

基于转录组测序探讨宝心艾维西木口服液对斑马鱼心力衰竭的影响

霍仕霞^{1,2,3}, 铁晓璐³, 张 云⁴, 李治建^{2,3}, 尹海龙¹, 董雨薇¹, 赵 军^{5,6*}, 尹 强^{1*}
[1. 新疆维吾尔药业有限责任公司, 新疆 乌鲁木齐 830001; 2. 新疆维吾尔自治区维吾尔医医院 (新疆维吾尔自治区第二人民医院) 药学部, 新疆 乌鲁木齐 830049; 3. 新疆中药医院制剂循证与转化重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830049; 4. 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250103; 5. 新疆医科大学公共卫生学院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 6. 新疆维吾尔自治区药物研究院, 新疆 乌鲁木齐 830049]

摘要: **目的** 探讨宝心艾维西木口服液对斑马鱼心力衰竭的作用及机制。**方法** 以 AB 野生型及 Tg (cm1c2; EGFP) 斑马鱼为研究对象, 设置空白组、模型组、地高辛组、宝心艾维西木口服液组。采用盐酸维拉帕米建立斑马鱼心力衰竭模型, 选取相应尾数置于显微镜下拍照并进一步分析斑马鱼心包面积、静脉淤血面积、静脉窦-动脉球 (SV-BA) 距离、心率、短轴缩短率 (FS)、射血分数 (LVEF)、血流速度变化; 观察心肌细胞凋亡、心脏组织形态变化; 通过转录组测序预测宝心艾维西木口服液抗心力衰竭活性的相关信号通路, 并利用 RT-qPCR 法检测信号通路相关基因的表达。**结果** 与模型组比较, 宝心艾维西木口服液中、高剂量组斑马鱼心包面积、静脉淤血面积、SV-BA 距离、心肌细胞凋亡数均降低 ($P<0.01$); 心率、FS、LVEF、血流速度均升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 心脏壁厚度有不同程度的改善。通过 KEGG、GO 富集分析发现, 差异基因富集在 Apelin 信号通路、G 蛋白偶联受体结合生物过程, 且宝心艾维西木口服液可调控该通路基因的异常表达。**结论** 宝心艾维西木口服液对维拉帕米致斑马鱼心力衰竭具有一定的改善作用, 该作用与其抑制心肌细胞凋亡、调节 Apelin 信号通路及 G 蛋白偶联受体结合生物过程相关。**关键词:** 宝心艾维西木口服液; 心力衰竭; 斑马鱼; 转录组测序; Apelin 信号通路; G 蛋白偶联受体结合; 细胞凋亡
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)08-2753-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.044

心力衰竭是各种心血管疾病的终末表现, 其特征是由左心室 (或全身) 功能障碍引起的疲劳和呼吸困难, 通常伴有充血迹象^[1]。心力衰竭发病率随着人口老龄化程度的上升而增加^[2-3]。常规药物治疗包括血管紧张素转化酶抑制剂、 β 受体阻滞剂、利尿药、皮质类固醇受体拮抗剂、钠-葡萄糖共转运蛋白 II 抑制剂等^[4]。然而, 长期使用这些化学药物可能会导致严重的副作用, 如电解质耗竭、液体耗竭、低血压等^[5]。

中医药具有多成分、多途径、多靶点等优势, 在改善心力衰竭患者临床症状、提高生活质量、增加活动耐量等方面具有一定优势^[6]。宝心艾维西木口服液是新疆维吾尔自治区维吾尔医医院的院内制剂, 临床上长期用于治疗心血管疾病, 临床疗效显著, 但目前尚未有研究报道其在心力衰竭防治中的作用。

斑马鱼模型在心力衰竭药效学研究中被广泛应用^[7-9]。

维拉帕米致斑马鱼心力衰竭模型是快速筛选和评估心力衰竭治疗药物在体内疗效的工具^[10]。因此, 本研究通过盐酸维拉帕米诱导建立斑马鱼心力衰竭模型, 评价宝心艾维西木口服液对心力衰竭斑马鱼心脏的影响, 并探讨其作用机制, 旨在为临床治疗心力衰竭提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

野生型 AB 品系斑马鱼和心脏绿色荧光的 Tg (cm1c2; EGFP) 斑马鱼, 由山东省斑马鱼人类疾病模型与药物筛选工程技术研究中心提供, 并饲养于该单位 (温度 28 ℃, 黑暗/光照 10 h/14 h)。在实验前一天的 15:30 时取健康性成熟的雌雄斑马鱼, 将雌雄以 1:1 或者 1:2 的比例放入产卵缸, 隔板分开。次日 8:30 时抽板, 11:00 时收集受精卵。将收集好的胚胎放到 (28±1)℃ 恒温培养箱中控光培养, 备用。实验方案符合动物福利伦理要求, 由山东省科学院生物研究所实验动物福利伦理委员

