

基于网络药理学及实验验证辣椒素对急性心肌梗死大鼠的保护作用机制

魏法权, 刘学谦

新乡市第一人民医院 心血管内科二病区, 河南 新乡 453000

摘要: **目的** 探究辣椒素对急性心肌梗死大鼠的保护作用及相关机制。**方法** 联合 TCMSP、DAVID 网站进行网络药理学分析, 探寻辣椒素抗急性心肌梗死可能的作用靶点及通路。48 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、辣椒素 (20 mg/kg) 组、辣椒素+2-MeOE2 (30 mg/kg) 组, 各组 ig 相应药物连续 14 d, 1 次/d。采用心脏超声观察大鼠心肌功能的变化, 试剂盒检测血清中心肌酶肌酸激酶 (CK)、肌酸激酶同工酶 MB (CK-MB)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和心肌肌钙蛋白 (cTnT) 水平。苏木精-伊红 (HE) 染色观察心脏组织的组织学变化。实时荧光定量检测低氧诱导因子-1A (*HIF-1A*)、血管内皮生长因子 (*VEGF*)、血红素加氧酶 1 (*HMOX1*)、B 淋巴细胞瘤-2 (*Bcl-2*) mRNA 的表达。Western blotting 检测大鼠心肌组织中 *HIF-1A*、*Bcl-2* 蛋白水平。**结果** 网络药理学研究分析显示辣椒素抗急性心肌梗死靶点富集显著性最高的通路为 *HIF-1* 信号通路。动物实验显示, 与模型组相比, 辣椒素组心肌细胞凋亡率明显减少, 血清 CK、CK-MB、LDH 和 cTnT 水平均明显下降, 左室舒张末期容积 (LVEDV)、左室收缩末期容积 (LVESV) 明显下降, 左室短轴的缩短率 (LVFS)、左心室射血分数 (LVEF)、每搏量 (SV) 明显增加 ($P < 0.05, 0.01$), 同时 *HIF-1A*、*VEGF*、*HMOX1*、*Bcl-2* mRNA 表达明显增加, *HIF-1A*、*Bcl-2* 蛋白表达也明显升高 ($P < 0.01$)。与辣椒素组相比, 辣椒素+2-MeOE2 组对急性心肌梗死大鼠的保护作用明显减弱。**结论** 辣椒素可能通过调节 *HIF-1A*、*VEGF*、*HMOX1*、*Bcl-2* 等核心靶标, 干预 *HIF-1* 等信号通路的活性, 进而发挥抗急性心肌梗死的作用。

关键词: 辣椒素; 急性心肌梗死; 低氧诱导因子-1A; 血管内皮生长因子; 血红素加氧酶 1; B 淋巴细胞瘤-2

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)08-1969-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.08.005

Based on network pharmacology analysis and verification of the protective mechanism of capsaicin on acute myocardial infarction rats

WEI Faquan, LIU Xueqian

Department of Cardiovascular Medicine, Xinxiang First People's Hospital, Xinxiang 453000, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect of capsaicin on acute myocardial infarction rats and its related mechanism. **Methods** Network pharmacology analysis was conducted in conjunction with TCMSP, DAVID and other websites to explore the possible action targets and pathways of capsaicin. Forty-eight SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, capsaicin (20 mg/kg) group, and capsaicin + 2-MeOE2 (30 mg/kg) group. Each group was given the corresponding drug intragastrically for 14 days, once daily. The changes of myocardial function in rats with acute myocardial infarction were observed by echocardiography. Serum levels of CK, CK-MB, LDH, and cTnT were detected by the kit. HE staining was used to observe the histological changes of the heart tissue. Real-time fluorescence quantitative detection of *HIF-1A*, *VEGF*, *HMOX1*, *Bcl-2* mRNA expression. The protein levels of *HIF-1A* and *Bcl-2* in rat myocardia were detected by Western blotting. **Results** Network pharmacology analysis showed that the *HIF-1* signaling pathway was the most significant pathway for capsaicin to inhibit the accumulation of targets in acute myocardial infarction. Animal experiments showed that compared with model group, the apoptosis rate of cardiomyocytes in capsaicin group was significantly reduced, serum CK, CK-MB, LDH and cTnT levels were significantly decreased, and left ventricular end-diastolic volume (LVEDV) and left ventricular end-systolic volume (LVESV) were significantly decreased. The left ventricular short axis shortening rate (LVFS), left ventricular ejection fraction (LVEF) and stroke volume (SV) were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), while the mRNA expressions of *HIF-1A*, *VEGF*, *HMOX1* and *Bcl-2* were significantly increased. The expressions of *HIF-1A* and *Bcl-2* were also significantly increased ($P < 0.01$). Compared with capsaicin group, the protective effect of capsaicin + 2-MeOE2 group on acute myocardial infarction rats was significantly weakened. **Conclusion**

收稿日期: 2024-05-16

作者简介: 魏法权, 男, 副主任医师, 主要从事心血管内科相关疾病的诊治、冠心病的介入治疗方面的工作。E-mail: hnxx202312@163.com

Capsaicin may interfere with the activity of HIF-1 and other signaling pathways by regulating HIF-1A, VEGF, HMOX1, Bcl-2 and other core targets, and thus play an anti-acute myocardial infarction role.

