

- and metabolic diseases: from mechanisms to therapeutics [J]. *Theranostics*, 2019, 9(7): 1923-1951.
- [9] LIN X, ZHANG N. Berberine: pathways to protect neurons [J]. *Phytother Res*, 2018, 32 (8): 1501-1510.
- [10] 雍陟, 沈曼茹, 高振军, 等. 小檗碱对肝硬化大鼠肠粘膜及肝脏保护作用的研究[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(5): 23-27.
- [11] 宾文婷, 常加松, 吴剑平. 四氯化碳加乙醇复合法诱导肝硬化大鼠模型的建立及验证[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(20): 3224-3229.
- [12] 段文彪, 吴伟斌, 张贵锋, 等. 鳖甲煎丸对肝硬化模型大鼠糖脂代谢紊乱和肝纤维化的影响[J]. *解剖学研究*, 2020, 42(4): 10-14+20.
- [13] 刘世政, 凌再芹, 林爱清. 小柴胡汤通过TGF- β 1/Smad通路改善大鼠肝纤维化[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 49(1): 58-62.
- [14] D' AMICO G, MORABITO A, D' AMICO M, et al. Clinical states of cirrhosis and competing risks [J]. *J Hepatol*, 2018, 68(3): 563-576.
- [15] SMITH A, BAUMGARTNER K, BOSITIS C. Cirrhosis: diagnosis and management [J]. *Am Fam Physician*, 2019, 100(12): 759-770.
- [16] 廖丹, 江建宁. 肝纤维化形成的机制——信号转导通路TGF- β /smad的作用概论[J]. *国外医学·流行病学传染病学分册*, 2004, 31(3): 170-172.
- [17] YANG H Y, KIM K S, LEE Y H, et al. *Dendropanax moribifera* ameliorates thioacetamide-induced hepatic fibrosis via TGF- β 1/Smads pathways [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(4): 800-811.

【责任编辑：侯丽颖】

基于Wnt/ β -catenin通路探讨益气活血方对急性心肌梗死大鼠心肌损伤的修复作用

李伟艺, 刘红松, 高山瑛, 苏志强

(汉中市人民医院中医康复科, 陕西汉中 723000)

摘要:【目的】探讨益气活血方对急性心肌梗死(AMI)大鼠心肌损伤的修复作用及机制。【方法】将60只大鼠随机分为假手术组、模型组、中药组、Wnt-C59(Wnt/ β -catenin信号通路抑制剂)组, 每组15只。模型组、中药组、Wnt-C59组大鼠采用冠状动脉前降支结扎法建立AMI模型, 假手术组大鼠仅打开胸腔后缝合。成功造模后, 中药组大鼠灌胃益气活血方药液 $6.48\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, Wnt-C59组大鼠灌胃Wnt-C59 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 假手术组和模型组大鼠灌胃0.9%氯化钠(NaCl)溶液 $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 共4周。给药结束后, 评价大鼠心功能变化, 采用苏木素-伊红(HE)法和Masson染色法观察大鼠心肌组织病理学改变, 脱氧核糖核酸末端转移酶(TdT)介导的核苷酸(dUTP)缺口末端标记法(TUNEL)染色检测心肌细胞凋亡情况, 实时荧光定量多聚核苷酸链式反应(RT-qPCR)法检测心肌组织半胱氨酸蛋白酶3(Caspase-3)、B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)mRNA表达, 酶联免疫吸附分析(ELISA)法检测血清心肌损伤指标乳酸脱氢酶(LDH)、磷酸肌酸激酶(CK)、CK同工酶(CK-MB)的含量, 蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测心肌组织Wnt3a、 β -catenin及 β -catenin靶基因细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、C-myc蛋白表达水平。【结果】与正常组比较, 模型组大鼠心功能显著降低, 出现明显心室扩张和重构, 心肌组织排列紊乱、纤维化明显、细胞凋亡增加, Caspase-3、Bax mRNA表达水平上调, Bcl-2 mRNA表达水平下调, 血清心肌损伤因子含量显著升高, 心肌组织Wnt3a、 β -catenin、Cyclin D1、C-myc蛋白表达水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较, 中药组和Wnt-C59组大鼠心功能指标得到显著改善, 心肌组织排列较为整齐, 胶原纤维沉积减少, 细胞凋亡减少, Caspase-3、

收稿日期: 2021-04-17

作者简介: 李伟艺(1978-), 男, 中医主治医师; E-mail: f123my@163.com

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 8177052088)

Bax mRNA 表达水平降低, Bcl-2 mRNA 表达水平增加, 血清心肌损伤因子含量降低, 心肌组织 Wnt3a、 β -catenin、Cyclin D1、C-myc 蛋白表达水平降低($P < 0.05$)。【结论】益气活血方可能通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路改善AMI大鼠心肌损伤。

关键词: 益气活血方; 急性心肌梗死; Wnt/ β -catenin 信号通路; 心功能; 凋亡; 心肌损伤; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)12-2715-08

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtc.2021.12.028

Protective Effect of *Yiqi Huoxue* Prescription against Myocardial Injury in Rats with Acute Myocardial Infarction Based on Wnt/ β -catenin Pathway

LI Wei-Yi, LIU Hong-Song, GAO Shan-Ying, SU Zhi-Qiang

(Dept. of Traditional Chinese Medicine Rehabilitation, Hanzhong People's Hospital, Hanzhong 723000 Shaanxi, China)

Abstract: Objective To observe the protective effect and mechanism of *Yiqi Huoxue* prescription with Qi-replenishing and Blood-activating action against myocardial injury in rats with acute myocardial infarction (AMI).

