DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.05.029

黄芪-葶苈子药对通过调控AMPK/mTOR自噬通路改善心力衰竭大鼠心功能的作用机制

王梦月[1,2],于越[1],倪松林[1,2],孙漠[1],王世军[1,2],陈倩[1,2]
(1.山东中医药大学,山东 济南 250355;2.山东省中医经典名方协同创新中心,山东 济南 250355)

摘要:目的 探究黄芪-葶苈子药对通过调控腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase,AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)通路影响细胞自噬,改善心力衰竭(heart failure,HF)大鼠心功能的作用机制。方法 选用SPF级雄性SD大鼠60只,随机选取8只为空白组(CON),其余大鼠在肩胛背部连续10 d皮下注射异丙肾上腺素溶液3 mg·kg^{-1}建立心力衰竭大鼠模型。将40只建模成功大鼠随机分成模型组(MC)、黄芪-葶苈子低剂量组(HTL)、黄芪-葶苈子中剂量组(HTM)、黄芪-葶苈子高剂量组(HTH)、依那普利组(ENA),每组8只。药物治疗14 d后,B超检测左室射血分数(left ventricular ejection fraction,LVEF)和左室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening,LVFS),取大鼠心脏同时分离左心室并称重、取胫骨测量长度。通过酶联免疫吸附测定法测定大鼠血清中B型利钠肽(type B natriuretic peptide,BNP)和心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide,ANP)含量。采用苏木素-伊红(HE)染色和马松(Masson)染色观察心肌组织病理学变化,采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测自噬相关蛋白螯合体1(sequestosome 1,SQSTM1/p62)、微管相关蛋白1轻链3(light chain 3 microtubule associated protein 1,LC3)和AMPK/mTOR通路蛋白活化状态。结果 与空白组相比,模型组大鼠LVEF和LVFS显著降低($P<0.01$),心脏指数、左心室质量指数、心胫比值明显上升($P<0.01$、$P<0.01$、$P<0.05$),血清中BNP和ANP含量显著上升($P<0.01$),心肌组织病理损伤及纤维化程度加重,p-AMPK/AMPK、LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ表达升高($P<0.01$),p-mTOR/mTOR、p62表达降低($P<0.01$)。与模型组相比,HTH组与ENA组大鼠LVEF、LVFS显著上升($P<0.01$),心脏指数、心胫比值显著降低($P<0.01$、$P<0.05$),血清中ANP、BNP含量显著降低($P<0.01$、$P<0.05$),心肌组织病理损伤及纤维化程度减轻,p-AMPK/AMPK、LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ表达降低($P<0.01$),p-mTOR/mTOR、p62表达升高($P<0.01$、$P<0.05$)。结论 黄芪-葶苈子药对通过调控AMPK/mTOR信号通路,抑制大鼠心衰时过度活化的自噬流,发挥改善心衰大鼠心功能的作用。

关键词:黄芪-葶苈子药对;心力衰竭;自噬;AMPK/mTOR通路
中图分类号:R285.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-7717(2025)05-0159-08

Mechanism of Huangqi(Astragali Radix)-Tinglizi(Descurainiae Semen) in Improving Cardiac Function in Rats with Heart Failure through Regulating AMPK/mTOR Autophagy Pathway

WANG Mengyue[1,2],YU Yue[1],NI Songlin[1,2],SUN Mo[1],WANG Shijun[1,2],CHEN Qian[1,2]
(1.Shandong University of Traditional Chinese Medicine,Jinan 250355,Shandong,China;
2.Shandong Province Collaborative Innovation Center of Traditional Chinese Medicine Classics,Jinan 250355,Shandong,China)

Abstract:*Objective* The objective of this study was to investigate the mechanism of Huangqi(Astragali Radix)-Tinglizi(Descurainiae Semen) improving cardiac function in rats with heart failure by modulating AMP-activated protein kinase(AMPK)/mammalian target of rapamycin(mTOR) pathway and influencing autophagy. *Method* Sixty male SD rats of SPF grade were selected,with 8 randomly assigned to the control group(CON). The remaining rats received subcutaneous injections of isoproterenol solution at a dose of 3 mg·kg^{-1} on the back of their shoulders for 10 consecutive days to induce heart failure. Forty heart failure rats were randomly allocated into five groups:model control group(MC),Huangqi(Astragali Radix)-Tinglizi(Descurainiae Semen) low-dose group(HTL),Huangqi(Astragali Radix)-Tinglizi(Descurainiae Semen) medium-dose group(HTM),Huangqi(Astragali Radix)-Tinglizi(Descurainiae Semen) high-dose group(HTH),enalapril group(ENA). Each group consisted of eight rats. Following a 14-day period of drug administration,B-ultrasound was used to measure the left ven-

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(82104554);山东省自然科学基金项目(ZR2021MH313);山东省省级大学生创新创业训练计划项目(S202310D441008)
作者简介:王梦月(1999-),女,河南平顶山人,硕士在读,研究方向:中医证候模型生物学机制及中药药性。
通讯作者:陈倩(1984-),女,山东济南人,副教授,硕士研究生导师,博士,研究方向:中药药性。E-mail:13854843837@163.com。
王世军(1963-),男,山东济南人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中医证候模型生物学机制及中药药性。E-mail:pathology@163.com。