收稿日期: 2024-08-12
基金项目: 天山创新团队项目 (2024D14018); 2023 年新疆维吾尔自治区青年岐黄学者项目 (霍仕霞)
作者简介: 霍仕霞 (1983—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为中药民族药物物质基础及新药研发。Tel: 13565889322, E-mail: huoshixia1983@163.com
*** 通信作者:** 赵 军 (1973—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为中药天然药物研究与开发。Tel: 18099186115, E-mail: zhaojun21cn@163.com
尹 强 (1983—), 男, 博士, 正高级工程师, 研究方向为民族药新药开发。Tel: 15327300050, E-mail: yinqiang@renfu.com.cn

会批准（批准号 SWS20230710）。

1.2 药物与试剂 宝心艾维西木口服液（批号 20220509），由新疆维吾尔自治区维吾尔医医院提供；盐酸维拉帕米（纯度 $\geq 99\%$ ，批号 D23231227）、地高辛（批号 G2318838），购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。吖啶橙（AO）染料（批号 A18HS186460），购自上海源叶生物科技有限公司；通用型组织固定液（批号 G1101）、苏木素-伊红（HE）染液（批号 G1076），购自武汉赛维尔生物科技有限公司；实验用水为斑马鱼胚胎培养用水（ 5.0 mmol/L NaCl ， 0.17 mmol/L KCl ， 0.4 mmol/L CaCl_2 ， $0.16\text{ mmol/L MgSO}_4$ ）。

1.3 仪器 SZX16 型荧光显微镜、DP2-BSW 型图像采集系统（日本奥林巴斯公司）；AXIO Zoom V16 体视显微镜（德国蔡司公司）；斑马鱼养殖饲养设备（北京爱生科技发展有限公司）；高速离心机、梯度 PCR 仪（美国赛默飞世尔科技公司）；脱水机（意大利迪佩斯公司）；包埋机（武汉俊杰电子有限公司）；病理切片机（上海徕卡仪器有限公司）；组织摊片机（浙江省金华市科迪仪器设备有限公司）；正置光学显微镜（日本尼康公司）；荧光定量 PCR 仪（瑞士 Roche 公司）。

2 方法

2.1 药物溶液配制 根据斑马鱼与人用剂量^[11]换算得斑马鱼给药剂量为 $3.33\text{ }\mu\text{L/mL}$ ，本实验设置低、中、高剂量为 3、6、 $9\text{ }\mu\text{L/mL}$ ，将宝心艾维西木口服液用斑马鱼胚胎培养用水稀释成相应给药剂量。盐酸维拉帕米用斑马鱼胚胎培养用水配制成 80 mmol/L 盐酸维拉帕米母液，吸取 $5\text{ }\mu\text{L}$ 母液于 2 mL 斑马鱼胚胎培养用水中即得 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ 盐酸维拉帕米，现配现用。地高辛用二甲基亚砷配制成 10 mg/mL 母液，吸取 $2\text{ }\mu\text{L}$ 于 2 mL 斑马鱼胚胎培养用水中即得 $12.8\text{ }\mu\text{mol/L}$ 地高辛。

2.2 分组、造模及给药 在显微镜下挑选发育正常的受精后 2 d 的斑马鱼，设置空白组、模型组、地高辛组和宝心艾维西木口服液低、中、高剂量组。地高辛组加入 $12.8\text{ }\mu\text{mol/L}$ 地高辛，宝心艾维西木口服液低、中、高剂量组加入 3、6、 $9\text{ }\mu\text{L/mL}$ 宝心艾维西木口服液，于 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养箱预培养 4.5 h 后弃去预保护药物，并用斑马鱼胚胎培养用水洗涤 2~3 次。随后除空白组外，其余各组加入 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ 盐酸维拉帕米处理 30 min。空白组不做处理。

2.3 指标检测

2.3.1 心脏形态、SV-BA 距离检测 取受精 2 d 的斑马鱼放入 24 孔板中，每孔 10 尾，按“2.2”项下方法分组处理后，用 0.3% 三卡因麻醉 1 min，于显微镜下观察斑马鱼心脏形态并拍照，使用 Image J 软件测量各组斑马鱼静脉淤血面积、心包面积、SV-BA 距离。

2.3.2 心功能检测 取受精 2 d 的斑马鱼放入 24 孔板中，每孔 10 尾，按“2.2”项下方法分组处理后，用 0.3% 三卡因麻醉 1 min，于倒置荧光显微镜下观察斑马鱼心脏形态并拍照，记录心率，使用 Image J 软件测量各组斑马鱼心脏短

