

· 基础研究 ·

基于自噬探讨丹萎片减轻心肌缺血再灌注损伤的机制研究

杨海龙¹ 刘春萍^{2,3} 刘建滔¹ 王 磊^{2,3}

摘要 目的 观察丹萎片对心肌缺血再灌注损伤的保护作用,并探讨其具体作用机制。方法 40 只 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠,随机分为 4 组:假手术组、模型组、丹萎片组、3-甲基腺嘌呤(3MA)组,每组 10 只。丹萎片组给予丹萎片超微粉混悬液 3 g/(kg·d)连续灌胃 5 天,假手术组和模型组给予同体积生理盐水连续灌胃 5 天,3MA 组分别于第 1 天及造模前 15 min 给予 3MA 15 mg/kg 腹腔注射。治疗 5 天后采用结扎左冠状动脉前降支的方法制备小鼠心肌缺血再灌注模型,假手术组仅缝线下穿不结扎。心脏超声评价心功能,TUNEL 染色法评价心肌凋亡水平,TTC 染色法评价心肌灌注水平,免疫印迹法检测自噬相关蛋白 LC3B、BNIP3 表达。结果 与假手术组比较,模型组小鼠左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)下降($P<0.01$),心梗面积比、心肌细胞凋亡率以及心肌 LC3B、BNIP3 蛋白表达升高($P<0.01$)。与模型组比较,丹萎片组和 3MA 组 LVEF、LVFS 升高($P<0.05$),心梗面积比以及心肌 LC3B、BNIP3 蛋白表达下降($P<0.05$, $P<0.01$),丹萎片组心肌细胞凋亡率下降($P<0.05$)。结论 丹萎片能够减少缺血再灌注后心肌坏死面积,提高心功能,从而保护缺血心肌,其机制可能与调节心肌细胞自噬及减少细胞凋亡有关。

关键词 缺血再灌注损伤;丹萎片;自噬;心肌细胞

Study on the Mechanism of Danlou Tablet Alleviates Myocardial Ischemia Reperfusion Injury via Regulation of Autophagy YANG Hai-long¹, LIU Chun-ping^{2,3}, LIU Jian-tao¹, and WANG Lei^{2,3}

1 The Second Clinical Medical School, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou(510120); 2 State Key Laboratory of Dampness Syndrome of Chinese Medicine, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou(510006); 3 Department of Cardiovascular Medicine, The Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou(510120)

ABSTRACT Objective To investigate the effect of Danlou Tablet on myocardia in mice with ischemia reperfusion injury (IRI) and underlying mechanism. **Methods** Totally 40 male C57BL/6J mice of 8 weeks old were randomly divided into 4 groups: sham group, vehicle group, Danlou Tablet group and 3-methyladenine(3MA) group, 10 in each group. Mice in Danlou Tablet group were gavaged with suspension of Danlou Tablet ultrafine powder 3 g·kg⁻¹·d⁻¹ for 5 consecutive days. Meanwhile, sham group and vehicle group were given the equal volume of normal saline. In 3MA group, mice were treated with 3MA solution (15 mg/kg) via intraperitoneal injection on the first day and 15 minutes before the modeling. The mice model of myocardial IRI was induced by left coronary artery ligation after 5 days of treatment. Sham group underwent the same procedure without ligation of the left coronary artery. Cardiac function was evaluated by echocardiography system. The myocardial apoptosis was investigated by TUNEL staining. TTC staining was used to detect myocardial infarct size. The protein expression of LC3B and BNIP3 were analyzed by immunoblot assay. **Results** Compared with sham group, the left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fraction shortening (LVFS) decreased in vehicle group ($P<0.01$), the proportion of positive

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81573708);广东省自然科学基金资助项目(No.2015A030306049)

作者单位:1. 广州中医药大学第二临床医学院(广州 510120); 2. 省部共建中医证国家重点实验室,广州中医药大学第二附属医院(广州 510006); 3. 广州中医药大学第二附属医院心脏中心(广州 510120)

通讯作者:王 磊, Tel: 020-39318491, E-mail: Dr.wanglei@gzucm.edu.cn

DOI: 10.7661/j. cjm. 20191217. 091

nucleus, myocardial infarct size and the expression of LC3B and BNIP3 protein increased ($P < 0.05$). Compared with vehicle group, the LVEF and LVFS in Danlou Tablet and 3MA group increased ($P < 0.05$), myocardial infarct size and the expression of LC3B and BNIP3 protein in Danlou Tablet group and 3MA group decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the proportion of positive nucleus in Danlou Tablet group was reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** Danlou Tablet could alleviate myocardial infarction area and improve cardiac function for the mice with IRI via regulation of autophagy and reducing cardiomyocytes apoptosis, thereby protecting ischemic myocardium.

