

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.04.015

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

闫清支, 麻春杰*, 郝蔷薇, 董平, 莲花, 李彬彬

(内蒙古医科大学金山校区, 内蒙古自治区呼和浩特市土默特左旗金山经济技术开发区, 010110)

摘要 目的 探讨蒙药额尔敦-乌日勒预处理抗心肌缺血再灌注损伤的可能作用机制。方法 将 60 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、复方丹参滴丸组和蒙药高、中、低剂量组, 每组 10 只。蒙药高、中、低剂量组分别给予蒙药混悬液每次 1.2、0.6、0.3 g/kg 灌胃, 复方丹参滴丸组给予复方丹参滴丸溶液每次 0.5 g/kg 灌胃, 假手术组和模型组给予等体积蒸馏水, 均每日 2 次, 连续给药 2 周。末次给药 12 h 后, 除假手术组只穿线不结扎外, 其余各组均采用左冠状动脉前降支结扎法制备心肌缺血再灌注损伤模型。造模成功后 HE 染色观察各组大鼠心肌组织病理学变化, 免疫组化检测心肌组织中自噬相关蛋白 Beclin1 和微管相关蛋白轻链 3 蛋白 II (LC3-II) 蛋白表达, Western blot 法检测心肌组织中 Beclin1、LC3-II 蛋白及 PI3K-Akt-mTOR 信号通路相关蛋白的表达。结果 与模型组比较, 各给药组能够不同程度改善大鼠心肌组织的病理形态; 蒙药中、高剂量组大鼠心肌组织中 LC3-II 及 Beclin1 蛋白表达均较模型组下降 ($P < 0.05$); 蒙药中、高剂量组大鼠心肌组织中 PI3K-Akt-mTOR 信号通路相关蛋白相对表达量较模型组均升高 ($P < 0.05$)。结论 蒙药额尔敦-乌日勒可减轻心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌组织损伤程度, 可能与其下调自噬相关蛋白 LC3-II 及 Beclin1 的表达, 从而激活 PI3K-Akt-mTOR 信号通路有关。

关键词 心肌缺血再灌注损伤; 额尔敦-乌日勒; 蒙药; 自噬; PI3K-Akt-mTOR 信号通路

心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI) 是临床上治疗心肌缺血、恢复冠脉血流、缩小心肌梗死范围时不可避免的心肌损伤。研究显示, MIRI 的体积最多可占心肌梗死最终体积的 50%^[1]。近年来, 干预 MIRI 的另一种程序性细胞死亡方式——自噬备受重视, 有望成为减轻 MIRI 的有效方法之一^[2]。传统蒙药额尔敦-乌日勒具有清热、安神、舒经活络、除“协日乌素”的作用, 临床中治疗心刺痛 (心绞痛、心肌梗死) 疗效显著^[3-5]。课题组前期研究证实, 额尔敦-乌日勒能够缩小 MIRI 大鼠心肌梗死面积, 对 MIRI 心肌起到保护作用^[6]。在此基础上, 本实验通过建立大鼠 MIRI 模型, 进一步观察额尔敦-乌日勒预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤自噬的影响, 从 PI3K-Akt-mTOR 信号通路途径探讨额尔敦-乌日勒抗 MIRI 的可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 鼠龄 12 ~ 14 周, 体重 220 ~ 240 g, 由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SCXK-(军) 2012-0004。

1.2 药品

额尔敦-乌日勒, 又名珍宝丸 (批号: 1506077), 其组成有: 石膏、丁香、诃子、川楝子、梔子、红花、肉豆蔻、白豆蔻、决明子、草果仁、罂粟子、枫香子、土木香、木香、甘草、檀香、降香、地锦草、白巨胜、黑种草、方海、海金沙、沉香、荜茇、肉桂、麝香、牛黄、珍珠、水牛角, 内蒙古蒙药股份有限公司研制, 规格: 每 10 粒重 2 g。复方丹参滴丸 (批号: 140221), 天士力制药集团股份有限公司, 规格: 27 mg/丸。

1.3 主要试剂及仪器

BCA 蛋白定量试剂盒 (批号: CW0014, 上海碧云天生物技术有限公司); 彩色预染蛋白分子量

基金项目: 国家自然科学基金 (81560700)

