

黄芪多糖通过调控 PGC-1 α 抑制异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌肥厚

栾爱娜^{1,2}, 王洪新¹, 张英杰², 张素萍¹, 鲁美丽¹, 梅蒙¹, 许崇华¹

(1. 辽宁医学院药物研究所 心血管药物研究重点实验室, 2. 辽宁医学院第一附属医院心内科, 辽宁省锦州市 121001)

[关键词] 黄芪多糖; 异丙肾上腺素; 心肌肥厚; 过氧化体增殖物激活型受体 γ 共激活因子 1 α ; 能量代谢

[摘要] 目的 探讨黄芪多糖(APS)对异丙肾上腺素(ISO)诱导心肌肥厚中能量代谢的影响。方法 以 ISO 15 mg/(kg·d)腹腔注射制备大鼠心肌肥厚模型。60 只 SD 大鼠随机分为 6 组,每组 10 只:对照组、ISO 组、ISO + APS 200 mg/(kg·d)组、ISO + APS 400 mg/(kg·d)组、ISO + APS 800 mg/(kg·d)组、ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg·d)组。APS 200、400、800 mg/(kg·d)及普萘洛尔 40 mg/(kg·d)组连续腹腔注射所对应药物 3 周,并在注射药物一天后腹腔注射 ISO 2 周。在给药 3 周后,分别检测大鼠心脏质量指数(HMI)、左心室质量指数(LVMI)、左心室舒张期末压(LVEDP)、左心室收缩压(LVSP),取左心室组织进行 HE 染色,测量左心室心肌细胞横径(TDM);RT-PCR 检测心肌组织心房钠泵因子(ANF)、过氧化体增殖物激活型受体 γ 共激活因子 1 α (PGC-1 α) mRNA 的表达;Western blot 检测心肌组织 PGC-1 α 的蛋白表达;ELISA 检测血清中游离脂肪酸(FFA)、AMP、ADP、ATP 的含量。结果 与对照组相比,ISO 组大鼠表现为 HMI 和 LVMI 显著增加,LVEDP 增大,LVSP 降低,ANF mRNA 表达增加,PGC-1 α 蛋白含量减少,FFA 升高,ATP/ADP、ATP/AMP 比值明显降低。与 ISO 组相比,APS 不同剂量组表现为 HMI 和 LVMI 降低,LVEDP 降低,LVSP 升高,ANF mRNA 表达减少,PGC-1 α 蛋白含量增加,FFA 降低,ATP/ADP、ATP/AMP 比值增加,且呈一定的剂量依赖性。结论 APS 能改善 ISO 诱导的心肌肥厚,其机制可能是调控 PGC-1 α 来提高能量代谢保护心脏。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Astragalus Polysaccharides Protect Cardiac Hypertrophy Induced by ISO via PGC-1 α Signaling Pathway

LUAN Ai-Na^{1,2}, WANG Hong-Xin¹, ZHANG Ying-Jie², ZHANG Su-Ping¹, LU Mei-Li¹, MEI Meng¹, and XU Chong-Hua¹

(1. Medicine Research Institute of Liaoning Medical College & Key Laboratory of Molecular Biology and Drug Research, 2. The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

[KEY WORDS] Astragalus Polysaccharides; Isoproterenol; Myocardial Hypertrophy; Peroxisome Proliferator Activated Receptor- γ Coactivator -1 α ; Energy Metabolism

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of astragalus polysaccharides (APS) on myocardial hypertrophy in rats induced by isoproterenol (ISO). **Methods** 15 mg/(kg·d) ISO were used as myocardial hypertrophy models by intraperitoneally injection. 60 SD rats were randomly assigned to six groups, 10 rats for each group: the control group, ISO group, ISO + APS 200 mg/(kg·d) group, ISO + APS 400 mg/(kg·d) group, ISO + APS 800 mg/(kg·d) group and ISO + propranolol 40 mg/(kg·d) group. Administered groups were continually intraperitoneally injected administration for 3 weeks, and ISO were intraperitoneally injected as long as 2 weeks in the day after that. After 3 weeks, at the end of the treatment period, hemodynamic parameters were observed, and pathological section by HE staining. The expression of free fatty acid (FFA), ATP, ADP, AMP were quantified by ELISA. The expression of atrial natriuretic factor (ANF), PGC-1 α mRNA were determined by RT-PCR, the expression of PGC-1 α protein were determined by Western blot in the tis-