KEYWORDS ischemia reperfusion injury; Danlou Tablet; autophagy; cardiomyocyte

再灌注治疗是急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 治疗的里程碑,但部分 AMI 患者接受经皮冠状动脉介入治疗 (percutaneous coronary intervention, PCI) 后,梗死靶病变血管 (infarcted related artery, IRA) 开通,血流恢复后心肌损伤反而加重,发生心肌缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI)^[1]。IRI 涉及多种病理机制,包括能量代谢、氧化应激、自噬、内质网应激、炎症因子、黏附因子、坏死、凋亡等^[2]。细胞自噬是真核生物细胞中普遍存在的一种生理过程,在机体正常生长、发育及应对外界不良刺激中不可或缺,也在疾病的发生、发展中发挥重要作用。研究显示,自噬是 IRI 的重要调控机制,在 IRI 过程中迅速上调,是心肌缺血和再灌注的显著特征^[3]。

丹萎片是根据国医大师雷忠义教授学术经验拟方而成,是治疗 AMI 痰瘀互结证的代表药物^[4]。临床研究表明,丹萎片能够抑制 AMI 再灌注治疗后心室重构,改善心功能,降低心脏不良事件的发生率,然而其作用机制不明^[5]。本研究采用小鼠心肌 IRI 模型,观察丹萎片对 IRI 后心功能的影响,并观察其对心肌细胞凋亡和自噬的调节作用,以期阐释其具体作用机制。

材料与方法

1 动物 40 只雄性 C57BL/6J 小鼠,8 周龄 SPF 级,体重 (25 ± 2) g,由广东省医学实验动物中心提供,合格证号:44007200059607,许可证号:SCXK (粤)2018-0002,本实验通过广东省中医院实验动物伦理委员会批准 (No. 2016027)。

2 药物 丹萎片生药超微粉颗粒 (组成:栝蒌皮、薤白、葛根、川芎、丹参、赤芍、泽泻、黄芪、骨碎补、郁金),吉林康乃尔药业有限公司提供 (批号:20180501); 3-甲基腺嘌呤 (3-Methyladenine, 3MA),美国 Sigma-Aldrich 公司 (批号:M9281)。

3 主要试剂及仪器 2,3,5-氯化三苯基四氮唑 (2,3,5-Triphenyltetrazoliumchloride, TTC),美国 Sigma-Aldrich 公司,批号 T8877; TUNEL 原位细胞

凋亡检测试剂盒,生工生物工程 (上海) 股份有限公司,批号 E607175; Pierce BCA 蛋白定量试剂盒,美国 Thermo Fisher Scientific 公司,批号 23227。Olympus SZ61 变焦体视显微镜, Olympus CX31 正置显微镜,日本奥林巴斯株式会社; PowerLab 数据采集分析系统,澳大利亚 AD instruments 公司; 迈瑞 DP-50 全数字便携式超声诊断系统,深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; Kent RoVent 小动物呼吸机,美国 Kent Scientific 公司; Panoramic SCAN 全自动数字切片扫描系统,匈牙利 3DHISTECH 公司。

4 造模及干预方法 所有小鼠饲养于 SPF 环境中,适应性喂养 7 天后开始给药。按体重随机分为 4 组,为假手术组、模型组、丹萎片组和 3MA 组,每组 10 只。参照文献报道^[6],丹萎片组用丹萎片超微粉混悬液按 $3 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 连续灌胃 5 天,相当于成人等效剂量的 7.5 倍; 3MA 组按 15 mg/kg 腹腔注射 3MA 水溶液,在第 1 天和造模前 15 min 两次注射^[7]; 假手术组和模型组分别予同体积生理盐水灌胃,每天 1 次,连续灌胃给药 5 天。

