

速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌损伤相关蛋白表达的影响

陈琳^{1,2}, 张艳¹, 陈勇^{1*}

1. 湖北大学 药物高通量筛选技术国家地方联合工程研究中心, 湖北大学中药生物技术湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430062
2. 湖北中医药大学检验学院, 湖北 武汉 430065

摘要: 目的 研究速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌损伤相关蛋白表达的影响。方法 雄性 Wistar 大鼠随机分为对照组、模型组及速效救心丸低、中、高剂量 (250、500、1000 mg/kg) 组, 对照组给予正常饲料, 模型组与各给药组大鼠给予高脂饲料喂养 24 周。第 24 周, 各给药组 ig 速效救心丸, 1 次/d, 连续 7 d; 给药第 5 天, 模型组与给药组大鼠 ip 垂体后叶素 (30 U/kg), 1 次/d, 连续 3 d。最后一次 ip 垂体后叶素后, 大鼠经腹主动脉取血, ELISA 法检测血清中肌酸激酶同工酶 (creatin kinase isoenzyme, CK-MB)、心肌肌钙蛋白 T (cardiac troponin T, cTnT)、心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTnI)、血栓素 B₂ (thromboxane B₂, TXB₂)、6-酮-前列环素 F-1 α (6-ketone-prostacycline F-1 α , PGF-1 α) 和内皮素-1 (endothelin 1, ET-1) 水平; 心脏灌流后取心脏, 采用苏木素-伊红 (HE) 染色法考察速效救心丸对心肌缺血大鼠心脏组织病理变化的影响, 采用 Western blotting 法考察速效救心丸对心肌缺血大鼠心脏组织中心肌损伤相关蛋白血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、ET-1、内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducing factor-1 α , HIF-1 α)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 和磷酸化 Akt (p-Akt) 表达的影响。结果 与模型组比较, 速效救心丸组大鼠血清中 CK-MB、cTnT、cTnI、TXB₂、PGF-1 α 和 ET-1 水平均显著降低 ($P < 0.05$); 心肌组织中 HIF-1 α 、VEGF 和 ET-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), p-Akt/Akt 和 eNOS 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$), 呈剂量相关性。结论 速效救心丸对心肌缺血大鼠有明显预防作用, 其作用机制与调控心肌缺血损伤相关蛋白的表达密切相关。

关键词: 速效救心丸; 心肌缺血大鼠; 血管内皮生长因子; 内皮素-1; 内皮型一氧化氮合酶; 低氧诱导因子-1 α ; 蛋白激酶 B
中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)05-1369-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.05.017

Effect of Suxiao Jiuxin Pill on ischemic injury-related protein expression in myocardial tissue of rats with myocardial ischemia

CHEN Lin^{1,2}, ZHANG Yan¹, CHEN Yong¹

1. Hubei Province Key Laboratory of Biotechnology of Chinese Traditional Medicine, National & Local Joint Engineering Research Center of High-throughput Drug Screening Technology, Hubei University, Wuhan 430062, China
2. School of Laboratory Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

Abstract: Objective To study the effect of Suxiao Jiuxin Pill (SJP, 速效救心丸) on ischemic injury-related protein expression in myocardial tissue of rats with myocardial ischemia. **Methods** Male Wistar rats were randomly divided into control group, model group, low-, medium- and high-dose (250, 500, 1000 mg/kg) SJP groups. Rats in control group were fed with normal diet, rats in model and SJP groups were fed with high-fat diet for 24 weeks. On the 24th week, rats in each administration group were ig SJP, once a day for 7 d; On the 5th day of administration, rats in model group and administration group were ip pituitary gland (30 U/kg), once a day for 3 d. After the last injection, blood was collected from abdominal aorta, the levels of creatine kinase isoenzyme (CK-MB), cardiac troponin T (cTnT), cardiac troponin I (cTnI), thromboxane B₂ (TXB₂), 6-ketone-prostacycline F-1 α (PGF-1 α), and endothelin 1 (ET-1) in serum were detected by ELISA. After cardiac perfusion, the heart was taken, the effect of SJP on the pathological changes of cardiac tissue in rats with myocardial ischemia was observed by HE staining method. The effects of SJP on expressions of myocardial injury-related proteins such as vascular endothelial growth factor (VEGF), ET-1, inducible endothelial nitric oxide synthase (eNOS), hypoxia inducing factor-1 α (HIF-1 α), protein kinase B (protein kinase B, Akt), and phosphorylated Akt (p-Akt) in the cardiac tissue of myocardial

