王兴,陈子琪,李林,等. 真武汤对心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡及 PI3K-AKT 通路的影响［J］. 中国比较医学杂志, 2022, 32(7): 27-33, 57.
Wang X, Chen ZQ, Li L, et al. Effect of Zhenwu decoction on cardiomyocyte apoptosis and the PI3K-AKT pathway in rats with congestive heart failure［J］. Chin J Comp Med, 2022, 32(7): 27-33, 57.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.07.004

真武汤对心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡及 PI3K-AKT 通路的影响

王　兴[1],陈子琪[1],李　林[2*],廖金花[1],王晓琳[1],刘江源[1],廖东华[1*]

(1.江西中医药大学, 南昌　330000;2.江西中医药大学附属医院, 南昌　330006)

【摘要】　目的　观察真武汤对冠脉结扎心衰大鼠模型的治疗作用及对心衰大鼠心肌病理形态学及心肌细胞凋亡的影响,探讨其对凋亡相关蛋白及 PI3K-AKT 信号通路的影响。**方法**　术后 4 周采用随机数字表法将存活的大鼠分为 6 组,每组 7 只:(1)假手术组:术后 4 周给予生理盐水灌胃 28 d;(2)模型组:造模 4 周后予生理盐水灌胃 28 d;(3)阳性对照组:造模 4 周后予氯沙坦钾 5 mg/kg 灌胃 28 d;(4)真武汤低剂量组:造模 4 周后予真武汤生药量 6 g/kg 灌胃 28 d;(5)真武汤中剂量组:造模 4 周后予真武汤生药量 12 g/kg 灌胃 28 d;(6)真武汤高剂量组:造模 4 周后予真武汤生药量 18 g/kg 灌胃 28 d。观察各组大鼠造模前后心电图、彩超变化、心肌细胞凋亡、心肌形态学变化、心肌组织 PI3K、AKT1、p-AKT1 蛋白水平变化、免疫组化 Bax、Bcl-2、Caspase3、8、9 变化及腹主动脉血 BNP 变化。**结果**　(1)心电图显示经过冠脉结扎心衰模型制备大鼠心电图 ST 段抬高,提示造模成功;(2)心衰大鼠左心质量指数、BNP 水平显著升高,彩超提示 LVEF、LVFS 均明显下降,其余各组左心质量指数、BNP 水平、LVEF、LVFS 均有改善($P<0.01$);(3)HE 染色提示模型组心肌纤维排列紊乱、断裂,同时并伴随着心肌细胞肿胀、肥大,有炎性细胞浸润,其余各组存在不同程度的缓解。TUNEL 染色提示模型组凋亡现象严重,经真武汤及阳性药干预后凋亡现象减轻;(4)免疫组化结果提示与模型组相比,各给药组大鼠 Bcl-2 升高,Bax、Caspase3、8、9 下降,其中真武汤中剂量组各蛋白表达与假手术无明显差异;(5)与假手术组相比,模型组 PI3K、p-AKT1、AKT1 表达均升高,真武汤可抑制 PI3K、p-AKT1、AKT1 蛋白量的表达($P<0.05$)。**结论**　真武汤可能通过调控 PI3K-AKT 通路减轻 HF 大鼠心肌细胞凋亡及心肌病理改变,增强 HF 大鼠心肌收缩力,进而延缓大鼠心衰进程。

【关键词】　心力衰竭;真武汤;心肌凋亡
【中图分类号】R-33　　**【文献标识码】**A　　**【文章编号】**1671-7856 (2022) 07-0027-07

Effect of Zhenwu decoction on cardiomyocyte apoptosis and the PI3K-AKT pathway in rats with congestive heart failure

WANG Xing[1], CHEN Ziqi[1], LI Lin[2*], LIAO Jinhua[1], WANG Xiaolin[1], LIU Jiangyuan[1], LIAO Donghua[1*]

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330000, China.
2. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006)

[**基金项目**]国家自然科学基金(81960820);江西省自然科学基金(20202BABL206141);“全国中医药创新骨干人才”培养项目;江西省研究生创新专项资金项目(YC2020-S386)。

[**作者简介**]王兴(1994—),男,湖南衡阳,在读硕士研究生,研究方向:心衰病的中医现代化治疗研究。E-mail:378293663@qq.com
[**通信作者**]廖东华(1972—),男,副教授,硕士研究生导师,研究方向:从事中医药项目管理与人才培养研究。E-mail:605536398@qq.com
李林(1982—),男,主任中医师,硕/博士研究生导师,研究方向:心衰病的中医现代化治疗研究。E-mail:lilin330000@126.com
*共同通信作者