tricular ejection fraction(LVEF) and left ventricular short axis shortening rate(LVFS). The left ventricle was then isolated and weighed, and the length of the tibia was measured. The levels of type B natriuretic peptide(BNP) and atrial natriuretic peptide(ANP) in serum of rats were determined by enzyme - linked immunosorbent assay(ELISA). Histopathological changes in the myocardium were observed using Hematoxylin - eosin(HE) and Masson staining. Western blot analysis was employed to assess the activation status of autophagy - associated protein sequestosome 1(SQSTM1/p62), microtubule associated protein 1 light chain 3(LC3) and AMPK/mTOR pathway proteins. *Result* The results of the study indicated that in MC group, there was a significant decrease in LVEF and LVFS compared to those in CON group($P<0.01$). Additionally, the heart index, left ventricular mass index and heart to shin ratio were found to be significantly increased in MC group($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.05$). Furthermore, the serum levels of BNP and ANP were significantly increased($P<0.01$). MC group also exhibited aggravated myocardial tissue pathological injury and fibrosis as well as increased expressions of p - AMPK/AMPK and LC3 - Ⅱ/LC3 - I($P<0.01$). Conversely, the expressions of p - mTOR/mTOR and p62 were decreased($P<0.01$). In comparison to MC group, the HTH group and ENA group exhibited significant increases in LVEF and LVFS($P<0.01$). Additionally, there were significant decreases in heart index and heart - tibial ratio($P<0.01$, $P<0.05$) as well as significant decreases in serum levels of ANP and BNP($P<0.01$, $P<0.05$). Moreover, the degree of myocardial tissue pathological injury and fibrosis was alleviated. The expressions of p - AMPK/AMPK and LC3 - Ⅱ/LC3 - I were decreased($P<0.01$), while the expressions of p - mTOR/mTOR and p62 were increased($P<0.01$, $P<0.05$). *Conclusion* By modulating the AMPK/mTOR signaling pathway, Huangqi(Astragali Radix) - Tinglizi(Descurainiae Semen) is able to attenuate the hyperactive autophagic flux in rats with heart failure and ameliorate their cardiac function.

Keywords: Huangqi(Astragali Radix) - Tinglizi(Descurainiae Semen); heart failure; autophagy; AMPK/mTOR pathway

心力衰竭(heart failure, HF)作为各种心血管疾病发展的终末阶段,成为全球重要的公共卫生问题。当前全球心力衰竭患者超过 6400 万[1],我国心力衰竭患者高达 890 万[2]。临床常用的抗心衰药物主要以利尿剂、血管紧张素转换酶抑制剂、β 受体阻滞剂、正性肌力药和扩血管药物为主,但长期服用易导致电解质紊乱、心动过缓甚至心衰症状加重等不良反应[3]。因此,寻找安全高效的改善心衰药物仍是心血管疾病研究领域迫切需要解决的问题。

心气虚水饮内停是心衰的常见证候[4],治当益气利水[5]。中药复方可多途径改善心力衰竭,呈现出良好的应用前景[6]。药对是方剂的最小特色单位,以药对切入的抗心衰方剂组方规律、作用机制研究以及应用内涵阐释,是安全高效抗心衰药物研发的新思路。文献分析显示,黄芪 - 葶苈子为临床常用益气利水药对[7],且为治疗心力衰竭使用频率最高的药对[8],显示其在心衰治疗中具有重要价值,但其具体作用机制仍需探究。

自噬是细胞内溶酶体介导的参与蛋白和细胞器降解的高度保守机制,一定程度的自噬在维持心血管系统稳态中发挥重要作用[9]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)激酶是氨基酸、ATP 和激素的感受器,作为自噬的负调控分子,通过抑制自噬对维持细胞稳态发挥重要作用[10]。mTOR 主要受上游信号腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate dependent protein kinase, AMPK)的调控。AMPK 在缺血缺氧时是增强细胞自噬的重要因子[11]。心肌供血不足时,心肌细胞无氧酵解增加,细胞内的 ATP 产量不足,AMP/ATP 比值增加,从而活化细胞自噬增强因子 AMPK。激活 AMPK 后,其氨基酸链第 172 位点上的苏氨酸磷酸化,通过抑制 mTOR 氨基酸链上第 2481 位上的丝氨酸磷酸化,从而抑制了 mTOR 的活性,加剧心肌细胞的自噬作用[12]。AMPK/mTOR 作为经典的自噬通路[13],参与多种心血管疾病的发生发展。

本研究构建心力衰竭大鼠模型,探讨黄芪 - 葶苈子药对是否可通过调控 AMPK/mTOR 通路相关蛋白表达,影响心衰大鼠心肌细胞自噬,从而改善模型大鼠心功能,以期为研发安全高效抗心衰药物提供新思路。

1 材料

1.1 实验动物

SD 雄性大鼠 60 只(SPF 级,8 周龄),体质量 180 ~ 220 g,购于北京华阜康生物科技股份有限公司,合格证号 SCXK(京)2019 - 0008。大鼠均饲养于山东中医药大学动物实验中心:温度(23 ± 2)℃,湿度 60% ± 10%,12 h/12 h 光/暗周期,定时更换饮水和垫料,自由饮食。伦理审查批准编号 SDUTCM20230621001。

1.2 药物与试剂

黄芪(批号:20201101),葶苈子(批号:20200501)均从山东建联盛嘉中药有限公司购买。异丙肾上腺素盐酸盐(sigma,货号 I5627)。马来酸依那普利片(扬子江药业,货号 210251)。大鼠脑钠肽和心钠肽酶联免疫吸附测定试剂盒(武汉 Elabscience 有限公司,E - EL - R0017c、E - EL - R0126c);p62 抗体、LC3 抗体、AMPK 抗体(Abcam,货号分别为 ab192890、ab109012、ab207442 - 1003),p - mTOR 抗体、mTOR 抗体(Proteintech,货号分别为 67778 - 1IG、66888 - 1IG),p - AMPK 抗体(Cell Signaling Technology,货号 2535),GAPDH 抗体、β - actin 抗体(ABclonal,货号 AC001、AC026)

1.3 仪器

便携式小动物彩色多普勒超声成像系统(飞依诺科技有限公司,型号:VINNO6LAB、探头型号:X6 - 16L)、酶标仪(伯腾仪器有限公司,型号 VT05404 - 0998),电泳仪(美国 Bio - Rad 公司,型号 041BR157122)、显微镜(基恩士 KEYENCE BZ - X),蛋白分析表达系统(美国 Bio - Rad 公司,型号 731BR03474)。

