

刘芬,崔新明,徐佳,等. 黄芪注射液调节 PI3K/AKT 通路改善心肌梗死后心肌重塑[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 32 - 38.

Liu F, Cui XM, Xu J, et al. Protective effect of astragalus injection in cardiac remodeling after acute myocardial infarction via PI3K/AKT pathway activation [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(6): 32 - 38.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.06.006

黄芪注射液调节 PI3K/AKT 通路改善 心肌梗死后心肌重塑

刘 芬,崔新明,徐 佳,于芷懿,关凤英*

(吉林大学基础医学院, 长春 130021)

【摘要】 目的 探讨黄芪注射液(Astragalus injection, AS)对大鼠心肌梗死后心肌重塑的逆转作用及其作用机制。**方法** 通过结扎左冠状动脉前降支建立大鼠心肌梗死后心肌重塑模型,实验分为假手术组、模型组、AS 低剂量组(1 mL/kg)及高剂量组(3 mL/kg)。研究 AS 治疗 6 周对其生存百分率、血清中 α 肌球蛋白重链(α -MHC)和大鼠 N 端前脑钠素(NT-PROBNP)的影响;同时 HE 染色及 Masson 染色以检测心脏组织病理学变化及其心肌纤维化情况;ELISA 法检测各组血清中 MDA、NO 及 eNOS 的变化;Western blotting 法检测心肌细胞 PI3K、P-AKT、及 P-eNOS 蛋白的表达。**结果** AS 高低剂量组与模型组比较,生存百分率有所提高,但无显著性差异;而 AS 高剂量组 α -MHC 及 NT-PROBNP 较模型组显著降低 ($P < 0.05$);HE 及 Masson 染色形态学检查显示,与模型组比较,AS 高剂量组炎细胞浸润、出血及纤维化程度减轻;高剂量组血清中 MDA 降低 ($P < 0.001$)、NO 及 eNOS 的升高 ($P < 0.05$);Western blot 结果显示,AS 组的 PI3K、p-AKT 表达量高于模型组 ($P < 0.05$),p-eNOS 表达亦显著上升。**结论** 黄芪注射液可能通过激活 PI3K/AKT 通路降低氧化应激水平,从而抑制心肌梗死后心肌重塑。

【关键词】 黄芪注射液;心肌梗死;心肌重塑;PI3K/AKT;氧化应激

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 06-0032-07

Protective effect of astragalus injection in cardiac remodeling after acute myocardial infarction via PI3K/AKT pathway activation

LIU Fen, CUI Xinming, XU Jia, YU Zhiyi, GUAN Fengying*
(School of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, China)

【Abstract】 Objective To examine the effect of Astragalus (AS) injection on post-myocardial infarction-induced cardiac remodeling in rats, and explore potential mechanisms underlying such effects. **Methods** A cardiac remodeling post-myocardial infarction model was prepared in rats, which were divided into four groups: sham operation, myocardial infarction (model group), low-dose AS (ASL, 1 mL/kg), and high-dose AS (ASH, 3 mL/kg). Survival rate of the rats and activities of the alpha isoform of myosin heavy chain (α -MHC) and N-terminal pro b-type natriuretic peptide (NT-proBNP) in rat serum were measured after 6-week treatment. Histopathological changes and myocardial fibrosis were observed by light microscopy using hematoxylin and eosin, and Masson trichome staining. Quantification of malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) were carried out using enzyme-linked

【基金项目】 吉林省卫生厅重点实验室资助课题(2012Z016);吉林大学开放性创新实验项目资助(7060EP06)。

【作者简介】 刘芬(1966—),女,硕士,研究方向:主要从事机能实验教学与心血管药理研究。E-mail: liufen@jlu.edu.cn

【通信作者】 关凤英(1975—),女,博士,研究方向:心血管临床药理。E-mail: guanfy@jlu.edu.cn

immunosorbent assays. Protein expression of phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), phosphorylated AKT (p-AKT), and p-eNOS were analyzed by western blotting. **Results** Compared with the model group, the survival rate of the ASL and ASH group were increased, but not significantly ($P > 0.05$). Meanwhile, α -MHC and NT-proBNP contents in the ASH group were reduced ($P < 0.05$). In addition, inflammation, hyperemia, and interstitial fibrosis were reduced in the ASH group. Moreover, the ASH group exhibited increased protein expression of PI3K and p-AKT in the injured heart ($P < 0.05$). p-eNOS expression in the ASH group was increased compared with the model group ($P < 0.05$). **Conclusions** AS elicits an obvious protective effect on cardiac remodeling after myocardial infarction in rats. Activation of the PI3K/AKT pathway may activate p-eNOS, which is involved in the mechanism by which AS prevents oxidative stress during cardiac remodeling.

