

实验研究

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.07.011

抗纤益心方对扩张型心肌病模型小鼠
心肌组织线粒体质量控制的影响王冰¹, 刘舜禹², 王振涛²✉, 冯尧伟², 常红波¹, 黑炫鼎¹, 吴鸿¹

1. 河南中医药大学第二临床医学院, 河南省郑州市金水东路156号, 450046; 2. 河南省中医院

[摘要] **目的** 探讨抗纤益心方治疗扩张型心肌病(DCM)的可能作用机制。**方法** 30只cTnT^{R141W}转基因DCM小鼠随机分为模型组、抗纤益心颗粒组、辅酶Q10组,每组10只,另设10只C57BL/6J小鼠为正常组。辅酶Q10组、抗纤益心颗粒组分别给予辅酶Q10片1.5 mg/(kg·d)、抗纤益心方配方颗粒20.4 g/(kg·d)灌胃,正常组、模型组给予生理盐水7.5 ml/(kg·d)灌胃。干预8周后检测各组小鼠心功能[包括左室舒张末期内径(LVEDD)、左室收缩末期内径(LVESD)、左室射血分数(LVEF)、左室轴缩短率(FS)],观察心肌组织病理学形态及心肌超微结构,检测心肌组织三磷酸腺苷(ATP)和磷酸肌酸(PCr)含量,线粒体质量控制相关蛋白Drp1、Mff、Mfn1、Opa1、Pink1、Parkin、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (PGC-1 α)表达水平。**结果** 与正常组比较,模型组LVEDD、LVESD增大,LVEF、FS降低($P<0.05$);心肌细胞排列紊乱,纤维化明显,心脏超微结构损伤明显;PCr含量、PCr/ATP值降低($P<0.05$),Drp1、Mff、Pink1、Parkin及PGC-1 α 蛋白表达均减少($P<0.05$)。与模型组比较,抗纤益心颗粒组、辅酶Q10组LVEDD、LVESD降低,LVEF升高($P<0.05$);抗纤益心颗粒组、辅酶Q10组心肌细胞形态均有所改善,病理纤维化程度减轻,心脏超微结构损伤减轻;抗纤益心颗粒组PCr含量、PCr/ATP值升高,Mff、Pink1、Parkin、PGC-1 α 蛋白表达增加($P<0.05$),辅酶Q10组Pink1、PGC-1 α 蛋白表达增加($P<0.05$)。与抗纤益心颗粒组比较,辅酶Q10组Parkin蛋白表达下降($P<0.05$)。**结论** 抗纤益心方能有效改善DCM小鼠心功能,其机制可能与调控心肌组织线粒体质量控制有关。

[关键词] 扩张型心肌病;线粒体质量控制;抗纤益心方;心功能;能量代谢

扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)是以左室或双室进行性扩张,收缩功能明显降低为主要表现的异质性心肌病,心室重构是其主要病理过程^[1]。研究表明,心肌能量代谢紊乱可引起代谢重构,会进一步导致心室重构的发生并形成恶性循环^[2]。线粒体是心肌代谢最重要的供能细胞器,线粒体质量控制(mitochondrial quality control, MQC)机制包括线粒体的融合、分裂、自噬及生物合成,各环节协同作用在维持健康线粒体的同时,可清除不可逆性损伤线粒体,促进线粒体新生,实现对线粒体质量与功能的双重调控,从而维持心肌正常的

能量代谢^[3]。因此,调节MQC从而改善心肌能量代谢成为抑制心室重构的关键。抗纤益心方是我们治疗DCM的专方,前期研究表明该方能够有效抑制心室重构并延缓疾病进程,其治疗效应主要集中在在线粒体及细胞质方面^[4]。本实验利用cTnT^{R141W}转基因DCM小鼠模型^[5],以MQC为切入点,探讨抗纤益心方改善心肌能量代谢、抑制心室重构的可能作用机制。本研究已通过河南省中医院伦理委员会审批(批准号:PZ-HNSZY-2019-004)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级雄性cTnT^{R141W}转基因DCM小鼠30只,2.5月龄,体质量(25 $\pm$ 2)g,购自中国医学科学院实验动物研究所,实验动物合格证号:

基金项目:河南省科技攻关项目(212102310368);河南省中医药科学研究专项(20-21ZY2009)

