

强心汤对慢性心力衰竭大鼠线粒体的影响及机制^Δ

毛美玲^{1*}, 卢健棋^{2#}, 朱智德², 庞延², 谢丽钰¹, 陈佳永¹, 吴鑫宇¹, 肖湘¹, 卢俊桑³, 石炜琦¹(1. 广西中医药大学第一临床医学院, 南宁 530299; 2. 广西中医药大学第一附属医院心内科, 南宁 530023; 3. 广西中医药大学附设中医学校, 南宁 530001)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)02-0160-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.02.05



摘要 **目的** 探讨强心汤对慢性心力衰竭(CHF)大鼠线粒体的影响及潜在机制。**方法** 采用结扎冠状动脉左前降支的方法建立CHF模型。将造模成功的大鼠分为模型组, 强心汤低、高剂量组(12.25、24.50 g/kg, 以生药量计), 化学药组(沙库巴曲缬沙坦钠片, 10.42 mg/kg), 另设不作处理的对照组, 每组10只。各组大鼠灌胃相应药液或生理盐水, 每天2次, 连续28 d。末次给药后, 检测大鼠血清中氨基末端脑利钠肽前体(NT-proBNP)、三磷酸腺苷(ATP)和心肌组织中磷脂酸(PA)、心磷脂(CL)含量; 观察大鼠心肌组织病理损伤和胶原纤维化情况; 检测大鼠心肌细胞凋亡情况; 观察心肌组织超微结构; 检测心肌组织中线粒体融合蛋白1(Mfn1)、Mfn2、视神经萎缩蛋白1(OPA1)、动力相关蛋白1(Drp1)的表达情况。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠血清中NT-proBNP含量, 心肌细胞凋亡率, 心肌组织中S-OPA1、Drp1蛋白的相对表达量均显著升高($P<0.05$); 血清中ATP含量, 心肌组织中PA、CL含量和Mfn1、Mfn2、L-OPA1蛋白的相对表达量均显著降低($P<0.05$); 心肌组织各层膜组织结构异常, 心肌细胞变性坏死, 且纤维化严重; 心肌组织线粒体可见肿胀, 嵴减少或消失, 基质密度不均匀。经强心汤干预后, 大鼠血清及心肌组织中上述定量指标水平(强心汤低剂量组CL含量除外)均显著逆转($P<0.05$); 心肌组织病理损伤明显改善, 纤维化情况明显减轻; 线粒体形态趋于正常且嵴增多, 基质密度均匀。**结论** 强心汤可调节CHF大鼠的心肌线粒体功能和结构完整性, 进而改善心肌能量代谢, 减轻心肌纤维化; 其作用机制可能与激活PA/Mfn/CL信号通路有关。

关键词 强心汤; 慢性心力衰竭; 线粒体; 能量代谢; 纤维化; PA/Mfn/CL信号通路

Effects and mechanism of Qiangxin decoction on mitochondrion of rats with chronic heart failure

MAO Meiling¹, LU Jianqi², ZHU Zhide², PANG Yan², XIE Liyu¹, CHEN Jiayong¹, WU Xinyu¹, XIAO Xiang¹, LU Junshen³, SHI Weiqi¹(1. First Clinical School, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530299, China; 2. Cardiovascular Department, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 3. Affiliated School of Traditional Chinese Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects and potential mechanism of Qiangxin decoction on mitochondrion of rats with chronic heart failure (CHF). **METHODS** The CHF model was established by ligating the left anterior descending branch of the coronary artery. Modeled rats were divided into model group, Qiangxin decoction low-dose and high-dose groups (12.25, 24.50 g/kg, calculated by crude drug), and chemical medicine group (Sacubitril valsartan sodium tablets, 10.42 mg/kg), with 10 rats in each group; control group was set up without treatment. Each group of rats was orally administered with the corresponding medication or normal saline twice a day for 28 consecutive days. After the last medication, the contents of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and adenosine triphosphate (ATP) in serum and phosphatidic acid (PA) and cardiolipin (CL) in myocardial tissue were all detected; the pathological damage and collagen fibrosis of rat myocardial tissue were observed; the apoptosis of myocardial cells was determined; the ultrastructure of myocardial tissue was observed; the protein expressions of

Δ 基金项目 国家自然科学基金地区科学基金项目(No. 82160887); 广西自然科学基金项目(No. 2021GXNSFAA220111); 国家中医药传承创新中心项目(No. 2023019-10); 广西岐黄学者培养项目(No. 2022015-003-02); 广西中医药大学研究生教育创新计划项目(No. YCBXJ2023024); 广西高水平中医药重点学科-中医心病学项目(No. 2024016-02-02)