* 通讯作者: 13514819729@163.com

标准 (批号: 26617, Thermo 公司); 组织蛋白抽提试剂盒 (批号: CW0891S)、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒 (批号: CW0022S), 北京康为世纪生物科技有限公司; 抗兔 IgG (H + L) 荧光二抗 (批号: 926-32210)、抗鼠 IgG (H + L) 荧光二抗 (批号: 926-32211), 美国 LI-COR 公司; 10% 水合氯醛 (批号: 20170119), 天津市大茂化学试剂厂; 心肌微管相关蛋白轻链 3 蛋白 II (LC3-II)、Beclin1、磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)、磷酸化磷脂酰肌醇 3 激酶 (p-PI3K)、磷酸化蛋白激酶 B (p-Akt) 和磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (p-mTOR) (批号分别为 Ab51520、Ab62557、Ab86714、Ab8805、Ab2732、Ab182651、Ab38449 和 Ab84400), Abcam 公司; 苏木素 (批号: 170315455D, 福州迈新生物技术开发有限公司); 辣根过氧化物酶 (HRP, 批号 PAB150011, Bio-swamp 公司)。

BL-420F 型生物机能实验系统、820S 型心电图机、HX-300S 型动物呼吸机, 成都泰盟科技有限公司; CT15ER 型高速冷冻离心机, 日本日立公司; DYY-8C 型电泳仪, 北京六一仪器厂; 多用途旋转摇床, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司; 201000121 型数显恒温水浴锅, 金坛市医疗仪器厂; odyssey CLx 型红外激光成像系统, 美国 LI-COR 公司; CX21 型光学显微镜, Olympus 公司。

1.4 分组与给药预处理

60 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后, 采用随机数字表法分为假手术组, 模型组, 复方丹参滴丸组, 蒙药高、中、低剂量组, 每组 10 只。蒙药高、中、低剂量组分别给予额尔敦-乌日勒混悬液每次 1.2、0.6、0.3 g/kg 灌胃, 复方丹参滴丸组给予复方丹参滴丸溶液每次 0.5 g/kg 灌胃, 各组大鼠给药体积为 10 ml/kg。假手术组和模型组给予等体积蒸馏水, 每日 2 次, 连续灌胃给药 2 周。

1.5 模型制备

末次给药 12 h 后, 除假手术组 (只暴露心脏、穿线、不结扎) 外, 其余各组均采用左冠状动脉前降支结扎法制备在体 MIRI 模型^[8]。用 10% 水合氯醛 0.3 ml/100 g 腹腔注射麻醉大鼠, 麻醉后暴露气管, 开胸前气管插管, 连接动物呼吸机, 呼吸频率 70 次/min, 呼吸比 1 : 2, 潮气量 9 ~ 12 ml。四肢皮下连接心电图电极, 记录 II 导联心电图。在胸骨左侧 3、4 肋骨处切断皮肤, 钝性分离, 撑开胸腔, 暴露心脏, 分离心包膜, 在肺动脉圆锥左缘与

左心耳下缘 2 mm 左右进针, 用 6-0 无损伤缝线经浅层心肌穿出结扎冠状动脉左前降支, 结扎缺血 30 min。以心电图出现 S-T 段抬高和/或 T 波高耸, 缝线远端心外膜发绀为心肌缺血模型成功标志^[8]。松线后再灌注 120 min, MIRI 模型成功标准^[8]: 抬高的 S-T 段下降大于 50%, 心外膜恢复原有色泽。

1.6 检测指标及方法

1.6.1 光学显微镜下观察大鼠心肌组织病理学改变 造模成功后, 各组大鼠取 1/3 心脏, 随即用冰生理盐水冲洗, 剪取左心室前壁部分组织, 用 4% 多聚甲醛固定; 取大鼠左室前壁缺血的心肌组织, 放入冻存管, 经液氮速冻 10 s 左右, 置于 -80℃ 冰箱冻存备用。将固定好的心肌组织常规包埋、切片, 经梯度酒精脱蜡, 苏木素染色, 流水冲洗, 1% 盐酸乙醇脱水, 再用流水冲洗, 伊红染色, 逆梯度酒精脱水透明, 中性树胶封片。在光镜下观察各组大鼠心肌组织病理学改变情况。

