

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.09.001

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220223.0931.021.html>(2022-02-23)

线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂对大鼠冠状动脉硬化斑块及血脂代谢的影响^{*}

彭颖静,刘丽敏,姚 健,张金盈

(沈阳医学院附属第二医院心血管内科 110016)

[摘要] **目的** 探讨线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂通过调控过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 通路对大鼠冠状动脉硬化斑块及血脂代谢的影响。**方法** 将 50 只大鼠分为对照组、模型组、二氮嗪组、PPAR γ 抑制剂(GW9662)组、二氮嗪+GW9662 组,除对照组外,其余各组采用高脂饲料喂养、腹腔注射维生素 D₃ 建立冠状动脉粥样硬化性心脏病大鼠模型。检测血脂指标、血清炎症因子水平,油红 O 染色观察主动脉弓血管壁脂质沉淀情况,透射电镜观察主动脉弓内皮细胞线粒体损伤情况,RT-qPCR 法和 Western blot 法检测主动脉弓 PPAR γ 、核因子- κ B p65(NF- κ B p65)mRNA 和 PPAR γ 、NF- κ B p65、NF- κ B p-p65 蛋白表达量。**结果** (1)血脂指标及炎症因子:与对照组比较,模型组、GW9662 组、二氮嗪组、二氮嗪+GW9662 组血脂指标及血清炎症因子水平均较高,其中 GW9662 组>模型组>二氮嗪+GW9662 组>二氮嗪组($P<0.05$)。(2)主动脉弓血管壁脂质沉淀:对照组无脂质沉淀,模型组有大量成片脂滴沉淀,GW9662 组较模型组脂滴沉淀更多,二氮嗪组较模型组脂滴沉淀减少,而二氮嗪+GW9662 组较二氮嗪组脂滴沉淀增多。(3)主动脉弓血管内皮细胞中线粒体损伤:对照组线粒体双层膜结构清晰、完整;模型组线粒体双层膜结构不连续,线粒体嵴断裂或模糊,呈现肿胀和空泡化现象;GW9662 组较模型组线粒体嵴断裂明显,部分仅留残端,肿胀和空泡化严重;二氮嗪组较模型组线粒体损伤减轻;而二氮嗪+GW9662 组较二氮嗪组线粒体损伤稍加重。(4)主动脉弓 PPAR γ 、NF- κ B mRNA 和蛋白及 NF- κ B p-p65 蛋白表达水平:与对照组比较,模型组、GW9662 组、二氮嗪组、二氮嗪+GW9662 组 PPAR γ mRNA 和蛋白相对表达量降低,其中 GW9662 组<模型组<二氮嗪+GW9662 组<二氮嗪组($P<0.05$);与对照组比较,模型组、GW9662 组、二氮嗪组、二氮嗪+GW9662 组 NF- κ B p-p65 蛋白相对表达量升高,其中 GW9662 组>模型组>二氮嗪+GW9662 组>二氮嗪组($P<0.05$)。**结论** 线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂二氮嗪可减轻大鼠冠状动脉硬化斑块病变程度,改善血脂代谢,其机制为通过调控 PPAR γ 通路发挥改善作用。

[关键词] 冠状动脉粥样硬化;血脂代谢;线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ

[中图法分类号] R541.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2022)09-1441-07

Effects of mitochondrial ATP sensitive potassium channel opener on coronary atherosclerotic plaque and lipid metabolism in rats^{*}

PENG Yingjing, LIU Limin, YAO Jian, ZHANG Jinying

(Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang, Liaoning 110016, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of mitochondrial ATP sensitive potassium channel opener on coronary atherosclerotic plaque and lipid metabolism by regulating peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR γ) pathway in rats. **Methods** Fifty rats were divided into the control group, model group, diazoxide group, PPAR γ inhibitor (GW9662) group and diazoxide + GW9662 group. Except for the control group, the other groups were fed with high-fat diet and VD₃ was intraperitoneally injected to construct

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81570274)。 作者简介:彭颖静(1977—),副主任医师,本科,主要从事心内科方面的工作。

