

PI3K/Akt信号通路串扰在心肌缺血再灌注损伤中的作用及中医药防治进展

谢延峥^{1,2}, 马金^{1,2}, 邹旭^{1*}

(1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广州 510000;
2. 广东省中医药防治难治性慢病重点实验室, 广州 510000)

[摘要] 心肌缺血再灌注损伤(MIRI)是指由于一些原因导致心肌细胞缺血性损伤,然而在恢复血液供应后心肌细胞损伤进一步加重,从而引发再灌注性心律失常、心肌顿抑、微循环障碍和血液无复流等现象,是临床治疗中亟待解决的问题。因此,探索如何改善MIRI具有重要的临床意义。磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路被认为是预防MIRI的重要级联信号通路,串扰在氧化应激、钙超载、自噬、炎症、内质网应激和线粒体障碍等多种机制中,并处于核心位点,与MIRI的严重程度密切相关。同时,中医药凭借其多靶点、多通路和毒副作用小的优势以及中医的辨证治疗、整体观念等特点,使其在防治MIRI方面有着独特的优势。大量研究已证实,该通路是众多中药复方、中药单体以及中药提取物常见的作用机制。因此,本文将阐述PI3K/Akt信号通路串扰在MIRI机制中的作用,重点对PI3K/Akt信号通路关键靶标与MIRI的关系进行综述,以便深刻理解其中错综复杂的关系,促进针对PI3K/Akt信号通路的新型药物的研发。最后总结中医药对该通路已有的研究成果,为MIRI的治疗及药物研发提供参考依据。

[关键词] 磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路; 心肌缺血再灌注损伤; 中医药

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)24-0201-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201872

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200724.1731.019.html>

[网络出版日期] 2020-7-25 09:03

Effect of PI3K/Akt Signal Pathway Crosstalk in Myocardial Ischemia Reperfusion Injury and Prevention and Treatment with Traditional Chinese Medicine Therapy

XIE Yan-zheng^{1,2}, MA Jin^{1,2}, ZOU Xu^{1*}

(1. *The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong 510000, China*; 2. *Guangdong Provincial Key laboratory of Chinese Medicine for Prevention and Treatment of Refractory Chronic Diseases Guangzhou, Guangdong 510000, China*)

[Abstract] Myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) was originated from the ischemic injury to myocardial cells due to some factors, and the injury will be aggravated after the blood supply recovery. MIRI will cause reperfusion arrhythmia, myocardial stagnation, microcirculation disorders or blood loss reflow, and become a key issue to be solved in the clinical treatment. Therefore, it is of important clinical significance to explore how to improve MIRI. The phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway has been regarded to be an important cascade signaling pathway to prevent MIRI, which is cross-talked in such mechanisms as oxidative stress, calcium overload, autophagy, inflammation, endoplasmic reticulum

[收稿日期] 20200323(028)

[基金项目] 广东省财政厅项目(粤财工(2016)150号);广东省中医药局项目(粤中医办函(2020)1号);广东省中医院中医学学术流派传承工作室建设项目(中医二院(2013)233号);广东省基础与应用基础研究基金联合基金-重点项目(2019B1515120040);广东省自然科学基金项目(2019A1515010808);广东省中医院中医药科学技术研究专项(YN2019MJ10, YN2018MJ02)

[第一作者] 谢延峥,在读博士,从事中医药防治心血管疾病研究,E-mail:562662545@qq.com

[通信作者] *邹旭,教授,博士生导师,从事中医药防治心血管疾病研究,E-mail:Prof. xuzou@aliyun.com

stress and mitochondrial dysfunction. This pathway is at the core site and closely related to the severity of MIRI. Meanwhile, traditional Chinese medicine (TCM) has its unique advantages in the prevention and treatment of MIRI, including multiple targets, multiple pathways, fewer toxic and side effect, as well as TCM characteristics of syndrome differentiation treatment and overall concept. A great number of studies have confirmed that this pathway is a common mechanism of action for most TCM compounds, TCM monomers and extracts. In this paper, we clarify the effect of PI3K/Akt signaling pathway crosstalk on the myocardial ischemia-reperfusion injury, with the focus on the relationship between the key targets of PI3K/Akt signaling pathway and MIRI. It will give great insights to the intricate relationship between them and promote the future development of new drugs targeting the PI3K/Akt signaling pathway. Finally, we also summarized the existing findings of TCM on PI3K/Akt pathway, which provides a reference for the treatment and drug development of MIRI.

[Key words] phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway; myocardial ischemia-reperfusion injury; traditional Chinese medicine

近日,国家心血管病中心发布《国家心血管病报告2018》,内容表明我国心血管疾病(CVD)现患人数已接近3亿,同时死亡率高居首位,远超肿瘤及其他疾病^[1]。冠心病(CHD),又称为缺血性心脏病,是最常见的CVD,由于心肌供血中断而导致冠状动脉阻塞的一种心肌病变。CHD最直接的后果是急性心肌梗塞(AMI),对于减少心肌梗死面积最有效的治疗是及时进行再灌注。然而临床上很多患者在恢复血流灌注之后,其组织和器官出现了更加严重的损伤,称之为心肌缺血再灌注损伤(MIRI)^[2]。MIRI的概念起源于1960年,由JENNINGS等^[3]首次提出。由于诱发MIRI的原因较为复杂,主要涉及氧化应激、钙超载、自噬、炎症、内质网应激和线粒体障碍等,目前尚未发现安全有效的治疗方法^[4-8]。中医药能够显著改善MIRI程度,且多靶点,多通路、毒副作用少和经济成本低而受到国内外众多研究学者的关注。因此对于积极寻找抗MIRI的药物或方法具有非常重要的临床意义。在MIRI中,磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路错综复杂的串扰在氧化应激、钙超载、自噬、炎症、内质网应激和线粒体障碍等各个环节中,并处于核心位点,与MIRI严重程度密切相关。为了进一步深入了解PI3K/Akt信号通路与MIRI发病机制的关系,本文对该通路关键靶标在MIRI中的关系进行综述,最后总结中医药对该通路已有的研究进展,旨在为预防MIRI提供一定的理论基础。

1 PI3K/Akt结构

PI3K属于胞内磷脂酰肌醇激酶。PI3K根据脂底物的同源性和特异性分为3类,分别为I, II和III 3种亚型^[9]。其中I型PI3K研究最为广泛。I型PI3K又分为IA和IB 2种类型。IA是由调节

