

索红亮,孙治霞,曾垂义,等. 五参顺脉胶囊通过自噬改善心肌缺血再灌注损伤[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(7): 37-43.
Suo HL, Sun ZX, Zeng CY, et al. Wushen-Shunmai capsule improves myocardial ischemia-reperfusion injury through autophagy [J].
Chin J Comp Med, 2021, 31(7): 37-43.
doi: 10. 3969/ j. issn. 1671-7856. 2021. 07. 006

五参顺脉胶囊通过自噬改善心肌缺血再灌注损伤

索红亮^{1*}, 孙治霞², 曾垂义¹, 张文宗¹, 毛德西³

(1.河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)心病科,郑州 450002;
2.河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)重症医学科,郑州 450002;
3.河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)名医堂,郑州 450002)

【摘要】 目的 探讨自噬在五参顺脉胶囊改善大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用。**方法** 建立心肌缺血再灌注损伤模型,随机法,将其分为假手术组、模型组、五参顺脉胶囊组、自噬抑制剂组(五参顺脉胶囊+LY294002),每组15只。酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清心肌肌钙蛋白I(cTnI)、肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)浓度,2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色测定心肌梗死体积,原位末端标记(TUNEL)法检测心肌细胞凋亡,电镜下计数大鼠心肌细胞自噬体数量,Western blot检测总PI3K、Akt、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)及其磷酸化蛋白表达,自噬标记物微管相关蛋白1轻链3(LC3)蛋白表达。**结果** 与假手术组比较,模型组大鼠血清cTnI、CK-MB浓度、心肌梗死区比例、凋亡指数、自噬体数量、心肌组织LC3-II/LC3-I、caspase3、Bax增加($P<0.05$),心肌组织p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR、Bcl2水平降低($P<0.05$);与模型组比较,五参顺脉胶囊组大鼠血清cTnI、CK-MB浓度、心肌梗死区比例、凋亡指数、自噬体数量、心肌组织LC3-II/LC3-I、caspase3、Bax降低($P<0.05$),心肌组织p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR、Bcl2水平增加($P<0.05$);与五参顺脉胶囊组比较,自噬抑制剂组大鼠血清cTnI、CK-MB浓度、心肌梗死区比例、凋亡指数、自噬体数量、心肌组织LC3-II/LC3-I、caspase3、Bax增加($P<0.05$),心肌组织p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR、Bcl2水平降低($P<0.05$)。**结论** 五参顺脉胶囊抑制心肌细胞过度自噬,对心肌缺血再灌注损伤大鼠发挥保护作用。

【关键词】 五参顺脉胶囊;心肌缺血再灌注损伤;大鼠;磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B通路;自噬

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 07-0037-07

Wushen-Shunmai capsule improves myocardial ischemia-reperfusion injury through autophagy

SUO Hongliang^{1*}, SUN Zhixia², ZENG Chuiyi¹, ZHANG Wenzong¹, MAO Dexi³

(1. Department of Cardiology, Henan Province Hospital of TCM (the Second Affiliated Hospital of Henan University of TCM), Zhengzhou 450002, China. 2. Department of Critical Medicine, Henan Province Hospital of TCM (the Second Affiliated Hospital of Henan University of TCM), Zhengzhou 450002. 3. Famous Doctor Hall, Henan Province Hospital of TCM (the Second Affiliated Hospital of Henan University of TCM), Zhengzhou 450002)

【Abstract】 Objective To investigate the role of autophagy in the improvement of myocardial ischemia-reperfusion injury in rats by Wushen-Shunmai capsule. **Methods** Following establishment of a myocardial ischemia-reperfusion injury

【基金项目】 全国名中医传承工作室建设项目(国中医药办人教函[2018]119号);河南省中医药科学研究专项(2019JDZX093);河南省2017年科技发展计划(172102310538)。

