

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.09.014

白藜芦醇对糖尿病小鼠心肌损伤的保护作用及机制研究

谭小田¹ 张志敏² 贾磊³ 张彦海¹ 谢柏梅^{1△}

(1 解放军第451医院干部病房 陕西 西安 710054; 2 新疆军区总医院心内科 新疆 乌鲁木齐 830000;

3 解放军第451医院心内科 陕西 西安 710054)

摘要 目的:探讨白藜芦醇对小鼠心肌损伤的影响及其可能的调控机制。方法:采用腹腔注射链脲霉素的方法建立1型糖尿病小鼠模型,随机将雄性C57/BL6J的正常小鼠和糖尿病小鼠分为3组(每组18只):对照组、糖尿病组、糖尿病+白藜芦醇组。其中糖尿病+白藜芦醇组给予白藜芦醇7.5 mg/kg/d腹腔注射治疗,对照组和糖尿病组给予同体积盐水腹腔注射。药物治疗12周后,小动物心脏超声检测小鼠的心功能;天狼星红染色观察胶原变化并进一步计算胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF);柠檬酸合酶检测试剂盒和ATP生物荧光试剂盒分别检测检测心肌柠檬酸合酶活性和ATP含量;Western blot检测Sirt3和p-AMPK的蛋白表达情况。结果:与对照组相比,糖尿病组LVEDD和LVESD均明显增加(4.823 ± 0.103 mm和 3.701 ± 0.121 mm, $P < 0.05$),LVEF和LVFS值均明显降低(37.121 ± 4.298 %和 21.023 ± 2.187 %, $P < 0.05$),CVF显著增高(20.102 ± 1.155 %, $P < 0.05$),心肌柠檬酸合酶活性和ATP含量显著降低(5.267 ± 0.202 nmol/g和 105 ± 7.638 U/g, $P < 0.05$),Sirt3和p-AMPK蛋白表达显著降低($P < 0.05$);与糖尿病组相比,糖尿病+白藜芦醇组LVEDD和LVESD均显著降低(4.354 ± 0.113 mm和 3.056 ± 0.130 mm, $P < 0.05$),LVFS和LVEF值均显著增加(58.435 ± 8.143 %和 29.071 ± 2.232 %, $P < 0.05$),CVF显著降低(10.343 ± 0.882 %, $P < 0.05$),心肌柠檬酸合酶活性和ATP含量显著增加(6.233 ± 0.176 nmol/g和 132.7 ± 5.774 U/g, $P < 0.05$),Sirt3和p-AMPK蛋白表达显著增加($P < 0.05$)。结论:白藜芦醇可改善糖尿病小鼠心肌损伤,其机制可能与白藜芦醇激活Sirt3/AMPK信号通路有关。
关键词:白藜芦醇;糖尿病心肌病;沉默信息调节因子3;腺苷酸活化蛋白激酶
中图分类号:R-33;R587.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1673-6273(2018)09-1669-05

Effects of Polydatin on Heart Impairment in Diabetic Mice and Potential Mechanism

TAN Xiao-tian¹, ZHANG Zhi-min², JIA Lei³, ZHANG Yan-hai¹, XIE Bai-mei^{1△}

(1 Department of Cadre's Ward, PLA 451 Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710054, China;