【**Abstract**】 **Objective** To observe the therapeutic effect of Zhenwu decoction on myocardial pathomorphology and cardiomyocyte apoptosis in rats with heart failure induced by coronary artery ligation, and to explore its effect on apoptosis-related proteins and the PI3K-AKT signaling pathway. **Methods** At 4 weeks after the operation, surviving rats were randomly divided into six groups with seven rats in each group as follows. (1) Sham operation group: normal saline was administered intragastrically for 28 days at 4 weeks after the operation. (2) model group: normal saline was administered intragastrically for 28 days after 4 weeks. (3) positive control group: 5 mg/kg losartan potassium was administered for 28 days after 4 weeks. (4) Zhenwu decoction low dose group: after 4 weeks, 6 g/kg Zhenwu decoction crude drug was administered for 28 days. (5) Zhenwu decoction middle dose group: 12 g/kg Zhenwu decoction crude drug was administered intragastrically for 28 days after 4 weeks. (6) Zhenwu decoction high dose group: 18 g/kg Zhenwu decoction crude drug was administered intragastrically for 28 days after 4 weeks. Changes in the electrocardiogram, color ultrasound, cardiomyocyte apoptosis, myocardial morphology, PI3K, AKT1 and p-AKT1 protein levels in myocardial tissue, immunohistochemical changes of Bax, Bcl-2, caspase 3, 8, 9 and BNP in the abdominal aorta were observed before and after modeling. **Results** (1) The ST segment of the heart failure model was elevated after coronary artery ligation, indicating that model establishment was successful. (2) The left ventricular mass index and BNP level of heart failure rats were increased significantly, and LVEF and LVFS were decreased significantly, whereas the left the ventricular mass index, BNP level, LVEF and LVFS were improved in the other groups. (3) Myocardial fibers in the model group were disordered and broken accompanied by cardiomyocyte swelling, hypertrophy. and inflammatory cell infiltration, which were relieved to various degrees in the other groups. Apoptosis in the model group was significant, which was alleviated after by Zhenwu decoction and positive control group drugs. (4) Compared with the model group, Bcl-2 was increased, and Bax and Caspase 3, 8, 9 were decreased in each treatment group. There was no significant difference in protein expression between Zhenwu decoction middle dose and sham operation groups. (5) Compared with the sham operation group, PI3K, p-AKT1 and AKT1 expression in the model group was increased, and Zhenwu decoction suppressed protein expression of PI3K, p-AKT1 and AKT1. **Conclusions** Zhenwu decoction reduces cardiomyocyte apoptosis and myocardial pathological changes in HF rats by regulating the PI3K-AKT pathway, enhancing myocardial contractility, and delaying the progression of heart failure.

【**Keywords**】 heart failure; Zhenwu decoction; myocardial apoptosis

心力衰竭(heart failure,HF)是多种原因导致心脏结构和/或功能的异常改变,使心室收缩和/或舒张功能发生障碍,从而引起的一组复杂临床综合征,是各种心脏疾病的严重表现和晚期阶段,是心脏病患者死亡的主要原因。目前我国约有 850 万 HF 患者,患病率逐年上升,再住院率日趋上涨,死亡率居高不下[1-2]。中医学认为温阳益气,化痰利水为治疗此病的主要法则[3],真武汤源于《伤寒论》,由附子、生姜、白芍、白术、茯苓组成,为温阳利水,标本兼治的代表性方剂,临床应用广泛。为了进一步探究真武汤治疗 HF 的机制,本研究通过构建冠脉结扎心衰大鼠模型,观察真武汤对冠脉结扎心衰大鼠模型的治疗作用及对心衰大鼠心肌病理形态学及心肌细胞凋亡的影响,探讨其对凋亡相关蛋白及 PI3K-AKT 信号通路的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

6~7 周龄,SPF 级 SD 大鼠,雄性,共 48 只,体重 220~250 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[SCXK(湘)2019-0004],动物饲养于江西中医药大学实验动物科技中心[SYXK(赣)2017-0004],将它们安置在恒定的室温(25±1)℃,相对湿度(55±3)%。12 h/12 h 昼夜循环,动物自由进食饮水。实验动物使用经江西中医药大学实验动物伦理委员会批准(JZLLSC20210059),并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