2 方法

2.1 药物制备

盐酸异丙肾上腺素注射液的制备:大鼠称重并记录体质

量，按照 3 mg·kg^{-1}[14-16]计算异丙肾上腺素盐酸盐使用量，用电子分析天平称取后溶于0.9%的生理盐水中，配成药物浓度为3 mg·mL^{-1}的注射液备用。

水煎液的制备[17]：黄芪、葶苈子选用药典中道地药材，一煎使用药物质量8倍水，二煎使用药物质量6倍水，滤出混匀，浓缩至生药浓度为0.36 g·mL^{-1}，高和低两个剂量组使用同样方法浓缩至0.72、0.18 g·mL^{-1}，4 ℃冷藏备用。

依那普利片混悬液制备：用0.9%的生理盐水充分溶解药片，制成浓度为0.15 mg·mL^{-1}（相当于临床等效剂量）的药液备用。

2.2 分组与给药

SD大鼠适应性喂养1周后，随机选取8只为空白组（CON），其余大鼠构建心力衰竭大鼠模型，在模型组大鼠肩胛背部注射3 mg·mL^{-1} ISO溶液，空白组同等方法注射生理盐水，连续注射10 d。在第11天进行超声心动图检测，选取左室射血分数（left ventricular ejection fraction，LVEF）小于60%和左室短轴缩短率（left ventricular fractional shortening rate，LVFS）小于35%[18-21]的大鼠为造模成功的心力衰竭模型大鼠。

将造模成功的40只心力衰竭模型大鼠随机分成5组，分别是模型组（MC）、黄芪-葶苈子低剂量组（HTL）、黄芪-葶苈子中剂量组（HTM）、黄芪-葶苈子高剂量组（HTH）和依那普利组（ENA）。按照1 mL/100 g计算灌胃药液体积，空白组与模型组使用同等体积生理盐水灌胃，连续给药14 d。

2.3 观察指标与检测方法

2.3.1 大鼠心脏超声检测 大鼠持续吸入3%异氟烷进行麻醉，取仰卧位固定于鼠板上，胸部备皮。皮肤表面涂适量耦合剂，使用B超探头进行心脏超声检查。待取得清晰的胸骨旁长轴切面图像后，将M型超声测量线垂直于左心室后壁，取左室长轴最长的位置，获得M型超声图像。使用B超测距计算工具得心脏LVEF和LVFS。每项测量平均连续3次心动周期，所有大鼠由同一位专业超声人员检测。

2.3.2 大鼠取材 大鼠禁食禁水12 h，持续吸入3%异氟烷进行麻醉，腹主动脉取血，3000 r/min 4℃离心15 min，于超净台内分离上清，分装、标记，置于-80 ℃冰箱保存备用。取血后，75%乙醇消毒胸部，迅速打开大鼠胸腔，摘取心脏，保留心耳，生理盐水冲洗剩余血液，无尘纸轻擦后称重，然后根据后续实验需求分别处理。

2.3.3 心脏指数、左心室质量指数、心胫比值 取材前称取大鼠体质量并记录，摘取大鼠心脏后称重记录，沿心脏冠状沟剪下左心房，沿室间沟将右心室游离除去，称量左心室重量，分别计算心脏指数（心脏质量/体质量）、左心室质量指数（左心室质量/体质量）。取出大鼠胫骨并测量记录，计算心胫比值（心脏质量/胫骨长度）。收集测量结果，录入并统计分析。

2.3.4 酶联免疫吸附法（ELISA法）检测大鼠血清中B型利钠肽（type B natriuretic peptide，BNP）和心房钠尿肽（atrial natriuretic peptide，ANP）的含量 检测大鼠血清中的心功能相关指标BNP和ANP的含量，按照ELISA说明书，加入样本和相应试剂，操作结束后使用酶标仪检测各孔的吸光值，波长设置为450 nm，通过标准曲线得到相应浓度。

2.3.5 大鼠心脏组织病理学观察 将大鼠心脏浸于4%多聚甲醛固定24 h后，石蜡包埋，常规组织切片，心肌组织进行苏木素-伊红染色（HE）和马松（Masson）染色，进行病理学观察。

2.3.6 蛋白免疫印迹法（western blot，WB）检测大鼠心肌组织中螯合体1（sequestosome 1，SQSTM1/p62）、微管相关蛋白1轻链3（light chain 3 microtubule associated protein 1，LC3）和AMPK/mTOR通路蛋白表达的变化 称量50 mg大鼠左心室组织，按照蛋白提取试剂盒的步骤提取蛋白后，使用BCA法检测蛋白浓度。每个泳道蛋白上样质量为20 μg，分别使用浓度为6%、10%和12%的胶并通过SDS-PAGE电泳分离后，将蛋白转移至PVDF膜，使用浓度为5%的脱脂奶粉，在室温封闭2 h，封闭结束后使用TBST缓冲液洗膜3次，洗膜结束后加入β-actin（1∶10 000），LC3（1∶1000），GAPDH（1∶5000），p62（1∶1000），AMPK（1∶1000）、p-AMPK（1∶1000）、mTOR（1∶1000）和p-mTOR（1∶1000）的一抗反应液，在4 ℃条件下孵育过夜，加入二抗（1∶5000）室温孵育1 h，TBST缓冲液洗膜3次，使用ECL法显色，以β-actin或GAPDH作为内参，使用Image-J分析软件测定各电泳条带的灰度值。

2.4 统计方法

采用GraphPad Prism软件进行统计学分析。数据表示为$\bar{x}\pm s$表示。两组比较和单因素方差分析（ANOVA）采用非配对t检验，$P<0.05$，差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠心脏功能的变化

与空白组比较，模型组LVEF和LVFS显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，黄芪-葶苈子组及依那普利组大鼠LVEF和LVFS显著上升（$P<0.01$），见插页XXX图1和表1。