1.6.2 Western blot 法检测心肌组织 Beclin1、LC3-II 及 PI3K-Akt-mTOR 信号通路相关蛋白表达 先将冻存组织剪成细小碎片, 按比例加入组织蛋白裂解液匀浆至蛋白完全裂解, 4℃ 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清后采用 BCA 定量法将试剂 A 与试剂 B 按体积比为 50 : 1 配制适量 BCA 工作液, 以便测定蛋白浓度。根据目的蛋白分子量的大小选择适当的凝胶浓度进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 低分子量蛋白用高浓度胶分离。浓缩胶 85 V 电泳 1 h, 分离胶 160 V 电泳 2 h。在盛放冰块的盆里进行转膜, 165 V 转膜 1 h, 然后用 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, 一抗孵育过夜, 分别加 Beclin1 (1 : 2000)、LC3-II (1 : 3000)、PI3K (1 : 1000)、Akt (1 : 500)、mTOR (1 : 2000)、p-PI3K (1 : 1000)、p-Akt (1 : 1000)、p-mTOR (1 : 1000)、 β -actin (1 : 1000)。次日洗膜, 加入用 HRP 标记的羊抗兔/鼠二抗 (按照 1 : 10 000 稀释) 室温孵育 1 h, 再洗膜。利用 HRP 的化学显色反应, 将膜置于红外激光成像系统中检测, 以 β -actin 为内参, LC3-II 以 LC3-II 条带灰度/LC3-I 条带灰度比值表示其相对表达量; Beclin1 以目的条带灰度/内参条带灰度比值表示其相对表达量; PI3K-Akt-mTOR 信号通路中各指标均以磷酸化条带灰度/未磷酸化条带灰度比值表示其相对表达量。用红外激光成像系统分析灰度值, 每组取 3 个有效条带灰度值分析。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析, 计量资料

符合正态分布用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组均数间差异采用 LSD 和 S-N-K 法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠心肌组织的病理结果

图 1 示, 假手术组心肌组织排列规整, 细胞形态规则, 胞浆红染, 核圆形或梭形。模型组心肌组织排列较紊乱, 大部分细胞呈溶解退变改变, 部分细胞核固缩变小。蒙药高剂量组心肌组织排列规整, 大部分细胞形态规则, 部分细胞溶解退变, 核固缩变小, 间质散在少许炎细胞浸润。蒙药中剂量组心肌组织排列规整, 细胞形态规则, 部分细胞溶解, 胞浆红染, 核圆形或梭形, 间质略疏松水肿。蒙药低剂量组心肌组织排列规整, 细胞形态规则, 部分细胞溶解退变, 核增大, 呈退行性改变。复方丹参滴丸组心肌组织排列尚规则, 大部分细胞形态规则, 个别细胞核增大, 呈退行性改变, 间质小血

管增生, 少许慢性炎细胞浸润。

2.2 各组大鼠心肌组织中 LC3-II、Beclin1 及 PI3K-Akt-mTOR 信号通路相关蛋白相对表达量比较

表 1 示, 与假手术组比较, 模型组 LC3-II / LC3-I、Beclin1 / β -actin 均升高, p-PI3K / PI3K、p-Akt / Akt、p-mTOR / mTOR 均降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 蒙药高、中剂量组 LC3-II / LC3-I 和 Beclin1 / β -actin、复方丹参滴丸组 Beclin1 / β -actin 均降低, 复方丹参滴丸组及蒙药高、中剂量组 p-PI3K / PI3K、p-Akt / Akt、p-mTOR / mTOR 均升高 ($P < 0.05$)。与复方丹参滴丸组比较, 蒙药中、高剂量组 LC3-II / LC3-I 降低, 蒙药低、中剂量组 Beclin1 / β -actin 升高, p-PI3K / PI3K、p-Akt / Akt、p-mTOR / mTOR 降低, 蒙药高剂量组 p-Akt / Akt、p-mTOR / mTOR 降低 ($P < 0.05$)。与蒙药低剂量组比较, 蒙药中、高剂量组 LC3-II / LC3-I、Beclin1 / β -actin 降低, p-PI3K / PI3K、p-Akt / Akt、p-mTOR /