2 Department of Cardiology, General Hospital of Xinjiang Military Area Command, Urumchi, Xinjiang, 830000, China;

3 Department of Cardiology, PLA 451 Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710054, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects of polydatin on heart impairment in diabetic mice and potential mechanism. **Methods:** Diabetes was induced by a single intraperitoneal of streptozotocin. Male C57/BL6J mice were randomly divided to three groups ($n=18$): Control group, diabetes group, diabetes+ polydatin group. Diabetes+ polydatin group were injected a dose of 7.5 mg/kg/d polydatin intraperitoneally, while control group and diabetes group were injected normal saline intraperitoneally for 12 weeks. Echocardiography was used to measure the cardiac functions of mice in different groups. Sirius red staining was used to evaluate the changes of collagen and measure Collagen volume fraction (CVF). Citratesynthase activity was evaluated by citratesynthase activity assay kit. The ATP content of the myocardium was measured by using an adenosine triphosphate bioluminescent assay kit. Western blot was used to determine the expressions of p-AMPK and Sirt3. **Results:** Compared with control group, the cardiac functions attenuated ($P < 0.05$) and CVF increased (20.102 ± 1.155 %, $P < 0.05$) significantly in diabetes group. After polydatin treatment, the cardiac functions increased ($P < 0.05$) and CVF decreased (10.343 ± 0.882 %, $P < 0.05$) significantly in diabetic mice. Compared with control group, citratesynthase activity of the myocardium decreased significantly (5.267 ± 0.202 nmol/g, $P < 0.05$), with reduced ATP content (105 ± 7.638 U/g, $P < 0.05$), and expressions of p-AMPK and Sirt3 decreased ($P < 0.05$) in diabetes group. Compared with diabetes group, citratesynthase activity of the myocardium increased significantly (6.233 ± 0.176 nmol/g, $P < 0.05$), with enhanced ATP content (132.7 ± 5.774 U/g, $P < 0.05$), and the expressions of p-AMPK and Sirt3 were upregulated ($P < 0.05$) by the treatment with polydatin in diabetes +polydatin group. **Conclusion:** Polydatin can significantly attenuate heart impairment in diabetic mice, possibly by activating Sirt3 /AMPK signaling.

Key words: Polydatin; Diabetic Cardiomyopathy; Sirtuin-3; 5-AMP activated kinase**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R587.2 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2018)09-1669-05

作者简介:谭小田(1981-),住院医师,主要研究方向:糖尿病心肌病的防治, E-mail: tanxiaotian451@126.com

△ 通讯作者:谢柏梅,副主任医师,主要研究方向:糖尿病心肌病的防治,电话:18292820129, E-mail: baimei1010@126.com

(收稿日期:2017-06-28 接受日期:2017-07-22)

前言

糖尿病增加了心力衰竭的风险,且独立于冠心病、高血压等心脏疾病,导致心脏结构及功能损害,并将其定义为糖尿病心肌病(Diabetic Cardiomyopathy, DCM)^[1,2]。多种因素参与了糖尿病心肌病的发生与发展过程,如炎症、氧化应激、凋亡、自噬等均与糖尿病心肌病的发生发展密切相关^[3]。白藜芦醇甙(Polydatin, PD)又称为虎杖甙,是从传统中药中提取出来的一种活性成分,具有等多种生物学活性和心血管保护作用^[3,4]。有文献报道白藜芦醇甙可通过减少线粒体损伤而对心肌缺血再灌注损伤起到保护作用^[5]。也有文献报道白藜芦醇甙通过激活沉默信息调节因子3(Sirtuin-3, Sirt3)/腺苷酸活化蛋白激酶(5-AMP activated kinase, AMPK)信号通路改善急性梗死后心肌损伤^[6]。但是由于动物模型的不同,白藜芦醇甙能否通过激活Sirt3/AMPK信号通路改善糖尿病小鼠心肌损伤未见报道。本研究通过腹腔注射链脲霉素建立1型糖尿病小鼠模型,探讨白藜芦醇甙对小鼠心肌损伤的影响及其可能的调控机制,为临床治疗糖尿病心肌病提供新的药物治疗靶点和策略。

1 材料与方法

1.1 材料

C57/BL6J 小鼠(雄性,4周龄,25-30 g)购于西安交通大学医学院动物中心;ATP 生物荧光试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒、RIPA 裂解液和配胶试剂盒购于中国上海碧云天公司;超敏发光液购于上海格敏生物公司;白藜芦醇甙(纯度≥95%)、链脲霉素、柠檬酸合酶检测试剂盒购于美国 sigma 公司;天狼星红染色试剂盒购于北京雷根生物技术公司;Sirt3 抗体、p-AMPK (Thr172) 抗体、AMPK 抗体购于 CST 公司;GAPDH 购于天津三箭生物技术有限公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗购于美国 Abcam 公司;小动物超声影像系统购于日本 Visual Sonics 公司;光学显微镜购于日本 Olympus 公司;IPP 6.0 图像处理软件购于美国 Media Cybernetics 公司;血糖测试仪和血糖试纸购于美国罗氏公司;电泳槽、电泳仪和转膜槽购于美国 BIO-RAD 公司;PVDF 膜购于美国 Minipore 公司。