表1 各组大鼠超声心动图参数比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	LVEF/（%）	LVFS/（%）
CON	6	88.59±3.00	60.57±4.17
MC	6	57.62±2.81**	31.53±2.03**
HTL	6	70.55±2.45##	41.19±2.10##
HTM	6	74.25±1.80##	44.45±1.56##
HTH	6	82.35±1.66##	52.71±1.74##
ENA	6	80.99±2.32##	51.15±2.25##

注：**与CON比较，$P<0.01$；与MC比较，##$P<0.01$。

3.2 大鼠心脏质量相关指数的变化

与正常组相比，模型组心脏指数、左心室质量指数、心胫比值明显上升（$P<0.01$、$P<0.01$、$P<0.05$）；与模型组相比，黄芪-葶苈子高剂量组及依那普利组大鼠心脏指数、心胫比值显著降低（$P<0.01$、$P<0.05$），见表2。

表2 各组大鼠心脏指数、左心室质量指数和心胫比值比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	心脏指数/（mg/g）	左心室质量指数/（mg/g）	心胫比值/（mg/mm）
CON	6	3.10±0.15	1.64±0.28	28.54±0.93
MC	6	3.55±0.14**	2.13±0.09**	36.10±1.65*
HTL	6	3.48±0.20	1.98±0.11	31.77±1.75#
HTM	6	3.39±0.12	2.01±0.06	31.73±1.09#
HTH	6	3.24±0.10##	1.97±0.05	30.54±0.59#
ENA	6	3.21±0.14##	1.78±0.03#	31.28±1.54#

注：**与CON比较，$P<0.01$；*与CON比较，$P<0.05$；##与MC比较，$P<0.01$；#与MC比较，$P<0.05$。

3.3 大鼠血清中BNP、ANP含量的变化

与空白组比较，模型组大鼠血清BNP、ANP含量显著上升（$P<0.01$）；与模型组比较，黄芪-葶苈子高剂量组及依那普

利组大鼠血清 BNP、ANP 含量显著降低($P<0.05$、$P<0.01$),见表 3。

表 3 各组大鼠血清 BNP、ANP 含量比较($\bar{x}\pm s$)

单位:pg/mL

组别	n	BNP	ANP
CON	3	288.9 ± 31.83	68.5 ± 11.99
MC	3	530.5 ± 152.90**	150.5 ± 16.40**
HTL	3	346.7 ± 5.43##	108.3 ± 24.01#
HTM	3	355.0 ± 47.91##	93.9 ± 16.19##
HTH	3	327.0 ± 27.47##	79.2 ± 21.13##
ENA	3	360.9 ± 35.13#	82.4 ± 16.36##

注:**与 CON 比较,$P<0.01$;##与 MC 比较,$P<0.01$;#与 MC 比较,$P<0.05$。

3.4 黄芪-葶苈子对大鼠心脏组织病理学的影响

药物治疗后,取大鼠左心室进行病理观察。HE 染色结果提示,空白组心肌细胞形态正常,结构清晰,排列整齐。与空白组相比,模型组心肌细胞肥大、排列紊乱,出现大量炎性细胞浸润与纤维瘢痕。与模型组相比,黄芪-葶苈子高剂量组大鼠心肌排列相对整齐,炎性细胞浸润浸润减少,纤维瘢痕较少,见插页XXXI图 2。

Masson 染色提示,空白组心肌组织未见明显胶原纤维沉积;与空白组相比,模型组大鼠心肌细胞排列紊乱,且心肌细胞间沉积的胶原纤维明显增多;与模型组相比,黄芪-葶苈子高剂量组与依那普利组的大鼠心脏纤维化有所改善,细胞排列较为有序,且细胞分布较为均匀,见插页XXXII图 3。

3.5 大鼠心肌组织自噬相关蛋白 LC3、p62 表达的变化

WB 结果表明,与空白组相比,模型组大鼠心肌中 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ蛋白表达明显升高($P<0.01$),p62 表达降低($P<0.01$),表明 ISO 造模后自噬被显著激活。给予黄芪-葶苈子水煎液干预后,与模型组相比,黄芪-葶苈子高剂量组 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ表达降低($P<0.01$),p62 表达升高($P<0.05$)。以上表明黄芪-葶苈子药对可以有效抑制心力衰竭心肌自噬的发生,见表 4、图 4。

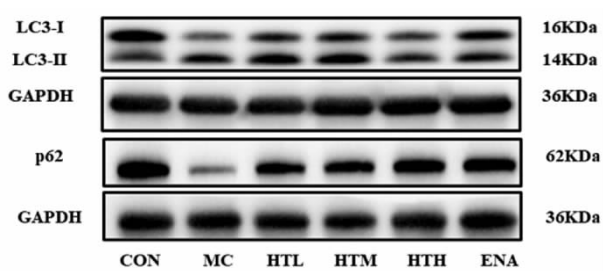


图 4 各组大鼠 LC3、p62 蛋白表达图

表 4 大鼠心肌组织 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ和 p62 的蛋白表达($\bar{x}\pm s$)

组别	n	LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ	p62/GAPDH
CON	3	0.70 ± 0.13	1.00 ± 0.12
MC	3	1.43 ± 0.31**	0.34 ± 0.12**
HTL	3	1.35 ± 0.18	0.64 ± 0.07#
HTM	3	1.25 ± 0.17	0.80 ± 0.10##
HTH	3	1.09 ± 0.10#	0.81 ± 0.07##
ENA	3	1.02 ± 0.17##	0.8 ± 0.20##

注:**与 CON 比较,$P<0.01$;##与 MC 比较,$P<0.01$;#与 MC 比较,$P<0.05$。

3.6 大鼠心肌组织 AMPK/mTOR 信号通路相关蛋白表达的变化

WB 结果表明,与空白组相比,模型组大鼠心肌中 p-AMPK/AMPK 表达升高($P<0.01$)p-mTOR/mTOR 表达降低($P<0.01$)。表明 ISO 造模后自噬通路 AMPK/mTOR 被激活。黄芪-葶苈子水煎液给药后,与模型组相比,黄芪-葶苈子高剂量组 p-AMPK/AMPK 表达降低($P<0.01$),p-mTOR/mTOR 表达升高($P<0.01$)。以上表明黄芪-葶苈子药对可以有效抑制自噬通路 AMPK/mTOR 的活化,见表 5、图 5。

