

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2021.03.016

强心汤对慢性心力衰竭模型大鼠心肌组织 OMA1、OPA1 表达及线粒体形态的影响

朱智德¹, 庞延², 卢健棋²✉, 韩景波², 王庆高², 温志浩², 梁逸强², 唐梅玲²

1. 广西中医药大学, 广西壮族自治区南宁市明秀东路 179 号, 530001; 2. 广西中医药大学第一附属医院

摘要 目的 探讨强心汤治疗慢性心力衰竭的可能作用机制。方法 50 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、金属蛋白酶相关蛋白 1 (OMA1) 封闭组、强心汤组、OMA1 封闭 + 强心汤组, 每组 10 只。除假手术组外其余各组大鼠采用结扎左冠状动脉前降支建立慢性心力衰竭大鼠模型, OMA1 封闭组和 OMA1 封闭 + 强心汤组在建立模型前第 1 和第 7 天各尾静脉注射 2×10^{10} pfu OMA1 干扰腺病毒对大鼠 OMA1 表达封闭。自建模成功后第 2 天开始, 强心汤组、OMA1 封闭 + 强心汤组给予强心汤混悬液每次 1.62 g/kg 灌胃, 每天 2 次; 其余各组给予 2 ml 生理盐水灌胃, 每天 2 次。各组均灌胃 14 天后检测心功能, 包括左室舒张末期内径 (LVDD)、左室收缩末期内径 (LVDS)、射血分数 (EF); 采用 RT-PCR 和免疫组化检测各组大鼠心肌组织 OMA1、视神经萎缩蛋白 1 (OPA1) mRNA 表达及 OMA1、OPA1、长链形式视神经萎缩蛋白 1 (L-OPA1)、短链形式视神经萎缩蛋白 1 (S-OPA1) 蛋白表达, 同时通过透射电镜观察各组大鼠心肌组织线粒体形态。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠 LVDD、LVDS 升高, EF 降低, 心肌组织 OMA1 mRNA 和 OMA1、S-OPA1 蛋白表达升高, OPA1 mRNA 和 OPA1、L-OPA1 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 线粒体呈重度肿胀, 大多线粒体板呈不规则形、膜内基质变淡, 嵴断裂、消失。与模型组比较, 各干预组大鼠上述各指标均明显改善, 且 OMA1 封闭 + 强心汤组改善程度优于 OMA1 封闭组和强心汤组, OMA1 封闭组改善程度优于强心汤组 ($P < 0.05$)。结论 强心汤可能通过抑制 OMA1 表达、降低 OPA1 的蛋白水解及减少 L-OPA1 向 S-OPA1 过度裂解, 从而发挥保护线粒体形态和改善心功能的作用, 并且能与 OMA1 基因封闭发挥协同作用。

关键词 慢性心力衰竭; 强心汤; 线粒体; 视神经萎缩蛋白 1; 金属蛋白酶相关蛋白 1; 基因封闭

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是压力或容量超负荷, 心肌局部缺血、梗死或其他心肌疾病导致心输出量减少的一种临床综合征。线粒体是协调细胞功能的群居亚细胞器, 线粒体功能障碍会引起三磷酸腺苷 (ATP) 下降导致心脏收缩能力受损, 而维持线粒体功能正常发挥实际是线粒体融合和裂变的动态平衡过程^[1]。视神经萎缩蛋白 1 (OPA1) 是位于线粒体内膜上的一个发动样蛋白, 线粒体内膜中的金属蛋白酶相关蛋白 1 (OMA1) 敲除能够阻止 OPA1 从长链形式 OPA1 (L-OPA1) 向短链形式 OPA1 (S-OPA1) 过度转化, 这一线粒体融合和裂变的动态调控过程对于保

护线粒体功能和改善心功能极其重要^[2]。既往研究^[3-4]表明, 心脏线粒体的损伤和功能障碍是 CHF 患者代谢缺陷的潜在来源。强心汤是广西中医药大学第一附属医院临床治疗 CHF 的有效验方, 具有益气温阳、活血利水功效, 在西医规范化治疗基础上加用强心汤, 可更好地改善 CHF 患者的心功能和生存质量^[5-6]。本研究通过探讨强心汤对心肌梗死后 CHF 模型大鼠心功能及心肌组织 OMA1、OPA1、L-OPA1、S-OPA1 表达及线粒体形态的影响, 为其防治 CHF 提供一定的科学依据。