* 第一作者 博士研究生。研究方向: 中医药防治心血管疾病。E-mail: 897400114@qq.com

通信作者 教授, 主任医师, 博士生导师。研究方向: 中医药防治心血管疾病。E-mail: lujianqi666@163.com

mitofusin 1 (Mfn1), Mfn2, optic atrophy protein 1 (OPA1) and dynamin-related protein 1 (Drp1) were all detected in myocardial tissue. **RESULTS** Compared with control group, the serum content of NT-proBNP, apoptotic rate of myocardial cells, and relative expressions of S-OPA1 and Drp1 proteins were all increased significantly; serum content of ATP, contents of PA and CL, and relative expressions of Mfn1, Mfn2 and L-OPA1 proteins were all significantly reduced ($P<0.05$). There were abnormal membrane tissue structure in

various layers of myocardial tissue, degeneration and necrosis of myocardial cells, and severe fibrosis; the mitochondria were swollen, with reduced or absent cristae, and uneven matrix density. After intervention with Qiangxin decoction, the levels of the aforementioned quantitative indicators in serum and myocardial tissue of rats (excluding CL content in the Qiangxin decoction low-dose group) were significantly reversed ($P<0.05$); the pathological damage of myocardial tissue had significantly improved, fibrosis had significantly reduced, mitochondrial morphology tended to be normal, cristae had increased, and matrix density was uniform. **CONCLUSIONS** Qiangxin decoction can regulate myocardial mitochondrial function and structural integrity of CHF rats, thereby improving myocardial energy metabolism and antagonizing myocardial fibrosis, the mechanism of which may be associated with activating PA/Mfn/CL signaling pathway.

KEYWORDS Qiangxin decoction; chronic heart failure; mitochondrion; energy metabolism; fibrosis; PA/Mfn/CL signaling pathway

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是一种由微血管病变、低度全身性炎症、氧化应激、线粒体障碍等多种因素联合作用所导致的疾病,其典型病理变化为心肌重塑和纤维化^[1]。研究表明,CHF患者心肌组织中三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)含量降低和线粒体受损与其心功能下降密切相关^[2];心肌细胞线粒体融合/分裂动态平衡对心肌能量代谢和收缩功能的维持具有积极作用,其动态平衡受损可能会导致CHF加重^[3]。研究指出,线粒体的结构和功能取决于自身外膜和内膜的分裂和融合,这些膜结构的重塑是由特定蛋白和脂质控制的,其中磷脂酸(phosphatidic acid, PA)、线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, Mfn1)、Mfn2、心磷脂(cardiolipin, CL)与视神经萎缩蛋白1(optic atrophy protein 1, OPA1)在线粒体融合/分裂过程中扮演了重要角色,调控PA/Mfn/CL信号通路对维持线粒体功能具有重要作用^[4]。由此可见,调节心肌细胞线粒体稳态、保证心肌能量代谢成为了治疗CHF的新思路。

中医将CHF归纳为本虚标实证,气虚、阳虚为本,血瘀、水饮为标。广西中医药大学第一附属医院心内科卢健棋教授所创的强心汤以多靶点、多成分的作用优势行益气温阳、活血利水之功,在治疗CHF方面取得了良好的效果^[5],但该方影响线粒体功能的上游调控机制尚不完全明确。基于此,本研究拟从PA/Mfn/CL信号通路出发,探讨强心汤对CHF大鼠心肌线粒体功能和能量代谢的影响及潜在机制,从而为强心汤的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括MQX200型酶标仪(美国BioTek公司)、Tecnaï G20 TWIN型透射电镜(美国FEI公司)、BX53型荧光显微镜(日本Olympus公司)、Flexacam C1型显微镜(德国Leica公司)、ChemiDoc™ XRS+型超高灵敏度化学发光成像系统(美国Bio-Rad公司)、HMS-901B型制胶仪(深圳市博大精科生物科技有限公司)、DYCZ-40型电转仪(北京六一生物科技有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

强心汤由黄芪、党参、炮附子、桂枝、川芎、丹参、葶苈子、茯苓、白术、柏子仁、玉竹、炙甘草组成,各药材饮片(批号分别为230501、231225、230315、230807、220424、230814、221203、230617、230116、231002、220214、220723)均由广西中医药大学第一附属医院提供,经该院心内科潘朝铎主任医师鉴定为真品。