收稿日期: 2020-11-16

作者简介: 陈琳 (1979—), 女, 博士, 研究方向为中药药理。Tel: 13317181822 E-mail: 14132494@qq.com

*通信作者: 陈勇 Tel: 13971286809 E-mail: cy101610@qq.com

ischemic rats were detected by Western blotting. **Results** Compared with model group, the serum levels of CK-MB, cTnT, cTnI, TXB₂, PGF-1 α , and ET-1 in SJP group were significantly reduced ($P < 0.05$); The expressions of HIF-1 α , VEGF, and ET-1 in the myocardial tissue were significantly reduced ($P < 0.05$), and the expressions of p-Akt/Akt and eNOS were significantly increased ($P < 0.05$), which showed a dose-related relationship. **Conclusion** SJP has a significant preventive effect on myocardial ischemia rats, of which mechanism is closely related to the regulation of the expression of key myocardial proteins related to ischemia injury.

Key words: Suxiao Jiuxin Pill; myocardial ischemia rat; vascular endothelial growth factor; endothelin 1; endothelial nitric oxide synthase; hypoxia inducing factor-1 α ; protein kinase B

速效救心丸由川芎、冰片等组成,具有扩张冠状动脉、舒张血管平滑肌、抗心肌缺血、保护心肌细胞、抑制粥样动脉形成、降低血黏度、解痉镇痛等作用,临床常用于治疗气滞血瘀型冠心病和心绞痛^[1-3]。研究发现,速效救心丸可改善动脉粥样硬化大鼠脂质代谢紊乱,抑制血管的氧化应激与炎症反应,逆转早期粥样斑块的形成^[4-6];可抑制动脉粥样硬化大鼠主动脉管壁基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)及其受体 CXCR4 的表达,从而发挥抗动脉粥样硬化作用^[7];可调节 ApoE 缺陷小鼠心肌组织金属蛋白酶与金属蛋白酶组织抑制因子蛋白表达的平衡,增加动脉粥样硬化斑块的稳定性^[8]。此外,速效救心丸可缓解氧化损伤,扩大冠脉血流量,减少心肌耗氧量,抑制犬心肌梗死面积^[9];缺血损伤导致心肌细胞线粒体膜上细胞色素 C 氧化酶亚基 6A2、糖原合酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)和磷脂酰肌醇-4,5-双磷酸 3-激酶催化亚基 α mRNA 表达水平显著降低,腺苷酸环化酶 mRNA 表达水平显著升高,速效救心丸可显著逆转心肌细胞上述指标 mRNA 表达水平,改善心肌细胞功能^[10];速效救心丸可抑制线粒体通透性转换孔的开放,保护线粒体膜功能的完整性,减少细胞色素 C 的释放,降低缺血/再灌注对大鼠心肌细胞的凋亡作用^[11],也可通过调节磷脂肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)/GSK3 β 通路,抑制低氧诱导的细胞凋亡^[12];速效救心丸可抑制急性冠脉综合征患者炎症反应,降低血浆纤维蛋白原水平与血小板聚集率,改善病人血管重建术后的临床症状^[13-14]。目前速效救心丸改善心肌缺血的作用机制尚不明确,本研究探讨了速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌组织中缺血损伤相关调控蛋白表达的影响,为阐明其改善心肌缺血的作用机制提供参考。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 50 只,6 周龄,体质量

(150 \pm 10) g,购自湖北省实验动物研究中心,许可证号 SCXK(鄂)2015-0018。动物分笼饲养于湖北大学生命科学学院 SPF 级动物房,12 h 交替光照,自由饮水摄食,饲养温度(22 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度(65 \pm 5)%。动物实验经湖北大学伦理委员会批准(批准号 20170601)。