Key words: capsaicin; acute myocardial infarction; HIF-1A; VEGF; HMOX1; Bcl-2

冠心病是一种高发的心血管疾病，是世界范围内造成死亡和残疾的沉重原因，在大多数国家呈持续增长趋势。冠心病最常见的类型之一就是急性心肌梗死。急性心肌梗死的稳定病理表现包括广泛的心肌坏死和收缩力降低^[1]。急性心肌梗死可导致心功能不全及各种恶性并发症，严重影响患者的健康和生活质量。然而，目前缺乏有效的根治急性心肌梗死的药物和措施。因此，预防急性心肌梗死的发生是当前亟需解决的卫生健康问题。中药对缺血心肌具有一定保护作用，对心血管疾病的预防和治疗均有较好的效果^[2-3]。近年来中药中的活性单体备受关注，有望成为临床实践的新药。辣椒素是从茄科植物辣椒特别是红辣椒中分离出的生物碱，分子式为 $C_{18}H_{27}NO_3$ 。研究显示辣椒素对 H9C2 心肌细胞的缺氧复氧损伤具有保护作用^[4]，并可以显著减轻大鼠心脏缺血再灌注实验中的心肌损伤^[5-7]。另外辣椒素可预防高盐膳食导致的高血压及心肌肥厚^[8]。辣椒素可能是急性心肌梗死损伤的一种有前途的心脏保护候选药物。本研究对辣椒素抗急性心肌梗死的保护作用进行了研究并对其机制进行了探讨，以期为其潜在临床应用提供参考资料。

1 方法

1.1 网络药理学分析

1.1.1 辣椒素抗急性心肌梗死作用靶点的获得及其基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 分析 从 TCMSP (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)、SwissTarget Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 网站获取辣椒素作用靶点。剔除非人源靶点及重复靶点。从 DrugBank (<https://www.drugbank.com/>)、GeneCard (<https://www.gene-cards.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>) 网站获得急性心肌梗死靶点。二者使用韦恩图取交集即辣椒素抗急性心肌梗死作用靶点蛋白。使用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对辣椒素抗 AMI 靶点进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路分析。GO 富集分析包括 3 个部分：分子功能 (MF)、生物过程 (BP) 和细胞组成 (CC)。

1.1.2 辣椒素与抗急性心肌梗死作用靶点的分子对接 从蛋白结构数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载

辣椒素抗急性心肌梗死靶点蛋白的 PDB 文件，Autodock Vina 软件对蛋白进行去水、加氢等处理，并对辣椒素与靶点蛋白进行分子对接验证，统计其相互作用的结合能。使用 Pymol 软件对对接结果进行可视化。

1.2 动物实验

1.2.1 动物、仪器与试剂 健康 Wistar 雄性大鼠 (SPF 级，体质量 250~280 g，8 周龄) 购自河南省实验动物中心 [SCXK (豫) 2022-0001]，饲养在室温 (20~25 °C) 的笼子里，可以自由获取食物和水。本实验经新乡医学院伦理委员会批准 (批准号 XYLL-2024019)。辣椒素 (购自成都乐美天医药科技有限公司，质量分数 >98%，批号：20210924)；Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒 (购自 Beyotime 生物技术有限公司，货号 C1062M)；TRIzol™ 试剂 (赛默飞世尔科技公司，货号 15596018)；PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (宝日医生物技术有限公司，货号 RR037A)；TB Green® Premix Ex Taq™ II (宝日医生物技术 (北京) 有限公司，货号 RR820A)；抗低氧诱导因子-1A (HIF1A) 抗体 (Abcam 公司，货号 ab179483)；抗 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 抗体 (Abcam 公司，货号 194583)；超敏 ECL 化学发光试剂盒 (碧云天生物技术研究所以，货号 P0018M)；SpectraMax Mini 多功能微孔读板机 (美谷分子仪器)；小动物超声仪 (森西科技有限公司)；FACSscan 流式细胞仪 (美国 BD 公司)；LightCycler®96 实时荧光定量 PCR 仪 (瑞士罗氏公司)；BL-420 生物机能信号采集系统 (成都泰盟软件有限公司)；小动物呼吸机 (南京建成生物技术研究所以)，BL-420F 生物机能实验系统 (成都泰盟有限公司)。

1.2.2 急性心肌梗死模型的建立^[9] 大鼠 ip 40 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉，腹部向上固定在手术台上，通过结扎冠状动脉的左前降支复制急性心肌梗塞的大鼠模型。大鼠进行气管插管并连接小动物呼吸机。将连接电极刺入四肢皮下，通过多通道记录仪 (BL-420F) 记录正常心电图 (II 导联)。使用 1~2 mm 的 5-0 丝线结扎左心耳下方的左前降支冠状动脉。假手术组动物接受了相同的开胸手术，但不进行冠状

动脉结扎。以心肌表面出现区域性紫绀,并且 ST 段抬高为标志,证实急性心肌梗死大鼠模型的成功建立。辣椒素组大鼠术前 ig 20 mg/kg 辣椒素,连续 ig 14 d, 1 次/d; 辣椒素+HIF-1A 抑制剂(2-MeOE2)组,除给予辣椒素外,每天另 ig 2-MeOE2 30 mg/kg。假手术组和模型组则给予等量生理盐水。

1.2.3 心肌功能的检测 用小动物超声仪(频率 17.5 MHz)检测大鼠左室舒张末期容积(LVEDV)、左室收缩末期容积(LVESV)、左室短轴的缩短率(LVFS)、左心室射血分数(LVEF)和每搏量(SV)。此外,通过 BL-420 生物机能信号采集系统记录大鼠的心电图。

1.2.4 肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶 MB(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)和心肌肌钙蛋白(cTnT)水平的测定 冠状动脉结扎 6 h 后取大鼠腔静脉血清。血样于 4 °C 静置 1 h 后,在 3 000×g 下离心 10 min, -20 °C 下保存待测。以测定心肌特异性酶。采用相应的试剂盒对 CK、CK-MB、LDH 和 cTnT 的水平进行测定,严格按说明书进行操作。

1.2.5 苏木精-伊红(HE)染色观察心脏组织的组织学变化 取梗死边缘区心肌,将样品固定在 10% 中性福尔马林中并包埋在石蜡中,然后对 5 μm 切片进行染色,200 倍的显微镜下检测结果。