[Keywords] Astragalus injection; myocardial infarction; cardiac remodeling; PI3K/AKT; oxidative stress

心力衰竭是指心肌缺血、心脏负荷增加等初始心肌损伤引起的心肌结构和功能改变,进而导致心室功能下降。心力衰竭的发病率和突发性死亡的危险性都较高^[1],因此心力衰竭的药物治疗一直是医学界的研究热点。目前心力衰竭的治疗目标在改善症状的前提下,更期望降低并发症、延长寿命并提高生活质量,故药物治疗不仅需要改善血流动力学参数,还需要逆转(恢复)心脏的病理形态学,如心肌重构。所谓心肌重构,即心肌细胞肥大和非肌细胞增生,并伴有左心室形态结构的变化及机械功能的减退。临床上可见心肌重量、心室容量的增加,以及心室形状的改变。

已有研究表明,凋亡、自噬、炎症及氧化应激(oxidative stress)参与了心肌重塑过程^[2-5],其中氧化应激中产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)发挥了重要作用。正常情况下,机体的 ROS 不断地产生,又不断地被抗氧化系统清除,处于动态平衡,使其维持在无有害的极低水平^[6],并参与生理功能的调节,保护细胞;然而在一定的应激损伤条件下,机体 ROS 产生过多,或 ROS 清除不足,动态平衡被打破,导致 ROS 增多并引起组织细胞氧化损伤的病理过程,被称为氧化应激。故抑制损伤性 ROS 的生成而不影响生理水平的 ROS 产生是治疗和预防心肌重塑的新途径,而非以往临床实验一样采用非特异性抗氧化剂治疗而致使疗效欠佳^[7]。目前研究发现,nitroso/redox(亚硝基/氧化还原态)平衡是维持心肌细胞正常功能的重要途径,提高内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、一氧化氮(nitric oxide, NO)表达为抗心肌功能障碍的有效途径^[8]。因此,寻找对 ROS 及 NO/eNOS 具有双重调节的药物将是抗心肌重构的新方向。黄芪注射液是由中药材黄芪提取的有效成份而制成,有强心的功效,黄芪注射液用于心力衰竭治疗的临床观察结果显示,其治疗疗效显著^[9-10]。

研究表明:黄芪可加强心肌收缩力,使左心室舒张期容积及收缩期容积减少,改善心脏功能,并可减轻心肌细胞的损伤,还有扩张冠状动脉、改善心肌血供和心肌代谢的作用,但其抑制心肌重塑及其相关机制尚鲜有报道。本课题组前期研究也已经证实:黄芪注射液具有抗心肌细胞氧化应激作用^[11]。另外有研究表明,黄芪甲苷能够激活 PI3K/AKT 通路在阿霉素诱导心肌损伤中发挥保护作用^[12],而 PI3K/AKT 可以通过磷酸化 eNOS 而生成 NO^[13],这为其进一步研究提供了依据。基于上述实验和临床研究背景,本文探究黄芪注射液是否通过激活 PI3K/AKT 调节 eNOS/NO 发挥抗氧化作用,从而抑制心肌重塑过程。本研究将首次从氧化还原态平衡角度探讨黄芪注射液治疗心力衰竭的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

清洁级 7 周龄 Wistar 雄性大鼠,体重 210~240 g,吉林大学基础医学院实验动物中心提供[SCXK(吉)2013-0001],实验在机能实验中心实验室进行[SYXK(吉)2013-0005]。本实验使用的麻醉剂和操作方法均有单位伦理委员会的许可,实验动物饲养使用和处理严格遵循动物福利 3R 原则和吉林大学基础医学院伦理委员会相关条例要求。批准编号[201851]。

