参附益心颗粒调节钙离子稳态相关蛋白治疗心肌梗死后心力衰竭的作用机制*

祝慧颖[1,2,3]，崔琳[3]

1. 河南中医药大学第一附属医院心脏中心，河南 郑州 450000；2. 河南中医药大学第一临床医学院，河南 郑州 450000；
3. 河南中医药大学第一附属医院中心实验室，河南 郑州 450000

摘要：目的：观察参附益心颗粒（Shenfu Yixin Granule，SFYXG）对心肌梗死后心力衰竭大鼠钙离子稳态相关蛋白的影响。方法：从 30 只 SD 大鼠中随机选取 6 只作为对照组（CON 组），其余大鼠采用结扎冠状动脉左前降支的方法建立急性心肌梗死后心力衰竭模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组（MODEL 组）、参附益心颗粒常用剂量组（SFYXG－M 组，1.76 g·kg^{-1}）、参附益心颗粒高剂量组（SFYXG－H 组，8.8 g·kg^{-1}）及芪苈强心胶囊组（QLQXC 组，10 mg·kg^{-1}），每组 6 只。各组大鼠以蒸馏水或药物灌胃，每日 1 次，连续 4 周。采用超声心动图技术检测大鼠的舒张期室间隔厚度（diastolic interventricular septal thickness，IVSd）、收缩期室间隔厚度（systolic interventricular septum thickness，IVSs）、左室舒张末期内径（left ventricular diameter at end－diastole，LVEDd）、左室收缩末期内径（left ventricular diameter at end－systole，LVEDs）、左室射血分数（left ventricular ejection fraction，LVEF）及左室短轴缩短率（left ventricular fractional shortening，LVFS）。采用 HE 染色观察大鼠心肌组织病理形态；RT－PCR 和 Western blot 法检测心肌组织钙离子/钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ（Ca^{2+}/calmodulin－dependent protein kinase Ⅱ，CAMKⅡ）、受磷蛋白（phospholamban，PLN）、兰尼碱 2 型受体（ryanodine receptor 2，RyR2）基因与蛋白表达水平。结果：与 CON 组比较，MODEL 组大鼠 LVEF、LVFS、IVSd、IVSs 减少，LVEDd、LVEDs 增加（$P<0.05$）。与 MODEL 组比较，SFYXG－M 组大鼠 LVEF 增加（$P<0.05$）；SFYXG－H 组大鼠 LVEF 增加，LVEDs 减少（$P<0.05$）；QLQXC 组大鼠 LVEF、LVFS、IVSs 增加，LVEDd、LVEDs 减少（$P<0.05$）。HE 染色显示，CON 组大鼠心肌组织病理形态无明显异常；MODEL 组大鼠心肌细胞形态不规则，排列无序，可见明显炎症细胞浸润；SFYXG－M 组大鼠见少量心肌细胞形态不规则，大量炎症细胞浸润；SFYXG－H 组、QLQXC 组大鼠心肌细胞形态基本一致，炎症细胞浸润较少。与 CON 组比较，MODEL 组大鼠心肌组织 *RyR2* 基因和蛋白表达水平降低，*CAMKⅡ*、*PLN* 基因和蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。与 MODEL 组比较，SFYXG－M 组、SFYXG－H 组、QLQXC 组大鼠心肌组织 *RyR2* 基因和蛋白表达水平升高，*CAMKⅡ*、*PLN* 基因和蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。结论：参附益心颗粒可减轻心肌梗死后心力衰竭大鼠的心肌损伤，其作用机制可能与调节钙离子稳态有关。

关键词：心肌梗死后心力衰竭；参附益心颗粒；钙离子稳态；CAMKⅡ；PLN；RyR2
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2025.07.249
中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2025)07－1538－07

Action Mechanism of Shenfu Yixin Granule in Regulating Calcium Homeostasis Related Proteins in Treatment of Heart Failure After Myocardial Infarction

ZHU Huiying[1,2,3]，CUI Lin[3]

1. Heart Center，The First Affiliated Hospital to Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou Henan China 450000；
2. The First Clinical Medical College of Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou Henan China 450000；
3. Central Laboratory，The First Affiliated Hospital to Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou Henan China 450000

Abstract：Objective：To observe the effect of Shenfu Yixin Granule（SFYXG）on calcium homeostasis－related proteins in rats with