Methods Sixty rats were randomly divided into sham-operation group, model group, Chinese medicine group, and Wnt-C59 (Wnt/ β -catenin signaling pathway inhibitor) group, with 15 rats in each group. AMI rat model in the model group, Chinese medicine group and Wnt-C59 group were established by ligation of the anterior descending branch of the coronary artery, while the sham-operation group was only sutured after opening the chest cavity. After successful modeling, the rats in the Chinese medicine group were gavaged with $6.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ of *Yiqi Huoxue* prescription, rats in the Wnt-C59 group were gavaged with $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ of Wnt-C59, and rats in the sham-operation group and model group were gavaged with 20 mL/kg of 0.9% sodium chloride (NaCl) solution, and the drug administration lasted for 4 weeks. At the end of drug administration, the changes of cardiac function in rats were evaluated, histopathological changes of myocardium in rats were observed by hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining, apoptosis was detected by deoxynucleotide terminal transferase (TdT)-mediated nucleotide (dUTP) nick end labeling (TUNEL) staining, mRNA expression of cysteine aspartate-specific protease 3 (Caspase-3), B-lymphoma-2 gene (Bcl-2) and Bcl-2-associated X protein (Bax) in myocardial tissue was detected by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), contents of lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK) and CK isoenzyme (CK-MB) in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and protein expression levels of Wnt3a, β -catenin and β -catenin target genes Cyclin D1 and C-myc in myocardial tissue were detected by Western Blot. **Results** Compared with the normal group, the cardiac function of rats in the model group was significantly reduced, the obvious ventricular dilatation and remodeling, myocardial tissue disorder, obvious fibrosis, increased cell apoptosis were seen, mRNA expression levels of Caspase-3 and Bax were up-regulated, and mRNA expression level of Bcl-2 was down-regulated, and contents of serum myocardial injury factors were significantly increased, and protein expression levels of Wnt3a, β -catenin, Cyclin D1 and C-myc in myocardial tissue were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the cardiac function indexes of the Chinese medicine group and Wnt-C59 group were significantly improved, and the myocardial tissue was arranged more neatly, the deposition of collagen fibers was reduced, cell apoptosis was decreased, mRNA expression levels of Caspase-3 and Bax were decreased, mRNA expression level of Bcl-2 was increased, and contents of serum myocardial injury factors were decreased, and the protein expression levels of Wnt3a, β -catenin, Cyclin D1 and C-myc in myocardial tissue were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** *Yiqi Huoxue* prescription is effective for improving myocardial injury in AMI rats by possible regulating Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Keywords: *Yiqi Huoxue* prescription; acute myocardial infarction (AMI); Wnt/ β -catenin signaling pathway; cardiac function; apoptosis; myocardial injury; rats

急性心肌梗死(AMI)是临床常见的心血管疾病,通常会危及患者生命,已成为全球严重的公共卫生问题^[1-2]。AMI的病因复杂,与患者的生活方式、饮食习惯、遗传因素、后天生存环境及机体病理生理状态均密切相关^[3]。发生AMI后,及时采用溶栓治疗或经皮冠脉介入治疗是缩小梗死面积并改善临床结果的最佳、也是最有效的策略;然而,当前的临床数据显示,经皮冠脉介入治疗及二级预防性治疗后,患者的发病率和死亡率依然较高,且在恢复缺血心肌血流的同时极可能带来再灌注损伤,导致心肌细胞死亡。因此,寻找有效的AMI治疗及预防方法和药物至关重要^[4-5]。AMI属于中医学“胸痹”的范畴,为本虚(气虚、阳虚)标实(痰浊、血瘀)病症。益气活血疗法常被用于中医临床治疗冠心病、动脉粥样硬化等心血管疾病^[6-7]。本研究中的益气活血方由黄芪、当归、川芎、丹参4味药材组成,具有补气活血功效。本课题组前期临床研究发现,益气活血方治疗AMI患者,能够降低心肌损伤指标乳酸脱氢酶(LDH)、磷酸肌酸激酶(CK)、CK同工酶(CK-MB)的含量,提高左室射血分数。有研究表明,Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路与心脑血管疾病的发生发展密切相关,该信号通路的表达情况影响着心肌细胞的增殖、凋亡及炎症水平,抑制该信号转导途径的表达往往可取得较好的治疗效果^[8-9]。因此,本研究以Wnt/ β -catenin信号通路为切入点,观察益气活血方对AMI大鼠心功能和结构的影响,探究其对AMI相关心肌损伤的修复作用及机制,现将研究结果报道如下。

