

补阳还五汤对舒张性心衰大鼠心肌线粒体能量代谢及
AMPK/PPAR α 信号通路的影响

王臻, 李洁白, 董昕, 沈晓旭^{*}
(北京中医药大学 东直门医院, 北京 100029)

[摘要] **目的:**探讨补阳还五汤基于腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)/过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)信号通路对舒张性心衰(DHF)大鼠心肌线粒体能量代谢的影响及其机制研究。**方法:**将 48 只 SD 大鼠随机分为假手术组与模型组,模型组大鼠运用腹主动脉缩窄法建立 DHF 大鼠模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组,补阳还五汤组(12.72 g·kg⁻¹·d⁻¹),酒石酸美托洛尔组(0.004 5 g·kg⁻¹·d⁻¹),灌胃给予相应药物,假手术组、模型组给予等量的去离子水,各组均每日灌胃 1 次。药物连续干预 8 周后,采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测大鼠外周血中单磷酸腺苷(AMP),二磷酸腺苷(ADP),三磷酸腺苷(ATP)的含量;采用投射电镜检测心肌线粒体超微结构的变化;采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠心肌组织中 AMPK,PPAR α ,PPAR γ 辅助激活因子 1 α (PGC-1 α)的蛋白表达量。**结果:**与假手术组比较,模型组大鼠 AMP,ADP 含量显著升高,ATP 含量显著下降($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,补阳还五汤组、酒石酸美托洛尔组大鼠 AMP 含量明显降低($P < 0.01$),ADP 含量下降($P < 0.05$),ATP 含量升高。与假手术组比较,模型组大鼠线粒体数量减少,形态异常;与模型组比较,补阳还五汤组、酒石酸美托洛尔组大鼠线粒体数量明显增加,形态明显改善。与假手术组比较,各组大鼠 AMPK 蛋白表达量无统计学差异;与假手术组比较,模型组 PPAR α ,PGC-1 α 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较,补阳还五汤组、酒石酸美托洛尔组 PPAR α ,PGC-1 α 蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$)。**结论:**补阳还五汤可能是通过改善线粒体结构和功能,激活 AMPK 并上调 AMPK/PPAR α 信号通路的表达,从而改善衰竭心脏的能量代谢,延缓心衰进展。

[关键词] 补阳还五汤;舒张性心衰大鼠;心肌线粒体;能量代谢;腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)/过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)信号通路

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)09-0012-06
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190902
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190121.1330.002.html>
[网络出版时间] 2019-01-22 10:35

Effect of Buyang Huanwu Tang on Myocardial Mitochondrial Energy Metabolism and
AMPK/PPAR α Signaling Pathway in Rats with Diastolic Heart Failure

WANG Zhen, LI Jie-bai, DONG Xi, SHEN Xiao-xu^{*}
(Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Buyang Huanwu Tang on myocardial energy metabolism in rats with diastolic heart failure (DHF) based on adenosine monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK)/peroxisome proliferators-activated receptors α (PPAR α) signaling pathway, and investigate its mechanism of action. **Method:** The 48 SD rats were randomly divided into sham operation group and model group. DHF rat model was established by abdominal aorta constriction method. The successfully modeled rats were randomly divided into model group, Buyang Huanwu Tang group (12.72 g·kg⁻¹·d⁻¹), metoprolol tartrate group

[收稿日期] 20180914(002)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473517)
[第一作者] 王臻,在读博士,从事中医药防治心血管疾病研究,E-mail:1282174720@qq.com
[通信作者] ^{*} 沈晓旭,教授,主任医师,博士生导师,从事中西医结合防治心血管疾病研究,E-mail:shenxiaoxupaper@sina.com