✉ 通讯作者:13803817796@139.com, (0371)60908742



1103261911000021; SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 10 只, 2.5 月龄, 体质量 (25 ± 2) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物合格证号: 1102861914000028。于河南省中医院实验动物中心饲养, 温度 (22 ± 2) °C, 湿度 (50 ± 5) %, 12 h 明暗交替。

1.2 药物

抗纤益心方配方颗粒由红参 12 g (批号: 19080058)、黄芪 30 g (批号: 20100015)、丹参 15 g (批号: 20040120)、泽兰 15 g (批号: 19110126)、益母草 15 g (批号: 20040219)、茯苓 15 g (批号: 20100186)、白术 15 g (批号: 20090042)、升麻 9 g (批号: 20060046)、麦冬 12 g (批号: 20060012) 组成, 购自四川新绿药业科技发展有限公司。辅酶 Q10 片, 10 mg/片, 卫材 (中国) 药业有限公司, 批号: 1912001。

1.3 主要试剂及仪器

Masson 三色染色液 (批号: 20190524)、HE 染色试剂盒 (批号: 20180827)、ECL 超敏发光液 (批号: 20191014), 北京索莱宝科技有限公司; 磷酸肌酸 (PCr, 批号: MM-0521M1)、三磷酸腺苷 (ATP, 批号: MM-0040M1) ELISA 试剂盒, 江苏酶免实业有限公司; BCA 蛋白定量试剂盒 (批号: 112720201223), 上海碧云天生物技术有限公司; Opa1 兔单克隆抗体 (批号: 80471T)、Drp1 兔单克隆抗体 (批号: 5391T)、Mff 兔单克隆抗体 (批号: 84580T)、Mfn1 兔单克隆抗体 (批号: 14739T), 美国 Cell signaling 公司; GAPDH 兔抗鼠多克隆抗体 (批号: 10008047)、Pink1 兔单克隆抗体 (批号: 00084593)、Parkin 兔单克隆抗体 (批号: 00055193)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 α (PGC-1 α) 鼠单克隆抗体 (批号: 10005199), 美国 Proteintech 公司; Parkin 抗体 (批号: JJ0921), 成都正能生物技术有限公司; 蛋白电泳凝胶制备试剂盒 (批号: BA0223), 陕西中晖赫彩生物医药科技有限公司; 戊巴比妥钠 (批号: F20171115), 中国医药集团上海化学试剂公司; 钼酸 (批号: 115355)、饱和醋酸铀 (批号: 1110814), 美国 SPI 公司; 柠檬酸铅 (批号: 10136767), 阿法埃莎 (中国) 有限公司; 戊二醛 (批号: 191106), 上海尚宝生物科技有限公司。

VisualSonics 超高分辨率小动物超声成像系统 (型号: Vevo1100), 加拿大富士公司; FC 型酶标仪 (型号: 51119000), 赛默飞世尔上海仪器有限

公司; 蛋白垂直电泳仪 (型号: 164-5070)、化学发光凝胶成像仪 (型号: HOD11), 美国 Bio-Rad 公司; 超微量核酸蛋白测定仪 (型号: OD-2000⁺), 美国 One-drop 公司; 透射电子显微镜 (型号: JEM-1400), 日本 JEOL 公司; 光学显微镜 (型号: ECLIPSE80i), 日本 Nikon 公司; 高速冷冻离心机 (型号: 5424R), 德国 Eppendorf 公司。

1.4 动物分组及给药

采用超声心动图对 30 只 cTnT^{R141W} 转基因 DCM 小鼠进行鉴定, 以左室收缩末期内径 (LVESD) > 2.64 mm 为心脏扩张^[6], 结果 30 只小鼠均满足心脏扩张条件。根据随机数字表法分为模型组、抗纤益心颗粒组、辅酶 Q10 组, 每组 10 只。C57BL/6J 小鼠 10 只作为正常组。抗纤益心颗粒组给予抗纤益心方药液人等效剂量^[7] 20.4 g/(kg·d), 辅酶 Q10 组给予辅酶 Q10 药液 1.5 mg/(kg·d), 正常组与模型组给予生理盐水。各组均每日灌胃 1 次, 每次 7.5 ml/kg, 共 8 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 心功能指标 干预 8 周后, 根据随机数字表各组分别取 6 只小鼠, 禁食 12 h, 称重后用 1% 戊巴比妥钠 (10 ml/kg) 腹腔注射麻醉, 仰卧位固定, 心前区备皮行超声心动图检查, 检测左室舒张末期内径 (LVEDD)、LVESD, 记录左室射血分数 (LVEF) 及左室轴缩短率 (FS) 值。