1 材料与方

1.1 实验动物 SPF级SD大鼠60只,雌雄各半,6~8周龄,体质量180~220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0006]。实验单位:陕西中医药大学实验动物中心[SYXK(陕)2021-001]。饲养环境:温度20~25℃,湿度50%~65%,光照/黑暗12 h交替。

1.2 药物、试剂与仪器 益气活血方(黄芪30 g、当归12 g、川芎15 g、丹参15 g,中药饮片购自汉中市人民医院),由汉中市人民医院药剂科制备成1.6 g/mL的浓缩水煎液,4℃冰箱保存。Wnt-C59 [Wnt/ β -catenin信号通路抑制剂,阿拉丁试剂(上

海)有限公司产品,货号: SJ015EF497158]; 苏木素-伊红(HE)、Masson及脱氧核苷酸末端转移酶(TdT)介导的核苷酸(dUTP)缺口末端标记法(TUNEL)染色试剂盒(博士德生物有限公司); LDH、CK、CK-MB试剂盒(南京建成生物工程研究所); 反转录试剂盒、实时荧光定量多聚核苷酸链式反应(RT-qPCR)预混液(美国Thermo Scientific公司); 引物(日本Takara公司合成); Wnt3a、 β -catenin、细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、C-myc兔单抗(武汉三鹰生物技术有限公司)。电泳仪,购自北京六一仪器厂; 多普勒超声仪,购自美国Beckman公司; IX53型显微镜,购自日本奥林巴斯; 多功能凝胶成像系统,购自美国Syngene公司; 酶标仪,购自美国Thermo Fisher Scientific公司。

1.3 分组与造模 将60只大鼠按照随机数字表分为假手术组、模型组、中药组、Wnt-C59组,每组15只。模型组、中药组、Wnt-C59组大鼠按照文献[10]方法,采用结扎冠状动脉前降支法建立AMI模型,若心电图可见II导联ST段较术前抬高0.2 mV以上即可认为造模成功。经术后观察,模型组、中药组、Wnt-C59组大鼠各有14只、15只和14只造模成功。假手术组大鼠仅打开胸腔后缝合。各组大鼠均在造模后肌注4万U青霉素预防感染。每日1次,共3 d。

1.4 给药方法 造模后第2天,中药组大鼠灌胃6.48 g/kg益气活血方药液,给药剂量按照人和动物体表面积折算的等效剂量比率关系换算,Wnt-C59组大鼠灌胃30 mg/kg Wnt-C59,假手术组和模型组大鼠灌胃20 mL/kg 0.9%氯化钠(NaCl)溶液,1次/d,共4周。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 心功能指标检测 末次给药后2 h,采用多普勒超声仪检测各组大鼠左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)、左室收缩末期内径(LVESD)和左室舒张末期内径(LVEDD)。连续检测3个心动周期,取其平均值。

1.5.2 标本制备 完成心电图检查后,各组大鼠尾静脉取血,于4℃冰箱静置2 h,以3 000 r/min(离心半径为12.5 cm)离心10 min后取血清,用于酶联免疫吸附分析(ELISA)检测。处死大鼠,分离心脏,一部分心脏组织以40 g/L多聚甲醛溶液固定,用于切片染色,余下的组织置于-80℃冻存,

用于蛋白免疫印迹(Western Blot)和RT-qPCR检测。

1.5.3 HE染色检测 心脏组织在40 g/L多聚甲醛溶液中固定48 h后,蒸馏水清洗、梯度乙醇脱水后制作病理切片,切片厚度为4 μm ,脱蜡、复水后行HE染色,光镜下观察大鼠心肌组织病变。

1.5.4 Masson染色检测 组织固定、病理切片制作、脱蜡和复水过程同“1.5.3”项。按照Masson染色试剂盒的操作步骤进行染色,光镜下观察心脏组织纤维化情况。

1.5.5 TUNEL染色检测 组织固定、病理切片制作、脱蜡和复水过程同“1.5.3”项。严格按照TUNEL试剂盒的步骤对病理切片进行染色处理,

并置于荧光显微镜下拍照记录,计算凋亡指数(AI)。AI(%) = 阳性细胞数/总细胞数 \times 100%。

1.5.6 RT-qPCR法检测 取大鼠心肌组织,研磨匀浆后加入TRIzol裂解液提取总RNA,使用RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit逆转录试剂盒合成cDNA,作为荧光定量模版。引物序列见表1。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、62 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,扩增40个循环,最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 5 min终止反应。实验重复3次。根据 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算目的基因mRNA相对表达量。