轴、长轴距离，并计算其短轴缩短率（FS）、射血分数（LVEF）。 $\text{FS} = (\text{舒张末期宽度} - \text{收缩末期宽度}) / \text{舒张末期宽度} \times 100\%$ ； $\text{LVEF} = \text{每搏输出量} / \text{心室舒张末期体积} \times 100\%$ ，其中每搏输出量 = 舒张末期体积 - 收缩末期体积。

2.3.3 心肌细胞凋亡情况检测 取受精 2 d 的斑马鱼放入 6 孔板中，每孔 10 尾，按“2.2”项下方法分组处理后，用斑马鱼胚胎培养用水清洗 3 次，每孔加入 2 mL AO 染液（ $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ ），放置培养箱中孵育 30 min，用斑马鱼胚胎培养用水清洗 3 次，加入 0.3% 三卡因麻醉 1 min，于荧光显微镜下观察并拍照。

2.3.4 血流速度检测 取受精 2 d 的斑马鱼放入 24 孔板中，每孔 10 尾，按“2.2”项下方法分组处理后，使用显微镜及 Blood Flow v5.18.0.0 软件记录斑马鱼血流，后利用 MicroZebraLab Blood Flow v3.4.6 软件分析血流速度。

2.3.5 心脏组织病理学观察 取受精 2 d 的斑马鱼放入 24 孔板中，每孔 10 尾，按“2.2”项下方法分组处理后，用斑马鱼胚胎培养用水洗涤 2~3 次，加入 0.3% 三卡因中麻醉 1 min，再用 4% 多聚甲醛固定 24 h 以上，将斑马鱼于脱水机内依次梯度乙醇进行脱水，石蜡包埋后切片（ $4\text{ }\mu\text{m}$ ），石蜡切片脱蜡至水，纯净水冲洗后进行 HE 染色，切片依次放入无水乙醇、正丁醇和二甲苯中脱水至透明，并采用中性树胶封片，于显微镜下观察并拍照。

2.4 转录组学分析 取受精 2 d 的斑马鱼放入 6 孔板中，每孔 30 尾，按“2.2”项下方法分组处理后，收集空白组、模型组、宝心艾维西木口服液高剂量组斑马鱼于 1.5 mL 无酶灭菌 EP 管中。先用斑马鱼胚胎培养用水洗涤 2~3 次，再用 $1\times$ 磷酸缓冲盐（PBS）洗涤 3 次。使用 TRIzol 法提取总 RNA，转录组测序及原始数据分析委托上海欧易生物科技有限公司完成。将 $P < 0.05$ 及 Fold Change = 1.5 的差异基因进行京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG）及基因本体论（gene ontology, GO）富集分析。

2.5 RT-qPCR 法检测目的基因 mRNA 表达 取受精 2 d 的斑马鱼放入 6 孔板中，每孔 30 尾，按“2.2”项下方法分组处理后，用斑马鱼胚胎培养用水清洗 3 次，收集每组斑马鱼 30 尾于 1.5 mL 无酶灭菌 EP 管中，纯净水漂洗 3 次，PBS 漂洗 3 次，去除 PBS，收集样本于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存。向样本中加入裂解液，转移裂解产物至 Fastpure gDNA 过滤柱中，离心并收集滤液，加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇，转移全部混合物至 Fastpure RNA 柱中，离心后弃滤液。去除杂质后向柱中加入 $30\text{ }\mu\text{L}$ RNAes-free ddH_2O 并离心得到 RNA。利用逆转录试剂将 RNA 合成 cDNA，以 *rpl13a* 为内参基因，进行 RT-qPCR 分析，采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算目的基因相对表达。引物序列见表 1。

2.6 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行处理，数据均以（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，符合正态性和方差齐性的，组间比较采用 *t* 检验，否则选择秩和检验；多组比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