the rat model of atherosclerotic coronary heart disease. The blood lipid indexes and the levels of serum cytokines were detected. The lipid precipitation in the blood vessel wall of the aortic arch was observed by the oil red staining. The epithelial mitochondrial injury situation of the aortic arch was observed by the transmission electron microscope. The PPAR γ , nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B p65) mRNA and PPAR γ , NF- κ B p65, NF- κ B p-p65 protein expression levels in aortic arch were detected by RT-qPCR and Western blot. **Results** (1) The blood lipid indicators and inflammatory factors: compared with the control group, the levels of blood lipid indicators and serum inflammatory factors were higher in the model group, GW9662 group, diazoxide group and diazoxide + GW9662 group, among which GW9662 group > model group > diazoxide + GW9662 group > diazoxide group ($P < 0.05$). (2) The lipid precipitation in the vessel wall of the aortic arch: there was no lipid precipitation in the control group, and there were a large number of lipid droplets in the model group. The GW9662 group had more lipid droplets than the model group. The diazoxide group had less lipid droplets than the model group. The diazoxide + GW9662 group had more lipid droplet precipitation than the diazoxide group. (3) The mitochondrial damage in endothelial cells of the aortic arch: the structure of the mitochondrial double-layer membrane in the control group was clear and complete; the structure of the mitochondrial double-layer membrane in the model group was discontinuous, with broken or blurred cristae, showing swelling and vacuolization. Compared with the model group, the GW9662 group had more cristae fractures, and some only left the stump with severe swelling and vacuolization. The diazoxide group had less mitochondrial damage than the model group. The mitochondrial damage in the diazoxide + GW9662 group was slightly more severe than that in the diazoxide group. (4) PPAR γ , NF- κ B mRNA and protein and NF- κ B p-p65 protein expression levels in the aortic arch: compared with the control group, the relative expression levels of PPAR γ mRNA and protein in the model group, GW9662 group, diazoxide group, and diazoxide + GW9662 group were decreased, among which GW9662 group < model group < diazoxide + GW9662 group < diazoxide group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the relative expression levels of NF- κ B p-p65 protein in the model group, GW9662 group, diazoxide group and diazoxide + GW9662 group were increased, among which GW9662 group > model group > diazoxide + GW9662 group > diazoxide group ($P < 0.05$). **Conclusion** Mitochondrial ATP-sensitive potassium channel opener diazoxide can reduce the severity of coronary atherosclerosis plaques in rats and improve blood lipid metabolism, and its mechanism is to play the improvement effect by regulating PPAR γ pathway.

[Key words] coronary atherosclerosis; lipid metabolism; mitochondrial ATP sensitive potassium channel openers; peroxisome proliferator activated receptor γ

冠状动脉粥样硬化性心脏病是由于冠状动脉发生粥样硬化引起血管狭窄或闭塞,导致心肌缺血、缺氧、坏死的一种心脏病^[1]。随着我国人口老龄化加剧及饮食结构的改变,冠状动脉粥样硬化性心脏病发病率逐年升高,已成为临床最为常见的心血管疾病之一^[2]。

临床研究显示,冠状动脉粥样硬化性心脏病患者多伴有严重的血脂异常,故目前临床除采用血管扩张药物控制病情外,调节血脂也成为治疗重点^[3]。线粒体 ATP 敏感性钾离子通道(mitochondrial ATP sensitive potassium channels, mitoKATP)主要分布于心肌和血管平滑肌细胞线粒体内膜上,mitoKATP 开放是细胞内产生 ATP 的重要步骤^[4]。二氮嗪属于 mitoKATP 开放剂,目前已被证实对缺血缺氧性心肌损

伤及冠状动脉粥样硬化性心脏病有显著改善作用^[5],但二氮嗪对冠状动脉粥样硬化性心脏病血脂代谢的影响及机制报道较少。本研究旨在探讨二氮嗪对冠状动脉粥样硬化性心脏病脂质代谢的影响及机制,为治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

50 只健康雄性 SPF 级 SD 大鼠,6 周龄,体质量(200 $\pm$ 20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号 SCXK(京)2017-0011],动物实验符合 3R 原则,所有操作遵循国家实验动物管理条例及国家实验动物管理实施细则。

1.2 仪器与试剂

过氧化物酶体增植物激活受体 γ (peroxisome

proliferator activated receptor γ , PPAR γ) 抑制剂 GW9662(上海碧云天生物技术有限公司), 维生素 D₃ (VitD₃, 哈尔滨三马兽药业有限公司), 高脂饲料、普通饲料(南通特洛菲饲料科技有限公司), 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor - α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP9) ELISA 试剂盒(南京福麦斯生物技术有限公司), 逆转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司), BCA 蛋白定量分析试剂盒(美国 Thermo 公司), 兔抗大鼠 PPAR γ 、核因子- κ B p65(nuclear factor- κ B, NF- κ B p65)及 NF- κ B p-p65 单抗(一抗, 美国 Abcam 公司), 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 单抗(二抗, 北京中杉金桥生物技术有限公司)。7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司), CheniDoc XRS 化学发光成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司), JEM-1010 透射电子显微镜(日本电子株式会社)。