【作者简介】 索红亮(1978—),男,主治医师,博士,研究方向:中西医结合临床、心血管疾病。E-mail: hlzz78@163.com

model, rats were randomly divided into sham, model, Wushen-Shunmai capsule, and autophagy inhibitor (Wushen-Shunmai capsule+LY294002) groups, with 15 rats in each group. The concentrations of serum cardiac troponin I (cTnI) and creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Myocardial infarction volume was measured by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining, and cardiomyocyte apoptosis was detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) assay. The number of autophagy events was counted under electron microscope, while the expression of total PI3K, Akt, mammalian rapamycin target protein (mTOR) and its phosphorylated protein, and autophagy marker microtubule associated protein 1 light chain 3 (LC3) was detected by Western blot. **Results** Compared with the sham group, serum cTnI, CK-MB concentration, myocardial infarction area ratio, apoptosis index, autophagy number, myocardial LC3-II/LC3-I, caspase 3, and Bax were significantly higher in the model group ($P<0.05$), and the levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR, and Bcl2 were significantly lower ($P<0.05$). Compared with the model group, serum cTnI, CK-MB concentration, myocardial infarction area ratio, apoptosis index, autophagy number, myocardial LC3-II/LC3-I, caspase 3, and Bax were significantly lower in the Wushen-Shunmai capsule group ($P<0.05$), and the levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR, and Bcl2 were significantly higher ($P<0.05$). Compared with the Wushen-Shunmai capsule group, serum cTnI, CK-MB concentration, myocardial infarction area ratio, apoptosis index, autophagy number, myocardial LC3-II/LC3-I, caspase 3, and Bax were significantly higher in the autophagy inhibitor group ($P<0.05$), and the levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, p-mTOR/mTOR and Bcl2 were significantly lower ($P<0.05$). **Conclusions** Wushen-Shunmai capsule inhibits excessive autophagy of myocardial cells and plays a protective role in myocardial ischemia-reperfusion injury.

【Keywords】 Wushen-Shunmai capsule; myocardial ischemia-reperfusion injury model; rat; phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B pathway; autophagy

经皮冠状动脉(冠脉)支架术是治疗冠心病的有效手段,但近来研究发现,患者术后血心肌酶谱,如心肌肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI)、肌酸激酶同工酶 MB(creatine kinase isoenzyme MB, CK-MB)等可出现显著升高,表明冠脉侵入性治疗可造成心肌损伤,即冠脉侵入性损伤,而心肌缺血再灌注模型可以模拟冠脉侵入性损伤情况^[1-2],因此采用心肌缺血再灌注模型模拟冠脉侵入性损伤,深入探究其发生机理,对寻找有效途径以改善患者预后至关重要。五参顺脉胶囊(Wushen-Shunmai capsule)可显著改善心肌梗死及心绞痛等症状,本课题组前期大鼠实验研究证实,五参顺脉胶囊用于改善心肌缺血再灌注损伤的作用较明显,可能与内质网应激介导的细胞凋亡有关^[3]。而磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路作为抗凋亡中经典通路之一,其下游分子-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)则为调节自噬的关键蛋白,研究显示,自噬性细胞死亡在缺血再灌注导致的心肌损伤中亦发挥重要作用^[4-5]。因此,本研究拟通过心肌缺血再灌注损伤模型,基于 PI3K/Akt 介导的自噬信号通路,进一步深入探究五参顺脉胶囊对模型大鼠改善的作用机

制,以期为其临床合理应用予以依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60 只雄性,6 周龄 SPF 级 SD 大鼠,体重(200 ± 20)g,购自斯莱克实验动物有限公司(上海)[SCXK(沪)2017-0005],在河南省中医院实验室饲养[SYXK(豫)2016-0009]。整个实验饲养条件为自由采食及饮水,12 h/12 h 光照/黑暗条件下正常饲养,温度约 25℃,相对湿度 45%~65%。本研究的动物实验经河南省中医院动物伦理委员会批准(IACUC-20190417),并遵守审批内容实施,实验符合 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

五参顺脉胶囊购自河南省中医院,丢弃胶囊壳,药物取出后用羧甲基纤维素钠制成含生药 100 g/L 混悬液使用。抑制剂 LY294002(货号:L9908)购自美国 Sigma 公司;大鼠 cTnI ELISA 试剂盒(货号:ab246529)、CK-MB ELISA 试剂盒(货号:ab193696)、兔源一抗 anti-微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)(货号:ab192890)、anti-PI3K(货号:ab32089)、anti-p-PI3K(货号:ab182651)、anti-AKT(货号:

ab235958)、anti-p-AKT(货号:ab38449)、anti-mTOR(货号:ab109268)、anti-p-mTOR(货号:ab2732)、anti-天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(cysteine aspartase-3, caspase3)(货号:ab13847)、anti-Bcl2 相关 X 蛋白(Bcl2 associated X protein, Bax)(货号:ab32503)、anti-B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl2)(货号:ab182858)、anti- β -actin(货号:ab8227)、二抗羊抗兔 IgG(货号:ab6721)均购自英国 Abcam 公司;FC 型酶标仪、Themis 透射电子显微镜均购自美国 ThermoFisher 公司等。