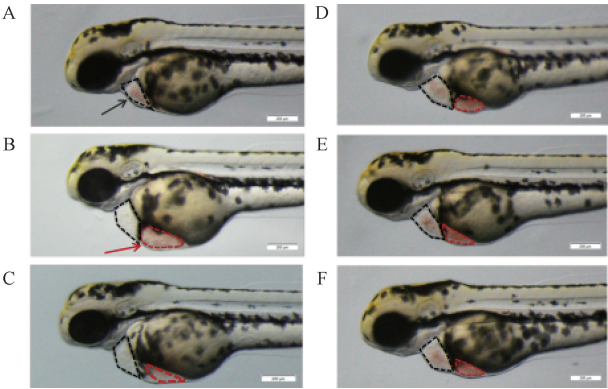
表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')
rpl13a	正向 TCTGGAGGACTGTAAGAGGTATGC
	反向 AGACGCACAATCTTGAGAGCAG
gngt1	正向 GGCGAAGATGGAAGTAACCCA
	反向 CACAGCATTTGGACACCTTCG
myl4	正向 AACCCAGACCTGAGGAAATG
	反向 GTGCCCTGATCTTTGGACCT
apelin	正向 GCCATTCTAGAGCAAGGCAC
	反向 TCACTCTTCAGGCTGGGCTA
gnb3b	正向 TGCATCCTGTCTGTTGGGGA
	反向 TTGCGAGCCGCCTCAATCT
adrbk2	正向 GGAGAGTCTCGGCAAAACCT
	反向 TCTCACACTGCAGGACGAAC
gnai2a	正向 CCGAGTATCCAGGCCGAAGAC
	反向 CGTGTGCTCTAGAAGAGCCC
gna14	正向 TCCACAGTTACAGGGCCTA
	反向 CAGTGTCACTCGCACAGTA
gnal	正向 TACTCTTATTGGGCGCTGGG
	反向 GGACGGTTAGCGATTGACA

表 2 各组斑马鱼心包面积、静脉淤血面积及 SV-BA 距离比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	心包面积/ μm^2	静脉淤血面积/ μm^2	SV-BA 距离/ μm
空白组	21 534±470	0	255.9±4.0
模型组	26 406±478 ^{##}	21 068±1 723	293.6±5.5 ^{##}
地高辛组	23 605±366 ^{**}	11 183±718 ^{**}	247.1±4.4 ^{**}
宝心艾维西木口服液低剂量组	22 582±445 ^{**}	16 858±938	232.6±2.8 ^{**}
宝心艾维西木口服液中剂量组	22 563±575 ^{**}	13 290±310 ^{**}	248.5±3.2 ^{**}
宝心艾维西木口服液高剂量组	22 153±790 ^{**}	15 796±1 429 ^{**}	239.4±5.7 ^{**}

注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为地高辛组，D~F 为宝心艾维西木口服液低、中、高剂量组。黑色虚框为心包面积大小，红色虚框为静脉淤血面积大小，黑色箭头指示心包面积，红色箭头指示静脉淤血面积。

图 1 各组斑马鱼心脏形态

表 3 各组斑马鱼心率、FS 和 LVEF 值比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

组别	心率/bpm	FS/%	LVEF/%
空白组	171.90±1.56	24.50±0.95	55.29±1.30
模型组	102.00±2.36 ^{##}	12.00±0.58 ^{##}	28.43±3.15 ^{##}
地高辛组	123.70±1.04 ^{**}	15.20±1.30 [*]	39.43±2.69 [*]
宝心艾维西木口服液低剂量组	117.40±1.78 ^{**}	16.00±1.07 ^{**}	38.43±2.46 [*]
宝心艾维西木口服液中剂量组	129.40±2.49 ^{**}	15.20±1.15 [*]	38.43±1.73 [*]
宝心艾维西木口服液高剂量组	130.70±3.81 ^{**}	15.40±1.13 [*]	37.86±2.21 [*]

注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

3 结果

3.1 宝心艾维西木口服液对心力衰竭斑马鱼心脏形态、SV-BA 距离的影响 与空白组比较，模型组斑马鱼心包面积、静脉淤血面积及 SV-BA 距离增大 ($P<0.01$)；与模型组比较，地高辛组和宝心艾维西木口服液中、高剂量组斑马鱼心包面积、静脉淤血面积及 SV-BA 距离减小 ($P<0.01$)，低剂量组斑马鱼心包面积及 SV-BA 距离减小 ($P<0.01$)，见表 2、图 1。

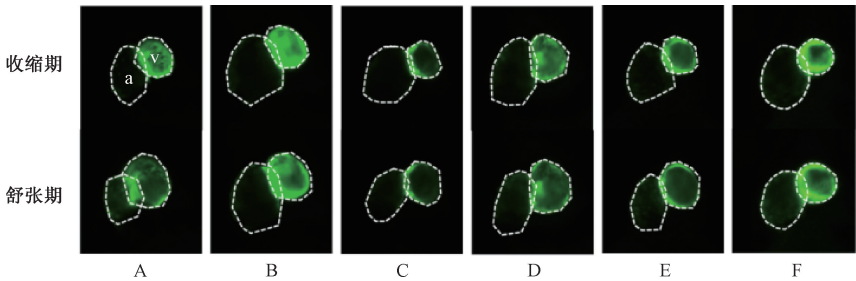
3.2 宝心艾维西木口服液对心力衰竭斑马鱼心功能的影响 与空白组比较，模型组斑马鱼心率、FS 和 LVEF 值减小 ($P<0.01$)；与模型组比较，地高辛组和宝心艾维西木口服液各剂量组斑马鱼心率、FS 和 LVEF 值增加 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，见表 3、图 2。

