

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.09.009
文章编号: 1005-8982 (2025) 09-0054-09

实验研究·论著

间歇性低氧干预调节p-STAT3/CPT-1对 心肌梗死后小鼠心肌脂肪酸代谢的 影响及机制研究*

闫馨月^{1,2}, 黄传¹, 江玉娟², 万春晓¹

(1.天津医科大学总医院 康复医学科, 天津 300052; 2.沧州市中心医院 康复医学科,
河北 沧州 061001)

摘要: 目的 探讨间歇性低氧(IH)对心肌梗死小鼠心肌脂肪酸代谢的影响及作用机制。**方法** 随机选取6~8周龄雄性C57BL6/J小鼠共32只,随机分为4组:假手术常氧组、假手术间歇性低氧组、心肌梗死常氧组和心肌梗死间歇性低氧组,每组8只。采用左冠状动脉前降支结扎复制心肌梗死模型。模型复制成功1周后开始实验干预,低氧干预4 h/d,5 d/周,持续4周。假手术组在常压常氧环境下饲养。间歇性低氧组置于低氧舱(模拟海拔5 000 m环境,氧浓度为13%)。4周后,分别检测各组小鼠的体重、运动耐量、左室射血分数(LVEF)、心肌纤维化水平、心肌线粒体结构、三磷酸腺苷(ATP)含量、柠檬酸合酶(CS)活性及脂肪酸代谢相关蛋白:脂肪酸转运酶CD36(CD36)、长链脂酰辅酶A脱氢酶(LCAD)、酰基辅酶A氧化酶1(ACOX1)蛋白表达水平,以及信号转导和转录活化因子3(STAT3)和肉碱脂酰转移酶1(CPT1)的蛋白及基因表达水平。**结果** 4周干预结束后,与心肌梗死常氧组比较,心肌梗死间歇性低氧组小鼠的运动耐量增加($P<0.05$)、LVEF升高($P<0.05$)、心肌纤维化指数降低($P<0.05$)、心肌线粒体状态改善、ATP含量增高($P<0.05$)、CS活性改善($P<0.05$)、脂肪酸氧化相关蛋白CD36、LCAD和ACOX1蛋白水平升高,p-STAT3蛋白水平升高,CPT1蛋白和基因表达均升高($P<0.05$)。**结论** 间歇性低氧干预可通过调控小鼠p-STAT3/CPT1通路,增加心肌梗死后心肌细胞的脂肪酸氧化,提高能量代谢,改善线粒体结构,降低心肌纤维化,保护心功能。

关键词: 心肌梗死; 间歇性低氧干预; 脂肪酸代谢; 线粒体; 心脏康复

中图分类号: R542.22

文献标识码: A

The effect of intermittent hypoxia intervention regulating p-STAT3/ CPT-1 on myocardial fatty acid metabolism in mice after myocardial infarction and its mechanism*

Yan Xin-yue^{1,2}, Huang Chuan¹, Jiang Yu-juan², Wan Chun-xiao¹

(1. Department of Rehabilitation Medicine, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China; 2. Department of Rehabilitation Medicine, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou, Hebei 061001, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of intermittent hypoxia (IH) intervention on myocardial fatty acid metabolism and its mechanism through p-STAT3/CPT-1 regulation in post-myocardial infarction (MI) mice.

收稿日期: 2024-11-21

* 基金项目: 天津市医学重点学科(专业)建设项目(No: TJYXZDXK-060B);“双一流”学科建设项目(No: TJWJ2022XK007);天津市卫生健康科技项目(No: TJWJ2023QN008)

[通信作者] 万春晓, E-mail: rehabteamofwan@163.com; Tel: 18522956917

Methods Thirty-two 6-8-week-old male C57BL6/J mice were randomly divided into four groups ($n = 8/\text{group}$): sham-normoxia (SED), sham-IH, MI-normoxia (MI-SED), and MI-IH. MI was induced by left anterior descending coronary artery ligation. After 1-week recovery, IH groups received 4 h/day, 5 days/week hypoxia (simulated 5 000 m altitude, 13% O₂) for 4 weeks. We assessed body weight, exercise tolerance, left ventricular ejection fraction (LVEF), myocardial fibrosis, mitochondrial ultrastructure, ATP content, citrate synthase (CS) activity, and protein expression (CD36, LCAD, ACOX1, p-STAT3, CPT1). **Results** Compared with MI-SED, MI-IH showed: improved exercise tolerance ($P < 0.05$), increased LVEF ($P < 0.05$), reduced fibrosis ($P < 0.05$), preserved mitochondrial structure, elevated ATP ($P < 0.05$) and CS activity ($P < 0.05$). Fatty acid oxidation proteins (CD36, LCAD, ACOX1) and p-STAT3 expression increased significantly. Both protein and gene expression of CPT1 were upregulated (all $P < 0.05$). **Conclusion** IH improves post-MI cardiac function by enhancing fatty acid oxidation via p-STAT3/CPT-1 pathway, preserving mitochondrial integrity and reducing fibrosis.