* **基金项目**：河南省科技攻关计划项目（192102310171）

heart failure after myocardial infarction. Methods: 6 of the 30 SD rats were randomly selected as the control group (CON group), and the remaining rats were ligated with the left anterior descending coronary artery to establish a model of heart failure after acute myocardial infarction. The rats were randomly divided into model group (MODEL group), common dose group (SFYXG - M group, 1.76 g·kg^{-1}), high - dose group (SFYXG - H group, 8.8 g·kg^{-1}) and Qili Qiangxin Capsule group (QLQXC group, 10 mg·kg^{-1}), with 6 rats in each group. Rats in each group were given distilled water or drug by gavage once a day for 4 consecutive weeks. Echocardiography was used to detect interventricular septal septal thickness (IVSd), systolic interventricular septum thickness (IVSs), and left ventricular diameters at in rats end - diastole (LVIDd), left ventricular diameters at end - systole (LVIDs), left ventricular ejection fraction (LVEF), and left ventricular fractional shortening (LVFS). HE staining was used to observe the pathological morphology of myocardial tissue in rats. RT PCR and Western blot were used to detect the expression levels of Ca^{2+}/calmodulin - dependent protein kinases Ⅱ (CAMKⅡ.), phospholamban (PLN) and ryanodine receptor - 2 (RyR2) genes and proteins in myocardial tissues. Results: Compared with the CON group, LVEF, LVFS, IVSd and IVSs decreased and LVIDd and LVIDs increased in the MODEL group ($P<0.05$). Compared with the MODEL group, LVEF increased in the SFYXG - M group ($P<0.05$), LVEF increased and LVIDs decreased in the SFYXG - H group ($P<0.05$), and LVEF, LVFS and IVSs in the QLQXC group increased, while LVIDd and LVIDs decreased ($P<0.05$). HE staining showed that there was no obvious abnormality in the pathological morphology of myocardial tissue in the CON group. The morphology of myocardial cells in the MODEL group was irregular and disorderly, and obvious inflammatory cell infiltration was visible. A small number of cardiomyocytes in the SFYXG - M group were found to have irregular morphology and many inflammatory cells infiltrated. The morphology of rat cardiomyocytes in the SFYXG - H group and QLQXC group was basically the same, and the inflammatory cells were less infiltrated. Compared with the CON group, the expression levels of *RyR2* gene and protein in myocardial tissue of rats in the MODEL group decreased, and the expression levels of *CAMK*Ⅱ. and *PLN* gene and protein increased ($P<0.05$). Compared with the MODEL group, the expression levels of *RyR2* gene and protein in myocardial tissue of rats in the SFYXG - M group, SFYXG - H group and QLQXC group increased, and the expression levels of *CAMK*Ⅱ. and *PLN* gene and protein decreased ($P<0.05$). Conclusion: Shenfu Yixin Granule can alleviate myocardial injury in rats with heart failure after myocardial infarction, and its mechanism may be related to the regulation of calcium ion homeostasis.

Key words: heart failure after myocardial infarction; Shenfu Yixin Granule; calcium ion homeostasis; CaMKⅡ; PLN; RyR2

心力衰竭(heart failure, HF)是一种由心脏结构性病变或功能性障碍引发的复杂临床综合征,其特征为心室泵血功能减退[1]。全球慢性心血管疾病防治的重要内容包括发病率与病死率高、预后生活质量差及治疗成本高的疾病[2]。《中国心血管健康与疾病报告 2023》指出,我国心血管疾病的发病率和病亡率呈上升趋势。目前,我国心血管疾病患者总数已达 3.30 亿例,其中 HF 患者约 890 万例。全球范围内,HF 患者已超过 6 430 万例,其中 65 岁以上住院治疗患者的主要原因是 HF[3-4],给人类健康和社会经济带来沉重负担。

HF 在细胞水平的特征是收缩功能障碍。在心肌收缩与舒张功能调节中,钙稳态发挥至关重要的作用,钙稳态失衡必然影响心肌细胞 Ca^{2+} 的正常调控。细胞内 Ca^{2+} 浓度升高可引发钙超载,促进内质网应激的发生,引起心肌细胞凋亡,从而加重心肌功能障碍[5]。参附益心颗粒遵循“益气温阳、活血利水”的组方原则,前期大量研究表明其可通过不同途径发挥抗 HF 作用[6-9],但对 Ca^{2+} 相关调节蛋白的干预机制尚不明确。因此,本研究旨在探讨参附益心颗粒对 HF 大鼠心肌 Ca^{2+} 调节蛋白如兰尼碱 2 型受体(ryanodine receptor 2, RyR2)、钙离子/钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ(Ca^{2+}/calmodulin - dependent protein kinase Ⅱ, CAMKⅡ)、受磷蛋白(phospholamban, PLN)的影响,从钙稳态调节角度探讨相关作用机制。

1　材料

1.1　动物　SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只,8 周龄,体质量(230 ± 20) g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号:SYXK(豫)2017 - 0001。实验动物在河南中医药大学第一附属医院中心 IVC 动物房进行标准化饲养,通风良好,温度(24 ± 1) ℃,湿度(50 ± 5)%,12 h/12 h 明暗循环,自由饮水摄食,适应性喂养 7 d 后进行实验处理。本研究所有实验方案均经河南中医药大学第一附属医院动物伦理委员会审议通过,批准编号:YFYDW2019042,符合实验动物伦理学的标准要求。