真武汤颗粒剂(组成:附子,白芍,白术,茯苓,生姜,江西中医药大学附属医院提供,全方生药量 62 g);氯沙坦钾片(浙江华海药业股份有限公司,0000005951)。

PI3 Kinase p110α(C73F8)Rabbit mAb(美国 CST 公司,#4249);Anti-AKT1 antibody[ST48-09](杭州华安生物,ET1609-47);Phospho-Akt1(S124)antibody(杭州华安生物,ET1701-36);Bcl-2 抗体(abcam, ab32124);Caspase3 抗体(abcam, ab13847);Bax 抗体(abcam,ab32503);Caspase8 抗

体(华安生物,RT1099);Caspase9 抗体(abcam,ab184786);二抗 goat anti-rabbit IgG-HRP(爱必信生物,abs20040);ELISA 试剂盒(江苏酶免实业有限公司,MM-0067R1);DAB 浓缩型试剂盒(北京索莱宝,DA1010);Tunel 试剂盒(Roche 公司,11684817910)。

正置显微镜(徕卡显微系统有限公司);恒温烘箱(上海一恒科学仪器有限公司);石蜡切片机(徕克公司);摊片机(徕克公司);冰冻切片机(thermo);脱水机(武汉俊杰电子有限公司);包埋机(武汉俊杰电子有限公司);Western blot 系统(美国 Bio-Rad);Bio-Rad 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad);高通量组织研磨器(宁波新芝生物);离心机(湖南湘仪);酶标仪(BioTek 仪器);DW3000 型小动物人工呼吸机(安徽正华仪器设备有限公司);MD3000 型生理信号采集系统(淮北正华仪器设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 造模方法

造模方法参考文献[4],实验前禁食 12 h,腹腔注射 2%戊巴比妥钠(50 mg/kg)进行麻醉后将其固定在鼠板上,行经口气管插管术后接小动物呼吸机,调频率为 80 次/分,吸呼比 1∶2,潮气量 4.5 L。连接心电图机,测量术前心电图。沿着胸骨左缘约 3 mm 纵行剪开胸部皮肤 4 cm,逐层钝性分离皮下、肌肉,暴露肋骨及肋间肌,在第三肋间剪开肋间肌,利用自制的开胸器撑开肋骨,开胸后撕破心包膜,暴露心脏,于肺动脉圆锥及左心耳交界处下方 2 mm 处用 6-0 缝线结扎冠状动脉左前降支(left anterior descending artery,LAD),结扎后关胸,逐层缝合肌肉皮肤,测量术后心电图,心电图提示 ST 段升高则造模成功。测量心电图后拔出气管插管,术后每天每千克予青霉素 24 万单位,共 5 d,预防感染。假手术组大鼠开胸后立即缝合。

1.3.2 实验分组

术后 4 周采用随机数字表法将存活的大鼠分为 6 组,每组 7 只,分组如下:(1)假手术组:术后 4 周给予生理盐水灌胃 28 d;(2)模型组:造模 4 周后予生理盐水灌胃 28 d;(3)阳性对照组:造模 4 周后予氯沙坦钾 5 mg/kg 灌胃 28 d;(4)真武汤低剂量组:造模 4 周后予真武汤生药量 6 g/kg 灌胃 28 d;(5)真武汤中剂量组:造模 4 周后予真武汤生药量 12 g/kg 灌胃 28 d;(6)真武汤高剂量组:造模 4 周后予真武汤生药量 18 g/kg 灌胃 28 d。

1.3.3 心脏彩超测定

本实验小动物超声影像系统 Vevo2100 型由江西中医药大学动物科技中心实验室提供。用异氟烷吸入麻醉,应用 MS250 超声探头进行心脏超声影像分析。测量射血分数(LVEF);短轴缩短率(LVFS%)。

1.3.4 样本制备及计算左心室质量指数(LVMI)

取材前称体重,大鼠麻醉后,于腹主动脉取血,静置离心后分离血清,置于-80℃冰箱以备 ELISA 检测。开胸取心脏,冰生理盐水洗净,滤纸吸干,沿房室沟剪掉两心房,剪掉主、肺动脉,紧贴室间隔右侧剪下右心室游离壁,剩余部分即为左心室。称取左心室质量腹主动脉取血分离血清,计算左心室质量/体重,即 LVMI。在结扎部位以下处经横断面切取心肌组织置于 4%多聚甲醛固定。剩余左室心肌梗死边缘组织放入冻存管内,置于液氮中冷冻保存以备蛋白免疫印迹法(Western blot)检测。LVMI=大鼠左心室质量/大鼠体重。