1.3 实验方法

1.3.1 模型制备

参考文献^[6]制备心肌缺血再灌注损伤大鼠模型,SD 大鼠术前腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,固定于手术台,腹部常规消毒后,打开胸腔,暴露心脏,于冠状动脉左前降支分支处穿入结扎线并套入一塑料管进行冠脉结扎,缺血 30 min,心脏血液再灌注 180 min,之后关闭胸腔、逐层缝合。

1.3.2 动物分组及给药

成模 SD 大鼠随机分为模型组、五参顺脉胶囊组、自噬抑制剂组(五参顺脉胶囊+LY294002 组),每组 15 只,另取 15 只为假手术组(Sham 组),处理方法与模型组相同,但不进行冠脉结扎。五参顺脉胶囊组灌胃 0.9 g/kg 五参顺脉胶囊^[3],自噬抑制剂组于尾静脉注射 LY294002 0.3 mg/kg 联合灌胃 0.9 g/kg 五参顺脉胶囊,假手术组与模型组均灌胃等量羧甲基纤维素钠溶剂,每天 1 次,连续 2 周。

1.3.3 血清 cTnI、CK-MB 蛋白浓度检测

给药结束后,尾静脉采血,离心后取上清。血清 cTnI、CK-MB 蛋白浓度以酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测,具体步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.4 心肌梗死体积测定

各组 5 只大鼠处死,暴露心脏,取梗死区心肌组织以 0.5 mm 厚度进行冰冻切片,置于预热的 2% 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)溶液中,37℃ 孵育 20 min 至梗死区呈红色,弃去 TTC 溶液,添加 4% 多聚甲醛固定,拍照,以梗死区/危险区 $\times 100\%$ 记为梗死区比例(%)。

1.3.5 电镜观察心肌组织细胞自噬体形成数量

另取部分心肌组织,采用戊二醛-锇酸法双重固定,制备超薄切片,进行醋酸双氧铀-枸橼酸铅双染,透射电镜下观察心肌细胞中自噬体结构及数

量,每个样本计数最终自噬体形成数量为 3 个铜网孔(每孔约 30000 平方微米)内自噬体数量平均值。

1.3.6 心肌组织中 LC3、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、caspase3、Bax、Bcl2 蛋白表达水平检测

提取心肌组织总蛋白并测定蛋白浓度,随后行 SDS-PAGE 电泳分离,转膜、室温封闭、一抗孵育,再分别添加 anti-LC3(1:2000)、anti-PI3K(1:1000)、anti-p-PI3K(1:1000)、anti-Akt(1:1000)、anti-p-Akt(1:1000)、anti-mTOR(1:2000)、anti-p-mTOR(1:1000)、caspase3(1:1000)、Bax(1:2000)、Bcl2(1:1000)、anti- β -actin(1:5000)4℃ 孵育过夜,二抗 IgG(1:5000)37℃ 孵育 1 h,洗膜后显色、拍照并观察各蛋白条带灰度值。

1.3.7 心肌细胞凋亡检测

各组另取 10 只大鼠处死,固定部分心肌梗死组织,石蜡包埋后切片。原位末端标记(TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)染色,各项步骤均具体操作严格按照 TUNEL 凋亡检测试剂盒附带说明书进行,最后进行 DAB 显色,苏木素复染、透明、封片。若呈棕褐色则为阳性凋亡细胞,呈蓝紫色为未凋亡细胞。每张切片于高倍镜下随机选取 10 个视野进行阳性细胞计数,凋亡指数(%)为阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 。

1.4 统计学方法

SPSS 25.0 统计分析。所得结果用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较单因素方差(one-way ANOVA)分析,两两间比较 SNK- q 分析,若 $P < 0.05$ 则表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清心肌酶谱水平比较