亚基P85和催化亚基P110组成异源性二聚体结构。在细胞内外多种信号刺激下,可影响PI3K其结构改变,从而激活PI3K。PI3K被激活后,可催化底物磷脂酰肌醇2磷酸(PIP₂)转变为第2信使磷脂酰肌醇3磷酸(PIP₃)。PIP₃作为信使可与下游多个靶分子结合并活化,从而调控下游各项细胞活动^[10]。

具体而言,Akt是PI3K下游非常重要的活性靶标,属于一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,包含Akt1, Akt2和Akt3 3种亚型。虽然这3种亚型被3个不同的基因进行编码,但它们之间具有相当高的同源性^[11]。其中Akt1型在心肺脑组织中表达最高,因而研究最为广泛。Akt的磷酸化程度决定了对下游靶分子的调控能力。在细胞内外信号刺激下,激活PI3K后产生的PIP₃能够与Akt氨基末端的PH结构域结合,使Akt从细胞质移位到细胞膜上并且获得催化活性。Akt磷酸化主要来自2个方面,一方面,Akt的Thr308和Ser473位点分别在3-磷脂酰肌醇依赖性激酶1(PDK1)和3-磷脂酰肌醇依赖性激酶2(PDK2)催化下予以磷酸化。另一方面,Akt活化后直接对自身Ser124和Thr450位点磷酸化,从而使Akt完全磷酸化,称之为磷酸化蛋白激酶B(p-Akt),进而调节其下游的转录因子引起转导通路一系列的级联反应^[12]。

2 PI3K/Akt信号通路关键靶标与MIRI的关系

大量研究结果显示,PI3K/Akt信号传导通路在MIRI发生进展中发挥保护心肌细胞的作用^[13-16]。作为经典的细胞信号通路之一,PI3K/Akt信号通路广泛存在于细胞中并参与众多生命活动。在MIRI的进展中,PI3K/Akt通过调控下游不同的靶点来发挥不同的作用,其作用范围涵盖以下多个方面,例如氧化应激、内质网应激、自噬、炎症、细胞凋亡、能

量代谢以及电生理等活动,还参与血管新生,改善内皮完整性等^[17]。

2.1 Akt下游关键靶标与MIRI的关系 具体而言,Akt被活化后通过调控下游以下靶点,如糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β),哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR),内皮型一氧化氮合酶(eNOS),Bcl-x1/Bcl-2相关死亡启动子(Bad),核转录因子- κ B(NF- κ B),叉头框转录因子家族O亚族(FoxO)以及缝隙连接蛋白43(Cx43)等来发挥对MIRI的保护作用。

2.1.1 GSK-3 β 与MIRI的关系 GSK-3 β 作为Akt下游重要的靶标之一,是一种多功能丝氨酸/苏氨酸激酶,通过调控其磷酸化水平来改变其活性,其磷酸化主要受控于Ser9和Tyr216位点,其中Ser9位点可使GSK-3 β 降低活性,而Tyr216位点能够使GSK-3 β 提高活性^[18]。PI3K/Akt/GSK-3 β 通路在MIRI的研究中被认为是一条重要的抗细胞凋亡的信号通路。在MIRI期间,氧化应激和钙超载等因素会导致细胞线粒体通透性转变孔(mPTP)的开放。mPTP是引发细胞凋亡的关键导火线。早在2004年,JUHASZOVA等^[19]发现GSK-3 β 可以决定mPTP在初期的开放。Akt将GSK-3 β 的Ser9位点磷酸化后,导致GSK-3 β 失去活性,从而抑制mPTP的开放,减少细胞凋亡,发挥对MIRI的保护作用^[20]。最近研究发现,通过对MIRI模型大鼠中长链非编码RNA生长阻滞特异性转录因子5(GAS5)的敲低,可以激活PI3K/Akt,进而导致GSK-3 β 失去活性和mPTP的开放受到限制,从而减少心肌梗死面积,减轻MIRI^[21]。GSK-3 β 对MIRI的保护作用不仅仅局限于抑制mPTP开放,还可继续调控其下游重要的核因子E2相关因子2(Nrf2)/Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Keap1)/抗氧化反应元件(ARE)抗氧化通路。目前,Nrf2/Keap1/ARE是机体内重要的内源性抗氧化信号通路,被认为是抗氧化研究领域的重点^[22-23]。氧化应激参与MIRI的进展,细胞受到缺血缺氧刺激后,大量自由基和活性氧簇增加,从而体内抗氧化防御系统开始被激活。然而对于激活氧化应激防御机制的关键因子是Nrf2^[24]。Nrf2信号通路是一条高度保守且复杂的通路,其调节路径主要有两种,一种是通过Keap1依赖的信号通路,另外一种是非Keap1依赖的信号通路。在非Keap1依赖的信号通路中,主要涉及GSK3 β ,PI3K/Akt,蛋白激酶C(PKC)等参与对Nrf2蛋白的调控。GSK3 β 通过被Akt磷酸化后失活,进一步活化Nrf2,从而影响

Nrf2与Keap1偶联,并使Nrf2转移到细胞核内,识别抗氧化基因启动子ARE并结合,从而增强醌氧化还原酶1(NQO1),血红素加氧酶1(HO-1)等抗氧化蛋白的表达,减轻缺血再灌注后对心肌细胞产生的氧化损伤^[25]。以上提示GSK-3 β 可能成为减轻MIRI的关键靶标。

2.1.2 mTOR与MIRI的关系 mTOR作为Akt下游重要的靶标之一,属于丝氨酸/苏氨酸激酶,调控细胞内部多种信号,影响细胞增殖、分化、凋亡和自噬。研究已证实,mTOR是细胞自噬的负调控因子^[26]。自噬是细胞在各种应激状态下对自身的分解代谢过程。研究表明自噬在MIRI中起着双重作用。在缺血期,心肌细胞处于缺血缺氧状态可激活细胞自噬进而对受损心肌细胞发挥保护作用。自噬系统激活后,其降解产物如氨基酸可被转化成腺苷三磷酸(ATP),为缺血缺氧受损的心肌细胞提供能量。在再灌注期,细胞自噬被继续增强,随着自噬水平的过度升高,导致大量心肌细胞自噬性死亡^[27]。有研究还表明mTOR可通过减轻炎症反应,从而减轻MIRI。自噬通过减少线粒体脱氧核糖核酸(mtDNA)的释放,限制被损害的线粒体产生大量的活性氧,从而达到降低炎症的程度。自噬过程还可消除这些被受损的线粒体,减少细胞促炎因子的释放。PI3K/Akt/mTOR信号通路是细胞自噬过程中的一条重要信号转导通路,其信号通路的激活,可抑制过度升高的自噬水平,从而减轻MIRI^[28]。细胞自噬和炎症之间,二者相互影响相互调节,共同在MIRI的进展中发挥重要作用。