[收稿日期] 2014-01-26

[基金项目] 国家自然科学基金资助(30973898/C190702);辽宁省自然科学基金资助(201102141)

[作者简介] 栾爱娜,硕士,研究方向为心血管病学,E-mail 为 313484570@qq.com。通讯作者王洪新,博士,教授,研究方向为心血管药理学及天然药物,E-mail 为 jyhxbwang@163.com。张英杰,博士,研究方向为心律失常的诊治。

Results Compared with control group, ISO group markedly elevated HMI, LVMI, LVEDP level and decreased LVSP level, meanwhile the expression of ANF mRNA were increased and the expressions of PGC-1 α mRNA and protein decreased. Compared with ISO group, the APS for different dose groups dependently improved hemodynamic parameters, ATP/AMP and ATP/ADP ratio and PGC-1 α mRNA and protein expressions. **Conclusions** APS can improve cardiac hypertrophy induced by ISO, which maybe improve energy metabolism by PGC-1 α .

心肌肥厚是心脏对外界各种各样刺激所产生的反应,如高血压、心脏瓣膜病、心肌梗死和心肌病^[1]。异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)作为 β -肾上腺素受体诱导的心肌肥厚能伴随炎症反应和能量代谢改变^[2]。过氧化体增殖物激活型受体 γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator-1 α , PGC-1 α)是线粒体代谢功能的一个主要调节物,它激活负责脂肪摄取和氧化以及负责氧化磷酸化的多种基因,在心肌能量动态平衡、线粒体氧化代谢、产热调控以及糖脂代谢等重要生理活动中发挥着巨大作用。PGC-1 α 能够通过活化PPAR α ,增强脂肪酸氧化。PGC-1 α 与雌激素相关受体 α (estrogen related receptor α , ERR α)相互作用,并激活丙酮酸脱氢酶激酶4(pyruvate dehydrogenase kinase 4, PDK4)的表达,抑制心肌细胞葡萄糖氧化^[3]。研究发现,通过调控PGC-1 α 表达能显著改善肥厚心肌中的炎症及能量代谢^[4,5]。本实验室已证实,黄芪多糖(astragalus polysaccharides, APS)通过抑制核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路,对ISO诱导的心肌细胞肥大具有保护作用^[6],从而达到保护心肌的目的,然而APS是否通过调控PGC-1 α 心肌的能量代谢,尚未进行深入研究。本研究通过ISO制作心肌肥厚模型,观察APS对心肌肥厚中能量代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物、药品及试剂

健康SD大鼠,雌雄不拘,4~6周龄,体重180 $\pm$ 20 g,由辽宁医学院实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(辽)20030007。黄芪多糖原料药(纯度大于98%,成都康邦生物科技有限公司);ISO、普萘洛尔(美国Sigma公司);游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)、ATP、ADP、AMP ELISA试剂盒(R&D公司);PGC-1 α (Abcam公司);Trizol试剂、RT-PCR试剂盒(大连宝生物公司)。其他试剂均为国产分析纯。

1.2 动物模型的制备、实验分组和给药方法

SD大鼠60只,随机分为6组,每组10只:对照

组、ISO组、ISO+APS 200 mg/(kg $\cdot$ d)组、ISO+APS 400 mg/(kg $\cdot$ d)组、ISO+APS 800 mg/(kg $\cdot$ d)组、ISO+普萘洛尔40 mg/(kg $\cdot$ d)组。给药组连续腹腔注射3周,并于给药1天后腹腔注射ISO 15 mg/(kg $\cdot$ d) 2周^[7];对照组灌胃和腹腔注射以及ISO组大鼠灌胃给予相同体积的生理盐水。

1.3 血液动力学测定

造模后,大鼠腹腔注射水合氯醛(45 mg/kg)麻醉后仰位固定,分离右侧颈总动脉,由颈总动脉插管至左心室,采用BL-420四道生理记录仪对左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左心室舒张期末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、左心室最大上升/下降速率($\pm$ dp/dt_{max})进行记录。