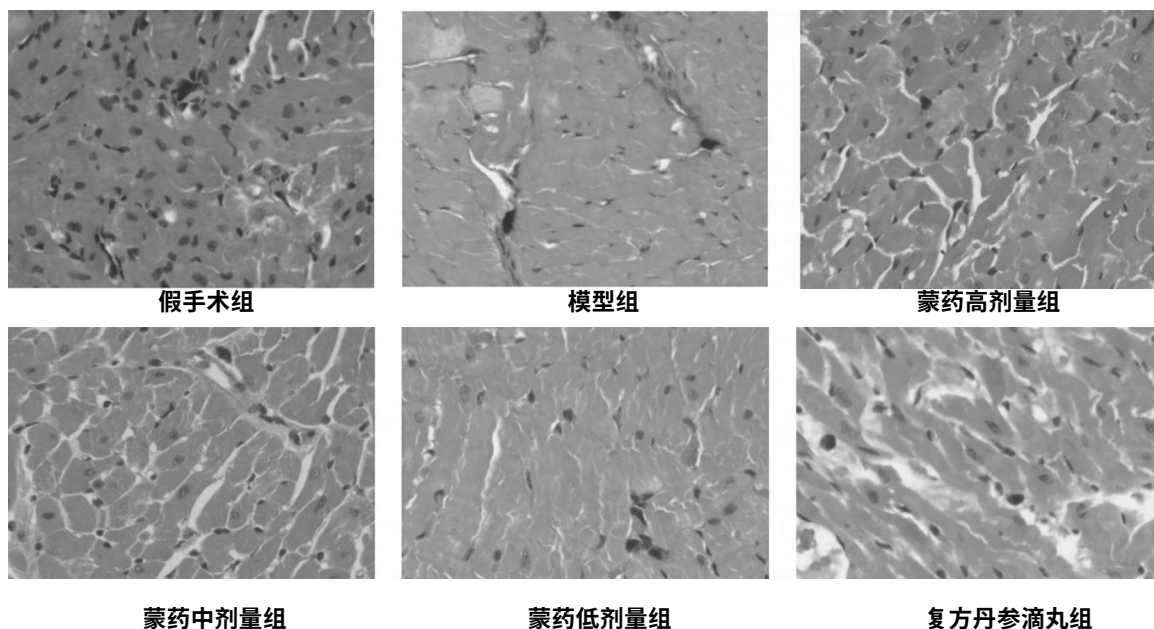
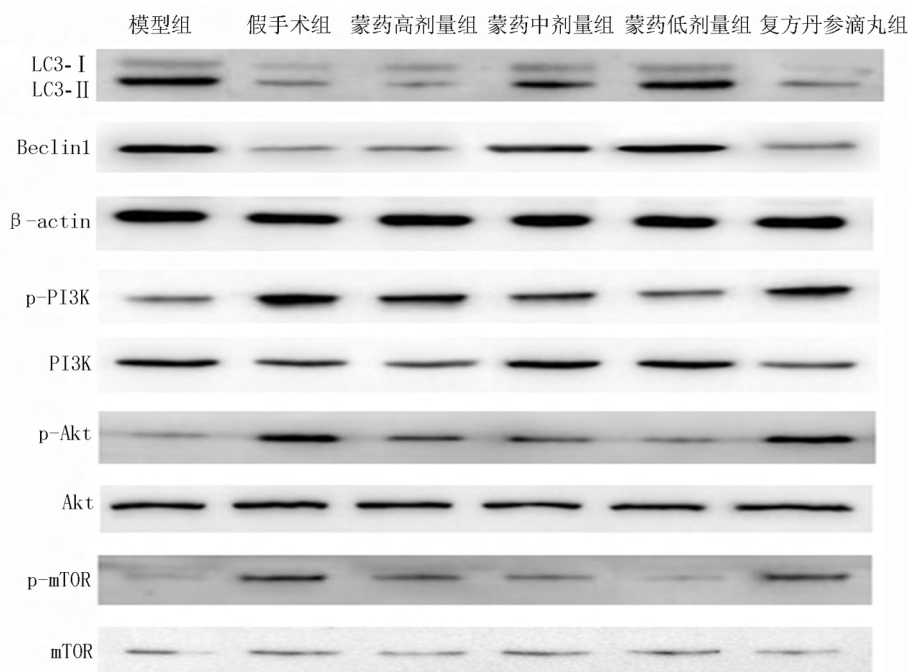