1.2.6 Annexin V/PI 双染法检测大鼠心肌组织的凋亡 取心肌梗死区与正常区之间的新鲜组织,使用胰蛋白酶消化大鼠心肌组织,制成单细胞悬液。将细胞与 5 μL Annexin V 和 10 μL 碘化丙啶,室温避光孵育 15 min,使用流式细胞仪进行检测。计算细胞系的总凋亡率(细胞死亡率和早期凋亡率之和)。

1.2.7 qPCR 检测大鼠心肌 HIF-1A、血红素加氧酶 1(HMOX1)、血管内皮生长因子(VEGF)、Bcl-2 mRNA 的表达 TRIzol™试剂提取心肌组织梗死边缘区总 RNA,并使用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒进行反转录获得 cDNA 模板。qPCR 的反应体系共 20 μL,包含 10 μL TB Green Premix Ex Taq II、0.8 μL 上下游引物、2 μL cDNA 模板和 6.4 μL ddH₂O。引物序列为 HIF-1A 上游:5'-CTCCCTTTTCAAGCAGCAG-3',下游为 5'-GCTC CATTCCATCCTGTTCA-3'; VEGF 上游:5'-CTTTCT GCTCTCTGGGTGC-3',下游为 5'-ACTCCAGGG CTTTCATCATTG-3'; HMOX1 上游:5'-GCCTGGTTC AAGATACTACCTCT-3',下游为 5'-CTGAGTGTGA GGACCCATCG-3'; Bcl-2 上游:5'-GAGGATTGTGG

CCTTCTTTG-3',下游为 5'-AGGTACTCAGTCATC CACA-3'; GAPDH 上游:5'-GACATGCCGCCTGG AGAAAC-3',下游为 5'-AGCCAGGATGCCCTTT AGT-3'; 在 LightCycler®96 实时荧光定量 PCR 仪进行扩增。扩增参数:95 °C 下先预变性 5 s,随后以 95 °C、5 s,60 °C、20 s 进行扩增,共进行 35 个循环。按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各基因的相对表达量。

1.2.8 Western blotting 法检测大鼠心肌 HIF-1A、Bcl-2 蛋白表达水平 组织剪碎后,使用裂解液裂解并提取心肌组织总蛋白。蛋白质定量后,SDS-PAGE 凝胶电泳使蛋白质样品分离,再将凝胶上的蛋白电泳转移到 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉室温封闭 2 h,与抗 HIF1A、抗 Bcl-2 及抗 β-actin 一抗抗体,在 4 °C 冰箱内孵育过夜。第 2 天 TBST 洗膜 3 次后,在室温下,与辣根过氧化物酶标记的二抗孵育 1 h。ECL 试剂显色后用蛋白凝胶成像仪拍照。

1.2.9 统计分析 实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA)。

2 结果

2.1 辣椒素抗急性心肌梗死作用机制的分析结果

2.1.1 辣椒素抗急性心肌梗死的作用靶点 共获得辣椒素靶点 36 个,急性心肌梗死靶点 434 个。二者交集即辣椒素抗急性心肌梗死作用靶点,共 9 个,即 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、花生四烯酸-5-脂加氧酶 (ALOX5)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK1),见图 1。

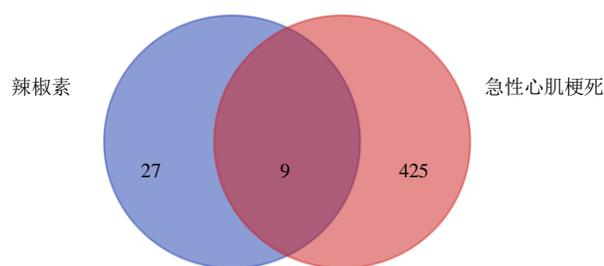


图 1 辣椒素和急性心肌梗死靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of capsaicin and targets in acute myocardial infarction

2.1.2 辣椒素抗急性心肌梗死作用靶点的 GO 和 KEGG 分析结果 辣椒素抗急性心肌梗死作用靶点的 GO 分析结果见图 2。生物过程(BP)主要涉及细胞对化学应激的反应、对氧化应激的反应、对缺氧的反应等。细胞组分(CC)主要集中在膜筏、膜微区、膜区等。分子功能(MF)主要涉及氧化还原