1 材料及方法

1.1 动物及病毒

清洁级健康成年雄性 SD 大鼠 50 只, 5~6 周龄, 体重 (200 ± 30) g, 购自湖南思莱克景达实验动物有限公司, 实验动物许可证号: SCXK (湘) 2019-0004。OMA1 RNAi 腺病毒质粒构建由

基金项目: 国家自然科学基金 (81673891); 国家中医临床研究基地业务建设第二批科研专项课题 (JDZX2015146); 广西自然科学基金 (2017GXNSFAA198302); 广西中医药大学校级课题 (2015MS032)

✉ 通讯作者: lujianqi666@163.com, 13977138039

上海吉凯基因科技有限公司完成。

1.2 药物

强心汤组方: 黄芪 30 g, 党参 15 g, 炮附片 10 g (先煎), 桂枝 10 g, 川芎 10 g, 丹参 10 g, 葶苈子 10 g, 茯苓 10 g, 白术 10 g, 柏子仁 12 g (打), 玉竹 10 g, 炙甘草 6 g。由广西中医药大学第一附属医院制剂中心煎煮制备, 加入 9 倍量水煎煮 2 次, 滤过, 制成生药含量 1 mg/ml 的煎煮液。青霉素 (四川省精华动物药业有限公司, 批号: 20191001)。

1.3 主要试剂及仪器

812 包埋剂 (SPI 公司, 货号: 90529-77-4); Trizol 试剂盒 (货号: R1100)、蛋白酶抑制剂混合液 (货号: P6730)、BCA 法蛋白浓度测定试剂盒 (货号: PC0020), Solarbio 公司; PrimeScript™ RT Master Mix (Takara 公司, 货号: RR036A); 电镜固定液 (Servicebio 公司, 货号: G1102); ECL 化学发光底物 (Biosharp 公司, 货号: BL523A); OMA1 抗体 (货号: ab154949)、OPA1 抗体 (货号: ab42364)、羊抗兔抗体 (货号: ab6721), Abcam 公司。

透射电子显微镜 (Hitachi 公司, 型号: HT7700); 7500 实时荧光定量 PCR 系统 (Applied Biosystems 公司, 型号: 4351105); 超薄切片刀 (Daitome 公司, 型号: Ultra 45°); 小型动物呼吸机 (普升科技有限公司, 型号: RSP-1002); 蛋白转印模块 (Bio-Rad 公司, 型号: Mini TranS-Blot Cell); 凝胶成像系统 (上海一恒科学仪器有限公司, 型号: Tanon 5200); 二维超声心动图仪 (Esaote 公司, 型号: Mylab 50)。

1.4 CHF 大鼠模型建立

参照文献 [7] 造模方法, SD 大鼠麻醉后进行气管插管辅助通气, 打开胸廓后撕开心包膜暴露心脏, 在右室流出道和左心耳之间左冠状动脉前降支中上 1/3 处进行结扎, 观察到左心室心肌颜色逐渐由粉红色变暗苍白, 将心脏回纳入胸腔, 关胸后缝合, 术后连续 3 天腹腔注射青霉素 200 万 U/(kg·d), 干预 14 天。通过预实验结扎相同部位术后 2 周行心脏彩超检测发现, 射血分数 (EF) 值下降 20%~30% 可判断为模型成功。

1.5 实验分组及干预方法

50 只大鼠采用随机数字表法分为假手术组、模型组、OMA1 封闭组、强心汤组、OMA1 封闭 + 强心汤组, 每组 10 只。假手术组大鼠只穿线, 不结扎左前降支; 其余各组大鼠建立 CHF 大鼠模型。

