

苦参碱调节 AMPK/SIRT3 信号通路对高脂饮食诱导肥胖症大鼠心功能的影响[△]

盛蓉辉^{1*}, 张松², 王丽娟^{3#}(1. 西安市儿童医院心内科, 西安 710003; 2. 空军第九八六医院药剂科, 西安 710032; 3. 西安市儿童医院感染科, 西安 710003)

中图分类号 R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)07-0830-05

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.07.015

摘要 目的:探讨苦参碱对 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)/沉默信息调节因子 2 相关酶 3(SIRT3)信号通路的调控作用,以及对高脂饮食诱导肥胖症大鼠心功能的保护作用。方法:选取 SD 大鼠若干,其中 10 只大鼠作为空白组,其余大鼠建立高脂饮食诱导肥胖症大鼠模型。造模结束后,将 50 只模型大鼠随机分为模型组,二甲双胍组(20 mg/kg),苦参碱低(7.5 mg/kg)、中(15 mg/kg)和高(30 mg/kg)剂量组,每组 10 只,连续给药 6 周。开始给药时与实验结束后各称取 1 次体重;实验结束后麻醉大鼠,检测心功能指标水平;取静脉血检测空腹血糖(FBG)和空腹胰岛素(FINS)水平;处死大鼠,分离左心室心肌组织进行麦胚凝集素染色,观察各组大鼠心肌细胞表面积;采用蛋白质印迹法检测心肌组织中 p-AMPK、AMPK 和 SIRT3 蛋白表达水平。结果:实验结束后,与空白组比较,模型组大鼠体重、心肌细胞表面积明显增加,左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心室舒张末期容积(LVEDV)和左心室收缩末期容积(LVESV)明显升高,FBG、FINS 水平明显升高,左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)和心肌组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT3 蛋白表达水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,二甲双胍组和苦参碱各剂量组大鼠的体重、心肌细胞表面积明显降低,LVESD、LVEDD、LVEDV 和 LVESV 水平明显降低,FBG、FINS 水平明显降低,LVEF、LVFS 和心肌组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT3 蛋白表达水平明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与二甲双胍组比较,苦参碱低、中剂量组大鼠的体重、心肌细胞表面积明显增加,LVESD、LVEDD、LVEDV 和 LVESV 水平明显升高,FBG、FINS 水平明显升高,LVEF、LVFS 和心肌组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT3 蛋白表达水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);苦参碱高剂量组与二甲双胍组大鼠上述指标水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论:苦参碱可减轻高脂饮食诱导肥胖症大鼠左心室心肌组织增厚,提高心肌舒张功能,保护心功能,其可能与 AMPK/SIRT3 通路的激活有关。

关键词 苦参碱; AMP 活化蛋白激酶; 沉默信息调节因子 2 相关酶 3; 肥胖症; 大鼠; 心功能

Effects of Matrine on Heart Function in Obese Rats Induced by High-Fat Diet Through Regulating AMPK/SIRT3 Signaling Pathway[△]

SHENG Ronghui¹, ZHANG Song², WANG Lijuan³(1. Dept. of Cardiology, Xi'an Children's Hospital, Xi'an 710003, China; 2. Dept. of Pharmacy, No. 986 Hospital of Air Force, Xi'an 710032, China; 3. Dept. of Infectious Disease, Xi'an Children's Hospital, Xi'an 710003, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To probe into the regulatory effect of matrine on the AMP-activated protein kinase (AMPK)/silence information regulatory 2-related enzyme 3 (SIRT3) signaling pathways and its protective effect on heart function in obese rats induced by high-fat diet. **METHODS:** A number of SD rats were selected, of which 10 rats were used as the blank group and the remaining rats were used to establish high-fat diet-induced obese rat model. After modeling, 50 model rats were randomly divided into the model group, metformin group (20 mg/kg) and low-dose (7.5 mg/kg), medium-dose (15 mg/kg) and high-dose (30 mg/kg) matrine group, with 10 rats in each group, and administered continuously for 6 weeks. The rats were weighed at the beginning and the end of experiment; the rats were anesthetized to detect cardiac function at the end of the experiment; venous blood was obtained to detect fasting blood glucose (FBG) and fasting insulin (FINS); myocardial tissues of the left ventricle were isolated for wheat germ agglutinin staining and the surface area of myocardial cells in each group was observed. Western blotting was adopted to detect the expression of p-AMPK, AMPK and SIRT3 protein. **RESULTS:** At the end of experiment, compared with the blank group, rats in the model group had significantly increased body weight and surface area of myocardial cells, significantly elevated left ventricular end-systolic dimension (LVESD), left ventricular end-diastolic dimension (LVEDD), left ventricular end-diastolic volume (LVEDV) and left ventricular end-systolic volume (LVESV), significantly elevated FBG and FINS contents, significantly lower left ventricular ejection fraction (LVEF), left