1.4 心肌重量指数测定

SD大鼠,禁食24 h,称重。腹腔注射20%乌拉坦,按0.5 mL/100 g体重麻醉。生理盐水灌注后,开胸取心脏,剪去心脏周围组织及血管,冰生理盐水洗净残血,滤纸吸干后称全心重量(heart weight, HW)。剪掉右心和左心房,称左心室重量(left ventricle weight, LVW),计算心脏质量指数(heart mass index, HMI)、左心室质量指数(left ventricle mass index, LVMI)。部分心脏组织置于10%多聚甲醛中用于HE染色,另剪大小约2 mm³的组织块用于ATP、ADP、AMP、FFA的测定,其余心脏组织于-80 $^{\circ}$ C冻存。

1.5 组织形态学观察

10%多聚甲醛固定心肌组织24 h后,梯度酒精脱水,二甲苯透明,浸蜡,包埋,制备4 μ m石蜡切片。常规HE染色,中性树脂封片,光学显微镜($\times$ 400)下观察分析心肌组织病理变化。

1.6 ELISA检测心肌组织FFA、AMP、ADP及ATP含量

剪取大小约2 mm³的心肌组织,加入1 mL RIPA,匀浆器匀浆后,4 $^{\circ}$ C、12000 r/min离心10 min,取上清,在无菌条件下,按ELISA试剂盒说明书操作,酶标仪450 nm波长下检测OD值,绘制标准曲线,分别计算心肌组织FFA、ATP、ADP及AMP含量,并

计算 ATP/ADP、ATP/AMP 比值。

1.7 RT-PCR 检测心房利钠因子和 PGC-1α mRNA 表达

取冻存的心肌组织约 100 mg,加 Trizol 1000 μL,按试剂盒操作,提取总 RNA。酶标仪下检测 A₂₆₀/A₂₈₀下 OD 值以鉴定 RNA 纯度和浓度。按照 RNA 500 ng 计算上样的体积,按试剂盒操作进行逆转录。逆转录条件:42℃ 30 min;95℃ 5 min;5℃ 5 min 进行一个循环。逆转录后的产物进行 PCR 扩增,心房利钠因子(atrial natriuretic factor,ANF)上游引物为 5'-TCC TCT TCC TGG CCT TTT GGC-3',下游引物为 5'-AGA CGG GTT GCT TCC CCA GTC-3',扩增片段 234 bp,ANP PCR 反应条件:94℃ 30 s,60℃ 30 s,72℃ 15 s,进行 35 个循环。PGC-1α 上游引物为 5'-TCA GTC CTC ACT GGT GGA CA-3',下游引物为 5'-TGC TTC GTC AAA AAC AG-3',扩增片段 186 bp,PGC-1α PCR 反应条件:94℃ 30 s,60℃ 30 s,72℃ 11 s,进行 35 个循环。PCR 反应后,取 PCR 产物 8 μL,加 2 μL 6 × 上样缓冲液,经 2% 琼脂糖凝胶电泳,EB 染色后于 Bio-rad Image Lab 仪器上照相观察,使用 Quantity One 软件分析结果,以 GAPDH 为内参,GAPDH 上游引物为 5'-TGA ACG GGA AGC TCA CTG G-3',下游引物为 5'-GCT TCA CCA CCT TCT TGA TGT C-3',扩增片段 146 bp,计算 ANF、PGC-1α 产物的相对量。

1.8 Western blot 测定心肌组织 PGC-1α 的蛋白表达

取冻存的心肌组织约 5 mg 放于无菌 EP 管中,

加入 200 μL RIPA 裂解液,剪碎组织后用超声波破碎仪冰上粉碎 30 s,冰上放置 30 min,4℃ 12000 g 离心 20 min,提取上清液。然后用 BCA 法进行蛋白浓度测定,确保上样量相同条件下,计算每组应吸取的样品上清体积,补 6 × 上样缓冲液使总为 160 μL,再加 40 μL 溴酚蓝染液煮沸 4 min。然后进行灌胶上样 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,根据所需适时终止电泳。采用半干法转膜,封闭,洗膜,按照对应分子量切割后分别置于 1:1000 稀释的 PGC-1α 一抗溶液中,4℃ 杂交过夜,第二天用洗膜液漂洗后加入 1:1000 稀释的二抗,摇床上杂交 1 h,取出用洗膜液冲洗,然后加 ECL 显色剂进行显色,再检测。