1.2 方法

1.2.1 1型糖尿病小鼠模型的构建 按照文献报道方法建立1型糖尿病小鼠模型^[7]。4周龄的雄性 C57/BL6J 小鼠给予单次腹腔内注射 50 mg/kg 的链脲霉素,将链脲霉素溶于 0.1 mmol/L 的枸橼酸钠,并调节至 pH=4.4,连续注射 5 日。14 天后利用血糖测试仪和血糖试纸测定小鼠血糖浓度,如果血糖浓度低于 16.6 mmol/L,再次给予腹腔内注射等剂量的链脲霉素。测定的随机血糖如果持续高于 16.6 mmol/L,则认为糖尿病模型建立成功。

1.2.2 实验分组 糖尿病小鼠建模成功 2 周后,将正常小鼠和糖尿病小鼠随机分为 3 组(每组 18 只), (1)对照组(CON)、(2)糖尿病组(DM)、(3)糖尿病+白藜芦醇甙组(DM+PD)。其中糖尿病+白藜芦醇甙组给予白藜芦醇甙 7.5 mg/kg/d 腹腔注射治疗 12 周,对照组和糖尿病组给予同体积盐水腹腔注射 12 周,白藜芦醇甙治疗剂量参考了既往文献报道^[6]。12 周后,小动物超声影像检测系统评估各组小鼠心功能,后将小鼠处死。小鼠

可自由取食和饮水,各组小鼠采用普通饲料喂养,并在相同的条件下饲养,环境温度控制在(24±3)℃,湿度控制在 33%~68%之间。

1.2.3 超声检测小鼠的心功能 治疗 12 周后,各组随机选取 15 只小鼠,利用小动物超声影像检测系统评估各组小鼠的心功能。采用脱毛膏给各组小鼠胸前区脱毛,用异氟烷吸入麻醉的方法对小鼠进行麻醉,注意控制好麻醉的深度。将小鼠四肢固定于操作台上,小鼠体位呈仰卧位,涂少许整合剂于小鼠的胸前区,探头置于胸前部进行 M 型超声检测。取胸骨旁左心长轴为切面,连续采取 10 个周期的超声图像。记录并分析左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左室短轴缩短率(left ventricular fraction shortening, LVFS)和左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)等检测指标,评估小鼠的心功能。

1.2.4 小鼠心肌天狼星红染色 将心脏取出后置于预冷的 PBS 缓冲液中,将心脏血液清洗干净。多聚甲醛对小鼠心脏固定,固定 48 小时后常规石蜡包埋切片,脱蜡入水。按照天狼星红染色试剂盒的说明书进行染色并封片。Olympus 显微镜下观察小鼠心肌天狼星红染色状况。将图片保存,用 Image-Pro Plus 6.0 进行结果分析,计算胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)=胶原面积/总面积×100%。注意计算时胶原面积不应该包括血管周围的胶原面积,应当在 400 倍镜下选取 5 个视野的平均值。

1.2.5 小鼠心脏线粒体分离 将心脏取出后置于预冷的保存液 A 中。将心肌组织在保存液 A 中切碎,后用匀浆器进行匀浆。将匀浆液转移到离心管中进行离心(10 min, 600 rpm, 4℃)。将上清液转移到另一新的离心管中,并进行离心(10 min, 17000 rpm, 4℃)。吸除上清,加入少许保存液 A 进行重悬,再进行离心(10 min, 7000 rpm, 4℃)。吸除上清,加入少许保存液 B 进行重悬,再进行离心(10 min, 3500 rpm, 4℃)。吸除上清,再加入少许保存液 B 进行重悬,线粒体漂浮在保存液 B 中,将其保存于-80℃的冰箱中。线粒体分离所有操作步骤均在冰上进行。保存液 A 的配制:120 mmol/L NaCl, 2 mmol/L MgCl₂, 20 mmol/L HEPES, 1 mmol/L EGTA, 5 g/L 牛血清白蛋白,调节 pH 为 7.4 左右。保存液 B 的配制:2 mmol/L HEPES, 300 mmol/L 蔗糖, 0.1 mmol/L EGTA, 调节 pH 为 7.4 左右。

1.2.6 检测心肌柠檬酸合酶活性和 ATP 含量 柠檬酸合酶检测试剂盒和 ATP 生物荧光试剂盒分别检测心肌柠檬酸合酶活性和 ATP 含量,按照说明书进行相应检测,记录各组数据并进行相应分析。每个样品至少要重复 3 次。