所有小鼠于灌胃第 4 天晚上始禁食,不禁水,第 5 天上午 9 点称体重,分批在灌胃后 1 h 用 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉,用脱毛膏完全去除小鼠胸部及腋下被毛,用碘酒和 75% 乙醇术区消毒。将气管插管沿声门插入气管,然后气管插管连接呼吸机,呼吸机频率与胸廓起伏一致表示插管成功。小鼠仰卧位,用眼科剪剪开左胸皮肤并分离肌肉,于三、四肋间打开胸腔充分暴露心脏,显微弯镊夹起心包并于左心耳下撕开少许心包,暴露左冠状动脉前降支 (left anterior descending coronary artery, LAD) 所在区域。于体式显微镜下找到 LAD 或可能所在位置,持针器持取 8-0 带针缝合线,于左心耳下方 2 mm 处进针,深度约 0.5 mm,宽度约 1 mm,缝线下穿 LAD 并结扎以完全阻断 LAD 血流。结扎 30 min,松开结线,6-0 缝线完全缝合胸腔开口,关闭胸腔,制备心肌 IRI 模型; 假手术组用缝线下穿 LAD 不结扎。造模成功的

标准^[8]:缺血时局部心肌组织苍白或发绀,心电图 ST 段抬高或 T 波高耸;再灌注时缺血区心肌组织转红,ST 段回落 50% 以上。24 h 后进行指标检测。

5 检测指标及方法

5.1 心脏超声检查心功能 参照参考文献[9, 10],每组随机取 4 只小鼠于再灌注后 24 h 进行心脏超声。使用 2% 异氟烷/氧气吸入麻醉小鼠固定于 37 °C 恒温板上,胸部均匀涂抹超声耦合剂,用迈瑞 DP-50 超声系统(探头频率为 30 MHz,探测深度为 10~15 mm)进行探测,探头置于小鼠左胸前,应用 2D 模式显示左心室短轴切面,然后在乳头肌水平应用 M 型超声记录左室运动情况。测量左室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左室收缩末期内径(left ventricular end systolic diameter, LVESD)、左室舒张末期容积(left ventricular end diastolic volume, LVEDV)和左室收缩末期容积(left ventricular end systolic volume, LVESV),每只小鼠测量连续 10 个心动周期,并计算左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)及左室短轴缩短率(left ventricular fraction shortening, LVFS), $LVEF = [(LVEDV - LVESV) / LVEDV] \times 100\%$, $LVFS = [(LVEDD - LVESD) / LVEDD] \times 100\%$ 。

5.2 TTC 染色评价心肌灌注水平 复灌 24 h 后每组随机选取 3 只小鼠取完整心脏,4 °C PBS 冲洗干净并挤出残留血液。迅速放入 -20 °C 冰箱冷冻 30 min 至心脏变硬,取出后用病理切片刀沿心脏短轴方向切成 1 mm 厚切片,共 5 片。在避光条件下用 pH 为 7.4 的 PBS 配置 2% TTC 溶液,在 6 孔板的单孔放入一个心脏的切片并加入 2 mL 2% TTC 溶液,用 50 mL 离心管盖覆盖保证心脏切片完全展开并浸泡在 TTC 溶液中。在 37 °C 恒温孵箱避光孵育 30 min,期间每 10 min 摇动 1 次。TTC 染色后梗死区为白色,未梗死区为砖红色,拍照记录,用 Image pro plus 6.0 软件分析并计算。心梗面积比=梗死区面积/左心室总面积 $\times 100\%$ 。

5.3 TUNEL 染色评价心肌凋亡水平 每组随机选取 3 只小鼠取心脏,沿心脏短轴切开,经过常规固定、脱水、包埋、切片后制成 8 μm 的石蜡切片。经过二甲苯、梯度乙醇、蒸馏水脱蜡,按照说明书指示先后滴加生物素标记液及 3,3'-二氨基联苯胺四氯化碳(DAB)显色液并用磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗涤。最后使用 3DHISTECH Panoramic SCAN 系统扫描切片,每张切片随机选取 5 个非重叠的 400 倍视野用 Image J 软件统计视野内凋亡细胞核及细胞核总数,心肌细胞凋亡