($0.0045\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), with corresponding drugs in each group by intragastric administration. The sham operation group and model group were given with equal amount of deionized water, once a day. After 8 weeks of continuous drug intervention, the contents of adenosine monophosphate (AMP), adenosine diphosphate (ADP) and adenosine triphosphate (ATP) in peripheral blood of rats were determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The changes of myocardial mitochondrial ultrastructure were detected by electron microscope. The protein expression levels of AMPK, PPAR α and peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α (PGC-1 α) in rat myocardium were detected by Western blot. **Result:** As compared with sham operation group, the contents of AMP and ADP in model group were increased significantly, and ATP content was decreased significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$). As compared with the model group, the AMP content was decreased significantly in Buyang Huanwu Tang group and metoprolol tartrate group ($P < 0.01$), and the content of ADP was decreased while ATP content was increased ($P < 0.05$). As compared with the sham operation group, the number of mitochondria in the model group was decreased, the morphology was abnormal; as compared with the model group, the number of mitochondria in Buyang Huanwu Tang group and metoprolol tartrate group was increased obviously, and the morphology was obviously improved. As compared with the sham operation group, there was no statistically significant difference in the expression of AMPK protein between various groups, but the expression levels of PPAR α and PGC-1 α protein in the model group were decreased significantly ($P < 0.05$). As compared with the model group, the expression levels of PPAR α and PGC-1 α protein in Buyang Huanwu Tang group and metoprolol tartrate group were increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** Buyang Huanwu Tang may improve the energy metabolism of the failed heart and delay the progression of heart failure by improving the structure and function of mitochondria, activating AMPK and up-regulating the expression of AMPK/PPAR α signaling pathway.

[**Key words**] Buyang Huanwu Tang; rats with diastolic heart failure; myocardial mitochondria; energy metabolism; adenosine monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK)/peroxisome proliferators-activated receptors α (PPAR α) signaling pathway

舒张性心力衰竭(DHF)是心衰关键性的上游阶段^[1],也是临床上需要攻克的难点。有学者认为心力衰竭是由于心肌能量供应不足或代谢失衡,导致心脏结构和功能受损的一种超负荷心肌损害,衰竭的心脏被喻为“没有燃料的引擎”^[2]。自1937年首次提出心肌能量代谢的问题以来,心力衰竭的心肌“能量饥饿”假说一直受到国内外学者的关注,但直到目前为止,改善衰竭心肌能量代谢障碍的具体机制仍未明确阐明。腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)/过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)是近年来新发现的一条重要的细胞内信号通路,在促进线粒体生物发生和改善衰竭心肌能量代谢方面发挥着重要作用^[3-4]。

研究发现,在衰竭心肌中,由于血氧供需失衡、线粒体结构损伤,包括三磷酸腺苷的下降(ATP),线粒体氧化磷酸化功能障碍,AMPK/PPAR α 活性表达下调等,都会加重心脏负荷,加速心力衰竭进程^[5-8]。因此能否通过改善心肌细胞线粒体的功能,上调AMPK/PPAR α 信号通路的表达,逆转心脏“能量饥饿”状态,有可能成为干预舒张性心力衰竭

的有效途径之一。

补阳还五汤始载于清代王清任的《医林改错》,全方由黄芪、当归尾、赤芍、地龙、川芎、红花、桃仁组成,是益气活血的经典代表方剂之一。课题组前期研究发现 DHF 的病机主要是气虚血瘀,而应用益气活血法往往在临床可以得到较好的疗效。因此,本实验以舒张性心力衰竭大鼠为模型,研究补阳还五汤是否具有调节大鼠心肌线粒体能量代谢及对 AMPK/PPAR α 信号通路的影响,从而为临床防治舒张性心力衰竭提供理论依据和实验思路。本研究以心肌线粒体能量代谢为切入点,观察补阳还五汤对舒张性心衰大鼠心肌线粒体能量代谢及 AMPK/PPAR α 信号通路的影响。

1 材料

1.1 动物 48 只 SD 雄性大鼠,清洁级,体质量 190~210 g,购自北京维通利华生物科技股份有限公司,实验动物合格证号 SCXK(京)2012-0001。实验动物饲养于北京中医药大学东直门医院 SPF 级实验动物中心,控制温度(22 ± 3)℃,湿度(60 ± 5)%。该实验研究都北京中医药大学实验动物伦理委员会制定

