

冠心舒通胶囊通过调控 AHR/SRC/ERK 通路减轻心肌梗死小鼠心肌细胞凋亡

程 龙¹, 熊 媛², 钱 铭^{2,3}, 杨 慧^{1,3}, 周玉皆^{2,3}, 葛卫红^{1,3*}

1. 南京中医药大学 鼓楼临床医学院, 南京鼓楼医院 药学部, 江苏 南京 210008

2. 中国药科大学 基础医学与临床药学院, 江苏 南京 210009

3. 南京鼓楼医院 药学部, 江苏 南京 210008

摘要: **目的** 探讨冠心舒通胶囊(GXST)通过调控心肌细胞凋亡改善心肌梗死的分子机制。**方法** 40只小鼠随机分为5组,每组8只,分别为对照组、模型组和GXST低、中、高剂量(0.5、1.0、2.0 g·kg⁻¹)组,连续6 d ig给药,对照组和模型组给予等体积0.5% CMC-Na溶液。除对照组外,其他组在第5、6天给小鼠sc异丙肾上腺素(ISO, 150 mg·kg⁻¹)诱导心肌梗死模型。在最后1次sc ISO后16 h,将小鼠麻醉并处死。苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠心肌组织病理变化,使用NIS-Elements BR版采图软件测量左心室相对壁厚(LV-RWT)和室间隔厚度(IVST);TUNEL染色观察心肌细胞凋亡;全自动生化分析仪及相关配套试剂检测血清心肌肌钙蛋白T(cTnT)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌酸激酶(CK)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平;实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测心肌组织B淋巴细胞瘤-2(*Bcl-2*)、*Bcl-2*关联X蛋白(*Bax*)、*Caspase-3* mRNA相对表达量;Western blotting检测*Bcl-2*、*Bax*、*Caspase-3*、cleaved *Caspase-3*、芳香烃受体(AHR)、肉瘤细胞来源的蛋白激酶(SRC)、p-SRC、细胞外调节蛋白激酶(ERK)、p-ERK蛋白表达。**结果** 与模型组比较,GXST组心肌组织病理损伤明显减轻,LV-RWT和IVST显著降低($P<0.05$ 、 0.01);血清中CK、CK-MB、AST、cTnT、LDH、ALT水平显著下降($P<0.01$);TUNEL阳性细胞比例明显减少($P<0.05$);*Caspase-3*、*Bax* mRNA表达显著降低($P<0.05$ 、 0.01),*Bcl-2* mRNA表达显著增加($P<0.05$);*Bcl-2*、AHR、p-SRC、p-ERK蛋白表达显著增加($P<0.05$ 、 0.01),*Bax*、cleaved-*Caspase-3*蛋白表达显著降低($P<0.05$ 、 0.01)。**结论** GXST能够缓解心肌梗死小鼠心肌损伤,抑制心肌细胞凋亡,其机制与激活AHR/SRC/ERK信号通路相关。

关键词: 冠心舒通胶囊;心肌梗死;异丙肾上腺素;凋亡;AHR/SRC/ERK通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)06-1460-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.06.008

Effect of Guanxin Shutong Capsule in alleviating myocardial cell apoptosis in myocardial infarction mice via AHR/SRC/ERK pathway

CHENG Long¹, XIONG Yuan², QIAN Ming^{2,3}, YANG Hui^{1,3}, ZHOU Yujie^{2,3}, GE Weihong^{1,3}

1. Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Department of Pharmacy, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, China

2. School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Department of Pharmacy, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, China

3. Department of Pharmacy, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China

Abstract: **Objective** To investigate the molecular mechanism of Guanxin Shutong Capsule (GXST) in the treatment of myocardial infarction by regulating myocardial cell apoptosis. **Methods** Forty mice were randomly divided into five groups, with eight mice in each group: the control group, the model group, and the low-, medium-, and high-dose GXST groups (0.5, 1.0, and 2.0 g·kg⁻¹). The mice were ig administered for six consecutive days. The control group and the model group were given the same volume of 0.5% CMC-Na solution. Except for the control group, the other groups were subcutaneously injected with isoproterenol (ISO, 150 mg·kg⁻¹)

收稿日期: 2024-10-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(82204720);南京药学会企会合作药物临床综合评价科研专项资助项目(2023ZP10, 2023ZP05)

作者简介: 程 龙(2000—),男,硕士研究生。E-mail: 2719825934@qq.com

*通信作者: 葛卫红,女,教授,主要从事临床药学工作。E-mail: 6221230@sina.com

on the fifth and sixth days to induce myocardial infarction models. Sixteen hours after the last subcutaneous injection of ISO, the mice were anesthetized and sacrificed. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of myocardial tissue. The left ventricular relative wall thickness (LV-RWT) and interventricular septal thickness (IVST) were measured using NIS-Elements BR software. TUNEL staining was used to observe myocardial cell apoptosis. The levels of serum cardiac troponin T (cTnT), lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), creatine kinase (CK), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) were detected using an automatic biochemical analyzer and related reagents. The relative expression levels of *Bcl-2*, *Bax*, and *Caspase-3* mRNA in myocardial tissue were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). The protein expressions of *Bcl-2*, *Bax*, *Caspase-3*, cleaved-*Caspase-3*, aryl hydrocarbon receptor (AHR), src kinase (SRC), p-SRC, extracellular regulated protein kinase (ERK), and p-ERK were detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the myocardial tissue pathological damage in the GXST groups was significantly alleviated, and LV-RWT and IVST were significantly reduced ($P < 0.05$, 0.01); the levels of CK, CK-MB, AST, cTnT, LDH, and ALT in serum were significantly decreased ($P < 0.01$); the proportion of TUNEL-positive cells was significantly reduced ($P < 0.05$); the expressions of *Caspase-3* and *Bax* mRNA were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01), and the expression of *Bcl-2* mRNA was significantly increased ($P < 0.05$); the protein expressions of *Bcl-2*, AHR, p-SRC, and p-ERK were significantly increased ($P < 0.05$, 0.01), and the protein expressions of *Bax* and cleaved *Caspase-3* were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01). **Conclusion** GXST can alleviate myocardial injury in mice with myocardial infarction and inhibit myocardial cell apoptosis, and its mechanism is related to the activation of the AHR/SRC/ERK signaling pathway.