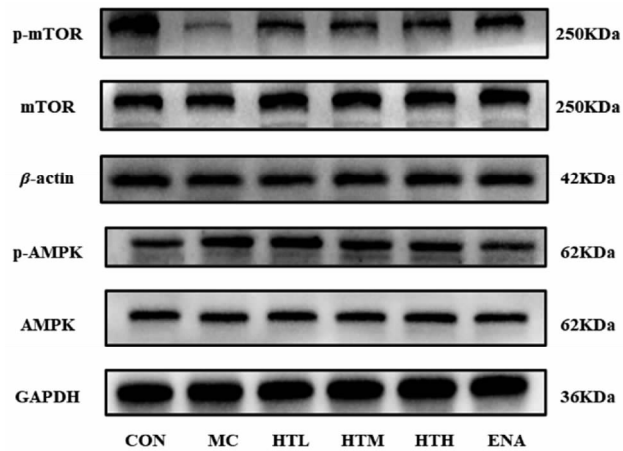


图 5 各组大鼠 p-AMPK、AMPK、p-mTOR、mTOR 蛋白表达图

表 5 大鼠心肌组织 p-AMPK/AMPK 与 p-mTOR/mTOR 的蛋白表达($\bar{x}\pm s$)

组别	n	p-AMPK/AMPK	p-mTOR/mTOR
CON	3	0.68 ± 0.07	1.10 ± 0.10
MC	3	1.07 ± 0.15**	0.66 ± 0.10**
HTL	3	1.07 ± 0.19	0.79 ± 0.12
HTM	3	0.95 ± 0.02	0.94 ± 0.19#
HTH	3	0.79 ± 0.10#	0.94 ± 0.14#
ENA	3	0.70 ± 0.04##	0.96 ± 0.13##

注:**与 CON 比较,$P<0.01$;##与 MC 比较,$P<0.01$;#与 MC 比较,$P<0.05$。

4 讨论

中医对“心衰”的描述最早见于西晋《脉经》,据其临证表现可归于“心悸”“水肿”“喘证”“心水”等范畴。本病以气虚为本,水饮停聚为标,多为心病日久,导致心气不足,一则心失所养,心神失摄,可见心悸;再则心气不足,使气化失利,水饮内停,乘心气之虚,凌心射肺,故而心衰发作。治宜益气利水,补气与利水药物配伍是临证心衰治疗方剂常见组合。黄芪功可补中益气、利尿消肿,其有效成分黄芪皂苷可改善心脏泵血、干预心室重塑、调控神经内分泌,为临床常用抗心衰药[22];葶苈子可消痰平喘、利肺消肿,活性成分葶苈苷具有类似强心苷的作用,可通过加强心肌收缩力、抑制神经内分泌系统的过度激活等作用缓解心衰[23]。以黄芪、葶苈子为主要组成药物的中药制剂,如芪苈强心胶囊对慢性心衰有良好疗效,具有增强心肌收缩力,抑制神经内分泌系统过度激活,抑制炎性反应等作用[24-25]。但是黄芪-葶苈子药对对 HF 大鼠的治疗作用机制尚不清楚。本研究通过对 HF 大鼠分别给予黄芪-葶苈子水煎液低、中、高剂量灌胃处理 14 d,结果显示黄芪-葶苈子高剂量组能够改善心功能,主要表现为 LVEF、LVFS 指标显著增加。心脏指数、心胫比值显著降低,血清中心功能标志物 ANP、BNP

水平显著降低,心肌组织病理损伤及纤维化程度减轻。

诸多研究显示,自噬的过度激活是导致心力衰竭的一个重要原因[26]。自噬具有双向调节作用。自噬在心肌细胞损伤早期可以清理细胞内损伤的细胞器,维持心肌功能和心室质量;随着心肌细胞损伤加重,过度活化的自噬会损坏细胞,心力衰竭程度恶化[27]。研究发现从心室肥厚到心力衰竭的发展过程中,肥厚型心肌病患者心肌中出现过度自噬现象[28],心肌细胞的死亡直接与自噬关联[29]。本实验研究显示,模型组大鼠心肌自噬相关蛋白 LC3 Ⅱ/LC3 - Ⅰ表达增加,p62 表达降低,说明心衰过程中自噬被过度激活。与模型组相比,黄芪 - 葶苈子水煎液治疗后能够下调 LC3 - Ⅱ/LC3 - Ⅰ表达,上调 p62 表达,说明黄芪 - 葶苈子药对能够通过抑制自噬,改善 HF 大鼠心功能。AMPK/mTOR 信号通路是自噬经典通路,AMPK 磷酸位点被活化后,通过抑制自噬负调控分子 mTOR 磷酸化,抑制 mTOR 的活性,增强心肌细胞的自噬作用[12]。研究发现,附黄汤与养心康片能够通过抑制 AMPK/mTOR 介导的自噬保护大鼠心肌梗死后心功能不全及心室重构[30-31]。本研究结果显示,与空白组相比,模型组大鼠心肌组织 p - AMPK 表达升高,p - mTOR 表达降低,AMPK/mTOR 通路显著激活。给予黄芪 - 葶苈子药对治疗后,与模型组大鼠相比,p - AMPK 表达降低,p - mTOR 表达升高,能够明显抑制 AMPK/mTOR 信号通路活化,有效降低心肌细胞自噬水平,有利于维持细胞内环境稳态。