1.2　药物与试剂　参附益心颗粒(山东步长制药有限公司,批号:131101);CAMKⅡ小鼠单克隆抗体、PLN 兔多克隆抗体、RyR2 兔多克隆抗体(GeneTex 公司,货号:GTX632127、GTX109254、GTX87462);

GAPDH 兔多克隆抗体、HRP 标记山羊抗兔二抗、HRP 标记山羊抗小鼠二抗(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:10494 - 1 - AP、SA00001 - 2、SA00001 - 1);芪苈强心胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司,批号:A1803019)。

1.3　仪器　彩色多普勒超声诊断仪(MICRO MAXX 型,美国索诺声有限公司);精密电子天平(JA203 型,上海海康电子仪器厂);JJ - 12J 型脱水机、JB - P5 型包埋机(武汉俊杰电子有限公司);RM2016 型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);KD - P 型组织摊片机(浙江金华科迪仪器设备有限公司);BX 41 型正置光学显微镜(日本 Olympus 公司);高速低温离心机(美国 ThermoFisher Scientific 公司);Spectra Maxi3x 型酶标仪(上海 Molecular Devices 有限公司);Light Cycler 480 Ⅱ 型实时荧光定量聚合酶链式反应仪(瑞士 Roche 公司);蛋白质电泳与转膜装置(美国 Bio - Rad 公司);6100 型化学发光仪(上海 Clinx 公司)。

2　方法

2.1　急性心肌梗死后心力衰竭(以下简称"心梗后心衰")模型建立　采用结扎冠状动脉左前降支的方法建立急性心梗后心衰模型[10],大鼠禁食不禁水 12 h,3% 戊巴比妥钠溶液(1 mL · kg^{-1})腹腔注射麻醉,手术区备皮,消毒,在左侧胸壁第 3、4 肋间隙开胸,迅速挤出心脏后,于肺动脉圆锥与左心耳交界处,距左心耳根部约 3 mm 位置实施冠状动脉结扎,随即轻柔复位心脏并排出胸腔积气,缝合皮肤组织[11]。大鼠心梗后心衰模型制备后喂养 4 周,进行模型评价:3% 戊巴比妥钠溶液(1 mL · kg^{-1})腹腔注射麻醉,仰卧位固定,在胸骨旁左室长轴和乳头肌水平短轴切面,观察心肌运动情况,由二维超声引导,启动机器的 M 型功能,将取样线置于二尖瓣腱索水平,垂直于室间隔及左室后壁,利用心室波群的 M 型曲线,测量心功能参数[12],连续检测 3 次取平均值,左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)<50% 视为心梗后心衰模型建立成功。

2.2　分组与给药　从 30 只 SD 大鼠中随机选取 6 只作为对照组(CON 组),其余大鼠采用上述方法建立急性心梗后心衰模型,对照组大鼠仅开胸并在左前降支下过线不结扎[13-14]。将造模成功的大鼠采用随机数字表法分为模型组(MODEL 组)、参附益心颗粒常用剂量组(SFYXG - M 组,1.76 g · kg^{-1})、参附益心颗粒高剂量组(SFYXG - H 组,8.8 g · kg^{-1})及芪苈强心胶囊组(QLQXC 组,10 mg · kg^{-1}),每组 6 只。CON 组和 MODEL 组大鼠以蒸馏水灌胃,其余大鼠以相应剂量药物灌胃,每日 1 次,连续 4 周。

2.3　心功能指标测量　采用彩色多普勒超声诊断仪测量大鼠心功能相关指标,包括舒张期室间隔厚度(diastolic interventricular septal thickness, IVSd)、收缩期室间隔厚度(systolic interventricular septum thickness, IVSs)、左室舒张末期内径(left ventricular diameter at end - diastole, LVEDd)、左室收缩末期内径(left ventricular diameter at end - systole, LVEDs),并计算 LVEF、左室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)。

2.4　HE 染色法检测大鼠左室心肌组织病理形态　超声测量后处死大鼠,迅速开胸取出心脏,生理盐水清洗后用滤纸吸干水分,沿心脏长轴垂直纵切心尖部缺血区 5 mm 厚的组织,用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋并切片,然后进行 HE 染色,封片后用显微镜观察心肌组织病理形态。

2.5　RT - PCR 法检测大鼠心肌组织 *CAMK* Ⅱ、*PLN* 和 *RyR2* 基因表达量　取 - 80 ℃冰箱保存的心肌组织,恢复至室温。取 30 mg 心肌组织,采用 Trizol 法提取总 RNA,按照试剂盒说明书逆转录得到 cDNA,使用荧光定量 PCR 试剂盒配制 PCR 反应液。采用 2 × Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 试剂盒进行扩增,扩增条件为 95 ℃预变性 30 s,1 个循环,95 ℃变性 15 s、60 ℃退火/延伸 30 s,40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量,引物序列见表 1。