1.3 方法

1.3.1 实验分组及干预

50 只大鼠分为对照组、模型组、二氮嗪组、GW9662 组、二氮嗪+GW9662 组, 各 10 只, 除对照组外, 其余各组采用高脂饲料喂养、腹腔注射 VitD₃ 法建立冠状动脉粥样硬化性心脏病大鼠模型, 对照组采用普通饲料喂养、腹腔注射生理盐水。二氮嗪组以 3 mg/kg 二氮嗪灌胃, GW9662 组以 1 mg/kg GW9662 灌胃, 二氮嗪+GW9662 组同时以 3 mg/kg 二氮嗪和 1 mg/kg GW9662 灌胃, 对照组和模型组以生理盐水灌胃, 每天 1 次, 连续 14 d。

1.3.2 动物模型建立

参考文献^[6]建立冠状动脉粥样硬化性心脏病大鼠模型: 高脂饲料喂养 12 周, 在喂养开始时腹腔注射 VitD₃ 2 mL/kg, 分 3 次连续 3 d 注射完毕。对照组仅喂养普通饲料, 在喂养开始时腹腔注射生理盐水 2 mL/kg, 分 3 次连续 3 d 注射完毕。所有实验完毕后处死大鼠, 病理检查显示有斑块形成证实建模成功, 建模未成功的大鼠数据全部剔除。模型组、二氮嗪组、GW9662 组、二氮嗪+GW9662 组分别有 10、9、8、9 只大鼠建模成功。

1.3.3 标本采集

给药结束后 2 h, 用眼球摘除法取血样 5 mL, 室温静置分层后, 3 000 r/min 离心 15 min(离心半径 10 cm), 取上清液备用; 采血结束后处死各组大鼠, 打开胸腔, 剪取 3 cm 胸主动脉标本, 一部分(4 只大鼠)置于 10% 中性甲醛中常温固定 48 h 用于染色用, 一部分(4 只大鼠)置于 2.5% 戊二醛中 4 ℃ 固定 2 h 用于线粒体超微结构观察, 每组另 4 只标本置于 -80 ℃ 保

存用于 mRNA 和蛋白表达的检测。

1.3.4 血脂指标及血清炎症因子水平检测

取血清样本, 于全自动生化分析仪检测总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平; 参照 ELISA 试剂盒说明书, 检测炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、MMP9 水平。

1.3.5 主动脉弓血管壁脂质沉淀检测

取固定于中性甲醛中的 4 只大鼠主动脉组织标本, 乙醇梯度脱水, 石蜡包埋, 制作厚度为 4 μ m 连续切片。每个标本取 4 张切片, 60% 异丙醇浸洗, 加入油红 O 染色液, 室温染色 10 min, 置于显微镜下用 60% 异丙醇调色, 蒸馏水冲洗 3 次, Mayer 苏木精染液复染 30 s, 自来水冲洗 3 min, 蒸馏水浸洗, 晾干后用甘油明胶封片, 于光学显微镜下观察拍照。

1.3.6 主动脉弓血管内皮细胞线粒体超微结构观察

取 4 只大鼠以 2.5% 戊二醛固定的主动脉组织标本, PBS 冲洗干净后, 用 1% 锇酸室温固定 2 h, 再次冲洗, 用 2% 醋酸铀染色 2 h, 然后进行丙酮逐级脱水, 包埋剂包埋后于超薄切片机上切片, 醋酸铀和枸橼酸钠染色, 于透射电子显微镜下观察。

1.3.7 PPAR γ 、NF- κ B mRNA 表达量检测

取 4 只大鼠在 -80 ℃ 保存的主动脉组织, 用组织剪剪碎后, 以 Trizol 法提取总 RNA, 逆转录试剂盒获得互补链 cDNA, 调整 cDNA 浓度, 以之为模板进行实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR), 参照试剂盒设置 20 μ L 反应体系 20, 反应参数为 95 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 20 s, 58 ℃ 退火 40 s, 40 个循环, 72 ℃ 再延伸 60 s。以 β -actin 为内参对照, 以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算目的基因相对表达量。PPAR γ 引物序列 F: 5'-TGCTAGCCAATGTGCTAGC-3', R: 5'-CCAGTACGTAGCTGATGCA-3'; NF- κ B 引物序列 F: 5'-TACGACTGCGATGCTGCT-3', R: 5'-AATGCTGATGCTGATCAT-3'; β -actin 引物序列 F: 5'-ACTGATGCTGAACGTGAC-3', R: 5'-CCTGATGCTGATGCTGAG-3'。