3.3 宝心艾维西木口服液对心力衰竭斑马鱼血流速度的影响 与空白组比较，模型组斑马鱼血流速度减慢 ($P<0.01$)；与模型组比较，地高辛组和宝心艾维西木口服液各剂量组斑马鱼血流速度加快 ($P<0.01$)，见表 4。

3.4 宝心艾维西木口服液对心力衰竭斑马鱼心肌细胞凋亡的影响 与空白组比较，模型组斑马鱼心肌细胞凋亡数增加 ($P<0.05$)；与模型组比较，地高辛组和宝心艾维西木口服液各剂量组心肌细胞凋亡数减少 ($P<0.05$)，见表 5、图 3。

3.5 宝心艾维西木口服液对心力衰竭斑马鱼心脏病理的影响 与空白组比较，模型组斑马鱼心脏壁厚度变薄；与模型组比较，地高辛组和宝心艾维西木口服液各剂量组心脏壁厚度有不同程度的改善，见图 4。

3.6 转录组学 (RNA-seq) 差异基因表达分析 宝心艾维西木口服液在转录水平可明显改变斑马鱼的基因表达谱。与空白组比较，模型组导致 834 个基因发生变化；与模型组比较，宝心艾维西木口服液高剂量组导致 336 个基因发生变化，其中，有 267 个基因上调，69 个基因下调。空白组与模型组，模型组与宝心艾维西木口服液高剂量组有 111 个共同变化差异基因。结果见图 5。



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为地高辛组，D~F 为宝心艾维西木口服液低、中、高剂量组。a 为心房、v 为心室。

图 2 各组心脏绿色荧光转基因斑马鱼收缩期、舒张期代表图

表 4 各组斑马鱼血流速度比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

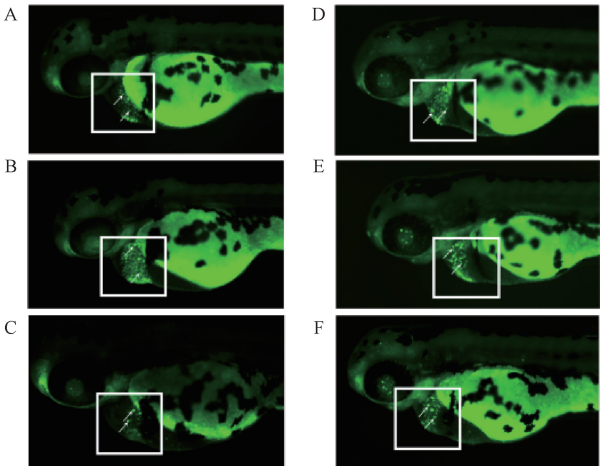
组别	血流速度/($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
空白组	651.60±27.40
模型组	247.40±19.67 ^{##}
地高辛组	480.40±12.76 ^{**}
宝心艾维西木口服液低剂量组	417.40±44.94 ^{**}
宝心艾维西木口服液中剂量组	527.90±41.09 ^{**}
宝心艾维西木口服液高剂量组	540.40±15.90 ^{**}

注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

表 5 各组斑马鱼心肌细胞凋亡数比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

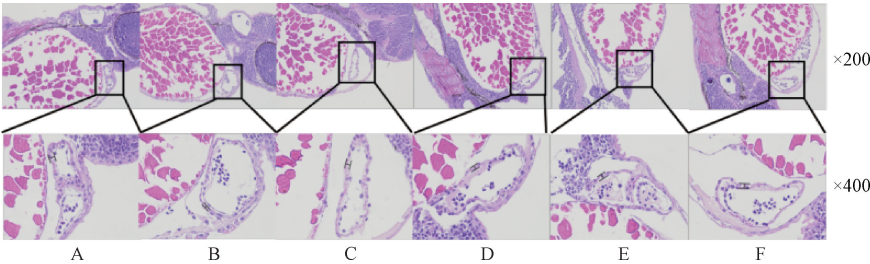
组别	心肌细胞凋亡数/个
空白组	33.75±2.72
模型组	54.50±2.23 ^{##}
地高辛组	43.58±2.77 [*]
宝心艾维西木口服液低剂量组	42.50±2.49 ^{**}
宝心艾维西木口服液中剂量组	43.50±1.81 ^{**}
宝心艾维西木口服液高剂量组	42.00±1.81 ^{**}