图 1 各组大鼠心肌组织 HE 染色病理学图 ($\times 400$)

表 1 各组大鼠心肌组织中 LC3-II / LC3-I、Beclin1 / β -actin、p-PI3K / PI3K、p-Akt / Akt、p-mTOR / mTOR 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	LC3-II / LC3-I	Beclin1 / β -actin	p-PI3K / PI3K	p-Akt / Akt	p-mTOR / mTOR
假手术组	3	1.36 $\pm$ 0.07	0.34 $\pm$ 0.11	1.55 $\pm$ 0.07	1.63 $\pm$ 0.08	2.45 $\pm$ 0.08
模型组	3	3.16 $\pm$ 0.01*	0.82 $\pm$ 0.01*	0.73 $\pm$ 0.16*	0.51 $\pm$ 0.02*	0.67 $\pm$ 0.02*
复方丹参滴丸组	3	3.28 $\pm$ 0.19*	0.37 $\pm$ 0.01 Δ	1.44 $\pm$ 0.03 Δ	1.61 $\pm$ 0.16 Δ	2.66 $\pm$ 0.04 Δ
蒙药低剂量组	3	3.67 $\pm$ 0.09* Δ	0.81 $\pm$ 0.02* Δ	0.89 $\pm$ 0.02* Δ	0.55 $\pm$ 0.02* Δ	0.56 $\pm$ 0.07* Δ
蒙药中剂量组	3	2.39 $\pm$ 0.23* Δ #	0.58 $\pm$ 0.06* Δ #	1.16 $\pm$ 0.06* Δ #	0.93 $\pm$ 0.08* Δ #	1.16 $\pm$ 0.02* Δ #
蒙药高剂量组	3	1.70 $\pm$ 0.22 Δ #&	0.37 $\pm$ 0.02 Δ #&	1.53 $\pm$ 0.08 Δ #&	1.26 $\pm$ 0.06* Δ #&	1.97 $\pm$ 0.17* Δ #&

注: LC3-I, 微管相关蛋白轻链 3 蛋白 I; LC3-II, 微管相关蛋白轻链 3 蛋白 II; p-PI3K, 磷酸化磷脂酰肌醇 3 激酶; PI3K, 磷脂酰肌醇 3 激酶; p-Akt, 磷酸化蛋白激酶 B; Akt, 蛋白激酶 B; p-mTOR, 磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; mTOR, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与复方丹参滴丸组比较, $\Delta P < 0.05$; 与蒙药低剂量组比较, # $P < 0.05$; 与蒙药中剂量组比较, & $P < 0.05$



注: LC3-I, 微管相关蛋白轻链 3 蛋白 I; LC3-II, 微管相关蛋白轻链 3 蛋白 II; p-PI3K, 磷酸化磷脂酰肌醇 3 激酶; PI3K, 磷脂酰肌醇 3 激酶; p-Akt, 磷酸化蛋白激酶 B; Akt, 蛋白激酶 B; p-mTOR, 磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; mTOR, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

图 2 各组大鼠心肌组织 LC3-II、LC3-I、Beclin1、β-actin、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR 蛋白电泳图

mTOR 升高 ($P < 0.05$)。与蒙药中剂量组比较, 蒙药高剂量组 LC3-II/LC3-I、Beclin1/β-actin 降低, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 升高 ($P < 0.05$)。

3 讨论

蒙医称 MIRI 为心刺痛症, 发病原因是由于“三根七素”功能失调, 特别是普行“赫依”受损, 精华与糟粕分解紊乱, 导致心脉内淤积浑浊之血液所致。蒙药额尔敦-乌日勒有活血化瘀、疏通脉道、清热安神的作用。研究显示, 其能够通过抗炎、抗氧化、降脂、改善血管内皮细胞功能, 且能有效缓解冠心病心绞痛的临床症状, 改善心电图缺血性 S-T 改变, 无严重副作用^[7-10]。额尔敦-乌日勒方中以镇静安神之珍珠为主, 配以牛黄、麝香清热开窍, 再加丁香、檀香以行气, 另加地锦草、决明子、茺蔚、肉桂等为之佐使。复方丹参滴丸已被证实在冠心病的治疗中发挥重要作用^[1], 故本研究选为对照药物。