沙库巴曲缬沙坦钠片(批号090502,规格100 mg)购自北京诺华制药有限公司;ATP含量测定试剂盒(批号BC0305)购自北京索莱宝科技有限公司;兔源Mfn1、Mfn2多克隆抗体(批号分别为NBP1-51841SS、NBP2-66383SS)均购自美国Novus Biologicals公司;兔源动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1, Drp1)单克隆抗体(批号ab184247)购自英国Abcam公司;鼠源 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(批号T0022)购自美国Affinity公司;兔源OPA1单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠免疫球蛋白G二抗(批号分别为27733-1-ap、SA00001-1)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G二抗(批号A0208)购自上海碧云天生物技术股份有限公司;ECL底物液(批号G2014)购自武汉赛维尔生物科技有限公司;PA、CL酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为MM-926522O2、MM-71760R2)均购自江苏酶免实业有限公司;大鼠氨基末端脑利钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)ELISA试剂盒(批号E-EL-R3023)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级健康雄性SD大鼠,共60只,体重为 (180 ± 20) g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可证号为SCXK(湘)2019-0004。所有大鼠均饲养于广西中医药大学科学实验中心[温度 $(25\pm2)^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 $(50\pm10)\%$,每12 h明暗交替]内,自由摄食、饮水,适应1周后进行实验。本研究方案经广西中医药大学实验动物福利伦理委员会批准(批准编号为DW20231115-257)。

2 方法

2.1 分组与造模

随机选取10只健康大鼠作为对照组,其余50只大鼠采用结扎冠状动脉左前降支的方法建立CHF模型^[6],具体操作如下:用2%异氟烷麻醉大鼠,行气管插管后连接小动物呼吸机,开胸暴露左冠状动脉并结扎左前降支,若观察到心室壁变为苍白色且心电图监测结果示ST段抬高,表明造模成功。随后,将大鼠胸腔逐层缝合,撤掉气管插管和呼吸机,术后连续给予青霉素3 d预防感染。对照组大鼠不作处理。造模过程中,共有10只大鼠死亡,将存活且造模成功的40只大鼠随机分为模型组,强心汤低、高剂量组,化学药组(沙库巴曲缬沙坦钠片),每组10只。

2.2 药液配制与分组干预

强心汤含黄芪30 g、党参15 g、炮附子10 g、桂枝10 g、川芎10 g、丹参10 g、葶苈子10 g、茯苓10 g、白术10 g、柏子仁12 g、玉竹10 g、炙甘草6 g。取处方量炮附子先煮1 h去除毒性,然后与其他药材共同煎煮,制成质量浓度分别为1.489 6、2.979 2 kg/L的强心汤药液(以生药量计)。将沙库巴曲缬沙坦钠片碾碎后,溶解于水中,制成质量浓度为1.02 g/L的药液。

于造模成功第2天,强心汤低、高剂量组大鼠按12.25、24.50 g/kg的剂量(以生药量计,其中低剂量为临床等效剂量)灌胃相应药液,化学药组大鼠按10.42 mg/kg的剂量(根据临床等效剂量换算而得)灌胃沙库巴曲缬沙坦药液^[7],对照组和模型组大鼠灌胃生理盐水,每天2次,连续28 d。

2.3 取材

末次给药后,以0.5%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,于腹主动脉采血,离心后取上层血清,备用;继续分离其心肌组织,取每组6只大鼠的心肌组织,保存于低温冰箱中,备用;另取每组1只大鼠的心肌组织固定于戊二醛中,用于透射电镜观察;取每组剩余3只大鼠的心肌组织,固定于4%多聚甲醛中,用于病理观察和TUNEL实验。

2.4 大鼠血清中NT-proBNP、ATP和心肌组织中PA、CL含量检测

取“2.3”项下每组6只大鼠的血清样品适量,根据试剂盒说明书方法操作,采用ELISA法检测血清中NT-proBNP含量,采用微量法检测血清中ATP含量。取“2.3”项下每组6只大鼠冻存的心肌组织适量,加入磷酸盐缓冲液于冰浴中充分研磨后,以3 000 r/min离心10 min,取上清液,根据试剂盒说明书方法操作,采用ELISA法检测心肌组织中CL含量;取“2.3”项下每组6只大鼠冻存的心肌组织适量,用丁醇-甲醇-水(5:25:70, V/V/V)溶液抽提后,根据试剂盒说明书方法操作,采用ELISA法检测大鼠心肌组织中PA含量。

2.5 大鼠心肌组织病理损伤观察

分别采用苏木精-伊红(HE)、Masson染色法观察。取“2.3”项下各组大鼠固定于4%多聚甲醛中的心肌组织适量,经脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、烤片、脱蜡后,取部分切片,加苏木精、伊红染液等进行HE染色;另取部分切片,加重铬酸钾、苏木精染液等进行Masson染色;然后均用中性树胶封片,采用显微镜观察心肌组织病理变化和胶原纤维化情况,并拍照。