与假手术组比,模型组大鼠血清 cTnI、CK-MB 浓度增加($P < 0.05$);与模型组比较,五参顺脉胶囊组大鼠血清 cTnI、CK-MB 浓度降低($P < 0.05$);与五参顺脉胶囊组比较,自噬抑制剂组大鼠血清 cTnI、CK-MB 浓度增加($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠心肌梗死区比例及自噬体数量比较

假手术组形态正常,未见线粒体肿胀;模型组线粒体肿胀明显、自噬泡数量增多;五参顺脉胶囊组出现部分线粒体肿胀现象、可观察到自噬泡;自噬抑制剂组与模型组类似。与假手术组比较,模型组大鼠心肌梗死区比例、自噬体数量增加($P <$

0.05);与模型组比较,五参顺脉胶囊组大鼠心肌梗死区比例、自噬体数量降低($P<0.05$);与五参顺脉胶囊组比较,自噬抑制剂组大鼠心肌梗死区比例、自噬体数量增加($P<0.05$)。见图1、图2、表2。

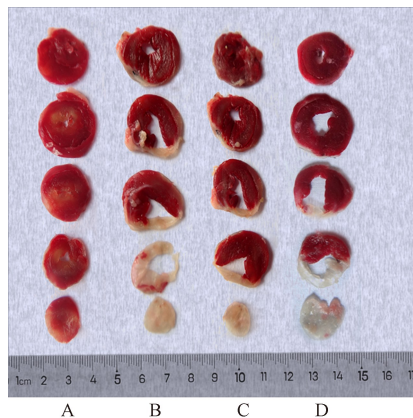
表1 各组大鼠血清 cTnI、CK-MB 浓度比较($\bar{x}\pm s$, $n=15$)

Table 1 Comparison of serum cTnI and CK-MB in rats of each group

组别 Groups	cTnI (ng/mL)	CK-MB (U/L)
假手术组 Sham group	0.18±0.02	716.84±142.39
模型组 Model group	0.76±0.08*	2069.75±196.58*
五参顺脉胶囊组 Wushen-Shunmai capsule group	0.51±0.04 [#]	1132.46±163.32 [#]
自噬抑制剂组 Autophagy inhibitor group	0.63±0.07 ^{&}	1892.91±178.21 ^{&}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与五参顺脉胶囊组比较,[&] $P<0.05$ 。

Note. Compared with sham group, * $P<0.05$. Compared with model group, [#] $P<0.05$. Compared with Wushen-Shunmai capsule group, [&] $P<0.05$.



注:A:假手术组;B:模型组;C:五参顺脉胶囊组;D:自噬抑制剂组。

图1 各组大鼠心肌梗死区情况

Note. A, Sham group. B, Model group. C, Wushen-Shunmai capsule group. D, Autophagy inhibitor group.

Figure 1 Situation of myocardial infarction area in each group of rats

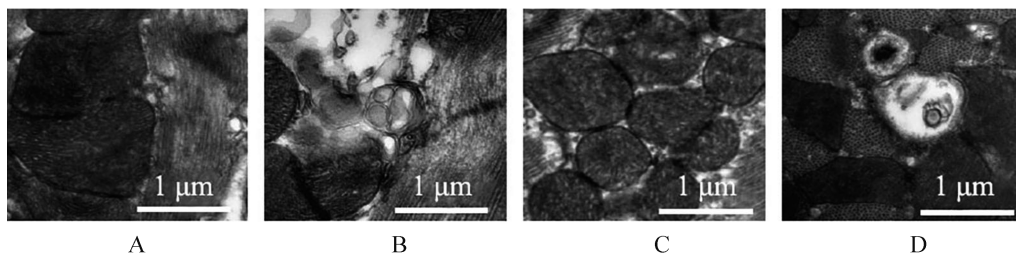


图2 各组大鼠心肌细胞自噬体情况

Figure 2 Autophagosomes of rat cardiomyocytes in each group

2.3 各组大鼠心肌组织 LC3 蛋白表达水平比较

与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织 LC3-II/LC3-I 增加($P<0.05$);与模型组比较,五参顺脉胶囊组大鼠心肌组织 LC3-II/LC3-I 降低($P<0.05$);与五参顺脉胶囊组比较,自噬抑制剂组大鼠心肌组织 LC3-II/LC3-I 增加($P<0.05$)。见图3。