酶活性、磷酸酶结合、蛋白磷酸酶 2A 结合等。

辣椒素抗急性心肌梗死作用靶点的 KEGG 分析结果见图 3。其中富集显著性最高的通路为 HIF-

1 信号通路。辣椒素抗急性心肌梗死的作用靶点中，HIF-1 信号通路包含 6 个，见图 4。

2.1.3 分子对接结果 辣椒素与抗急性心肌梗死靶

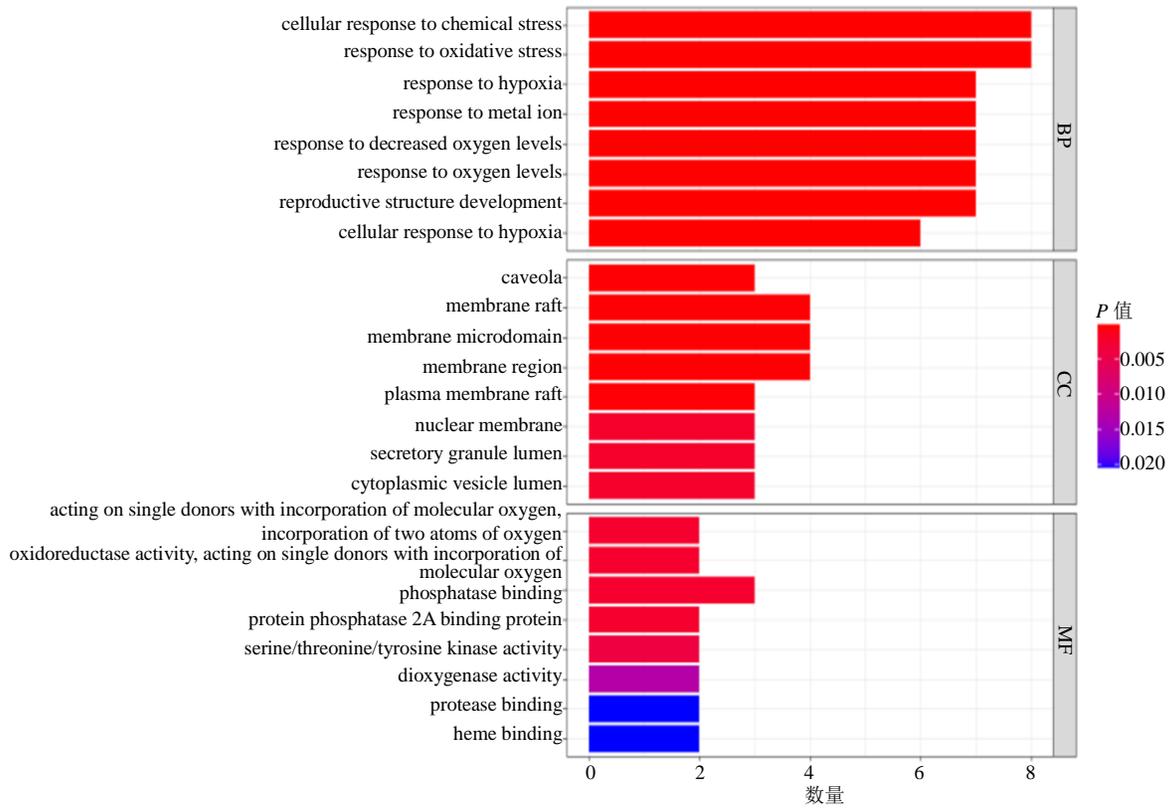


图 2 辣椒素抗急性心肌梗死靶点的 GO 分析图

Fig. 2 GO analysis of capsaicin anti-acute myocardial infarction targets

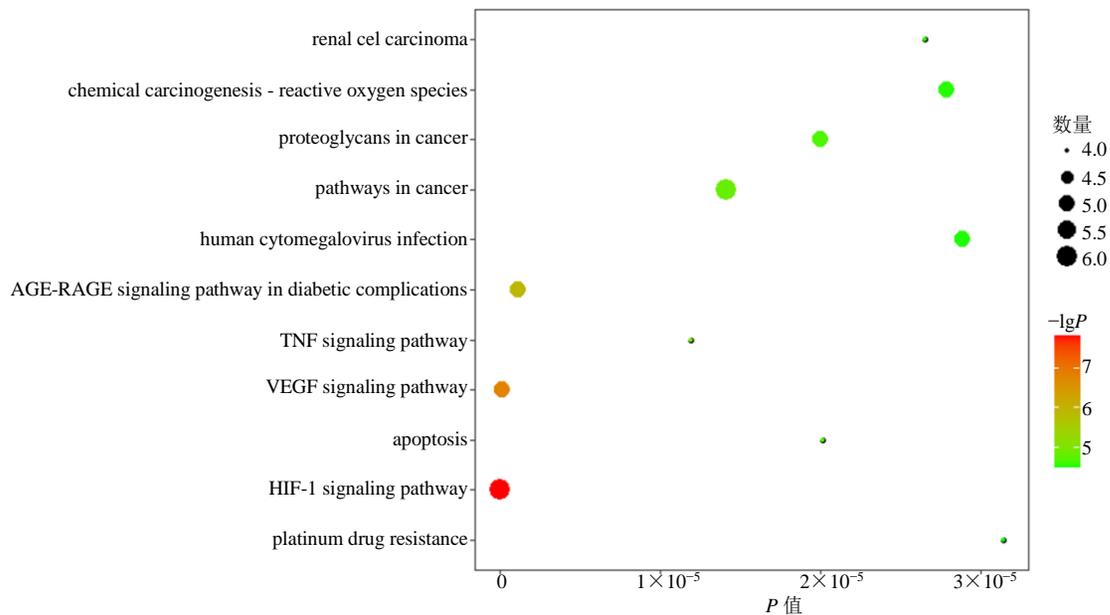


图 3 辣椒素抗急性心肌梗死靶点的 KEGG 分析结果

Fig. 3 KEGG analysis results of capsaicin anti-acute myocardial infarction targets