表 1　引物序列

基因	上游引物(5′ - 3′)	下游引物(5′ - 3′)
GAPDH	TTTGAGGGTGCAGCGAACTT	ACAGCAACAGGGTGGTGGAC
CAMK Ⅱ	ACTTGCGTAAGCACTCCACT	TGGGTCCTGTCAACGGTCAAC
PLN	AGCACAGCTGTCTGGTTTGT	GGGTTTGACCAGCAAGCAAG
RyR2	CAGTCTGGCTTGCTGGTACA	TGAAGTCACAGGATCCCAACG

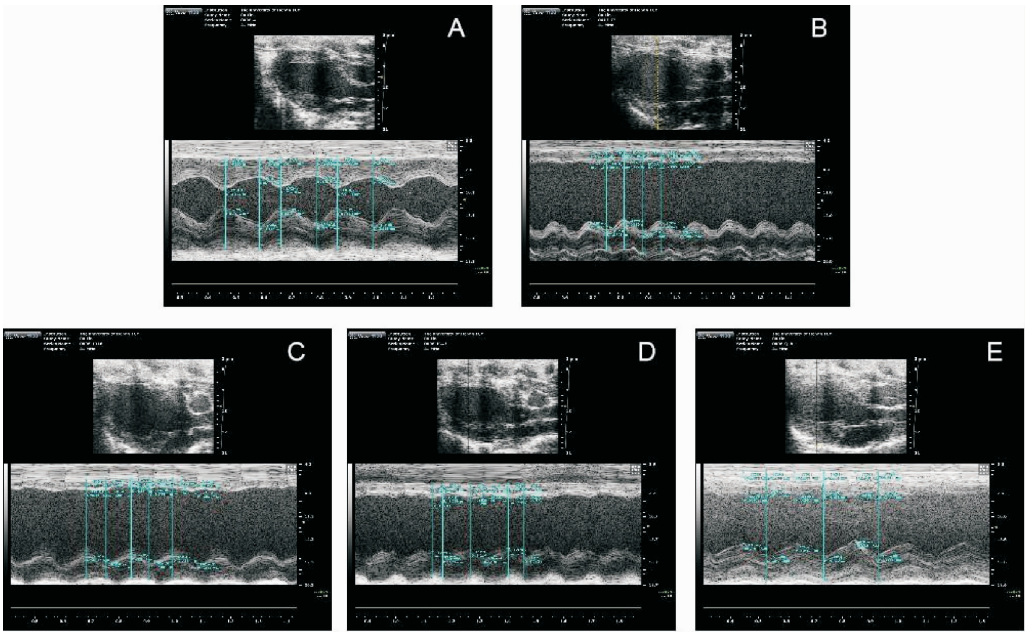
2.6　Western blot 法检测大鼠心肌组织 RyR2、CAMK Ⅱ、PLN 蛋白表达量　取 20 mg 心肌组织,经眼科剪剪碎,加入预冷的 RIPA 裂解液匀浆,4 ℃、12 000 r · min^{-1} 离心 10 min,取上清采用 Bradford

法进行蛋白定量。取等量蛋白(50 μg)经 10% 分离胶/4% 浓缩胶系统进行 SDS - PAGE 垂直电泳(80 V 30 min→120 V 90 min),随后采用半干式电转印系统将蛋白转移至 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉封闭 1 h,加入一抗(CAMK Ⅱ、RyR2 稀释浓度 1∶500,PLN、GAPDH 稀释浓度 1∶5 000),4 ℃孵育过夜;加入 HRP 标记二抗(山羊抗兔二抗稀释浓度 1∶5 000,山羊抗小鼠二抗稀释浓度 1∶4 000),37 ℃ 摇床孵育 2 h。化学发光(ECL)法显影,Image J 软件测定蛋白条带的灰度值,以 GAPDH 作为内参蛋白。蛋白相对表达量 = 目的蛋白灰度值/GAPDH 灰度值。

2.7　统计学方法　采用 SPSS 27.0 软件进行统计学分析,计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。若数据服从正态分布,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 *LSD* - *t* 检验;若数据不服从正态分布,采用多样本秩和检验。$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3　结果

3.1　参附益心颗粒对大鼠心功能的影响　与 CON 组比较,MODEL 组大鼠 LVEF、LVFS、IVSd、IVSs 减少,LVEDd、LVEDs 增加($P < 0.05$)。与 MODEL 组比较,SFYXG - M 组大鼠 LVEF 增加($P < 0.05$);SFYXG - H 组大鼠 LVEF 增加,LVEDs 减少($P < 0.05$);QLQXC 组大鼠 LVEF、LVFS、IVSs 增加,LVEDd、LVEDs 减少($P < 0.05$)。见图 1、表 2。