OMA1 封闭组和 OMA1 封闭 + 强心汤组在建立模型前第 1 天和第 7 天各尾静脉注射 2×10^{10} pfu OMA1 干扰腺病毒对大鼠 OMA1 表达封闭。自模型建立成功后第 2 天开始, 强心汤组、OMA1 封闭 + 强心汤组给予强心汤混悬液临床等效剂量^[8] 每次 1.62 g/kg 灌胃, 每天 2 次; 其余各组给予 2 ml 生理盐水灌胃, 每天 2 次。各组均灌胃 14 天。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 心功能 大鼠取平卧位, 剪去胸前区毛, 涂耦合剂, 检测二维超声心动图, 指标包括左室舒张末期内径 (LVDD)、左室收缩末期内径 (LVDS)、EF, 所有超声检测值均取 5 个心动周期的平均值。

1.6.2 心肌组织 OMA1、OPA1 mRNA 表达 各组大鼠干预 14 天后处死, 根据 Trizol 试剂盒说明书提取心肌组织 RNA, 根据 PrimeScript™ RT Master Mix 操作说明书进行反转录。引物由广西医大睿谷医学检验有限公司合成。引物序列: OMA1: 上游 CGCGCTCAGGATAACCAAG, 下游 GCCAGCGTAT-TCACTCCAGA, 片段长度: 97 bp; OPA1: 上游 TCACTGCGGGTACACCTGG, 下游 CTGACACCTTC-CTATAGTGCTTGT, 片段长度: 84 bp; ATCB (内参): 上游 CGTAAAGACCTCTATGCCAACA, 下游 TAGGAGCCAGGGCAGTAATC, 片段长度: 100 bp。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行各基因表达的相对定量。

1.6.3 心肌组织 OMA1、OPA1、L-OPA1、S-OPA1 蛋白表达 大鼠处死后取心脏经过固定、包埋、切片等, 采用 BCA 法测定蛋白含量, 所得变性后的蛋白置入分离胶层, 转膜, 用 TBST 配制 5% 脱脂奶粉作为封闭液, 将膜放入封闭液, 按抗体说明书的推荐比例使用封闭液将一抗进行稀释, 一抗孵育完成后, 使用 TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min, 再进行二抗孵育后, 使用 ECL 显色剂对膜进行显色, 于凝胶成像系统中进行曝光成像, 使用 Image J 1.52 对条带进行定量分析, 各指标灰度值通过 β -actin 均一化后, 计算蛋白相对表达量。

1.6.4 心肌组织线粒体形态学检测 参照文献 [9] 方法, 大鼠处死后取心脏固定, 石蜡包埋, 切片, 脱蜡, 使用超薄切片机 60~80 nm 切片, 铀铅双染色后, 切片室温干燥过夜, 透射电子显微镜放大 7000 倍下观察, 采集图像进行分析, 标尺为 2.0 μ m。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计分析, 计量

表 1 各组大鼠 LVDD、LVDS、EF 水平比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	LVDD (mm)	LVDS (mm)	EF (%)
假手术组	10	4.88 ± 0.42	3.03 ± 0.68	65.5 ± 3.20
模型组	10	8.17 ± 0.37 ^{a)}	7.21 ± 0.32 ^{a)}	40.7 ± 8.04 ^{a)}
OMA1 封闭组	10	6.75 ± 0.58 ^{b)}	5.09 ± 0.63 ^{b)}	51.8 ± 5.32 ^{b)}
强心汤组	10	7.87 ± 0.44 ^{b) c)}	6.40 ± 0.40 ^{b) c)}	45.5 ± 3.22 ^{b) c)}
OMA1 封闭 + 强心汤组	10	5.47 ± 0.71 ^{b) c) d)}	4.22 ± 0.24 ^{b) c) d)}	55.4 ± 3.47 ^{b) c) d)}

注: OMA1, 金属蛋白酶相关蛋白 1; OPA1, 视神经萎缩蛋白 1; LVDD, 左室舒张末期腔径; LVDS, 左室收缩末期腔径; EF, 射血分数。

a) 与假手术组比较, $P < 0.05$; b) 与模型组比较, $P < 0.05$; c) 与 OMA1 封闭组比较, $P < 0.05$; d) 与强心汤组比较, $P < 0.05$ 。