1.2.7 Western blot 检测 Sirt3 和 p-AMPK 表达 将分离出的心脏组织匀浆后,使用组织裂解液裂解组织,常规提取蛋白。留取 15 μL 的上清液,采用 BCA 法进行蛋白定量。其余上清液吸入新的 1.5 mL 离心管。加入相应体积的 5 心上样缓冲液,沸水煮 5 min。然后进行配胶、蛋白电泳、120 mA 恒流转膜、牛奶封闭液封闭 1 h、孵育兔抗 p-AMPK (Thr172) 一抗(1:1000)、兔抗 AMPK 一抗(1:1000)、兔抗 Sirt3 一抗(1:1000)过夜。次日孵育辣根过氧化物酶(HRP)标记的相应二抗(1:10 000)和 ECL 显影,使用 Bio-Rad 数码图像系统拍照并保存分析图片,最后进

一步统计分析。

1.3 统计学分析

用 SPSS1.19.0 进行统计分析,本实验计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示,3 组以上比较采用单因素方差分析的方法进行统计学分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠心脏功能检测

对照组 LVEDD 和 LVESD 的值分别为 3.715 ± 0.117 mm

和 2.421 ± 0.088 mm, LVEF 和 LVFS 值分别为 78.152 ± 6.658 %和 40.079 ± 1.651 %, 与对照组相比, 糖尿病组 LVEDD 和 LVEDD 均明显增加 (4.823 ± 0.103 mm 和 3.701 ± 0.121 mm, $P<0.05$), LVEF 和 LVFS 值均明显降低 (37.121 ± 4.298 %和 21.023 ± 2.187 %, $P<0.05$); 与糖尿病组相比, 糖尿病 + 白藜芦醇组 LVEDD 和 LVEDD 均明显降低 (4.354 ± 0.113 mm 和 3.056 ± 0.130 mm, $P<0.05$), LVFS 和 LVEF 值均明显增加 (58.435 ± 8.143 %和 29.071 ± 2.232 %, $P<0.05$)。见图 1。

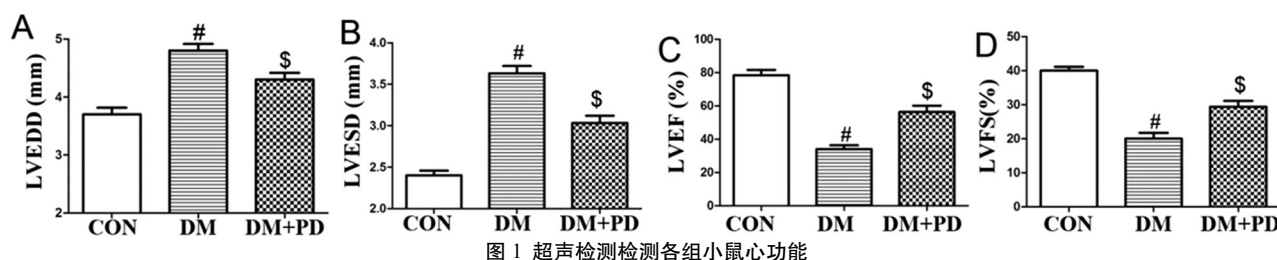


图 1 超声检测检测各组小鼠心脏功能

Fig. 1 Echocardiography was used to measure the cardiac function in different groups

Note: Data are expressed as Mean $\pm$ SD, n=15. # $P<0.05$ compared with group CON; \$ $P<0.05$ compared with group DM.

2.2 小鼠心脏天狼星红染色

如图 2 所示, 对照组小鼠心肌纤维排列整齐, 无明显胶原纤维沉积, CVF 值为 2.032 ± 0.577 %。与对照组相比, 糖尿病组小鼠心肌组织中有大量的胶原纤维沉积, 心肌纤维排列紊乱,

CVF 值显著增高 (20.102 ± 1.155 %, $P<0.05$); 与糖尿病组相比, 糖尿病 + 白藜芦醇组胶原纤维沉积显著减少, 肌纤维排列也有明显改善, CVF 值显著下降 (10.343 ± 0.882 %, $P<0.05$)。