2.6 大鼠心肌细胞凋亡情况检测

采用TUNEL法检测。取“2.5”项下各组大鼠心肌组织剩余切片,于60℃下烘片3 h,脱蜡后以水浸洗,滴加稀释好的蛋白酶K溶液,于室温孵育15 min;以磷酸盐缓冲液清洗3次,滴加平衡缓冲液平衡15 min,吸掉多余液体后,滴加工作液,经4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)复染后,用中性树胶封片,采用荧光显微镜观察,并在400倍镜下统计细胞总数以及凋亡细胞(红色)数,然后计算细胞凋亡率(细胞凋亡率=凋亡细胞数/细胞总数×100%)。

2.7 大鼠心肌组织超微结构观察

采用透射电镜观察。取“2.3”项下各组大鼠固定于戊二醛中的心肌组织,用0.1 mol/L磷酸盐缓冲液漂洗15 min×3次,再用1%锇酸溶液于室温下固定2 h,于60℃下聚合48 h后包埋,切片(厚约60~80 nm),再进行铀铅双染色;次日,采用透射电镜观察心肌组织超微结构,并拍照。

2.8 大鼠心肌组织中Mfn1、Mfn2、OPA1、Drp1蛋白表达检测

采用Western blot法检测。随机选取“2.3”项下每组3只大鼠冻存的心肌组织适量,加入RIPA裂解液裂解后,采用BCA法测定蛋白浓度。将蛋白样品变性后,进行电泳分离并转移至聚偏二氟乙烯膜上,以脱脂奶粉于室温下封闭2 h;洗膜后,分别加入Mfn1、Mfn2、OPA1、Drp1、 β -actin一抗(稀释比例分别为1:5 000、1:5 000、1:2 000、1:1 000、1:5 000),孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释比例均为1:10 000),孵育2 h;洗膜后,以ECL底物液显影,并于超高灵敏度化学发光成像系统下成像。采用Image J软件分析各目的蛋白的条带灰度值,以 β -actin为内参,计算目的蛋白的相对表达量。

2.9 统计学方法

使用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验(方差齐)或Tamhane's *T*₂检验(方差不齐)。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 强心汤对CHF大鼠血清中NT-proBNP、ATP和心肌组织中PA、CL含量的影响

与对照组比较,模型组大鼠血清中NT-proBNP含量显著升高,ATP含量显著降低;心肌组织中PA、CL含量

均显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,各药物组大鼠 NT-proBNP 含量均显著降低,ATP、PA、CL(强心汤低剂量组除外)含量均显著升高($P<0.05$)。结果见表1。

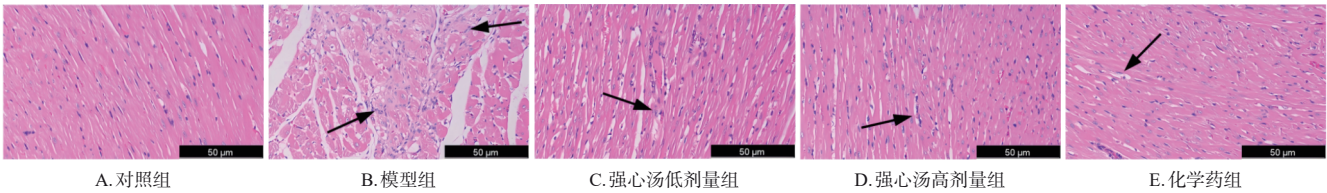
表1 各组大鼠血清中NT-proBNP、ATP和心肌组织中PA、CL含量比较($\bar{x}\pm s,n=6$)

组别	NT-proBNP/(pg/mL)	ATP/(μmol/mL)	PA/(nmol/L)	CL/(μg/mL)
对照组	81.43±10.90	0.52±0.09	290.94±36.19	2.84±0.31
模型组	288.60±37.25 ^a	0.13±0.03 ^a	63.03±12.01 ^a	0.97±0.11 ^a
强心汤低剂量组	172.75±19.46 ^b	0.28±0.04 ^b	186.18±29.27 ^b	1.09±0.11
强心汤高剂量组	132.15±19.90 ^b	0.33±0.04 ^b	263.85±33.48 ^b	1.61±0.23 ^b
化学药组	122.57±13.17 ^b	0.36±0.03 ^b	278.95±20.66 ^b	2.60±0.31 ^b