Keywords: myocardial infarction; intermittent hypoxia intervention; fatty acid metabolism; mitochondria; cardiac rehabilitation

心肌梗死是全球导致死亡和残疾的主要原因之一,心肌组织缺乏有效灌注会导致心功能恶化,严重时会导致死亡^[1]。研究发现心脏康复可降低20%~25%心血管疾病病死率,并降低38%的复发率,有效改善心血管疾病患者的生活质量^[2]。心脏康复有多种形式,近年来,间歇性低氧作为一种新型心脏康复方式获得了广泛关注^[3]。间歇性低氧指在一定时间内间断地暴露于低氧环境中,其余时间处于常氧环境,造成体内适度缺氧状态。本课题组既往研究表明,间歇性低氧能提高心肌细胞有氧代谢能力,增加缺血耐受,产生心脏保护效应,但其分子机制尚待进一步研究^[4]。

脂肪酸转位酶(fatty acid translocase, CD36)是主要的脂肪酸摄取蛋白之一。心肌细胞通过脂酰基辅酶A合成酶转化为脂酰基辅酶A,与酰基辅酶A结合蛋白结合,由肉碱棕榈酰转移酶(carnitine palmitoyl transferase, CPT)1和CPT2转运进入线粒体,通过脂肪酸氧化酶长链酰基辅酶A脱氢酶(Long-chain acyl-CoA dehydrogenase, LCAD)和脂酰基辅酶A氧化酶1(Acyl-coenzyme A oxidase 1, ACOX1)等蛋白酶降解,最终生成乙酰辅酶A进入柠檬酸循环,产生的还原当量通过电子传递链合成三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)并消耗氧气。循环脂肪酸的含量、脂肪酸转运蛋白和脂肪酸 β 氧化酶在调控心肌细胞脂肪酸代谢中发挥极其重要的作用^[5]。

信号转导和转录活化因子3(signal transducer and activator of transcription, STAT3)参与调节多种心脏病理生理过程,如缺血预适应、缺血再灌注、缺血

后适应和心脏肥厚等。研究发现心脏缺血时STAT3发生磷酸化并激活,活化的磷酸化STAT3(p-STAT3)在心脏缺血再灌注中发挥保护作用^[6-7]。心脏能量的70%~90%来源于脂肪酸 β 氧化,心肌梗死后脂肪酸氧化能力下降是心肌损害的主要原因之一^[8]。CPT1是脂肪 β -氧化的限速酶,位于线粒体外膜,催化酯酰辅酶A进入线粒体内膜进行 β -氧化,可调控脂肪酸氧化速率^[9]。相关研究发现,CPT1是STAT3的一个下游靶点,p-STAT3的核易位可促进CPT1基因和蛋白的表达,从而调控脂肪酸氧化。相反,p-STAT3/CPT1通路的失活会降低心肌的脂肪酸氧化水平,加重心肌损伤^[10]。本团队既往研究显示间歇性低氧可以改善心肌梗死后受损的线粒体的结构和功能,保护心功能^[4]。但关于间歇性低氧干预如何改善心肌梗死小鼠心肌脂肪酸代谢和保护心功能,以及其中是否有p-STAT3/CPT1通路参与目前尚不清楚。

本研究拟复制心肌梗死小鼠模型,对其进行间歇性低氧或常氧干预,观察间歇性低氧/常氧对心肌梗死后小鼠心肌p-STAT3/CPT1通路变化及脂肪酸代谢的影响,探究间歇性低氧在心肌梗死后发挥心功能保护作用的分子机制,从而为心脏康复提供新的方案和治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 研究时间 2023年7月—2024年1月。

1.1.2 实验动物及分组 选用32只6~8周龄雄性C57BL6/J小鼠,体重20~24 g,由北京华阜康实验动

物中心提供[实验动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006,实验动物使用许可证号:SYXK(津)2023-0004]。在无菌环境中保持温度(23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度(50 ± 10)%,昼夜 12 h 交替,标准饮食,自由进食/饮水饲养。将小鼠随机分为假手术常氧组、假手术间歇性低氧组、心肌梗死常氧组、心肌梗死间歇性低氧组,每组 8 只。本研究经天津医科大学伦理委员会审核批准(No:TMUaMEC 2018037)。

1.1.3 实验仪器设备 动物超声仪(加拿大 Visualsonics 有限公司,型号:Vevo770),小动物无创正压呼吸机(安徽正华生物仪器公司),动物跑台(北京众实迪科技发展有限公司),动物低氧舱(山东烟台宏远氧业公司),Bio-Rad 通用电泳仪(美国 Bio-Rad 公司),透射电子显微镜(日本 Hitachi 公司)。

1.1.4 实验试剂 ATP 含量检测试剂盒(上海医疗器械有限公司,货号:BC0300,规格:50 T/48 s),柠檬酸合酶(Citrate synthase, CS)活性检测试剂盒(上海医疗器械有限公司,货号:BC1060,规格:25 T/12 s),LCAD 抗体(#27748)、ACOCX1 抗体(#36021)、STAT3 抗体(#11045)、CD36 抗体(#33046)、CPT1 抗体(#32761)(美国 SAB 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 复制心肌梗死小鼠模型 采用结扎左冠状动脉前降支(left anterior descending, LAD)复制心肌梗死模型^[11]。麻醉和固定小鼠,分离暴露心脏,于左心房下方约 2 mm 处用 6-0 线缝合进行 LAD 结扎,当心电图 II 导联和 V1 导联 ST 段抬高 > 0.2 mV 及局部心肌颜色改变显示模型复制成功。假手术组小鼠给予相同手术操作,术中不结扎 LAD。之后所有小鼠均在标准条件下常规饲养。模型复制成功 1 周后开始实验干预,持续 4 周。

1.2.2 低氧和常氧干预方案 干预方案如本课题前期研究所述^[11]。常氧干预:小鼠于常压常氧环境饲养。间歇性低氧干预:小鼠置于低氧舱(模拟海拔 5 000 m,氧浓度为 13%)内,间歇进行低氧干预(低氧干预每持续 1 h,改为吸常氧 10 min),低氧干预 4 h/d,5 d/周。