综上所述,黄芪 - 葶苈子药对具有改善 HF 大鼠心功能的作用,其机制可能与抑制 AMPK/mTOR 信号通路介导的心肌细胞过度自噬有关。

参考文献

[1] SAVARESE G, BECHER P M, LUND L H, et al. Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology [J]. Cardiovasc Res, 2023, 118(17): 3272 - 3287.
[2] 《中国心血管健康与疾病报告 2022》概要[J]. 中国介入心脏病学杂志,2023,31(7):485 - 508.
[3] 金彩彩, 张晓伟. 抗心衰天然药物及活性化合物研究进展[J]. 药学学报, 2020, 55(6): 1147 - 1156.
[4] 颜蕾, 魏易洪, 周忠焱, 等. 慢性心力衰竭中医证型及其影响因素相关性分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(7): 97 - 100.
[5] 闫玲玲. 慢性心力衰竭中医证候及证候要素分布规律十年文献分析[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.
[6] 马仁强, 杨忠奇, 寇俊萍, 等. 防治慢性心衰的中药新研发思路与技术要点分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(11): 2720 - 2724.
[7] 徐基杰, 瞿惠燕, 王英杰, 等. 黄芪葶苈子配伍治疗慢性心力衰竭 Meta 分析[J]. 中医学报, 2017, 32(8): 1483 - 1486, 1546.
[8] 石衍梅, 李洁, 张庆蕊, 等. 基于中医传承辅助平台的治疗慢性心力衰竭方剂组方规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(2): 191 - 194.
[9] 杨文超, 李菁, 王瑞, 等. 自噬在心血管疾病中的研究进展[J]. 兰州大学学报(医学版), 2019, 45(4): 43 - 47.
[10] 何云凌, 吴丽颖, 朱玲玲, 等. 线粒体自噬在低氧适应中的作用[J]. 生物化学与生物物理进展, 2012, 39(3): 217 - 223.
[11] 宁静华, 张鑫, 张钰哲. AMPK: 多样性调控机制与疾病治疗新视角[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(2): 167 - 178.
[12] INOKI K, ZHU T Q, GUAN K L. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival[J]. Cell, 2003, 115(5): 577 - 590.
[13] 毛文君, 张艳, 张伟, 等. 基于 AMPK/mTOR 信号通路介导自噬探讨中医药治疗心力衰竭的机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(21): 112 - 122.
[14] 罗时珂, 李萍, 程晓曙. 异丙肾上腺素诱导慢性心力衰竭大鼠模型的建立[J]. 重庆医学, 2012, 41(4): 352 - 354.
[15] NICHTOVA Z, NOVOTOVA M, KRALOVA E, et al. Morphological and functional characteristics of models of experimental myocardial injury induced by isoproterenol[J]. Gen Physiol Biophys, 2012, 31(2): 141 - 151.
[16] 黄淑敏, 廖晓倩, 范星宇, 等. 基于"以方测证"理论探讨异丙肾上腺素诱导慢性心力衰竭大鼠模型的制备及中医证型[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(3): 368 - 375.
[17] 陈倩. 黄芪及其拆分组分与葶苈子配伍对上焦水饮内停大鼠的作用及机制[D]. 济南: 山东中医药大学, 2018.
[18] 杜冰玉, 尹燕燕, 岳昭娣, 等. 异丙肾上腺素诱导慢性心衰模型的方法优化[J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(5): 583 - 589.
[19] 祁玉营,薛松妍,陈伟佳,等. 芒柄花素通过 HSP90/AKT 调控扩张型心肌病心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡及其机制[J]. 西安交通大学学报(医学版),2023,44(5): 794 - 801.
[20] 梁国庆, 夏冉, 王银燕, 等. 基于 NLRP3/Caspase - 1 信号通路探讨参芪健心方对慢性心力衰竭模型大鼠心肌细胞焦亡的影响[J]. 中医杂志, 2024, 65(1): 94 - 102.
[21] 杨梦, 胡思远, 李琳, 等. 基于"以方测证"探讨异丙肾上腺素诱导慢性心衰小鼠模型的中医证型及证候本质[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(2): 101 - 108.
[22] 胡妮娜, 张晓娟. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2021, 38(1): 76 - 82.
[23] 曹雅雯, 汤岐梅, 侯雅竹, 等. 葶苈子治疗心力衰竭的药理研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(20): 3123 - 3126.
[24] 吕忠英, 朱新华, 李红建. 黄芪口服液改善慢性心力衰竭心肌纤维化患者血管炎症的临床研究[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(9): 1089 - 1091.
[25] 赵齐飞, 李红蓉, 尹玉洁, 等. 芪苈强心胶囊治疗慢性心力衰竭作用机制研究进展[J]. 天津中医药, 2019, 36(4): 313 - 318.
[26] CHAANINE A H. Autophagy and myocardial remodeling: is it autophagy or autophagic machinery and signaling pathways regulating it?[J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 71(18): 2011 - 2014.
[27] SAITO T, ASAI K, TACHI M, et al. Long - term prognostic value of ultrastructural features in dilated cardiomyopathy: comparison with cardiac magnetic resonance[J]. ESC Heart Fail, 2020, 7(2): 682 - 691.
[28] RABINOVICH - NIKITIN I, KIRSHENBAUM L A. YAP/TFEB pathway promotes autophagic cell death and hypertrophic cardiomyopathy in lysosomal storage diseases[J]. J Clin Invest, 2021, 131(5): e146821.
[29] GAO J N, CHEN X T, SHAN C, et al. Autophagy in cardiovascular diseases: role of noncoding RNAs[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 23: 101 - 118.
[30] 马金苗, 项志兵, 朱杰, 等. 附黄汤改善心力衰竭大鼠的心室重构: 基于抑制 AMPK/mTOR 通路介导的细胞自噬[J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(3): 466 - 473.
[31] 任培华, 王鹏, 廖东江, 等. 养心康片通过 Akt/AMPK - mTOR 通路对心肌梗死后心力衰竭模型兔心肌细胞自噬的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(1): 16 - 19.