△ 基金项目:陕西省中医药管理局科研项目(No. 2019-zz-zy017)

* 主治医师。研究方向:急诊。E-mail:1003680904@qq.com

通信作者:主管护师。研究方向:护理风险的管理。E-mail:304420482@qq.com

ventricular fraction shortening (LVFS) and p-AMPK/AMPK and SIRT3 protein expression in myocardial tissue, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Compared with the model group, the rats in metformin group and different doses of matrine groups had significantly lower body weight and surface area of myocardial cells, significantly lower LVESD, LVEDD, LVEDV and LVESV, significantly lower FBG and FINS contents, significantly elevated LVEF, LVFS and p-AMPK/AMPK and SIRT3 protein expression in myocardial tissue, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Compared with the metformin group, the low-dose and medium-dose matrine group had significant increased in body weight and surface area of myocardial cells, significantly elevated LVESD, LVEDD, LVEDV and LVESV, significant elevated FBG and FINS contents, significant decreased LVEF, LVFS and p-AMPK/AMPK and SIRT3 protein expression in myocardial tissue, with statistically significant differences ($P < 0.05$); there were no statistically significant differences in comparison of the above indicators of rats between high-dose matrine group and metformin group ($P > 0.05$). CONCLUSIONS: Matrine can relieve the thickening of left ventricular myocardial tissue in obese rats induced by high-fat diet, improve the myocardial diastolic function, and protect the cardiac function, which may be related to the activation of AMPK/SIRT3 pathways.

KEYWORDS Matrine; AMP-activated protein kinase; Silence information regulatory 2-related enzyme 3; Obesity; Rat; Heart function

近年来,随着人们生活水平的提高以及生活方式的改变,肥胖症的发病率逐年升高,已经成为全球性的公共健康问题^[1]。肥胖症也是多种心脑血管疾病,如高血压、高脂血症、糖尿病、肿瘤和动脉粥样硬化等发生发展的重要危险因素^[2-3]。因此,寻找治疗与预防肥胖症的有效手段,对于降低各种心脑血管疾病发生率具有关键意义。研究表明,常规药物、手术,以及控制饮食、加强运动等手段治疗肥胖症都存在一些不良反应,且极易复发^[4]。中药已被证实防治肥胖症方面具有明显的效果^[5]。因此,寻找更多、更有效的中药治疗肥胖症已成为必然趋势。苦参碱为中药苦参的主要活性成分,具有抗炎、抗菌以及抗肿瘤等作用^[6-7],现已被广泛用于肥胖症、糖尿病等相关疾病的治疗^[8]。但苦参碱对于肥胖症大鼠心功能的影响尚无研究报道。研究结果发现,脓毒性心肌病中沉默信息调节因子 2 相关酶 3 (SIRT3) 过表达以及 AMP 活化蛋白激酶 (AMPK) 通路激活会促进线粒体内生物合成,从而改善心肌细胞死亡^[9]。在氧化应激相关的慢性心肌损伤中,AMPK 和 SIRT3 下调是导致心肌细胞损伤的主要分子机制^[10]。本研究通过高脂饮食诱导建立肥胖症大鼠模型,探讨苦参碱能否通过调控 AMPK/SIRT3 信号通路,发挥对肥胖症大鼠心功能的保护作用。

1 材料

1.1 实验动物

6 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠,体重为 (200 ± 20) g,购自中国医学科学院医学实验动物研究所,许可证号为 SCXK (京) 2018-0002。实验动物适应性饲养 1 周,期间自由饮水采食,温度控制在 (22 ± 2) °C,相对湿度为 (55 ± 5) %,昼夜周期为 1:1。