注:A:CON 组;B:MODEL 组;C:SFYXG - M 组;D:SFYXG - H 组;E:QLQXC 组。

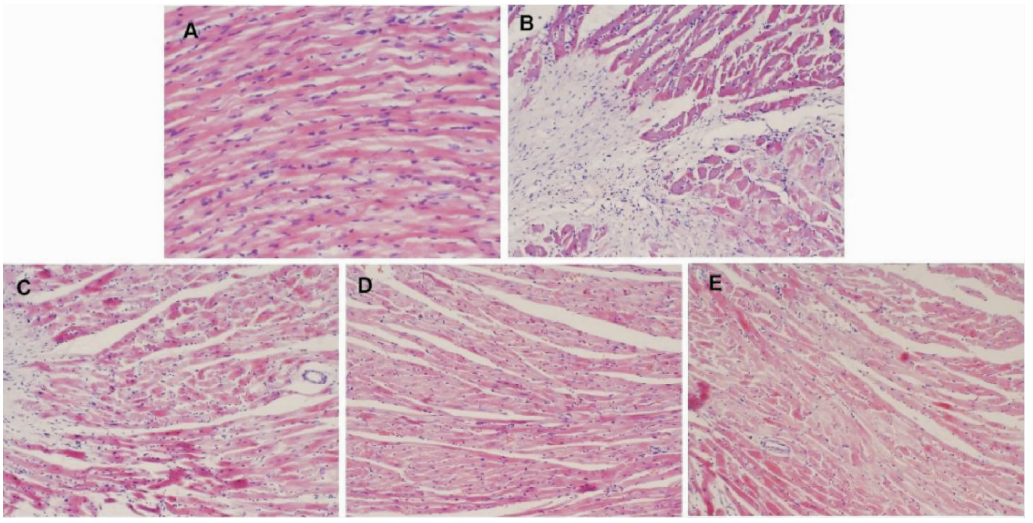
图 1　各组大鼠心脏超声图

表 2　各组大鼠心功能指标比较　($\bar{x} \pm s$)

组别	*n*	LVEF/%	LVFS/%	IVSd(*l*/mm)	IVSs(*l*/mm)	LVEDd(*l*/mm)	LVEDs(*l*/mm)
CON 组	6	86.26 ± 8.03	58.09 ± 11.71	2.42 ± 0.22	3.86 ± 0.46	5.36 ± 0.58	2.28 ± 0.80
MODEL 组	6	21.57 ± 7.45*	10.56 ± 3.86*	1.40 ± 0.71*	1.44 ± 0.61*	10.29 ± 1.05*	9.17 ± 0.57*
SFYXG - M 组	6	34.55 ± 2.93#	17.42 ± 1.67	1.27 ± 0.27	1.43 ± 0.40	9.64 ± 0.70	7.96 ± 0.59
SFYXG - H 组	6	39.33 ± 5.71#	20.11 ± 3.14	1.51 ± 0.57	1.86 ± 0.95	9.03 ± 1.36	7.24 ± 1.31#
QLQXC 组	6	44.87 ± 4.72#	23.19 ± 3.04#	2.12 ± 0.59	3.03 ± 1.31#	7.92 ± 1.75#	6.06 ± 1.28#

注:与 CON 组比较,*$P < 0.05$;与 MODEL 组比较,#$P < 0.05$。

3.2　参附益心颗粒对大鼠心肌组织病理形态的影响　HE 染色显示,CON 组大鼠心肌细胞轮廓清晰,排列规整,间隙正常,大小均一,无炎症细胞浸润;MODEL 组大鼠心肌细胞形态不规则,排列无序,间隙增宽,可见明显炎症细胞浸润;SFYXG - M 组大鼠见少量心肌细胞形态不规则,局部纤维化,有大量炎症细胞浸润;SFYXG - H 组、QLQXC 组大鼠心肌细胞形态基本一致,排列较规整,间隙略增宽,炎症细胞浸润较少,见图 2。



注：A：CON 组；B：MODEL 组；C：SFYXG－M 组；D：SFYXG－H 组；E：QLQXC 组。

图 2　各组大鼠心肌组织病理染色图（HE，×200）

3.3　参附益心颗粒对大鼠心肌组织 *RyR2*、*CAMK* Ⅱ、*PLN* 基因表达水平的影响　与 CON 组比较，MODEL 组大鼠心肌组织 *RyR2* mRNA 水平降低，*CAMK* Ⅱ mRNA、*PLN* mRNA 水平升高（$P<0.05$）。与 MODEL 组比较，SFYXG－M 组、SFYXG－H 组、QLQXC 组大鼠心肌组织 *RyR2* mRNA 水平升高，*CAMK* Ⅱ mRNA、*PLN* mRNA 水平降低（$P<0.05$）。与 SFYXG－M 组比较，QLQXC 组大鼠 *RyR2* mRNA、*CAMK* Ⅱ mRNA 水平升高（$P<0.05$），SFYXG－H 组大鼠 *CAMK* Ⅱ mRNA 水平降低（$P<0.05$）。与 SFYXG－H 组比较，QLQXC 组大鼠 *CAMK* Ⅱ mRNA 水平升高（$P<0.05$）。见表 3。