黄芪－葶苈子药对通过调控 AMPK/mTOR 自噬通路改善心力衰竭大鼠心功能的作用机制

（正文见 159－163 页）

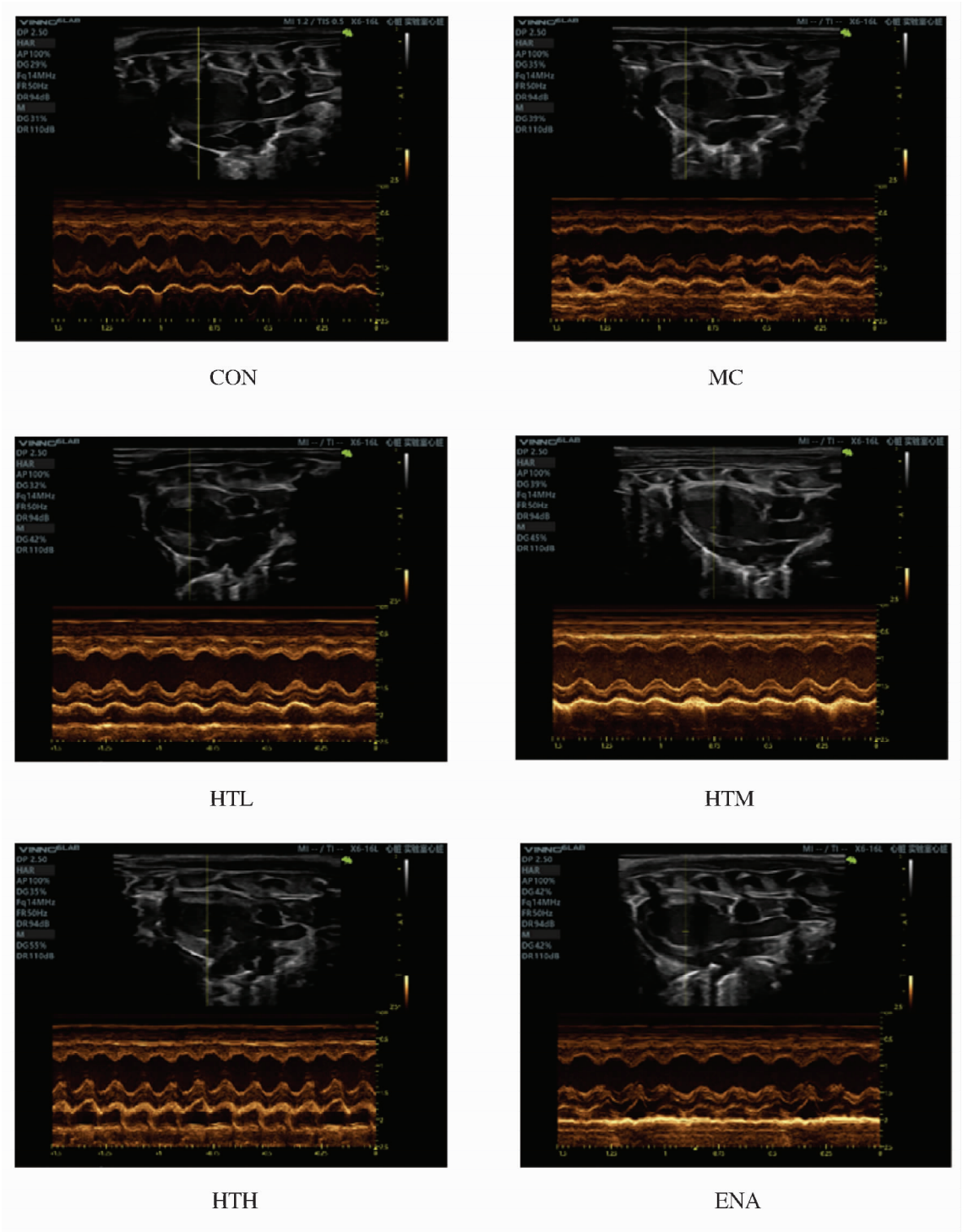


图 1　各组大鼠超声心动图