1.2 药品与试剂

丙硫氧嘧啶(50 mg/片,批号 160101)购自广东华南药业集团有限公司;速效救心丸(40 mg/粒,批号 616154)购自天津中新药业集团股份有限公司;垂体后叶素(6 U/mL,批号 160401)购自南京新百药业有限公司;高脂饲料(含 10%蛋黄粉、2%胆固醇、10%猪油、0.5%胆酸钠、0.2%丙硫氧嘧啶、77.3%基础饲料)购自湖北省实验动物研究中心;RIPA 裂解液(批号 P0013B)、蛋白酶抑制剂 PMSF(批号 ST506)、上样缓冲液(批号 P0015)、抗体稀释液(批号 010917170306)、化学发光液(批号 040617170602)购自上海碧云天生物科技有限公司;蛋白酶抑制剂 Cocktail(批号 15205300)、磷酸酶抑制剂(批号 41659200)购自 Roche 生物科技公司;BCA 蛋白定量试剂盒(批号 SK258368)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;苏木素-伊红(HE)染液(批号 G1005)购自谷歌生物科技公司;肌酸激酶同工酶(creatine kinase isoenzyme, CK-MB)、心肌肌钙蛋白 T(cardiac troponin T, cTnT)、心肌肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI)、血栓素 B₂(thromboxane B₂, TXB₂)、6-酮-前列环素 F-1 α (6-ketone-prostacycline F-1 α , PGF-1 α)和内皮素-1(endothelin 1, ET-1)血清检测试剂盒(批号为 20170323)购自南京建成生物科技有限公司;鼠抗小鼠 β -actin 单克隆抗体(批号 SC-47778)购自 Santa 生物科技公司;兔抗大鼠血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)多克隆抗体(批号 F05142393)、兔抗大鼠 ET-1 多克隆抗体(批号 G01182780)、兔抗大鼠内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)多克隆抗体(批号 G02251789)、兔抗大鼠低氧诱导因子-1 α

(hypoxia inducing factor-1 α , HIF-1 α)多克隆抗体(批号 G02101607)、兔抗大鼠蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)多克隆抗体(批号 G01230003)、兔抗大鼠磷酸化 Akt (p-Akt)多克隆抗体(批号 15090820)购自沈阳万类生物科技公司;PVDF膜购自 Millipore 生物科技有限公司;HRP 标记的羊抗兔及羊抗小鼠 IgG 抗体(批号分别为 10312942、10283379)购自 KPL 生物科技有限公司。

1.3 仪器

iMARKTM 酶标仪(美国 BIO-RAD 公司);Pannoramic MIDI 病理切片扫描仪配分析软件 Image-pro-plus 6.0(匈牙利 3D Histech 公司);5810R 台式低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司);DYC-40A 型垂直电泳槽、电转仪(中国北京六一仪器厂)。

2 方法

2.1 心肌缺血模型的制备、分组与给药

小鼠 ig 速效救心丸的半数致死量(lethal dose, LD₅₀)为 15.7 g/kg,折算成大鼠 ig 速效救心丸的 LD₅₀为 10.9 g/kg^[15]。大鼠随机分为对照组、模型组及速效救心丸低、中、高剂量(250、500、1000 mg/kg,相当于大鼠 LD₅₀值的 1/40、1/20、1/10)组,每组 10 只。对照组以普通饲料饲养,其余各组以高脂饲料饲养 24 周。速效救心丸混悬于 0.5% CMC-Na,分别配制成质量浓度为 25、50、100 mg/mL 的溶液。第 24 周,各给药组 ig 相应药物(10 mL/kg),对照组与模型组 ig 0.5% CMC-Na 溶液,1 次/d,连续 7 d。给药第 5 天,模型组与各给药组 ip 垂体后叶素(30 U/kg),1 次/d,连续 3 d^[6]。最后一次 ip 垂体后叶素后,腹主动脉取血,分离血清备用;大鼠脱颈椎处死,心脏灌流后取心脏组织。

2.2 速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌组织病理变化的影响

心脏组织固定于多聚甲醛中 24 h,依次用梯度乙醇脱水,经无水乙醇和二甲苯处理 10 min 使组织透明;浸蜡处理 1 h,用包埋机进行包埋,并切成 5 μ m 厚度的切片;于 40 $^{\circ}$ C 水浴展开切片并负载于防