1.3.5 心脏组织 HE 染色

心肌组织固定后常规包埋切片,脱蜡,常规 HE 染色,封片,显微镜下观察病理改变。

1.3.6 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡水平

将蜡块切成厚度为 5 μm 的切片,脱蜡后进行 TUNEL 染色。中性树胶封片,显微镜下观察切片中心肌细胞的凋亡水平。

1.3.7 免疫组织化学染色法:

免疫组化染色步骤参照试剂盒说明书进行。检测心肌凋亡代表性蛋白 Bax、Bcl-2、Caspase3、Caspase8、Caspase9,显微镜 400 倍视野下随机采取 5 个视野,应用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件进行结果分析。

1.3.8 ELISA 测定

按照说明书操作步骤进行检测大鼠血清中 BNP 的含量。

1.3.9 Western blot 检测蛋白表达

取 20 μg 各组左室心肌匀浆蛋白样品,用 SDS-PAGE 分离,然后转至 PVDF 膜上,于 5%脱脂牛奶中室温封闭 2 h;将 PVDF 膜与相应的一抗在 4℃下孵育过夜,洗膜后二抗孵育(37℃,1 h),再次洗膜后发光并使用 Image Lab 软件分析结果。目的蛋白相对表达量=目的蛋白灰度值/内参照蛋白灰度值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计学软件,进行多组间比较

用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行统计,组间两两比较用方差分析后的 LSD 检验。实验数据以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,以 $P<0.05$ 为具有统计学意义。实验图采用 GraphPad Prism8 软件绘制。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况及心电图表现

大鼠造模后心电图可见明显 ST 段抬高,提示造模成功(图 1)。术后喂养 4 周,模型组大鼠可见精神萎靡、活动量减少、四肢及尾部稍有浮肿,各给药组和模型对照组比较精神状态较好,活动较自如,四肢及尾部浮肿减轻。

2.2 对大鼠心脏形态学指标的影响

如表 1 所示,与假手术组相比,模型组大鼠 LVMI 值显著升高($P<0.01$),提示模型组出现明显的左室肥厚。LVEF 值和 LVFS 值显著下降($P<0.01$),侧面证明大鼠造模成功。与模型组比较,各给药组 LVMI 值均显著降低($P<0.01$),其中中药中剂量组效果最优,且优于阳性药组;各给药组 LVEF 值、LVFS 值均较模型组升高,其中中药中剂量组显著升高($P<0.01$),中药低、高剂量组升高明显($P<0.05$),阳性药组无统计学意义($P>0.05$)。各组大鼠彩超图见图 2。

2.3 对大鼠 HE 染色的影响

相较于假手术组,模型组心肌纤维排列紊乱、断裂,同时并伴随着心肌细胞肿胀、肥大,有炎性细胞浸润,与模型组比较,真武汤低、中、高剂量组及阳性药组心肌细胞肿胀、炎性细胞浸润存在不同程度的减轻,心肌纤维纤维排列较模型组整齐(图 3)。

2.4 TUNEL 染色观察各组大鼠心肌组织中心肌细胞凋亡水平比较

如图 4 所示,可见凋亡细胞核被染成棕黄色,正常细胞核呈蓝色。与假手术组比较,模型组大鼠心肌组织中形态不规则,大小不一致的心肌细胞核明显增多,提示心肌细胞凋亡情况严重,与模型组比较,真武汤低、中、高及阳性药对照组形态和大小正常的蓝色细胞核明显增多,提示经真武汤或氯沙坦钾干预后凋亡现象改善。