1.5.2 心肌病理学形态 超声心动图检查结束后, 开胸剪取心脏, 用 4 °C 预冷的生理盐水清洗残余血液, 滤纸吸干水后, 剪取整个左室心肌组织置于 4% 多聚甲醛中固定, 制备切片。行 HE 染色及 Masson 染色, 光学显微镜下观察左室心肌组织病理学形态。

1.5.3 ELISA 法检测小鼠心肌组织 ATP、PCr 含量 取左室心肌组织 50 mg, 按 10% 比例加入预冷 PBS, 匀浆机迅速制备心肌匀浆, 4 °C、5000 r/min 离心 15 min (离心半径 6.25 cm), 取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明进行 ATP、PCr 含量检测。

1.5.4 透射电子显微镜观察心肌超微结构 取左室心尖部位约 1 mm×1 mm×1 mm 心肌组织标本, 放入 2.5% 戊二醛中固定 4 h, PBS 漂洗 3 次后加入 1% 钼酸固定 2 h, 30%、50%、70%、80%、90%、100% 的丙酮梯度脱水, 制备切片, 饱和醋酸铀溶液及柠檬酸铅溶液染色, 透射电镜拍照观察心肌超微结构。

1.5.5 Western blot 法检测心肌 MQC 相关蛋白 Opa1、Drp1、Mff、Mfn1、Pink1、Parkin、PGC-1 α 表达 干预 8 周后, 根据随机数字表各组分别取 3 只小鼠, 麻醉后开胸剪取心脏, 取 200 mg 心肌组织, 冰上裂解 1 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 5 min (离心半径 6.25 cm), 取上清液, BCA 试剂盒进行蛋白定量, 蛋白变性后上样, SDS 电泳分离总蛋白, 转膜, 脱脂奶粉室温封闭, 一抗 (GAPDH 1:2000; Opa1 1:1000; Drp1 1:1000; Mff 1:1000; Mfn1 1:10 000; Pink1 1:1000; Parkin 1:2000; PGC-1 α 1:4000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育, 洗膜 3 次, 加入二抗孵育, 再次洗膜, ECL 发光液暗室曝片, 用 Imagemagelab 5.2 软件分析条带灰度值, 用“目的蛋白/内参比值”表示所检测蛋白的相对表达量。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据, GraphPad Prism 6.0 统计软件作图。计量资料均符合正态分布, 用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较方差齐时采用单因素方差分析, 方差不齐时采用秩和检验, 两两比较采用 TurKey 法, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠心功能指标比较

表 1 示, 与正常组比较, 模型组 LVEDD、LVESD 明显增大, LVEF、FS 明显降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 抗纤益心颗粒组、辅酶 Q10 组 LVEDD、LVESD 明显减小, LVEF 明显增大 ($P<0.05$), FS 有所增大但差异无统计学意义 ($P>0.05$); 抗纤益心颗粒组与辅酶 Q10 组各指标比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.2 各组小鼠心肌病理学形态结果

图 1、图 2 示 (彩色图片请扫描本文二维码获取), 正常组心肌细胞排列整齐, 横纹清晰, 细胞核呈椭圆形, 位于细胞中央, 细胞间可见间质胶原纤维环绕。模型组心肌细胞排列相对紊乱, 细胞核排列不规则, 部分细胞核固缩、碎裂, 心肌间质出现空泡样改变, 出现间质水肿, 纤维化明显。与模型组比较, 抗纤益心颗粒组心肌细胞排列相对规则, 部分不规则肥大, 少部分细胞核固缩、碎裂, 间质纤维增生及水肿不明显; 辅酶 Q10 组心肌细胞排列相对规则, 部分不规则肥大, 细胞核固缩、碎裂, 局部出现间质纤维组织增生。