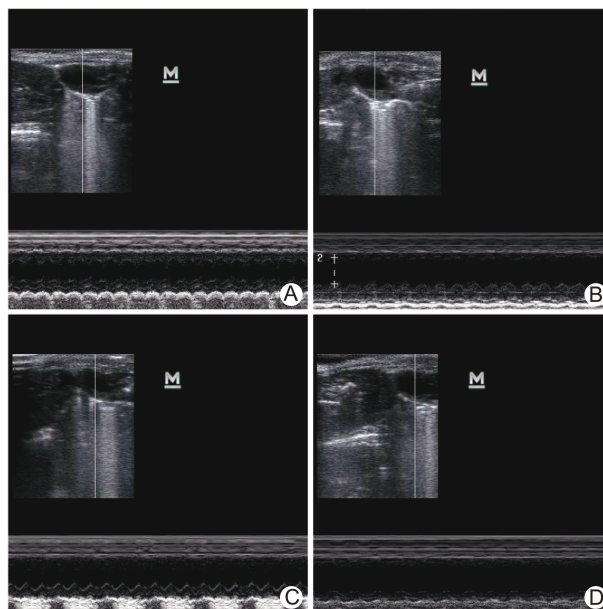
率=凋亡细胞核数/细胞核总数 $\times 100\%$ 。

5.4 免疫印迹实验检测蛋白表达 复灌 24 h 后每组随机选取 3 只小鼠取心肌梗死区边缘组织,4 °C PBS 冲洗干净残留血液。然后经过组织匀浆提取胞质蛋白,以 2 mg/mL 牛血清白蛋白(BSA)为对照,BCA 法测定蛋白浓度。常规配置 10% 或 15% 分离胶的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶,经 100 V 恒压电泳及 300 mA 恒流湿法转膜,常规封闭,孵育一抗、二抗、洗涤,最后通过化学发光成像,在暗房内医用 X 光胶片显影、定影,用 Image J 软件统计 X 光胶片的灰度值。

6 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠心功能比较(图 1,表 1) 与假手术组比较,模型组小鼠 LVEF 及 LVFS 下降($P < 0.01$)。与模型组比较,丹萎片组和 3MA 组 LVEF 及 LVFS 升高($P < 0.05$)。



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为丹萎片组;D 为 3MA 组

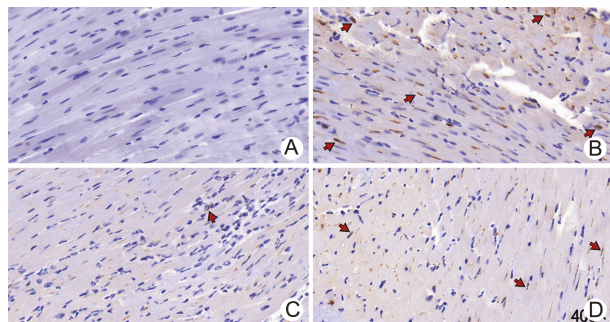
图 1 IRI 后各组小鼠左心室 M 型超声图像

2 各组小鼠心脏心肌灌注及凋亡水平比较(图 2,表 2) 与假手术组比较,模型组小鼠心梗面积比和心肌细胞凋亡率升高($P < 0.01$)。与模型组比较,丹萎片组心梗面积比及心肌细胞凋亡率下降($P < 0.05$),3MA 组心梗面积比下降($P < 0.01$)。

表 1 各组小鼠心脏超声 LVEF、LVFS 比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEF	LVFS
假手术	4	59.20 $\pm$ 3.79	25.90 $\pm$ 2.24
模型	4	40.80 $\pm$ 5.72*	16.10 $\pm$ 2.66*
丹菱片	4	53.27 $\pm$ 8.77 Δ	22.65 $\pm$ 5.20 Δ
3MA	4	52.60 $\pm$ 8.25 Δ	22.22 $\pm$ 4.43 Δ

注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为丹菱片组;D 为 3MA 组;箭头所指为心肌凋亡细胞

图 2 各组小鼠心肌凋亡细胞 (TUNEL 染色,400 $\times$)表 2 各组小鼠心肌灌注及凋亡水平比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	心梗面积比	细胞凋亡率
假手术	3	0.00 $\pm$ 0.00	0.08 $\pm$ 0.14
模型	3	27.35 $\pm$ 4.12*	14.90 $\pm$ 1.82*
丹菱片	3	16.40 $\pm$ 6.29 Δ	10.02 $\pm$ 0.96 Δ
3MA	3	11.65 $\pm$ 2.66 $\Delta\Delta$	14.31 $\pm$ 3.60