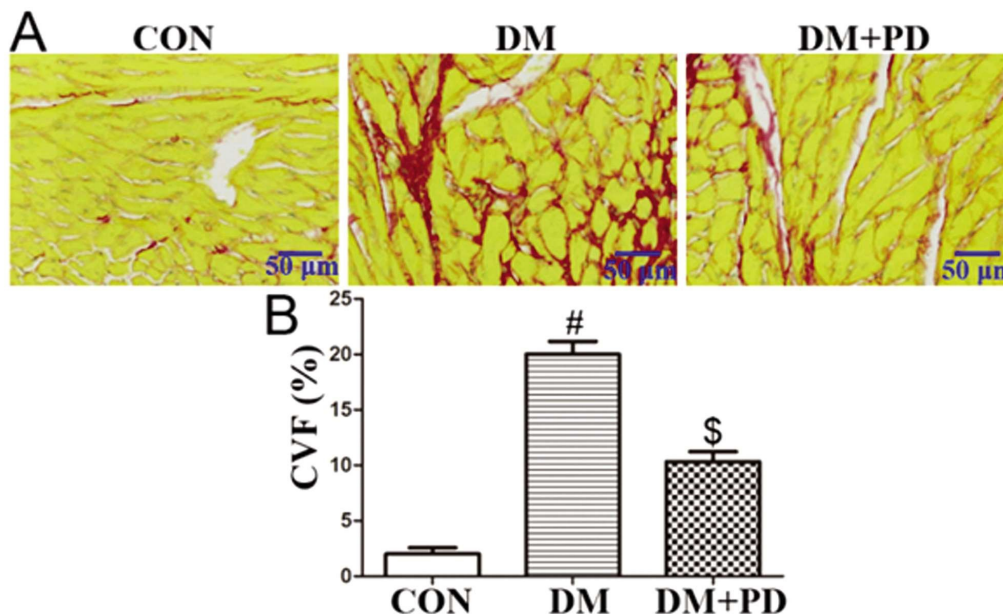


图 2 天狼星红染色观察胶原变化并计算 CVF

Fig.2 Sirius red staining was used to evaluate the changes of collagen and measure CVF

Note: Representative images of myocardial sections stained with sirius red. Data are expressed as Mean $\pm$ SD, n=6. # $P<0.05$ compared with group CON; \$ $P<0.05$ compared with group DM.

2.3 小鼠心肌线粒体 ATP 含量和柠檬酸合酶活性检测

对照组心肌线粒体 ATP 含量和柠檬酸合酶活性分别为 7.012 ± 0.173 nmol/g 和 161.7 ± 4.410 U/g, 与对照组相比, 糖尿病组小鼠心肌 ATP 含量和柠檬酸合酶活性显著降低 (5.267 ± 0.202 nmol/g 和 105 ± 7.638 U/g, $P<0.05$); 与糖尿病组相比, 糖尿病 + 白藜芦醇组小鼠心肌 ATP 含量和柠檬酸合酶活性显著

增加 (6.233 ± 0.176 nmol/g 和 132.7 ± 5.774 U/g, $P<0.05$)。见图 3。

2.4 小鼠心肌 Sirt3 和 p-AMPK 蛋白表达

与对照组相比, 糖尿病组小鼠心肌 Sirt3 和 p-AMPK 蛋白表达显著降低 ($P<0.05$); 与糖尿病组相比, 糖尿病 + 白藜芦醇组小鼠心肌 Sirt3 和 p-AMPK 蛋白表达显著增加 ($P<0.05$)。见图 4。

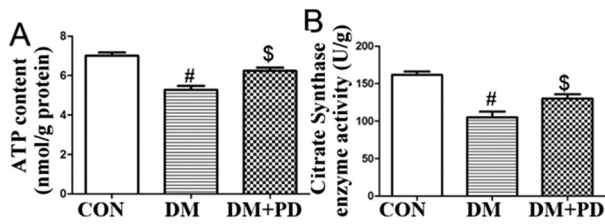


图3 ATP 生物荧光试剂盒和柠檬酸合酶检测试剂盒分别检测检测 ATP 含量和心肌柠檬酸合酶活性

Fig.3 The ATP content and citratesynthase activity of the myocardium were measured by using an adenosine triphosphate bioluminescent assay kit and citratesynthase activity assay kit

Note: Data are expressed as Mean $\pm$ SD, n=6. #P<0.05 compared with group CON; \$P<0.05 compared with group DM.