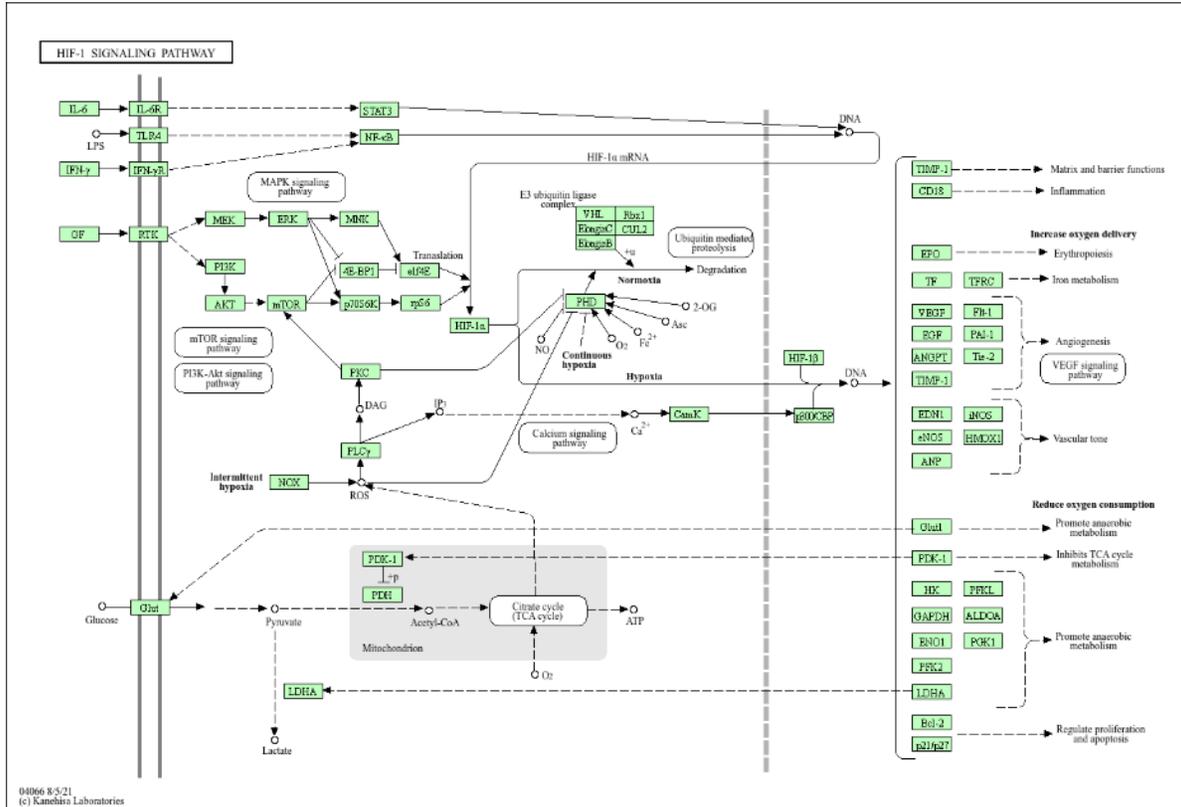


图 4 HIF-1 信号通路及辣椒素抗急性心肌梗死作用靶点的通路分布图

Fig. 4 HIF-1 signaling pathway and pathway distribution of capsaicin anti-acute myocardial infarction target

点蛋白分子对接的结合能结果见表 1。辣椒素与 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2 靶蛋白分子对接结合能均 < -6.0 kcal/mol (1 cal=4.2 J)。说明互相之间亲和力良好, 见图 5。

2.2 动物实验结果

2.2.1 辣椒素对急性心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡的影响 基于流式细胞术结果, 与假手术组相比, 模型组心肌细胞凋亡明显增加 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 辣椒素组细胞的凋亡率明显减少 ($P < 0.01$);

表 1 辣椒素与抗急性心肌梗死靶点蛋白分子对接结合能

靶点	结合能/(kcal mol ⁻¹)
HIF-1A	-7.1
VEGF	-6.3
HMOX1	-6.3
Bcl-2	-6.4
PTGS2	-5.8
ALOX5	-5.4
CASP3	-5.7
Akt1	-5.6
MAPK1	-5.8

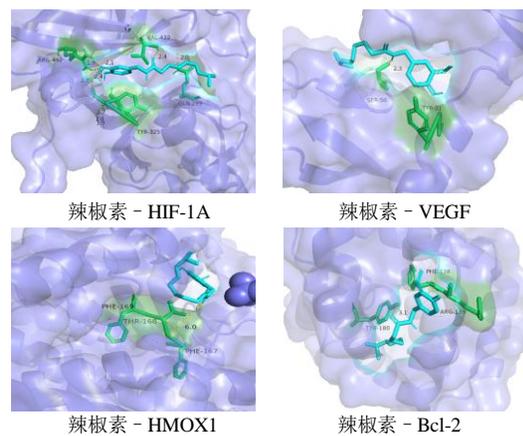
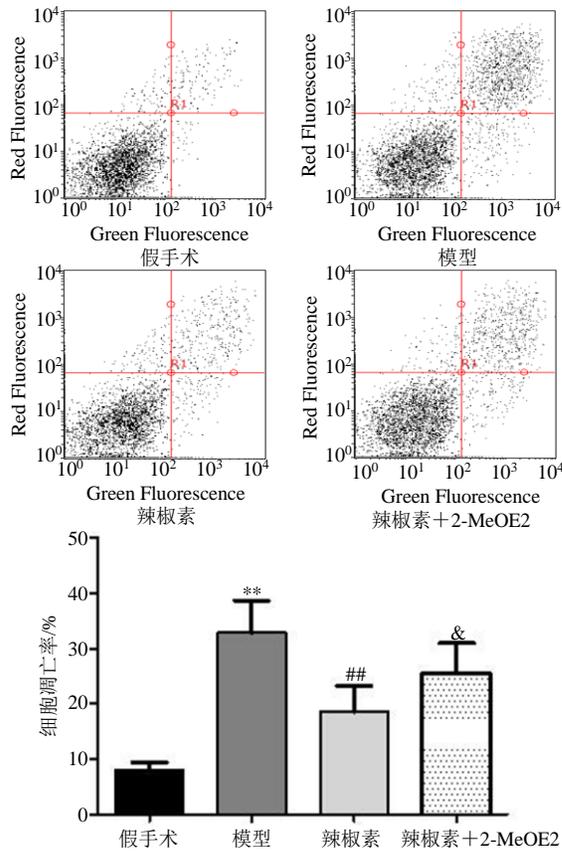


图 5 辣椒素与靶蛋白分子对接示意图

Fig. 5 Schematic diagram of the docking between capsaicin and target protein

与辣椒素组相比, 辣椒素+2-MeOE2 组细胞的凋亡率明显增加 ($P < 0.05$), 见图 6。

2.2.2 辣椒素对急性心肌梗死大鼠心肌酶 CK、CK-MB、LDH 和 cTnT 的水平的影响 与假手术组相比, 模型组大鼠的血清中心肌酶 CK、CK-MB、LDH 和 cTnT 水平均明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 辣椒素组大鼠血清中心肌酶 CK、CK-MB、LDH



与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ### $P < 0.01$; 与辣椒素组比较: & $P < 0.05$ 。
** $P < 0.01$ vs sham-operation group; ### $P < 0.01$ vs model group; & $P < 0.05$ vs capsaicin group.