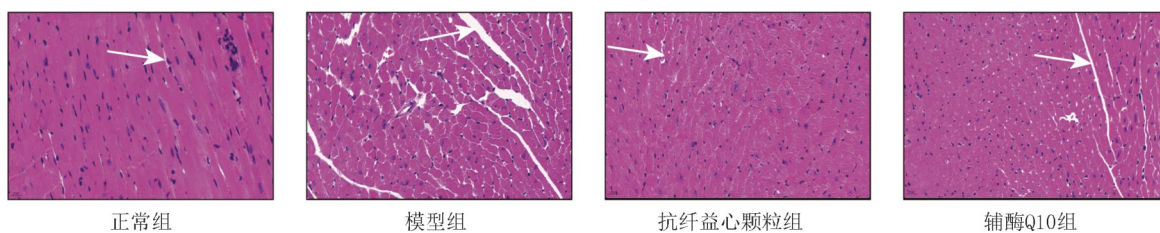
表 1 各组小鼠心功能指标比较

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

组别	鼠数	LVEDD/mm	LVESD/mm	LVEF/%	FS/%
正常组	6	3.21 $\pm$ 0.72	2.34 $\pm$ 0.57	55.63 $\pm$ 9.43	28.28 $\pm$ 4.96
模型组	6	4.89 $\pm$ 0.88 ^{a)}	4.35 $\pm$ 0.45 ^{a)}	22.61 $\pm$ 5.17 ^{a)}	11.21 $\pm$ 3.24 ^{a)}
抗纤益心颗粒组	6	3.64 $\pm$ 0.91 ^{b)}	2.99 $\pm$ 0.41 ^{b)}	32.22 $\pm$ 7.12 ^{b)}	16.55 $\pm$ 3.11
辅酶 Q10 组	6	3.79 $\pm$ 0.41 ^{b)}	3.01 $\pm$ 0.21 ^{b)}	31.73 $\pm$ 5.22 ^{b)}	15.95 $\pm$ 2.78

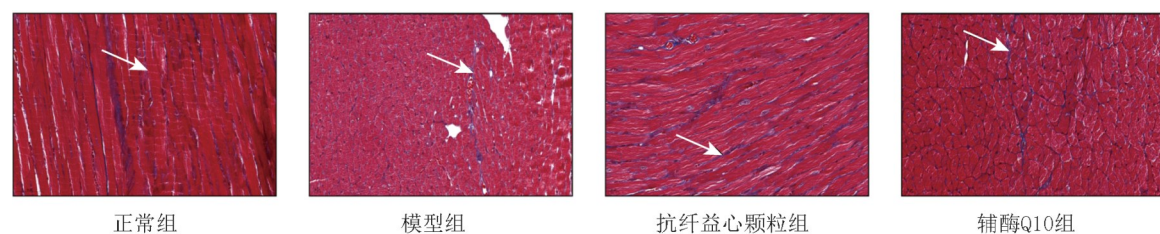
注: LVEDD, 左室舒张末期内径; LVESD, 左室收缩末期内径; LVEF, 左室射血分数; FS, 左室轴缩短率。

a) 与正常组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。



注: 箭头所标注为心肌间隙。

图 1 各组小鼠左心室壁组织 HE 染色结果 ($\times 400$)



注: 箭头所标注为胶原纤维沉淀。

图 2 各组小鼠左心室壁组织 Masson 染色结果 ($\times 400$)

2.3 各组小鼠心肌超微结构比较

图3示,正常组心肌超微结构基本正常,纤维肌膜较完整,肌小节M带及肌丝结构清晰,肌原纤维排列有序,线粒体排列整齐,多数呈椭圆形。与正常组比较,模型组心肌肌丝溶解断裂,肌小节M带及肌丝结构模糊不清,肌原纤维破坏,线粒体排列紊乱,呈不规则弥漫性肿胀。与模型组比较,抗纤益心颗粒组心肌超微结构损伤明显减轻,纤维肌膜较完整,肌小节M带和肌丝结构清晰,肌原纤维排列相对有序,线粒体排列相对整齐,数量明显增多,呈圆形或椭圆形,部分可见线粒体分裂形态;辅酶Q10组部分心肌肌丝溶解断裂,肌原纤维排列稍整齐,心肌细胞肿胀,线粒体排列较为整齐,形态多呈椭圆形。