脱载玻片,于 60 $^{\circ}$ C 烘干后依次经苏木素染色 8 min 和伊红染液染色 2 min,最后用中性树胶封片。于显微镜下观察并拍照。

2.3 速效救心丸对心肌缺血大鼠血清关键指标的影响

按照试剂盒说明书测定大鼠血清中 CK-MB、TXB₂、cTnT、cTnI、PGF-1 α 、ET-1 水平。

2.4 速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌关键蛋白表达的影响

心脏组织经液氮冷冻后敲碎,取 50 mg 心脏组织加入 500 μ L RIPA 裂解液(含 PMSF、Cocktail、磷酸酶抑制剂),4 $^{\circ}$ C 裂解 30 min 后,4 $^{\circ}$ C、12 000 \times g 离心 10 min,取上清液测定蛋白含量。取 50 μ g 心脏组织总蛋白加入适量上样缓冲液混匀,100 $^{\circ}$ C 变性处理 10 min 后,于-80 $^{\circ}$ C 保存备用。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,室温封闭 2 h,分别加入 ET-1、VEGF、eNOS、HIF-1 α 、Akt、p-Akt、 β -actin 抗体(1:1000),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体(1:1000),室温孵育 1.5 h。加入化学发光液显色后暗室曝光,采用 Image J 软件对蛋白条带进行扫描和定量分析。

2.5 统计分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 软件对实验数据进行分析,对各组数据进行方差齐性检验后,进行各组数据间的 *t* 检验。

3 结果

3.1 速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌组织病理变化的影响

如图 1 所示,对照组大鼠心肌细胞横切面呈圆形,细胞核位于细胞中间,形态结构正常。与对照组相比,模型组大鼠心肌细胞间质有充血和炎性细胞浸润现象,中性粒细胞、巨噬细胞及淋巴细胞增多,有少量红细胞漏出,表现出急性炎症反应;此外,模型组还存在明显的细胞萎缩,表现为细胞体积减少、细胞核变小、细胞间质水肿增宽,偶有细胞坏死与细胞核消失;合并心肌细胞横向断裂,提

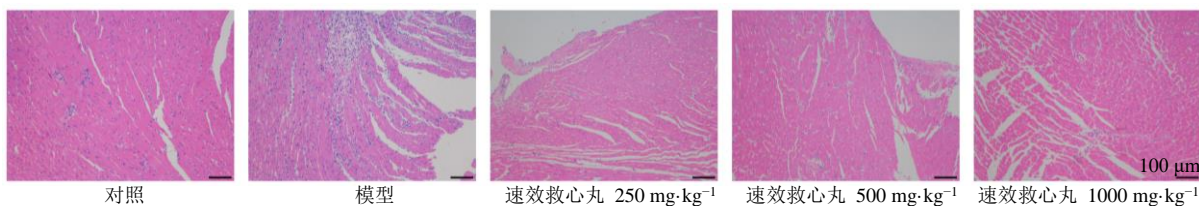


图 1 速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌组织病理变化的影响(HE, \times 100)

Fig. 1 Effect of Suxiao Jiuxin Pill on pathological changes of myocardial tissues in myocardial ischemia rats model (HE, \times 100)

示存在心肌缺血损伤。与模型组相比,各给药组心肌细胞间质充血和炎性细胞浸润现象有所缓解,中性粒细胞、巨噬细胞、淋巴细胞数量以及红细胞漏出较少;此外,细胞萎缩和细胞核变小的比例降低,细胞间质水肿增宽程度、细胞坏死、细胞核消失及心肌细胞横向断裂现象亦明显减少,速效救心丸高剂量组效果最佳。

3.2 速效救心丸对心肌缺血大鼠血清关键指标的影响

血清中 CK-MB、cTnT、cTnI 水平是临床评价心肌缺血的重要指标, TXB₂、PGF-1 α 、ET-1 水平是临床评价心肌梗死的重要指标。如表 1 所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中 CK-MB、cTnT、cTnI、TXB₂、PGF-1 α 、ET-1 水平显著升高($P < 0.05$),

表明造模成功。与模型组比较,速效救心丸中、高剂量组大鼠血清中 CK-MB、cTnT、cTnI、PGF-1 α 、ET-1 水平均显著降低($P < 0.05$),高剂量组大鼠血清中 TXB₂ 水平显著降低($P < 0.05$),表明速效救心丸可有效降低模型大鼠发生心肌缺血与梗死的风险。

3.3 速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌关键蛋白表达的影响

如图 2 所示,与对照组比较,模型组大鼠心脏组织中 HIF-1 α 、VEGF 和 ET-1 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$ 、 0.01), p-Akt/Akt 和 eNOS 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,速效救心丸高剂量组心脏组织中 HIF-1 α 、VEGF 和 ET-1 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$ 、 0.01), p-Akt/Akt