1.9 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间显著性检验采用单因素方差分析和 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血液动力学参数变化

与对照组相比,ISO 组 LVEDP 明显升高,LVSP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 均有显著降低($P < 0.01$),提示左心功能不全;200 mg/(kg · d) APS 干预能够改善心功能不全的血液动力学症状,使 LVSP、 $\pm dp/dt_{\max}$ 上升,LVEDP 降低($P < 0.01$);与 200 mg/(kg · d) APS 干预相比,400 mg/(kg · d)、800 mg/(kg · d) APS 干预及 40 mg/(kg · d)普萘洛尔干预改善心功能不全的血液动力学症状更明显,并呈浓度依赖性(表 1)。

表 1. 黄芪多糖对心肌肥厚大鼠血流动力学的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1. Effects of APS on hemodynamics in myocardial hypertrophy rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分 组	LVEDP(mmHg)	LVSP(mmHg)	+ dp/dt _{max} (mmHg/s)	- dp/dt _{max} (mmHg/s)
对照组	5.1 ± 0.2	129.7 ± 2.5	5774.7 ± 469.2	4097.6 ± 182.5
ISO 组	17.9 ± 0.2 ^a	104.3 ± 3.1 ^a	4107.3 ± 551.2 ^a	3015.7 ± 173.1 ^a
ISO + APS 200 mg/(kg · d)组	16.7 ± 0.4 ^b	112.7 ± 1.5 ^b	4469.4 ± 326.4 ^b	3262.3 ± 483.3 ^b
ISO + APS 400 mg/(kg · d)组	12.7 ± 0.4 ^{bc}	122.3 ± 1.6 ^{bc}	5080.3 ± 437.5 ^{bc}	3888.9 ± 267.2 ^{bc}
ISO + APS 800 mg/(kg · d)组	9.9 ± 0.2 ^{bed}	127.6 ± 1.0 ^{bed}	5406.1 ± 646.6 ^{bed}	4074.8 ± 59.6 ^{bed}
ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d)组	8.7 ± 0.3 ^{bed}	125.7 ± 1.5 ^{bed}	5310.2 ± 484.5 ^{bed}	3980.5 ± 187.0 ^{bed}

a 为 $P < 0.01$,与对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与 ISO 组比较;c 为 $P < 0.05$,与 ISO + APS 200 mg/(kg · d)组比较;d 为 $P < 0.05$,与 ISO + APS 400 mg/(kg · d)组比较。

2.2 HMI 和 LVMI 的改变

ISO 造模后,与对照组相比,ISO 组 HMI、LVMI 分别增加了 64.1%、41.2% ($P < 0.01$),提示 ISO 诱导心肌肥厚模型成立。200 mg/(kg · d) APS 干预

能改善上述症状($P < 0.01$),而与 200 mg/(kg · d) APS 干预相比,400 mg/(kg · d)、800 mg/(kg · d) APS 干预及 40 mg/(kg · d)普萘洛尔干预能够显著降低 HMI、LVMI,并呈剂量依赖性($P < 0.05$;表 2)。

表 2. 黄芪多糖对心肌肥厚大鼠心重指数、左心室重量指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2. Effects of APS on HMI and LVMI in myocardial hypertrophy rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分 组	HMI(g/kg)	LVMI(g/kg)
对照组	2.56 ± 0.02	2.33 ± 0.15
ISO 组	4.20 ± 0.02 ^a	3.29 ± 0.14 ^a
ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组	3.88 ± 0.06 ^b	3.20 ± 0.15 ^b
ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组	3.43 ± 0.04 ^{bc}	2.81 ± 0.25 ^{bc}
ISO + APS 800 mg/(kg · d) 组	3.15 ± 0.15 ^{bcd}	2.39 ± 0.13 ^{bcd}
ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组	3.17 ± 0.15 ^{bcd}	2.41 ± 0.15 ^{bcd}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 ISO 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组比较。

2.3 心肌组织形态学改变

通过倒置显微镜对心肌组织 HE 染色切片进行观察, 对照组心肌形态均匀, 肌丝排列整齐; ISO 组心肌细胞横径增加, 面积明显增大; 与 ISO 组相比, 200 mg/(kg · d) APS 干预能够使细胞体积减小 ($P < 0.01$), 400 mg/(kg · d)、800 mg/(kg · d) APS 干预和 40 mg/(kg · d) 普萘洛尔干预后细胞体积显著缩小, 接近正常细