表 3　各组大鼠心肌组织 *RyR2* mRNA、*CAMK* Ⅱ mRNA、*PLN* mRNA 水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	*RyR2* mRNA	*CAMK* Ⅱ mRNA	*PLN* mRNA
CON 组	3	1.00±0.16	1.00±0.05	1.00±0.05
MODEL 组	3	0.76±0.16*	3.88±0.18*	1.47±0.13*
SFYXG－M 组	3	1.05±0.16$^{\#f}$	2.35±0.20$^{\#f}$	1.20±0.02$^{\#}$
SFYXG－H 组	3	1.15±0.05$^{\#}$	1.44±0.09$^{\#f\triangle}$	1.16±0.02$^{\#}$
QLQXC 组	3	1.32±0.19$^{\#}$	2.60±0.10$^{\#}$	1.08±0.09$^{\#}$

注：与 CON 组比较，$^{*}P<0.05$；与 MODEL 组比较，$\#P<0.05$；与 QLQXC 组比较，$fP<0.05$；与 SFYXG－M 组比较，$\triangle P<0.05$。

3.4　参附益心颗粒对大鼠心肌组织 RyR2、CAMK Ⅱ、PLN 蛋白表达水平的影响　与 CON 组比较，MODEL 组大鼠心肌组织 RyR2 蛋白表达水平降低，CAMK Ⅱ、PLN 蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。与 MODEL 组比较，SFYXG－M 组、SFYXG－H 组、QLQXC 组大鼠心肌组织 RyR2 蛋白表达水平升高，CAMK Ⅱ、PLN 蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。与 SFYXG－M 组比较，QLQXC 组、SFYXG－H 组大鼠 CAMK Ⅱ、PLN 蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。见图 3、表 4。

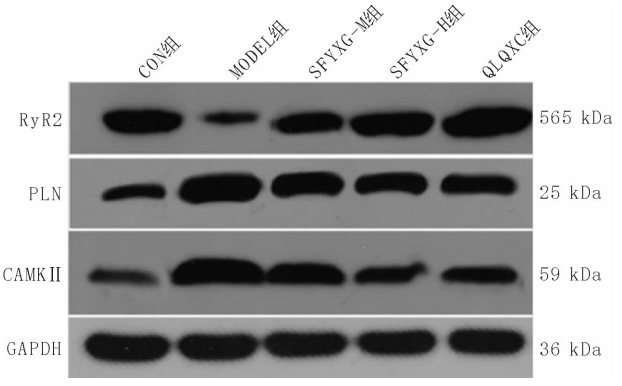


图 3　各组大鼠心肌组织 RyR2、PLN、CAMK Ⅱ 蛋白条带图

表 4　各组大鼠心肌组织 RyR2、CAMK Ⅱ、PLN 蛋白表达水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	RyR2	CAMK Ⅱ	PLN
CON 组	3	1.06±0.19	0.39±0.05	0.43±0.05
MODEL 组	3	0.52±0.11*	0.82±0.03*	0.65±0.03*
SFYXG－M 组	3	0.79±0.21$^{\#}$	0.67±0.07$^{\#f}$	0.47±0.08$^{\#f}$
SFYXG－H 组	3	0.95±0.12$^{\#}$	0.53±0.01$^{\#\triangle}$	0.33±0.06$^{\#\triangle}$
QLQXC 组	3	0.87±0.07$^{\#}$	0.52±0.05$^{\#}$	0.31±0.03$^{\#}$

注：与 CON 组比较，$^{*}P<0.05$；与 MODEL 组比较，$\#P<0.05$；与 QLQXC 组比较，$fP<0.05$；与 SFYXG－M 组比较，$\triangle P<0.05$。

4　讨论

近年来，我国 HF 发病率呈逐年上升趋势，探索 HF 的新疗法是医学界持续关注的热点问题[15]。在 HF 的病理进程中，心肌收缩功能衰退是引发心脏泵血功能障碍的关键因素。心肌细胞舒缩活动的分子

机制研究表明,细胞内钙信号传导系统的异常调控是影响心肌收缩的核心要素[16]。心衰后心肌中 Ca^{2+} 的摄取和释放活性受到抑制,从而引发一系列病理生理反应[17]。Ca^{2+} 转运系统功能异常导致钙稳态调控网络功能紊乱,是导致心衰心肌细胞舒缩功能障碍的重要分子机制[15]。在冠状动脉粥样硬化性心脏病所致心肌细胞缺氧的情况下,能量代谢紊乱与钙稳态失衡之间形成相互作用的病理网络。Ca^{2+} 浓度异常升高会诱发线粒体结构损伤,呼吸链复合物功能障碍及活性氧生成增加,促使细胞代谢模式由高效氧化磷酸化向低效糖酵解途径代偿性偏移,导致能量产生不足,形成恶性循环[18]。在 HF 发生发展过程中,众多参与 Ca^{2+} 调节的因子发生改变,导致钙调控异常,破坏钙稳态,损害心肌细胞能量供应及收缩能力。