2.1.3 eNOS与MIRI的关系 eNOS是Akt磷酸化后下游的重要底物之一,由1203个氨基酸组成,其广泛存在于心肌细胞、心内膜以及内皮细胞中。eNOS作为一氧化氮(NO)的限速酶,不过需要先在左旋精氨酸(L-Arg)的催化下才能产生内源性NO。NO是一把双刃剑,但多数研究表明,在急性MIRI时,心肌细胞被损伤的程度与NO的含量关系密切^[29]。NO作为血管内皮极强的舒张因子,能够调控血压和冠状动脉内的基础张力,使心肌血流灌注维持在稳定状态,并保持整个心血管系统的舒张活性在正常状态^[30]。具体而言,eNOS产生的NO可以激活线粒体内膜上的线粒体ATP敏感性钾离子通道(mitoK-ATP)及蛋白激酶,并限制mPTP的开放,同时使线粒体膜的通透性降低,抑制钙超载,恢复线粒体功能,提高心肌细胞储备能力,并提高B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)等抗凋亡因子的表达,最终减少心

肌细胞凋亡^[31]。mitoK-ATP还能够减少心肌组织内活性氧的蓄积,减轻细胞氧化应激损伤。在MIRI中,炎症反应引起的过度免疫应答也是心肌细胞损伤的重要机制。MIRI过程中大量炎性因子释放入血、血管内皮细胞和白细胞表面黏附分子表达升高以及白细胞过度激活等都加剧了心肌细胞损伤,诱发级联炎症反应。研究表明,对于eNOS生成的NO,可以使血小板和白细胞在细胞壁上的黏附程度降低,并能够减轻这些炎性物质对细胞的浸润程度,从而保护心肌细胞^[32]。研究还发现,在缺氧情况下,NO可通过PI3K/Akt信号通路促进诱导因子产生,促进血管新生,重新适应缺血缺氧等生理环境^[33]。因此,通过PI3K/Akt信号通路来调控eNOS的表达,从而促进NO的表达,减轻对心肌细胞的损害,从而发挥出对MIRI的保护作用。

2.1.4 Bad与MIRI的关系 Bad属于Bcl-2蛋白家族。Bcl-2蛋白家族分为抗凋亡和促凋亡,Bad蛋白属于促凋亡蛋白中的一员^[34]。目前,Bad蛋白的磷酸化和非磷酸化成为了研究者们所关注的热点。在体内正常情况下,Bad稳定存在于细胞质中且以磷酸化的状态对抗细胞凋亡。然而在MIRI等外源因子刺激条件下,影响Bad蛋白去磷酸化,从而使其与分子伴侣蛋白解联,导致促凋亡蛋白中Bcl-2相关X蛋白(Bax)释放出来。其中,Bax以二聚体结构易位插入到线粒体膜上形成一种孔道结构,导致线粒体钙超载和细胞色素C(CytC)的释放,从而促进细胞死亡。研究表明,Bad蛋白在被上游PI3K/Akt信号通路磷酸化后,能够抑制线粒体释放CytC,限制细胞凋亡程序的启动。Akt活化后,可以将Bad的Ser136位点磷酸化,从而与分子伴侣蛋白14-3-3竞争性结合形成无活性的复合物,相当于促凋亡蛋白Bax等缺少分子伴侣,从而直接失去诱导凋亡的作用^[35]。未磷酸化的Bad蛋白则依然会促进心肌细胞凋亡。因此Bad与磷酸化Bad(p-Bad)的比值增高表明对心肌细胞凋亡起抑制作用。

2.1.5 NF- κ B与MIRI的关系 NF- κ B蛋白是Akt的下游重要效应因子之一,对炎症反应各个阶段以及细胞凋亡等活动都有调控作用。NF- κ B是一种基因转录调控蛋白,于1986年被RANJAN等首次发现。NF- κ B家族包含5种亚单位,分别为RelB,c-Rel,NF- κ B1(p50),NF- κ B2(p52)及RelA(p65)。在正常生理条件下,NF- κ B中的p50/p65/NF- κ B抑制蛋白(I κ B)形成三聚体复合物存在于细胞质中,并处于沉息状态^[36]。在MIRI刺激下,可以有效激

活I κ B激酶并进行降解,从而暴露出p65亚基的DNA位点和p50亚基的易位信号,导致NF- κ B和I κ B解联,进一步导致NF- κ B进入细胞核启动一系列的炎症介质,从而促进肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β)等炎症因子分泌。TNF- α 能够抑制心肌收缩并启动炎症反应,最终引起细胞死亡。IL-1 β 引起中性粒细胞以及血管内皮细胞粘附因子的表达,加剧炎症反应并浸润心肌细胞^[37]。因此,由NF- κ B引发的过度炎症反应是导致MIRI的重要因素之一,并贯穿MIRI发生与发展的全过程^[38]。同时,大量研究已证实,对NF- κ B信号通路的抑制可有效减轻MIRI的程度^[39]。因此,在MIRI期间,通过激活PI3K/Akt信号通路,诱导NF- κ B活化,进而抑制TNF- α 和IL-1 β 等促炎因子的过度表达,减少炎症反应,从而减轻对心肌细胞的损伤。

2.1.6 FoxO与MIRI的关系 FoxO蛋白是PI3K/Akt信号通路重要的下游因子。FOXO家族包括4个成员,分别为FoxO1(FKHR),FoxO3(FKHRL1),FoxO4(AFX),FoxO6。他们均由113个氨基酸所构成,但具有不同的DNA结合域,其转录活性受磷酸化影响^[40]。目前,FoxO1和FoxO3的研究最为广泛。在MIRI过程中,对于FoxO1和FoxO3,能够维持心肌细胞存活、正常代谢以及整个心脏稳定状态。FoxO1磷酸化路径主要通过PI3K/Akt信号通路,Akt活化后通过对FoxO1的Ser256,Ser319和Thr24这3个位点磷酸化,从而完成对FoxO1的活化。被活化后的FoxO1,其转录活性大大降低,从而对下游促细胞凋亡基因的表达产生抑制作用^[41]。FoxO3磷酸化路径也是主要通过PI3K/Akt信号通路,活化后的Akt可使FoxO3氨基酸残基上Thr32,Ser253和Ser315位点磷酸化,阻止FoxO3进入细胞核内,从而抑制下游细胞自噬基因和细胞凋亡基因的表达^[42-43]。FoxO蛋白在在MIRI过程中,最终形成PI3K/Akt/FoxO的抗心肌细胞凋亡通路。以上表明,FoxO1和FoxO3被磷酸化后,作用于不同的效应分子可产生不同的生物作用。