胞形态, 并呈浓度依赖(图 1 和表 3)。

2.4 心肌组织 FFA、AMP、ADP 及 ATP 含量的变化

与对照组相比, ISO 组心肌组织 FFA、ADP、AMP 含量明显升高, ATP 含量降低, ATP/ADP、ATP/AMP 比值均显著下降 ($P < 0.01$)。与 ISO 组比较, 200 mg/(kg · d) APS 干预后心肌组织 FFA 降低 ($P < 0.01$), ATP/ADP、ATP/AMP 比值升高; 与 200 mg/(kg · d) APS 干预相比, 400 mg/(kg · d)、800 mg/(kg · d) APS 干预和 40 mg/(kg · d) 普萘洛尔干预后心肌组织 FFA 降低, ATP/ADP、ATP/AMP 比值增高, 并呈剂量依赖性 ($P < 0.05$; 表 4)。

2.5 ANF 和 PGC-1 α mRNA 的表达

与对照组相比, ISO 组 ANF mRNA 的表达升高, PGC-1 α mRNA 的表达降低 ($P < 0.01$); 与 ISO 相比, 200 mg/(kg · d) APS 干预后 ANF mRNA 的表达水平有所降低, PGC-1 α mRNA 表达有所增高; 而与 200 mg/(kg · d) APS 干预相比, 400 mg/(kg · d)、800 mg/(kg · d) APS 干预和 40 mg/(kg · d) 普萘洛尔干预后 ANF mRNA 表达显著降低, PGC-1 α mRNA 表达显著增高并呈浓度依赖性 ($P < 0.05$; 图 2)。

