皓. 醇主素要功能及其行业展望[J]. *食品工业*, 2019, 40(1): 301-303.
- [3] 刘悦, 毕齐, 刘向荣. 高血压、糖尿病、高脂血症对老年脑梗死患者颈动脉粥样硬化的作用[J]. *实用老年医学*, 2016, 30

(1): 58-60.

- [4] LARSSON S C, MARKUS H S. Does treating vascular risk factors prevent dementia and alzheimer's disease? A systematic review and Meta-analysis[J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 64(2): 657-668.
- [5] 中国成人血脂异常防治指南修订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南[J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(10): 937-950.
- [6] 马利英. 他汀类药物的相关不良反应及非心血管作用研究进展[J]. *中国医药指南*, 2018, 16(4): 8-9.
- [7] 田原, 潘琳琳, 刘桂荣. 中医治疗高脂血症综述[J]. *河南中医*, 2018, 38(9): 1450-1454.
- [8] 李维娜, 冯玲. 高脂血症从脾论治探幽[J]. *世界中西医结合杂志*, 2017, 12(4): 577-580.
- [9] 谢梦洲. *中医药膳学*[M]. 2版. 北京: 中国中医药出版社, 2013.
- [10] 余婷婷, 张显, 郑文青, 等. 山楂荷叶复合固体饮料的制备工艺优化及功能性成分含量测定[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(19): 150-155.
- [11] 崔鹤蓉, 王睿林, 郭文博, 等. 茯苓的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. *西北药学杂志*, 2019, 34(5): 694-700.
- [12] 潘梓源, 林佳漫, 邓乃铨, 等. 桂圆酵素的发酵工艺优化及其酚类化合物生物转化分析[J]. *中国酿造*, 2019, 38(7): 95-99.
- [13] 朱德艳. 酵母菌发酵制备葛根酵素的工艺优化[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(12): 82-87.

(收稿日期: 2021-03-24 编辑: 李海洋)

(上接第19页) (6): 914-926.

- [13] ZHENG J, HU S, WANG J, et al. Icarin improves brain function decline in aging rats by enhancing neuronal autophagy through the AMPK/mTOR/ULK1 pathway[J]. *Pharm Biol*, 2021, 59(1): 183-191.
- [14] TAWFIK M K, AMEEN A M. Cardioprotective effect of ranolazine in nondiabetic and diabetic male rats subjected to isoprenaline-induced acute myocardial infarction involves modulation of AMPK and inhibition of apoptosis[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2019, 97(7): 661-674.
- [15] ZHOU G J, CUI J L, XIE S H, et al. Vitexin, a fenugreek glycoside, ameliorated obesity-induced diabetic nephropathy via modulation of NF- κ B/I κ B α and AMPK/ACC pathways in mice[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2021, 85(5): 1183-1193.
- [16] 岳薇薇, 阿克拜尔·乌普, 王卫群. 盐酸小檗碱对链脲佐菌

素诱导的糖尿病肾病大鼠AMPK信号通路的调节作用及肾组织保护作用研究[J]. *中医导报*, 2020, 26(16): 1-5.

- [17] ROSS F A, MACKINTOSH C, HARDIE D G. AMP-activated protein kinase: A cellular energy sensor that comes in 12 flavours[J]. *Febs J*, 2016, 283(16): 2987-3001.
- [18] DENG X, ZHANG S, WU J, et al. Promotion of mitochondrial biogenesis via activation of AMPK-PGC1 α signaling pathway by ginger (*Zingiber officinale roscoe*) extract, and its major active component 6-gingerol[J]. *J Food Sci*, 2019, 84(8): 2101-2111.
- [19] TIAN L, CAO W, YUE R, et al. Pretreatment with Tilianin improves mitochondrial energy metabolism and oxidative stress in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury via AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway[J]. *J Pharmacol Sci*, 2019, 139(4): 352-360.

(收稿日期: 2021-03-06 编辑: 刘颖)