有研究发现, 细胞自噬在 MIRI 中起“双刃剑”的作用, 一般认为其在缺血期的激活主要起保护作用, 而在再灌注期表现为过度激活, 甚至可诱发细胞凋亡及坏死, 故在再灌注期其损伤作用占

主导地位^[2]。PI3K-Akt-mTOR 信号通路在 MIRI 中起关键作用, 并且是细胞自噬唯一的抑制性信号通路^[3-14]。Akt 是此通路的中心环节, 经上游靶点 PI3K 激活, 活化的 Akt 激活下游 mTOR, 可以通过检测 Akt 的磷酸化水平来检测通路的激活程度^[15-18]。mTOR 与自噬的诱导密切相关^[7], 被证实互有负调控的作用^[8], 即缺血期 mTOR 被抑制, 帮助细胞存活; 再灌注期 mTOR 被激活来防止自噬过度。LC3-II 和 Beclin1 是细胞自噬的关键因子, LC3-II/LC3-I 的比值越高反映自噬越强, Beclin1 参与激活细胞自噬^[19-20], 其表达水平可以进一步验证细胞自噬激活程度。

本实验结果表明, 模型组大鼠存在细胞自噬的高度激活, 可能是光镜下观察到的心肌组织病理损伤的主要产生原因。蒙药各剂量组与模型组相比, 其中蒙药低剂量组对 Beclin1 的相对表达量的影响不具有统计学意义, 可能与其用药剂量尚未达到理想的血药浓度相关。与复方丹参滴丸组比较, 蒙药中、高剂量组对 LC3-II/LC3-I 的降低有优势, 说明额尔敦-乌日勒中、高剂量在降低 LC3-II/LC3-I 方面优于复方丹参滴丸。蒙药各剂量组比较发现, 蒙药中、高剂量组对 LC3-II/LC3-I 和 Beclin1/

β -actin 的降低有优势。HE 染色结果表明, 蒙药高剂量组能显著改善心肌组织的排列、细胞形态, 明显减少心肌细胞的 LC3-II/LC3-I 及 Beclin1/ β -actin 相对表达量, 其对 MIRI 的保护作用可能与抑制细胞自噬激活有关。同时, 额尔敦-乌日勒各剂量可增加 MIRI 的 Akt 磷酸化水平及 mTOR 的磷酸化水平, 表明蒙药各剂量组大鼠存在 PI3K-Akt-mTOR 通路的高度激活, 通过该通路的负反馈调节作用, 被激活的 mTOR 可以防止细胞自噬过度。复方丹参滴丸组亦可降低 Beclin1/ β -actin, 升高 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 及 p-mTOR/mTOR, 说明复方丹参滴丸也具有激活 PI3K-Akt-mTOR 通路作用, 从而防止细胞自噬。

综上所述, 蒙药额尔敦-乌日勒对 MIRI 具有保护作用, 这一作用可能是通过上调心肌组织 PI3K 的表达, 进一步上调 Akt 和 mTOR 的磷酸化, 激活 PI3K-Akt-mTOR 信号通路, 来抑制细胞的过度自噬产生, 并且以高剂量效果最好。