1.5.7 ELISA法检测 取大鼠血清,严格按照试剂盒说明书步骤检测血清LDH、CK-MB、CK的含量。

表1 PCR引物序列

Table 1 PCR primer sequences

基因名称	正向引物序列(5'-3')	反向引物序列(5'-3')	长度(bp)
Caspase-3	GTCTGACTGAAAGCCGAACTCT	GAGAAGGACTCAAATTCCTGGC	304
Bcl-2	GGCATCTTCTCCTCCAG	CATCCAGCCTCCGTTAT	442
Bax	TTTGTTACAGGGTTTCATCCAGG	TTCCAGATGGTGAGCGAGGC	492
GAPDH	TGCTTCACCACCTTCTTGA	TCACCATCTCCAGGAGC	136

1.5.8 Western Blot法检测 取大鼠心脏组织,研磨匀浆后提取组织蛋白并测定蛋白浓度(BCA法),加入loading buffer混匀、煮沸使蛋白变性。取适量蛋白上样行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转膜后封闭2 h。然后将聚偏氟乙烯(PVDF)膜置于4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下在Wnt3a、 β -catenin、Cyclin D1、C-myc一抗稀释液(1:1 000)孵育12 h, TBST缓冲液清洗。再把PVDF膜置于羊抗兔IgG二抗稀释液(1:2 000)中37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h, TBST洗膜,均匀滴加适量发光液,放置于凝胶成像仪中显影拍摄。以GAPDH为内参,以目的蛋白的灰度值与GAPDH灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达水平。

1.6 统计方法 采用SPSS 25.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多样本比较采用单因素方差分析(One way ANOVA),两样本比较采用LSD-*t*检测方法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心功能指标比较 表2结果显示,模型组大鼠心功能指标LVEF和LVFS均低于假手术组, LVESD和LVEDD均高于假手术组($P < 0.05$),而中药组、Wnt-C59组LVEF和LVFS值均高于模型组, LVESD和LVEDD值均低于模型组($P < 0.05$)。

表2 各组大鼠心功能指标比较

Table 2 Comparison of cardiac function indexes of rats in various groups

组别	鼠数(只)	LVESD(mm)	LVEDD(mm)	LVEF(%)	LVFS(%)
假手术组	15	4.53 \pm 0.79	6.90 \pm 0.95	78.69 \pm 4.72	42.55 \pm 3.39
模型组	14	9.20 \pm 1.37 ^①	10.49 \pm 1.39 ^①	38.57 \pm 2.09 ^①	16.68 \pm 2.25 ^①
中药组	15	7.09 \pm 1.14 ^②	8.55 \pm 1.19 ^②	55.10 \pm 3.13 ^②	24.32 \pm 2.48 ^②
Wnt-C59组	14	7.16 \pm 1.20 ^②	8.64 \pm 1.21 ^②	56.67 \pm 3.01 ^②	24.79 \pm 2.26 ^②

① $P < 0.05$,与假手术组比较;② $P < 0.05$,与模型组比较

2.2 各组大鼠心肌组织病理学变化比较 图 1 结果显示, 假手术组心肌组织结构正常、完整, 心肌细胞分布均匀、有序, 轮廓清晰可见, 胞核与胞质边缘分明, 血管管腔完整, 部分血管周围有少量呈蓝色的胶原组织。与假手术组比较, 模型组心肌组织 HE 染色着色较浅, 有细胞轮廓不清晰和细胞破碎现象, 组织的排列呈异常紊乱、无序状, 并伴有炎症细胞浸润, Masson 染色显示紫红色的心肌组织明显减少, 存在大量呈蓝色的胶原纤维, 血管破碎, 部分血管呈管腔狭窄和闭合。与模型组比较, HE 染色显示中药组和 Wnt-C59 组心肌组织排列较为整齐, 着色相对更均匀, 有少

量炎症细胞浸润, 血管管腔完整度较好, Masson 染色显示中药组和 Wnt-C59 组以紫红色心肌组织为主, 蓝色胶原纤维沉积现象显著减轻。

2.3 各组大鼠心肌细胞凋亡情况比较 图 2 结果显示, 假手术组大鼠心肌细胞几乎无凋亡, 偶见胞核呈棕褐色的阳性染色细胞, 而模型组大鼠心肌细胞 AI 值及阳性染色细胞数量均显著高于假手术组 ($P < 0.05$), 中药组、Wnt-C59 组大鼠心肌细胞 AI 值及阳性染色细胞数量均显著低于模型组 ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠心肌凋亡相关基因 mRNA 表达水平比较 图 3 结果显示: 模型组大鼠心肌 Caspase-3、