2.4 各组大鼠心肌组织 PI3K、Akt、mTOR 及其磷酸化蛋白表达水平比较

与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 水平降低($P<0.05$);与模型组比较,五参顺脉胶囊组大鼠心肌组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 水平增加($P<0.05$);与五参顺脉胶囊组比较,自噬抑制剂组大鼠心肌组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 水平降低($P<0.05$)。见图4。

2.5 各组大鼠心肌组织 caspase3、Bax、Bcl2 蛋白表达水平比较

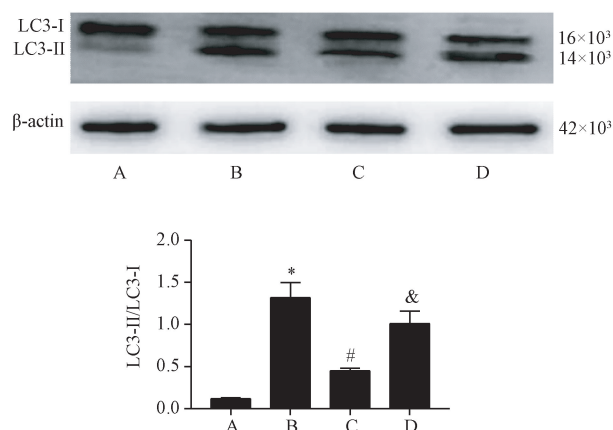
与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织 caspase3、Bax 水平升高,Bcl2 水平降低($P<0.05$);与模型组比较,五参顺脉胶囊组大鼠心肌组织 caspase3、Bax 水平降低,Bcl2 水平升高($P<0.05$);与五参顺脉胶囊组比较,自噬抑制剂组大鼠心肌组织 caspase3、Bax 水平升高,Bcl2 水平降低($P<0.05$)。见图5。

2.6 各组大鼠凋亡情况比较

与假手术组比较,模型组大鼠凋亡指数增加($P<0.05$);与模型组比较,五参顺脉胶囊组大鼠凋亡指数降低($P<0.05$);与五参顺脉胶囊组比较,自噬抑制剂组大鼠凋亡指数增加($P<0.05$)。见图6。

3 讨论

多项研究显示,冠脉介入手术亦存在风险,可损伤血管内皮,造成炎症的发生,甚至导致心肌缺血再灌注损伤^[7-8]。本研究造模后显示,与假手术



注:A:假手术组;B:模型组;C:五参顺脉胶囊组;D:自噬抑制剂组。与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与五参顺脉胶囊组比较,& $P<0.05$ 。

图3 各组大鼠心肌组织 LC3 蛋白表达水平比较

Note. A, Sham group. B, Model group. C, Wushen-Shunmai capsule group. D, Autophagy inhibitor group. Compared with sham group, * $P<0.05$. Compared with model group, # $P<0.05$. Compared with Wushen-Shunmai capsule group, & $P<0.05$.

Figure 3 Comparison of LC3 protein expression in myocardium of rats in each group

表2 各组大鼠心肌梗死区比例及自噬体数量比较($\bar{x}\pm s$)

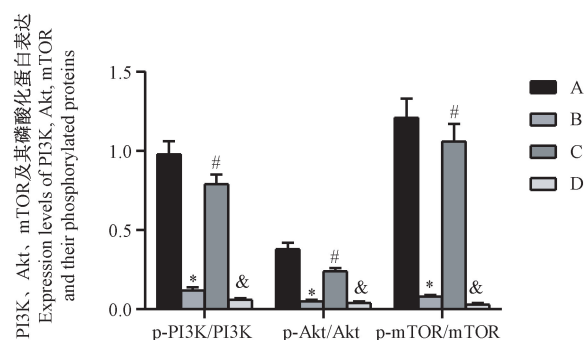
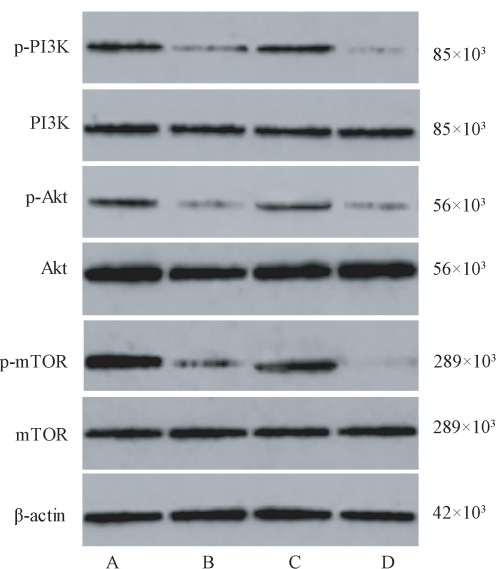
Table 2 Comparison of myocardial infarction area proportion and cardiomyocytes number of rats in each group