1.2 主要试剂与仪器

黄芪注射液由成都地奥制药厂提供。 α 肌球蛋白重链(α -MHC)、大鼠 N 端前脑钠素(NT-proBNP)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)及内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、ELISA 试剂盒由南京建成生物工程研究所提供;ELISA 试剂盒北京中杉金桥生物技术有限公司提供;PI3K(sc-423)、AKT(sc-7938)、p-AKT(sc-7985-R)及 GAPDH(sc-293335)大鼠多克隆抗体购自 Santa Cruz, eNOS(32027), P-

eNOS (9571) 多克隆抗体购自 Cell Signaling Technology;辣根过氧化物酶偶联羊抗兔抗体北京博奥森生物技术有限公司提供。蛋白印迹电泳系统, Bio-Rad 公司;凝胶成像系统,上海天能。

1.3 实验方法

1.3.1 模型制备

麻醉大鼠,固定大鼠,连接 PowerLab 记录分析系统行监测并记录标 II 正常心电图。胸部剃毛,用 75%酒精棉球消毒皮肤,荷包穿线,于 3~4 肋间心脏搏动最明显处,用止血钳钝性分离肌层,打开胸腔,剪开心包,轻压右侧胸廓挤出心脏。迅速穿线结扎冠状动脉左前降支后将心脏送回胸腔,荷包缝合。假手术组只穿线不结扎。手术结束后记录 II 导联心电图,以 ST 段抬高 0.2 mV 定为造模成功^[14]。

1.3.2 实验分组

大鼠随机分为假手术组 (Sham)、模型组 (Model)、AS-L 组 (1 mL/kg)、AS-H 组 (3 mL/kg) 组,腹腔注射给药。假手术组:冠状动脉下穿线不结扎,其他各组均结扎冠状动脉前降支;假手术组和模型组给予生理盐水 2 mL/kg,给药组结扎后 2 h 给予 AS 治疗,随后每日给药一次,连续 6 周,并记录动物死亡情况。

1.3.3 ELISA 测定

给药结束后,大鼠腹腔注射 3%戊巴比妥 1 mL/kg 体重,腹主动脉取血,在 4℃下,3000 r/min 离心 10 min,分离血清备用。按试剂盒说明操作,用酶标仪测定血清 MDA、NO、NOS、 α -MHC 及 NT-proBNP 含量。

1.3.4 HE 染色及 Masson 染色检测心肌组织病理学变化及纤维化情况

将心肌于结扎处下分成 4 片心肌,并取左心室下 1/3 心肌组织,于中性福尔马林中固定,进行石蜡包埋,切片,二甲苯脱蜡,乙醇脱水,封片,进行 HE 及 Masson 染色,于光学显微镜下观察。

1.3.5 Western blot 方法检测心肌细胞内蛋白表达

组织裂解缓冲液的配制,溶液 1:0.05 mol/L Tris.Cl (pH 7.4), 1 mmol/L EDTA, 1% 的 Triton X-100, 0.3 μ mol/L aprotinin, 1 mmol/L PMSF, 裂解心肌组织并提取蛋白。取 120~150 mg 在液氮内冻存的心肌组织,于液氮内研磨成粉末后置入一塑料管中,加入 1 mL 裂解缓冲液悬浮,冰上匀浆 3 次,每次 10 s,超声处理 3 次,每次 5 s, 14 000 r/min 离心 20 min,取上清即为蛋白。

Bradford 法测定蛋白浓度,取 40 μ g 蛋白进行 SDS-PAGE 后,电转移至硝酸纤维素膜,用 5%脱脂奶粉 PBS 配制液封闭后,将膜置于含兔抗多克隆抗体 (1:1000 稀释) 溶液中,室温摇床反应 1 h 后再加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (1:3000 稀释), 室温轻摇 1 h 后, ECLKit 发光。用 NIH Image 软件对条带实施扫描,检测各部分蛋白含量。

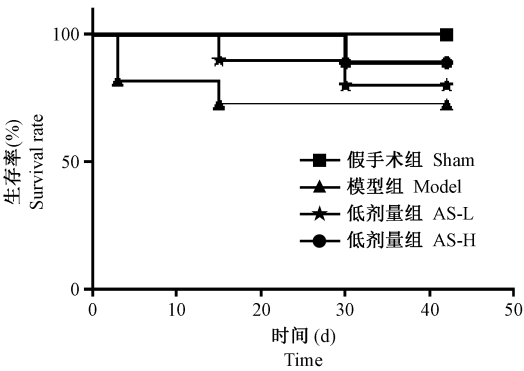
1.4 统计学方法

用 SPSS 11.5 统计软件处理数据,数据以平均数 $\pm$ 标准误 ($\bar{x} \pm s_x$) 表示,指标的组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠生存百分率的影响

在大鼠心肌梗死 6 周后,记录其生存百分率,各组结果如图 1 所示,结果显示 AS 能够提高大鼠心肌梗死后的生存时间及生存率,但是组间无显著性差异。



注:各组无显著性差异。

图 1 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠生存率的影响 ($n = 11$)

Note. There is no significant difference between each two groups.