Key words: Guanxin Shutong Capsule; myocardial infarction; isoproterenol; apoptosis; AHR/SRC/ERK pathway

心肌梗死是由于心肌区域长期缺血导致的心肌细胞死亡和缺血性损伤。心肌梗死在全球范围内有很高的发病率和死亡率,严重威胁患者的生命健康^[1-3]。目前溶栓、冠状动脉旁路手术和经皮冠状动脉介入治疗等方法已广泛应用于心肌梗死的治疗。然而,预后不良仍然是心肌梗死患者需面临的挑战^[4]。冠心舒通胶囊(GXST)常用于冠心病和心绞痛的治疗,其主要组分包括广枣、丹参、丁香、冰片、天竺黄,具有活血化瘀、通经活络的功效^[5-6]。临床研究表明,GXST有利于降低心肌损伤标志物和炎症指标水平,并提高血管再通率,改善患者血脂代谢和血小板活化功能^[7-8]。现代药理学研究表明,GXST可以改善心脏肥大和炎症,缓解心肌纤维化,减少心肌梗死相关心室重塑^[9]。此外有研究发现^[10],GXST可抑制左冠状动脉结扎诱导的新生大鼠心肌细胞凋亡,增加抗凋亡因子B淋巴细胞瘤-2(*Bcl-2*)的蛋白表达,缓解心肌缺血再灌注损伤。但GXST在心肌梗死中发挥抗凋亡作用的潜在机制尚未完全阐明。

心肌细胞凋亡与心肌梗死的发生发展密切相关,在心肌梗死急性期和慢性期中都起着重要作用,是心肌梗死进展至心力衰竭的关键过程^[11]。研究表明,心肌梗死发生后,抗凋亡因子*Bcl-2*表达减少,*Bcl-2*关联X蛋白(*Bax*)和cleaved-*Caspase-3*高度表达,心肌细胞活性下降,凋亡细胞数量增加。有研究指出,芳香烃受体(AHR)/非受体酪氨

酸激酶肉瘤细胞来源的蛋白激酶(SRC)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)通路参与细胞增殖和存活,而其是否在心肌梗死中调控细胞凋亡、发挥心肌保护作用,还有待进一步研究。

本研究构建了异丙肾上腺素(ISO)诱导的心肌梗死小鼠模型,基于AHR/SRC/ERK信号通路探讨GXST对心肌梗死小鼠心肌细胞凋亡的影响。

1 材料

1.1 药物及主要试剂

GXST,购自陕西步长制药有限公司,规格每盒0.3 g×60粒,货号Z20020055;根据中国药典,每1 000粒由广枣480 g、丹参240 g、丁香60 g、冰片30 g、天竺黄30 g制成,其主要活性化学成分包括丁香酚(≥每粒2.0 mg)、龙脑(≥每粒14.0 mg)、丹参酮II_A(≥每粒0.15 mg)、丹酚酸B(≥每粒2.9 mg)。将GXST去除胶囊壳,对药粉进行称重,然后研磨并溶于0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液至0.20、0.10和0.05 mg·mL⁻¹。

ISO(货号I5627)购自美国Sigma公司;TUNEL试剂盒(货号P0017)、抗荧光淬灭封片剂(货号PN0024)购自武汉皮诺飞生物科技有限公司;乳酸脱氢酶(LDH,货号OSR6128)、肌酸激酶同工酶(CK-MB,货号OSR61155)、肌酸激酶(CK,货号OSR6197)、丙氨酸氨基转移酶(ALT,货号OSR6007)、天冬氨酸氨基转移酶(AST,货号OSR6009)试剂盒,购自美国贝克曼库尔特公司;

心肌肌钙蛋白 T (cTnT) 试剂盒 (货号 09315357190), 德国罗氏公司; RIPA 裂解缓冲液、BCA 试剂 (货号 C1053、P1511), 中国普利莱基因技术有限公司; 脱脂牛奶 (货号 1172GR500), 德国 BioFroxx 公司; AHR、SRC、p-SRC 抗体 (货号 A1451、A18240、AP1370), 中国 Abclonal 公司; ERK、p-ERK、Bcl-2、Bax、Caspase-3、cleaved Caspase-3 抗体 (货号 T40071、T40072、T40056、T40051、T40044、TA7022), 中国 Abmart 公司; GAPDH 抗体 (货号 5174S), 美国 Cell Signaling Technology 公司; 二抗、三抗 (货号分别为 5260-0043、5200-0029), 美国 Seracare Life Sciences 公司; 增强型化学发光试剂 (货号 36223ES76), 中国翌圣生物科技有限公司; TRIzol™ 试剂、TransScript All-in-One First Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR、SYBR Green Master Mix (货号 ER501、AT341、AQ131-02), 北京全式金生物技术有限公司; 引物购自生工生物股份有限公司。

1.2 主要仪器

CKX53 型倒置显微镜 (日本奥林巴斯公司); LightCycler 480 II 型实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 仪、Cobas integra 800 型全自动生化分析仪、Cobas 型全自动生化分析仪 (德国罗氏公司); 3020 型酶标仪 (美国赛默飞世尔科技公司); 5200 型凝胶成像系统 (中国上海天能生命科学有限公司); 5424R 型离心机 (德国艾本德公司); BG verMINI 型垂直凝胶电泳系统和 BG vert BLOT 型垂直转移系统 (中国北京百晶生物技术有限公司); AU 5800 全自动生化分析仪 (美国贝克曼库尔特公司); ECLIPSE Ti2 型 Nikon 倒置显微镜 (日本尼康公司)。

1.3 动物

雄性 C57BL/6 小鼠, 体质量 22~24 g, 购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (苏) 2023-0009。动物常规饲养, 所有动物实验均经南京鼓楼医院动物实验部和动物伦理委员会批准, 申请批准号为 2024AE01033。