2.1.7 Cx43与MIRI的关系 缝隙连接蛋白能够促进细胞之间的信息传递和电活动传导^[44]。Cx43由382个氨基酸构成,在心肌细胞膜和线粒体中被大量表达,可以有效减轻MIRI的程度。Cx43的表达含量和磷酸化水平与MIRI发病机制密切相关,涉及心肌细胞离子通道、线粒体功能障碍、细胞自噬、内质网应激以及细胞凋亡等方面^[45]。MIRI过程中会引起细胞内钙离子超载和氧化应激反应。对于

钙离子超载,会进一步导致细胞质膜上的Cx43半通道的开放,从而使更多的小分子通过Cx43半通道进入到胞内,加剧对心肌细胞的损伤。Cx43还会进一步激活隧道纳米管(TNTs)调控的细胞间电偶联活动,从而使更多心肌细胞电压门控的钙离子通道开放,再一次加重钙离子超载。氧化应激反应和不断加重的钙离子超载现象引起mPTP的开放,最终导致线粒体功能障碍,加重MIRI进展^[46]。Cx43主要通过磷酸化来发挥其调控作用。Cx43中Ser-369和Ser-373位点是PI3K/Akt的信号通路上的Akt激酶结合的底物^[47]。大量研究证明,在MIRI过程中,通过PI3K/Akt信号通路,通过调控Cx43的表达和磷酸化水平,改善心肌细胞间的缝隙连接功能,从而减少心肌梗死面积,减少再灌注性心律失常,增强线粒体功能,从而减轻MIRI的程度^[48-50]。研究发现,整合素连接激酶(ILK)在MIRI模型SD大鼠中可能通过激活Akt来抑制Cx43,从而减少心律失常发生率,改善心功能,减轻MIRI^[51]。然而,MIRI的作用机制复杂,Cx43在MIRI过程中的具体机制尚未完全阐明清楚。越来越多研究也证明,Cx43在自噬中扮演着重要角色^[52]。因此加深对Cx43的深入研究可能为以后MIRI的临床治疗提供新的靶点。

PI3K/Akt信号通路关键靶标Akt, GSK-3 β , mTOR, eNOS, Bad, NF- κ B, FoxO以及Cx43与MIRI密切相关。PI3K激活下游关键靶标Akt,活化的Akt进一步激活下游的GSK-3 β , mTOR, eNOS, Bad, NF- κ B, FoxO以及Cx43而发挥作用,其作用机制串扰在氧化应激、细胞凋亡、自噬、炎症和线粒体障碍等各个环节,见图1。

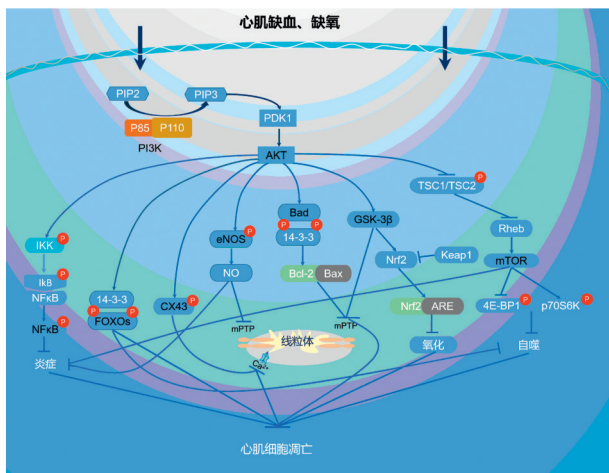


图1 PI3K/Akt信号通路串扰在心肌缺血再灌注损伤中的作用
Fig. 1 Role of PI3K/Akt signal pathway crosstalk in myocardial ischemia-reperfusion injury

3 中医药通过PI3K/Akt信号通路对MIRI的防治作用

中医药凭借其多靶点、多通路和副作用小的优势以及中医的辨证治疗、整体观念等特点,使其在治疗MIRI方面有着独特的优势。本文从中药单体、中药提取物、中药复方/制剂以及针灸和艾灸预处理的角度对PI3K/Akt信号通路在抗MIRI中药作用机制的研究进行综述,以期寻找有效的药物来预防和降低MIRI提供一定的理论指导。

3.1 中药单体 丹参素,来源于中药丹参的一种化合物,被认为是防治心血管疾病的重要活性成分,尤其对MIRI的治疗和预防具有显著的疗效,并得到了广泛的研究。丹参素的作用机制主要通过抗氧化和抗凋亡两种机制发挥心脏保护作用。基础实验中,通过结扎SD大鼠左冠状动脉前降支法构建MIRI模型来模拟临床上的MIRI。研究结果表明,与模型组相比,丹参素在1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时可将大鼠心肌梗死面积从(43.29 \pm 5.86)%降低至(34.90 \pm 9.15)%。随着浓度增加到10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,最终可以降低至(24.00 \pm 6.35)%。在1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时可将超氧化物歧化酶(SOD)活性从每毫克100 U增加至125 U。浓度为10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,可将SOD含量恢复至接近正常水平(每毫克蛋白质约150 U)。其丹参素调控具体机制可能通过PI3K/Akt介导的内质网应激和氧化应激来预防MIRI^[50]。丹参素能够发挥作用并不仅仅通过PI3K/Akt一条信号通路,其作用不是单纯的一条直线关系,而是通过作用于多种靶点,激活多种通路,组成一个错综复杂的系统,通过相互作用和相互影响,最后共同保护心肌细胞。目前,丹参素对MIRI的药效和机制在动物和细胞中已得到广泛研究,对此BAO等^[53]和ZHANG等^[54]也对其进行了全面的综述概括。还有来自丹参中的丹参酮II_A磺酸钠化合物通过调控PI3K/Akt/FoxO3a信号通路,改善心肌功能,降低心肌梗死面积,从而减少心肌细胞的凋亡,最终对大鼠MIRI心肌细胞发挥保护作用^[55]。最近研究还发现,丹参中的丹酚酸也是通过激活PI3K/Akt信号通路减少高迁移率族蛋白1表达,并减轻炎症浸润和细胞凋亡,从而改善心功能,减少心肌梗死面积,减轻MIRI^[56]。

白藜芦醇属于天然非黄酮类多酚化合物,主要从葡萄和虎杖等植物中提取。白藜芦醇可以有效降低MIRI后心律失常事件的发生率来发挥保护作用^[57]。研究发现,通过构建SD大鼠在体MIRI模型,实验数据表明,与模型组相比,白藜芦醇给药组