Figure 1 Effect of Astragalus on survival rate of rats at 6 weeks after ligation of the left anterior descending coronary artery

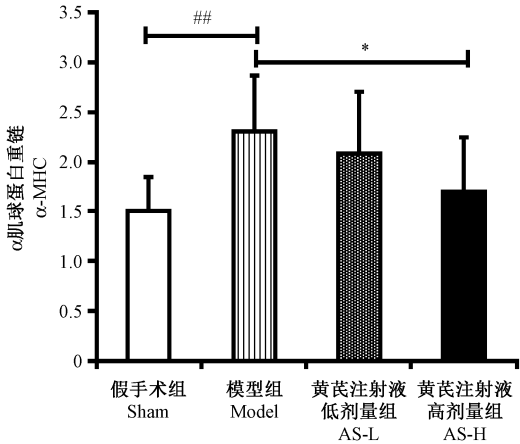
2.2 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠 α -MHC、NT-proBNP 的影响

α 肌球蛋白重链 (α -MHC) 水平与心肌细胞肥大程度成正比,而 NT-PROBNP 值则主要反映心衰的可能性。与假手术 Sham 组比较,模型 Model 组的 α -MHC 显著升高 ($P < 0.01$), AS 低剂量组心肌肥大程度较模型组有所减轻,但无显著性差异,而 AS 高

剂量组则显著降低 ($P<0.05$), 结果提示适宜剂量 AS 可抑制心肌肥大。Model 组的 NT-proBNP 较 Sham 组高 ($P<0.05$), AS 低剂量组有所减轻, 但无显著性差异, 而 AS 高剂量组则显著降低 NT-proBNP ($P<0.05$), 故适宜剂量的情况下可以减缓心力衰竭的过程。见图 2、3。

2.3 黄芪注射液改善心肌梗死后大鼠的心肌损伤及心肌纤维化

由图可见, Sham 组可见心肌纤维排列整齐, 无胶原纤维增生纤维化, 未见炎性细胞浸润及出血;



注:与假手术组比较,## $P<0.01$,与模型组比较,* $P<0.05$ 。

图2 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠α肌球蛋白重链的影响($n=8$)

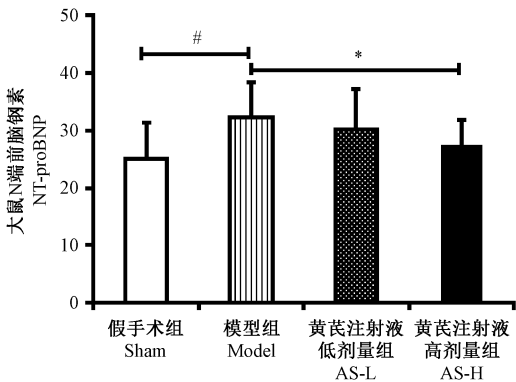
Note. Compared with the sham group, ## $P<0.01$. Compared with the model group, * $P<0.05$.

Figure 2 The effect of Astragalus injection on serum α-MHC in the rats after myocardial infarction

Model 组可见心肌纤维肥大, 排列不规则, 可见大量炎细胞浸润、充血及纤维化; ASL 组略好于 Model 组, 较 Model 组炎细胞浸润少、充血少及纤维化略轻; ASH 组好于低剂量组, 较低剂量组炎细胞浸润少、充血少及纤维化轻。结果显示 AS 对于大鼠心肌结构损伤及纤维化具有改善作用。见图 4。

2.4 黄芪注射液抑制心肌梗死后大鼠的过氧化产物产生并上调 NOS

给药 8 周后, 检测各组大鼠血清 MDA、NO 及 eNOS 含量。与 Sham 组相比, Model 组大鼠血清中 MDA 含量显著上升 ($P<0.001$); 与 Model 组相比, AS 高剂量组大鼠血清中 MDA 含量显著降低 ($P<$



注:图中 4 组 bar 代表 N 端前脑钠素,与假手术组比较, # $P<0.05$,与模型组比较,* $P<0.05$ 。

图3 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠 N 端前脑钠素的影响 ($n=8$)

Note. Compared with the sham group, ## $P<0.05$. Compared with the model group, * $P<0.05$.