2 方法

2.1 动物分组、给药、造模

40 只小鼠随机分为 5 组, 每组 8 只, 分别为对照组、模型组和 GXST 低、中、高剂量 (0.5、1.0、2.0 g·kg⁻¹) 组。连续 6 d ig 给药, 对照组和模型组给予等体积 0.5% CMC-Na 溶液。除对照组外, 其他组参照文献报道方法在第 5、6 天给小鼠 sc ISO

(150 mg·kg⁻¹) 诱导心肌梗死模型^[12]。在最后 1 次 sc ISO 后 16 h, 将小鼠麻醉并处死。

2.2 组织学分析

心脏组织在 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h, 并包埋在石蜡中, 切成 4 μm 的切片, 并根据标准方案用苏木精-伊红 (HE) 染色^[13]。具体操作如下: 将石蜡切片取出放入二甲苯中 20 min, 重复 1 次, 进行脱蜡处理; 下行浓度梯度酒精及蒸馏水处理, 各浸泡 5 min 复水; 将切片浸入苏木素中染色 5 min, 然后用流水冲洗 1 min; 用 1%盐酸-乙醇溶液对切片进行分化处理 3 s, 然后流水冲洗 1 min; 将切片浸入 0.6%氨水中进行返蓝处理 5 s, 流水冲洗 10 min 后, 将切片浸入 0.5%伊红染色液中染色 1 min, 然后用蒸馏水洗 1 min; 上行梯度酒精脱水处理; 将切片放入二甲苯中浸泡 3 min, 重复 1 次, 使其透明; 最后用中性树脂封固。在 Nikon 显微镜下进行观察拍照, 观察心脏组织结构变化, 并使用 NIS-Elements BR 版采图软件测量左心室相对壁厚 (LV-RWT) 和室间隔厚度 (IVST)。

2.3 TUNEL 染色检测

通过 TUNEL 检测试剂盒评估心肌细胞凋亡, 操作步骤如下: 脱蜡复水同 HE 染色, 用蛋白酶 K 抗原修复后, 加入现配的 TUNEL 反应混合液, 避光 37 °C 孵育 2 h, 并用 6, 4'-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 对细胞进行核复染, 避光染色 5 min, 滴加荧光封片液, 用盖玻片封片。倒置荧光显微镜检测凋亡细胞。

2.4 小鼠心肌酶含量测定

小鼠腹主动脉取血, 在室温下 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 并收集血清。全自动生化分析仪及相关配套试剂检测 cTnT、LDH、CK-MB、CK、ALT、AST 水平。

2.5 qRT-PCR

使用 TRIzol 试剂提取心脏组织的总 mRNA, 并通过 Trans Script All-in-One First Strand cDNA Synthesis Super Mix 转化为 cDNA 进行 qPCR, SYBR Green Master Mix 用于 PCR 扩增。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因的相对表达量, 以 GAPDH 作为内参。引物序列详见表 1。

2.6 Western blotting 检测

使用 RIPA 裂解缓冲液从心脏组织中提取蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。上样后电泳, 转膜, 然后使用 5%脱脂牛奶室温封闭 2 h, 并在 4 °C 孵育一抗过夜。随后室温孵育二抗 2 h、孵育三抗 1 h, 曝

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequence

基因	正向引物序列 (5'→3')	反向引物序列 (5'→3')
<i>Gapdh</i>	GTGGGAATGGGTCAGAAGGA	CTTCTCCATGTCGTCCAGT
<i>Bcl-2</i>	CCTGTGGATGACTGAGTACCTG	AGCCAGGAGAAATCAAACAGAGG
<i>Bax</i>	AGGATGCGTCCACCAAGAAGCT	TCCGTGTCCACGTCAGCAATCA
<i>Caspase-3</i>	GGAGTCTGACTGGAAAGCCGAA	CTTCTGGCAAGCCATCTCCTCA

光仪曝光，并通过 Image J 软件对蛋白条带进行灰度分析，以 *GAPDH* 为内参。

2.7 统计分析

采用 GraphPad Prism 9.0 统计软件进行数据分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，所有实验至少重复 3 次以上，组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 GXST 对心肌梗死小鼠心肌组织损伤的影响

HE 染色结果显示（图 1），对照组心肌组织排列整齐密集，而模型组心肌纤维走向紊乱，心肌细

胞肿胀，形态模糊；GXST 组心肌组织病理损伤均较模型组减轻。此外，通过测量 LV-RWT 和 IVST 量化心肌损伤，与对照组相比，模型组的 LV-RWT 和 IVST 显著增加 ($P<0.01$)；与模型组比较，GXST 组 LV-RWT 和 IVST 显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。结果表明，GXST 明显减轻了心肌梗死小鼠心肌组织的病理损伤。