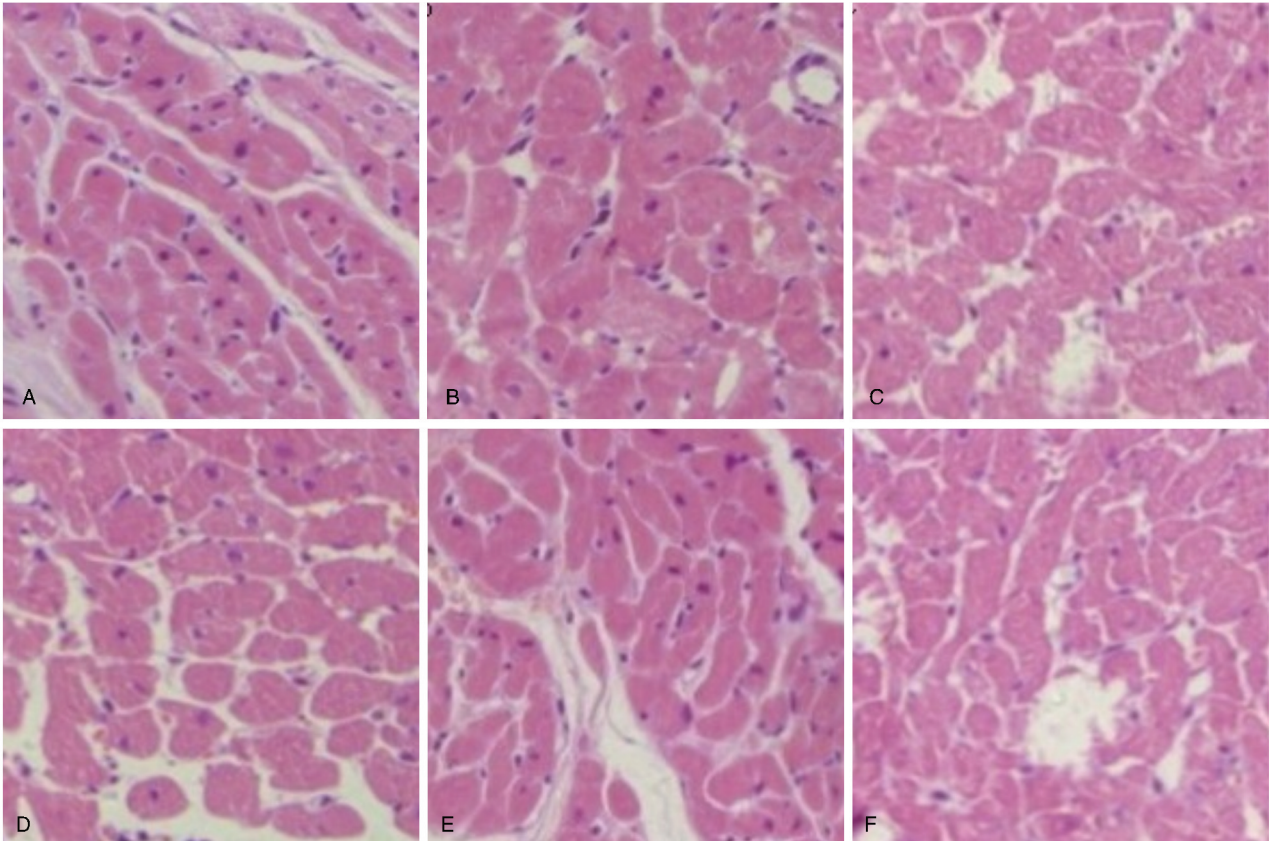


图 1. 黄芪多糖对大鼠心肌组织形态学的影响 (HE × 400) A 为对照组, B 为 ISO 组, C 为 ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组, D 为 ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组, E 为 ISO + APS 800 mg/(kg · d) 组, F 为 ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组。

Figure 1. Effects of APS on morphology of myocardial tissue in rats (HE × 400)

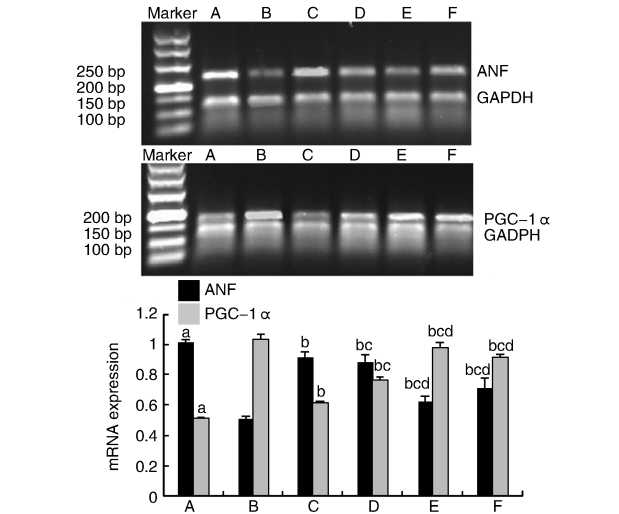


图 2. 黄芪多糖对心肌组织 ANF、PGC-1α mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$) A 为 ISO 组, B 为对照组, C 为 ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组, D 为 ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组, E 为 ISO + APS 800 mg/(kg · d) 组, F 为 ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 ISO 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组比较。

Figure 2. Effects of APS on ANF and PGC-1α mRNA expression in myocardial tissue of rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表 4. 黄芪多糖对心肌组织 FFA 含量、ATP/AMP 及 ATP/ADP 比值的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)			
Table 4. Effects of APS on FFA content, ATP/AMP and ATP/ADP ratio in myocardial tissue of rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)			
分 组	FFA($\mu\text{mol/L}$)	ATP/ADP	ATP/AMP
对照组	84.50 $\pm$ 16.41	1.94 $\pm$ 0.06	5.87 $\pm$ 0.28
ISO 组	207.92 $\pm$ 17.54 ^a	0.35 $\pm$ 0.03 ^a	0.92 $\pm$ 0.11 ^a
ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组	176.83 $\pm$ 18.57 ^b	0.56 $\pm$ 0.05 ^b	1.57 $\pm$ 0.21 ^b
ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组	139.25 $\pm$ 17.18 ^{bc}	1.33 $\pm$ 0.07 ^{bc}	3.09 $\pm$ 0.35 ^{bc}
ISO + APS 800 mg/(kg · d) 组	124.66 $\pm$ 13.98 ^{bed}	1.86 $\pm$ 0.05 ^{bed}	5.05 $\pm$ 0.36 ^{bed}
ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组	148.41 $\pm$ 19.78 ^{bed}	1.72 $\pm$ 0.09 ^{bed}	2.58 $\pm$ 0.11 ^{bc}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 ISO 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组比较。