Figure 3 Effect of Astragalus Injection on the serum NT-proBNP in rats after myocardial infarction

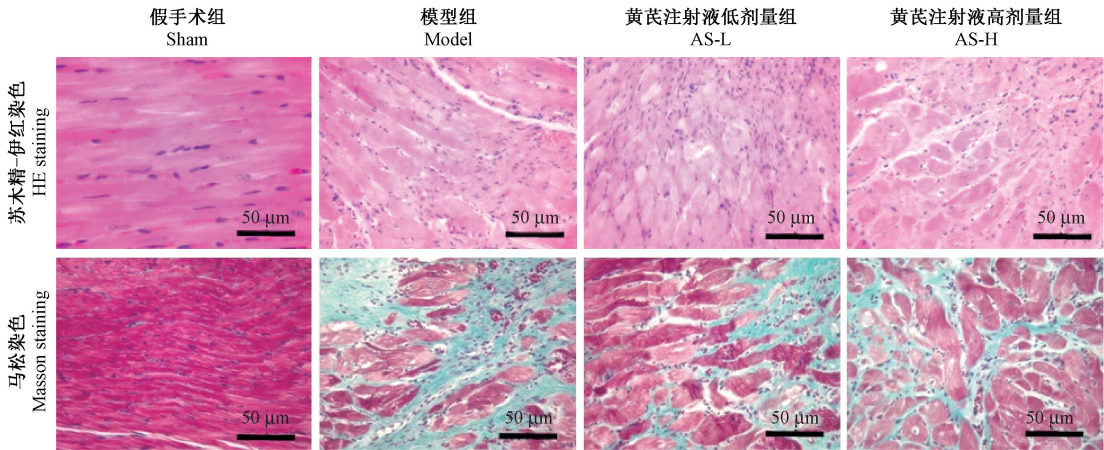
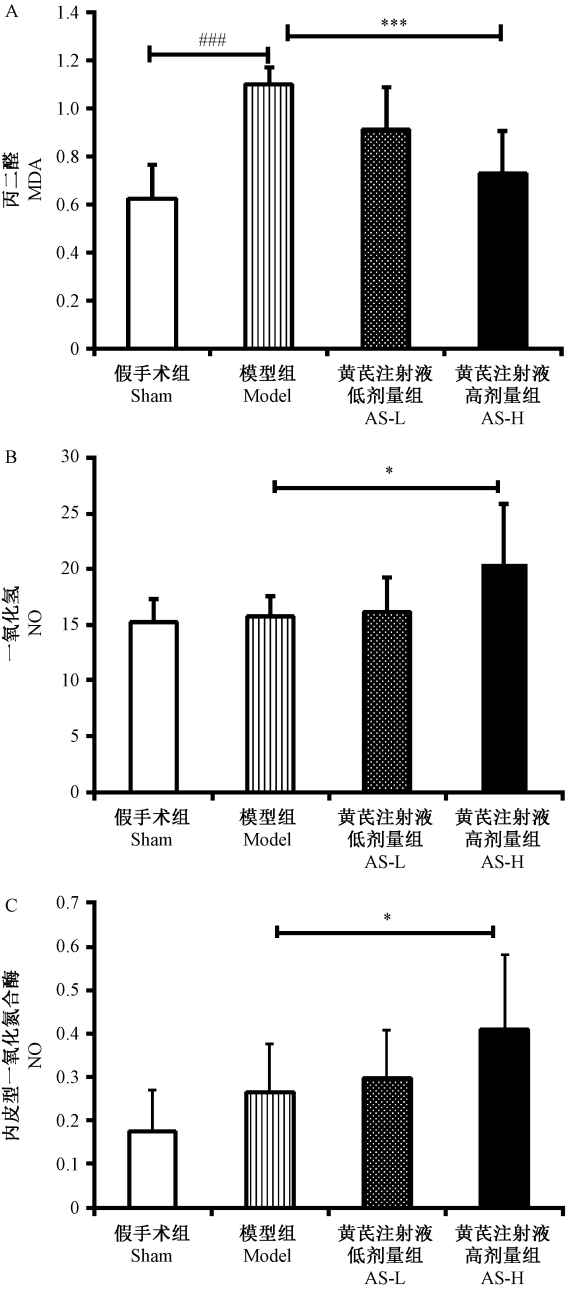


图4 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠组织病理损伤及心肌纤维化的影响(HE 及 Masson 染色)

Figure 4 Effects of Astragalus injection on the pathological changes of heart tissues and myocardial fibrosis in rats after myocardial infarction. HE and Masson staining.