图 6 辣椒素对急性心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 6 Effect of capsaicin on myocardial cell apoptosis in rats with acute myocardial infarction ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 2 各组大鼠 CK、CK-MB、LDH 和 cTnT 的水平 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Levels of CK, CK-MB, LDH and cTnT in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CK/(U·mL ⁻¹)	CK-MB/(U·mL ⁻¹)	LDH/(U·mL ⁻¹)	cTnT/(pg·mL ⁻¹)
假手术	—	1.06 ± 0.06	1.33 ± 0.54	2.44 ± 0.54	106.40 ± 8.40
模型	—	2.43 ± 0.13**	2.54 ± 0.31**	4.28 ± 0.63**	215.65 ± 0.11**
辣椒素	20	1.52 ± 0.09###	1.64 ± 14.34###	2.92 ± 0.65###	152.35 ± 0.09###
辣椒素+2-MeOE2	20+30	2.04 ± 0.14&	1.92 ± 12.65&	3.46 ± 0.87&	189.43 ± 0.07&

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ### $P < 0.01$; 与辣椒素组比较: & $P < 0.05$ 。
** $P < 0.01$ vs sham-operation group; ### $P < 0.01$ vs model group; & $P < 0.05$ vs capsaicin group.

表 3 各组大鼠超声心动图检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Echocardiographic test results of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	LVEDV/ μ L	LVESV/ μ L	LVFS/%	LVEF/%	SV/mL
假手术	—	363.54 ± 23.42	91.32 ± 9.47	63.23 ± 6.42	73.21 ± 9.21	0.48 ± 0.11
模型	—	464.55 ± 36.13**	162.53 ± 21.35**	40.42 ± 5.63**	41.94 ± 8.56**	0.31 ± 0.06**
辣椒素	20	401.14 ± 31.32###	121.42 ± 19.34###	56.16 ± 5.83###	55.62 ± 10.37###	0.42 ± 0.07#
辣椒素+2-MeOE2	20+30	435.64 ± 28.11&	147.89 ± 16.13&	49.21 ± 6.44&	47.42 ± 8.34&	0.36 ± 0.08&

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$; 与辣椒素组比较: & $P < 0.05$ 。
** $P < 0.01$ vs sham-operation group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ vs model group; & $P < 0.05$ vs capsaicin group.

和 cTnT 含量均明显下降 ($P < 0.01$); 与辣椒素组相比, 辣椒素+2-MeOE2 组大鼠血清心肌酶 CK、CK-MB、LDH 和 cTnT 含量均明显升高 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.2.3 辣椒素对急性心肌梗死大鼠心电图及心肌功能的影响 由表 3 可知, 与假手术组相比, 模型组 LVEDV、LVESV 明显增加, LVFS、LVEF、SV 明显下降 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 辣椒素组 LVEDV、LVESV 明显下降, LVFS、LVEF、SV 均明显增加 ($P < 0.05, 0.01$)。与辣椒素组相比, 辣椒素+2-MeOE2 组辣椒素组 LVEDV、LVESV 明显升高, LVFS、LVEF、SV 明显降低 ($P < 0.05$)。

2.2.4 心肌组织 HE 染色结果 如图 7 所示, 假手术组心肌组织学正常, 横纹清晰, 无明显病理改变。与假手术组相比, 模型组大鼠显示结构破坏严重, 细胞排列紊乱, 心肌肌原纤维分离, 伴炎症细胞浸润。而辣椒素组病理结构明显改善, 显示出较正常的心肌结构, 心肌排列较正常, 横纹清晰和较少的炎性细胞。辣椒素+2-MeOE2 组心肌组织较紊乱, 心肌细胞肿胀, 心肌纤维断裂。

2.2.5 辣椒素对 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2 mRNA 表达的影响 与假手术组相比, 模型组 HMOX1、Bcl-2 mRNA 表达明显降低 ($P < 0.05, 0.01$); 与模型组相比, 辣椒素组 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2 表达明显升高 ($P < 0.01$)。与辣椒素组相比, 辣椒素+2-MeOE2 组 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2 表达明显降低 ($P < 0.05, 0.01$), 见

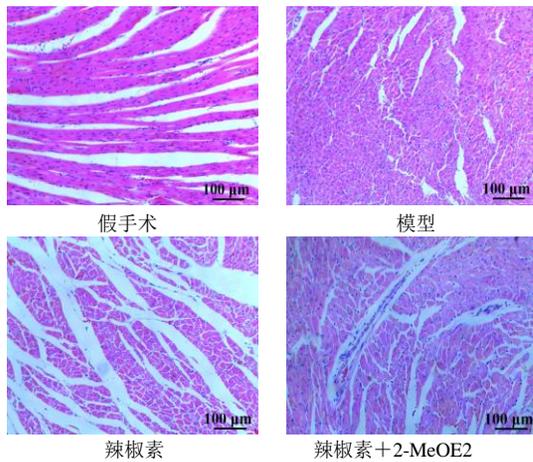
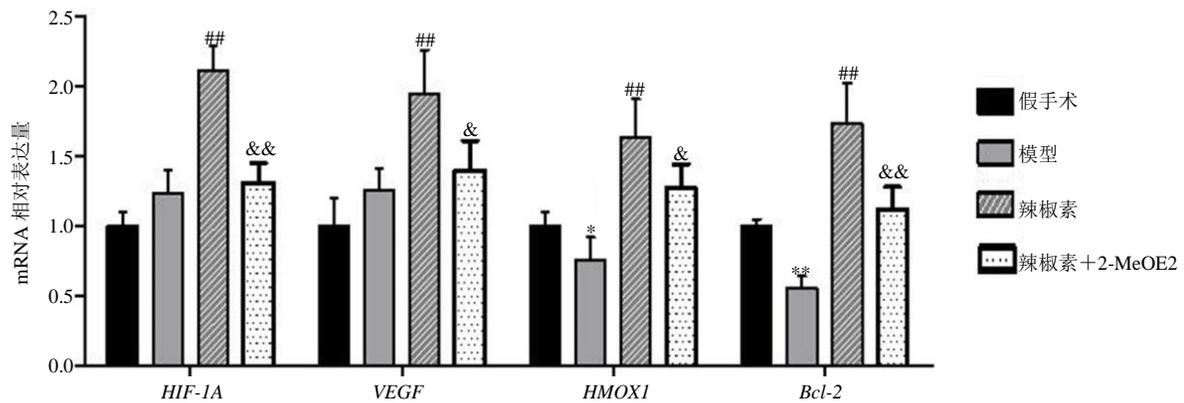