a: 与对照组比较, $P<0.05$;b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

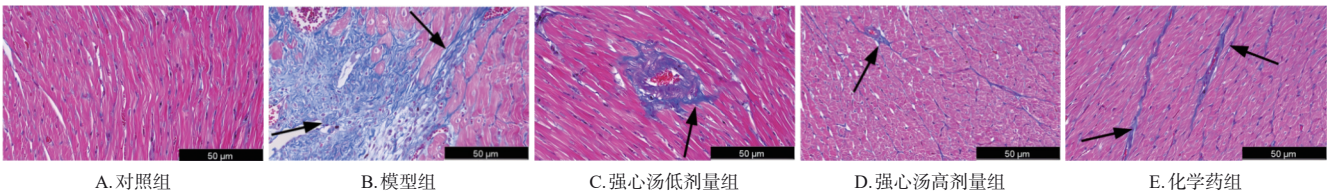
3.2 强心汤对CHF大鼠心肌组织病理变化的影响

对照组大鼠心肌组织各层膜结构完整,细胞核染色正常,未见明显病理损伤。模型组大鼠心肌组织病理损伤严重,心内膜、中膜和外膜结构异常,心肌细胞排列紊乱,细胞间隙增宽,膜破裂、肿胀且部分变性坏死,大量胶原纤维沉积,纤维化严重。各药物组大鼠心肌组织病理损伤明显改善,细胞坏死和纤维化情况明显减轻。结果见图1、图2。



箭头: 坏死的心肌细胞。

图1 各组大鼠心肌组织病理变化的显微图(HE染色)



箭头: 沉积的蓝色胶原纤维。

图2 各组大鼠心肌组织纤维化改变的显微图(Masson染色)

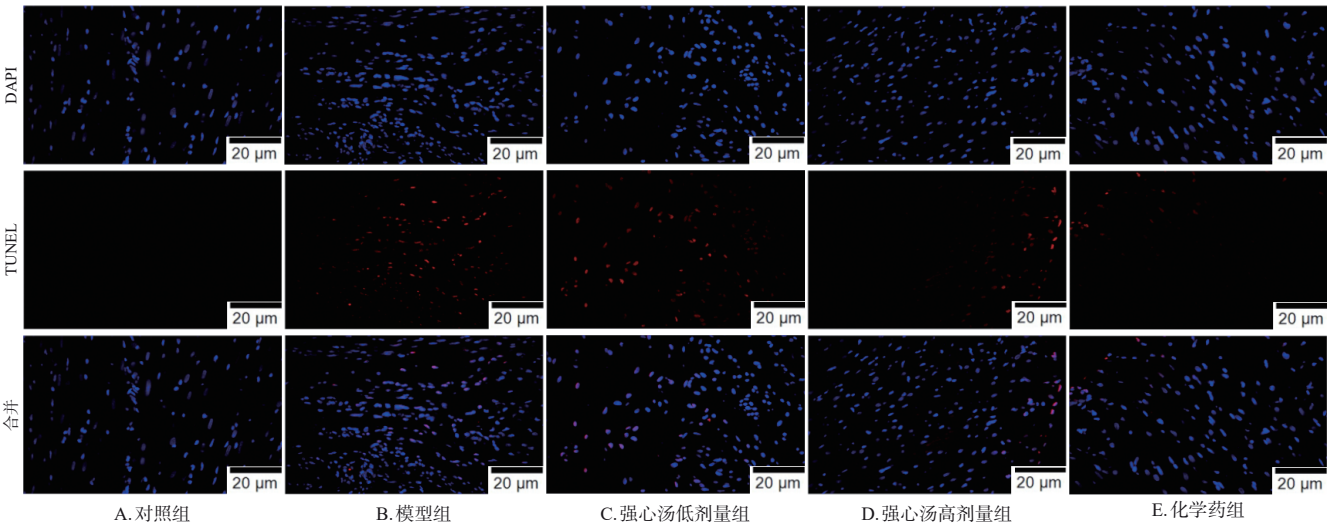


图3 各组大鼠心肌细胞凋亡的显微图(TUNEL染色)

3.3 强心汤对CHF大鼠心肌细胞凋亡的影响

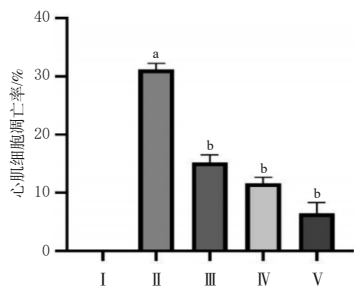
与对照组比较,模型组大鼠心肌细胞凋亡增多,凋亡率显著升高($P<0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠心肌细胞凋亡有所减少,凋亡率均显著降低($P<0.05$)。结果见图3、图4。