3.2 GXST 对心肌梗死小鼠心肌酶水平的影响

当心肌发生缺血梗死时，cTnT、LDH、CK-MB、CK、ALT、AST 的水平可以反映心脏缺血损伤的程

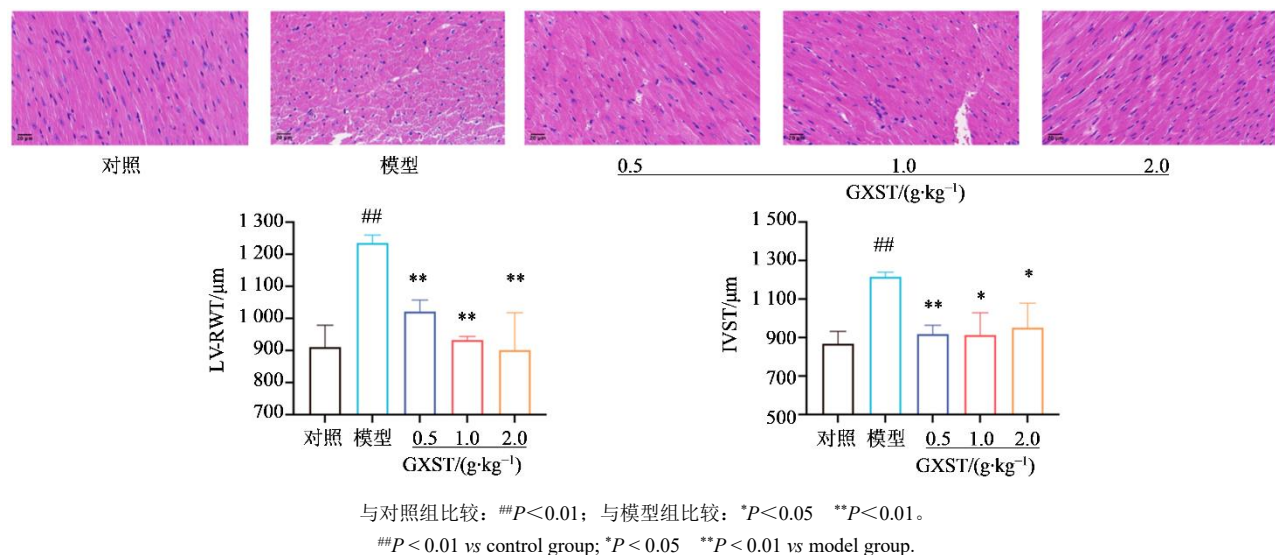


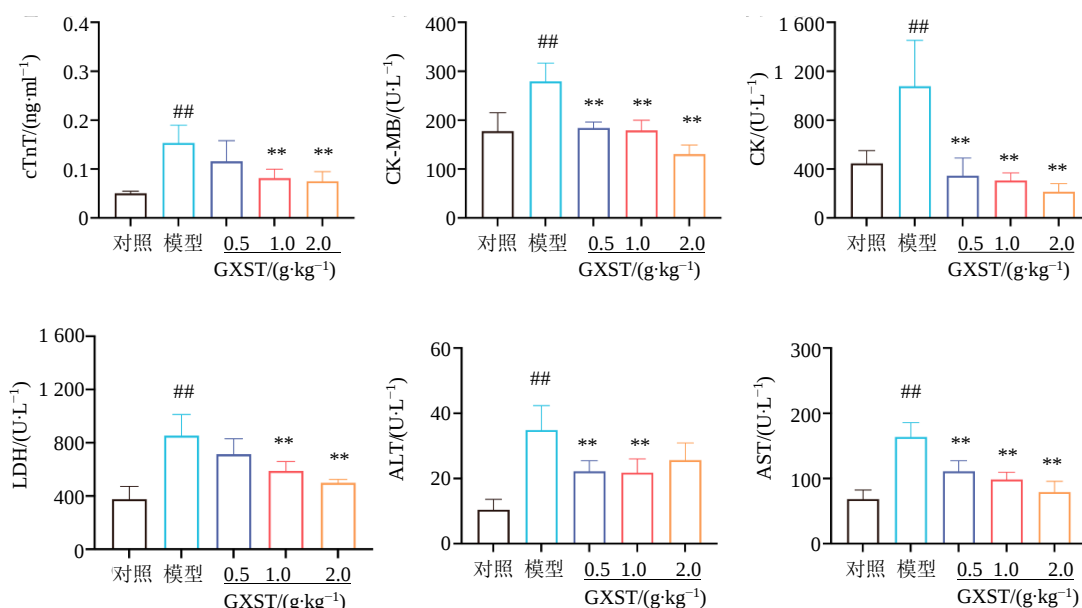
图 1 GXST 对心肌梗死小鼠心肌组织病理损伤、LV-RWT、IVST 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Effect of GXST on myocardial tissue pathological injury, LV-RWT and IVST in mice with myocardial infarction ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

度。如图 2 所示，与对照组相比，模型组血清中 cTnT、CK-MB、CK、LDH、ALT 和 AST 的水平显著升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，GXST 低、中、高剂量组血清中 CK、CK-MB、AST 水平显著下降 ($P<0.01$)，中、高剂量组 cTnT、LDH 水平显著下降 ($P<0.01$)，低、中剂量组 ALT 水平显著下降 ($P<0.01$)。结果表明，GXST 可以减轻心肌梗死小鼠心脏损伤。

3.3 GXST 对心肌梗死小鼠心肌细胞凋亡的影响

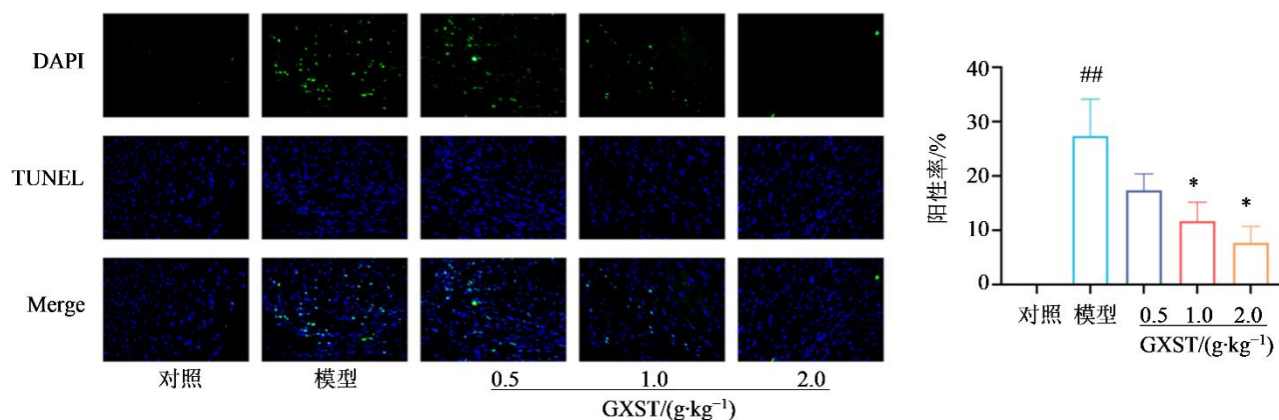
为了评估 GXST 在心肌梗死中的抗凋亡作用，通过 DAPI 和 TUNEL 染色观察细胞凋亡。与对照组相比，模型组的 TUNEL 阳性细胞比例显著增加 ($P<0.01$)；与模型组相比，GXST 中、高剂量组 TUNEL 阳性细胞比例明显减少 ($P<0.05$)。结果显示，GXST 有利于缓解心肌梗死小鼠心肌细胞凋亡。结果见图 3。



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ 。
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 2 各组小鼠血清 cTnT、CK-MB、CK、LDH、ALT、AST 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Fig. 2 Comparison of cTnT, LDH, CK-MB, CK, ALT, and AST levels in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ 。
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group.