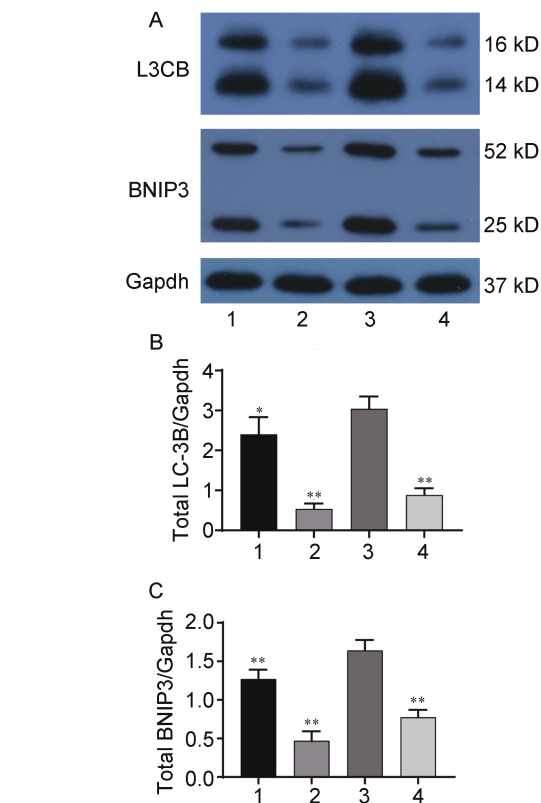
注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

3 各组小鼠心肌 LC3B 和 BNIP3 蛋白表达的影响(图 3) 与假手术组比较,模型组小鼠心肌 LC3B 和 BNIP3 蛋白表达升高($P<0.01$)。与模型组比较,丹菱片组和 3MA 组心肌 LC3B 和 BNIP3 蛋白下调($P<0.05$, $P<0.01$)。

讨 论

IRI 是目前 AMI 治疗领域的一项难题,也是心肌再灌注后“无复流”发生的重要原因,AMI 患者发生无复流则出现恶性心律失常和心力衰竭概率更高,远期病死率将显著增加^[8]。因此,研究 IRI 病理机制,寻找有效的干预方法,成为心肌梗死防治领域迫切需要解决的问题。

急性心肌缺血时,心脉骤然闭塞导致心体受损,心气亏虚^[12],水液代谢失调,津停为痰,血停为瘀,多种病理代谢产物不能及时排出体外,痰浊、瘀血积聚心脉,而在再灌注阶段,痰瘀痹阻进一步闭塞心之络脉^[13],最终导致再灌注损伤的发生^[14]。笔者前期研究也显示痰瘀互结型的 AMI 患者 PCI 术中更易发生 IRI



注:1 为丹菱片组;2 为假手术组;3 为模型组;4 为 3MA 组;A 为各组小鼠造模 24 h 后心肌 LC3B、BNIP3 蛋白表达;B 为各组小鼠心肌 LC3B 表达;C 为各组小鼠心肌 BNIP3 表达;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

图 3 各组小鼠心肌自噬蛋白表达情况

和围手术期心肌梗死^[15]。因此,笔者认为痰瘀同治可以成为 IRI 的主要防治方法。

丹菱片作为冠心病痰瘀同治的代表药物,具有宽胸通阳、化痰散结、活血化瘀的功效^[5]。前期研究显示,丹菱片给药 3 天可以减少 IRI 后小鼠心脏梗死面积^[6]。本研究显示,模型组小鼠与假手术组相比,心肌细胞凋亡增加,左心收缩功能降低,说明 IRI 造模成功。而丹菱片可以缩小心肌梗死面积($P<0.05$),减少心肌细胞凋亡率,改善心脏左室收缩功能($P<0.05$),从而减轻小鼠心肌 IRI。

应激状态下自噬启动,自噬体包裹需要降解的蛋白质、细胞器,并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其中内容物,实现细胞的物质代谢和细胞器更新^[15]。心肌缺血时,由于能量代谢障碍诱导 AMP 依赖的蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)活化,从而抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(the mammalian target of rapamycin, mTOR),mTOR 对自噬的抑制解除,自噬上调^[17];再灌注时期,AMPK 信号降低,beclin-1 依赖的