在心肌兴奋 - 收缩耦联过程中,肌浆中的 Ca^{2+} 通过肌浆/内质网 Ca^{2+} - ATP 酶(sarcoplasma/endoplasmic reticulum Ca^{2+} - ATPase,SERCA2a)逆浓度梯度被摄取进入肌质网。PLN 是调控 SERCA 活性的关键蛋白,去磷酸化的 PLN 可抑制 SERCA 活性,而 PLN 磷酸化后对 SERCA 的抑制作用解除[19]。研究发现,在心肌梗死引发的 HF 模型中,左心室心肌组织 PLN 在转录和翻译水平的表达上调,而 SERCA2a 表达显著降低,使 PLN/SERCA2a 的比值升高,进一步加剧心功能障碍[20]。钙离子/钙调蛋白依赖性蛋白激酶(Ca^{2+}/calmodulin - dependent protein kinases,CAMKs)在 Ca^{2+} 调控中发挥重要作用[21]。在 HF 中,CAMK Ⅱ表达明显上调[22],其通过催化 PLN 的 Thr17 位点磷酸化,减弱对 SERCA2a 的抑制效应,进而增强 Ca^{2+} 转运活性。兰尼碱受体(ryanodine receptors,RyRs)是位于细胞肌浆网上的钙释放调控因子[23],其中 RyR2 亚型主要分布于心脏,通过 Ca^{2+} 诱导的 Ca^{2+} 释放(Ca^{2+} induced Ca^{2+} release,CICR)机制参与心脏的兴奋 - 收缩耦联。RyR2 功能异常会引起 Ca^{2+} 调节紊乱而导致心律失常、心力衰竭等多种心脏疾病[24]。心衰时肌浆网 RyR2 受体密度下降而亲和力增加,且下调程度与 HF 严重程度呈正相关[25]。

中医认为,HF 的基本病机为本虚标实,病理特征为元气亏虚(气虚、阳虚、阴虚)与实邪(血瘀、痰饮、水停)交互作用。心气不足为始动病机,随着疾病进展演变为阳虚、血瘀、水停等复合证候,从而促进 HF 的发生、发展及恶化[26],这与现代医学中心功能由代偿期向失代偿期转化的病理进程相对应。基于此证候演化规律,HF 的基本治疗原则为益气温阳、活血利水。参附益心颗粒(原名心衰康颗粒)即基于 HF“阳气虚衰、血瘀水停”的中医病机理论组方而成,方中人参配伍附子、桂枝旨在温补心肾之阳,丹参、赤芍、益母草共同发挥活血化瘀利水功效,猪苓、泽泻、葶苈子以化湿利水,砂仁、大枣共奏补中益气之功。全方标本兼顾、补泻兼施,治疗气虚血瘀、阳虚水停型 HF 疗效显著。

本研究发现,HF 大鼠 LVEF 降至 50% 以下,表明心梗后心衰模型建立成功。参附益心颗粒可升高 HF 大鼠的 LVEF、LVFS,改善心功能。HF 大鼠胞浆中 Ca^{2+} 稳态调节酶 PLN、CAMK Ⅱ蛋白和基因表达增加,RyR2 蛋白和基因表达减少,经参附益心颗粒治疗后逆转。由此提示,参附益心颗粒具有改善心肌收缩功能、调节 Ca^{2+} 稳态的作用,这可能是其药效机制的关键环节。

综上所述,参附益心颗粒可减轻心梗后心衰大鼠的心肌损伤,其作用机制可能与调节钙离子稳态有关。未来,将从心肌能量代谢的角度,深入解析参附益心颗粒改善 HF 的分子机制,重点聚焦线粒体功能调控、三磷酸腺苷合成代谢途径以及钙信号传导网络等关键生物学过程之间的交互作用。

参考文献:

[1] CRESPO - LEIRO M G, METRA M, LUND L H, et al. Advanced heart failure: a position statement of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology[J]. Eur J Heart Fail, 2018, 20(11): 1505 - 1535.

[2] ZAMORANO J L, GONZALEZ L A. Advances in heart failure management[J]. Med Clinica Engl Ed, 2024, 163(1): 32 - 39.

[3] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2023 概要[J]. 中国循环杂志, 2024, 39(7): 625 - 660.

[4] SAVARESE G, BECHER P M, LUND L H, et al. Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology[J]. Cardiovasc Res, 2023, 118(17): 3272 - 3287.

[5] 王振涛, 董丽莎, 边汝涛, 等. 抗纤益心方通过调控 SERCA2a 蛋白抑制扩张型心肌病大鼠心肌细胞凋亡的机制研究[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(1): 173 - 177.