1.2 仪器

TY-6868A-1 型超声诊断仪 (上海聚慕医疗器械有限公司);迈瑞 BC-30Vet 型兽用全自动血液细胞分析仪 (北京赛百奥科技有限公司);Azure Biosystems C150 型凝胶成像系统 [普迈精医科技 (北京) 有限公司]。

1.3 药品与试剂

普通饲料、高脂饲料 (北京华阜康生物科技有限公司,批

号为 1024、H10060);苦参碱 (成都植标化纯生物技术有限公司,批号为 PCS0572);二甲双胍 (中美上海施贵宝制药有限公司,规格为 0.5 g/片,批准文号为国药准字 H20023370);AF488 标记的麦胚凝集素 (WGA,美国 AAT Bioquest 公司,批号为 25500);兔抗大鼠一抗 p-AMPK、AMPK、SIRT3、GAPDH、HRP 标记的羊抗兔二抗 (ab6721) (英国 Abcam 公司,批号为 ab133448、ab207442、ab246522、ab8245、ab6721)。

2 方法

2.1 建模与分组

将若干 SD 大鼠分为两组,其中 10 只大鼠给予普通饲料作为空白组,其余大鼠给予高脂饲料建立高脂饮食诱导肥胖症大鼠模型,每周称取 1 次体重。饲养 2 周后,淘汰体重增加较少的大鼠,挑选出 50 只大鼠继续给予高脂饲料 6 周,空白组大鼠依然给予普通饲料。造模结束后,将 50 只模型大鼠随机分为五组,即模型组,二甲双胍组 (20 mg/kg),苦参碱低 (7.5 mg/kg)、中 (15 mg/kg) 和高 (30 mg/kg) 剂量组,每组 10 只^[11]。连续给药 6 周,期间空白组大鼠给予普通饲料,其余五组大鼠给予高脂饲料。开始给药时 (给药开始) 与实验结束后 (给药结束) 各称取 1 次体重。

2.2 大鼠心功能测定

麻醉大鼠后,左侧卧位固定,胸部剪毛后涂抹耦合剂,运用超声诊断仪,选取左心室长轴与乳头肌水平短轴切面,检测并记录各组大鼠左心室收缩末期内径 (LVESD)、左心室舒张末期内径 (LVEDD)、左心室射血分数 (LVEF)、左心室短轴缩短率 (LVFS)、左心室舒张末期容积 (LVEDV) 和左心室收缩末期容积 (LVESV)。每只大鼠各取 3 个完整心动周期的平均数值作为最终检测结果。

2.3 大鼠静脉血中血糖、胰岛素水平检测

实验结束前禁食 12 h,取静脉血,采用全自动分析仪测定各组大鼠空腹血糖 (FBG)、空腹胰岛素 (FINS) 水平。

2.4 心肌组织 WGA 染色

处死大鼠,分离左心室心肌组织,以 PBS 冲洗干净后用 4% 多聚甲醛固定,梯度酒精脱水后石蜡包埋、切片。将切片采用常规方法脱蜡水合,滴加胰酶工作液孵育后以 PBS 漂洗,加

入 WGA 工作液,避光温箱孵育 2 h,以 PBS 清洗,加入封固剂封片,于光学显微镜 400 倍下观察拍照。通过 Image-Pro Plus 8.0 软件选取合适视野,测量视野内心肌组织面积及细胞核总数,得出单个心肌细胞表面积。单个心肌细胞表面积(mm^2)=组织面积(mm^2)/细胞核总数。

2.5 蛋白质印迹法检测心肌组织 AMPK/SIRT3 相关蛋白表达水平

处死大鼠,分离左心室心肌组织,加入蛋白裂解液匀浆后,再采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒测定总蛋白浓度,上样进行电泳、转膜,4%脱脂牛奶封闭 2 h,清洗后加入兔抗大鼠一抗 p-AMPK、AMPK、SIRT3 和 GAPDH,4℃下孵育过夜,清洗后再加入 HRP 标记的羊抗兔二抗室温(25℃)下孵育 2 h,清洗后采用 ECL 显色试剂盒进行显色操作,通过凝胶成像系统收集图像,进行灰度值分析。

2.6 统计学方法

使用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 六组大鼠体重变化比较

给药开始前,与空白组比较,模型组、二甲双胍组和苦参碱各剂量组大鼠体重均显著增加,差异均有统计学意义($P<0.05$)。给药结束后,与空白组比较,模型组大鼠体重显著增加;与模型组比较,二甲双胍组和苦参碱各剂量组大鼠体重明显降低;与二甲双胍组比较,苦参碱低、中剂量组大鼠体重明显增加,上述差异均有统计学意义($P<0.05$);与二甲双胍组