可以降低心律失常评分,增强左心室的舒张收缩功能,并能够增加 p-Akt, Akt 以及 Cx43 的蛋白表达,但在添加 PI3K/Akt 特异性抑制剂 LY294002 后,其对心肌细胞的保护作用消失。以上表明,白藜芦醇通过激活 PI3K/Akt 信号通路,上调下游因子 Cx43 表达,增加心肌细胞之间的缝隙连接面积,从而改善对缝隙连接功能的损害程度,保护心肌细胞免受再灌注所引起的损伤,最终改善心功能和减少心律失常的发生^[58]。此外研究还发现,白藜芦醇通过激活 PI3K/Akt/eNOS 信号通路,上调 eNOS 蛋白的表达,减少心肌细胞凋亡,从而减轻 MIRI 程度^[59]。

来自于熊胆草的一种相对较新的化合物鸟苷酸 B(TAB)对心肌细胞具有保护作用。通过对 SD 大鼠离体心脏局部缺血和再灌构建 MIRI 模型,与模型组相比,发现 TAB 给药组可显著改善 SD 大鼠离体心脏的血流动力学参数, SOD, 过氧化氢酶(CAT), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)以及线粒体膜电位的指标,来减少对心肌细胞损害,其体制可能通过抑制 PI3K/Akt 调控的内质网应激和氧化应激来减轻 MIRI^[60]。

最近研究发现,来源于传统中药黄芪中的黄芪甲苷对 MIRI 具有保护作用。通过构建 SD 大鼠 MIRI 模型,结果发现,与模型组相比,黄芪甲苷给药组能够改善心脏功能指数,降低血清中乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)水平,减少心肌梗死面积,并且增加 p-Akt/Akt 以及磷酸化 GSK3 β (p-GSK3 β)/GSK3 β 。以上数据表明,黄芪甲苷可能通过调节 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路来减轻大鼠 MIRI 程度^[61]。

最近研究发现,从中国绿茶中提取的一种单体表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对 MIRI 具有保护作用。通过构建体内 SD 大鼠 MIRI 模型和体外大鼠心肌细胞 H9C2 缺氧复氧模型,结果发现,与模型组相比,EGCG 可以在体内减少心肌梗死面积、血清中肌钙蛋白(cTnl)含量,并且同时增加体内体外自噬相关蛋白酵母 Atg6 同系物(Beclin-1)表达水平,而添加 PI3K 抑制剂后,其对心肌细胞保护作用随之消失。以上数据表明,EGCG 可能通过 PI3K/Akt 信号途径来减少细胞自噬,从而减轻 MIRI 程度^[62]。

3.2 中药提取物 研究发现来自人參的乙醇提取物对 MIRI 具有保护作用。通过构建 SD 大鼠 MIRI 模型,于造模前 1 h 给予人參乙醇提取物。结果表明,与模型组相比,人參乙醇提取物给药组可减少

心律失常和心肌梗死面积,降低 CK 和 LDH 活性,并增加血清中的 NO 含量。通过分别添加糖皮质激素受体(GR)抑制剂、雌激素受体(ER)抑制剂、细胞外信号调节激酶 1/2(Erk1/2)抑制剂,一氧化氮合酶(NOS)抑制剂,PI3K 抑制剂, Akt 抑制剂后,结果表明,人參乙醇提取物并不能发挥保护心肌细胞的作用。对于这些特异性抑制剂的应用,以上结果表明,人參乙醇提取物发挥作用,不仅仅单靠 PI3K/Akt 信号通路,还可能通过激活 GR/ER 和 Erk1/2 的活性,充分发挥出中药多靶点和多通路的优势,从而多角度多方面保护心肌细胞^[63]。

研究发现,红花提取物对 MIRI 具有保护作用。通过构建 SD 大鼠 MIRI 模型,结果表明,与模型组相比,红花提取物给药组能够提高大鼠的心率、左心室舒张压、左室内压最大上升(下降)速率、左心室舒张末期压,同时明显降低肌酸激酶同工酶(CK-MB), NF- κ B, 白细胞介素-6(IL-6)以及 TNF- α 表达水平,并且对心肌组织中 PI3K, Akt, p-Akt, mTOR 的蛋白表达水平明显增加,心脏组织的病理结构明显改善,同时红花提取物对于 MIRI 的保护作用呈现剂量相关性,其作用机制可能通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,减少炎症因子释放有关^[64]。

研究发现香青兰提取物对 MIRI 具有保护作用,是蒙古族和维吾尔族的常用药材。通过构建 SD 大鼠 MIRI 模型,随机分为模型组和给药组。结果发现,与模型组相比,香青兰提取物预处理能够明显降低 LDH, CK-MB 和丙二醛(MDA)的释放,增加 SOD 活性,并明显减少心肌梗死面积、凋亡指数和线粒体损伤,同时促进 PI3K, Akt, GSK-3 β 和 ERK1/2 的磷酸化水平,并且对心脏的保护作用受到 PI3K 抑制剂(LY294002)和 ERK1/2 抑制剂(PD98059)的影响。以上结果表明,香青兰提取物可能通过 PI3K/Akt/GSK-3 β 和 ERK1/2 信号通路介导抑制心肌细胞凋亡,从而减轻 MIRI 程度^[65]。

3.3 中药复方/制剂 复方丹参片由丹参、冰片、三七组成,临床中多用于治疗气滞血瘀型胸痹和冠心病心绞痛类疾病。研究发现,通过构建 SD 大鼠 MIRI 模型,与模型组相比,结果表明复方丹参片能够明显减少 SD 大鼠心肌梗死面积,增加心肌组织中 SOD 和 NO 的水平并降低 MDA 水平,增加血清中 CK, LDH 和 cTnl 水平,增加心肌组织中 p-Akt, p-eNOS, Bcl-2 蛋白的表达水平并降低半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)蛋白表达,其机制可能通过调节 Akt/eNOS 通路来保护再灌注损伤的心肌

细胞,减少心肌细胞凋亡,从而减轻MIRI^[66]。

通心络胶囊主要由人参、水蛭、土鳖等组成。临床上多用于治疗血瘀阻络和心气虚型的冠心病心绞痛等病。研究发现,通过构建SD大鼠MIRI模型,结果表明,与模型组相比,通心络给药组明显对再灌注性心律失常的发生次数和心肌梗死面积降低。通心络胶囊通过改善MIRI后心肌收缩性,降低心肌损伤酶等指标来保护心肌细胞。为反面论证,通过使用PI3K信号通路阻断剂,发现通心络胶囊对SD大鼠心脏的保护作用也随之减少。表明其机制可能通过PI3K/Akt信号通路来发挥保护心肌细胞的作用^[67]。