1.2.3 运动耐量测试 模型复制成功 1 周后,在实验干预前及 4 周干预结束后对 4 组小鼠进行运动耐量检测^[11]。将各组大鼠放于 15° 倾斜的跑台上,起始速度为 6 m/min,每 3 min 速度增加 3 m/min,至小鼠

力竭为止,跑动的总距离作为小鼠的运动耐量。

1.2.4 心脏超声检测 模型复制成功 1 周后,在实验干预前及 4 周干预结束后对 4 组小鼠进行超声心动图检查。小鼠麻醉后仰卧位固定,使用小动物超声仪观察心脏结构和功能(17.5 MHz 探头, M 模块)。采集相关数据并由机器自动计算获得左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF),每只小鼠测量 3 个心动周期取其平均值。

1.2.5 透射电镜检测心肌细胞及线粒体超微结构 干预结束后,每组随机取 3 只小鼠处死获取心脏。在距心肌梗死区 1 ~ 2 mm 处取 0.1 g 心肌组织,用 6% 戊二醛固定并 4°C 环境下过夜。再经 1% 四氧化锇固定,样品经脱水后常规处理,再制成 0.06 mm 超薄切片,通过透射电子显微镜观察心肌细胞及线粒体超微结构^[12]。

1.2.6 免疫组织学染色 获取 3 只小鼠心脏(同 1.2.5)。在心脏结扎点至心尖部位取梗死区域厚度约 3 mm 的横截面,用 4% 多聚甲醛固定 24 h 后,脱水、石蜡包埋,使用石蜡切片机将心脏组织切成 5 μm 左右的切片。心脏组织切片经脱蜡复水后进行 Masson 染色。组织封片后,用光学显微镜对每组小鼠心脏组织切片进行观察并拍照。采用 Image J 软件计算心肌梗死面积占比,并进行统计学分析^[11]。

1.2.7 ATP 含量和 CS 活性检测 为观察间歇性低氧对每组小鼠心肌能量代谢的影响,检测各组小鼠心肌的 ATP 含量和 CS 活性。干预结束后,每组随机取 5 只小鼠处死获取心脏,取距小鼠心肌梗死区 1 ~ 2 mm 处 0.1 g 心肌组织置于冰上,按 ATP 含量测定试剂盒说明书进行操作,测定 340 nm 处吸光度值,再根据公式计算样本 ATP 含量。同样取 0.1 g 心肌组织置于冰上,按 CS 活性测定试剂盒说明书进行操作,测定 412 nm 处吸光度值,再根据公式计算样本 CS 活性。

1.2.8 Western blotting 检测蛋白表达 取各组 5 只小鼠(同 1.2.7)距心肌梗死区 1 ~ 2 mm 处心肌组织并置于匀浆管中,加入 RIPA 裂解液匀浆后 4°C 下 12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,采用 BCA 法定量蛋白浓度。将蛋白煮沸变性后,取 50 μg 蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳分离,随后 100 V 恒压将蛋白转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。将 PVDF 膜用 5% 脱脂牛奶在室温下封闭 1 h。再分别加入稀释的 p-STAT3(1:1 000)、

CPT1(1:1 000)、CD36(1:1 000)、LCAD(1:1 000)、ACOX1(1:1 000)、GAPDH(1:2 000)抗体(美国SAB公司)。在4℃下摇床孵育过夜。次日,TBST快速洗膜3次后加入稀释的二抗溶液(比例为1:5 000),室温摇床孵育1h。TBST洗膜3次后,采用电化学发光液(ECL),通过凝胶电泳成像仪显影,定影获得凝胶图像。用Image J软件测定目的蛋白和内参蛋白的灰度值,计算两者之间的比值,并进行统计分析。

1.2.9 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测基因表达 取各组5只小鼠(同1.2.7)距心肌梗死区1~2 mm处心肌组织。用TRIzol提取心肌组织样本的RNA,紫外分光光度计进行定量检测,逆转录合成cDNA,qRT-PCR扩增分析产物。扩增体系20 μL:5×Swe Script All-in-One SuperMix for qPCR, 4 μL; gDNA Remover, 1 μL; Total RNA 10 μL; Nuclease-Free Water,加至20 μL。扩增条件:95℃预变性30 s;95℃变性15 s,60℃退火30 s,40个循环;做熔解曲线。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量。CPT1b正向引物:5'-GAGTTTGTCTGGGCACTGATA-3',反向引物:5'-CCTTGGCTACTTGGTACGAGTT-3',引物长度均160 bp; GAPDH正向引物:5'-CCTCGTCCCCTAGACAAAATG-3',反向引物:5'-TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT-3',引物长度均133 bp。

1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 26.0统计软件。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 间歇性低氧对4组小鼠运动耐量和LVEF的影响

干预前,4组小鼠的运动耐量比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);进一步两两比较,心肌梗死常氧组和心肌梗死间歇性低氧组小鼠的运动耐量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明,在干预前,心肌梗死小鼠的运动耐量无明显差异。干预后,4组小鼠的运动耐量比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);进一步两两比较,

心肌梗死常氧组和心肌梗死间歇性低氧组小鼠的运动耐量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果表明,经过4周干预,心肌梗死间歇性低氧组小鼠的运动耐量较心肌梗死常氧组明显提高。见表1。

表1 4组小鼠干预前、干预4周后的运动耐量比较

($n=8, m, \bar{x} \pm s$)

组别	干预前	干预4周后
假手术常氧组	274.07 ± 26.48	367.11 ± 49.42
假手术间歇性低氧组	288.45 ± 40.65	376.76 ± 54.94
心肌梗死常氧组	225.83 ± 32.75	248.90 ± 37.11
心肌梗死间歇性低氧组	227.45 ± 34.69 ^①	310.28 ± 38.99 ^②
F值	8.895	16.684
P值	0.000	0.000