比较,苦参碱高剂量组大鼠体重有增加趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);苦参碱各剂量组大鼠体重的变化具有剂量效应,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 六组大鼠体重比较($\bar{x}\pm s, \text{g}$)
Tab 1 Comparison of body weights among six groups of rats ($\bar{x}\pm s, \text{g}$)

组别	体重	
	给药开始前	给药结束后
空白组($n=10$)	332.14±38.52	517.38±49.65
模型组($n=10$)	444.16±52.28 ^a	867.73±71.13 ^a
二甲双胍组($n=10$)	447.21±49.74 ^a	622.36±62.17 ^{ab}
苦参碱低剂量组($n=10$)	434.22±46.37 ^a	791.67±73.81 ^{abc}
苦参碱中剂量组($n=10$)	449.51±47.41 ^a	708.68±62.38 ^{abcd}
苦参碱高剂量组($n=10$)	448.52±41.62 ^a	624.47±55.35 ^{abcde}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与二甲双胍组比较,^c $P<0.05$;与苦参碱低剂量组比较,^d $P<0.05$;与苦参碱中剂量组比较,^e $P<0.05$

Note: vs. the blank group, ^a $P<0.05$; vs. the model group, ^b $P<0.05$; vs. the metformin group, ^c $P<0.05$; vs. the low-dose matrine group, ^d $P<0.05$; vs. the medium-dose group of matrine, ^e $P<0.05$

3.2 六组大鼠心功能变化比较

与空白组比较,模型组大鼠的 LVESD、LVEDD、LVEDV 和 LVESV 水平明显升高,LVEF、LVFS 水平明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,二甲双胍组和苦参碱各剂量组大鼠的 LVESD、LVEDD、LVEDV 和 LVESV 水平明显降低,LVEF、LVFS 水平明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);苦参碱各剂量组大鼠上述指标的变化具有剂量效应,差异有统计学意义($P<0.05$);苦参碱高剂量组与二甲双胍组大鼠上述指标比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2—3。

表 2 六组大鼠 LVESD、LVEDD、LVEDV 和 LVESV 水平比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Comparison of LVESD, LVEDD, LVEDV and LVESV among six groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	LVESD/mm	LVEDD/mm	LVEDV/ μL	LVESV/ μL
空白组($n=10$)	5.46±0.59	3.26±0.32	152.43±14.27	57.34±5.25
模型组($n=10$)	42.33±4.26 ^a	34.72±2.91 ^a	368.66±14.10 ^a	248.76±24.37 ^a
二甲双胍组($n=10$)	10.94±1.01 ^{ab}	9.77±0.99 ^{ab}	202.33±20.44 ^{ab}	74.53±8.10 ^{ab}
苦参碱低剂量组($n=10$)	24.27±2.48 ^{abc}	22.24±2.48 ^{abc}	295.65±25.77 ^{abc}	166.09±15.34 ^{abc}
苦参碱中剂量组($n=10$)	16.06±1.75 ^{abcd}	13.97±1.03 ^{abcd}	238.09±27.13 ^{abcd}	101.87±10.24 ^{abcd}
苦参碱高剂量组($n=10$)	10.03±0.91 ^{abcde}	9.81±0.94 ^{abcde}	206.34±20.09 ^{abcde}	79.15±7.32 ^{abcde}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与二甲双胍组比较,^c $P<0.05$;与苦参碱低剂量组比较,^d $P<0.05$;与苦参碱中剂量组比较,^e $P<0.05$

Note: vs. the blank group, ^a $P<0.05$; vs. the model group, ^b $P<0.05$; vs. the metformin group, ^c $P<0.05$; vs. the low-dose matrine group, ^d $P<0.05$; vs. the medium-dose group of matrine, ^e $P<0.05$

表 3 六组大鼠 LVEF、LVFS 水平比较($\bar{x}\pm s, \%$)