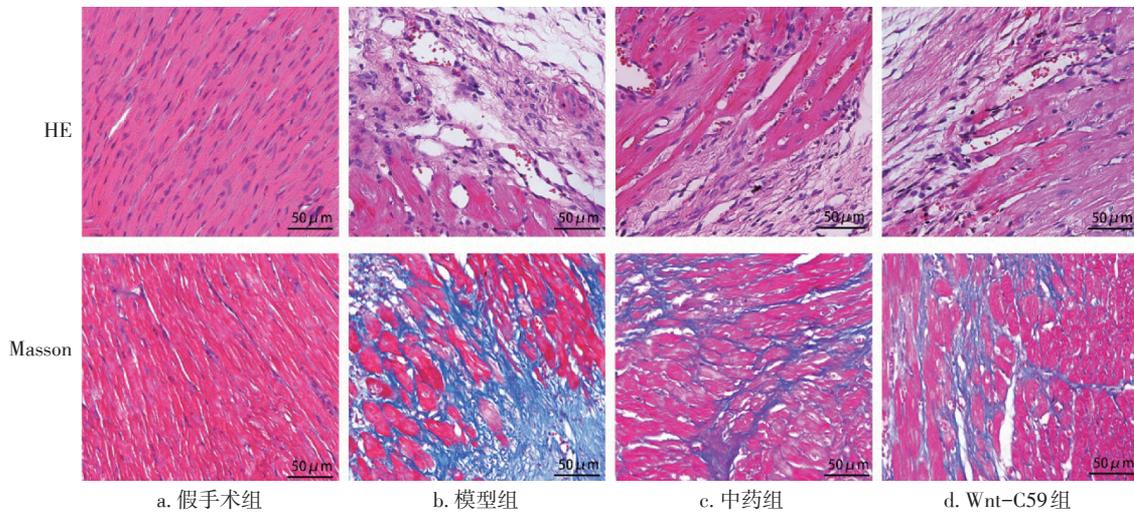
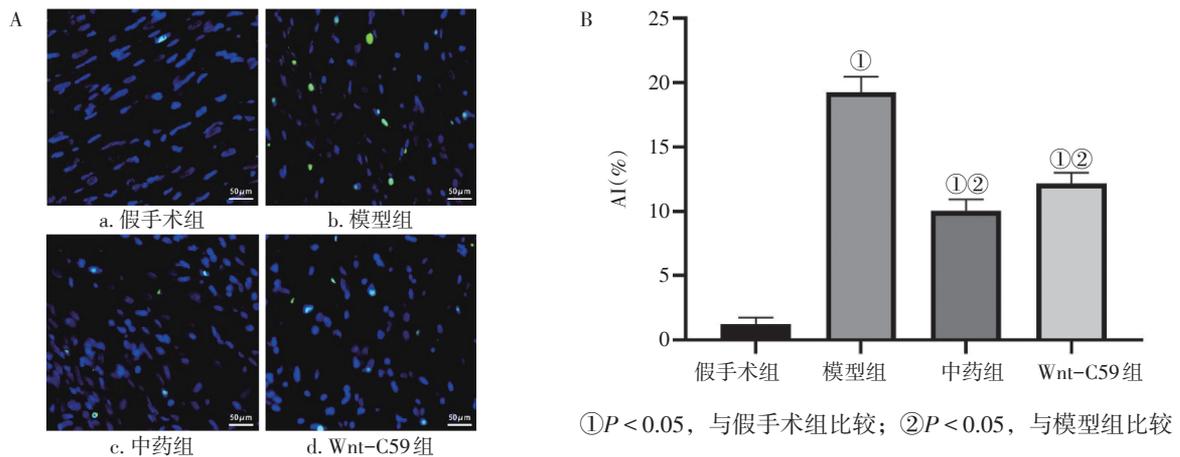


图 1 各组大鼠心肌组织病理变化比较 (HE 染色法, $\times 400$; Masson 染色法, $\times 400$)

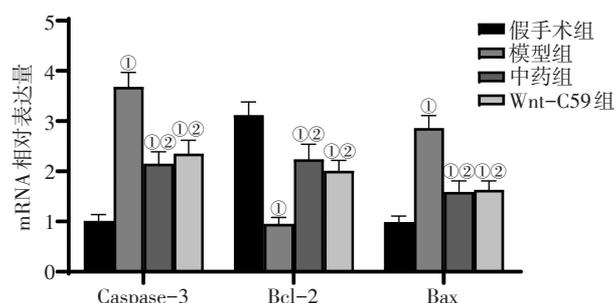
Figure 1 Comparison of pathological changes of myocardial tissue of rats in various groups (by HE staining, $\times 400$; by Masson staining, $\times 400$)



A. TUNEL 阳性染色细胞分布; B. 细胞凋亡指数 (AI)

图 2 各组大鼠心肌细胞凋亡情况比较 (TUNEL 法, $\times 400$)

Figure 2 Comparison of apoptosis of rat myocardial cells in various groups (by TUNEL, $\times 400$)