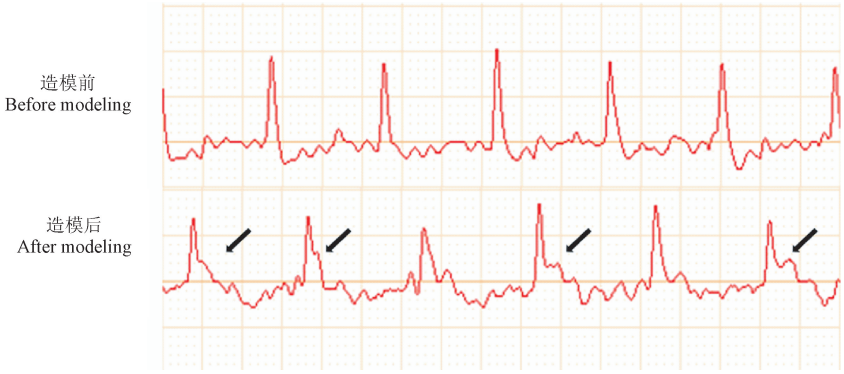


图 1 大鼠心电图

Figure 1 Rat ECG

表 1 心脏形态学指标

Table 1 Cardiac morphological indexes

分组 Groups	LVMI(g/kg)	LVEF(%)	LVFS(%)
假手术组 Sham operation group	1.4850±0.1450**	78.11±3.46**	48.09±3.54**
模型组 Model group	2.0135±0.1808##	40.81±7.84##	21.15±4.51##
阳性对照组 Positive control group	1.7580±0.1947**##	45.10±6.80##	23.60±4.19##
低剂量中药组 Low dose Chinese medicine group	1.8019±0.1795**##	50.55±12.23*##	27.39±7.79*##
中剂量中药组 Medium dose Chinese medicine group	1.7395±0.0607**##	55.61±9.47**##	30.63±6.37**##
高剂量中药组 High dose Chinese medicine group	1.7858±0.1628**##	52.32±7.08*##	28.29±4.73*##

注:与模型组相比,*$P<0.05$,**$P<0.01$;与假手术组相比,##$P<0.01$。

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

2.5　心衰心肌组织中 Bcl-2、Bax、Caspase3、Caspase8、Caspase9 表达差异

如表 2 所示,与假手术组比较,模型组 Bcl-2 表达显著下降($P<0.01$),Bax、Caspase3、Caspase8、Caspase9 表达显著升高($P<0.01$)。与模型组相比,低剂量组 Bcl-2 表达增强($P<0.05$),中、高剂量组及阳性对照组增强显著($P<0.01$)。真武汤低、中、高剂量组及阳性药对照组 Bax、Caspase3、Caspase8、Caspase9 蛋白表达降低,差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。其中中药中剂量组 Bcl-2、Bax、Caspase3、Caspase8、Caspase9 蛋白表达与假手术无明显差异,提示真武汤可有效抑制心衰大鼠过度凋亡,中剂量真武汤抗凋亡效果最佳。