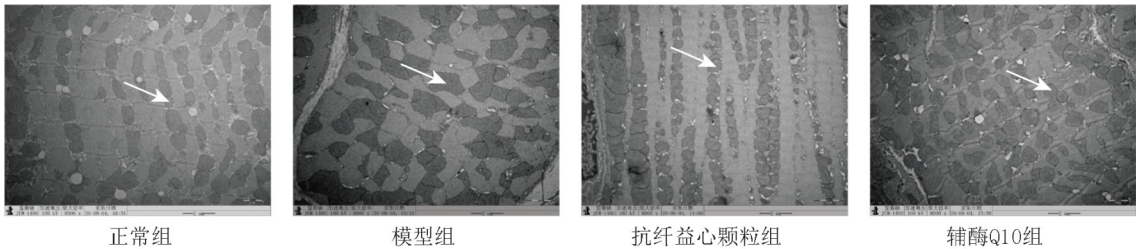
2.4 各组小鼠心肌组织ATP、PCr含量比较

表2示,各组心肌组织ATP含量差异均无统计

学意义($P>0.05$)。与正常组比较,模型组心肌组织PCr含量、PCr/ATP值明显降低($P<0.05$);与模型组比较,抗纤益心颗粒组PCr含量、PCr/ATP值升高($P<0.05$),辅酶Q10组各指标差异无统计学意义($P>0.05$)。抗纤益心颗粒组与辅酶Q10组各指标比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.5 各组小鼠心肌组织中MQC相关蛋白表达比较

表3示,与正常组比较,模型组Drp1、Mff、Pink1、Parkin及PGC-1 α 蛋白表达减少($P<0.05$);与模型组比较,抗纤益心颗粒组Mff、Pink1、Parkin、PGC-1 α 蛋白表达增加,辅酶Q10组Pink1、PGC-1 α 蛋白表达增加($P<0.05$);与抗纤益心颗粒组比较,辅酶Q10组Parkin蛋白表达减少($P<0.05$),其余各蛋白表达比较差异无统计学意义($P>0.05$)。各组小鼠心肌组织线粒体蛋白电泳图见图4。



注:箭头所标注为线粒体。

图3 各组小鼠心肌线粒体形态(饱和醋酸铀溶液及柠檬酸溶液染色,×8000)

表2 各组小鼠心肌组织ATP、PCr含量及PCr/ATP值比较 (x±s)

组别	鼠数	PCr/nmol·L ⁻¹	ATP/nmol·L ⁻¹	PCr/ATP
正常组	6	13388.92±177.60	7340.36±118.44	1.82±0.03
模型组	6	12031.67±395.94 ^{a)}	7248.04±109.36	1.66±0.05 ^{a)}
抗纤益心颗粒组	6	12670.25±396.05 ^{b)}	7213.60±85.76	1.76±0.06 ^{b)}
辅酶Q10组	6	12479.00±209.25	7285.58±170.05	1.71±0.04

注:PCr,磷酸肌酸;ATP,三磷酸腺苷。

a)与正常组比较, $P<0.05$;b)与模型组比较, $P<0.05$ 。

表3 各组小鼠心肌组织中线粒体质量控制相关蛋白表达比较 (/GAPDH,x±s)

组别	鼠数	Drp1	Mff	Opal	Mfn1
正常组	3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	3	0.66±0.06 ^{a)}	0.41±0.19 ^{a)}	0.90±0.19	1.21±0.27
抗纤益心颗粒组	3	0.83±0.04	0.73±0.19 ^{b)}	0.86±0.22	0.93±0.16
辅酶Q10组	3	0.86±0.08	0.67±0.30	0.97±0.37	0.96±0.16

组别	鼠数	Pink1	Parkin	PGC-1 α
正常组	3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	3	0.57±0.09 ^{a)}	0.58±0.09 ^{a)}	0.54±0.08 ^{a)}
抗纤益心颗粒组	3	0.95±0.20 ^{b)}	1.00±0.06 ^{b)}	0.83±0.10 ^{b)}
辅酶Q10组	3	0.93±0.31 ^{b)}	0.86±0.03 ^{c)}	0.71±0.02 ^{b)}

注:PGC-1 α ,过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α 。

a)与正常组比较, $P<0.05$;b)与模型组比较, $P<0.05$;c)与抗纤益心颗粒组比较, $P<0.05$ 。



注: PGC-1 α , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α 。

图4 各组小鼠心肌组织线粒体蛋白电泳图

3 讨论

中医学认为, DCM 属本虚标实之证, 气虚血瘀贯穿疾病发展始终, 应以益气活血为根本治法, 兼以利水、养心护脾等^[8-9]。气虚之极为气陷, 我们认为 DCM 初期以气虚为主, 日久虚极下陷, 气机失常, 津液输布失调, 形成气陷、血瘀、水停、痰聚的病理改变。抗纤益心方中重用黄芪补益宗气, 红参补脾气, 且能培补先天元气, 升麻健脾升举阳气, 丹参、益母草、泽兰活血化瘀利水, 白术、茯苓健脾利湿, 麦冬滋阴以制补药燥烈之性。诸药合用, 共奏益气升陷、活血利水之功。前期实验研究证实, 抗纤益心方能够抑制心肌细胞凋亡^[10], 改善心肌能量代谢^[11]。