的指导原则与要求(动物伦理批号 17-07)。

1.2 药物及试剂 酒石酸美托洛尔片(阿斯利康制药有限公司,批号国药准字 H32025391);补阳还五汤按照《医林改错》所载的药味用量进行制备,处方:黄芪 120 g,当归尾 6 g,赤芍 4.5 g,地龙 3 g,川芎 3 g,桃仁 3 g,红花 3 g(北京同仁堂科技发展有限公司),经北京中医药大学东直门医院中医内科学国家重点实验室聂波教授鉴定为正品,符合 2015 年版《中国药典》标准。各药按以上比例煎煮后过滤,浓缩,最终调至含生药 2.5 g·mL⁻¹,分装灭菌,放置 4℃ 冰箱保存备用。ATP,二磷酸腺苷(ADP),一磷酸腺苷(AMP)的酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(美国 Cloud-Clone 公司,批号分别为 CEA349Ge,SEA605Ra,CEA003Ge);AMPK,PPAR α ,PPAR γ 辅助激活因子 1 α (PGC-1 α)抗体(美国 Abcam 公司,批号分别为 ab32047,ab24509,ab54481);辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗鼠,山羊抗兔二抗, β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号分别为 Sc-2005,Sc-20054,Sc-20053);电镜固定液(北京雷根生物技术有限公司,批号 DF0156);Spurr 树脂(美国 Pelco 公司,批号 18300-4221)。

1.3 仪器 5415D 型 Centrifuge 离心机(德国 Eppendorf 公司);900 SERIES 型 -80℃ 冰箱(美国 Thermo 公司);MP-8001 型双垂直电泳槽,MP-3030 型转移槽,PP-1150 型电泳仪(北京凯元信瑞仪器有限公司);TS-2000A 型温控摇床,QL-902 型涡旋振荡仪(其林贝尔仪器有限公司);ultracut R 型切片机(德国莱卡公司);JEM1230 型透射电子显微镜(日本电子株式会社)。

2 方法

2.1 动物分组及造模^[9-10] 48 只大鼠动物适应性喂养 3 d 后,用随机抽样法分为假手术组、模型组,其中假手术组 12 只,模型组 36 只。模型组采用腹主动脉缩窄法制成舒张性心衰模型。大鼠术前 12 h 禁食不禁水,称体质量,腹腔注射 10% 水合氯醛溶液麻醉(3.3 mL·kg⁻¹)后,将大鼠仰卧固定于手术台上,腹部手术区备皮、消毒,术者手部也用酒精擦拭消毒。于大鼠剑突下 2~3 cm,沿腹中线切开 4~5 cm 切口,拉开切口,用手轻轻翻出肠管等内脏置于生理盐水湿润的无菌纱布上,找到大鼠的左肾动脉,剥离腹后膜,在肾动脉分支处找到腹主动脉。用弯镊轻缓钝性分离腹主动脉,然后从腹主动脉下方穿过,穿出后穿线,在肾动脉上方 0.2 cm 处用 4 号手术线将腹主动脉与平行放置的 7 号针头一起

结扎,结扎后抽出针头达到狭窄目的。青霉素适量滴入腹腔,回纳肠管。逐层缝合切口,术后消毒伤口。假手术组大鼠不结扎腹主动脉,其余操作同模型组。术后将大鼠仰卧放回单笼饲养并给予保温直到苏醒归笼。苏醒后,每只 40 万单位青霉素进行腹腔注射,连续注射 3 d。