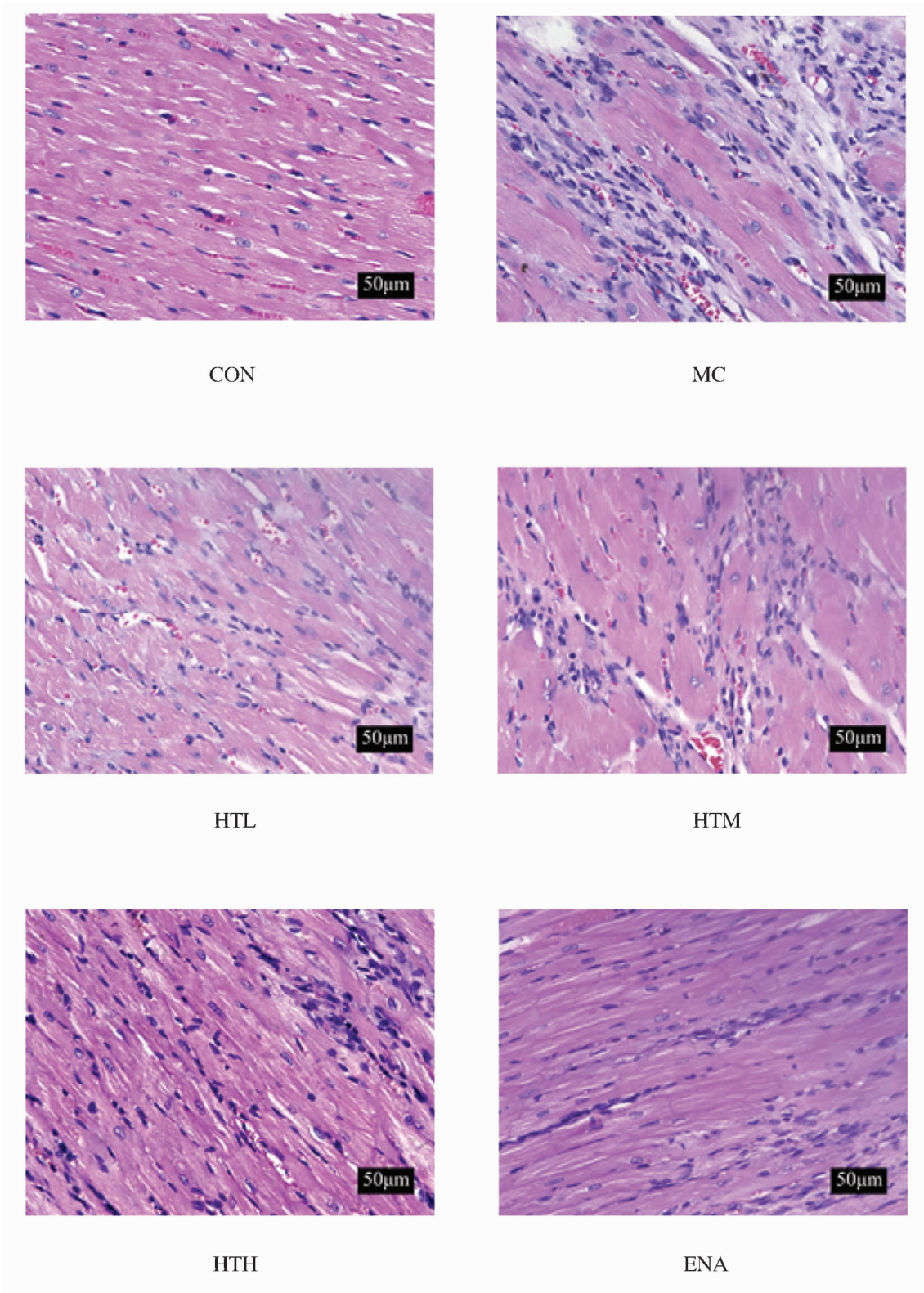


图 2 各组大鼠心肌组织 HE 染色结果(HE 染色,×40)

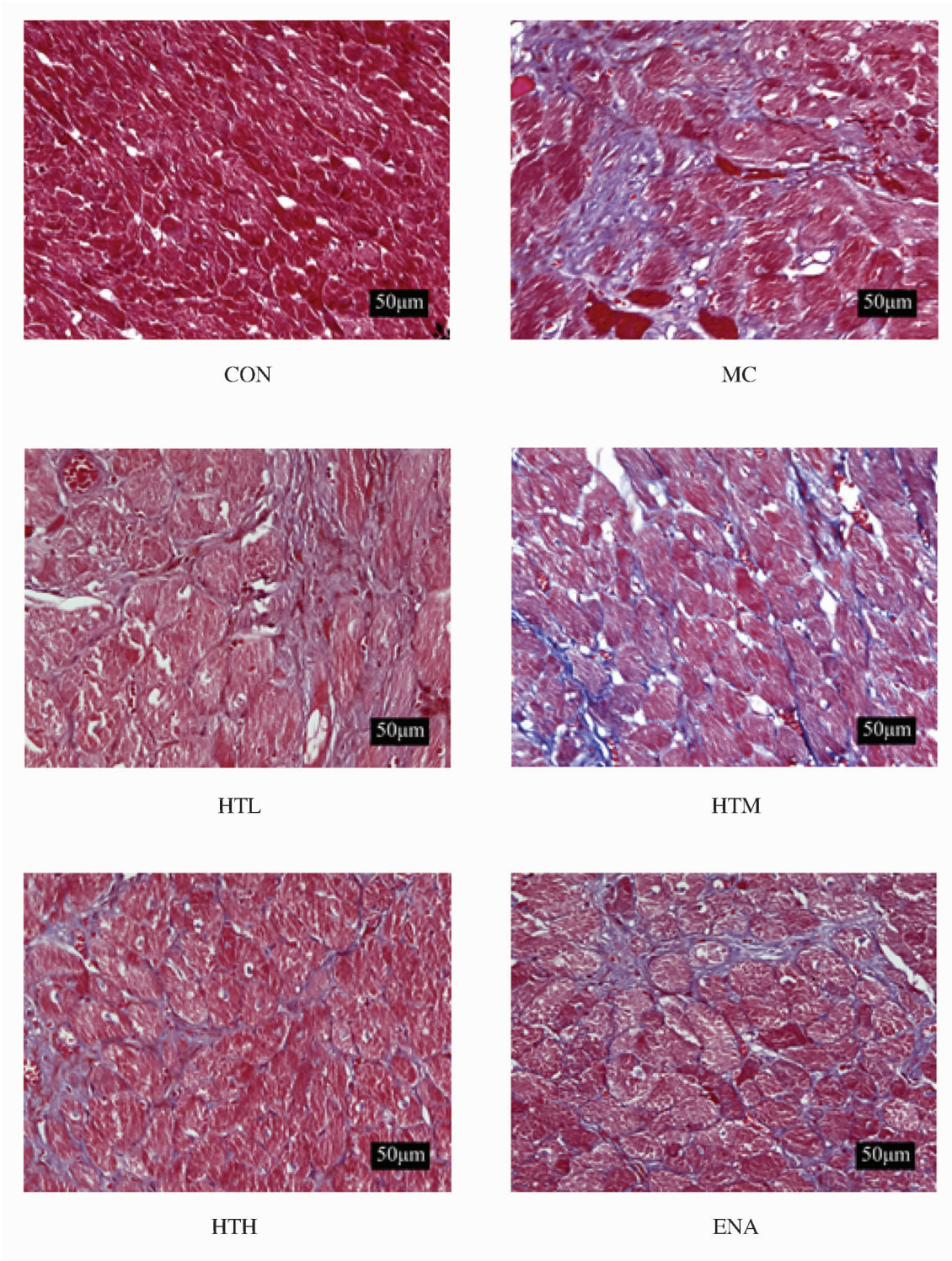


图 3　各组大鼠心肌组织 Masson 染色结果(Masson 染色，×40)