Tab 3 Comparison of LVEF and LVFS among six groups of rats ($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	LVEF	LVFS
空白组($n=10$)	52.33±5.23	82.91±8.06
模型组($n=10$)	18.46±1.59 ^a	16.37±1.38 ^a
二甲双胍组($n=10$)	43.54±4.49 ^{ab}	63.29±6.17 ^{ab}
苦参碱低剂量组($n=10$)	26.74±2.97 ^{abc}	34.45±3.16 ^{abc}
苦参碱中剂量组($n=10$)	35.47±3.12 ^{abcd}	42.14±4.51 ^{abcd}
苦参碱高剂量组($n=10$)	41.36±4.02 ^{abcde}	62.73±5.32 ^{abcde}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与二甲双胍组比较,^c $P<0.05$;与苦参碱低剂量组比较,^d $P<0.05$;与苦参碱中剂量组比较,^e $P<0.05$

Note: vs. the blank group, ^a $P<0.05$; vs. the model group, ^b $P<0.05$; vs. the metformin group, ^c $P<0.05$; vs. the low-dose matrine group, ^d $P<0.05$; vs. the medium-dose group of matrine, ^e $P<0.05$

3.3 六组大鼠静脉血中血糖、胰岛素水平比较

与空白组比较,模型组大鼠 FBG、FINS 水平明显升高;与

模型组比较,二甲双胍组和苦参碱各剂量组大鼠 FBG、FINS 水平明显降低;与二甲双胍组比较,苦参碱低、中剂量组大鼠 FBG、FINS 水平明显升高,上述差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 4。苦参碱高剂量组大鼠上述指标水平较二甲双胍组有升高趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);苦参碱各剂量组大鼠上述指标的变化具有剂量效应,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

3.4 六组大鼠左心室心肌细胞表面积变化比较

WGA 染色结果显示,与空白组比较,模型组大鼠心肌细胞表面积明显增加;与模型组比较,二甲双胍组和苦参碱各剂量组大鼠心肌细胞表面积明显降低;与二甲双胍组比较,苦参碱低、中剂量组大鼠心肌细胞表面积明显增加,上述差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 1、表 5。苦参碱高剂量组与二甲双胍组大鼠心肌细胞表面积比较,差异无统计学意义($P>0.05$);苦参碱各剂量组间大鼠心肌细胞表面积的变化具有剂量效应,

表 4 六组大鼠 FBG、FINS 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

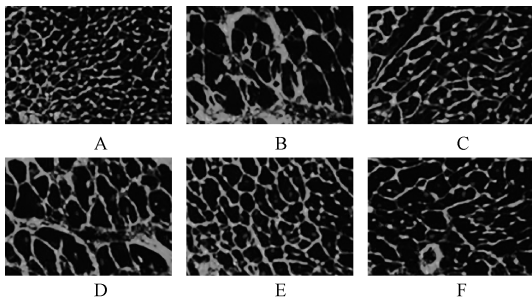
Tab 4 Comparison of FBG and FINS levels among six groups of rats ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	FBG	FINS
空白组 (n=10)	5.42±0.61	12.42±2.87
模型组 (n=10)	12.82±1.44 ^a	49.18±5.76 ^a
二甲双胍组 (n=10)	7.82±0.74 ^{ab}	20.61±2.59 ^{ab}
苦参碱低剂量组 (n=10)	10.53±0.84 ^{abc}	33.84±3.41 ^{abc}
苦参碱中剂量组 (n=10)	9.09±0.78 ^{abcd}	26.03±2.59 ^{abcd}
苦参碱高剂量组 (n=10)	7.98±0.65 ^{abde}	21.04±2.33 ^{abde}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与二甲双胍组比较,^c $P<0.05$;与苦参碱低剂量组比较,^d $P<0.05$;与苦参碱中剂量组比较,^e $P<0.05$

Note:rs. the blank group, ^a $P<0.05$; rs. the model group, ^b $P<0.05$; rs. the metformin group, ^c $P<0.05$; rs. the low-dose matrine group, ^d $P<0.05$; rs. the medium-dose group of matrine, ^e $P<0.05$

差异有统计学意义 ($P<0.05$), 见图 1、表 5。



A. 空白组; B. 模型组; C. 二甲双胍组; D. 苦参碱低剂量组; E. 苦参碱中剂量组; F. 苦参碱高剂量组

A. blank group; B. model group; C. metformin group; D. low-dose matrine group; E. medium-dose matrine group; F. high-dose matrine group