2.2 给药方法 造模后饲养 8 周,整个实验过程中观察大鼠的存活率及体质量、进食、皮毛变化、精神状态、活动情况等一般情况。8 周后,利用超声心动图测大鼠左室射血分数(LVEF)和二尖瓣环舒张早期运动速度/二尖瓣环舒张晚期运动速度(e'/a')值,将 LVEF>45%, e'/a' <1.2 作为舒张性心衰模型成功标志。将成模大鼠运用随机区组法随机分为模型组($n=12$),补阳还五汤组($n=12$),酒石酸美托洛尔组($n=12$)。根据临床治疗 70 kg 体质量的患者,每日服补阳还五汤按生药量计为 142.5 g,根据“人和动物按体表面积折算的等效剂量比值表”折算,分别给予补阳还五汤 12.72 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,酒石酸美托洛尔 0.004 5 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,假手术组、模型组给予等量的去离子水灌胃。各组均每日灌胃 1 次,共给药干预 8 周。

2.3 标本采集 为保证各指标检测一致性,每组选取 7 只大鼠。大鼠麻醉后称体质量,开胸取心脏,分离心底部大血管、心房及右心室,预冷的生理盐水冲洗,滤纸吸干。再将心脏沿左室长轴分 2 份,取材过程尽量减小对组织的牵拉、挫伤与挤压等机械损伤,其中一份迅速投入 2.5% 戊二醛固定液中 4℃ 固定;另一份心脏组织置于液氮中保存,以备蛋白免疫印迹法(Western blot)检测。

2.4 ELISA 检测 各组大鼠血清 AMP,ADP,ATP 的含量 给药干预 8 周后各组大鼠麻醉状态下,于腹主动脉采血,静置后 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 后取上清 -80℃ 冰箱保存。用 ELISA 检测各组大鼠血清中 ATP,ADP,AMP 含量,具体操作步骤按试剂盒说明书执行,绘制标准曲线测定。

2.5 Western blot 检测 各组大鼠心肌组织中 AMPK,PPAR α ,PGC-1 α 蛋白表达量 每组选取 7 只大鼠,麻醉状态下开胸取心脏,剪取左心室部分,首先组织样品加入适量 RIPA 裂解液进行蛋白提取,采用聚丙烯酰胺凝胶测目的蛋白,经 SDS-PAGE 电泳后将蛋白转至 PVDF 膜上,浸泡于 Western blot 封闭液中封闭后,加入相应的一抗(1:1 000),4℃ 孵育过夜,用 TBST 每次 5 min 洗膜 3 次。加入相应稀释好的二抗(1:5 000),室温轻摇 50 min,TBST 每次

5 min 洗膜 4 次后,进行化学发光显影(ECL)。条带灰度值采用 Quantity One v. 4. 6. 2 软件进行读取处理,以 β -actin 为内参,用实验所得灰度值除以内参灰度值得到相对灰度值。

2.6 各组大鼠心肌组织切片超微结构透射电镜观察
取出各组大鼠心脏,减取体积为 3 mm×3 mm×3 mm 大小的心尖组织,取材过程尽量减小对组织的牵拉、挫伤与挤压等机械损伤,迅速投入 2.5% 戊二醛固定液中 4℃ 固定 3 h 以上。然后用 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(PBS, pH 7.4)漂洗 3 次,每次 10 min,0.5% 的锇酸 0.1 mol·L⁻¹ 固定 3 h,0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 7.4) 漂洗 3 次,每次 10 min,依次入 50%,70%,80%,90%,95%,100% 乙醇上行脱水,每次 15 min。Spurr 树脂浸透包埋,70℃ 聚合 48 h,切片机切 60~80 nm 超薄切片,铀铅双染色(2% 醋酸双氧铀,柠檬酸铅,各染色 10 min),切片室温干燥,于透射电子显微镜下取景拍摄。

2.7 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计学软件进

行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据符合正态分布且方差齐性,用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况比较 假手术组大鼠活动自如无 1 例死亡,模型组大鼠有反应迟钝、毛发枯黄无光泽,进食饮水减少等症状,在等待成模 8 周过程中,模型组、补阳还五汤及酒石酸美托洛尔组无异常死亡。