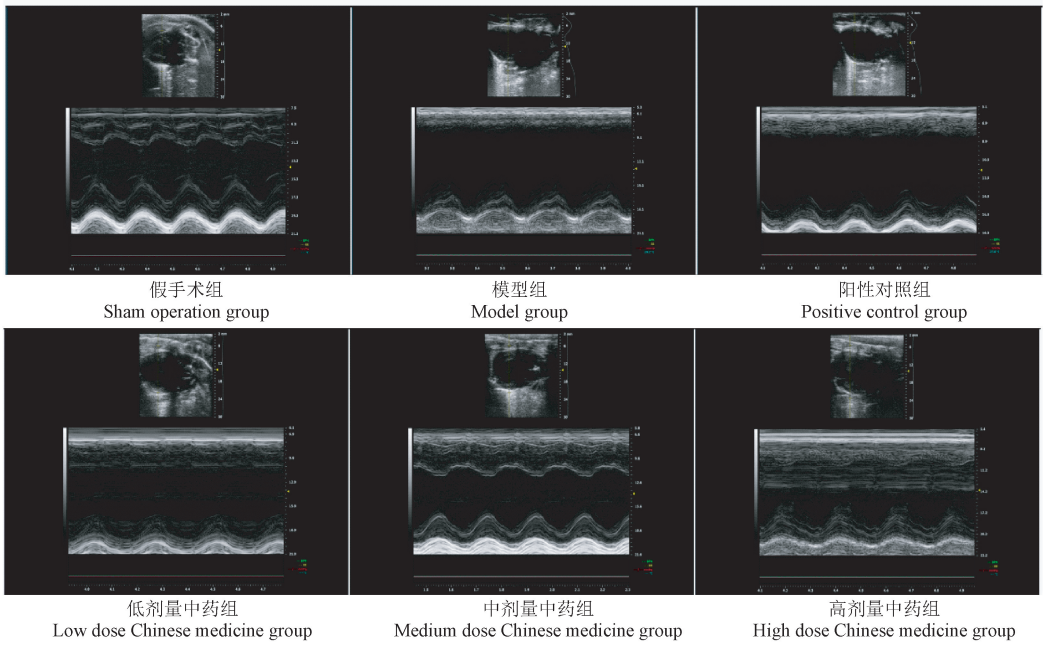


图 2　各组大鼠心脏彩超图

Figure 2　Color Doppler echocardiography of rats in each group

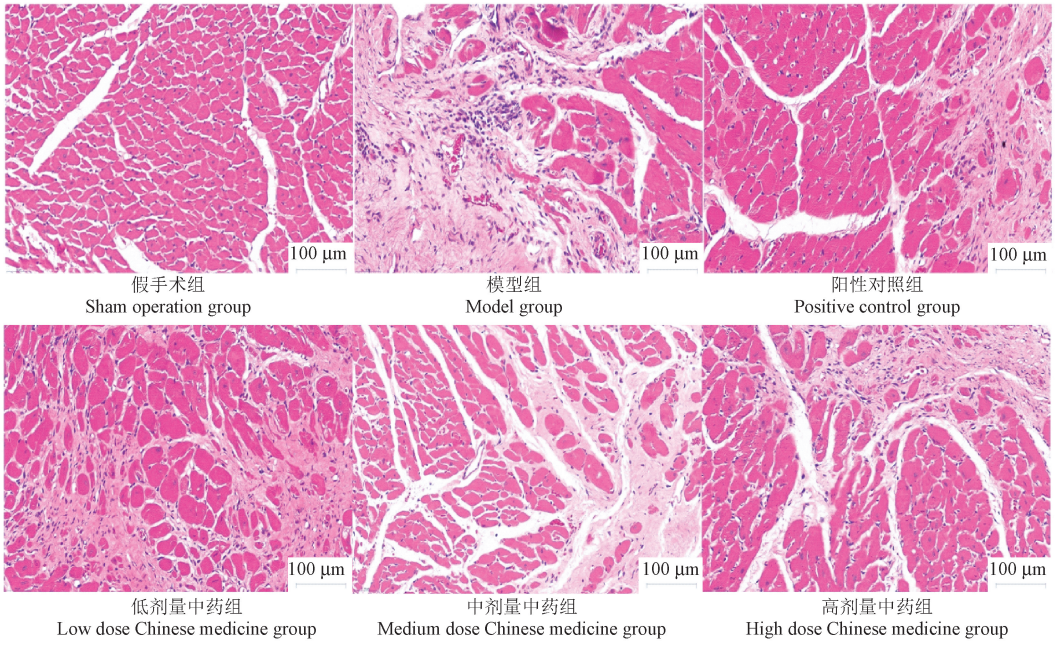


图 3　各组大鼠 HE 染色图

Figure 3　HE staining diagram of rats in each group

2.6　对大鼠 BNP 水平和 PI3K、AKT1、p-AKT1 表达的影响

相比于假手术组，模型组 BNP 水平显著升高（$P<0.01$），其余各组较模型组不同程度下降（$P<0.01$），中药中剂量下降最为显著（$P<0.01$）。结果提示心衰大鼠模型造模成功，真武汤及氯沙坦均能有效降低大鼠 BNP 水平，以中剂量效果最为显著（图 5A）。

与假手术组相比，模型组 PI3K、p-AKT1、AKT1 表达均升高，与模型组比较，真武汤低、中、高剂量组 PI3K、AKT1、p-AKT1 表达均下降，差异有统计学意义（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），且真武汤各剂量组 PI3K、p-AKT1、AKT1 表达水平与假手术组无明显差异（$P>0.05$）（图 5B~5E）。