资料符合正态分布以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 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 1 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠 LVDD、LVDS 升高, EF 降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, OMA1 封闭组、强心汤组、OMA1 封闭 + 强心汤组大鼠 LVDD、LVDS 降低, EF 升高 ($P < 0.05$)。强心汤组大鼠 LVDD、LVDS 高于 OMA1 封闭组、OMA1 封闭 + 强心汤组, 而 EF 低于 OMA1 封闭组、OMA1 封闭 + 强心汤组 ($P < 0.05$)。OMA1 封闭组大鼠 LVDD、LVDS 高于 OMA1 封闭 + 强心汤组, EF 低于 OMA1 封闭 + 强心汤组 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠心肌组织 OMA1、OPA1 mRNA 表达比较

表 2 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌组织 OMA1 mRNA 表达升高, OPA1 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, OMA1 封闭组、强心汤组、OMA1 封闭 + 强心汤组大鼠心肌组织 OMA1 mRNA 表达降低, OPA1 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$)。强心汤组大鼠 OMA1 mRNA 表达高于 OMA1 封闭组、OMA1 封闭 + 强心汤组, 而 OPA1 mRNA 表达低于 OMA1 封闭组、OMA1 封闭 + 强心汤组 ($P < 0.05$)。OMA1 封闭组大鼠 OMA1 mRNA 表达明显高于 OMA1 封闭 + 强心汤组, OPA1 mRNA 表达低于

OMA1 封闭 + 强心汤组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠心肌组织 OMA1、OPA1 mRNA 表达比较

($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	OMA1	OPA1
假手术组	10	1.01 ± 0.11	1.01 ± 0.13
模型组	10	1.34 ± 0.17 ^{a)}	0.84 ± 0.09 ^{a)}
OMA1 封闭组	10	0.77 ± 0.08 ^{b)}	1.50 ± 0.11 ^{b)}
强心汤组	10	1.14 ± 0.20 ^{b) c)}	1.32 ± 0.14 ^{b) c)}
OMA1 封闭 + 强心汤组	10	0.55 ± 0.21 ^{b) c) d)}	1.71 ± 0.19 ^{b) c) d)}

注: OMA1, 金属蛋白酶相关蛋白 1; OPA1, 视神经萎缩蛋白 1。

a) 与假手术组比较, $P < 0.05$; b) 与模型组比较, $P < 0.05$;

c) 与 OMA1 封闭组比较, $P < 0.05$; d) 与强心汤组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠心肌组织 OMA1、OPA1、L-OPA1、S-OPA1 蛋白表达比较

表 3 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌组织 OMA1、S-OPA1 蛋白表达升高, OPA1、L-OPA1 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, OMA1 封闭组、强心汤组、OMA1 封闭 + 强心汤组大鼠心肌组织 OMA1、S-OPA1 蛋白表达降低, OPA1、L-OPA1 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。强心汤组大鼠 OMA1、S-OPA1 蛋白表达高于 OMA1 封闭组、OMA1 封闭 + 强心汤组, 而 OPA1、L-OPA1 蛋白表达低于 OMA1 封闭组、OMA1 封闭 + 强心汤组 ($P < 0.05$)。OMA1 封闭组大鼠 OMA1、S-OPA1 蛋白表达高于 OMA1 封闭 + 强心汤组, OPA1、L-OPA1 蛋白表达低于 OMA1 封闭 + 强心汤组 ($P < 0.05$)。各组大鼠心肌组织 OMA1、OPA1、L-OPA1、S-OPA1 蛋白电泳图见图 1。

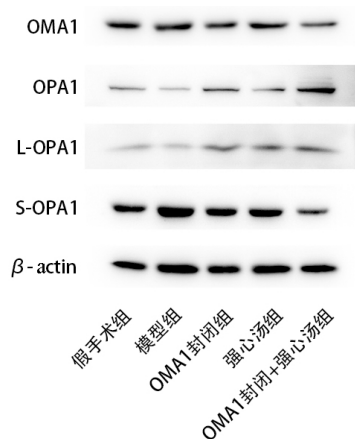
表 3 各组大鼠心肌组织 OMA1、OPA1、L-OPA1、S-OPA1 蛋白表达比较

(灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	OMA1	OPA1	L-OPA1	S-OPA1
假手术组	10	1.03 ± 0.12	1.06 ± 0.16	1.07 ± 0.20	1.02 ± 0.05
模型组	10	1.85 ± 0.15 ^{a)}	0.81 ± 0.20 ^{a)}	0.64 ± 0.27 ^{a)}	1.90 ± 0.27 ^{a)}
OMA1 封闭组	10	0.93 ± 0.32 ^{b)}	1.27 ± 0.22 ^{b)}	1.68 ± 0.24 ^{b)}	1.07 ± 0.03 ^{b)}
强心汤组	10	1.58 ± 0.24 ^{b) c)}	1.06 ± 0.22 ^{b) c)}	1.15 ± 0.34 ^{b) c)}	1.57 ± 0.21 ^{b) c)}
OMA1 封闭 + 强心汤组	10	0.66 ± 0.33 ^{b) c) d)}	1.66 ± 0.25 ^{b) c) d)}	1.86 ± 0.26 ^{b) c) d)}	0.79 ± 0.24 ^{b) c) d)}

注: OMA1, 金属蛋白酶相关蛋白 1; OPA1, 视神经萎缩蛋白 1; L-OPA1, 长链形式视神经萎缩蛋白 1; S-OPA1, 短链形式视神经萎缩蛋白 1。

a) 与假手术组比较, $P < 0.05$; b) 与模型组比较, $P < 0.05$; c) 与 OMA1 封闭组比较, $P < 0.05$; d) 与强心汤组比较, $P < 0.05$ 。



注: OMA1, 金属蛋白酶相关蛋白 1; OPA1, 视神经萎缩蛋白 1; L-OPA1, 长链形式视神经萎缩蛋白 1; S-OPA1, 短链形式视神经萎缩蛋白 1。

图 1 各组大鼠心肌组织 OMA1、OPA1、L-OPA1、S-OPA1 蛋白电泳图

2.4 各组大鼠心肌组织电镜下线粒体形态结果

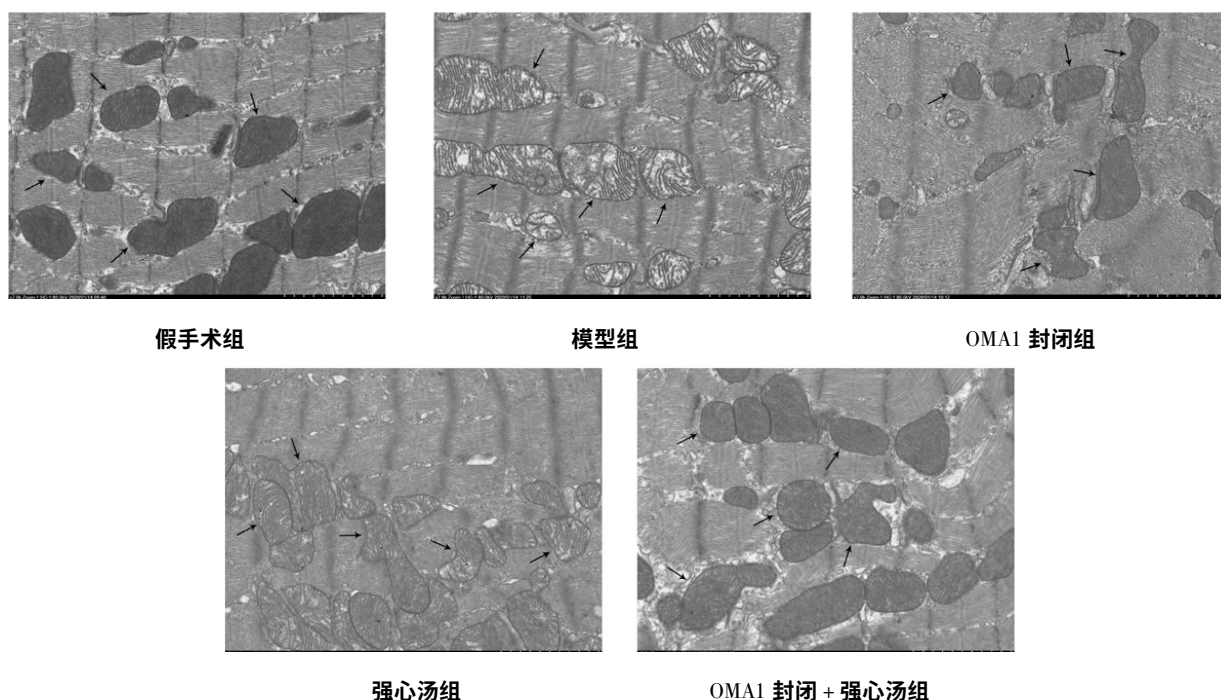
图 2 示, 假手术组大鼠心肌组织线粒体局部小区域聚集肌原纤维束间, 大多均匀分布, 结构完整; 模型组大鼠心肌组织线粒体大量聚集肌原纤维束间, 呈重度肿胀, 大多线粒体板呈不规则形、膜内基质变淡, 嵴断裂、消失; OMA1 封闭组大鼠心肌组织线粒体局部区域聚集肌原纤维束间, 呈轻度肿胀, 部分线粒体形状不规则、变大; 强心汤组大