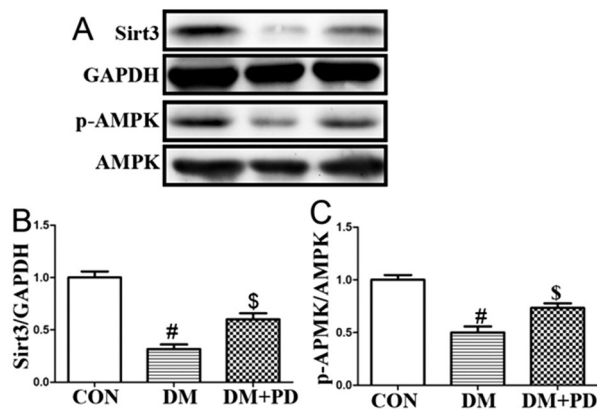


图4 Western blot 检测 Sirt3 和 p-AMPK 的蛋白表达

Fig.4 Sirt3 and p-AMPK expressions were evaluated by Western blot analysis

Note: Representative immunoblots for Sirt3, p-AMPK, AMPK and GAPDH in myocardial tissues from the respective groups and densitometric quantification. Data are expressed as Mean $\pm$ SD, n=5. #P<0.05 compared with group CON; \$P<0.05 compared with group DM.

3 讨论

糖尿病是危害人类健康的重大疾病,具有高发病率、高致残率和高致死率的特点^[8]。糖尿病可导致糖尿病心肌病在内的多种心血管并发症,糖尿病已然成为重大的公共卫生难题^[9]。糖尿病可直接对心肌产生损害甚至发生心力衰竭,且独立于冠心病、高血压等其它糖尿病心血管并发症^[10]。有文献报道,糖尿病患者中糖尿病心肌病的发病率约为 12%,64 岁以上的老年糖尿病患者中,糖尿病心肌病的发病率高达 22%^[11]。有大量文献报道,无论是 1 型糖尿病还是 2 型糖尿病,早期均可引起心脏舒张功能障碍,但心脏射血分数正常,晚期可引起心脏的收缩功能障碍,心脏射血分数显著降低^[12,13]。心肌纤维化和心肌肥大是糖尿病心肌病患者心力衰竭和心功能下降的主要原因,糖尿病可导致心肌细胞钙离子转运障碍,进一步导致心肌收缩和舒张异常,心脏解剖和心肌病理生理学也随之发生改变^[14,15]。在本研究中我们发现,与对照组相比,糖尿病组 LVESD 和 LVEDD 均明显增加,LVEF 和 LVFS 值均明显降低,小鼠心肌组织中有大量的胶原纤维沉积,心肌纤维排列紊乱,CVF 值显著增高,与文献报道结果相一致。

白藜芦醇甙又称为虎杖甙,是从蓼科植物虎杖的根和茎中提取出来的一种天然活性成分,具有清除自由基、抗氧化、抗菌、抗病毒、镇咳、平喘、保肝、降脂等多种生物学活性^[16]。白藜芦醇甙同时具有广泛的心血管保护作用^[17]。有研究发现,白藜芦醇甙可通过增加心肌自噬而对小鼠心肌缺血再灌注损伤起到保护作用^[5]。也有文献报道白藜芦醇甙可改善大鼠梗死后心肌重构和心力衰竭^[18]。还有文献报道白藜芦醇甙可抑制血管紧张素 II 诱导的心肌肥大^[19]。在本研究中我们发现,与糖尿病组相比,糖尿病 + 白藜芦醇甙组 LVESD 和 LVEDD 均明显降低,LVFS 和 LVEF 值均明显增加,胶原纤维沉积显著减少,肌纤维排列也有明显改善,CVF 值显著下降,首次发现白藜芦醇甙可改善糖尿病小鼠心肌损伤。

沉默调节因子蛋白家族是一类高度保守的依赖于 NAD⁺ 的蛋白去乙酰化酶,目前公认的有 7 个成员(Sirt1~Sirt7),可调节多种蛋白的乙酰化修饰和 ADP 核糖基修饰^[20-24]。在这 7 个成员中,Sirt3 定位于线粒体,并且参与调节多种线粒体代谢途径^[22]。Sirt3 在心肌 ATP 合成和 ATP 含量的维持中发挥重要的作用,同时 Sirt3 是 AMPK 激活的重要调节因子^[25-27]。有研究发现糖尿病小鼠心肌 Sirt3 和 p-AMPK 表达降低,可进一步导致心肌线粒体损伤和能量代谢障碍^[28]。本研究发现,与对照组相比,糖尿病组小鼠心肌 Sirt3 和 p-AMPK 蛋白表达显著降低,线粒体 ATP 含量和柠檬酸合酶活性显著降低,与文献报道结果相一致。此外有文献报道,白藜芦醇甙可激活 Sirt3 介导线粒体保护,从而改善缺血性休克导致的小肠损伤^[29]。白藜芦醇甙还可激活 Sirt3/AMPK 信号通路上调自噬对急性梗死后心肌损伤起到保护作用^[6]。但是由于细胞类型和动物模型的不同,藜芦醇甙能否通过激活 Sirt3/AMPK 信号通路从而改善糖尿病小鼠心肌损伤尚不清楚。本研究发现,与糖尿病组相比,糖尿病 + 白藜芦醇甙组小鼠心肌 Sirt3 和 p-AMPK 蛋白表达显著增加,心肌线粒体 ATP 含量和柠檬酸合酶活性显著增加。首次发现白藜芦醇甙可能通过激活 Sirt3/AMPK 信号通路减少线粒体损伤从而对糖尿病心肌损伤起保护作用。