自噬持续增强^[18],最终可以导致细胞的自噬性死亡。在本研究中,笔者参照 Huang Z 等^[7]的研究使用自噬抑制剂 3-MA 作为阳性对照,通过对比模型组、丹萎片组和 3MA 组结果发现,丹萎片和 3MA 均可抑制自噬,同时改善心功能并减少心肌细胞凋亡;证明丹萎片通过抑制过度自噬在心肌 IRI 模型中起心脏保护作用。

LC3 是典型的自噬标志物,包括三种同工型(LC3A、LC3B 和 LC3C)。LC3B 分为 1 型和 2 型,1 型存在于细胞质中,游离的 1 型经过泛素化修饰转变 2 型为然后定位于自噬体膜上,数量与自噬体数量成正比^[19]。BNIP3 蛋白是线粒体自噬一个标记物,在心肌低氧条件刺激下,低氧诱导因子 1 可以启动 BNIP3 促使心肌线粒体自噬发生,促进受损线粒体的降解,通过观察 BNIP3 可以判断心肌线粒体自噬的水平。本研究表明在再灌注阶段,模型组小鼠的心肌 LC3B 蛋白和 BNIP3 蛋白表达明显升高($P < 0.01$),提示在 IRI 过程中,心肌细胞自噬现象异常上调,加重了心肌细胞凋亡的发生;而丹萎片组和 3MA 组的 LC3B 和 BNIP3 蛋白均有下调,且心肌细胞凋亡率下降,提示丹萎片通过抑制过度自噬,抑制心肌细胞凋亡,从而发挥抗 IRI 作用。

吴学芹等^[20]对丹萎片指纹图谱进行研究,鉴定出 15 个色谱峰,其中单体成分丹参素、葛根素、丹酚酸 B、丹参酮 IIA 均可参与自噬过程的调控。Fan G 等^[21]发现丹参素可以激活哺乳动物 mTOR 而抑制自噬。Tang H 等^[22]发现葛根素可以促进蛋白激酶 B(PKB)磷酸化并激活 PKB,进而抑制自噬。Li D 等^[23]发现丹酚酸 B 可以通过 miR-30a 来调节自噬。Pan Y 等^[24]发现丹参酮 IIA 可以减少心肌凋亡并调节自噬。作为复方中药,丹萎片调节细胞自噬的信号通路和分子机制值得进一步深入探讨。

综上所述,丹萎片可以有效减轻心肌 IRI,减少心肌梗面积和心肌细胞的凋亡,其发挥心脏保护作用可能与抑制 IRI 后的自噬有关。

利益冲突:全体作者宣称无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury[J]. N Engl J Med, 2007, 357(11): 1121-1135.
- [2] Han JY, Li Q, Ma ZZ, et al. Effects and mechanisms of compound Chinese medicine and major ingredients on microcirculatory dysfunction and organ injury induced by ischemia/reperfusion[J]. Pharmacol Ther, 2017, 177: 146-173.
- [3] Gustafsson AB, Gottlieb RA. Eat your heart out: role of autophagy in myocardial ischemia/reperfusion[J]. Autophagy, 2008, 4(4): 416-421.
- [4] 中国医师协会中西医结合医师分会, 中国中西医结合学会心血管病专业委员会, 中国中西医结合学会重症医学专业委员会, 等. 急性心肌梗死中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(4): 389-395.
- [5] Mao S, Wang L, Ouyang W, et al. Traditional Chinese medicine, Danlou tablets alleviate adverse left ventricular remodeling after myocardial infarction: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, pilot study[J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16(1): 447.
- [6] QI JY, WANG L, GU DS, et al. Protective effects of Danlou Tablet against murine myocardial ischemia and reperfusion injury *in vivo*[J]. Chin J Integr Med, 2018, 24(8): 613-620.
- [7] Huang Z, Han Z, Ye B, et al. Berberine alleviates cardiac ischemia/reperfusion injury by inhibiting excessive autophagy in cardiomyocytes[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 762: 1-10.
- [8] Mersmann J, Koch A, Tran N, et al. Toll-like receptor 2 signaling triggers fatal arrhythmias upon myocardial ischemia-reperfusion[J]. Crit Care Med, 2010, 38(10): 1927-1932.
- [9] He B, Zhao Y, Xu L, et al. The nuclear melatonin receptor ROR α is a novel endogenous defender against myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. J Pineal Res, 2016, 60(3): 313-326.
- [10] Mao S, Wang L, Chen P, et al. Nanoparticle-mediated delivery of Tanshinone IIA reduces adverse cardiac remodeling following myocardial infarctions in a mice model: role of NF- κ B pathway[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2018, 46(sup3): S707-S716.
- [11] Reffelmann T, Hale SL, Dow JS, et al. No-reflow phenomenon persists long-term after ischemia/reperfusion in the rat and predicts infarct expansion[J]. Circulation, 2003, 108(23): 2911-2917.
- [12] 刘寨华, 张华敏, 唐丹丽, 等. 从“阳虚痰瘀”探讨中医对心肌缺血再灌注无复流的认识[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(2): 166-167.
- [13] 李辉, 朱天民. 心肌缺血再灌注损伤中医病因病机浅识[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(2): 434-435.
- [14] 谢连娣, 刘洋, 周琨, 等. 心肌缺血再灌注损伤的中医病机浅识[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(9): 3139-3141.