3 讨 论

心肌肥厚是在长期压力负荷过重的情况下产生的一种代偿反应。心肌肥大的发生和进程中,心肌细胞的产能机构也出现明显的适应性改变,肥厚心肌能量代谢途径从有氧向无氧转化。但这种代偿功能也有其不利之处,正常的心肌主要的能量来自脂肪酸氧化,心肌肥厚虽然葡萄糖氧化增多,但不能满足正常需求,最后导致心衰。本实验室前期大量研究表明,ISO 诱导的心肌肥厚模型伴随大量的炎症因子的产生,最终导致心肌肥厚^[8,9]。

研究表明,过氧化体增殖物激活型受体(peroxi-

表 3. 黄芪多糖对大鼠心肌细胞横径的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)	
Table 3. Effects of APS on rat myocardial cell transverse diameter($\bar{x} \pm s, n = 10$)	
分 组	细胞横径(μm)
对照组	13.6 $\pm$ 0.3
ISO 组	18.2 $\pm$ 0.3 ^a
ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组	17.3 $\pm$ 0.2 ^b
ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组	15.6 $\pm$ 0.4 ^{bc}
ISO + APS 800 mg/(kg · d) 组	14.6 $\pm$ 0.3 ^{bed}
ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg · d) 组	15.1 $\pm$ 0.3 ^{bed}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 ISO 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 200 mg/(kg · d) 组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 400 mg/(kg · d) 组比较。

2.6 PGC-1α 蛋白的表达

与对照组相比,ISO 组 PGC-1α 蛋白的表达显著降低($P < 0.01$);与 ISO 组相比,200 mg/(kg · d) APS 干预后 PGC-1α 无明显变化($P > 0.05$),而 400 mg/(kg · d)、800 mg/(kg · d) APS 干预和 40 mg/(kg · d) 普萘洛尔干预后 PGC-1α 蛋白表达显著升高,接近对照组($P < 0.05$; 图 3)。

some proliferator activated receptor,PPAR)在心脏疾病中显示出很重要的角色,PPARα 能够防止减少脂肪酸代谢基因的表达^[10,11]。PGC-1α 是 PGC-1 的成员之一,能够通过活化 PPARα,增强脂肪酸氧化。大量的研究也显示,PGC-1α 可以提高线粒体中脂肪酸氧化相关酶的表达^[12],可通过调控 PGC-1α 来改善心肌肥厚,治疗心衰。实验室前期研究成果显示^[13],APS 能够抑制由 ISO 诱导所产生的炎症因子保护心脏。黄芪是豆科草本植物蒙古黄芪、莢膜黄芪的根,本研究所用 APS 是从黄芪中提取的生物活性成分之一,研究发现,APS 具有抗炎症、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、延缓衰老及增强免疫系统功能等作用^[14]。本研究着

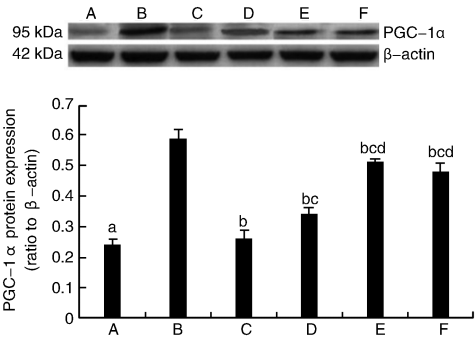


图 3. 黄芪多糖对心肌组织 PGC-1α 蛋白表达的影响 A 为 ISO 组, B 为对照组, C 为 ISO + APS 200 mg/(kg·d) 组, D 为 ISO + APS 400 mg/(kg·d) 组, E 为 ISO + APS 800 mg/(kg·d) 组, F 为 ISO + 普萘洛尔 40 mg/(kg·d) 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 ISO 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 200 mg/(kg·d) 组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 ISO + APS 400 mg/(kg·d) 组比较。

Figure 3. Effects of APS on PGC-1α protein expression in myocardial tissue of rats