综上,本研究发现白藜芦醇甙可改善糖尿病小鼠心肌损伤,其机制可能与白藜芦醇甙激活 Sirt3/AMPK 信号通路有关。不仅为白藜芦醇甙的应用提供了一定的临床参考,同时为临床治疗糖尿病心肌病提供新的药物治疗靶点。

参考文献(References)

- [1] Bugger H, Bode C. The vulnerable myocardium. Diabetic cardiomyopathy[J]. Hamostaseologie, 2015, 35(1): 17-24
- [2] Trachanas K, Sideris S, Aggeli C, et al. Diabetic cardiomyopathy: from pathophysiology to treatment [J]. Hellenic J Cardiol, 2014, 55 (5): 411-421
- [3] Du QH, Peng C, Zhang H. Polydatin: a review of pharmacology and pharmacokinetics[J]. Pharm Biol, 2013, 51(11): 1347-1354
- [4] Liu LT, Guo G, Wu M, et al. The progress of the research on cardio-vascular effects and acting mechanism of polydatin [J]. Chin J Integr Med, 2012, 18(9): 714-719
- [5] Ling Y, Chen G, Deng Y, et al. Polydatin post-treatment alleviates myocardial ischaemia/reperfusion injury by promoting autophagic flux [J]. Clin Sci (Lond), 2016, 130(18): 1641-1653