鼠心肌组织线粒体大量聚集肌原纤维束间, 呈不同程度肿胀, 大多膜完整, 其内基质略显变淡, 嵴存在; OMA1 封闭+强心汤组大鼠心肌组织线粒体局部区域聚集肌原纤维束间, 呈轻度肿胀、板层状, 少量线粒体变大、呈不规则形。

3 讨论

中医学认为, CHF 的基本病机为本虚标实, 以气虚为本, 瘀、水、痰为标。近代医家对该病因病机的认识虽基本趋于一致, 但因地理环境和个体差异等因素, 治疗上又各有侧重, 采用益气活血法、益气养阴法、温阳利水法等为主要治法临床上均获得良好疗效^[10-11]。强心汤方中以黄芪补气, 附子温阳, 二者共为君药。党参、桂枝助黄芪、附子益气温阳而为臣药。玉竹、茯苓为佐药, 配党参以增强补气之力而治其本, 茯苓尚能利水渗湿, 玉竹还可防过利伤阴; 同时佐以白术健脾益气, 助心气行血, 丹参、川芎行气活血祛瘀, 使经脉得通, 瘀滞可消; 心主血脉, 故佐柏子仁养心安神, 再配以葶苈子泻肺利水。炙甘草调和药性以为使。另外, 桂枝配茯苓可化气行水而消肿, 桂枝配炙甘草能扶心阳以祛浊阴。诸药共奏益气温阳、活血利水之功效。

现代研究^[12-13]显示, 心肌细胞对 ATP 合成和



注: 图中黑色箭头指示为线粒体; OMA1, 金属蛋白酶相关蛋白 1。

图 2 各组大鼠心肌组织电镜下线粒体形态结果 (铀铅染色, ×7000)

耗氧量有很高的要求,线粒体通过调节氧化还原信号传导、氧化应激、细胞凋亡等过程对心肌细胞的生理具有重要影响。线粒体功能障碍是导致和加重 CHF 的关键因素之一,其功能障碍的主要原因包括线粒体膜组成改变和线粒体膜的破坏以及线粒体裂变和融合动态过程失衡等,而心脏线粒体的功能和完整性对于维持心脏收缩和舒张功能至关重要。OMA1 介导 OPA1 的蛋白水解过程参与线粒体融合和裂变,在压力诱发的 CHF 模型中,OMA1 敲除可以改善心脏功能,而作为 OMA1 的主要底物,OPA1 被认为是线粒体功能的主要调节剂。L-OPA1 介导着线粒体融合过程,S-OPA1 介导着线粒体分裂过程,过表达的 OPA1 可以减少心肌细胞死亡,OPA1 在慢性压力超负荷下对于线粒体形态和改善心脏功能极为重要^[4]。因此,本研究选择 OMA1 干扰腺病毒对大鼠 OMA1 表达封闭作为对照,同时观察强心汤联合 OMA1 封闭的疗效。