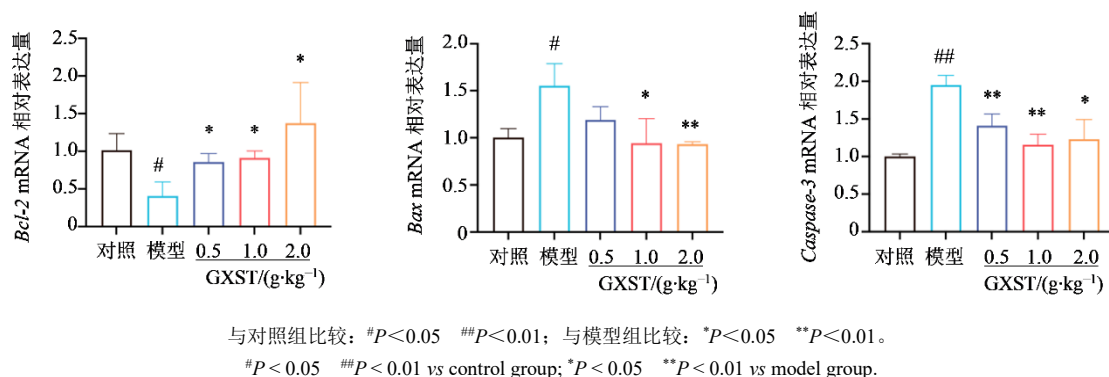
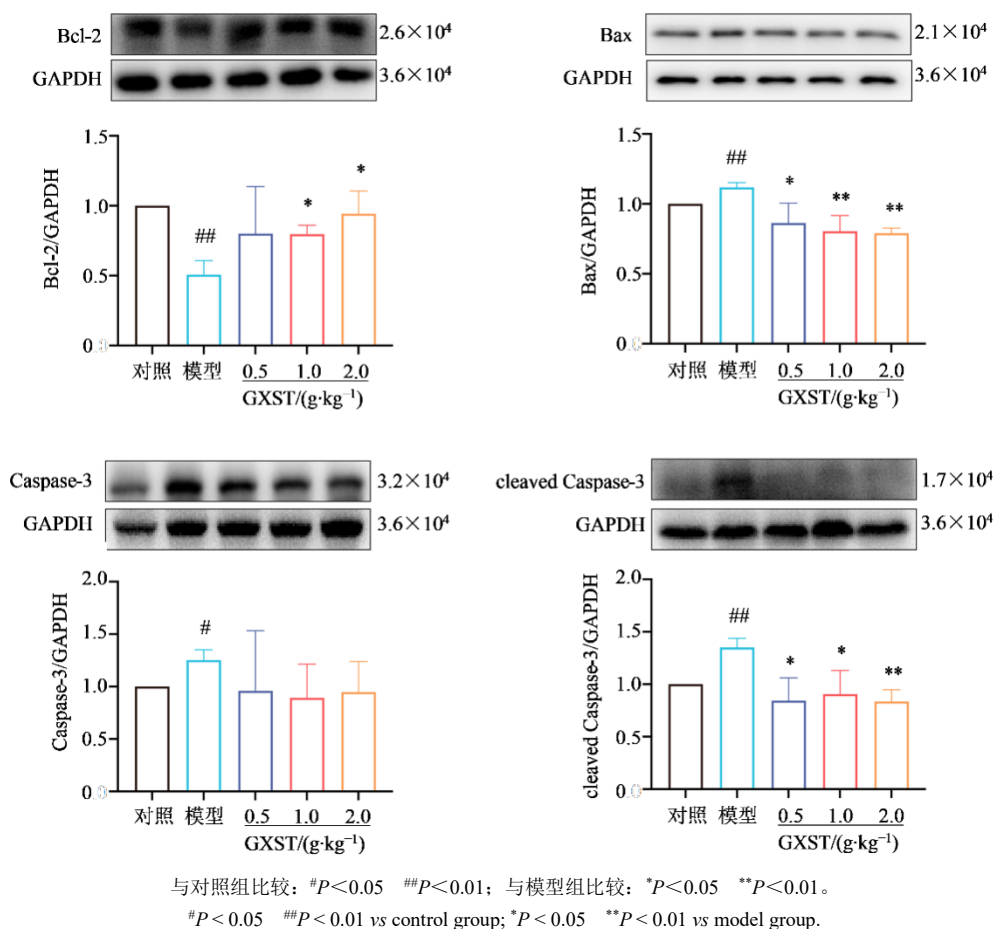
图 3 GXST 对心肌梗死小鼠心肌细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Effect of GXST on myocardial cell apoptosis in MI mice ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.4 GXST 对心肌梗死小鼠心肌细胞凋亡基因和蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组 *Bcl-2* 的 mRNA 表达显著下调, *Bax* 和 *Caspase-3* 的 mRNA 表达显著上调 ($P < 0.01$ 、 0.05); 与模型组比较, GXST 低、中、高剂量治疗后显著逆转 *Bcl-2*、*Caspase-3* mRNA 的表达改变 ($P < 0.05$ 、 0.01), 中、高剂量治疗后显著降低 *Bax* mRNA 的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见图 4。

与 mRNA 水平一致, 与对照组相比, 模型组 *Bcl-2* 的蛋白表达水平显著降低, *Bax*、cleaved-Caspase-3 蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.01$), 表明发生了的心肌细胞凋亡; 与模型组比较, GXST 给药后, 中、高剂量显著增加 *Bcl-2* 蛋白表达 ($P < 0.05$), 低、中、高剂量显著降低 *Bax*、cleaved Caspase-3 蛋白表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 表明 GXST 可以通过调控 *Bcl-2*/*Bax*/cleaved Caspase-3 途径显著抑制 ISO 诱导的心肌梗死中的心肌细胞凋亡。结果见图 5。