参考文献

- [1] SIDIQI N, BRUCE M, NEIL CJ, et al. Protocol: does sodium nitrite administration reduce ischaemia-reperfusion injury in patients presenting with acute ST segment elevation myocardial infarction Nitrites in acute myocardial infarction (NIAMI) [J]. J Transl Med, 2013, 11: 116. doi: 10.1186/1479-5876-11-116.
- [2] MA S, WANG Y, CHEN Y, et al. The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(2): 271-276.
- [3] 咏梅. 蒙医心刺痛血性心刺痛的诊疗方案 [J]. 中国民族医药杂志, 2010, 16(7): 32-33.
- [4] 苏宝音, 巴图那松. 心刺痛的治疗 [J]. 中国蒙医药, 2013, 8(4): 33-35.
- [5] 松林. 珍宝丸与沉香-35 味散合用的苏荣扎布学术思想 [J]. 中国蒙医药, 2014, 9(9): 91-100.
- [6] 李明, 鲁卫星, 崔现军, 等. 提高大鼠心肌缺血/再灌注损伤模型成功率的方法探讨 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(9): 1699-1700.
- [7] 麻春杰, 董平, 韩雪梅, 等. 额尔敦-乌日勒在家兔动脉粥样硬化斑块消退中的作用及其对炎症因子的影响 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2011, 13(5): 894-898.
- [8] 乌兰其其格, 麻春杰, 呼日乐巴根, 等. 额尔敦-乌日勒对兔动脉粥样硬化易损斑块模型血清超敏 C 反应蛋白及相关炎症因子的影响 [J]. 环球中医药, 2014, 7(3): 183-186.
- [9] 董平, 麻春杰, 韩雪梅, 等. 额尔敦-乌日勒对动脉粥样硬化家兔血清中 NO 和抗氧化酶活性的影响 [J]. 中国医药, 2011, 6(11): 1296-1298.
- [10] 董平, 麻春杰, 温都苏毕力格, 等. 额尔敦-乌日勒对实验性家兔动脉粥样硬化的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(5): 1012-1015.
- [11] 郭玉明, 张弛, 查青林, 等. 复方丹参滴丸治疗冠心病的系统评价 [J]. 上海中医药大学学报, 2012, 26(3): 24-31.
- [12] LIU L, WU Y, HUANG X. Orientin protects myocardial cells against hypoxia-reoxygenation injury through induction of autophagy [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 776: 90-98. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.02.037.
- [13] JIAN J, XUAN F, QIN F, et al. Bauhinia champion II flavone inhibits apoptosis and autophagy via the PI3K/Akt pathway in myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 5933-5945. doi: 10.2147/DDDT.S92549.
- [14] LI Z, DONG H, LI M, et al. Honokiol induces autophagy and apoptosis of osteosarcoma through PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(2): 2719-2723.
- [15] ZHANG J, WANG C, YU S, et al. Sevoflurane preconditioning protects rat hearts against ischemia-reperfusion injury via the activation of PI3K/AKT/mTOR signaling [J]. Sci Rep, 2014, 4(4): 7317-7328. doi: 10.1038/srep07317.
- [16] GALLO S, SALA V, GATTI S, et al. Cellular and molecular mechanisms of HGF / Met in the cardiovascular system [J]. Clin Sci (Lond), 2015, 129(12): 1173-1193.
- [17] CARROLL B, DUNLOP EA. The lysosome: a crucial hub for AMPK and mTORC1 signalling [J]. Biochem J, 2017, 474(9): 1453-1466.
- [18] KANG R, ZEH HJ, LOTZE MT, et al. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis [J]. Cell Death Differ, 2011, 18(4): 571-580.
- [19] 刘利娟, 陈瑶, 周德生, 等. Salubrinal 对大鼠脑缺血再灌注模型 LC3-II mRNA 及 LC3-II/LC3-I mRNA 的影响 [J]. 广东医学, 2017, 38(4): 509-513.
- [20] 刘宇, 赵雅宁, 刘孜卓, 等. LC3-II 和 Beclin1 在糖尿病脑缺血后处理大鼠海马 CA1 区表达及意义 [J]. 医学研究生学报, 2016, 29(1): 46-51.

Effects of Mongolian Medicine E'erdun-Wurle Preconditioning on Autophagy-Related Protein Expression in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury Rats