注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。



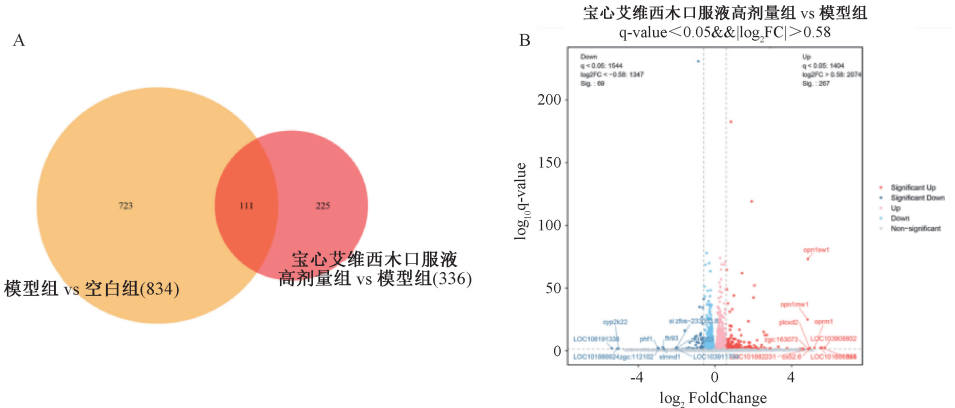
注：A 为空白组，B 为模型组，C 为地高辛组，D~F 为宝心艾维西木口服液低、中、高剂量组。白色箭头所指绿色荧光点表示凋亡的心肌细胞。

图 3 各组斑马鱼心肌细胞凋亡染色图



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为地高辛组，D~F 为宝心艾维西木口服液低、中、高剂量组。

图 4 各组斑马鱼心脏组织 HE 染色

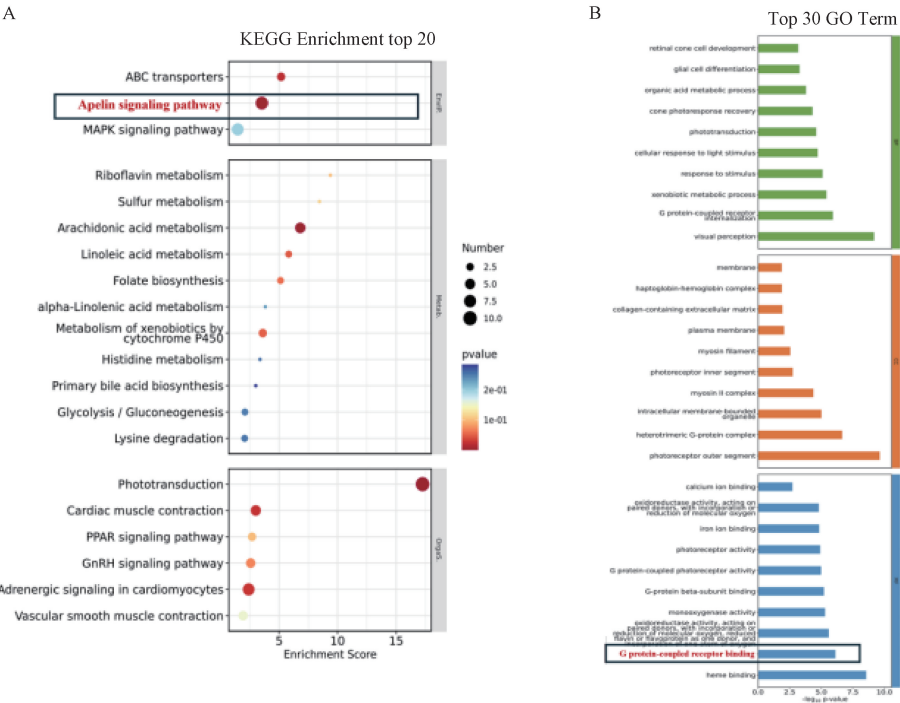


注：A 为不同组别差异基因 Venn 图，B 为宝心艾维西木口服液高剂量组与模型组差异基因火山图。

图 5 差异性基因表达分析

3.7 差异基因 KEGG、GO 富集分析 KEGG 富集分析结果显示，模型组与宝心艾维西木口服液高剂量组比较，差异基因主要富集在 ABC 转运蛋白、Apelin 信号通路、MAPK

信号通路，见图 6A。GO 富集分析结果显示，模型组与宝心艾维西木口服液高剂量组比较，差异基因主要富集血红素结合、G 蛋白偶联受体结合等生物过程，见图 6B。



注：A 为 KEGG 富集分析通路图，B 为 GO 富集分析通路图。

图 6 差异基因 KEGG、GO 富集分析

3.8 宝心艾维西木口服液对转录组差异基因表达的影响 对 KEGG、GO 分析得到的 Apelin 信号通路和 G 蛋白偶联受体结合生物过程的关键基因进行 RT-qPCR 验证。与空白组比较，模型组 *gngt1* mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)，*myl4*、*apelin*、*adrbk2*、*gna14*、*gnai2a*、*gnal* mRNA 表达升高 ($P <$