1.3.8 PPAR γ 、NF- κ B p65、NF- κ B p-p65 蛋白表达量检测

取 4 只大鼠在 -80 ℃ 保存的主动脉组织, 液氮研磨后加入细胞裂解液, 于冰上孵育 20 min, 离心收集上清液, 检测上清液中总蛋白含量, 然后进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳, 经电转、封闭后, 加入稀释一抗(1:500), 4 ℃ 摇床孵育过夜, TBST 缓冲液洗涤 3 次 $\times$ 10 min, 加入稀释二抗(1:2 000), 常温孵

育 2 h,加入电化学发光液,暗室中曝光、显影,凝胶成像系统扫描拍照,用 Image J 图像分析软件进行灰度值分析,蛋白相对表达量以 PPAR γ 、NF- κ B p65、NF- κ B p-p65 与内参 β -actin 灰度值比值表示。

1.4 统计学处理

采用 SPSS19.0 和 GraphPad Prism 6.0 软件进行数据分析和作图,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多样本均数比较采用单因素方差分析,组间差异有统计学意义时进一步行 LSD- t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组血脂指标检测结果

与对照组比较,模型组、GW9662 组、二氮嗪组、二氮嗪+GW9662 组 TC、TG、LDL-C 水平均较高,其中 GW9662 组>模型组>二氮嗪+GW9662 组>二氮嗪组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 各组血清炎症因子水平检测结果

与对照组比较,模型组、GW9662 组、二氮嗪组、

二氮嗪+GW9662 组血清 IL-1 β 、TNF- α 、MMP9 水平均较高,其中 GW9662 组>模型组>二氮嗪+GW9662 组>二氮嗪组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3 主动脉弓血管壁脂质沉淀检测结果

主动脉弓油红 O 染色显示,对照组无脂质沉淀,模型组大量成片脂滴沉淀,GW9662 组较模型组脂滴沉淀更多,二氮嗪组较模型组脂滴沉淀减少,而二氮嗪+GW9662 组较二氮嗪组脂滴沉淀增多,见图 1。

2.4 各组主动脉弓线粒体超微结构改变

主动脉弓透射电子显微镜观察显示,对照组主动脉弓内皮细胞线粒体双层膜结构清晰、完整;模型组线粒体双层膜结构不连续,线粒体嵴断裂或模糊,呈现肿胀和空泡化现象;GW9662 组较模型组线粒体嵴断裂明显,部分仅留残端,肿胀和空泡化严重;二氮嗪组较模型组双层膜结构相对完整,线粒体嵴清晰,肿胀和空泡化减轻;而二氮嗪+GW9662 组较二氮嗪组嵴稍模糊,肿胀和空泡化稍加重,见图 2。

表 1 各组血脂指标比较($\bar{x}\pm s$,mmol/L)

组别	<i>n</i>	TC	TG	LDL-C
对照组	10	1.41 $\pm$ 0.15	1.01 $\pm$ 0.17	0.25 $\pm$ 0.07
模型组	10	3.15 $\pm$ 0.26 [*]	2.95 $\pm$ 0.18 ^{*#}	1.86 $\pm$ 0.10 ^{*#}
GW9662 组	9	4.22 $\pm$ 0.31 ^{*#}	3.71 $\pm$ 0.20 ^{*#}	2.31 $\pm$ 0.13 ^{*#}
二氮嗪组	8	2.06 $\pm$ 0.24 ^{*#△}	1.45 $\pm$ 0.15 ^{*#△}	0.87 $\pm$ 0.11 ^{*#△}
二氮嗪+GW9662 组	9	2.70 $\pm$ 0.27 ^{*#△▲}	2.08 $\pm$ 0.19 ^{*#△▲}	1.24 $\pm$ 0.14 ^{*#△▲}
<i>F</i>		352.194	126.081	223.014
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

^{*}: $P<0.05$,与对照组比较;[#]: $P<0.05$,与模型组比较;[△]: $P<0.05$,与 GW9662 组比较;[▲]: $P<0.05$,与二氮嗪组比较。