图 1 六组大鼠左心室心肌细胞表面积的变化 (WGA, $\times 400$)
Fig 1 Changes of the surface area of myocardial cells in left ventricle in six groups of rats (WGA, $\times 400$)

表 5 六组大鼠左心室心肌细胞表面积比较 ($\bar{x}\pm s$, mm²)

Tab 5 Comparison of the surface area of myocardial cells in left ventricle among six groups of rats ($\bar{x}\pm s$, mm²)

组别	心肌细胞表面积
空白组 (n=10)	1.02±0.09
模型组 (n=10)	2.39±0.21 ^a
二甲双胍组 (n=10)	1.43±0.10 ^{ab}
苦参碱低剂量组 (n=10)	1.97±0.16 ^{abc}
苦参碱中剂量组 (n=10)	1.72±0.15 ^{abcd}
苦参碱高剂量组 (n=10)	1.45±0.13 ^{abde}

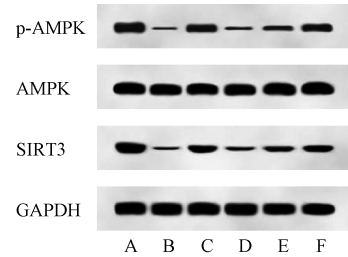
注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与二甲双胍组比较,^c $P<0.05$;与苦参碱低剂量组比较,^d $P<0.05$;与苦参碱中剂量组比较,^e $P<0.05$

Note:rs. the blank group, ^a $P<0.05$; rs. the model group, ^b $P<0.05$; rs. the metformin group, ^c $P<0.05$; rs. the low-dose matrine group, ^d $P<0.05$; rs. the medium-dose group of matrine, ^e $P<0.05$

3.5 六组大鼠心肌组织中 p-AMPK、AMPK、SIRT3 蛋白表达水平比较

与空白组比较,模型组大鼠心肌组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT3 蛋白表达水平明显降低;与模型组比较,二甲双胍组和苦参碱各剂量组大鼠心肌组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT3 蛋白表达水平明显升高;与二甲双胍组比较,苦参碱低、中剂量组大鼠心肌组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT3 蛋白表达水平明显降低,上述差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 见图 2、表 6。苦参碱高剂量组上述蛋白表达水平与二甲双胍组比较有降低趋势,但

差异无统计学意义 ($P>0.05$);苦参碱各剂量组大鼠心肌组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT3 蛋白表达的变化具有剂量效应,差异有统计学意义 ($P<0.05$), 见图 2、表 6。



A. 空白组; B. 模型组; C. 二甲双胍组; D. 苦参碱低剂量组; E. 苦参碱中剂量组; F. 苦参碱高剂量组

A. blank group; B. model group; C. metformin group; D. low-dose matrine group; E. medium-dose matrine group; F. high-dose matrine group

图 2 六组大鼠心肌组织中 p-AMPK、AMPK 和 SIRT3 蛋白表达水平

Fig 2 Expression of p-AMPK, AMPK and SIRT3 protein in myocardial tissues in six groups of rats

表 6 六组大鼠心肌组织中 p-AMPK/AMPK、SIRT3 蛋白表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 6 Comparison of p-AMPK/AMPK and SIRT3 protein expression in myocardial tissues among six groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	p-AMPK/AMPK	SIRT3/GAPDH
空白组 (n=10)	0.77±0.08	0.83±0.08
模型组 (n=10)	0.11±0.01 ^a	0.13±0.01 ^a
二甲双胍组 (n=10)	0.57±0.06 ^{ab}	0.49±0.05 ^{ab}
苦参碱低剂量组 (n=10)	0.23±0.03 ^{abc}	0.26±0.03 ^{abc}
苦参碱中剂量组 (n=10)	0.36±0.04 ^{abcd}	0.34±0.03 ^{abcd}
苦参碱高剂量组 (n=10)	0.52±0.05 ^{abde}	0.46±0.04 ^{abde}

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与二甲双胍组比较,^c $P<0.05$;与苦参碱低剂量组比较,^d $P<0.05$;与苦参碱中剂量组比较,^e $P<0.05$

Note:rs. the blank group, ^a $P<0.05$; rs. the model group, ^b $P<0.05$; rs. the metformin group, ^c $P<0.05$; rs. the low-dose matrine group, ^d $P<0.05$; rs. the medium-dose group of matrine, ^e $P<0.05$