0.01)；与模型组比较，宝心艾维西木口服液高剂量组与空白组比较，*gngt1* mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)，*apelin*、*gnb3b*、*adrbk2*、*gna14*、*gnai2a*、*gnal* mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)，见表 6~7。

表 6 各组斑马鱼 Apelin 信号通路 *gngt1*、*myl4*、*apelin*、*gnb3b* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 30$)

组别	<i>gngt1</i> mRNA	<i>myl4</i> mRNA	<i>apelin</i> mRNA	<i>gnb3b</i> mRNA
空白组	1.00±0.03	1.00±0.01	1.00±0.04	1.04±0.38
模型组	0.66±0.01 ^{##}	1.50±0.13 ^{##}	1.38±0.16 ^{##}	1.54±0.35
宝心艾维西木口服液高剂量组	1.19±0.11 ^{**}	1.37±0.05	0.67±0.01 ^{**}	0.50±0.08 ^{**}

注：与空白组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P < 0.01$ 。

表 7 各组斑马鱼 G 蛋白偶联受体 *adrbk2*、*gna14*、*gnai2a*、*gnal* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 30$)

组别	<i>adrbk2</i> mRNA	<i>gna14</i> mRNA	<i>gnai2a</i> mRNA	<i>gnal</i> mRNA
空白组	1.00±0.03	1.00±0.06	1.00±0.05	1.00±0.02
模型组	1.57±0.03 ^{##}	1.76±0.13 ^{##}	1.44±0.03 ^{##}	1.75±0.18 ^{##}
宝心艾维西木口服液高剂量组	1.27±0.01 ^{**}	1.28±0.05 ^{**}	1.23±0.03 ^{**}	1.31±0.05 ^{**}

注：与空白组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P < 0.01$ 。

4 讨论

近年来，中医药治疗心力衰竭的优势越来越突出^[12]。维吾尔医药是中医药的重要组成部分，宝心艾维西木口服液作为维吾尔医药中治疗心血管疾病的经典方之一，具有治疗心力衰竭的潜力。

盐酸维拉帕米导致斑马鱼发生心包水肿、静脉淤血^[13]，这些症状与人类心力衰竭患者病理生理学相似。当

心脏发生损伤时，心房和心室位置发生变化，心脏出现环化，导致斑马鱼静脉窦-动脉球距离增加^[14]。在心力衰竭发展进程中，心室发生进行性扩张并导致室壁压力增加和壁变薄，心肌细胞凋亡增加，心脏功能进一步受损^[15]。本实验结果显示，与空白组比较，模型组斑马鱼的心包面积、静脉淤血面积、静脉窦-动脉球距离、心肌细胞凋亡数目增加，心功能、血流速度减弱，心脏壁厚度变薄，而给予宝

心艾维西木口服液可改善心力衰竭斑马鱼心脏形态、血流速度、心功能异常、心脏病理变化，并且有效抑制心肌细胞凋亡。

本实验结果显示，差异基因主要富集在 Apelin 信号通路及 G 蛋白偶联受体结合生物过程。Apelin 信号通路是一种由 Apelin 与细胞表面 G 蛋白偶联受体 APJ 结合的信号传导途径^[16-17]。当 Apelin 结合后，APJ 激活 G 蛋白，进而激活下游效应物从而导致一系列生理效应，包括心肌收缩^[18]、血管生成^[19]和能量调节代谢^[20]。Apelin 是一种具有正性肌力作用的心脏保护肽^[21]，主要存在于血管平滑肌、心肌组织等。研究表明，早期心力衰竭患者血浆中 Apelin 水平升高^[22]，而晚期心力衰竭患者血浆中 Apelin 水平却下降。*adrbk2* 为 G 蛋白偶联受体激酶家族成员，在调节 G 蛋白偶联受体的跨膜信号转到中起关键作用。研究表明，抑制 *adrbk2* 在心脏中的表达可以缓解心功能不全^[23]。本实验进一步通过 RT-qPCR 验证转录组结果，发现与空白组比较，模型组 *apelin*、*adrbk2* mRNA 表达升高，而给予宝心艾维西木口服液后可改善其表达。

综上所述，宝心艾维西木口服液可改善心力衰竭斑马鱼心脏形态，改善心功能，缓解血流速度，改善心脏壁厚度，其可能通过抑制心肌细胞凋亡、调节 Apelin 信号通路及 G 蛋白偶联受体结合，从而发挥抗心力衰竭作用。

参考文献：

[1] 庄梦梦, 朱林平, 李晓凤. 基于 NF-κB 信号通路探讨中医药防治心力衰竭研究进展[J]. 中医学报, 2024, 39(5): 994-1001.