0.001)。NO 及 eNOS 结果显示,与 Sham 组相比,两者在 Model 组血清中的含量略增,但无统计学意义,而 AS 高剂量组的 NO 及 eNOS 含量显著高于 Model 组($P<0.05$)。见图 5。



注:与假手术组比较,### $P<0.001$,与模型组比较,* $P<0.05$,*** $P<0.001$ 。

图5 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠血清中 MDA、NO、eNOS 的影响($n=8$)

Note. Compared with the sham group, ### $P<0.001$. Compared with the model group, * $P<0.05$, *** $P<0.001$.

Figure 5 Effects of Astragalus injection on the rat serum levels of MDA, NO, and eNOS after myocardial infarction

2.5 黄芪注射液对 PI3K、AKT 及凋亡相关蛋白的影响:

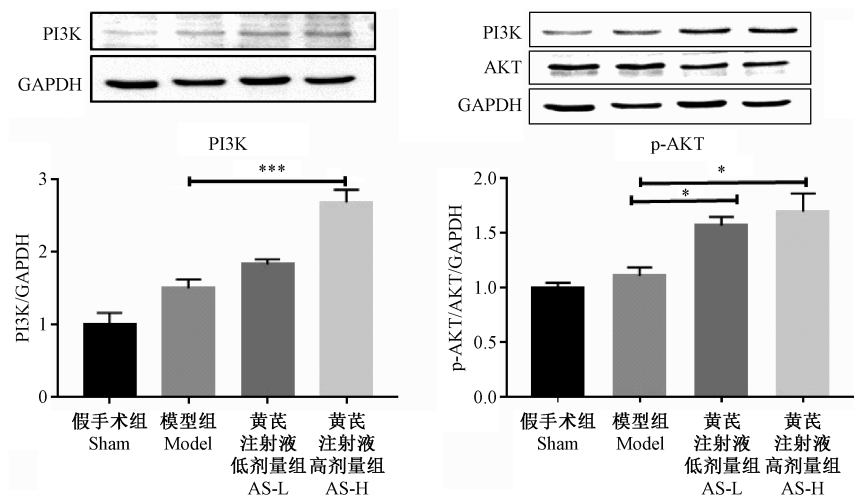
采用 Western blotting 方法检测 AS 对 PI3K 及 P-AKT 的作用,结果显示 ASH 可显著上调 PI3K 蛋白表达($P<0.001$),AS 可显著上调 P-AKT 蛋白表达($P<0.05$)。另外,ASH 可以有效上调 P-eNOS($P<0.05$)的表达。见图 6-7。

3 讨论

经过 6 周黄芪注射液的治疗,心肌梗死后大鼠的生存率。由 α -MHC 及 Masson 染色结果可以看出,心肌肥大及纤维化程度减轻,而 NT-proBNP 值的降低主要反映心衰的可能性降低,证明黄芪注射液具有抑制心力衰竭、逆转心肌重构的作用。进一步结果表明黄芪注射液可以改善过氧化损伤并上调 PI3K、P-AKT 及 P-eNOS。

PI3K/AKT 通路被公认是促进心肌细胞生存的重要途径^[15]。PI3K 是二聚体蛋白质,由 85×10^3 的调节亚单位和 110×10^3 的催化亚单位组成,PI3K 的 p85 通过直接与 G 蛋白偶联而被活化,也可与生长因子受体或生长因子相关蛋白结合而活化^[16]。活化的 PI3K 募集到细胞膜后,其 p110 部位将底物磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸催化为磷脂酰肌醇 3, 4, 5-三磷酸,PIP3 可作为第二信使传递信号,介导 PI3K 的多种生物学功能。PIP3 能够将含有 PH 结构域的信号蛋白募集到细胞膜表面并使之激活^[17]。AKT 又称蛋白激酶 B,其氨基末端含有普列克底物蛋白同源序列,被认为是与 PI3K 结合的关键部位,结合后使 AKT 磷酸化并活化。活化的 AKT 将会转移至细胞质或细胞核内进一步活化下游的靶点,进而调节细胞的生长、增殖与分化^[18]。