组别 Groups	梗死区比例(%) ($n=5$) Proportion of infarct area	自噬体数量(个) ($n=10$) Number of autophagosomes
假手术组 Sham group	0.13±0.02	7.14±1.42
模型组 Model group	39.75±2.86*	24.67±4.18*
五参顺脉胶囊组 Wushen-Shunmai capsule group	15.24±2.01#	12.36±2.25#
自噬抑制剂组 Autophagy inhibitor group	27.96±2.85&	18.86±3.47&

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与五参顺脉胶囊组比较,& $P<0.05$ 。

Note. Compared with sham group, * $P<0.05$. Compared with model group, # $P<0.05$. Compared with Wushen-Shunmai capsule group, & $P<0.05$.

组比较,模型组大鼠血清 cTnI、CK-MB 浓度、心肌梗死区比例均增加,心肌细胞受损时可导致心肌酶释放入血,血清 cTnI、CK-MB 浓度是反映心肌损伤的标志性酶^[9],心肌梗死区比例则可直观评价心肌损伤,提示模型制备成功。五参顺脉胶囊最早由全国名老中医毛德西教授创立,该方以益气养阴为基础,兼有活血、理气、化湿、安神等功效,以原方或加



注:A:假手术组;B:模型组;C:五参顺脉胶囊组;D:自噬抑制剂组。下同。

图4 各组大鼠心肌组织 PI3K、Akt、mTOR 及其磷酸化蛋白表达

Note. A, Sham group. B, Model group. C, Wushen-Shunmai capsule group. D, Autophagy inhibitor group. The same as below.

Figure 4 Expression of PI3K, Akt, mTOR and their phosphorylated proteins in myocardium of rats in each group

减方治疗各证型冠心病效果显著^[10],已有报道五参顺脉胶囊可强心、扩冠、抗凝、调整血脂和纠正心律失常等^[11-12]。本研究结果亦发现,五参顺脉胶囊可降低心肌损伤大鼠血清 cTnI、CK-MB 浓度及心肌梗死区比例,提示五参顺脉胶囊对大鼠心肌缺血再灌注损伤具有一定改善作用。

自噬是实现细胞及细胞器分解、代谢、再利用的一种维持细胞代谢平衡的生理现象,缺血/再灌注、缺氧/复氧等条件下,适度自噬可一定程度保护细胞免于坏死和凋亡,而随着疾病进展,细胞内会产生过度自噬,造成细胞内环境紊乱,引发自噬性

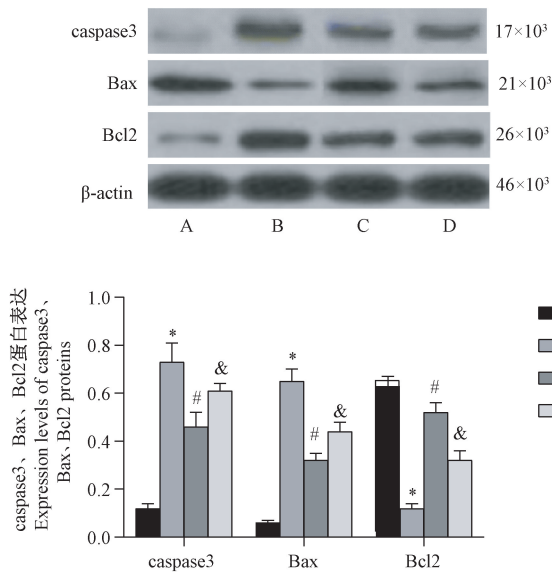


图5 各组大鼠心肌组织 caspase3、Bax、Bcl2 蛋白表达

Figure 5 Expression of caspase3、Bax、Bcl2 proteins in myocardium of rats in each group