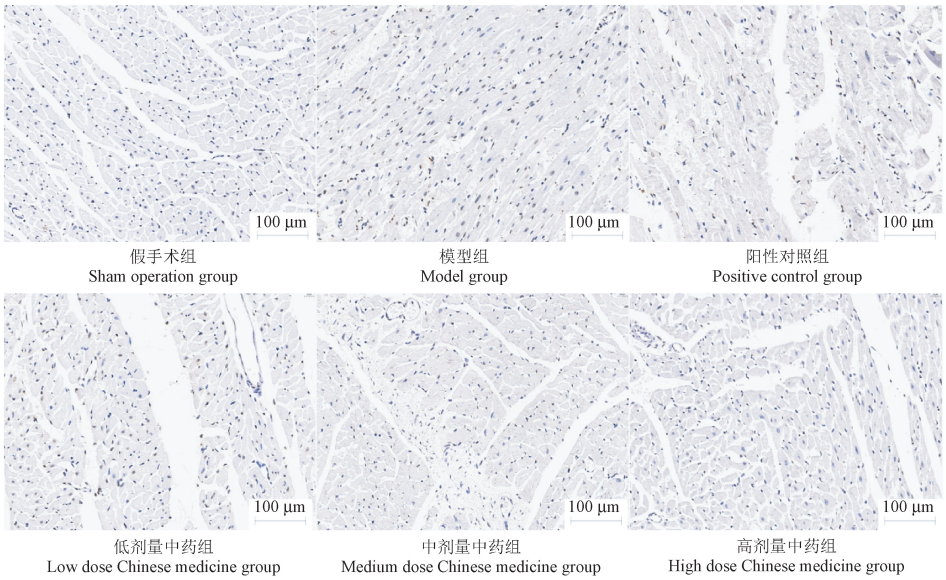
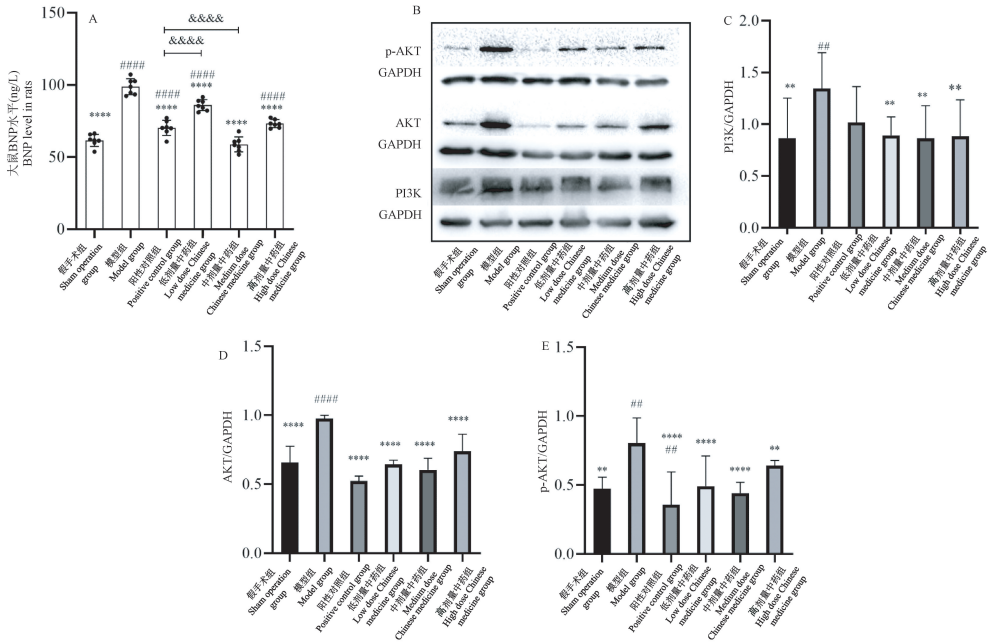


图 4　各组大鼠 TUNEL 染色

Figure 4　TUNEL staining of rats in each group



注：与假手术组相比，$^{\#\#}P<0.05$，$^{\#\#\#\#}P<0.01$；与模型组相比，$^{**}P<0.05$，$^{****}P<0.01$；与阳性对照组相比，$^{\&\&}P<0.05$，$^{\&\&\&\&}P<0.01$。

图 5　各组大鼠 BNP 水平和 Western blot 结果

Note. Compared with the sham operation group, $^{\#\#}P<0.05$, $^{\#\#\#\#}P<0.01$. Compared with the model group, $^{**}P<0.05$, $^{****}P<0.01$. Compared with the positive control group, $^{\&\&}P<0.05$, $^{\&\&\&\&}P<0.01$.

Figure 5　BNP level and Western blot results of rats in each group

表 2　免疫组化分析结果(IOD/area)

Table 2　Results of immunohistochemical analysis (IOD/area)

分组 Groups	Bcl-2	Bax	Caspase3	Caspase8	Caspase9
假手术组 Sham operation group	0.258±0.047 **	0.080±0.028 **	0.107±0.043 **	0.068±0.032 **	0.082±0.040 **
模型组 Model group	0.161±0.072 ##	0.235±0.054 ##	0.216±0.062 ##	0.196±0.049 ##	0.201±0.588 ##
阳性对照组 Positive control group	0.237±0.059 ** #	0.129±0.052 ** ##	0.165±0.041 * ##	0.101±0.026 ** #	0.105±0.042 **
低剂量中药组 Low dose Chinese medicine group	0.207±0.032 * #	0.157±0.037 ** ##	0.145±0.058 ** #	0.100±0.048 ** #	0.108±0.034 **
中剂量中药组 Medium dose Chinese medicine group	0.239±0.063 **	0.107±0.049 **	0.111±0.588 **	0.072±0.039 **	0.094±0.040 **
高剂量中药组 High dose Chinese medicine group	0.214±0.062 ** #	0.124±0.036 ** ##	0.167±0.631 * ##	0.087±0.039 **	0.115±0.263 ** #