已有研究表明 PI3K/AKT 可以通过磷酸化内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric synthase, eNOS)降低过氧化损伤从而抑制心肌重塑^[13]。多个研究表明 AKT Ser473 磷酸化后,再通过 eNOS Ser1177 磷酸化而活化 eNOS^[19-22],eNOS 可催化左旋精氨酸生成一氧化氮(nitric oxide, NO)。与野生型小鼠相比,eNOS 缺陷小鼠在心梗后将发展为更严重的左心室功能不全和心肌重构^[23],反之亦然,过表达 eNOS 使心梗后左心室功能不全程度减轻^[24]。然而 NO 的这种保护作用却在与来自失偶联 eNOS 形成的氧化应激共存的情况下消失,并反而促进心脏的病理重构。已有实验证明,eNOS 基因敲除小鼠在

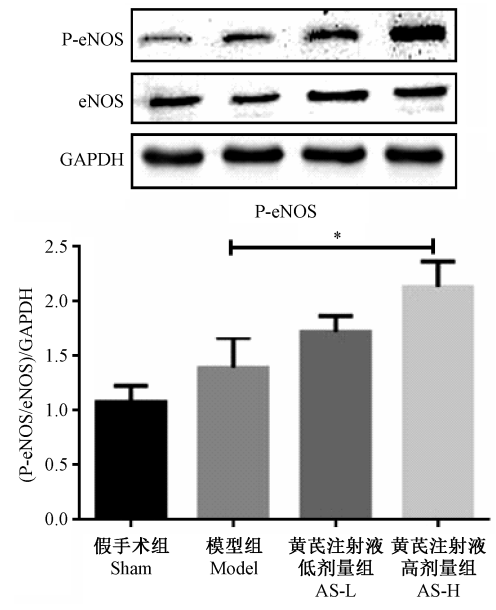


注:与模型组比较, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

图 6 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠心肌细胞 PI3K 及磷酸化 AKT 的影响($n=4$)

Note. Bars of the four groups in the figure show the PI3K and P-AKT level. Compared with the model group, * $P<0.05$, *** $P<0.001$.

Figure 6 Effects of Astragalus injection on the serum PI3K and p-AKT levels in cardiomyocytes of rats after myocardial infarction



注:图中 4 组 bar 代表磷酸化内皮型一氧化氮合酶蛋白水平,其中与模型组比较, * $P<0.05$ 。

图 7 黄芪注射液对心肌梗死后大鼠 P-eNOS 蛋白的影响($n=4$)

Note. Bars of the four groups in the figure show the P-eNOS level. Compared with the model group, * $P<0.05$.

Figure 7 Effect of Astragalus injection on p-eNOS protein levels in cardiomyocytes of the rats after myocardial infarction

低水平 ROS 存在情况下,虽然具有很强的压力负荷,但却只有轻微的向心性肥厚和纤维化,而没有发展为左心室扩张^[25]。因为在适宜的 ROS 存在

下,NO 是一种负性调控因素,无论内源性还是外源性 NO 均可抑制 AngII 诱导的心肌重塑及心肌细胞 c-fos 的基因表达^[26]。以上研究成果证实,激活 PI3K/AKT 通路可以通过调节 eNOS 降低氧化应激水平从而抑制心肌重塑。

综上所述,结合本实验结果,说明黄芪注射液的抗心力衰竭、逆转心肌重构的作用其激活 PI3K/AKT 通路调节 eNOS 有关,但尚需进一步验证其内在关系。

参考文献:

[1] Palazzuoli A, Nuti R. Heart failure; pathophysiology and clinical picture [J]. Contrib Nephrol, 2010; 164: 1-10.

[2] 王萧,林传权,许庆文,等. Caspase-3 在心衰兔模型细胞凋亡过程中的变化[J]. 中国实验动物学报, 2009; (3): 201-205

[3] Cao DJ, Wang ZV, Battiprolueta PK, et al. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors attenuate cardiac hypertrophy by suppressing autophagy [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108 (10): 4123-4128.

[4] 顾文超,周晓慧,林芳,等. T 细胞亚群在心室重构中的作用研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, (10): 85-88.

[5] Hori M, Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodelling after myocardial infarction [J]. Cardiovasc Res, 2009, 81(3): 457-464.