[2] 卞华兴, 庄 燕, 高永兴. 桃红四物汤联合西药治疗心力衰竭合并心绞痛的效果及对 ET-1、NT-proBNP 及心衰标志物的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(7): 119-122.

[3] 胡桂铭, 冯竹青, 董江川. 心力衰竭药物的研究进展[J]. 现代临床医学, 2024, 50(2): 148-152.

[4] 陈博航, 李文杰. 真武汤在慢性心力衰竭治疗中的应用与机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(10): 74-79.

[5] 郭玉娜, 陈丽名, 刘 坤. 经方在心力衰竭中的临床应用[J]. 中国医药导报, 2022, 19(30): 116-119.

[6] 张晓刚, 霍耀辉, 刘黎明, 等. 益气活血中药治疗慢性心力衰竭机制的研究进展[J]. 中医临床研究, 2024, 16(5): 52-57.

[7] 任哲鄯, 谢雨瑶, 刘安琪. 药物诱导斑马鱼心力衰竭模型的研究进展[J]. 实验动物科学, 2022, 39(4): 74-78.

[8] 龚 韬, 佟 彤, 周德勇, 等. 泻肺利水方醇提物不同给药途径对斑马鱼心力衰竭模型心功能的影响[J]. 天津中医药, 2022, 39(8): 1052-1056.

[9] 李嘉欣, 白立鼎, 李 琳, 等. 斑马鱼心血管疾病模型的建

立及中药干预作用研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(20): 7122-7131.

[10] Zhu X Y, Wu S Q, Guo S Y, *et al.* A zebrafish heart failure model for assessing therapeutic agents[J]. *Zebrafish*, 2018, 5(3): 243-253.

[11] 戴明珠, 郭胜亚, 徐懿乔, 等. 用于功效评价的斑马鱼转换人用剂量的换算方法: 中国, CN113496071A [P]. 2021-10-12.

[12] 徐梦启, 王 强. 中医药治疗慢性心力衰竭的研究进展[J]. 中医临床研究, 2023, 15(36): 65-68.

[13] Dong R, Zhang Y G, Chen S J, *et al.* Identification of key pharmacodynamic markers of American ginseng against heart failure based on metabolomics and zebrafish model[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 909084.

[14] 冉凯凯, 郑瑞芳, 夏 青, 等. 模式生物斑马鱼在心功能评价中的应用[J]. 药物评价研究, 2021, 44(8): 1581-1587.

[15] 袁中杰, 侯佳丽, 李洁薇, 等. 中医药调节线粒体质量控制抑制心肌细胞凋亡的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(12): 194-200; 312.

[16] 阿斯艳木·阿不都欧甫, 商鲁翔, 周贤惠, 等. Apelin/APJ 系统与心血管疾病的研究进展[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2019, 33(2): 163-166.

[17] Murza A, Sainsily X, Côté J, *et al.* Structure-activity relationship of novel macrocyclic biased Apelin receptor agonists[J]. *Org Biomol Chem*, 2017, 15(2): 449-458.

[18] Rostamzadeh F, Najafipour H, Yeganeh-Hajahmadi M, *et al.* Opioid receptors mediate inotropic and depressor effects of Apelin in rats with 2K1C-induced chronic renovascular hypertension[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45(2): 187-197.

[19] Wu L L, Chen L X, Li L F. Apelin/APJ system: A novel promising therapy target for pathological angiogenesis[J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 466: 78-84.

[20] Hu G H, Wang Z, Zhang R M, *et al.* The role of Apelin/Apelin receptor in energy metabolism and water homeostasis: a comprehensive narrative review[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 632886.

[21] Ali F, Shen A, Islam W, *et al.* Role of microRNAs and their corresponding ACE2/Apelin signaling pathways in hypertension[J]. *Microb Pathog*, 2022, 162: 105361.

[22] 付春蓉, 洪 乐, 魏 娇. 复方养心汤联合西药治疗高血压伴心衰患者疗效及对血清 hs-CRP、BNP、Apelin 水平影响[J]. 四川中医, 2021, 39(4): 92-95.

[23] von Lueder T G, Gravning J, How O J, *et al.* Cardiomyocyte-restricted inhibition of G protein-coupled receptor kinase-3 attenuates cardiac dysfunction after chronic pressure overload[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 303(1): H66-H74.