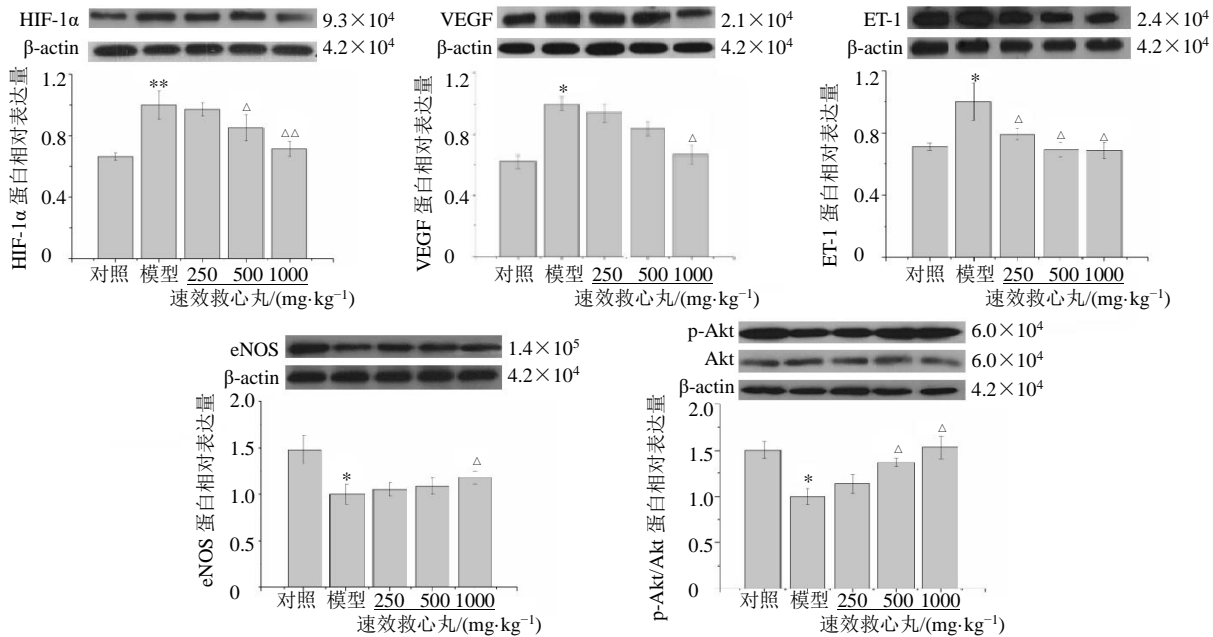
表 1 速效救心丸对心肌缺血大鼠血清关键指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of Suxiao Jiuxin Pill on myocardial ischemia-related key serum indexes in myocardial ischemia rats model ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CK-MB/(ng·mL ⁻¹)	cTnT/(pg·mL ⁻¹)	cTnI/(pg·mL ⁻¹)	TXB ₂ /(pg·mL ⁻¹)	PGF-1 α /(pg·mL ⁻¹)	ET-1/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	2.23 ± 0.25	192.04 ± 26.77	197.31 ± 20.76	167.35 ± 17.82	291.50 ± 22.37	45.51 ± 6.22
模型	—	2.93 ± 0.35*	236.73 ± 27.08*	241.86 ± 24.06*	216.29 ± 26.70*	347.17 ± 32.33*	53.00 ± 5.56*
速效救心丸	250	2.51 ± 0.38	194.35 ± 35.22	210.50 ± 26.65	188.20 ± 21.28	307.07 ± 31.32	45.01 ± 8.21
	500	2.42 ± 0.20 Δ	188.22 ± 18.82 Δ	206.09 ± 16.02 Δ	187.74 ± 15.90	302.57 ± 19.68 Δ	41.94 ± 4.58 Δ
	1000	2.38 ± 0.33 Δ	185.78 ± 31.31 Δ	203.86 ± 23.87 Δ	182.91 ± 21.45 Δ	298.29 ± 27.45 Δ	41.58 ± 7.47 Δ

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs model group



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group

图 2 速效救心丸对心肌缺血大鼠心肌关键蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of Suxiao Jiuxin Pill on expression of myocardial ischemia-related proteins in myocardial tissues of myocardial ischemia rats model ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

和 eNOS 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$); 中剂量组心脏组织中 HIF-1 α 、ET-1 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$), p-Akt/Akt 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$); 低剂量组心脏组织中 ET-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。表明速效救心丸能改善心肌缺血对上述关键蛋白表达的影响。