[6] Anilkumar N, Sirker A, Shah AM, et al. Redox sensitive signaling pathways in cardiac remodeling, hypertrophy and failure [J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2009, 14: 3168-3187.

[7] Seddon M, Looi YH, Shah AM. Oxidative stress and redox signalling in cardiac hypertrophy and heart failure [J]. Heart, 2007 93(8): 903-907.

- [8] Zhang Y, Tocchetti CG, Krieg T, et al. Oxidative and nitrosative stress in the maintenance of myocardial function [J]. *Free Radical Biol Med*, 2012, 53(8) : 1531-1540.
- [9] 原广平, 黄平. 黄芪注射液治疗慢性心力衰竭的临床疗效评价 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2003, 8(6) : 710-711.
- [10] 曾和松, 吴正贤, 刘正湘, 等. 黄芪注射液治疗心功能不全并心律失常的临床观察 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2003, 11, (2) : 71-72.
- [11] 关凤英, 李红, 于秀霞, 等. 黄芪注射液对心肌细胞氧化应激性损伤的保护作用 [J]. *中国康复理论与实践*, 2010, 16(9) : 830-832.
- [12] Jia Y, Zuo D, Li Z, et al. Astragaloside IV inhibits doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis mediated by mitochondrial apoptotic pathway via activating the PI3K/Akt pathway [J]. *Chem Pharm Bull*, 2014, 62(1) : 45-53.
- [13] Park CW, Kim HW, Lim JH, et al. Vascular endothelial growth factor inhibition by DRK6 causes endothelial apoptosis, fibrosis, and inflammation in the heart via the Akt/eNOS axis in db/db mice [J]. *Diabetes*, 2009, 58(11) : 2666-2676.
- [14] 郑海娟, 王维亭, 郝春华, 等. 地奥心血康对大鼠心肌缺血再灌注损伤的治疗作用 [J]. *天津医药*, 2015, 43(5) : 491-495.
- [15] Mozaffari MS, Liu JY, Schaffer SW. Effect of pressure overload on cardioprotection via PI3K-Akt: comparison of postconditioning, insulin, and pressure unloading [J]. *Am J Hypertens*, 2010, 23(6) : 668-674.
- [16] 赵婧, 屈艺, 母得志. Akt 与细胞线粒体凋亡途径 [J]. *生命的化学*, 2010, 30(4) : 528-532.
- [17] Datta SR, Dudek H, Tao X, et al. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery [J]. *Cell*, 1997, 91(2) : 231-241.
- [18] Almhanna K, Strosberg J, Malafa M. Targeting AKT protein kinase in gastric cancer [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(12) : 4387-4392.
- [19] Mount PF, Kemp BE, Power DA. Regulation of endothelial and myocardial NO synthesis by multi-site eNOS phosphorylation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42(2) : 271-279.
- [20] Zhu M, Feng J, Lucchinetti E, et al. Ischemic postconditioning protects remodeled myocardium via the PI3KPKB/Akt reperfusion injury salvage kinase pathway [J]. *Cardiovasc Res*, 2006; 72(1) : 152-162.
- [21] Zancheta D, Troiano JA, Potje SR, The PI3K-Akt-eNOS pathway is involved in aortic hyporeactivity to phenylephrine associated with late pregnancy in spontaneously hypertensive rats [J]. *Life Sci*, 2015, 122 : 78-86.
- [22] Ahsan A, Han G, Pan J, et al. Phosphocreatine protects endothelial cells from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by modulating the PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. *Apoptosis*, 2015, 20(12) : 1563-1576.
- [23] Otani H. The role of nitric oxide in myocardial repair and remodeling [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(8) : 1913-1928.
- [24] Chen LL, Zhu TB, Yin H, et al. Inhibition of MAPK signaling by eNOS gene transfer improves ventricular remodeling after myocardial infarction through reduction of inflammation [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(7) : 3067-3072.
- [25] Takimoto E, Champion HC, Li M, et al. Oxidant stress from nitric oxide synthase-3 uncoupling stimulates cardiac pathologic remodeling from chronic pressure load [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(5) : 1221-1231.
- [26] Nediani C, Raimondi L, Borch E, et al. Nitric oxide/reactive oxygen species generation and nitroso/redox imbalance in heart failure: from molecular mechanisms to therapeutic implications [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(2) : 289-331.

[收稿日期] 2018-10-10