3.4 强心汤对CHF大鼠心肌组织超微结构的影响

对照组大鼠心肌组织线粒体形态规则,基质密度均匀;肌纤维排列整齐,肌丝清晰,Z线和M线结构明显。模型组大鼠心肌组织肌纤维紊乱,肌丝结构模糊,Z线和M线不清晰;线粒体肿胀、嵴减少或消失,基质密度不均匀。各药物组大鼠心肌组织肌纤维排列整齐,肌丝结构清晰,Z线和M线明显;线粒体形态趋于正常,嵴增多,基质密度均匀。结果见图5。

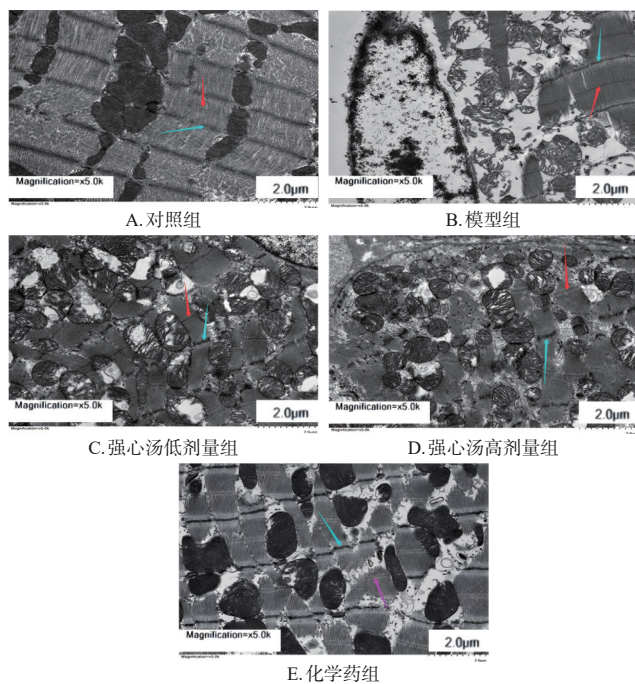
3.5 强心汤对CHF大鼠心肌组织中Mfn1、Mfn2、OPA1、Drp1蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠心肌组织中Mfn1、Mfn2、L-OPA1蛋白的相对表达量均显著降低,S-OPA1、Drp1蛋白的相对表达量均显著升高($P<0.05$);与模型



I: 对照组; II: 模型组; III: 强心汤低剂量组; IV: 强心汤高剂量组; V: 化学药组; a: 与对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

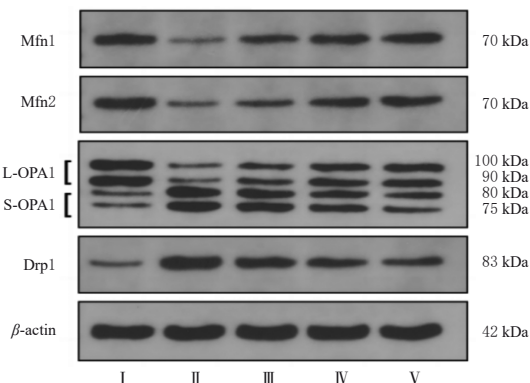
图4 各组大鼠心肌细胞凋亡率比较($\bar{x} \pm s, n=3$)



蓝色箭头: Z线; 红色箭头: M线。

图5 各组大鼠心肌组织超微结构的透射电镜图

组比较, 各药物组大鼠心肌组织中 Mfn1、Mfn2、L-OPA1 蛋白的相对表达量均显著升高, S-OPA1、Drp1 蛋白的相对表达量均显著降低 ($P < 0.05$)。结果见图6、表2。



I: 对照组; II: 模型组; III: 强心汤低剂量组; IV: 强心汤高剂量组; V: 化学药组。

图6 各组大鼠心肌组织中 Mfn1、Mfn2、OPA1、Drp1 蛋白表达的电泳图

表2 各组大鼠心肌组织中 Mfn1、Mfn2、OPA1、Drp1 蛋白相对表达量比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	Mfn1/β-actin	Mfn2/β-actin	L-OPA1/β-actin	S-OPA1/β-actin	Drp1/β-actin
对照组	0.682 ± 0.060	0.694 ± 0.055	0.600 ± 0.041	0.133 ± 0.016	0.143 ± 0.039
模型组	0.135 ± 0.044 ^a	0.142 ± 0.069 ^a	0.101 ± 0.003 ^a	0.523 ± 0.013 ^a	0.678 ± 0.021 ^a
强心汤低剂量组	0.343 ± 0.051 ^b	0.279 ± 0.060 ^b	0.177 ± 0.030 ^b	0.380 ± 0.017 ^b	0.559 ± 0.044 ^b
强心汤高剂量组	0.467 ± 0.032 ^b	0.451 ± 0.010 ^b	0.266 ± 0.019 ^b	0.253 ± 0.029 ^b	0.433 ± 0.057 ^b
化学药组	0.579 ± 0.041 ^b	0.557 ± 0.073 ^b	0.353 ± 0.028 ^b	0.178 ± 0.020 ^b	0.297 ± 0.033 ^b