注:①与心肌梗死常氧组比较, $P > 0.05$;②与心肌梗死常氧组比较, $P < 0.05$ 。

干预前,4组小鼠的LVEF比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);进一步两两比较,心肌梗死常氧组和心肌梗死间歇性低氧组小鼠的LVEF比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明,在干预前,心肌梗死小鼠的LVEF无明显差异。干预后,4组小鼠的LVEF比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);进一步两两比较,心肌梗死常氧组和心肌梗死间歇性低氧组小鼠的LVEF比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果表明,经过4周的干预,心肌梗死间歇性低氧组小鼠的LVEF较心肌梗死常氧组明显提高。见表2和图1。

表2 4组小鼠干预前、干预4周后的LVEF比较

($n=8, \%, \bar{x} \pm s$)

组别	干预前	干预4周后
假手术常氧组	75.0 ± 3.7	75.5 ± 5.2
假手术间歇性低氧组	71.9 ± 2.9	76.5 ± 3.7
心肌梗死常氧组	34.7 ± 3.0	41.4 ± 2.9
心肌梗死间歇性低氧组	34.9 ± 3.7 ^①	55.2 ± 3.4 ^②
F值	445.332	190.882
P值	0.000	0.000

注:①与心肌梗死常氧组比较, $P > 0.05$;②与心肌梗死常氧组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 间歇性低氧对各组小鼠心肌细胞线粒体形态变化的影响