3.2 补阳还五汤对舒张性心衰大鼠血清 AMP, ADP,ATP 含量的影响 舒张性心衰时,与假手术组比较,模型组大鼠 AMP,ADP 含量显著升高,ATP 含量明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,酒石酸美托洛尔组大鼠 AMP 含量显著降低($P < 0.01$),ADP 含量下降,ATP 含量升高;与模型组比较,补阳还五汤大鼠 AMP 含量显著降低($P < 0.01$),ADP 含量明显降低($P < 0.05$),ATP 含量升高。见表 1。

表 1 补阳还五汤对舒张性心衰大鼠血清 AMP,ADP,ATP 的含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)
Table 1 Effect of Buyang Huanwu Tang on serum AMP, ADP and ATP levels of rats with diastolic heart failure ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$) μg·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AMP	ADP	ATP
假手术	-	1 041. 63 ± 225. 81	3 005. 59 ± 322. 84	745. 70 ± 131. 25
模型	-	1 626. 20 ± 478. 54 ²⁾	3 779. 51 ± 455. 93 ²⁾	441. 60 ± 128. 96 ¹⁾
酒石酸美托洛尔	0.004 5	819. 39 ± 176. 14 ⁴⁾	3 416. 52 ± 478. 84	585. 30 ± 265. 29
补阳还五汤	12. 72	991. 65 ± 222. 27 ⁴⁾	3 169. 27 ± 328. 63 ³⁾	547. 00 ± 274. 92

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 补阳还五汤对舒张性心衰大鼠线粒体结构的影响 与假手术组比较,模型组大鼠线粒体肿胀明显,线粒体排列紊乱,多数线粒体嵴模糊甚至断裂;与模型组比较,补阳还五汤大鼠线粒体数量明显增加,线粒体膜完整,线粒体嵴保存相对完好;与模型组比较,酒石酸美托洛尔组大鼠线粒体形态明显改善,小部分存在轻度肿胀,嵴显示略清晰。见图 1。

3.4 补阳还五汤对舒张性心衰大鼠心肌组织中 AMPK,PPAR α ,PGC-1 α 蛋白的影响 与假手术组比较,模型组 PPAR α ,PGC-1 α 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较,补阳还五汤、酒石酸美托洛尔组 PPAR α ,PGC-1 α 蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$)。见表 2,图 2。

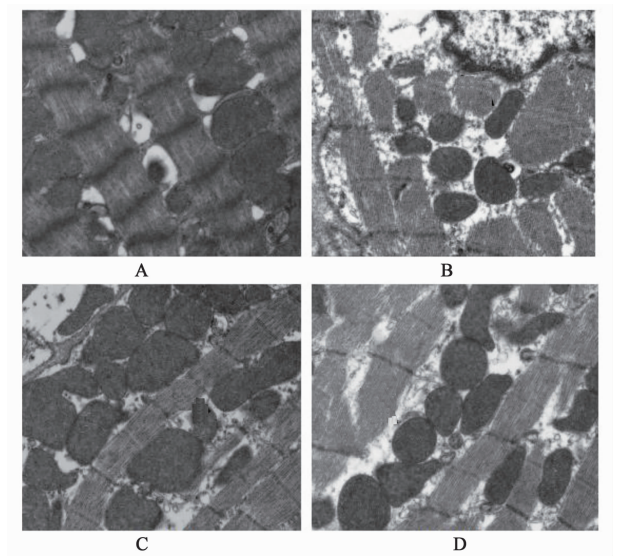
4 讨论

DHF 是一种复杂的临床综合征,由于伴随心脏结构的改变,与心功能密切相关的能量供给和利用必然会受到影响。而衰竭心脏不再能维持外周组织

正常的血氧供应,最终将导致全身能量代谢障碍。
心肌正常的能量代谢是维持心脏内环境稳定和心脏舒缩功能的物质基础,而心脏舒张是一个主动耗能的过程,所需能量主要来自线粒体^[11]。心脏作为高功能、高耗能、低储能的器官,每天大约需要通过线粒体氧化磷酸化合成 30 kg 的 ATP 以满足机体的需要^[12]。