表 2 各组血清炎症因子水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

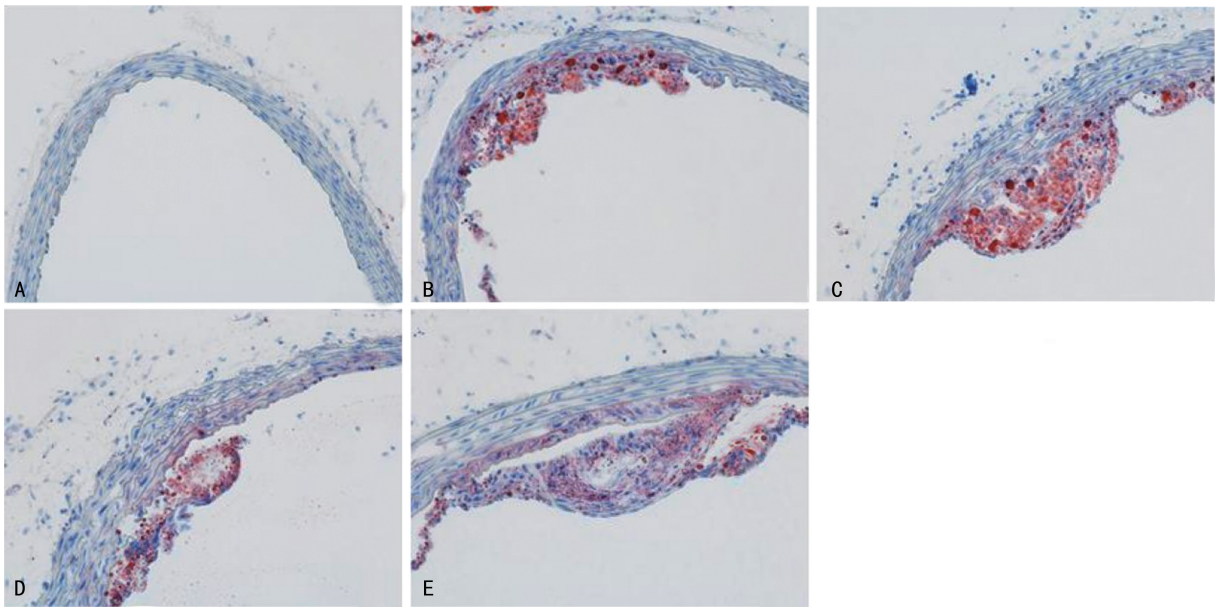
组别	<i>n</i>	IL-1 β	TNF- α	MMP9
对照组	10	16.03 $\pm$ 4.60	37.85 $\pm$ 9.83	542.19 $\pm$ 46.73
模型组	10	55.69 $\pm$ 5.14 [*]	72.30 $\pm$ 10.21 [*]	1 213.70 $\pm$ 52.19 [*]
GW9662 组	9	62.14 $\pm$ 5.22 ^{*#}	84.76 $\pm$ 9.36 ^{*#}	1 452.36 $\pm$ 50.87 ^{*#}
二氮嗪组	8	31.37 $\pm$ 4.67 ^{*#△}	45.61 $\pm$ 9.80 ^{*#△}	726.81 $\pm$ 54.29 ^{*#△}
二氮嗪+GW9662 组	9	44.95 $\pm$ 4.93 ^{*#△▲}	60.18 $\pm$ 10.17 ^{*#△▲}	1 035.24 $\pm$ 58.31 ^{*#△▲}
<i>F</i>		143.578	189.160	203.167
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

^{*}: $P<0.05$,与对照组比较;[#]: $P<0.05$,与模型组比较;[△]: $P<0.05$,与 GW9662 组比较;[▲]: $P<0.05$,与二氮嗪组比较。

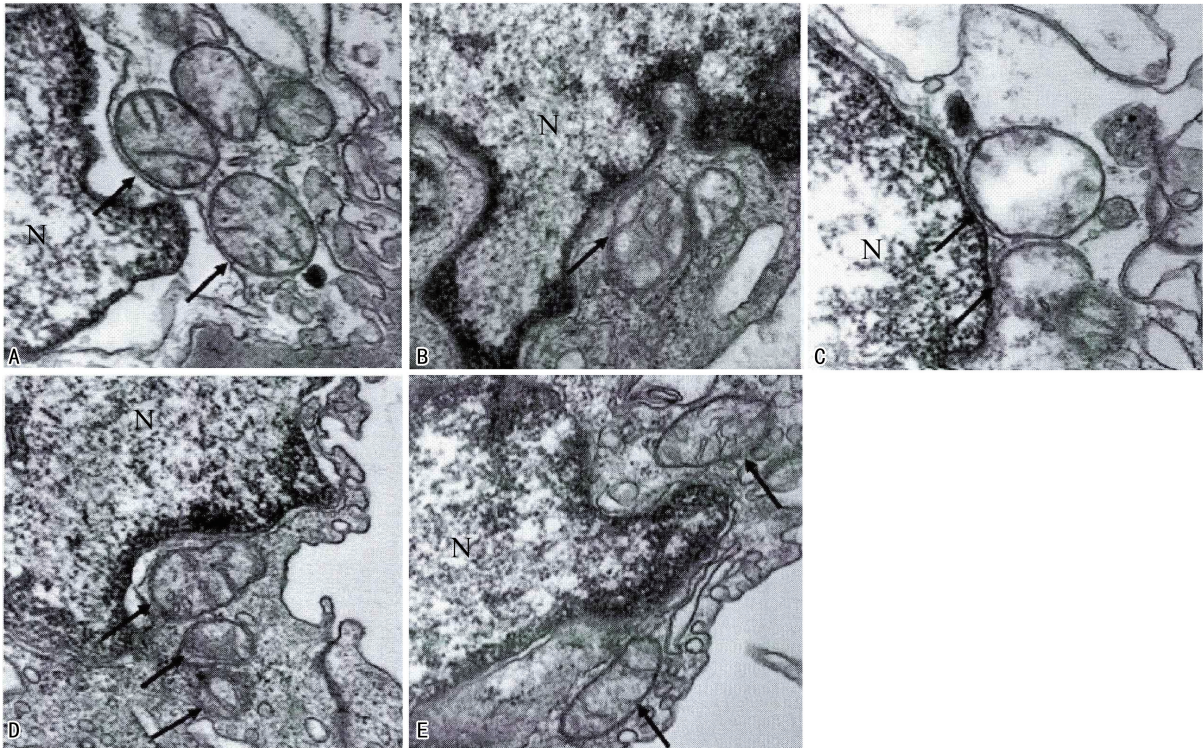
2.5 各组主动脉 PPAR γ 、NF- κ B mRNA 相对表达量检测结果