- [6] Zhang M, Zhao Z, Shen M, et al. Polydatin protects cardiomyocytes against myocardial infarction injury by activating Sirt3 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1863(8): 1962-1972
- [7] Zhang M, Zhang L, Hu J, et al. MST1 coordinately regulates autophagy and apoptosis in diabetic cardiomyopathy in mice [J]. *Diabetologia*, 2016, 59(11): 2435-2447
- [8] Holscher ME, Bode C, Bugger H. Diabetic Cardiomyopathy: Does the Type of Diabetes Matter?[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): 159-161
- [9] Falcao-Pires I, Leite-Moreira AF. Diabetic cardiomyopathy: understanding the molecular and cellular basis to progress in diagnosis and treatment[J]. *Heart Fail Rev*, 2012, 17(3): 325-344
- [10] Bando YK, Murohara T. Diabetes-related heart failure [J]. *Circ J*, 2014, 78(3): 576-583
- [11] Bertoni AG, Hundley WG, Massing MW, et al. Heart failure prevalence, incidence, and mortality in the elderly with diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(3): 699-703
- [12] Jarosz J, Ghosh S, Delbridge LM, et al. Changes in mitochondrial morphology and organization can enhance energy supply from mitochondrial oxidative phosphorylation in diabetic cardiomyopathy[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2017, 312(2): C190-C197
- [13] Mizamtsidi M, Paschou SA, Grapsa J, et al. Diabetic cardiomyopathy: a clinical entity or a cluster of molecular heart changes?[J]. *Eur J Clin Invest*, 2016, 46(11): 947-953
- [14] Sahoo S, Emanueli C. Exosomes in Diabetic Cardiomyopathy: The Next-Generation Therapeutic Targets? [J]. *Diabetes*, 2016, 65 (10): 2829-2831
- [15] Bai T, Wang F, Mellen N, et al. Diabetic cardiomyopathy: role of the E3 ubiquitin ligase[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 310(7): E473-E483
- [16] Wang HL, Cui XH, Yu HL, et al. Synergistic effects of polydatin and vitamin C in inhibiting cardiotoxicity induced by doxorubicin in rats [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2017, 31(3): 280-291
- [17] Wang HL, Gao JP, Han YL, et al. Comparative studies of polydatin and resveratrol on mutual transformation and antioxidative effect in vivo[J]. *Phytomedicine*, 2015, 22(5): 553-559
- [18] Gao Y, Gao J, Chen C, et al. Cardioprotective effect of polydatin on ventricular remodeling after myocardial infarction in coronary artery ligation rats[J]. *Planta Med*, 2015, 81(7): 568-577
- [19] Zhang Q, Tan Y, Zhang N, et al. Polydatin prevents angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and myocardial superoxide generation[J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2015, 240(10): 1352-1361
- [20] Van de Ven R, Santos D, Haigis MC. Mitochondrial Sirtuins and Molecular Mechanisms of Aging [J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23(4): 320-331
- [21] Grabowska W, Sikora E, Bielak-Zmijewska A. Sirtuins, a promising target in slowing down the ageing process[J]. *Biogerontology*, 2017, 6 (41): 145-150
- [22] Xiong Y, Wang M, Zhao J, et al. Sirtuin 3: A Janus face in cancer (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(6): 2227-2235
- [23] Ye X, Li M, Hou T, et al. Sirtuins in glucose and lipid metabolism[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 1845-1859
- [24] Correia M, Perestrelo T, Rodrigues AS, et al. Sirtuins in metabolism, stemness and differentiation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1861(1 Pt A): 3444-3455
- [25] Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, et al. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1alpha in skeletal muscle[J]. *Aging (Albany NY)*, 2009, 1(9): 771-783
- [26] Lai YC, Tabima DM, Dube JJ, et al. SIRT3-AMP-Activated Protein Kinase Activation by Nitrite and Metformin Improves Hyperglycemia and Normalizes Pulmonary Hypertension Associated With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction [J]. *Circulation*, 2016, 133(8): 717-731
- [27] Carlstrom M, Lundberg JO. Letter by Carlstrom and Lundberg Regarding Article, "SIRT3-AMP-Activated Protein Kinase Activation by Nitrite and Metformin Improves Hyperglycemia and Normalizes Pulmonary Hypertension Associated With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction"[J]. *Circulation*, 2016, 134(6): e77-e78
- [28] Hou X, Zeng H, He X, et al. Sirt3 is essential for apelin-induced angiogenesis in post-myocardial infarction of diabetes [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(1): 53-61
- [29] Zeng Z, Yang Y, Dai X, et al. Polydatin ameliorates injury to the small intestine induced by hemorrhagic shock via SIRT3 activation-mediated mitochondrial protection [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2016, 20(6): 645-652

(上接第 1615 页)

- [24] Hsieh Y, Liao C, Chen W, et al. Shikonin Inhibited Migration and Invasion of Human Lung Cancer Cells via Suppression of c-Met-Mediated Epithelial-to-Mesenchymal Transition [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2017, 118(12): 4639-4651
- [25] Yeh Y, Liu T, Lai H. Shikonin Induces Apoptosis, Necrosis, and Premature Senescence of Human A549 Lung Cancer Cells through Up-regulation of p53 Expression[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 2015: 1-13
- [26] 王媛, 刘莉, 陆远, 等. 紫草素逆转埃克替尼对肺癌 EGFR-TKI 耐药及其机制的研究[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(16): 3044-3047
- Wang Yuan, Liu Li, Lu Yuan, et al. Shikonin Sensitizes EGFR-TKI Resistant Lung Cancer Adenocarcinoma Cell to Icotinib [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2016, 16(16): 3044-3047
- [27] 李响, 李郑, 程毅, 等. 三七总皂甙对人急性髓系白血病细胞株 U937 的抑制增殖及诱导凋亡作用 [J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(04): 657-660
- Li Xiang, Li Zheng, Cheng Yi, et al. Antiproliferative and Proapoptotic Effects of Panax Notoginsenosides on Acute Myelogenous Leukemia Cells U937 [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2016, 16 (04): 657-660
- [28] Yaoi X, Lu B, Lu C, et al. Taraxerol Induces Cell Apoptosis through A Mitochondria-Mediated Pathway in HeLa Cells[J]. *Cell J*, 2017, 19 (3): 512-519
- [29] Birkinshaw R W, Czabotar P E. The BCL-2 family of proteins and mitochondrial outer membrane permeabilisation [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2017[Epub ahead of print]
- [30] Yamaguchi M. The anti-apoptotic effect of regucalcin is mediated through multisignaling pathways [J]. *Apoptosis*, 2013, 18 (10): 1145-1153