干预4周后,采用电子显微镜观察各组小鼠心

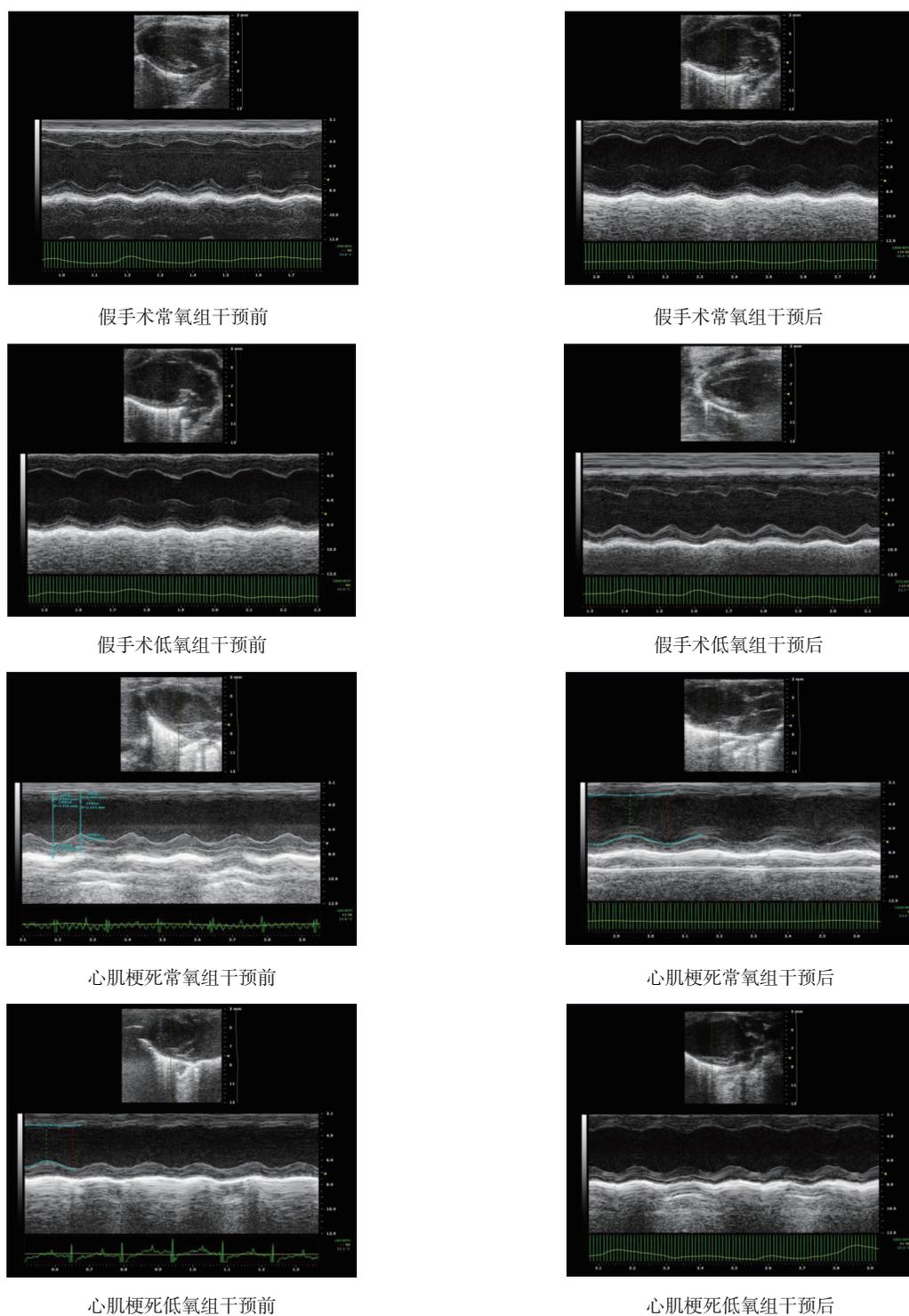


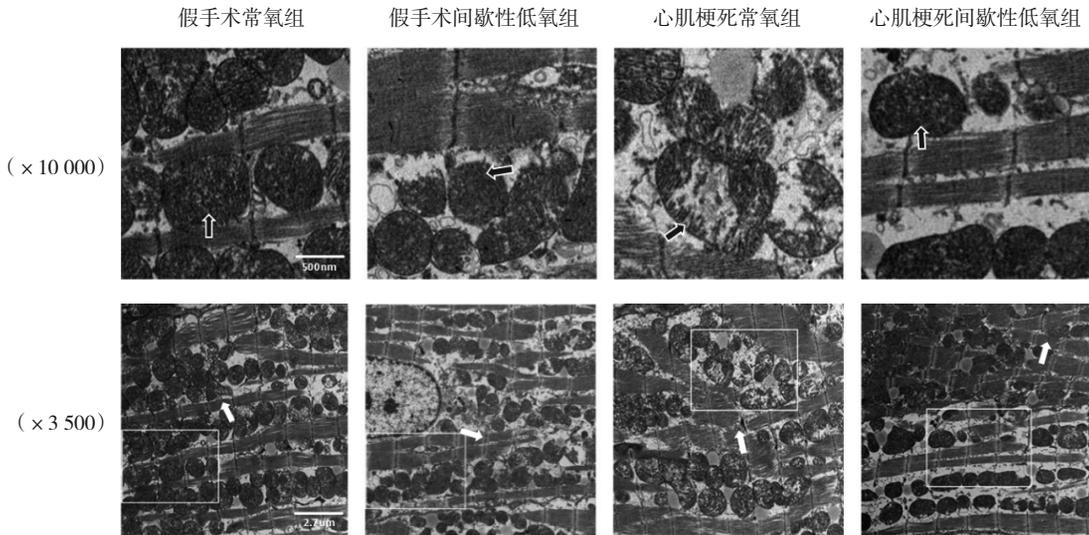
图1 4组小鼠心脏超声图

肌梗死区域的心肌细胞和线粒体。3 500倍镜视野下,假手术常氧组、假手术间歇性低氧组小鼠心肌细胞显示出正常的细胞结构,肌纤维呈致密、有序排列状态,结构清晰,形态完整,且纤维闰盘完整;与假手术组比较,心肌梗死常氧组小鼠心肌细胞受损,肌纤维排列紊乱且明显疏松、断裂,部分肌浆出

现溶解;与心肌梗死常氧组比较,心肌梗死间歇性低氧组心肌细胞结构基本正常,肌纤维较为密集且有序排列,结构清晰,纤维闰盘完整,与假手术组无显著差异。10 000倍镜视野下,可见假手术常氧组、假手术间歇性低氧组心肌线粒体结构完整,有序且紧密排列,线粒体膜结构完整,嵴整齐;与假手术组

比较,心肌梗死常氧组线粒体明显肿胀、空泡化,排列紊乱,线粒体膜完整性被破坏,嵴呈稀疏断裂状态;与心肌梗死常氧组比较,心肌梗死间歇性低氧

组心肌线粒体结构明显改善,膜完整,嵴较为密集,与假手术组无显著差异。见图2。



假手术组黑色箭头示心肌细胞结构正常,白色箭头示心肌线粒体膜完整,嵴正常。心肌梗死常氧组黑色箭头示心肌细胞结构疏松、肌浆溶解,白色箭头示线粒体明显肿胀,膜欠完整,嵴稀疏断裂。心肌梗死间歇性低氧组黑色箭头示心肌细胞结构改善,白色箭头示线粒体肿胀明显减轻,线粒体膜完整,嵴较密集。

图2 4组小鼠心肌细胞及线粒体超微结构比较

2.3 间歇性低氧对各组小鼠心肌纤维化水平的影响

干预4周后,对各组大鼠进行心肌Masson染色,心肌细胞呈红色,胶原纤维呈蓝色。假手术常氧组和假手术间歇性低氧组小鼠心肌呈红色,无梗死区域。心肌梗死小鼠心肌出现纤维化。见图3。

死常氧组和心肌梗死间歇性低氧组小鼠心肌纤维化指数分别为(0±0)%、(0±0)%、(23.0±7.9)%、(8.8±2.5)%。4组比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=35.228, P=0.000$);进一步两两比较,与心肌梗死常氧组对比,心肌梗死间歇性低氧组小鼠的心肌纤维化指数降低($P<0.05$)。

假手术常氧组、假手术间歇性低氧组、心肌梗

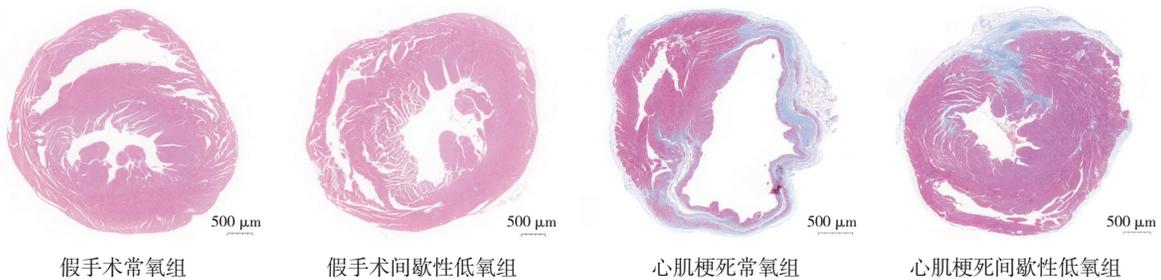


图3 4组小鼠心肌Masson染色比较 (×10)

2.4 间歇性低氧对各组小鼠心肌能量代谢的影响

干预结束后,4组小鼠ATP含量比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$);进一步两两比较,与心肌梗死常氧组对比,心肌梗死间歇性低氧组小鼠的心肌ATP含量增高($P<0.05$)。干预结束后,4组小鼠CS活性比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$);进一步两两比较,与心肌梗死常氧