死亡^[13]。有研究报道,靶向调控自噬性死亡可能是治疗心肌缺血再灌注损伤的新策略,在心肌缺血再灌注中存在过度自噬现象,减轻自噬作用可缓解疾病^[14-15]。本研究结果发现,与假手术组比较,模型组大鼠心肌梗死区自噬体数量增加,自噬标志性蛋白 LC3-II/LC3-I 亦增加,心肌细胞达到过度自噬水平,从而加重疾病进程。而五参顺脉胶囊可减少心肌梗死区自噬水平,降低 LC3-II/LC3-I,提示五参顺脉胶囊通过减轻自噬对心肌缺血再灌注损伤大鼠起保护作用。

调控自噬的信号通路很多,其中以 PI3K/Akt/mTOR 通路研究最为广泛,PI3K/Akt 是一种经典抗凋亡通路,该通路激活可导致 Akt 活化,Akt 磷酸化水平与该通路活化程度密切相关。mTOR 对吞噬泡形成及成熟起抑制作用,是调控自噬的关键蛋白,抑制 mTOR 表达后可直接抑制自噬^[16-17]。多项研究表明,PI3K/Akt/mTOR 通路介导的自噬与缺血再灌注引起的心肌损伤严重程度密切相关,激活该通路可抑制过度自噬、减轻心肌细胞损伤^[18-20]。本研究结果发现,与模型组比较,五参顺脉胶囊可增加心肌组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 水平,提示五参顺脉胶囊亦可能通过 PI3K/Akt/mTOR 通路对侵入性损伤大鼠发挥保护作用。为了进一步验证五参顺脉胶囊是否通过 PI3K/Akt 介导的自噬通路发挥保护作用,本研究采用自噬抑制剂 LY294002 与五参顺脉胶囊共同给药,结果

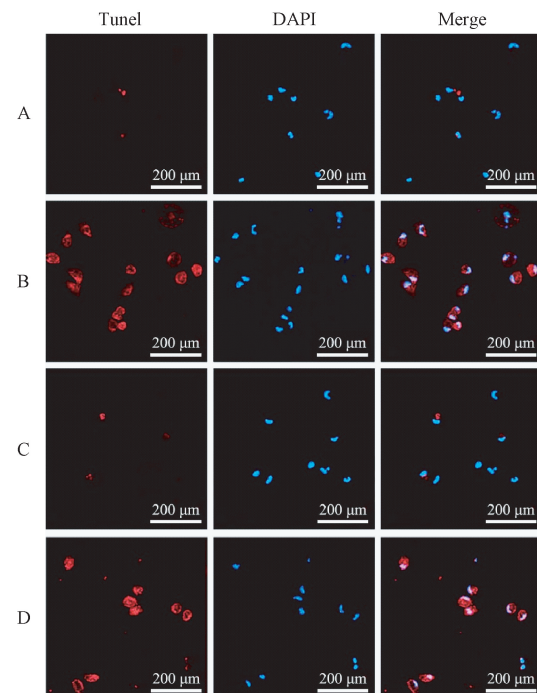
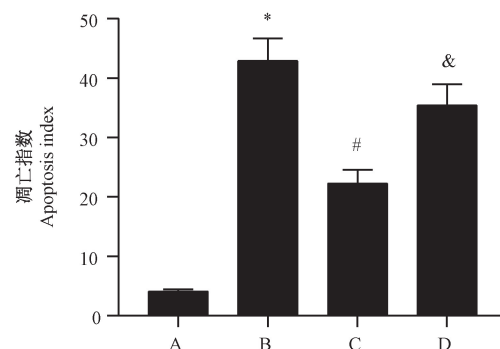


图6 各组大鼠心肌梗死区凋亡情况

Figure 6 Apoptosis in myocardial infarction area of rats in each group



发现,与五参顺脉胶囊组比较,自噬抑制剂组大鼠血清 cTnI、CK-MB 浓度、心肌梗死区比例、凋亡指数、凋亡蛋白 caspase3、Bax、自噬体数量及 LC3-II/LC3-I 均增加,抗凋亡蛋白 Bcl2 水平降低,提示五参顺脉胶囊抑制心肌细胞过度自噬,发挥抗心肌梗死、心肌细胞凋亡作用,从而改善缺血再灌注损伤。