4 讨论

CK-MB 主要分布于心肌, 心肌损伤可触发其释放进入细胞外液, 提升其血清水平, 是早期临床诊断缺血再灌注损伤的标志物, 但特异性不高^[17]。心肌肌钙蛋白仅存在于心肌, 包括 T、I、C 3 种亚基, cTnT 和 cTnI 是主要的心肌损伤标志物。血清中 cTnT 和 cTnI 水平主要用于急性心肌梗死的诊断、不稳定型心绞痛的预后判断等, 已成为临床上心肌梗死诊断的金标准^[18]。血清中 TXA₂、PGI₂ 水平升高易导致血小板聚集与血栓形成, 但二者稳定性差, 通常检测其稳定代谢物 TXB₂ 和 PGF-1 α 的水平^[19]。ET-1 参与调节血管收缩、血管重塑、血管生成和细胞外基质合成, 其血清水平是判断冠心病心绞痛严重程度的重要指标^[20]。研究结果显示, 速效救心丸可显著降低心肌缺血大鼠血清中上述指标水平, 且呈剂量相关性。结合心脏组织病理切片结果, 表明速效救心丸对心肌缺血损伤具有明显预防作用。

VEGF 与血管生成、血管通透性密切相关^[21]。低氧、低氧预适应是诱导 VEGF 表达的重要原因^[22], HIF 通路和 PGC-1 α 通路是低氧介导 VEGF 形成大脑新血管的重要通路^[23-24]。HIF 是低氧反应的中介, 其中 HIF-1 对缺血坏死后新生血管的形成和低氧诱导的细胞凋亡起关键调控作用^[25]。HIF-1 由 α 、 β 亚单位组成, 其中 α 亚单位是其特异性蛋白,

对体内氧含量敏感, 低氧能诱导 HIF-1 α 蛋白表达。VEGF 是 HIF-1 α 的重要靶点之一, 脑缺氧后 HIF-1 α 表达上调, 诱导 VEGF 蛋白表达, 促进微循环重建, 增加缺血组织血流灌注和供氧量^[26]。内皮细胞产生的 NO 和 ET-1 对维持基础血管张力与心血管系统稳态起重要作用, 其表达异常是引起心肌缺血等心血管疾病的重要因素^[27-28]。VEGF 可通过活化磷脂酶 C γ 促进前列腺素的生成, 提高血管通透性; 也可作为 eNOS 的上游激活物, 通过 Akt 促进一氧化氮 (nitric oxide, NO) 合成与内皮细胞增生, 增加细胞通透性^[29]。研究表明, PI3K/Akt 信号通路的激活是缺血后机体的保护机制之一, eNOS 是该途径的下游靶点^[30]。在内皮细胞中, VEGF 可通过激活 NO 下游效应物 PI3K、Akt 和 eNOS, 从而调控 NO 的生成^[31]。NO 和 HIF-1 信号通路间高度串扰^[32], 如在活化的巨噬细胞和近端小管细胞共培养系统中, NO 可调节缺氧及炎症下的 HIF-1 α 累积反应^[33], HIF-1 可通过诱导心肌细胞中诱导型一氧化氮合酶和细胞色素 C 氧化酶亚单位 4-2 mRNA 和蛋白表达水平, 同时降低 eNOS mRNA 和蛋白表达水平, 协同调控 NO 的生成^[34]。HIF-NO 信号通路对减少缺血再灌注诱导的氧化损伤和梗死面积有着重要作用^[35-36]。

如图 3 所示, 心脑血管缺血相关蛋白 VEGF、HIF-1 α 、p-Akt、eNOS 与 HIF-1 信号通路密切相关, 且相互间调控关系密切。本研究发现, 速效救心丸能够显著降低心肌缺血大鼠心肌 HIF-1 α 、VEGF 和 ET-1 的蛋白表达水平, 升高 p-Akt 和 eNOS 蛋白表达水平, 呈剂量相关性, 表明速效救心丸改善心肌缺血损伤的作用机制与其调控上述关键蛋白表达相关, 且受 HIF-1 信号通路调控。