本研究结果显示,强心汤和 OMA1 封闭均能够抑制 OMA1 蛋白及 mRNA 表达,减少 OPA1 的蛋白水解及 L-OPA1 向 S-OPA1 过度裂解,同时减少线粒体向肌原纤维束间聚集,减轻线粒体肿胀程度和保护线粒体形态,从而保护心功能,并且 OMA1 封闭 + 强心汤组对心肌线粒体保护及心功能改善的疗效明显优于 OMA1 封闭组和强心汤组。由此我们推测,强心汤可能与 OMA1 基因封闭发挥协同作用。由于本研究样本量小,未来仍需加大样本量,同时进行远期疗效对比以及中药复方药理学交叉研究以进一步探讨强心汤的主要作用机制,并从分子水平、细胞水平进行多基因、多蛋白、多通路的深入研究。

参考文献

- [1] MOE GW, MARÍN-GARCÍA J. Role of cell death in the progression of heart failure [J]. *Heart Fail Rev*, 2016, 21 (2): 157 – 167.
- [2] WAI T, GARCÍA-PRIETO J, BAKER MJ, et al. Imbalanced OPA1 processing and mitochondrial fragmentation cause heart failure in mice [J]. *Science*, 2015, 350 (6265): aad0116. doi: 10.1126/science.aad0116.
- [3] THAI PN, SEIDLMAYER LK, MILLER C, et al. Mitochondrial quality control in aging and heart failure: influence of ketone bodies and mitofusin-stabilizing peptides [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 382. doi: 10.3389/fphys.2019.00382.
- [4] ADAMEOVA A, GONCALVESOVA E, SZOBI A, et al. Necroptotic cell death in failing heart: relevance and proposed mechanisms [J]. *Heart Fail Rev*, 2016, 21 (2): 213 – 221.
- [5] 温志浩,卢健棋,潘朝铨,等. 强心汤对慢性心衰患者运动耐量影响的研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2014, 12 (11): 1291 – 1293.
- [6] 温志浩,卢健棋,潘朝铨,等. 强心汤对慢性心衰患者生存质量影响的研究 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2015, 10 (2): 204 – 206.
- [7] WANG FY, LI XW, TONG L. An analysis on the factors influencing survival rate of myocardial infarction model in rats [J]. *Chin J Integr Med Cardio*, 2008, 6 (7): 862 – 863.
- [8] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9 (9): 1069 – 1072.
- [9] XUE W, WANG X, TANG H, et al. Vitexin attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats by regulating mitochondrial dysfunction induced by mitochondrial dynamics imbalance [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 124: 109849. doi: 10.1016/j.biopha.2020.109849.
- [10] 卢健棋,李苏依,卢俊燊,等. 中医药治疗慢性心力衰竭的研究进展 [J]. *中华中医药学刊*. (2020 – 07 – 02) [2020 – 09 – 19]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20200702.1329.062.html>.
- [11] 彭玉霞,卢桂林,张斌霞. 中医药治疗慢性心力衰竭的研究进展 [J]. *中国中医急症*, 2020, 29 (2): 373 – 376.
- [12] KIYUNA LA, ALBUQUERQUE RPE, CHEN CH, et al. Targeting mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart failure: challenges and opportunities [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 155 – 168. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.019.
- [13] KUMAR V, SANTHOSH KUMAR TR, KARTHA CC. Mitochondrial membrane transporters and metabolic switch in heart failure [J]. *Heart Fail Rev*, 2019, 24 (2): 255 – 267.
- [14] HU D, LI S, HU S, et al. A common missense variant in OMA1 associated with the prognosis of heart failure [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2020, 34 (3): 345 – 356.

(下转第 276 页)

ements found to be related to disease location. One hundred and thirty-two recipes involving 110 herbs were used, of which Gancao (*Radix et Rhizoma Glycyrrhizae*) (71) was the most frequently used herb, followed by Danshen (*Radix et Rhizoma Salviae Miltiorrhizae*) (64), Maidong (*Radix Ophiopogonis*) (58), Wuweizi (*Fructus Schisandrae Chinensis*) (48), and Dangshen (*Radix Codonopsis*) (41). Association analysis of 30 high-frequency herbs showed that Wuweizi-Gancao, Danshen-Gancao, Wuweizi-Maidong were the top three herbal pairs of highest degree of support; in terms of the degree of confidence, Maidong-Shengdihuang (*Radix Rehmanniae Recens*), Muli (*Concha Ostreae*)-Longgu (*Os Draconis*), Gancao-Longgu were the top three highest. Through clustering analysis, 30 high-frequency herbs were grouped into 11 clusters. **Conclusion** Deficiency-excess complex is the main pathogenesis of tachyarrhythmia, which is mainly manifested as *qi-yin* deficiency and stasis pattern. Deficiency pattern elements, mainly as *qi* deficiency and *yin* deficiency, were more relevant to the nature of disease than excess pattern elements such as blood stasis. The basic treatment methods for tachyarrhythmia are boosting *qi* and nourishing *yin*, invigorating blood and dissolving stasis, as well as calming the mind and relieving fright. If necessary, methods of warming *yang* and supplementing blood, rectifying *qi* and dissolving phlegm, clearing heat and cooling the blood can be added to.