ATP 是心肌组织最直接的供能物质, 体内能量多以 PCr 的形式储存, PCr/ATP 值是评价能量状态的重要指标, 亦是预测心室重构及患者预后的重要指标^[12]。研究^[13]表明, 逆转心肌线粒体 ATP 生成障碍能够改善心肌能量代谢, 进而改善代谢性心力衰竭的心肌收缩功能障碍。本研究结果表明, 抗纤益心方能够减轻心肌纤维化, 抑制心室重构, 与既往研究结果^[14]一致; 同时能够提高 PCr/ATP 值, 提示抗纤益心方可改善心肌能量代谢障碍。

线粒体的融合、分裂、自噬以及生物合成各环节协调作用维持着线粒体的正常功能。线粒体保证心肌能量需求主要依靠其融合及分裂功能^[15], 两

者相互拮抗平衡是维持 MQC 以及保证心肌能量代谢的关键^[16]。Mfn1 与 Opa1 共同参与调控线粒体融合过程^[17]。线粒体分裂主要由 Drp1 介导, 其通过与线粒体外膜上受体蛋白线粒体分裂相关蛋白 Mff 等相结合发挥效应^[18]。研究^[19]发现, 阿霉素诱导的 DCM 模型大鼠心肌组织中线粒体碎片化明显, Drp1 蛋白表达明显升高。Pink1/Parkin 通路是线粒体自噬的经典通路^[20], 研究证实, 益气活血类中成药能够通过 Pink1/Parkin 通路抑制线粒体过度自噬, 从而发挥保护心肌的作用^[21]。PGC-1 α 是线粒体生物合成的关键因子, 能够通过激活核呼吸因子 1 (NRF1) 等调节生物合成, 进而调节能量代谢^[22]。PGC-1 α 过表达能够导致线粒体相关蛋白表达上调, 线粒体增大, 并导致心肌肌节结构丧失和 DCM 的出现; 而当主动脉结扎小鼠 PGC-1 α 缺乏时, 其心脏也明显增大^[23]。研究表明, 辅酶 Q10 能够通过改善能量代谢抑制心室重构, 改善心功能^[24], 因此本实验选择辅酶 Q10 作为阳性对照药物。本研究结果显示, 与模型组比较, 抗纤益心颗粒组心肌细胞形态改善, 病理纤维化减轻, 心脏超微结构损伤减轻, 线粒体分裂相关蛋白 Mff 表达升高, 线粒体自噬相关蛋白 Pink1、Parkin 及生物合成相关蛋白 PGC-1 α 表达也明显升高, 表明抗纤益心方能够显著恢复线粒体分裂水平, 提高自噬水平, 加快不良线粒体的清除, 提升线粒体生物合成水平, 改善心肌能量代谢, 从而改善心功能。辅酶 Q10 组仅 Pink1、PGC-1 α 表达增加, 与其相比, 抗纤益心方靶向 MQC 相关途径更加明显。

本研究通过在体实验观察到抗纤益心方能够通过调节 MQC 改善 DCM 心肌能量代谢障碍, 但并未具体探讨两者之间的调控关系, 下一步将通过细胞实验进一步阐明其可能作用机制。

参考文献

- [1] PALUDAN SR, PRADEU T, MASTERS SL, et al. Constitutive immune mechanisms: mediators of host defence and immune regulation[J]. Nat Rev Immunol, 2021, 21(3):137-150.
- [2] MAYTIN M, COLUCCI WS. Molecular and cellular mechanisms of myocardial remodeling [J]. J Nucl Cardiol, 2002, 9(3):319-327.
- [3] QIU Z, WEI Y, SONG Q, et al. The role of myocardial mitochondrial quality control in heart failure [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 1404. doi: 10.3389/fphar. 2019. 01404.