研究表明,DHF 的发生常伴随有线粒体结构改变和功能损伤,引起能量合成障碍,而作为细胞能量变化感受器的 AMPK,在心肌线粒体生物发生中发挥着重要作用^[3,13]。作为 AMPK 下游的靶分子,AMPK 可以上调 PPAR α 的表达,二者共同形成 AMPK/PPAR α 信号通路,在维持心肌能量代谢的稳定性中起重要作用^[4,14]。PGC-1 α 则在心肌组织中大量表达,可激活多种与氧化磷酸化有关基因,促进底物的氧化磷酸化,驱动 ATP 的合成^[15]。

因此,衰竭心肌线粒体氧化磷酸化能力下降,



A. 假手术组; B. 模型组; C. 补阳还五汤组; D. 酒石酸美托洛尔组 (图 2 同)

图 1 补阳还五汤对舒张性心衰大鼠线粒体结构的影响 (扫描电镜, $\times 6\,000$)

Fig.1 Effect of Buyang Huanwu Tang on mitochondrial structure of rats in rats with diastolic heart failure (SEM, $\times 6\,000$)

表 2 补阳还五汤对舒张性心衰大鼠 AMPK, PPAR α , PGC-1 α 蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 2 Effect of Buyang Huanwu Tang on relative expression of AMPK, PPAR α and PGC-1 α protein in myocardial tissue of rats with diastolic heart failure ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	AMPK / β -actin	PPAR α / β -actin	PGC-1 α / β -actin
假手术	-	0.44 $\pm$ 0.05	0.52 $\pm$ 0.07	0.45 $\pm$ 0.05
模型	-	0.45 $\pm$ 0.05	0.19 $\pm$ 0.06 ¹⁾	0.13 $\pm$ 0.08 ¹⁾
酒石酸美托洛尔	0.004 5	0.46 $\pm$ 0.05	0.38 $\pm$ 0.08 ²⁾	0.35 $\pm$ 0.09 ²⁾
补阳还五汤	12.72	0.45 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.07 ²⁾	0.38 $\pm$ 0.07 ²⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

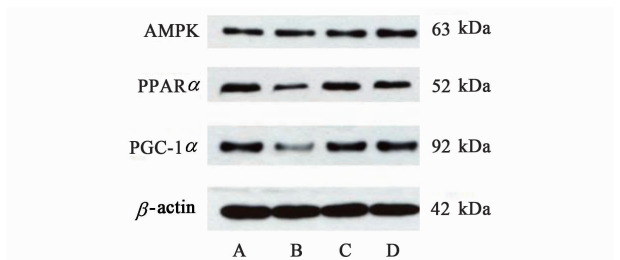


图 2 各组大鼠心肌组织中 AMPK, PPAR α , PGC-1 α 蛋白表达电泳
Fig.2 Electrophoresis of expression of AMPK, PPAR α and pgc-1 α protein in myocardial tissues in each group of rats

导致 ATP 生成减少, AMPK 活性表达下调^[5-7], 心肌能量生成障碍, 进一步加重心脏负荷。

课题组前期研究发现 DHF 的病机主要是气虚

血瘀, 而应用益气活血法往往在临床可以收到较好的疗效, 亦有研究表明益气活血法对心肌能量代谢也有一定作用^[16-17]。补阳还五汤是益气活血法的主要代表方剂之一, 方中重用黄芪为君药, 大补脾胃之元气, 使气旺血行, 瘀去络通; 当归尾为臣药, 长于活血, 兼能养血, 因而有化瘀而不伤血之妙; 赤芍、川芎、桃仁、红花共为佐药助当归尾活血祛瘀; 地龙起到通经活络之用。具有大量补气药与少量活血药相配, 气旺则血行, 活血而又不伤正的配伍特点。