NF- κ B p65 mRNA 相对表达量组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比较,模型组、

GW9662 组、二氮嗪组、二氮嗪+GW9662 组 PPAR γ mRNA 相对表达量降低,其中 GW9662 组<模型组<二氮嗪+GW9662 组<二氮嗪组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 3。



A:对照组;B:模型组;C:GW9662 组;D:二氮嗪组;E:二氮嗪+GW9662 组。
图 1 各组主动脉弓油红 O 染色(×200)



A:对照组;B:模型组;C:GW9662 组;D:二氮嗪组;E:二氮嗪+GW9662 组;N:细胞核;箭头:线粒体。
图 2 各组线粒体超微结构观察(×80 000)

2.6 各组主动脉 PPARγ、NF-κB p65、NF-κB p-p65 蛋白相对表达量检测结果

NF-κB p65 蛋白相对表达量组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比较,模型组、GW9662 组、二氮嗪组、二氮嗪+GW9662 组 PPARγ 蛋白相对表达量降低,其中 GW9662 组<模型组<二氮嗪+GW9662 组<二氮嗪组,差异均有统计学意义($P<0.05$);与对照组比较,模型组、GW9662 组、二氮嗪组、二氮嗪+GW9662 组 NF-κB p-p65 蛋白相对表

达量升高,其中 GW9662 组>模型组>二氮嗪+GW9662 组>二氮嗪组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 3。

表 3 各组主动脉 PPARγ、NF-κB mRNA 相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	PPARγ	NF-κB p65
对照组	4	1.01±0.08	1.05±0.11
模型组	4	0.42±0.05 [*]	1.06±0.12

续表 3 各组主动脉 PPAR γ 、NF- κ B mRNA 相对 表达量比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	PPAR γ	NF- κ B p65
GW9662 组	4	0.20 $\pm$ 0.05 ^{*#}	1.01 $\pm$ 0.16
二氮嗪组	4	0.85 $\pm$ 0.07 ^{*#Δ}	1.06 $\pm$ 0.12
二氮嗪+GW9662 组	4	0.67 $\pm$ 0.08 ^{*#$\Delta$$\blacktriangle$}	1.03 $\pm$ 0.14
F		85.230	0.224
P		<0.001	0.147

^{*}: $P<0.05$,与对照组比较;[#]: $P<0.05$,与模型组比较; ^{Δ} : $P<0.05$,与 GW9662 组比较; ^{$\blacktriangle$} : $P<0.05$,与二氮嗪组比较。