栝楼薤白半夏汤的组成由栝楼、薤白和半夏并辅以黄酒同煎,具有行气解郁,祛痰宽胸的作用。临床上多用于治疗胸痹证或冠心病心绞痛等病。来源于《金匮要略》中“胸痹不得卧,心痛彻背者,栝楼薤白半夏汤主之”,表明栝楼薤白半夏汤对心脏具有保护作用。研究发现,通过构建SD大鼠MIRI模型组和栝楼薤白半夏汤给药组,栝楼薤白半夏汤组预防性给药2周后制备MIRI模型。通过检测大鼠血清中的CK-MB,LDH和肌钙蛋白T(cTnT)表达含量以及心肌组织中Bax,Bcl-2,Akt和p-Akt蛋白表达情况。结果表明与模型组比较,栝楼薤白半夏汤给药组能够对心肌酶学指标CK-MB,LDH和cTnT含量明显降低,同时降低心肌组织中促凋亡蛋白Bax表达,提高Bcl-2和p-Akt蛋白的表达。说明栝楼薤白半夏汤给药组可能通过激活PI3K/Akt信号通路调控凋亡相关基因Bcl-2和Bax蛋白表达,减少心肌细胞的凋亡,进而对MIRI发挥保护作用^[68]。

3.4 针灸和艾灸预处理 针灸和艾灸预处理,皆属于中医中的“治未病”理念,其发挥治疗作用源于能够预先调动机体中的内源保护效应,充分启动体内自我反馈机制以及调动各种调节机制,以保证机体内环境处于稳定状态。针灸和艾灸预处理的这种治疗方式对MIRI心肌细胞的保护作用已经被基础和临床研究所证实。针灸和艾灸预处理能通过多靶点、多通路作用于MIRI各个环节中,如参与减轻氧化应激、炎症、自噬以及细胞凋亡等环节中^[69-70]。研究发现,SD大鼠通过每日注射盐酸异丙肾上腺素(ISO)来构建慢性心肌缺血模型组和电针治疗组。电针治疗组于第1次造模前给予电针刺激关元、内关和足三里穴位,共持续治疗21次,造模方式同模型组。并添加PI3K/Akt激活剂IGF-1水溶液组和PI3K/Akt抑制剂LY294002组来探究是否通过

PI3K/Akt信号通路发挥保护作用。数据表明,与模型组比较,电针治疗组可以降低促凋亡蛋白Caspase-3,Caspase-9和Bax的表达,增加抗凋亡蛋白Bcl-2的表达,且电镜下其心肌线粒体损伤程度也明显减轻。与电针治疗组相比,PI3K/Akt激活剂IGF-1水溶液组其心肌线粒体损伤程度明显得到改善,而PI3K/Akt抑制剂LY294002组明显减少对心肌细胞的保护作用。以上结果提示,电针治疗组可能通过激活PI3K/Akt信号通路抑制心肌细胞凋亡,从而减轻MIRI^[71]。最近研究还发现,通过构建SD大鼠MIRI模型,随机分为模型组和艾灸治疗组。艾灸治疗组于造模前艾灸内关穴5d,每天每次7个小艾灸柱。结果表明,与模型组相比,艾灸治疗组能够明显减少心肌梗死面积,降低血清中LDH和cTnT含量,抑制Akt和自噬相关蛋白Beclin1表达以及增加抗凋亡蛋白Bcl-2的表达。以上结果提示,艾灸治疗组可能通过Akt信号通路来调控细胞自噬水平,减少细胞凋亡,从而减轻MIRI程度^[72]。