组对比,心肌梗死间歇性低氧组小鼠的心肌CS活性增高($P<0.05$)。见表3。

2.5 间歇性低氧对各组小鼠心肌脂肪酸氧化的影响

干预4周后,4组小鼠心肌组织的LCAD、CD36、ACOX1蛋白相对表达量比较,经方差分析,差异均有统计学意义($P<0.05$);进一步两两比较,与心肌

表 3 各组小鼠 ATP 含量和 CS 活性比较 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	ATP/($\mu\text{mol/mL}$)	CS 活性/(u/g)
假手术常氧组	3.3 \pm 0.5	6 450.3 \pm 618.4
假手术间歇性低氧组	3.8 \pm 0.6	6 701.4 \pm 590.4
心肌梗死常氧组	1.6 \pm 0.4	3 957.2 \pm 792.4
心肌梗死间歇性低氧组	2.5 \pm 0.4 [†]	5 173.6 \pm 560.0 [†]
F 值	21.715	23.024
P 值	0.000	0.000

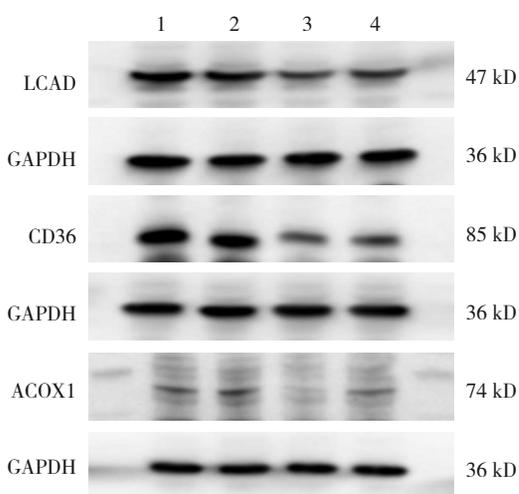
注: [†] 与心肌梗死常氧组比较, P < 0.05。

梗死常氧组对比, 心肌梗死间歇性低氧组小鼠心肌组织的 LCAD、CD36、ACOX1 蛋白相对表达量增高 (P < 0.05)。见表 4 和图 4。

表 4 各组小鼠 LCAD、CD36、ACOX1 蛋白相对表达量比较 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

组别	LCAD	CD36	ACOX1
假手术常氧组	1.08 \pm 0.05	0.84 \pm 0.10	0.78 \pm 0.12
假手术间歇性低氧组	1.09 \pm 0.11	0.76 \pm 0.08	0.79 \pm 0.17
心肌梗死常氧组	0.53 \pm 0.08	0.33 \pm 0.10	0.36 \pm 0.09
心肌梗死间歇性低氧组	0.76 \pm 0.06 [†]	0.46 \pm 0.10 [†]	0.62 \pm 0.14 [†]
F 值	68.783	41.715	14.084
P 值	0.000	0.000	0.000

注: [†] 与心肌梗死常氧组比较, P < 0.05。



1: 假手术常氧组; 2: 假手术间歇性低氧组; 3: 心肌梗死常氧组; 4: 心肌梗死间歇性低氧组。

图 4 各组小鼠 LCAD、CD36、ACOX1 蛋白表达

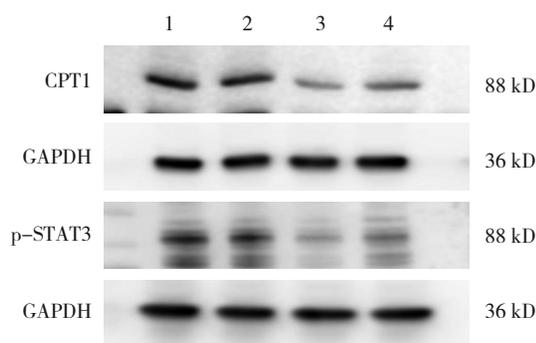
2.6 间歇性低氧对各组小鼠心肌 p-STAT3/CPT1 通路的影响

干预 4 周后, 4 组小鼠的心肌组织的 CPT1、p-

STAT3 蛋白表达、CPT1 基因相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 (P < 0.05); 进一步两两比较, 与心肌梗死常氧组对比, 心肌梗死间歇性低氧组小鼠心肌组织的 CPT1、p-STAT3 蛋白表达增高 (P < 0.05)、CPT1 基因相对表达量增高 (P < 0.05)。见表 5 和图 5。

表 5 各组小鼠 CPT1、p-STAT3 蛋白、CPT1 基因相对表达量比较 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

组别	CPT1 蛋白	p-STAT3 蛋白	CPT1 基因相对表达量
假手术常氧组	0.87 \pm 0.10	0.75 \pm 0.09	5.12 \pm 1.16
假手术间歇性低氧组	0.90 \pm 0.13	0.78 \pm 0.13	6.37 \pm 1.17
心肌梗死常氧组	0.38 \pm 0.13	0.39 \pm 0.11	1.09 \pm 0.20
心肌梗死间歇性低氧组	0.69 \pm 0.29	0.60 \pm 0.11	3.39 \pm 0.26
F 值	10.887	14.896	44.634
P 值	0.000	0.000	0.000