- [15] Wang L, Zhao X, Mao S, et al. Efficacy of Danlou tablet in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention: results from a multicentre, placebo-controlled, randomized trial[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2016, 2016: 7960503.
- [16] Yang Z, Klionsky DJ. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation [J]. Curr Opin Cell Biol, 2010, 22(2): 124-131.
- [17] Matsui Y, Takagi H, Qu X, et al. Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion: roles of AMP-activated protein kinase and beclin 1 in mediating autophagy [J]. Circ Res, 2007, 100(6): 914-922.
- [18] Ma H, Guo R, Yu L, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) rescues myocardial ischaemia/reperfusion injury: role of autophagy paradox and toxic aldehyde [J]. Eur Heart J, 2010, 32(8): 1025-1038.
- [19] Mizushima N. Methods for monitoring autophagy[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(12): 2491-2502.
- [20] 吴学芹, 董娟, 付爱珍, 等. 丹萎片 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(3): 319-322.
- [21] Fan G, Yu J, Asare PF, et al. Danshensu alleviates cardiac ischaemia/reperfusion injury by inhibiting autophagy and apoptosis via activation of mTOR signalling [J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(10): 1908-1919.
- [22] Tang H, Song X, Ling Y, et al. Puerarin attenuates myocardial hypoxia/reoxygenation injury by inhibiting autophagy via the Akt signaling pathway [J]. Mol Med Rep, 2017, 15(6): 3747-3754.
- [23] Li D, Wang J, Hou J, et al. Salvianolic acid B induced upregulation of miR-30a protects cardiac myocytes from ischemia/reperfusion injury [J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16(1): 336.
- [24] Pan Y, Qian JX, Lu SQ, et al. Protective effects of tanshinone IIA sodium sulfonate on ischemia-reperfusion-induced myocardial injury in rats [J]. Iran J Basic Med Sci, 2017, 20(3): 308-315.
- (收稿: 2019-07-31 在线: 2020-02-05)
责任编辑: 邱 禹

《中国中西医结合杂志》第 16 次荣获“百种中国杰出学术期刊”

2019 年 11 月 19 日, 中国科技论文 2018 年统计结果在京发布。《中国中西医结合杂志》被收录为“中国科技核心期刊”并再次荣获“百种中国杰出学术期刊”。

中国科学技术信息研究所每年出版《中国科技期刊引证报告》发布中国科技论文与引文数据库收录的中国科技论文核心期刊的二十余项文献计量指标, 从 1999 年开始以此为基础, 研制了中国科技期刊综合评价指标体系, 对期刊进行综合评定。2018 年引证报告中, 《中国中西医结合杂志》在中西医结合期刊中总评分排名第 1, 与去年一致; 影响因素排名第 1, 较去年提升 1 名; 总被引频次排名第 2, 与去年一致。2002 年开始, 中国科学技术信息研究所每年评选一次百种中国杰出学术期刊。此次是《中国中西医结合杂志》自 2002 年首次评选以来, 第 16 次入选, 充分彰显我刊的学术影响力。

杂志的发展离不开广大作者、读者以及专家的大力支持, 在此表示由衷的感谢。杂志也愿与广大科研工作者一起努力, 共同促进中西医结合事业发展。