图 4 小鼠心肌组织凋亡基因表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)Fig. 4 Relative mRNA expression levels of apoptotic in heart tissues ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)图 5 GXST 对心肌梗死小鼠心肌组织中凋亡相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Fig. 5 Effect of GXST on apoptosis-related protein expression in myocardial tissue of MI mice ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.5 GXST 对心肌梗死小鼠心肌组织中 AHR/SRC/ERK 信号通路相关蛋白表达的影响

如图 6 所示,与对照组小鼠比较,模型组小鼠心脏组织 AHR、p-SRC 和 p-ERK 的蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,中、高剂量 GXST 显著升高 AHR、p-SRC、p-ERK 蛋白表达

($P < 0.05$ 、 0.01)。结果提示, GXST 主要通过促进 SRC 和 ERK 磷酸化发挥抗心肌梗死作用。

4 讨论

心肌梗死是由于冠状动脉闭塞所引发的心肌组织缺氧及缺血,心肌梗死后心肌组织出现大面积坏死,是当今社会威胁人类健康的重大难题^[14]。

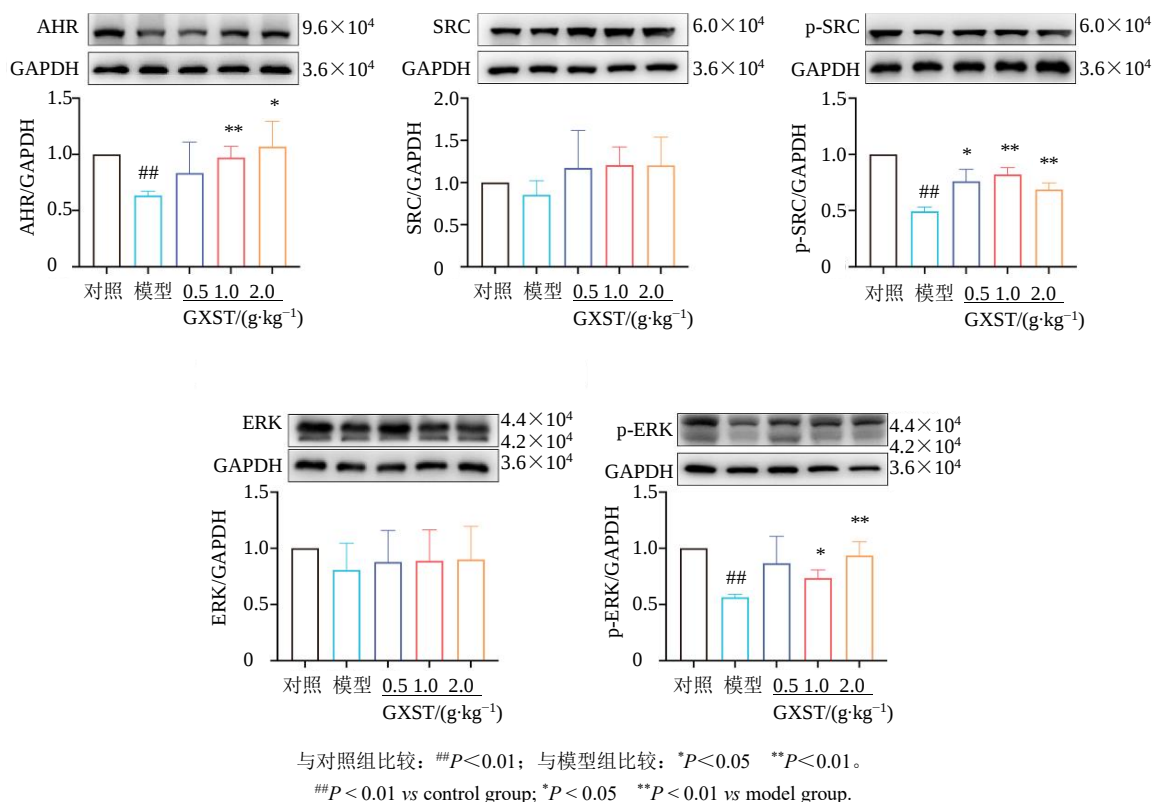


图 6 GXST 对心肌梗死小鼠心肌组织中 AHR/SRC/ERK 信号通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 6 Effect of GXST on expression and phosphorylation of AHR/SRC/ERK signaling pathway in myocardial tissue of MI mice ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

GXST 是一种具有心血管保护作用的中药复方, 目前其治疗心肌梗死的作用及机制尚未完全阐明。本研究结果证实, GXST 能够通过调节 AHR/SRC/ERK 通路抑制心肌细胞凋亡, 从而在心肌梗死中发挥心肌保护作用。

心肌梗死的临床特征表现为左心室几何形状、大小和壁厚变化^[15]。本研究采用 HE 染色观察心肌损伤的组织病理学变化。ISO 是 β 受体激动剂, 对心脏 β_1 受体具有强大的激动作用, 收缩冠状动脉血管增加心肌耗氧量, 大剂量使用后会引起动物的急性心肌缺血损伤, 诱导的心肌梗死模型与临床相似^[12]。本研究中, ISO 刺激诱导小鼠心肌细胞紊乱和肿胀, 心室壁增厚; 而 GXST 治疗后, 心肌组织排列密集整齐, 室壁厚度显著降低。这些结果表明, GXST 可以减轻心脏损伤。

在现代医学中, 心肌酶已被广泛认可并用作诊断心肌梗死的生物标志物, 血清心肌酶水平升高反映了心肌细胞受到了某种程度的损伤或坏死。先前的研究发现, 心肌梗死中氧糖缺失会导致心肌细胞膜不可逆的破坏和心肌细胞死亡, 从而导致心肌损

伤标志物的释放^[16]。cTnT、CK-MB、CK、LDH、ALT 和 AST 对心肌梗死心肌细胞损伤检测高度敏感^[16-18]。本研究的数据显示, ISO 诱导的心肌梗死小鼠血清中 cTnT、CK-MB、CK、LDH、ALT 和 AST 水平显著升高, GXST 治疗显著降低血清心肌酶水平, 表明 GXST 保持了心肌细胞膜的结构和功能完整性。