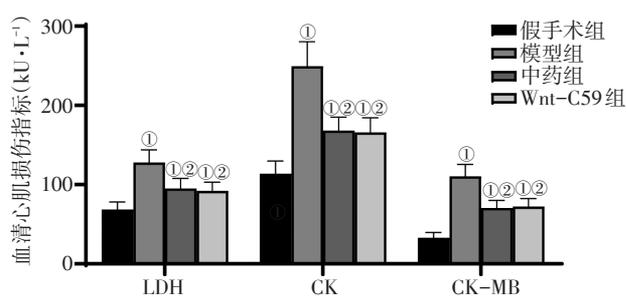


① $P < 0.05$, 与假手术组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

图3 各组大鼠心肌凋亡相关基因 mRNA 表达水平比较
Figure 3 Comparison of mRNA expression levels of rat myocardial apoptosis-related genes in various groups

Bax mRNA 表达水平显著高于假手术组, Bcl-2 mRNA 表达水平显著低于假手术组($P < 0.05$); 与模型组比较, 中药组和 Wnt-C59 组 Caspase-3、Bax mRNA 表达水平降低, Bcl-2 mRNA 表达水平升高($P < 0.05$)。

2.5 各组大鼠血清 LDH、CK、CK-MB 含量比较 图4结果显示, 模型组大鼠血清 LDH、CK、CK-MB 的含量均显著高于假手术组($P < 0.05$), 中

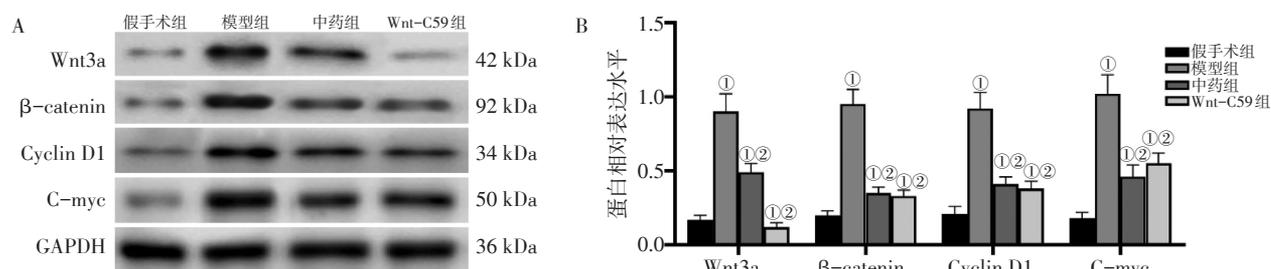


① $P < 0.05$, 与假手术组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

图4 各组大鼠血清心肌损伤指标比较
Figure 4 Comparison of serum myocardial injury indexes of rats in various groups

药组和 Wnt-C59 组血清 LDH、CK-MB、CK 含量均显著低于模型组($P < 0.05$)。

2.6 各组大鼠心肌组织 Wnt/ β -catenin 通路相关蛋白表达比较 图5结果显示, 模型组大鼠心肌组织 Wnt3a、 β -catenin、Cyclin D1、C-myc 蛋白表达水平均显著高于假手术组($P < 0.05$), 中药组和 Wnt-C59 组 Wnt3a、 β -catenin、Cyclin D1、C-myc 蛋白表达水平均显著低于模型组($P < 0.05$)。



A. Wnt3a、 β -catenin、Cyclin D1、C-myc、GAPDH 的 Western Blot 电泳条带; B. Wnt3a、 β -catenin、Cyclin D1、C-myc 蛋白相对表达水平

① $P < 0.05$, 与假手术组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

图5 各组大鼠心肌组织 Wnt/ β -catenin 通路相关蛋白表达比较
Figure 5 Comparison of Wnt/ β -catenin signaling pathway-related protein expression in myocardial tissue of rats in various groups

3 讨论

急性心肌梗死(AMI)属于中医学“胸痹”的范畴。年老体衰、饮食不节、寒邪内侵等均为其病因, 基本病机为心脉阻闭不通, 心失所养。本病病性为本虚标实, 本虚指气虚、阳虚、阴虚, 以心气虚为主; 标实为痰浊、血瘀、气滞、寒凝, 以血瘀为主^[1]。气虚血瘀为该病的主要病机, 因气

虚而导致气血运行不顺, 血停则瘀, 抑或气血生化不足, 气血运行中断, 触发本病, 因此, “益气”是治疗 AMI 的主要原则。临床研究表明, 具有活血化瘀、行气开郁的中药方剂在治疗 AMI 时常能取得显著疗效, 联合西医治疗也成为当前 AMI 治疗的常用方案^[12-13]。本研究所用的益气活血方中, 黄芪为君药, 温阳补气, 当归为臣药, 可