综上所述,五参顺脉胶囊抑制心肌细胞过度自噬,对心肌缺血再灌注损伤大鼠发挥保护作用。本研究进一步丰富与完善了五参顺脉胶囊减轻心肌缺血再灌注损伤的作用机制,对其临床应用具有进一步参考价值。

参考文献:

- [1] Lønborg J, Engstrøm T, Ahtarovski KA, et al. Myocardial damage in patients with deferred stenting after STEMI: A DANAMI-3-DEFER substudy [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 69 (23): 2794–2804.
- [2] Verdoia M, Ceccon C, Nardin M, et al. Vitamin D deficiency and periprocedural myocardial infarction in patients undergoing percutaneous coronary interventions [J]. *Cardiovasc Revasc Med*, 2018, 19(7): 744–750.
- [3] 孙治霞, 索红亮, 王丽辉, 等. 五参顺脉胶囊通过抑制内质网应激诱导的凋亡减轻大鼠冠脉侵入性损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(10): 1790–1795.
- [4] Li X, Hu X, Wang J, et al. Inhibition of autophagy via activation of PI3K/Akt/mTOR pathway contributes to the protection of hesperidin against myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(4): 1917–1924.
- [5] Jiang T, Zhang L, Ding M, et al. Protective effect of vasicine against myocardial infarction in rats via modulation of oxidative stress, inflammation, and the PI3K/Akt pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 3773–3784.
- [6] Xie Y, Ge CL, Zhang ZY, et al. Oxycodone inhibits myocardial cell apoptosis after myocardial ischemia-reperfusion injury in rats via RhoA/ROCK1 signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(11): 6371–6379.
- [7] Vidal-Perez R, Abou JCC, Agra-Bermejo RM, et al. Myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries: A comprehensive review and future research directions [J]. *World J Cardiol*, 2019, 11(12): 305–315.
- [8] 赵雨薇, 付建华, 李磊, 等. 双参宁心胶囊通过调控线粒体 ATP 敏感性钾通道减轻大鼠心肌缺血/再灌注损伤 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(13): 104–110.
- [9] Xie J, Zhang L, Fan X, et al. MicroRNA-146a improves sepsis-induced cardiomyopathy by regulating the TLR-4/NF-κB signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(1): 779–785.
- [10] 曾垂义, 毛德西. 毛德西辨治冠心病经验 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2017, 23(10): 1408–1409.
- [11] 黄斌, 王辉, 王振涛. 五参顺脉胶囊联合胺碘酮对阵发性心房颤动复律后维持窦性心律及左心室功能的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(13): 269–272.
- [12] 黄斌, 王辉, 陈江涛. 五参顺脉胶囊对急性心肌梗死介入治疗后左室功能和 QT 间期离散度的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(1): 183–186.
- [13] Bian A, Shi M, Flores B, et al. Downregulation of autophagy is associated with severe ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury in overexpressing C-reactive protein mice [J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0181848.
- [14] Aghaei M, Motalebnezhad M, Ghorghanlu S, et al. Targeting autophagy in cardiac ischemia/reperfusion injury: A novel therapeutic strategy [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 16768–16778.
- [15] 闫清支, 麻春杰, 郝蔷薇, 等. 蒙药额尔敦-乌日勒预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌组织自噬相关蛋白表达的影响 [J]. *中医杂志*, 2019, 60(4): 68–73.
- [16] Li Y, Lu L, Luo N, et al. Inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway protects against d-galactosamine/lipopolysaccharide-induced acute liver failure by chaperone-mediated autophagy in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 92: 544–553.
- [17] Zou Y, Ge M, Wang X. Targeting PI3K-AKT-mTOR by LY3023414 inhibits human skin squamous cell carcinoma cell growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(2): 385–392.
- [18] Li Q, Shen L, Wang Z, et al. Tanshinone IIA protects against myocardial ischemia reperfusion injury by activating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 106–114.
- [19] 余弘吉, 杨爱东, 李小茜, 等. 宣肺方对内毒素诱导大鼠急性肺损伤 mTOR/S6K1 信号通路的影响 [J]. *中国实验动物学报*, 2018, 26(4): 431–436.
- [20] Zhu MJ, Liu BY, Shi L, et al. mTOR-autophagy promotes pulmonary senescence through IMP1 in chronic toxicity of methamphetamine [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(20): 12082–12093.

[收稿日期]2020-08-11