YAN Qingzhi, MA Chunjie, HAO Qiangwei, DONG Ping, LIAN Hua, LI Binbin

(Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of anti-myocardial ischemia-reperfusion injury of Mongolian medicine E'erdun-Wurle pretreatment. **Methods** A total of 60 SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, Compound Danshen Dropping Pills group and Mongolian medicine high, medium and low dose group, with 10 rats in each group. The Mongolian medicine high, medium, and low-dose groups were given the E'erdun-Wurle suspension respectively at a dose of 1.2, 0.6, and 0.3 g/kg each time, while Compound Danshen Dropping Pills group was given compound Danshen Dropping Pill solution at a dose of 0.5 g/kg each time, and the sham operation group and the model group were given equal volume of distilled water twice daily for 2 weeks. Twelve hours after the last administration, the sham operation group was treated with only the thread not ligated, the other groups were treated with left anterior descending coronary artery ligation to prepare myocardial ischemia-reperfusion injury model. After successful modeling, the pathological changes of myocardial tissue in each group were observed by HE staining. The expressions of autophagy-related proteins Beclin1 and microtubule-associated protein light chain 3 protein II (LC3-II) were detected by immunohistochemistry. The Beclin1 and LC3-II proteins in myocardial tissue and expression of PI3K-Akt-mTOR signaling pathway-associated proteins were detected by Western blot. **Results** Compared with the model group, all medicated drug groups could improve the pathological morphology of rat myocardial tissue. The expressions of LC3-II and Beclin1 in the myocardial tissues of the Mongolian medicine middle and high dose groups were lower than those in the model group ($P < 0.05$), while the relative expression of PI3K-Akt-mTOR signaling pathway in the myocardial tissue was higher than that of the model group ($P < 0.05$). **Conclusion**

Mongolian medicine E'erdun-Wurle can alleviate myocardial tissue damage in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury, which may be related to down-regulation of autophagy-related proteins LC3-II and Beclin1 expression and activation of PI3K-Akt-mTOR signaling pathway.

Keywords myocardial ischemia reperfusion injury; E'erdun-Wurle; Mongolian medicine; autophagy; PI3K-Akt-mTOR signaling pathway

(收稿日期: 2018-04-07; 修回日期: 2018-12-02)

编辑: 王利芬

腰痛宁胶囊临床研究与应用征文通知

腰痛宁胶囊是颈复康药业集团有限公司生产的治疗腰腿痛的首选药品之一。为了总结腰痛宁胶囊多年来研究及临床应用经验,更好地指导临床用药,中医杂志社与颈复康药业集团有限公司联合主办此次有奖征文活动,现将有关事项通知如下。

一、征文内容: 1. 腰痛宁胶囊治疗腰椎间盘突出症、坐骨神经痛、腰肌劳损、腰肌纤维炎、风湿性关节炎,症见腰腿痛、关节痛及肢体活动受限等病症的临床经验、体会与分析; 2. 腰痛宁胶囊临床用量、用法的研究与经验总结; 3. 腰痛宁胶囊组方研究、药理研究与探讨; 4. 腰痛宁胶囊临床扩大应用范围的探讨与研究; 5. 名医名家应用腰痛宁胶囊治疗腰椎间盘突出症等腰腿痛经验总结与分析; 6. 包括但不限于以上内容文章。

二、征文要求: 1. 来稿未公开发表,字数不低于 3000 字,请附单位介绍信,来稿不退; 2. 文章中涉及到的计量单位、实验数据等须采用法定标准方法表示; 3. 文题下署作者姓名、单位、通讯地址、邮编、联系电话等,请以 Word 形式投送电子稿件,不接受纸质投稿。

三、奖励办法: 由全国中医药界知名专家、教授组成评审委员会,将评出: 一等奖 1~2 篇,每篇奖励 5000 元; 二等奖 5~10 篇,每篇奖励 4000 元; 三等奖 10~15 篇,每篇奖励 3000 元; 优秀奖若干篇,每篇奖励价值 500 元的精美礼品一份。获奖者将获得由主办单位颁发的获奖证书、奖金或礼品,获奖文章达到刊用标准的将在《中医杂志》等期刊上发表,其他获奖文章达到标准的将在《中医杂志》增刊发表,并赠送样刊 1 册。评选结果将在颈复康药业集团有限公司官网、《中医杂志》《中国医药报》《中国中医药报》等媒体上公布。主办单位将邀请部分获奖者免费参加颁奖大会及学术交流会与知名专家现场交流。颁奖大会具体时间、地点另行通知。

本次征文不收取任何费用,来稿请于 2019 年 12 月 31 日前发至邮箱: jtcn@163.com。联系地址: 北京市东直门内南小街 16 号中医杂志社,联系人: 22 号编辑,邮编: 100700,电话: (010) 64035632。