4 结语与展望

本文基于目前研究现状对PI3K/Akt信号通路关键靶标在MIRI中的关系及中医药防治进展进行了综述。但是,上述研究仍然存在着一些不足,大量研究还显示,PI3K/Akt信号通路纵横交错贯穿于磷酸腺苷激活蛋白激酶通路,PKC通路等各个信号通路中,并且各个信号通路之间相互影响相互作用,然而目前对于各个通路之间的具体联系尚未完全阐明。随着生物和医学技术的不断发展,一些特异性抑制剂的不断优化与发展以及实验方法的成熟,将更有利于PI3K/Akt信号通路的深入研究,为MIRI药物的研发提供参考依据。以往大量研究已经证明,中医药在改善MIRI方面具有多靶点、多途径、毒副作用小、经济成本低且对患者依从性好等优势,临床应用市场广阔,已成为研究热点。在后续的研究工作中,应多思考和解决以下问题,①以PI3K/Akt信号通路为“桥梁”建立中西医之间的关联,为中医药防治MIRI提供现代医学佐证。②完善中医药作用机制,深入研究相关信号通路及基因等,充分利用中医药多靶点、多环节以及毒副作用小的优势,提高药物效果。③借鉴现代科技手段,将西方医学与传统中医药辨证论治思想相结合,对MIRI的作用机制进行深入研究,并在中医独特的遣方用药上不断创新。④基础与临床应更加紧密结合,努力将基础实验更好地与临床实际相结合,以期为临床治疗MIRI提供理论依据和治疗策略。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] ZHOU W J, LI J L, ZHOU Q M, et al. Ginsenoside Rb1 pretreatment attenuates myocardial ischemia by reducing calcium/calmodulin-dependent protein kinase II-mediated calcium release[J]. World J Tradit Chin Med, 2020, 6(3): 284-294.
- [3] JENNINGS R B, SOMMERS H M, SMYTH G A, et al. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog[J]. Arch Pathol, 1960, 70: 68-78.
- [4] THOMAS M, CAMICI G G, MAACK C, et al. Impact of oxidative stress on the heart and vasculature[J]. J Am Coll Cardiol, 2017, 70(2): 212-229.
- [5] WALTERS A M, POTER J R G A, BROOKES P S. Mitochondria as a drug target in ischemic heart disease and cardiomyopathy[J]. Circ Res, 2012, 111(9): 1222-1236.
- [6] MARCHANT D J, BOYD J H, LIN D C, et al. Inflammation in myocardial diseases[J]. Circ Res, 2012, 110(1): 126-144.
- [7] 辛高杰,付建华,李磊,等.中药调控自噬与缺血性心脏病关系的研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(16):3784-3789.
- [8] YU H J, GUAN Q G, GUO L, et al. Gypenosides alleviate myocardial ischemia-reperfusion injury via attenuation of oxidative stress and preservation of mitochondrial function in rat heart[J]. Cell Stress Chaperon, 2016, 21(3): 429-437.
- [9] FRUMAN D A, ROMMEL C. PI3K and cancer: Lessons, challenges and opportunities[J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13(2): 140-156.
- [10] 吴丹,高耀,向欢,等. PI3K/Akt信号通路在抑郁症及抗抑郁中药作用机制研究中的进展[J].中草药, 2019, 50(18): 4461-4469.
- [11] 潘晔,殷佳,蔡雪朦,等.基于PI3K/Akt信号通路探讨中医药治疗冠心病的研究进展[J].中草药, 2017, 48(19): 4100-4104.
- [12] JEYAMOCHAN S, MOORTHY R K, KANNAN M K, et al. Parthenolide induces apoptosis and autophagy through the suppression of PI3K/Akt signaling pathway in cervical cancer[J]. Biotechnol Lett, 2016, 38(8): 1251-1260.
- [13] 聂阳,丁立,黄海潮,等. PI3K/Akt-eNOS信号通路在甘木通总黄酮后处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤作用[J].中国中药杂志,2018,43(23):4692-4697.
- [14] BRAND C S, LIGHTHOUSE J K, TREMBLEY M A. Protective transcriptional mechanisms in cardiomyocytes and cardiac fibroblasts[J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 132: 1-12.
- [15] XIN G, XU Y L, SHAN H, et al. SH2B1 protects cardiomyocytes from ischemia/reperfusion injury via the activation of the PI3K/Akt pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2020, doi: 10.1016/j.intimp.2019.105910.
- [16] CUI Z H, ZHANG X J, SHANG H Q, et al. Glutamine protects myocardial ischemia-reperfusion injury in rats through the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24: 444-451.
- [17] CHEN X, ZHABYEYEV P, AZAD A K, et al. Endothelial and cardiomyocyte PI3K β divergently regulate cardiac remodeling in response to ischaemic injury[J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(8): 1343-1356.
- [18] PHUKAN S, BABU V S, KANNOJI A, et al. GSK3 β : role in therapeutic landscape and development of modulators[J]. Br J Pharmacol, 2010, 160(1): 1-19.
- [19] JUHASZOVA M, ZOROV D B, KIM S H, et al. Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signalling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore[J]. J Clin Invest, 2004, 113(11): 1535-1549.
- [20] 车建鹏,晏浩,徐建军. GSK-3 β 参与心肌缺血中细胞程序性死亡的研究进展[J].广东医学, 2012, 33(10): 1498-1501.
- [21] WU N, ZHANG X W, BAO Y D, et al. Down-regulation of GAS5 ameliorates myocardial ischaemia/reperfusion injury via the miR-335/ROCK1/AKT/GSK-3 β axis[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(12): 8420-8431.
- [22] JARAMILLO M C, ZHANG D D. The emerging role of the Nrf2-Keap1 signaling pathway in cancer[J]. Gene Dev, 2013, 27(20): 2179-2191.
- [23] LI W, ZHENG S, HIGGINS M, et al. New monocyclic, bicyclic, and tricyclic ethynylecanodienones as activators of the Keap1/Nrf2/ARE pathway and inhibitors of inducible nitric oxide synthase[J]. J Med Chem, 2015, 58(11): 4738-4748.
- [24] YU A, ZHOU R H, XIA B Z, et al. NAMPT maintains mitochondria content via NRF2-PPAR α /AMPK α pathway to promote cell survival under oxidative stress[J]. Cell Signal, 2014, 13(2): 140-156.
- [25] VOMUND S, SCHAFFER A, PARNHAM M J, et al. Nrf2, the master regulator of anti-oxidative responses[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(12): E2722.
- [26] AOYAGI T, KUSAKARI Y, XIAO C Y, et al. Cardiac

- mTOR protects the heart against ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Physiol-Heart C*, 2012, 303(1): H75-H85.
- [27] GALLO S, SALA V, GATTI S, et al. Cellular and molecular mechanisms of HGF/Met in the cardiovascular system[J]. *Clin Sci*, 2015, 129(12): 1173-1193.
- [28] SCIARRETTA S, FORTE M, FRATI G, et al. New insights into the role of mTOR signaling in the cardiovascular system[J]. *Circ Res*, 2018, 122(3): 489-505.
- [29] COHEN M V, YANG X M, DOWNEY J M. Nitric oxide is a preconditioning mimetic and cardioprotectant and is the basis of many available infarct-sparing strategies[J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 70(2): 231-239.
- [30] ZHANG X, HUANG L F, HUA L H, et al. Resveratrol protects myocardial apoptosis induced by ischemia-reperfusion in rats with acute myocardial infarction via blocking P13K/Akt/e-NOS pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2019, 23(4): 1789-1796.
- [31] CROSS T G, SCHEEL-TOELLNER D, HENRIQUEZ N V, et al. Serine/threonine protein kinases and apoptosis[J]. *Exp Cell Res*, 2000, 256(1): 34-41.
- [32] YING Z, XIE X, CHEN M, et al. Alpha-lipoic acid activates eNOS through activation of PI3-kinase/Akt signaling pathway[J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 64: 28-35.
- [33] 梁俊清, 徐海波, 陈小娟, 等. 通心络通过PI3K/Akt/HIF信号通路改善血管内皮细胞缺氧损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(5): 846-851.
- [34] CHEN J, GRAHAM S H, ZHU R L, et al. Stress proteins and tolerance to focal cerebral ischemia[J]. *J Cerebr Blood F Met*, 1996, 16(4): 566-577.
- [35] MCCAFFREY G, STAATZ W D, QUIGLEY C A. et al. Tight junctions contain oligomeric protein assembly critical for maintaining blood-brain barrier integrity in vivo[J]. *J Neurochem*, 2007, 103(6): 2540-2555.
- [36] CAPECE D, VERZELLA D, DI F B. et al. NF- κ B and mitochondria cross paths in cancer: mitochondrial metabolism and beyond[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 98: 118-128.
- [37] SUN N, WANG H, WANG L. Protective effects of ghrelin against oxidative stress, inducible nitric oxide synthase and inflammation in a mouse model of myocardial ischemia/reperfusion injury via the HMGB1 and TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(3): 2764-2770.
- [38] 王文艳, 徐彤彤, 曾文轩, 等. 瘦素经PI3K-Akt-NF- κ B通路对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. *临床心血管病杂志*, 2015, 31(12): 1336-1339.
- [39] 赵桂峰, 黄欣玮, 吴丽玉. 基于NF- κ B通路的参芍胶囊保护大鼠心肌缺血再灌注损伤的机制分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(12): 145-150.
- [40] OBSIL T, OBSILOVA V. Structural basis for DNA recognition by FOXO proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(11): 1946-1953.
- [41] BROWNAWELL A M, KOPS G L, MACARA I G, et al. Inhibition of nuclear import by protein kinase B (Akt) regulates the subcellular distribution and activity of the forkhead transcription factor AFX[J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(10): 3534-3546.
- [42] MAMMUCARI C, MILAN G, ROMANELLO V, et al. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle *in vivo* [J]. *Cell Metab*, 2007, 6(6): 458-471.
- [43] ZHAO J, BRAULT J J, SCHILD A, et al. FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteasomal pathways in atrophying muscle cells[J]. *Cell Metab*, 2007, 6(6): 472-483.
- [44] BEGANDT D, GOOD M E, KELLER A S. et al. Pannexin channel and connexin hemichannel expression in vascular function and inflammation[J]. *Bmc Cell Biol*, 2017, 18(1): 2.
- [45] 郑涛, 李奇, 杨简, 等. 缝隙连接蛋白43与心肌缺血再灌注损伤的研究进展[J]. *生命的化学*, 2019, 39(2): 284-288.
- [46] BOENGLER K, SCHULZ R. Connexin 43 and mitochondria in cardiovascular health and disease[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 982: 227-246.
- [47] SOLAN J L, LAMPE P D. Spatio-temporal regulation of connexin43 phosphorylation and gap junction dynamics[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1860(1): 83-90.
- [48] GADICHERLA A K, WANG N, BULIC M, et al. Mitochondrial Cx43 hemichannels contribute to mitochondrial calcium entry and cell death in the heart [J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(3): 27.
- [49] 田攀, 马宏. 缝隙连接蛋白43与心律失常的研究进展[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2016, 8(02): 238-239.
- [50] JUHASZOVA M, ZOROV D B, KIM S H, et al. Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signalling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(11): 1535-1549.