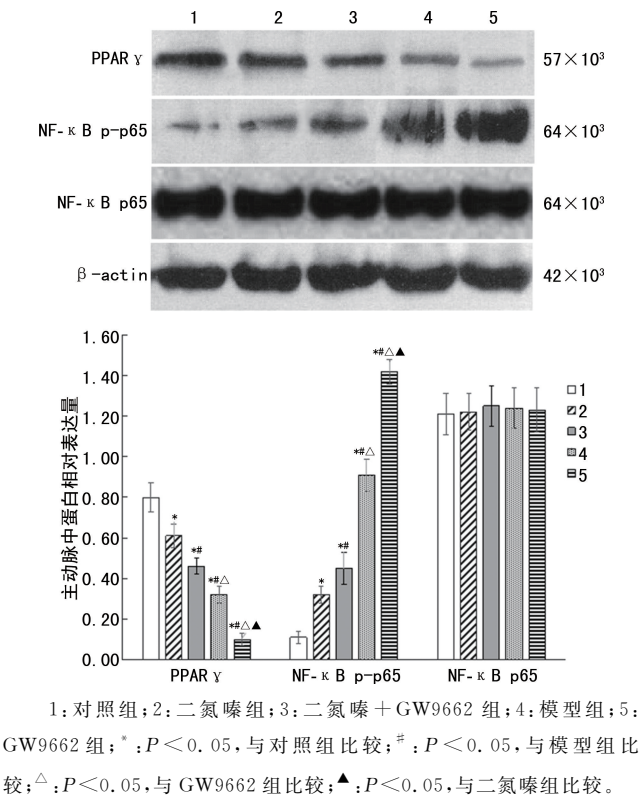


图 3 各组主动脉 PPAR γ 、NF- κ B p65、NF- κ B p-p65 蛋白表达

3 讨 论

冠状动脉粥样硬化性心脏病是临床最常见的心血管疾病之一,严重危害人类的生命健康。冠状动脉粥样硬化性心脏病的病理基础为动脉粥样硬化,其发病危险因素较多,如高龄、吸烟、血脂代谢异常、炎症、遗传等^[7-8]。研究表明,血脂代谢异常是诱发冠状动脉粥样硬化性心脏病的危险因素,血脂代谢长期异常可破坏冠状动脉血管完整性,引起血小板和血脂长期聚集于血管破损处,形成动脉粥样硬化斑块,最终导致血管狭窄甚至闭塞,心血管事件发生风险增加^[9-10]。mitoKATP 存在于心肌和血管平滑肌细胞线粒体内膜,是线粒体损伤、细胞死亡的关键,开放 mitoKATP 可激活内源性心肌保护机制^[11],但其对血脂代谢的影响的研究较少。

临床研究显示,高甘油三酯血症是冠状动脉粥样硬化性心脏病发病的独立危险因素,TC、TG、LDL-C 长期处于高水平可促进粥样硬化斑块形成,加之炎症因子作用可加速易损性斑块形成,从而导致心血管事件发生风险增加^[12-13]。炎症反应参与冠状动脉粥样硬化性心脏病的发生、发展的各个环节,IL-1 β 、TNF- α 可加速血栓及动脉斑块形成等病理改变,胆固醇结晶可激活炎症小体,促进 IL-1 β 的合成和分泌;TNF- α 促进黏附分子释放诱发斑块形成;MMP9 选择性地结合细胞外基质,加速易损性斑块形成^[14-15]。本研究发现,模型组血脂指标 TC、TG、LDL-C 水平及血清炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、MMP9 水平较对照组升高,主动脉弓大量成片脂滴沉淀、主动脉内皮细胞线粒体损伤严重,应用二氮嗪干预后,血脂指标及血清炎症因子水平较模型组均降低,脂滴沉淀减少,内皮细胞线粒体损伤减轻,提示二氮嗪可有效减轻大鼠冠状动脉硬化斑块病变程度,改善血脂代谢,抑制炎症反应。

PPAR γ 主要参与脂肪细胞分化、葡萄糖代谢及炎症反应等,PPAR γ 信号通路在脂质代谢中发挥重要调控作用,已成为肥胖及糖尿病等糖脂代谢紊乱疾病治疗的重要靶分子之一^[16]。PPAR γ 、NF- κ B p65 均属于核受体,适量脂质可激活 PPAR γ 稳定脂质代谢,过多的脂质则抑制 PPAR γ ,从而使 NF- κ B p65 磷酸化激活,促进炎症反应^[17]。本研究发现,模型组 PPAR γ mRNA 和蛋白表达量较对照组降低,NF- κ B p65 mRNA 和磷酸化蛋白表达量升高;应用二氮嗪干预后,主动脉 PPAR γ mRNA 和蛋白表达量升高,NF- κ B p65 mRNA 和磷酸化蛋白表达量降低,提示二氮嗪可上调冠状动脉粥样硬化性心脏病大鼠主动脉中 PPAR γ 表达,抑制 NF- κ B p65 磷酸化水平,从而抑制血管内皮损伤和动脉粥样硬化斑块形成。本研究在二氮嗪基础上进一步应用 PPAR γ 抑制剂 GW9662 干预后,PPAR γ mRNA 和蛋白表达量较二氮嗪组降低,NF- κ B p65 mRNA 和磷酸化蛋白表达量升高,且血脂指标、线粒体损伤程度及血清炎症因子水平均有所改善,从而证实二氮嗪是通过上调 PPAR γ 、抑制 NF- κ B p65 磷酸化调控冠状动脉粥样硬化性心脏病大鼠血脂代谢。除 PPAR γ 外,PPAR 还包括 PPAR α 和 PPAR β/δ 亚型,二氮嗪除通过 PPAR γ 抑制动脉粥样硬化斑块及改善血脂代谢外,能否通过其他亚型发挥代偿作用,仍需进一步研究。