本实验结果显示, 舒张性心衰大鼠线粒体数量减少、形态异常, 生化发生能力下降, 导致 ATP 合成减少, 分解增加, AMP, ADP 升高, 而补阳还五汤能够改善线粒体结构和功能, 升高心衰模型大鼠 ATP 含量, 降低 ADP, AMP 含量。同时, AMP/ATP 增加可活化 AMPK, 参与细胞的能量调节。

本研究中, 补阳还五汤可激活 AMPK 并上调 PPAR α , PGC-1 α 的表达, 可初步证实补阳还五汤可能是通过改善心肌细胞线粒体的功能, 促进衰竭心脏能量生成, 并上调 AMPK/PPAR α 信号通路的表达, 促进线粒体的生物发生, 从而改善衰竭心脏的能量代谢, 延缓心衰进展。

[参考文献]

[1] From A M, Scott C G, CHEN H H. The development of heart failure in patients with diabetes mellitus and pre-clinical diastolic dysfunction: a population-based study [J]. J Am Coll Cardiol, 2010, 55(4):300-305.

[2] Neubauer S. The failing heart—an engine out of fuel [J]. New Engl J Med, 2007, 356(11):1140.

[3] ZHANG J, WEI C, WANG H, et al. Protective effect of qiliqiangxin capsule on energy metabolism and myocardial mitochondria in pressure overload heart failure rats [J]. Evid Based Compl Alt, 2013, doi: 10.1155/2013/378298.

[4] Reznick R M, Shulman G I. The role of AMP-activated protein kinase in mitochondrial biogenesis [J]. J Physiol, 2010, 574(1):33-39.

[5] 平政, 曹雪滨. PGC-1 α 活性调节的信号通路 [J]. 国际心血管病杂志, 2012, 39(2):89-91.

[6] Kanda H, Nohara R, Hasegawa K, et al. A nuclear complex containing PPAR α /RXR α is markedly downregulated in the hypertrophied rat left ventricular myocardium with normal systolic function [J]. Heart Vessels, 2000, 15(4):191-196.

[7] Garnier A, Fortin D, Deloménie C, et al. Depressed mitochondrial transcription factors and oxidative capacity

in rat failing cardiac and skeletal muscles[J]. J Physiol, 2010, 551(2):491-501.

[8] Zaha V G, Young L H. AMP-activated protein kinase regulation and biological actions in the heart[J]. Circ Res,2012,111(6):800-814.

[9] 倪量,王硕仁,赵明镜,等. 部分缩窄大鼠腹主动脉致心肌肥厚动物模型的病证结合研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2007,13(10):757-759.

[10] 倪量,王硕仁,赵明镜,等. 腹主动脉部分缩窄大鼠模型的心肌肥厚特点[J]. 中国比较医学杂志,2007,17(4):214-218.

[11] 李兵,柳君泽,陈丽芬. 缺氧对大鼠心肌线粒体能量代谢和腺苷酸转位酶活性的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(3):460-463.

[12] 张军芳,王磊,魏聪,等. 慢性心力衰竭能量代谢重构与治疗进展[J]. 中国老年学杂志,2014,34(4):1115-1117.

[13] Reznick R M, Shulman G I. The role of AMP-activated protein kinase in mitochondrial biogenesis [J]. J Physiol, 2010, 574(1):33-39.

[14] Alp P R, Newsholme E A, Zammit V A. Activities of citrate synthase and NAD⁺-linked and NADP⁺-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates[J]. Biochem J, 1976, 154(3):689-700.

[15] Rowe G C, Jiang A, Arany Z. PGC-1 coactivators in cardiac development and disease[J]. Circ Res,2010, 107(7):825-838.

[16] 张明丽,姜瑞雪. 益气活血汤对慢性心力衰竭气虚血瘀证患者心功能及生活质量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(19):162-166.

[17] 王懿,张艳,礼海. 益气活血方干预 PGC-1 α 调控心衰心肌细胞能量代谢重构的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(6):169-173.

[责任编辑 周冰冰]