“破恶血、养新血”，川芎和丹参活血、行气、祛瘀，能祛风、通经、止痛，诸药相互为用，共奏补气活血之功效^[14]。

LVEF、LVFS、LVESD和LVEDD是临床治疗中用于评价心脏功能的常用指标。AMI发生后，心脏的收缩力和舒张力显著降低，这些改变归因于心室壁局部缺血^[15]。本研究结果显示，模型组大鼠心脏功能显著降低，有明显心室扩张和重构，益气活血方可改善大鼠心脏功能，减轻心室扩张。与细胞损伤和功能完整性丧失有关的LDH、CK、CK-MB等指标是评估心肌损伤和充血性心力衰竭的重要心肌酶，已被应用于临床诊断心肌梗死性疾病^[16]。本研究结果显示，模型组LDH、CK、CK-MB含量均显著增加，益气活血方降低血清LDH、CK、CK-MB含量，可改善模型大鼠心肌损伤，减轻心肌组织胶原纤维沉积。另外，模型组大鼠心肌细胞凋亡显著，而益气活血方能够减轻细胞凋亡，且这一现象在Caspase-3、Bcl-2、Bax mRNA表达的检测中得到验证。Bcl-2家族高度严格调控人体正常细胞和恶性细胞的死亡过程，其中包括抗凋亡蛋白Bcl-2和促凋亡的效应蛋白Bax，Bcl-2和Bax可共同激活促凋亡蛋白Caspase-3及Caspase家族的其他因子，引起衰老和凋亡的发生^[17]。本研究结果显示，模型组心肌Caspase-3、Bax mRNA表达水平升高，Bcl-2 mRNA表达水平降低，益气活血方可下调Caspase-3、Bax mRNA水平，上调Bcl-2 mRNA水平，提示益气活血方可减轻AMI导致的心肌损伤和细胞凋亡。

Wnt信号通路最初在癌症过程中被发现，其可调控人类和动物的多种病理生理过程，激活不同信号转导途径^[18]。经典Wnt信号通路的功能异常与心脏疾病相关，如AMI、肥厚、心力衰竭、心律不齐及动脉粥样硬化等^[19]。 β -catenin是一种调节细胞转录和基因表达的蛋白，该因子的过度表达可加剧心脏损害，并恶化左心室收缩功能，抑制该通路可抑制心脏损伤后的纤维化过程，预防心力衰竭，因此，针对该信号通路的抑制措施被认为是具有心脏保护作用的^[20-21]。本研究结果显示，模型组心肌Wnt3a、 β -catenin的表达被显著上调， β -catenin靶基因Cyclin D1、C-myc蛋白表达也随之上升，益气活血方则抑制了Wnt3a、 β -catenin表达， β -catenin的靶基因Cyclin D1、C-myc蛋白表

达也随之减少。为了进一步探究益气活血方的作用机制，本课题组在实验中同时设立了Wnt-C59对照组。Wnt-C59是一种特异性针对Wnt信号通路的小分子化合物，可逆转激活的Wnt/ β -catenin信号通路，在肿瘤及心脏疾病中有显著作用，且治疗剂量下无明显毒性^[22]。结果显示，Wnt-C59不仅抑制了Wnt/ β -catenin信号通路的活化，同样也改善了大鼠心脏功能，减轻心肌损伤和心肌细胞凋亡，降低血清心肌损伤指标LDH、CK、CK-MB的含量，益气活血方的作用效果与Wnt-C59相似，进一步提示益气活血方可能通过调控Wnt/ β -catenin途径发挥对AMI大鼠心肌损伤的修复和改善作用。

综上所述，益气活血方可改善AMI后引起的大鼠心肌损伤，其机制可能与调控Wnt/ β -catenin途径有关，而该调控过程中是否有其他相关信号通路的参与，仍需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] SANDOVAL Y, JAFFE A S. Type 2 myocardial infarction: JACC review topic of the week[J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 73(14): 1846-1860.
- [2] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等.《中国心血管病报告2018》概要[J].中国循环杂志, 2019, 34(3): 209-220.
- [3] TAGGART C, WERESKI R, MILLS N L, et al. Diagnosis, investigation and management of patients with acute and chronic myocardial injury[J]. J Clin Med, 2021, 10(11): 2331.
- [4] ZHANG J, HE L. Relationship between small dense low density lipoprotein and cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention [J]. BMC Cardiovasc Disord, 2021, 21(1): 169.
- [5] PROCTOR P, LEESAR M A, CHATTERJEE A. Thrombolytic therapy in the current ERA: myocardial infarction and beyond[J]. Curr Pharm Des, 2018, 24(4): 414-426.
- [6] 张红艳, 朱晓菡, 史云菊, 等.益气活血方对冠心病支架植入术后疗效变化研究[J].中华中医药学刊, 2020, 38(12): 45-48.
- [7] 宋书婷, 韩辉, 郑明翠, 等.益气活血方对颈动脉粥样硬化斑块临床疗效的Meta分析[J].中医药通报, 2019, 18(1): 47-52.
- [8] LIU F J. LncRNA-P21 suppresses apoptosis of myocardial cells in rats with acute myocardial infarction via regulating Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(19): 10078-10085.
- [9] SUN H Y, WANG X L, MA L C, et al. Influence of MiR-154 on myocardial apoptosis in rats with acute myocardial infarction through Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Eur Rev Med