a: 与对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

4 讨论

中医认为,心脏的正常运作和生命活动的维持需要靠心气推动血液运行于周身,心气不足则无力运行血液以致形神不得荣养;阴阳同源,气虚日久则损及阳气,阳虚加之“血不利则为水”,水饮渐生,如此循环,则变为 CHF^[8]。因此,中医治疗 CHF 应以补益心气为基础,温补、调和心阴心阳,辅以利水、化痰,使邪有出路,正气得到扶助。

心脏中线粒体含量非常丰富。线粒体可通过氧化磷酸化产生高达90%的ATP,为心肌收缩和舒张提供能量;当细胞线粒体受到内部DNA突变影响或外部刺激时,线粒体外膜通透性将发生改变,从而释放细胞凋亡因子以促进细胞凋亡,最终影响线粒体的能量代谢^[9]。NT-proBNP是临床评估心脏功能的重要指标^[10]。本研究表明,模型大鼠血清中NT-proBNP含量显著升高,同时,HE、Masson染色结果显示,其心肌组织病理损伤、纤维化严重。经强心汤干预后,模型大鼠血清中NT-proBNP含量显著降低,心肌组织病理损伤和纤维化情况均得到改善,细胞凋亡率降低。这表明强心汤能够在一定程度上发挥拮抗CHF的作用。

PA主要在内质网中生成,CL则主要由PA合成。当PA从内质网转运到线粒体内膜后,其可通过多种酶促反应转化为CL;随后,部分CL又被转运到线粒体外膜上,经磷脂酶D诱导转化为PA;两者的相互转化可参与控制线粒体的融合和分裂,并协调上述动态过程之间的平衡,从而维持线粒体稳态^[11-12]。Mfn1、Mfn2是丝裂霉素家族的重要成员,当心肌缺血缺氧时,PA能够刺激线粒体外膜上的Mfn1和Mfn2与另一线粒体的七肽重复序列1结构域相融合,形成七肽重复序列2结构域;而位于七肽重复序列2结构域的两个半胱氨酸可因氧化型谷胱甘肽水平升高而被氧化,导致Mfn1和Mfn2之间形成二硫键,从而促进两个线粒体的外膜发生融合^[13]。OPA1可被切割成数个多肽片段,其中分子量较高的被称为L-OPA1,分子量较低的被称为S-OPA1;S-OPA1可促进线粒体裂变,而L-OPA1可直接与线粒体内膜中含有CL的脂质体相互作用,从而介导线粒体内膜的融合^[14]。相关研究发现,在线粒体内膜融合过程中,OPA1与Mfn1可能存在相互依赖的关系,但与Mfn2可能不存在相互依赖的关系^[15]。由此可知,线粒体融合是PA刺激Mfn1、

Mfn2介导的线粒体外膜融合和CL与OPA1相互作用介导的线粒体内膜融合两个生物过程。除参与线粒体融合以外,PA和CL在线粒体分裂过程中也发挥了相应的作用,这与PA和CL特殊的脂质体结构有关^[16]。Drp1是一种可溶性蛋白,在线粒体分裂过程中,一部分Drp1能够特异性识别PA的酰基链,并优先与PA饱和酰基链结合;另一部分Drp1能穿透线粒体的脂质双层膜,与PA和磷脂酰胆碱结合,这种特殊的脂质结合作用可抑制Drp1诱导的线粒体分裂^[17-18]。本研究结果显示,与对照组比较,模型组大鼠心肌组织中PA、CL含量和Mfn1、Mfn2、L-OPA1蛋白的相对表达量均显著降低,S-OPA1、Drp1蛋白的相对表达量均显著升高,表明CHF大鼠心肌组织线粒体内、外膜融合减少,而分裂增加。经强心汤干预后,模型大鼠心肌组织中PA、CL含量和Mfn1、Mfn2、L-OPA1蛋白的相对表达量均显著升高,S-OPA1、Drp1蛋白的相对表达量均显著降低,进一步结合透射电镜和ATP检测结果发现,强心汤可恢复心肌组织受损线粒体结构和功能,增强心肌能量代谢。