4 讨论

肥胖症为慢性代谢紊乱疾病,其发病率升高是多种心脑血管疾病发病风险升高的重要因素。肥胖症可引起血脂、血糖代谢异常以及胰岛素抵抗,导致心功能改变和心肌细胞肥大^[12]。但其机制较为复杂。本研究通过高脂饮食诱导建立肥胖症大鼠模型,结果发现,模型组大鼠体重增加,FBG、FINS 水平升高,提示大鼠体内发生血糖代谢紊乱以及胰岛素抵抗;模型组大鼠心功能指标 LVESD、LVEDD、LVEDV 和 LVESV 水平明显升高,LVEF、LVFS 水平明显降低,提示模型组大鼠左心室心肌组织增厚,舒张功能发生障碍,心功能出现代偿性增强。通过 WGA 染色结果进一步验证,模型组大鼠心肌细胞表面积增加,提示心肌组织增厚,导致心功能改变、心室舒张功能障碍。

苦参碱可以改善肥胖症和糖尿病,目前已被广泛用于乙型肝炎以及多种心脑血管疾病的临床治疗^[13-14]。本研究结果表明,与模型组比较,苦参碱干预后的高脂饮食诱导肥胖症大鼠体重降低,FBG、FINS 水平降低,提示苦参碱可以逆转大鼠体内的血糖代谢紊乱和胰岛素抵抗;LVESD、LVEDD、LVEDV 和

LIVESV 水平降低, LVEF、LVFS 水平升高, 提示苦参碱可有效减轻左心室心肌组织增厚, 提高心肌舒张功能, 保护心功能。二甲双胍是目前临床治疗糖尿病的一线药物, 本实验中其作为苦参碱的阳性对照, 证实了苦参碱对高脂饮食诱导肥胖症大鼠的糖代谢紊乱有显著调节作用。

SIRT3 是高度保守的、依赖于 NAD⁺ 的线粒体蛋白, 在机体中通过去乙酰化修饰蛋白, 涉及多个细胞过程^[15]。研究结果发现, SIRT3 可以通过调节线粒体功能, 调控心脏的能量代谢, 对心功能起到保护作用^[16]。有研究结果证实, 红景天苷能够通过激活线粒体生物发生、AMPK 的磷酸化以及 SIRT3 来保护糖尿病心肌病小鼠的心脏功能^[17]。AMPK 是细胞中的能量传感器, 在机体中参与调节能量代谢, 越来越多的研究结果证实, AMPK 调节线粒体生物学, 具有维持代谢和内环境稳态的作用^[18]。SIRT3 是 AMPK 下游的关键调控因子, 研究结果表明, 药物干预激活 AMPK/SIRT3 信号通路可以明显改善由氧化应激介导的心血管疾病, 且可以有效逆转脂多糖引起的心肌收缩舒张功能降低, 减轻心肌肥厚以及抑制心肌纤维化, 起到对心脏的保护作用^[19-21]。苦参碱可保护心肌细胞免受缺血/再灌注损伤, 通过激活心肌细胞中的 AMPK/SIRT3 通路来减轻缺氧/复氧诱导的心肌细胞死亡^[22]。本研究结果显示, 与模型组比较, 苦参碱各剂量组大鼠心肌组织中 p-AMPK、AMPK 和 SIRT3 蛋白表达水平升高, 说明苦参碱能够通过激活 AMPK/SIRT3 通路而抵抗心肌组织肥厚以及舒张功能障碍, 保护高脂饮食诱导的肥胖症大鼠的心功能。

综上所述, 苦参碱可减轻高脂饮食诱导的肥胖症大鼠左心室心肌组织增厚, 提高心肌舒张功能, 保护心功能, 可能与 AMPK/SIRT3 通路的激活有关, 但其具体机制还需结合临床研究进一步验证。