凋亡是心肌梗死的潜在病理机制, 是引起心肌功能障碍的主要原因。心脏缺血后 2 h~12 周内发生心肌细胞凋亡^[19], 这增加了心脏电导的异质性, 导致心脏功能障碍, 最终导致慢性心力衰竭和猝死^[20-22]。因此, 抑制心肌细胞凋亡可以有效治疗心肌梗死。之前的研究报道, GXST 抵抗大鼠心肌缺血再灌注后心肌细胞凋亡^[10], 但其在心肌梗死中抗凋亡的潜在机制尚不清楚。本研究通过 TUNEL 染色检测证实了 GXST 治疗抑制了心肌细胞凋亡。据报道, 内在线粒体途径在调节细胞凋亡中起着不可替代的作用。Bcl-2 能够通过阻止细胞色素 C 释放到细胞质中来抑制细胞凋亡, 而 Bax 通过拮抗 Bcl-2 的抗凋亡作用来促进细胞凋亡。作用于

Bcl-2/Bax 下游的 Caspase-3 是 Caspases 凋亡级联反应的末端和不可逆成员^[23]。本研究结果表明, GXST 治疗逆转了心肌梗死小鼠心肌组织中 Bcl-2 的减少以及 Bax 和 Caspase-3 的增加, 表明 GXST 的心脏保护作用与抑制线粒体凋亡途径有关。

芳香烃受体是一类配体依赖性转录因子, 间接参与了增殖、分化、细胞凋亡、氧化应激、泛素化和蛋白酶体降解过程^[24-25]。心肌梗死时 AHR 的激活可以调节免疫反应, 减少梗死面积, 改善左心室射血分数^[26]。另一项研究表明, 激活 AHR 可以增加 Bcl-2 并降低 Caspase-3 和 Bax 的表达来抑制心肌细胞凋亡, 从而减轻心肌梗死大鼠的心脏重塑和功能障碍^[27]。SRC 激酶家族促进细胞生存、DNA 合成和细胞增殖, 过表达 SRC 可以保护心肌细胞免受细胞凋亡, 并促进心肌细胞存活^[28-30]。同时, ERK 信号传导的激活保护心肌梗死心脏免受线粒体功能障碍、细胞凋亡和缺血性损伤^[31]。此外, SRC 通过介导 AHR 对 ERK 的调控, 参与细胞增殖和存活^[32-34]。达沙替尼是一种 SRC 抑制剂, 通过抑制 ERK 的活性来降低心肌细胞的存活率, 此外曲美他嗪通过激活 ERK 信号通路来减少心肌梗死大鼠心肌细胞的凋亡^[35-36]。本研究发现, 在 ISO 诱导心肌梗死小鼠模型中, GXST 治疗显著上调了 AHR 蛋白表达, SRC 和 ERK 蛋白磷酸化, 结合上述实验结果, 提示 GXST 可能通过调控 AHR/SRC/ERK 信号通路改善心肌梗死小鼠心功能, 并减少心肌细胞凋亡和心肌损伤。

本研究结果表明, GXST 通过上调 AHR/SRC/ERK 信号通路抑制心肌细胞凋亡, 从而保护心肌梗死后心脏的结构和功能完整性, 为 GXST 用于临床治疗心肌梗死提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Safiri S, Karamzad N, Singh K, et al. Burden of ischemic heart disease and its attributable risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019 [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2022, 29(2): 420-431.
- [2] Roth G A, Mensah G A, Johnson C O, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: Update from the GBD 2019 study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(25): 2982-3021.
- [3] Jerome N A, Abodunrin A O, Nwoke E E, et al. Pleiotropic attenuating effect of Ginkgo biloba against isoprenaline-induced myocardial infarction via improving Bcl-2/mTOR/ERK1/2/Na⁺, K⁺-ATPase activities [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(2): 282-292.
- [4] Jiang H, Wang H S, Liu T, et al. Co-cultured the MSCs and cardiomyocytes can promote the growth of cardiomyocytes [J]. *Cytotechnology*, 2018, 70(2): 793-806.
- [5] Cao Y J, He X, Lui F, et al. Chinese medicinal formula Guanxin Shutong capsule protects the heart against oxidative stress and apoptosis induced by ischemic myocardial injury in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 7(4): 1033-1039.
- [6] 权党军, 张建霞, 张岩, 等. 冠心舒通胶囊联合重组人脑利钠肽治疗慢性心力衰竭的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2024, 39(7): 1780-1785.
Quan D J, Zhang J X, Zhang Y, et al. Clinical study of Guanxin Shutong Capsules combined with recombinant human brain natriuretic peptide in treatment of chronic heart failure [J]. *Clin Drug*, 2024, 39(7): 1780-1785.
- [7] 李晓妮, 牛颖. 冠心舒通胶囊联合瑞替普酶溶栓治疗急性 ST 段抬高型心肌梗死的效果 [J]. *临床医学研究与实践*, 2022, 7(1): 158-161.
Li X N, Niu Y. Effect of Guanxin Shutong capsule combined with reteplase thrombolysis in the treatment of acute ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Clin Res Pract*, 2022, 7(1): 158-161.
- [8] 王瑶. 冠心舒通胶囊联合单硝酸异山梨酯预防急性心肌梗死患者 PCI 术后再灌注心律失常的效果 [J]. *中国民康医学*, 2024, 36(8): 96-99.
Wang Y. Effects of Guanxin Shutong capsules combined with Isosorbide mononitrate on prevention of reperfusion arrhythmia after PCI in patients with acute myocardial infarction [J]. *Med J Chin People's Health*, 2024, 36(8): 96-99.
- [9] Zhu J Q, Zhou H F, Li C, et al. Guanxinshutong capsule ameliorates cardiac function and architecture following myocardial injury by modulating ventricular remodeling in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130: 110527.
- [10] Liang Z, Liu L F, Yao T M, et al. Cardioprotective effects of Guanxinshutong (GXST) against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2012, 9(2): 130-136.
- [11] Shan T T, Li X Y, Xie W Z, et al. Rap1GAP exacerbates myocardial infarction by regulating the AMPK/SIRT1/NF-