综上所述,强心汤可调节CHF大鼠的心肌线粒体功能和结构完整性,进而改善心肌能量代谢、减轻心肌纤维化,其作用机制可能与激活PA/Mfn/CL信号通路有关。尽管本研究已从作用途径、表型等方面尽可能充分阐释强心汤的作用途径,然而仍存在一定的局限性,如并未在体外实验中同步验证,且仅正向验证了该通路,未设置靶标敲低组,以进一步反向验证该机制,故有待深入研究。

参考文献

- [1] BORLAUG B A, PAULUS W J. Heart failure with preserved ejection fraction: pathophysiology, diagnosis, and treatment[J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(6): 670-679.
- [2] CHISTIakov D A, SHKURAT T P, MELNICHENKO A A, et al. The role of mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease: a brief review[J]. *Ann Med*, 2018, 50(2): 121-127.
- [3] SCHIRRMACHER V. Mitochondria at work: new insights into regulation and dysregulation of cellular energy supply and metabolism[J]. *Biomedicines*, 2020, 8(11): 526.
- [4] ROY M, REDDY P H, IJIMA M, et al. Mitochondrial division and fusion in metabolism[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2015, 33: 111-118.
- [5] 毛美玲, 卢健棋, 谢丽钰, 等. 基于网络药理学、分子对接探讨强心汤治疗慢性心力衰竭的潜在作用机制[J]. *中医杂志*, 2023, 64(20): 2132-2137.
MAO M L, LU J Q, XIE L Y, et al. Potential mechanism of action of Qiangxin decoction for chronic heart failure based on network pharmacology and molecular docking [J]. *J Tradit Chin Med*, 2023, 64(20): 2132-2137.
- [6] 王飞燕, 李学文, 全凌. 影响大鼠心肌梗死模型存活率的因素分析[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2008, 6(7): 862-863.

- WANG F Y, LI X W, TONG L. Analysis of factors affecting the survival rate of rat myocardial infarction model[J]. *Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis*, 2008, 6(7): 862-863.
- [7] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
HUANG J H, HUANG X H, CHEN Z Y, et al. Dose conversion among different animals and healthy volunteers in pharmacological study[J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [8] 卢健棋, 唐梅玲, 朱智德, 等. 以中医思维认识心力衰竭[J]. *中医学报*, 2021, 36(8): 1600-1603.
LU J Q, TANG M L, ZHU Z D, et al. Understanding heart failure from TCM thinking[J]. *Acta Chin Med*, 2021, 36(8): 1600-1603.
- [9] FAN H L, HE Z J, HUANG H F, et al. Mitochondrial quality control in cardiomyocytes: a critical role in the progression of cardiovascular diseases[J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 252.
- [10] ZHU F, ARSHI B, LEENING M J G, et al. Sex-specific added value of cardiac biomarkers for 10-year cardiovascular risk prediction[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2022, 29(11): 1559-1567.
- [11] KAMEOKA S, ADACHI Y, OKAMOTO K, et al. Phosphatidic acid and cardiolipin coordinate mitochondrial dynamics[J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(1): 67-76.
- [12] NELSON R K, FROHMAN M A. Physiological and pathophysiological roles for phospholipase D[J]. *J Lipid Res*, 2015, 56(12): 2229-2237.
- [13] TILOKANI L, NAGASHIMA S, PAUPE V, et al. Mitochondrial dynamics: overview of molecular mechanisms [J]. *Essays Biochem*, 2018, 62(3): 341-360.
- [14] MACVICAR T, LANGER T. OPA1 processing in cell death and disease: the long and short of it[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(12): 2297-2306.
- [15] MATTIE S, RIEMER J, WIDEMAN J G, et al. A new mitofusin topology places the redox-regulated C terminus in the mitochondrial intermembrane space[J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(2): 507-515.
- [16] FROHMAN M A. Role of mitochondrial lipids in guiding fission and fusion[J]. *J Mol Med*, 2015, 93(3): 263-269.
- [17] FRANCY C A, ALVAREZ F J, ZHOU L, et al. The mechanoenzymatic core of dynamin-related protein 1 comprises the minimal machinery required for membrane constriction[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(18): 11692-11703.
- [18] STEPANYANTS N, MACDONALD P J, FRANCY C A, et al. Cardiolipin's propensity for phase transition and its reorganization by dynamin-related protein 1 form a basis for mitochondrial membrane fission[J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(17): 3104-3116.

(收稿日期: 2024-06-13 修回日期: 2024-10-08)

(编辑: 唐晓莲)