参考文献

- [1] WEST-EBERHARD M J. Nutrition, the visceral immune system, and the evolutionary origins of pathogenic obesity [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(3): 723-731.
- [2] KACHUR S, LAVIE C J, DE SCHUTTER A, et al. Obesity and cardiovascular diseases [J]. Minerva Med, 2017, 108(3): 212-228.
- [3] MARINI S, MERINO J, MONTGOMERY B E, et al. Mendelian randomization study of obesity and cerebrovascular disease [J]. Ann Neurol, 2020, 87(4): 516-524.
- [4] WIECHERT M, HOLZAPFEL C. Nutrition concepts for the treatment of obesity in adults [J]. Nutrients, 2021, 14(1): 169.
- [5] 李艳, 曹美群, 陶文聪, 等. 黄芪散对高脂饮食诱导肥胖大鼠肝脏内质网应激信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(21): 6-11.
- [6] 曹建, 魏润杰, 邓茹芸, 等. 苦参碱及氧化苦参碱抑制肿瘤作用机制研究进展及展望 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 753-760.
- [7] DAI M Q, CHEN N N, LI J Z, et al. *In vitro* and *in vivo* anti-metastatic effect of the alkaloid matrine from *Sophora flavescens* on hepatocellular carcinoma and its mechanisms [J]. Phytomedicine, 2021, 87: 153580.
- [8] 卢远航, 周颖, 易晔. 苦参碱对早期糖尿病肾病病人纤溶活性和血黏度的影响 [J]. 中国新药与临床杂志, 2009, 28(3): 209-

- 212.
- [9] XIN T, LU C Z. Sirt3 activates AMPK-related mitochondrial biogenesis and ameliorates sepsis-induced myocardial injury [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(16): 16224-16237.
- [10] CABALLERO E P, MARIZ-PONTE N, RIGAZIO C S, et al. Honokiol attenuates oxidative stress-dependent heart dysfunction in chronic Chagas disease by targeting AMPK / NFE2L2 / SIRT3 signaling pathway [J]. Free Radic Biol Med, 2020, 156: 113-124.
- [11] ZHANG S, GUO S, GAO X B, et al. Matrine attenuates high-fat diet-induced *in vivo* and ox-LDL-induced *in vitro* vascular injury by regulating the PKC α /eNOS and PI3K/Akt/eNOS pathways [J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(4): 2731-2743.
- [12] GENG Z, FAN W Y, ZHOU B, et al. FNDC5 attenuates obesity-induced cardiac hypertrophy by inactivating JAK2/STAT3-associated inflammation and oxidative stress [J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 107.
- [13] WANG X, LIN H, ZHANG R. The clinical efficacy and adverse effects of interferon combined with matrine in chronic hepatitis B: A systematic review and Meta-analysis [J]. Phytother Res, 2017, 31(6): 849-857.
- [14] 马晶鑫, 郭金洲, 陈海宁, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨苦参治疗心血管疾病的机制研究 [J]. 中医学, 2022, 11(2): 272-284.
- [15] WANG Y J, HE J, LIAO M Y, et al. An overview of sirtuins as potential therapeutic target: structure, function and modulators [J]. Eur J Med Chem, 2019, 161: 48-77.
- [16] PARODI-RULLÁN R M, CHAPA-DUBOCQ X R, JAVADOV S. Acetylation of mitochondrial proteins in the heart: the role of SIRT3 [J]. Front Physiol, 2018, 9: 1094.
- [17] LI Y, WEI X, LIU S L, et al. Salidroside protects cardiac function in mice with diabetic cardiomyopathy via activation of mitochondrial biogenesis and SIRT3 [J]. Phytother Res, 2021, 35(8): 4579-4591.
- [18] HERZIG S, SHAW R J. AMPK: Guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(2): 121-135.
- [19] GAO J M, LIU S, XU F, et al. Trilobatin protects against oxidative injury in neuronal PC12 cells through regulating mitochondrial ROS homeostasis mediated by AMPK/Nrf2/Sirt3 signaling pathway [J]. Front Mol Neurosci, 2018, 11: 267.
- [20] XU M, XUE R Q, LU Y, et al. Choline ameliorates cardiac hypertrophy by regulating metabolic remodelling and UPRmt through SIRT3-AMPK pathway [J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(3): 530-545.
- [21] LIU M, LI X Y, HUANG D Z. Mfn2 overexpression attenuates cardio-cerebrovascular ischemia-reperfusion injury through mitochondrial fusion and activation of the AMPK/Sirt3 signaling [J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 598078.
- [22] LU Q B, LIN X Y, WU J, et al. Matrine attenuates cardiomyocyte ischemia-reperfusion injury through activating AMPK/Sirt3 signaling pathway [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2021, 41(5): 488-493.

(收稿日期:2022-02-16 修回日期:2022-03-18)