[6] 朱明军, 王永霞, 李彬, 等. 参附益心颗粒辨证联合西药治疗慢性心力衰竭的多中心、随机、双盲、安慰剂对照研究[J]. 中医杂志, 2019, 60(21): 1843 - 1848.

[7] 王彬, 王新陆, 李兰馨, 等. 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨参附益心颗粒治疗心力衰竭的作用机制

[J]. 中药新药与临床药理,2024,35(9):1352 - 1363.
[8]谢世阳,王幼平,崔琳,等. 参附益心颗粒对心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌线粒体呼吸功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2020,40(1):59 - 64.
[9]刘倩茹,王新陆,朱明军,等. 参附益心颗粒对 AngⅡ诱导的 H9c2 心肌细胞损伤及 PGC - 1α 信号通路相关因子的影响[J]. 中医杂志,2022,63(7):679 - 687.
[10]王新陆,李彬,谢世阳,等. 参附益心方对心肌梗死后心力衰竭大鼠心功能及能量代谢相关因子的影响[J]. 中华中医药杂志,2021,36(5):2521 - 2525.
[11]闫奎坡,朱翠玲,孙彦琴,等. 两种冠状动脉结扎法制作大鼠急性心肌梗死模型的比较[J]. 国际心血管病杂志,2016,43(2):107 - 109.
[12]常丽萍,秘红英,张军芳,等. 芪苈强心胶囊对 AMI 致 CHF 大鼠脂肪酸代谢的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2017,37(6):716 - 720.
[13]王小晓,王幼平,谢世阳,等. 参附益心颗粒对大鼠急性心梗后心功能及心肌组织的影响[J]. 中药药理与临床,2017,33(3):142 - 146.
[14]谢世阳,王幼平,王小晓,等. 参附益心颗粒对心力衰竭大鼠心肌 ATP 含量及解偶联蛋白 - 2 的影响[J]. 中华中医药杂志,2017,32(10):4412 - 4415.
[15]周晨,刘群,陆凤燕,等. 针刺联合乌头碱改善心力衰竭的效应及其钙调机制探讨[J]. 中医杂志,2020,61(8):681 - 685.
[16]BAZOUKIS G, SAPLAOURAS A, EFTHYMIOU P, et al. Cardiac contractility modulation in patients with heart failure - A review of the literature[J]. Heart Fail Rev, 2024, 29(3):689 - 705.
[17]杨田,刘倩茹,崔琳,等. 基于心肌细胞钙稳态调节的防治心力衰竭中药作用探讨[J]. 时珍国医国药,2021,32(2):418 - 420.
[18]DO T Q, KNOLLMANN B C. Inhibitors of intracellular RyR2 calcium release channels as therapeutic agents in arrhythmogenic heart diseases[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2025, 65(1):443 - 463.
[19]刘纽,田振军. 心梗大鼠通过有氧运动激活 PI3K - Akt - PKG - 1/p - PLN - SERCA2a 通路抑制心肌细胞凋亡改善心功能[J]. 生物化学与生物物理进展,2021,48(6):698 - 708.
[20]刘永明. 压力过载性心肌肥厚大鼠心肌力学和肌浆网钙转运异常及坎离颗粒干预的影响[D]. 上海:上海中医药大学,2010.
[21]曹亚选,郑荣菲,王贺. 钙离子/钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ与心力衰竭关系的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(6):1012 - 1015.
[22]武丹,于浩棋,祝德秋. 钙离子/钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ在心血管疾病中的作用进展[J]. 中南药学,2020,18(6):1021 - 1026.
[23]UCHINOUMI H, NAKAMURA Y, SUETOMI T, et al. Structural instability of ryanodine receptor 2 causes endoplasmic reticulum (ER) dysfunction as well as sarcoplasmic reticulum (SR) dysfunction[J]. J Cardiol, 2025, 8: S0914 - 5087(25)00038 - 3.
[24]王倩倩. RyR2 - PBmice 鉴定及 RyR2 基因转座子插入突变对小鼠心脏和胰脏功能的影响[D]. 上海:第二军医大学,2017.
[25]NEEF S, DYBKOVA N, SOSSALLA S, et al. CAMKⅡ - dependent diastolic SR Ca^{2+} leak and elevated diastolic Ca^{2+} levels in right atrial myocardium of patients with atrial fibrillation[J]. Circ Res, 2010, 106(6):1134 - 1144.
[26]吴繁,刘莉,韩宇博,等. 参芪益心方对慢性心力衰竭患者心肌能量代谢的影响[J]. 海南医学院学报,2021,27(6):416 - 420.

收稿日期:2025 - 02 - 20
作者简介:祝慧颖(1998 -),女,河南商丘人,硕士研究生,研究方向:中西医结合防治心血管疾病。
通信作者:崔琳(1980 -),女,河南郑州人,理学硕士,主任药师,研究方向:中西医结合防治心血管疾病。E - mail: henantcm@126.com

编辑:刘凯歌