图 7 心肌组织病理变化 (×200) 2.613.34

Fig. 7 Pathological changes of myocardial tissue (×200)



与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.01$; 与辣椒素组比较: & $P < 0.05$ && $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham-operation group; # $P < 0.01$ vs model group; & $P < 0.05$ && $P < 0.01$ vs capsaicin group.

图 8 辣椒素对 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Fig. 8 Effect of capsaicin on mRNA expression of HIF-1A, VEGF, HMOX1 and Bcl-2 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

因素之一。近年来, 中医药防治急性心肌梗死的探索和研究备受关注。研究发现, 辣椒素对多种心血管疾病具有保护作用^[4-8, 10-11]。本研究对辣椒素在实验性急性心肌梗死损伤模型的作用进行了系统评估, 并使用生物信息学的方法对辣椒素抗急性心肌梗死的作用机制进行了探讨。寻找辣椒素抗急性心肌梗死的靶蛋白, 并进行通路富集分析。通过实验验证了辣椒素对抗急性心肌梗死的作用靶点的作用, 从分子水平探讨辣椒素抗急性心肌梗死损伤的可能药理机制。

辣椒素治疗急性心肌梗死作用靶点的 KEGG 通路分析显示, 主要涉及代谢、炎症、细胞增殖凋亡等相关通路。其中富集显著性最高的通路为 HIF-1 信号通路。表明辣椒素对主要通过此通路来干预

图 8。

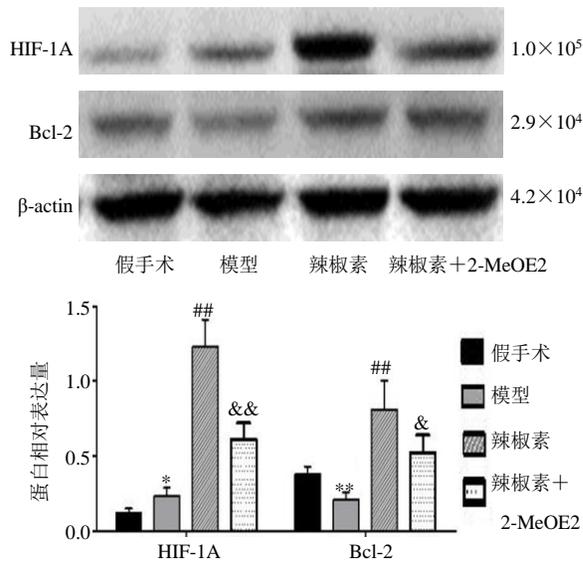
2.2.6 辣椒素对心肌组织 HIF-1A、Bcl-2 蛋白水平的影响 与假手术组相比, 模型组大鼠心肌组织 Bcl-2 蛋白表达明显降低, 而 HIF-1A 蛋白表达升高 ($P < 0.05, 0.01$); 与模型组相比, 辣椒素组心肌组织 HIF1A、Bcl-2 蛋白表达均明显升高 ($P < 0.01$); 与辣椒素组相比, 辣椒素+2-MeOE2 组心肌组织 HIF1A、Bcl-2 蛋白表达均明显降低 ($P < 0.05, 0.01$), 见图 9。

3 讨论

心血管疾病是全世界死亡的主要原因。在中国, 急性心肌梗死的复发率和死亡率都很高。急性心肌梗死可并发心律失常、休克或心力衰竭, 常危及生命。急性心肌梗死已成为威胁人类健康的主要危险

心力衰竭。HIF-1 通路的激活可通过改变能量代谢、增殖、血管生成和血管重塑, 提高细胞在缺氧环境中的存活率。HIF-1 通路激活具有心脏保护作用^[12]。Matsushima 等^[13]证明, HIF-1 通路激活可以保护心脏成纤维细胞免受凋亡, 并代表缺氧损伤后心脏重塑的潜在治疗靶点。HIF-1A 是调控多种靶基因 (如 VEGF、HMOX1 等) 的主转录因子, 其蛋白产物在促进血管生成和血管重塑、葡萄糖代谢、细胞存活和氧输送等方面发挥着关键作用^[14-15]。

本研究结果显示, 辣椒素与抗急性心肌梗死作用靶点中的 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2 靶蛋白亲和力较高。急性心肌梗死是一个与严重缺血和缺氧相关的过程, 可诱导 HIF 上调^[16]。VEGF 是 HIF-1A 的主要下游靶基因, 能促进新生血管形成, 使细



与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$; 与辣椒素组比较: & $P < 0.05$ && $P < 0.01$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham-operation group; ## $P < 0.01$ vs model group; & $P < 0.05$ && $P < 0.01$ vs capsaicin group.