Keywords tachyarrhythmia; traditional Chinese medicine patterns; pattern elements; composition rule of Chinese herbal medicine; association rule; hierarchical clustering

(收稿日期: 2020-06-23; 修回日期: 2020-08-01)

编辑: 崔京艳

(上接第 270 页)

Effect of *Qiangxin Decoction* (强心汤) on OMA1 and OPA1 Expression and Mitochondrial Morphology of Myocardial Tissue in Chronic Heart Failure Model Rats

ZHU Zhide¹, PANG Yan², LU Jianqi², HAN Jingbo², WANG Qinggao², WEN Zhihao², LIANG Yiqiang², TANG Meiling²

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, 530001; 2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine

ABSTRACT **Objective** To explore the possible mechanism of *Qiangxin Decoction* (强心汤) in the treatment of chronic heart failure. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, overlapping metalloproteinase associated protein 1 (OMA1) blocking group, *Qiangxin Decoction* group, and the combination of OMA1 blocking and *Qiangxin Decoction* group, with 10 rats in each group. The left anterior descending coronary artery was ligated to establish a chronic heart failure model in rats of all groups except for sham operation group. Before establishing the model, the OMA1 group and the combination group injected 2×10^{10} pfu OMA1 interference adenovirus to the rats' tail veins to block the expression of OMA1. From the second day after the modelling, *Qiangxin Decoction* was administered by gavage in *Qiangxin Decoction* group and the combination group, with 1.62 g/kg per time, twice daily, while normal saline was administered in other groups by gavage, 2 ml per time, twice daily. The heart function was measured 14 days after intragastric administration, including left ventricular end-diastolic diameter (LVDD), left ventricular end-systolic diameter (LVDS), and ejection fraction (EF); RT-PCR and immunohistochemistry were used to detect the mRNA expression of OMA1 and optic atrophin 1 (OPA1) in myocardial tissue, as well as the protein expression of OMA1, OPA1, long form of optic atrophy 1 (L-OPA1), and short form of optic atrophy 1 (S-OPA1); transmission electron microscope was used to observe the mitochondrial morphology in myocardial tissue. **Results** Compared to sham operation group, the LVDD and LVDS levels in the model group increased; the EF level decreased; the mRNA expression of OMA1 and the protein expression of OMA1 and S-OPA1 increased; the mRNA expression of OPA1 and the protein expression of OPA1 and L-OPA1 decreased ($P < 0.005$); severe edema could be seen in the mitochondria; most of the mitochondrial plates had irregular forms; paler intramembranous matrix, as well as crista fragmentation and disappearance were found. Compared to model group, the above measurements were all improved in three intervention groups, with most improvements in the combination group followed by OMA1 group and *Qiangxin Decoction* group ($P < 0.05$). **Conclusion** *Qiangxin Decoction* can help protect mitochondrial morphology and improve heart function, through inhibiting the expression of OMA1, reducing the proteolysis of OPA1, and decreasing the excessive cleavage of L-OPA1 to S-OPA1. And *Qiangxin Decoction* together with OMA1 blocking play a synergistic effect.

Keywords chronic heart failure; *Qiangxin Decoction* (强心汤); mitochondrion; optic atrophin 1 (OPA1); overlapping metalloproteinase associated protein 1 (OMA1); gene blocking

(收稿日期: 2020-07-31; 修回日期: 2020-09-20)

编辑: 邓 媛