- [4]郭宗耀,王振涛. 基于蛋白质组学探讨抗纤益心方治疗扩张型心肌病的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(11):5734-5738.
- [5]冯娟,董伟,全雄志,等. cTnT^{R141W}转基因小鼠扩张型心肌病模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(10):563-567, 621.
- [6]LU D, SHAO HT, GE WP, et al. Ginsenoside-Rb1 and tetramethylpyrazine phosphate act synergistically to prevent dilated cardiomyopathy in cTnT^{R141W} transgenic mice [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2012, 59(5):426-433.
- [7]魏伟,吴希美,李元健. 药理实验方法学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社, 2010:1698.
- [8]杨军用,彭佳,杨莹骊,等. 郭维琴益气活血、泻肺利水法治疗扩张型心肌病验案 1 则[J]. 中医杂志, 2017, 58(2):177-178.
- [9]罗川晋,李先隆,吴伟. 邓铁涛调脾护心法治疗扩张型心肌病心力衰竭经验[J]. 中医杂志, 2018, 59(4):285-288.
- [10]王振涛,闫京京,吴鸿,等. 抗纤益心方对去甲肾上腺素诱导 H9c2 心肌细胞凋亡及凋亡相关因子表达的影响[J]. 中医杂志, 2019, 60(21):1866-1869.
- [11]常红波,王振涛,黑炫鼎,等. 抗纤益心方对扩张型心肌病大鼠心肌能量代谢和解偶联蛋白 2 的影响[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(3):166-170.
- [12]MAHMOD M, PAL N, RAYNER J, et al. The interplay between metabolic alterations, diastolic strain rate and exercise capacity in mild heart failure with preserved ejection fraction: a cardiovascular magnetic resonance study[J]. J Cardiovasc Magn Reson, 2018, 20(1):88.
- [13]PANAGIA M, HE H, BAKA T, et al. Increasing mitochondrial ATP synthesis with butyrate normalizes ADP and contractile function in metabolic heart disease [J]. NMR Biomed, 2020, 33(5):e4258.
- [14]王振涛,韩丽华,柴松波,等. 抗纤益心方对扩张型心肌病心力衰竭大鼠心肌基质金属蛋白酶-1 及其抑制剂表达的影响[J]. 中医杂志, 2011, 52(16):1406-1408.
- [15]SONG M, MIHARA K, CHEN Y, et al. Mitochondrial fission and fusion factors reciprocally orchestrate mitophagic culling in mouse hearts and cultured fibroblasts [J]. Cell Metab, 2015, 21(2):273-286.
- [16]CHAN DC. Fusion and fission: interlinked processes critical for mitochondrial health [J]. Annu Rev Genet, 2012, 46:265-287. doi: 10.1146/annurev-genet-110410-132529.
- [17]CHEN Y, LIU Y, DORN GN. Mitochondrial fusion is essential for organelle function and cardiac homeostasis [J]. Circ Res, 2011, 109(12):1327-1331.
- [18]MEYER JN, LEUTHNER TC, LUZ AL. Mitochondrial fusion, fission, and mitochondrial toxicity[J]. Toxicology, 2017, 391:42-53. doi: 10.1016/j.tox.2017.07.019.
- [19]WANG P, WANG L, LU J, et al. SESN2 protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy via rescuing mitophagy and improving mitochondrial function [J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 133:125-137. doi: 10.1016/j.yjmcc.2019.06.005.
- [20]BAKULA D, SCHEIBYE-KNUDSEN M. Mitophagy in aging and disease[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8:239. doi: 10.3389/fcell.2020.00239.
- [21]夏冉,王荃,戴小华,等. 益气活血类中药干预线粒体质量控制治疗心力衰竭的实验研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(5):206-213.
- [22]SIOKA, SABRY AD, CAWLEY KM, et al. Multiple Levels of PGC-1 α Dysregulation in Heart Failure [J]. Front Cardiovasc Med, 2020, 7:2. doi: 10.3389/fcvm.2020.00002.
- [23]PUNITHAVATHI VR, SHANMUGAPRIYA K, PRINCE PS. Protective effects of rutin on mitochondrial damage in isoproterenol-induced cardiotoxic rats: an in vivo and in vitro study [J]. Cardiovasc Toxicol, 2010, 10(3):181-189.
- [24]FOTINO AD, THOMPSON-PAUL AM, BAZZANO LA. Effect of coenzyme Q10 supplementation on heart failure: a meta-analysis [J]. Am J Clin Nutr, 2013, 97(2):268-275.