- [51] ZHOU P, YANG X L, YANG D Z, et al. Integrin-linked kinase activation prevents ventricular arrhythmias induced by ischemia/reperfusion via inhibition of connexin 43 remodeling[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2020, doi:10.1007/s12265-020-09979-2.
- [52] LU Q, LI WD, LI Z G, et al. Effect of autophagy on cardiomyocyte membrane Cx43 acute remodeling in rats with ischemia-reperfusion [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(7):2639-2645.
- [53] BAO X Y, ZHENG Q, TONG Q, et al. Danshensu for myocardial ischemic injury: preclinical evidence and novel methodology of quality assessment tool [J]. *Front Pharmacol*, 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.01445.
- [54] ZHANG J L, ZHANG Q Q, LIU G, et al. Therapeutic potentials and mechanisms of the Chinese traditional medicine Danshensu [J], *Eur J Pharmacol*, 2019, 864: 172710.
- [55] 金云晔, 翟昌林, 沈震, 等. 丹参酮Ⅱ_A磺酸钠对大鼠缺血再灌注心肌细胞凋亡的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32(6):1413-1415, 1548-1549.
- [56] LIU H Q, LIU W, QIU H L, et al. Salvianolic acid B protects against myocardial ischaemia-reperfusion injury in rats via inhibiting high mobility group box 1 protein expression through the PI3K/Akt signalling pathway [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2019, doi:10.1007/s00210-019-01755-7.
- [57] LI W, WANG Y P, GAO L, et al. Resveratrol protects rabbit ventricular myocytes against oxidative stress-induced arrhythmogenic activity and Ca²⁺ overload [J]. *Acta Pharmaeol Sin*, 2013, 34(9): 1164-1173.
- [58] 宋娟, 王佳, 李宝红, 等. PI3K/Akt信号通路在白藜芦醇抗大鼠缺血/再灌注性心律失常中的作用及机制 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2017, 33(3):239-243.
- [59] CHONG E, CHANG S L, HSIAO Y W, et al. Resveratrol, a red wine antioxidant, reduces atrial fibrillation susceptibility in the failing heart by PI3K/AKT/eNOS signaling pathway activation [J]. *Heart Rhythm*, 2015, 12(5): 1046-1056.
- [60] YU Y L, XING N, XU X D, et al. Tournefolic acid B, derived from *Clinopodium chinense* (Benth) Kuntze, protects against myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress-regulated apoptosis via PI3K/Akt pathways [J]. *Phytomedicine*, 2019, 52:178-186.
- [61] WEI D J, XU H J, GAI X D, et al. Astragaloside IV alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury in rats through regulating PI3K/Akt/GSK-3 β signaling pathways [J]. *Acta Cir Bras*, 2019, doi:10.1590/s0102-865020190070000008.
- [62] ZHANG C, LIANG R G, GAN X W, et al. MicroRNA-384-5p/Beclin-1 as potential indicators for epigallocatechin gallate against cardiomyocytes ischemia reperfusion injury by inhibiting autophagy via PI3K/Akt pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:3607-3623.
- [63] ZHOU H, HOU S, ZHEN L P, et al. Ginseng protects rodent hearts from acute myocardial ischemia-reperfusion injury through GR/ER-activated RISK pathway in an endothelial NOS-dependent mechanism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135(2):287-298.
- [64] 牛恒立, 伏计能, 马云海. 红花提取物对大鼠心脏缺血再灌注的保护作用及机制研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(12):1492-1497.
- [65] ZENG C, JIANG W, YANG X Y, et al. Pretreatment with total flavonoid extract from *dracocephalum moldavica* l. attenuates ischemia reperfusion-induced apoptosis [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):17491.
- [66] QING R, LIN J, LI C, et al. Study of the protective mechanisms of Compound Danshen Tablet (Fufang Danshen Pian) against myocardial ischemia/reperfusion injury via the Akt-eNOS signaling pathway in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 156:190-198.
- [67] 李菊香, 万磊, 夏子荣, 等. 通心络胶囊对大鼠急性缺血再灌注损伤心肌的保护作用及信号转导 [J]. *中成药*, 2010, 32(4):562-565.
- [68] 石月萍, 杨关林. 栝楼薤白半夏汤预处理保护缺血再灌注大鼠心肌 PI3K/Akt 通路机制 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2016, 22(7):906-908.
- [69] 肖燕, 丁亮, 顾一煌. 针灸对心肌缺血再灌注损伤细胞凋亡信号转导通路影响的研究进展 [J]. *针刺研究*, 2017, 42(5):463-466.
- [70] JI C C, SONG F, HUANG G Y, et al. The protective effects of acupoint gel embedding on rats with myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Life Sci*, 2018, 211:51-62.
- [71] 望庐山, 梁凤霞, 李佳, 等. 标本配穴电针干预对慢性心肌缺血模型大鼠凋亡相关蛋白表达与线粒体超微结构的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(3):1160-1165.
- [72] ZHANG H R, BAI H, YANG E, et al. Effect of moxibustion preconditioning on autophagy-related proteins in rats with myocardial ischemia reperfusion injury [J], *Ann Transl Med*, 2019, 7(20):559.

[责任编辑 周冰冰]