1: 假手术常氧组; 2: 假手术间歇性低氧组; 3: 心肌梗死常氧组; 4: 心肌梗死间歇性低氧组。

图 5 各组小鼠 CPT1、p-STAT3 蛋白表达

3 讨论

本研究结果显示, 经过 4 周干预, 与心肌梗死常氧组比较, 心肌梗死间歇性低氧组的运动耐量、LVEF、心肌线粒体数量、CS 活性及 ATP 含量均显著增加。心肌梗死间歇性低氧组心肌 p-STAT3、CPT1、LCAD、CD36、ACOX1 的蛋白表达均显著增加。这些结果提示, 间歇性低氧干预可能通过调节 p-STAT3/CPT1 通路, 提高心肌梗死后心肌细胞的脂肪酸氧化, 增加乙酰辅酶 A, 提高三羧酸循环效率, 从而提高 ATP 含量及 CS 活性, 改善线粒体结构, 保护心肌细胞, 改善心功能, 提高运动耐力。

线粒体是心脏能量的主要来源, 成人心脏通

过线粒体 β -脂肪酸氧化获得50%~70%的能量。线粒体功能异常可导致氧化应激增强、ATP生成和能量供应减少、细胞凋亡增加和自噬机制受损^[13]。在心肌细胞中,线粒体氧化磷酸化和糖酵解是产生ATP的主要途径。其中线粒体氧化磷酸化通常占ATP产生的95%,糖酵解占5%。脂肪酸作为线粒体三羧酸循环的主要能量代谢底物,其能量代谢可分为摄入细胞质、线粒体膜转运、线粒体内部氧化3个步骤^[14]。积极优化心肌梗死后心肌的能量代谢途径,提高脂肪酸代谢效率,提高ATP的产量,减轻线粒体的受损,改善心肌细胞,是一个有效治疗策略。

CD36、ACOX1、LCAD是心肌脂肪酸代谢中的关键酶。心肌细胞只能少量的合成和储存脂肪酸,主要依赖从循环系统中通过脂肪酸转运酶CD36介导转运而摄取脂肪酸,CD36也可传递细胞内信号,影响脂肪酸的利用和脂肪酸在心脏中的代谢效应。既往研究表明,线粒体CD36含量的增长与脂肪酸氧化的上调呈正相关。CD36在脂肪酸代谢中的作用包括脂肪酸的摄取、转运及代谢等^[15-16]。ACOX1可以介导脂肪酸的调动和氧化,是催化长链和极长链脂肪酸氧化的最重要氧化酶之一。ACOX1可以调节脂肪酸在线粒体和过氧化物酶体中的 β 氧化过程,促进脂肪酸的代谢。既往研究表明,增加ACOX1基因的表达量能够促进脂肪酸的代谢,减少甘油三酯的沉积^[17-18]。心肌细胞合成和储存脂肪酸的能力较低,主要来源依赖于循环中的长链脂肪酸。长链脂肪酸 β -氧化是动物获得能量的主要途径之一。而LCAD是长链脂肪酸 β -氧化起始步骤的催化酶。有研究表明,LCAD能够催化支链脂肪酸的氧化。LCAD在线粒体不饱和脂肪酸的 β -氧化中起着关键作用,可对二十二碳六烯酸辅酶A、花生四烯酸等不饱和脂肪酸进行有效的脱氢^[19-20]。本研究发现,心肌梗死间歇性低氧组小鼠心肌LCAD、CD36、ACOX1蛋白表达均比心肌梗死常氧组显著增加,提示歇性低氧可以促进脂肪酸摄取、长链脂肪酸氧化、线粒体膜内转运。通过促进心肌梗死后心肌脂肪酸代谢,改善心肌细胞损伤。

本研究发现,心肌梗死间歇性低氧组小鼠心肌p-STAT3、CPT1的蛋白表达都比心肌梗死常氧

组显著增加。CPT1位于线粒体外膜,也是脂肪酸 β -氧化的重要限速酶,能够催化酯酰辅酶A在线粒体内膜进行 β -氧化,使脂肪沉积减少。脂肪酸不能自由通过线粒体膜,需经过酯酰辅酶A合成酶活化为酯酰辅酶A,而酯酰辅酶A可经CPT1转运至线粒体内膜,并在线粒体内进行 β -氧化分解,CPT1是脂肪酸进入线粒体的关键调控位点,在转运脂肪酸通过线粒体内膜的过程中起重要作用,可调控脂肪酸的氧化速率^[9,21-22]。研究表明,p-STAT3可以促进CPT1基因和蛋白质的表达,从而参与脂肪酸氧化的调节。CPT1作为STAT3的一个下游调节分子。通过激活p-STAT3/CPT1通路可促进脂肪酸在线粒体内经 β -氧化分解,提高脂肪酸的氧化速率,改善心肌梗死后的能量供应,从而提高心功能^[23-25]。上述研究结果均表明,p-STAT3/CPT1通路在脂肪酸氧化速率的调节中起着关键作用。本研究结果显示,心肌梗死间歇性低氧组小鼠心肌的p-STAT3、CPT1的蛋白表达均比心肌梗死常氧组显著增加,提示间歇性低氧干预可以上调p-STAT3/CPT1通路,促进脂肪酸氧化速率。这些结果表明p-STAT3/CPT1通路是间歇性低氧发挥对梗死心脏心肌细胞保护作用的重要信号通路。

综上所述,间歇性低氧治疗可以通过上调p-STAT3/CPT1通路调控脂肪酸的氧化速率,从而提高线粒体的能量代谢,增加CS活性,促进ATP的合成,改善线粒体结构,保护心功能。本研究为心肌梗死后心脏康复的方法提供了新的思路及实验依据。但本研究低氧干预策略仅适用于动物实验,具体的临床治疗方法及干预策略有待进一步研究。

参 考 文 献 :