- Pharmacol Sci, 2019, 23(2): 818-825.
- [10] 荣霞, 史艳霞, 杜宇. 积雪草酸通过SIRT3/β-catenin/PPARγ信号通路影响急性心肌梗死模型大鼠血管新生及心室重构[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(6): 593-599.
- [11] 冯小智, 刁杰, 方婷, 等. 中医辨证治疗对介入疗法的急性心肌梗死患者心肌再灌注和心功能的改善作用[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(11): 2760-2763.
- [12] 李慧敏, 熊兴江, 胡瑞学, 等. 中医药治疗急性心肌梗死呼吸机对照试验结局指标的现状分析[J]. 中医杂志, 2021, 62(5): 405-413.
- [13] 肖蕾, 欧洋, 王建华, 等. 急性心肌梗死与中医体质类型及不良生活方式的相关性研究[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(6): 1368-1371.
- [14] 王瑾茜, 胡国恒, 蔺晓源, 等. 益气活血方对气虚血瘀型冠心病模型大鼠的影响研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(5): 529-534.
- [15] TIAN H, LI Y, ZHANG J, et al. The effect of controlling the heart rate on the heart failure index and on heart function in heart failure patients with atrial fibrillation [J]. Am J Transl Res, 2021, 13(4): 3487-3493.
- [16] EMADI N, NEMATI M H, GHORBANI M, et al. The effect of high-dose vitamin C on biochemical markers of myocardial injury in coronary artery bypass surgery [J]. Braz J Cardiovasc Surg, 2019, 34(5): 517-524.
- [17] CAMPBELL K J, TAIT S W G. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer[J]. Open Biol, 2018, 8(5): 180002.
- [18] DASKALOPOULOS E P, BLANKESTEIJN W M. Effect of interventions in WNT signaling on healing of cardiac injury: A systematic review[J]. Cells, 2021, 10(2): 207.
- [19] BOGDANOVA E, BERESNEVA O, GALKINA O, et al. Myocardial hypertrophy and fibrosis are associated with cardiomyocyte beta-catenin and TRPC6/calcineurin/NFAT signaling in spontaneously hypertensive rats with 5/6 nephrectomy [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(9): 4645.
- [20] SEN P, GUPTA K, KUMARI A, et al. Wnt/β-Catenin antagonist pyrvinium exerts cardioprotective effects in polymicrobial sepsis model by attenuating calcium dyshomeostasis and mitochondrial dysfunction[J]. Cardiovasc Toxicol, 2021, 21(7): 517-532.
- [21] DASKALOPOULOS E P, BLANKESTEIJN W M. Effect of interventions in WNT signaling on healing of cardiac injury: a systematic review[J]. Cells, 2021, 10(2): 207.
- [22] KATO M. Canonical and non-canonical WNT signaling in cancer stem cells and their niches: cellular heterogeneity, omics reprogramming, targeted therapy and tumor plasticity [J]. Int J Oncol, 2017, 51(5): 1357-1369.

【责任编辑：侯丽颖】

《广州中医药大学学报》2022年征订启事

《广州中医药大学学报》(ISSN 1007-3213/CN44-1425/R)是由广东省教育厅主管、广州中医药大学主办的综合性中医药学术类刊物,国内外公开发行。本刊为中国科技核心期刊、T2级优秀中医药科技期刊、RCCSE中国核心学术期刊(A)、中文核心期刊(2011年版)、国家期刊方阵双效期刊,先后被国内外多个重要检索系统/数据库收录,并多次获国家、省部级优秀期刊奖项。

本刊为广大临床、教学、科研工作者提供学术交流平台,全方位、多角度报道中医药领域各学科具有前瞻性、创新性和较高学术水平的科研成果和临床诊疗经验,主要开设的栏目有:中医理论探讨、中医药临床研究、中西医结合研究、针灸与经络、中药药理、中药资源研究、南药园地、名医经验传承、中医证候研究、专家论坛、新学科与新技术、中医文献研究、中医药文化和岭南医学研究等。既可作为国内外中医药高校教师和研究人员进行中医药研究的参考,又可为临床医生诊疗疾病以及药物研究人员进行中药开发提供思路。

本刊2019年1月起改为月刊,于每月20日出版。邮局发行,邮发代号:国内为46-275,国外为BM7077。每期定价20.00元(未含邮费)。编辑部地址:广州市番禺区广州大学城外环东路232号广州中医药大学办公楼725室,《广州中医药大学学报》编辑部,邮编:510006;联系人:刘老师;电话:(020)39354896;E-mail:gzzyxb@gzucm.edu.cn;投稿网址: http://xb.zyxy.com.cn。欢迎投稿! 欢迎订阅! 欢迎广告刊登!

· 《广州中医药大学学报》编辑部 ·