重对心肌肥厚中能量代谢的影响进行了研究, 阐述 APS 如何通过 PGC-1α 改善心肌肥厚。

本研究结果发现, SD 大鼠经腹腔注射 ISO 后, 血液动力学参数明显改变, 表现为 LVEDP 明显升高, LVSP、 $\pm dp/dt_{max}$ 显著降低, HWI、LVWI 明显增加; HE 染色发现心肌细胞增粗, 细胞横径增加, 提示 ISO 诱导心肌肥厚模型成功。ELISA 结果显示 ISO 组 FFA 含量明显升高, ATP 含量降低, 而 ADP、AMP 含量增高, 因此 ATP/ADP、ATP/AMP 比值均显著下降, 表明能量缺乏。PCR 结果显示, ISO 组 ANF mRNA 表达增加, PGC-1α mRNA 表达降低; Western blot 结果显示, ISO 组 PGC-1α 蛋白含量减少。400 mg/(kg·d)、800 mg/(kg·d) APS 干预和 40 mg/(kg·d) 普萘洛尔干预后, 上述症状均改善, 并呈剂量依赖性, 说明 APS 能够调控 PGC-1α 的表达, 提高能量代谢。β-肾上腺素受体阻滞剂普萘洛尔是临床上公认的用于心血管疾病的有效药物, 本研究中普萘洛尔作为 APS 的阳性对照药。

综合本研究结果, ISO 能够诱导心肌肥厚, 降低能量代谢, 影响心脏功能。APS 能够改善 ISO 诱导的心肌肥厚, 提高能量代谢。其作用机制可能是通过调控 PGC-1α 信号通路。APS 800 mg/(kg·d) 与阳性对照药普萘洛尔 40 mg/(kg·d) 在本研究中对心脏的作用无明显差别。本研究为临床治疗心肌肥厚提供新的思路。

[参考文献]

[1] Planavila A, Calvo RR, Vázquez-Carrera M. Peroxisome proliferator-activated receptors and the control of fatty acid

oxidation in cardiac hypertrophy [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2006, 6 (3): 357-363.

[2] Herrmann JE, Heale J, Bieraugel M, et al. Isoproterenol effects evaluated in heart slices of human and rat in comparison to rat heart in vivo [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 274 (2): 302-312.

[3] Mudd JO, Kass DA. Tackling heart failure in the twenty-first century [J]. *Nature*, 2008, 451 (7181): 919-928.

[4] Planavila A, Iglesias R, Giral M, et al. Sirt1 acts in association with PPARα to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90 (2): 276-284.

[5] Alvarez-Guardia D, Palomer X, Coll T, et al. The p65 subunit of NF-κB binds to PGC-1α, linking inflammation and metabolic disturbances in cardiac cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87 (3): 449-458.

[6] 孙雪芳, 王洪新, 梁灵君, 等. 黄芪多糖通过 TLR4/NF-κB 信号通路抑制脂多糖诱导的大鼠心肌细胞肥大 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29 (2): 208-212.

[7] Planavila A, Iglesias R, Giral M, et al. Sirt1 acts in association with PPARα to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90 (2): 276-284.

[8] 吴梅, 谭睿. 黄芪多糖研究进展 [J]. *川北医学院学报*, 2013, 28 (1): 17-22.

[9] 赵素玲, 王洪新, 周振华. 黄芪多糖对异丙肾上腺素诱导的乳大鼠心肌细胞肥大的保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2011, 27 (12): 1 682-686.

[10] 孙亮, 朱小泉, 王沥, 等. 核辅激活因子 PGC-1 表达的分子调控机制 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2005, 21 (4): 431-439.

[11] Planavila A, Rodriguez-Calvo R, Jove M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta activation inhibits hypertrophy in neonatal rat cardiomyocytes [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65: 832-841.

[12] Vega RB, Huss JM, Kelly DP. The coactivator PGC-1 co-operates with peroxisome proliferator-activated receptor α in transcriptional control of nuclear genes encoding mitochondrial fatty acid oxidation enzymes [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20 (5): 1 868-876.

[13] Finck BN, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) regulatory cascade in cardiac physiology and disease [J]. *Circulation*, 2007, 115: 2 540-548.

[14] Liang F, Wang F, Zhang S, et al. Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) alpha agonists inhibit hypertrophy of neonatal rat cardiac myocytes [J]. *Endocrinology*, 2003, 144: 4 187-194.

(此文编辑 文玉珊)