- [1] SATHVIK M, KALVA E C S S, SUMA G. A study on acute myocardial infarction and its prognostic predictors[J]. Cureus, 2023, 15(2): e34775.
- [2] WINNIGE P, VYSOKY R, DOSBABA F, et al. Cardiac rehabilitation and its essential role in the secondary prevention of cardiovascular diseases[J]. World J Clin Cases, 2021, 9(8): 1761-1784.
- [3] MALLETT R T, MANUKHINA E B, RUELAS S S, et al. Cardioprotection by intermittent hypoxia conditioning: evidence, mechanisms, and therapeutic potential[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2018, 315(2): H216-H232.
- [4] 党小红, 黄传, 万春晓. 间歇性低氧干预对心肌梗死大鼠AMPK α 1/SIRT3通路及心肌能量代谢的影响[J]. 中华物理医学

- 与康复杂志, 2023, 45(1): 12-17.
- [5] GANDOUY-FIEIRAS N, GONZALEZ-JUANATEY J R, EIRAS S. Myocardium metabolism in physiological and pathophysiological states: implications of epicardial adipose tissue and potential therapeutic targets[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(7): 2641.
- [6] HARHOUS Z, BOOZ G W, OVIZE M, et al. An update on the multifaceted roles of STAT3 in the heart[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2019, 6: 150.
- [7] HAGHIKIA A, RICKE-HOCH M, STAPEL B, et al. STAT3, a key regulator of cell-to-cell communication in the heart[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 102(2): 281-289.
- [8] JIANG H Y, FANG T T, CHENG Z Y. Mechanism of heart failure after myocardial infarction[J]. *J Int Med Res*, 2023, 51(10): 3000605231202573.
- [9] SCHLAEPFER I R, JOSHI M. CPT1A-mediated fat oxidation, mechanisms, and therapeutic potential[J]. *Endocrinology*, 2020, 161(2): bqz046.
- [10] ZHENG P, WU H F, GU Y L, et al. Atorvastatin ameliorates lipid overload-induced mitochondrial dysfunction and myocardial hypertrophy by decreasing fatty acid oxidation through inactivation of the p-STAT3/CPT1 pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 157: 114024.
- [11] ZHANG J W, HUANG C, MENG X X, et al. Effects of different exercise interventions on cardiac function in rats with myocardial infarction[J]. *Heart Lung Circ*, 2021, 30(5): 773-780.
- [12] JIA D D, HOU L, LV Y Z, et al. Postinfarction exercise training alleviates cardiac dysfunction and adverse remodeling via mitochondrial biogenesis and SIRT1/PGC-1 α /PI3K/Akt signaling[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12): 23705-23718.
- [13] CHISTIYAKOV D A, SHKURAT T P, MELNICHENKO A A, et al. The role of mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease: a brief review[J]. *Ann Med*, 2018, 50(2): 121-127.
- [14] YAMAMOTO T, SANO M. Deranged myocardial fatty acid metabolism in heart failure[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 996.
- [15] PEPINO M Y, KUDA O, SAMOVSKI D, et al. Structure-function of CD36 and importance of fatty acid signal transduction in fat metabolism[J]. *Annu Rev Nutr*, 2014, 34: 281-303.
- [16] SHU H Y, PENG Y Z, HANG W J, et al. The role of CD36 in cardiovascular disease[J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(1): 115-129.
- [17] GRIFFIN E N, ACKERMAN S L. Lipid metabolism and axon degeneration: an ACOX1 balancing act[J]. *Neuron*, 2020, 106(4): 551-553.
- [18] YANG W, LING X, HE S J, et al. PPAR α /ACOX1 as a novel target for hepatic lipid metabolism disorders induced by per- and polyfluoroalkyl substances: an integrated approach[J]. *Environ Int*, 2023, 178: 108138.
- [19] NAKAMURA M T, YUDELL B E, LOOR J J. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids[J]. *Prog Lipid Res*, 2014, 53: 124-144.
- [20] ZHANG Y X, BHARATHI S S, BECK M E, et al. The fatty acid oxidation enzyme long-chain acyl-CoA dehydrogenase can be a source of mitochondrial hydrogen peroxide[J]. *Redox Biol*, 2019, 26: 101253.
- [21] 郭万成, 王雅静, 居梦娴, 等. 达格列净促进高脂诱导肥胖小鼠肝脏脂肪酸氧化的初步机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(11): 37-44.
- [22] MIAO Y M, ZHANG C L, YANG L, et al. The activation of PPAR γ enhances Treg responses through up-regulating CD36/CPT1-mediated fatty acid oxidation and subsequent N-glycan branching of T β RII/IL-2R α [J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 48.
- [23] LEE H, WOO S M, JANG H, et al. Cancer depends on fatty acids for ATP production: a possible link between cancer and obesity[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 32(Pt 2): 347-357.
- [24] SONG X R, DU Z S, YAO Z Q, et al. Rhein improves renal fibrosis by restoring cpt1a-mediated fatty acid oxidation through SIRT1/STAT3/twist1 pathway[J]. *Molecules*, 2022, 27(7): 2344.
- [25] WANG W, HU X Y, XIA Z P, et al. Mild hypothermia attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury through regulating the JAK2/STAT3-CPT1a-dependent fatty acid β -oxidation[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 5849794.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 闫馨月, 黄传, 江玉娟, 等. 间歇性低氧干预调节 p-STAT3/CPT-1 对心肌梗死后小鼠心肌脂肪酸代谢的影响及机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2025, 35(9): 54-62.

Cite this article as: YAN X Y, HUANG C, JIANG Y J, et al. The effect of intermittent hypoxia intervention regulating p-STAT3/CPT-1 on myocardial fatty acid metabolism in mice after myocardial infarction and its mechanism[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2025, 35(9): 54-62.