Effect of Kangxian Yixin Formula (抗纤益心方) on Mitochondrial Quality Control in Myocardial Tissue of Dilated Cardiomyopathy Mice

WANG Bing¹, LIU Shunyu², WANG Zhentao², FENG Yaowei², CHANG Hongbo¹, HEI Xuanding¹, WU Hong¹

1. The Second Clinical Medical College of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, 450046; 2. Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of Kangxian Yixin Formula (抗纤益心方, KYF) in the treatment of dilated cardiomyopathy (DCM). **Methods** Thirty cTnT^{R141W} transgenic mice with DCM were randomly divided into the model group, KYF group and coenzyme Q10 group, with 10 mice in each group. Ten

C57BL/6J mice were set as the normal group. Coenzyme Q10 solution at a dose of 1.5 mg/(kg·d), and KYF at a dose of 20.4 g/(kg·d) were given by gavage to the corresponding coenzyme Q10 group and KYF group, respectively. For the normal group and the model group, normal saline at a dose of 10 ml/(kg·d) were given by gavage. After eight weeks intervention, the cardiac function indicators including left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end-systolic diameter (LVESD), left ventricular ejection fraction (LVEF), and left ventricular fractional shortening (FS) were assessed. The myocardial histopathology and ultrastructure were observed. The levels of adenosine triphosphate (ATP) and creatine phosphate (PCr), as well as the expression levels of mitochondrial quality control-related proteins including Drp1, Mff, Mfn1, Opa1, Pink1, Parkin, and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α (PGC-1 α) were detected. **Results** Compared to the normal group, the model group had significantly increased LVEDD and LVESD, as well as reduced EF and FS ($P<0.05$). Moreover, in the model group, there were disordered cardiomyocytes, significant fibrosis and damaged ultrastructure; the PCr level and the PCr/ATP ratio significantly decreased ($P<0.05$), and the expressions of Drp1, Mff, Pink1, Parkin and PGC-1 α were reduced ($P<0.05$). Compared to those in the model group, LVEDD and LVESD in the KYF group and the coenzyme Q10 group significantly decreased, while LVEF significantly increased ($P<0.05$); the morphology of myocardial cells was improved, and the pathological fibrosis and the cardiac ultrastructural damage were reduced. Moreover, in the KYF group, PCr level and PCr/ATP ratio, as well as expression of Mff, Pink1, Parkin, and PGC-1 α significantly increased ($P<0.05$); in the coenzyme Q10 group, the expression of Pink1 and PGC-1 α significantly increased ($P<0.05$). Compared to the KYF group, the coenzyme Q10 group had significantly lower expression of Parkin ($P<0.05$). **Conclusion** KYF can effectively improve the cardiac function of mice with DCM, the mechanism may be related to the regulation of mitochondrial quality control.

Keywords dilated cardiomyopathy; mitochondrial quality control; *Kangxian Yixin Formula* (抗纤益心方); cardiac function; energy metabolism

(收稿日期: 2021-07-29; 修回日期: 2021-11-23)

[编辑: 王利芬]

广告

《中医杂志(英文版)》欢迎投稿

Journal of Traditional Chinese Medicine [《中医杂志(英文版)》] (ISSN 0255-2922, CN 11-2167/R, 双月刊) 由中华中医药学会与中国中医科学院联合主办, 是我国中医药界具有权威的中医药英文科技期刊, 现发行和交换 90 多个国家和地区。

《中医杂志(英文版)》自 1981 年创刊以来一直坚持正确的办刊宗旨, 国际影响力不断提升。2010 年入选 SCI-E (《科学引文索引》扩刊版), 2011 年获得中国中医科学院自主选题项目资助, 2013 年获得“中国科技期刊国际影响力提升计划”资助, 自 2012 年起连续被评为“中国最具国际影响力学术期刊”。本刊先后被国际知名文献数据库 MEDLINE、《化学文摘》(CA)、《医学文摘》(EM) 等收录, 是 MEDLINE 收录的第一份中国出版的中医药期刊, 是 SCI 收录的 30 余种全科医学和替代医学期刊中的中国传统医学综合性学术期刊之一。

《中医杂志(英文版)》主要栏目包括循证研究、理论研究、基础研究、临床观察、中药研究、文献研究, 思路与方法、综述等。内容以报道中医药基础、临床研究成果和科研前沿进展为主, 覆盖中医药学科各个领域。欢迎广大专家学者积极投稿。作者可直接登录本刊网站 <http://www.journaltcm.com> 投稿。

联系邮箱: jtcmen@126.com。电话: 010-64089190。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。