综上所述,线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂二氮嗪可有效减轻大鼠冠状动脉硬化斑块病变程度,改善血脂代谢,其机制为通过调控 PPAR γ 通路发挥作用,为临床冠状动脉粥样硬化性心脏病的防治提供理论参考,但具体机制仍需进一步探讨。

参考文献

- [1] BUDOFF M J, YOUNG R, BURKE G, et al. Ten-year association of coronary artery calcium with atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD) events: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA) [J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(25):2401-2408.
- [2] HEAD S J, MILOJEVIC M, DAEMEN J, et al. Mortality after coronary artery bypass grafting versus percutaneous coronary intervention with stenting for coronary artery disease: a pooled analysis of individual patient data [J]. *Lancet*, 2018, 391(10124):939-948.
- [3] WANG C, YAN W, WANG H, et al. APOE polymorphism is associated with blood lipid and serum uric acid metabolism in hypertension or coronary heart disease in a Chinese population [J]. *Pharmacogenomics*, 2019, 20(14): 1021-1031.
- [4] 孙朝阳, 周坤, 马翔. 线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂改善冠心病大鼠模型心肌氧化应激损伤的分子机制 [J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2019, 18(2):136-140.
- [5] MAKEPEACE C M, SUAREZ-PIERRE A, KANTER E M, et al. Superior diastolic function with KATP channel opener diazoxide in a novel mouse Langendorff model [J]. *J Surg Res*, 2018, 227:186-193.
- [6] 张明雪, 常艳鹏, 王凤荣, 等. 应用计算机参数判断最短距离法聚类分析冠状动脉粥样硬化性心脏病(心)阳虚血瘀证大鼠模型及模型体系构建的有效性 [J]. *中国组织工程研究*, 2008, 12(26): 99-102.
- [7] WOLTERS F J, SEGUFAR A, DARWEESH S K L, et al. Coronary heart disease, heart failure, and the risk of dementia: a systematic review and meta-analysis [J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(11):1493-1504.
- [8] FIORANELLI M, BOTTACCIOLI A G, BOTTACCIOLI F, et al. Stress and inflammation in coronary artery disease: a review psychoneuroendocrineimmunology-based [J]. *Front Immunol*, 2018, 9:2031.
- [9] ZHANG T, CHEN J, TANG X, et al. Interaction between adipocytes and high-density lipoprotein: new insights into the mechanism of obesity-induced dyslipidemia and atherosclerosis [J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1):223.
- [10] SOLIMAN G A. Dietary fiber, atherosclerosis, and cardiovascular disease [J]. *Nutrients*, 2019, 11(5):1155.
- [11] 刘为, 黄丽萍, 田伟, 等. 线粒体 ATP 敏感性钾通道在尿皮质素后处理对大鼠心肌细胞保护效应中的作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2019, 39(2): 174-177.
- [12] 马依彤. 动脉粥样硬化患者甘油三酯升高的管理中国专家共识要点与解读 [J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(1):66-68.
- [13] REINER Z. Hypertriglyceridaemia and risk of coronary artery disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(7):401-411.
- [14] ZHU Y, XIAN X, WANG Z, et al. Research progress on the relationship between atherosclerosis and inflammation [J]. *Biomolecules*, 2018, 8(3):80.
- [15] HAN Y, MAO X, WANG L, et al. Increased levels of soluble cluster of differentiation 40 ligand, matrix metalloproteinase 9, and matrix metalloproteinase 2 are associated with carotid plaque vulnerability in patients with ischemic cerebrovascular disease [J]. *World Neurosurg*, 2017, 105:709-713.
- [16] ZHAO Y, MA D X, WANG H G, et al. Lycopene prevents dehp-induced liver lipid metabolism disorder by inhibiting the HIF-1 α -Induced PPAR α /PPAR γ /FXR/LXR system [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(41):11468-11479.
- [17] 方斌, 赵佳丽. 乌饭树叶多糖对 2 型糖尿病小鼠胰岛素抵抗及 NF- κ B, PPAR γ 蛋白的影响 [J]. *中医药导报*, 2020, 26(2):8-11, 27.