注:与模型组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与假手术组相比, # $P<0.05$, ## $P<0.01$。

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

3　讨论

从中医学角度讨论,心衰多见本虚重而标实亦重、虚实夹杂,互相裹挟之症,以心气心阳虚惫为本,水饮、瘀血、痰浊乃标实之候[5]。心气心阳虚衰,推动和温煦的功能疲惫,进而导致血瘀的病理状态,瘀血阻滞,血不利则为水,随着病情迁延,虚实互为因果,水饮、痰浊、瘀血为盛,阴胜则阳病,继而加重心阳之虚衰,心脏之虚累及五脏,致使心、肾、脾阳衰惫,无力行水化气,而致水饮内停,饮停于内,或射肺,或凌心,或溢于肌肤,临床所见则为喘、为悸、为肿[5-7]。故而心衰病证的病机关键是阳虚水泛,温阳益气,化痰利水为治疗此病的主要法则[8-9]。

真武汤为温阳利水代表方,临床研究已证实,真武汤治疗 HF 通过改善心脏射血分数(LVEF)、每搏输出量(SV)、心搏量指数(SVI)、心脏指数(CI)等从而减轻临床症状[10-11]。

本研究选用结扎大鼠冠状动脉左前降支法构建 HF 模型,此方法与临床上由冠状动脉阻塞所引起的心肌梗死的病理特征相符,是较理想的构建 HF 动物模型的方法,也是目前研究 HF 常用的动物模型之一[12-13]。在模型组中,大鼠出现明显的左室肥厚,LVEF<50%,HF 标志物 BNP 水平明显上升($P<0.01$),判断心衰模型建立成功[1,14]。

实验结果表明,真武汤能明显改善 HF 大鼠 LVEF、LVFS、LVMI,增强 HF 大鼠心肌收缩力,缓解 HF 大鼠左室肥厚程度。病理结果显示心衰大鼠心肌细胞明显肿胀、肥大及炎性细胞浸润,改善 HF 大鼠心肌纤维化,并能有效降低心衰大鼠血清 BNP 水平,抑制心衰大鼠心肌细胞过度凋亡。在真武汤各剂量组比较中,真武汤中剂量组各方面表现均优于低、高剂量组。另外,有研究指出真武汤方中君药附子的毒效网络具有极高的相似性,其强心作用也是其心脏毒性的原因[15]。以上提示真武汤干预 HF 可能在某一剂量区域内存在正向的量效关系,且与方中附子的剂量有关。

心肌细胞凋亡是心肌细胞丢失的主要原因,在心室重塑和随后的 HF 过程中起着关键作用。细胞的凋亡主要包括死亡受体介导和线粒体介导两种途径,死亡受体介导途径通过形成死亡诱导信号复合物(DISC)激活 Caspase8,进而发生级联反应活化 Caspase3 等导致凋亡事件。线粒体介导途径通过影响线粒体膜通透性,促使线粒体内凋亡启动因子释放至胞质形成凋亡复合体(apoptosome),激活 Caspase9,进而通过级联反应激活 Caspase3 等发生凋亡。Caspase8 和 Caspase9 的激活是这两种途径最关键的过程[16]。Bcl-2 家族的抗凋亡和促凋亡成员与线粒体凋亡通路密切相关。Bcl-2 和 Bax 是一组典型的抗凋亡蛋白和促凋亡分子,它们作用于线粒体外膜,导致凋亡启动因子的释放[17]。PI3K/AKT 信号通路是参与细胞增殖调控的重要通路,过往研究认为短期激活 PI3K/AKT 可抑制细胞凋亡因子,增强血管生成,调节 Ca^{2+} 内流,促进心肌细胞能量的代谢以及抑制炎症反应的进行等过程促进生理性肥厚,保护心肌免受损伤,而长期激活则可引起病理性肥厚和心力衰竭[18]。

本研究发现 HF 大鼠 PI3K、p-AKT1、AKT1 表达显著升高,同时伴有 Bax、Caspase3、Caspase8、

(下转第 57 页)