图 9 辣椒素对 HIF-1A、Bcl-2 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 9 Effect of capsaicin on HIF-1A and Bcl-2 protein levels ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

胞适应缺氧环境^[17]。VEGF 的上调可促使缺血心肌血管生成和毛细血管密度的增加^[18]。细胞凋亡被认为是心肌缺血损伤时心肌细胞死亡的重要途径之一。Bcl-2 是抗凋亡蛋白亚家族中的重要一员,具有抑制细胞凋亡、促细胞生存的作用。HMOX1 是一种应激反应和细胞保护蛋白,可以增强多种细胞内细胞保护机制,保护细胞在病理生理应激下免于死亡^[19]。研究表明, HMOX1 在心血管疾病中的具有保护作用^[20-21]。Yet 等^[19]发现,与缺血再灌注模型中的对照相比,过表达 HMOX1 的转基因小鼠最终梗死面积明显减小和心脏收缩功能明显增强。

本研究中动物实验显示,与模型组相比,辣椒素组心肌细胞的凋亡率明显减少,血清心肌酶 CK、CK-MB、LDH 和 cTnT 含量均明显下降, LVEDV、LVESV 明显下降, LVFS、LVEF、SV 明显增加,同时 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2 mRNA 表达明显增加, HIF-1A、Bcl-2 蛋白表达也明显升高 ($P < 0.01$)。而加入 2-MeOE2 抑制 HIF-1 通路后可明显减弱辣椒素在急性心肌梗死过程中的保护作用。以上表明辣椒素可能通过调节 HIF-1A、VEGF、HMOX1、Bcl-2 等核心靶标,干预 HIF-1 等信号通路的活性,进而发挥急性心肌梗死抗心肌损伤的作

用。综上本研究对辣椒素抗急性心肌梗死的心脏保护作用进行了研究并对其作用机制进行了探讨,为其潜在的临床应用价值提供理论支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ma H Z, Du J, Feng X L, et al. Rosiglitazone alleviates myocardial apoptosis in rats with acute myocardial infarction via inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(3): 911.
- [2] 高兆慧, 卢少海, 赵启韬. 中药保护心肌缺血的有效成分及作用机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(1): 170-173.
- [3] 张丽丽, 李雁, 李龙. 加味温胆汤对急性心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌能量代谢和超微结构的影响 [J]. *中国中医急症*, 2020, 29(2): 201-205.
- [4] 黄纪毅. 14-3-3 η 介导的辣椒素抗心肌细胞缺氧/复氧损伤的机制研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2017.
- [5] 刘钰, 蔡民华, 王聪, 等. 辣椒素对心肌缺血再灌注损伤大鼠心功能及 miR-34a/SIRT1 轴的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(8): 1894-1899.
- [6] 秦素兰, 刘陕岭, 王儒蓉. 辣椒素对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究 [J]. *四川大学学报: 医学版*, 2008(4): 550-554.
- [7] 王佳, 黄俊卿. 辣椒素预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用及其机制研究 [J]. *亚太传统医药*, 2015, 11(18): 6-7.
- [8] 高峰. 辣椒素和阿托伐他汀对心肌重构的机制研究 [D]. 重庆: 第三军医大学, 2012.
- [9] Han B J, Cao G Y, Jia L Y, et al. Cardioprotective effects of tetrahydropalmatine on acute myocardial infarction in rats [J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(7): 1887-1904.
- [10] 祝之明. 辣椒素对高血压和相关代谢损害的保护研究 [A]//第十三届中国心脑血管医学大会论文集 [C]. 北京: 中国医疗保健国际交流促进会, 2015: 94-100.
- [11] 李同. 高盐饮食对 Wistar 大鼠血压和左室重构的影响及替米沙坦和辣椒素干预作用 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2013.
- [12] Zhu N, Li J, Li Y L, et al. Berberine protects against simulated ischemia/reperfusion injury-induced H9C2 cardiomyocytes apoptosis *in vitro* and myocardial ischemia/reperfusion-induced apoptosis *in vivo* by regulating the mitophagy-mediated HIF-1 α /BNIP3 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 367.
- [13] Matsushima S, Kuroda J, Ago T, et al. Broad suppression of NADPH oxidase activity exacerbates ischemia/reperfusion injury through inadvertent downregulation of

- hypoxia inducible factor-1 α and upregulation of peroxisome proliferator-activated receptor- α [J]. *Circ Res*, 2013, 112(8): 1135-1149.
- [14] Schellinger I N, Cordasic N, Panesar J, *et al.* Hypoxia inducible factor stabilization improves defective ischemia-induced angiogenesis in a rodent model of chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2017, 91(3): 616-627.
- [15] Dashnyam K, Jin G Z, Kim J H, *et al.* Promoting angiogenesis with mesoporous microcarriers through a synergistic action of delivered silicon ion and VEGF [J]. *Biomaterials*, 2017, 116: 145-157.
- [16] Zhao T Q, Zhao W Y, Chen Y J, *et al.* Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A: Role on cardiac angiogenesis following myocardial infarction [J]. *Microvasc Res*, 2010, 80(2): 188-194.
- [17] Knudsen A R, Kannerup A S, Grønbaek H, *et al.* Effects of ischemic pre- and postconditioning on HIF-1 α , VEGF and TGF- β expression after warm ischemia and reperfusion in the rat liver [J]. *Comp Hepatol*, 2011, 10(1): 3.
- [18] Lakkisto P, Kytö V, Forsten H, *et al.* Heme oxygenase-1 and carbon monoxide promote neovascularization after myocardial infarction by modulating the expression of HIF-1 α , SDF-1 α and VEGF-B [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 635(1-3): 156-164.
- [19] Yet S F, Tian R, Layne M D, *et al.* Cardiac-specific expression of heme oxygenase-1 protects against ischemia and reperfusion injury in transgenic mice [J]. *Circ Res*, 2001, 89(2): 168-173.
- [20] Sun J, Yu X H, Huangpu H Q, *et al.* Ginsenoside Rb3 protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation injury via activating the antioxidation signaling pathway of PERK/Nrf2/HMOX1 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 254-261.
- [21] Wang G W, Hamid T, Keith R J, *et al.* Cardioprotective and antiapoptotic effects of heme oxygenase-1 in the failing heart [J]. *Circulation*, 2010, 121(17): 1912-1925.

[责任编辑 高源]