- κB signaling pathway [J]. Cell Signal, 2024, 117: 111080.
- [12] 钱铭, 程龙, 熊媛, 等. 异丙肾上腺素诱导小鼠急性心肌梗死模型制备方法研究 [J]. 实用临床医药杂志, 2023, 27(23): 6-11.
Qian M, Cheng L, Xiong Y, et al. Preparation method of acute myocardial infarction model induced by isoproterenol in mice [J]. J Clin Med Pract, 2023, 27(23): 6-11.
- [13] 李苹. 心脏 SIRT3 缺失导致心脏衰老病变的机制研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2023.
Li P. Research on the mechanism of cardiac aging lesions caused by SIRT3 deficiency in the heart [D]. Changsha: Central South University, 2023.
- [14] Samsky M D, Morrow D A, Proudfoot A G, et al. Cardiogenic shock after acute myocardial infarction: A review [J]. JAMA, 2021, 326(18): 1840-1850.
- [15] Schirone L, Forte M, D'Ambrosio L, et al. An overview of the molecular mechanisms associated with myocardial ischemic injury: State of the art and translational perspectives [J]. Cells, 2022, 11(7): 1165.
- [16] Alshehri M A. Cardioprotective properties of Artemisia herba alba nanoparticles against heart attack in rats: A study of the antioxidant and hypolipidemic activities [J]. Saudi J Biol Sci, 2022, 29(4): 2336-2347.
- [17] Hachey B J, Kontos M C, Kristin Newby L, et al. Trends in use of biomarker protocols for the evaluation of possible myocardial infarction [J]. J Am Heart Assoc, 2017, 6(9): e005852.
- [18] Fan J B, Ma J, Xia N, et al. Clinical value of combined detection of CK-MB, MYO, cTnI and plasma NT-proBNP in diagnosis of acute myocardial infarction [J]. Clin Lab, 2017, 63(3): 427-433.
- [19] Jinawong K, Piamsiri C, Apaijai N, et al. Treatment with apoptosis inhibitor restores cognitive impairment in rats with myocardial infarction [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2023, 1869(7): 166809.
- [20] Hou L, Guo J J, Xu F, et al. Cardiomyocyte dimethylarginine dimethylaminohydrolase1 attenuates left-ventricular remodeling after acute myocardial infarction: Involvement in oxidative stress and apoptosis [J]. Basic Res Cardiol, 2018, 113(4): 28.
- [21] Wang X W, Guo Z K, Ding Z F, et al. Inflammation, autophagy, and apoptosis after myocardial infarction [J]. J Am Heart Assoc, 2018, 7(9): e008024.
- [22] Tawfik M K, Ameen A M. Cardioprotective effect of ranolazine in nondiabetic and diabetic male rats subjected to isoprenaline-induced acute myocardial infarction involves modulation of AMPK and inhibition of apoptosis [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2019, 97(7): 661-674.
- [23] Su H, Gorodny N, Gomez L F, et al. Noninvasive molecular imaging of apoptosis in a mouse model of anthracycline-induced cardiotoxicity [J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2015, 8(2): e001952.
- [24] Sondermann N C, Faßbender S, Hartung F, et al. Functions of the aryl hydrocarbon receptor (AHR) beyond the canonical AHR/ARNT signaling pathway [J]. Biochem Pharmacol, 2023, 208: 115371.
- [25] 周云松, 赵琦, 胡芳, 等. 葛根素通过抑制 AHR/氧化应激途径改善酮康唑诱导的大鼠肝损伤研究 [J]. 实用肝脏病杂志, 2024, 27(5): 669-672.
Zhou Y S, Zhao Q, Hu F, et al. Puerarin improves ketoconazole-induced liver injury in rats by inhibiting aromatic hydrocarbon receptors/oxidative stress pathway [J]. J Pract Hepatol, 2024, 27(5): 669-672.
- [26] Seong E, Lee J H, Lim S, et al. Activation of aryl hydrocarbon receptor by ITE improves cardiac function in mice after myocardial infarction [J]. J Am Heart Assoc, 2021, 10(13): e020502.
- [27] Lin X Y, Liu W Q, Chu Y, et al. Activation of AHR by ITE improves cardiac remodelling and function in rats after myocardial infarction [J]. ESC Heart Fail, 2023, 10(6): 3622-3636.
- [28] Ge H, Zhao M, Lee S, et al. Mitochondrial Src tyrosine kinase plays a role in the cardioprotective effect of ischemic preconditioning by modulating complex I activity and mitochondrial ROS generation [J]. Free Radic Res, 2015, 49(10): 1210-1217.
- [29] Yang C F. Clinical manifestations and basic mechanisms of myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. Tzu Chi Med J, 2018, 30(4): 209-215.
- [30] Yano N, Suzuki D, Endoh M, et al. Beta-adrenergic receptor mediated protection against doxorubicin-induced apoptosis in cardiomyocytes: The impact of high ambient glucose [J]. Endocrinology, 2008, 149(12): 6449-6461.
- [31] Zhao Q, Liu F, Zhao Q, et al. Constitutive activation of ERK1/2 signaling protects against myocardial ischemia via inhibition of mitochondrial fragmentation in the aging heart [J]. Ann Transl Med, 2021, 9(6): 479.
- [32] Vázquez-Gómez G, Rocha-Zavaleta L, Rodríguez-Sosa

- M, et al. Benzo [a] Pyrene activates an AhR/Src/ERK axis that contributes to CYP1A1 induction and stable DNA adducts formation in lung cells [J]. *Toxicol Lett*, 2018, 289: 54-62.
- [33] Xie G F, Peng Z S, Raufman J P. Src-mediated aryl hydrocarbon and epidermal growth factor receptor cross talk stimulates colon cancer cell proliferation [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302(9): G1006-G1015.
- [34] Zhang D H, Ning J F, Ramprasath T, et al. Kynurenine promotes neonatal heart regeneration by stimulating cardiomyocyte proliferation and cardiac angiogenesis [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 6371.
- [35] Elmadani M, Raatikainen S, Mattila O, et al. Dasatinib targets c-Src kinase in cardiotoxicity [J]. *Toxicol Rep*, 2023, 10: 521-528.
- [36] International B R. Retracted: Protective mechanism of trimetazidine in myocardial cells in myocardial infarction rats through ERK signaling pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2024, 2024: 9836408.

[责任编辑 兰新新]