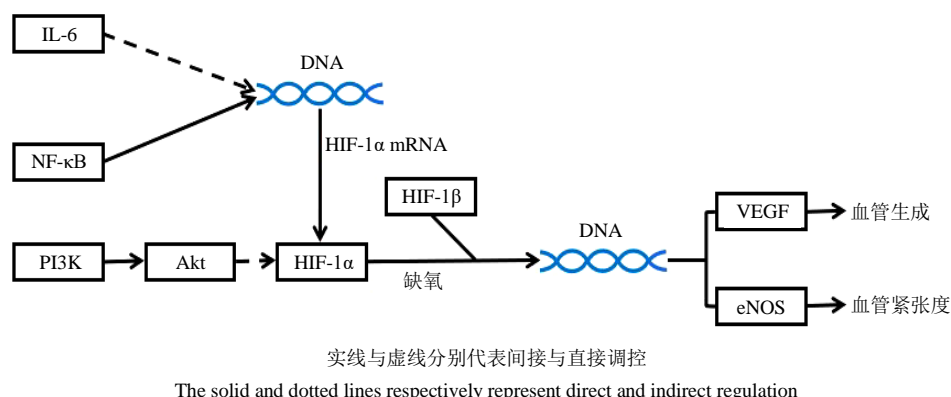


图 3 心脑血管缺血相关蛋白与 HIF-1 信号通路的联系

Fig. 3 Relationship between cardiac and cerebral ischemia-related proteins and HIF-1 signaling pathway

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ren L, Wang J, Feng L, *et al.* Efficacy of suxiao Jiuxin pill on coronary heart disease: A meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2018, 2018: 9745804.
- [2] Lei W, Ni J, Xia X, *et al.* Searching for synergistic calcium antagonists and novel therapeutic regimens for coronary heart disease therapy from a traditional Chinese medicine, Suxiao Jiuxin Pill [J]. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1092: 220-227.
- [3] 关晶. 速效救心丸对动脉粥样硬化大鼠 ox-LDL、PPAR γ 及 NF- κ B 表达的影响 [D]. 天津: 天津医科大学, 2010.
- [4] 刘钰. 速效救心丸联合盐酸地尔硫卓片治疗不稳定型心绞痛的疗效观察 [J]. *现代药物与临床*, 2017, 32(2): 205-208.
- [5] Guo Q X, Zhang J, Li Y Q, *et al.* Study on anti-atherosclerotic effect of Suxiao Jiuxin Pill and its mechanism [J]. *Afr J Tradit Compl*, 2014, 11(1): 97-102.
- [6] Li C S, Qu Z Q, Wang S S, *et al.* Effects of Suxiao Jiuxin pill on oxidative stress and inflammatory response in rats with experimental atherosclerosis [J]. *J Tradit Chin Med*, 2011, 31(2): 107-111.
- [7] 张秀琴. 速效救心丸对 SDF-1/CXCR4 表达的影响及抗动脉粥样硬化作用的实验研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2009.
- [8] Zhang J B, Zhuang P W, Lu Z Q, *et al.* Suxiaojiuxin pill enhances atherosclerotic plaque stability by modulating the MMPs/TIMPs balance in ApoE-deficient mice [J]. *J Cardiovasc Pharm*, 2014, 64(2): 120-126.
- [9] Lu Z, Zhang Y, Zhuang P, *et al.* Protective effect of Suxiao Jiuxin pill, a traditional Chinese medicine, against acute myocardial ischemia in dogs [J]. *BMC Compl Altern Med*, 2015, 15: 373.
- [10] Ruan X, Chen T, Wang X, *et al.* Suxiao Jiuxin Pill protects cardiomyocytes against mitochondrial injury and alters gene expression during ischemic injury [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3523-3532.
- [11] 陈亚妮, 高俊杰, 朱文叶, 等. 速效救心丸干预心肌缺血/再灌注大鼠线粒体通透性转换孔及心肌细胞凋亡 [J]. *中成药*, 2015, 37(3): 469-473.
- [12] Li Y, Ruan X, Chen T, *et al.* Anti-apoptotic effect of Suxiao Jiuxin Pills against hypoxia-induced injury through PI3K/Akt/GSK3 β pathway in HL-1 cardiomyocytes [J]. *J Chin Med Assoc*, 2018, 81(9): 816-824.
- [13] 阮小芬, 沈智杰, 薛金贵, 等. 速效救心丸干预 ACS 血管重建术后病人的随机、双盲、安慰剂对照临床研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(9): 1286-1290.
- [14] 戎靖枫, 徐微, 刘永明, 等. 速效救心丸干预对稳定型心绞痛介入治疗患者围术期心肌保护作用的研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(10): 1156-1159.
- [15] 陈卫平, 赵树仪, 祝君梅, 等. 速效救心丸的药理作用 [J]. *中成药*, 1994, 16(1): 31-33.
- [16] Wang S X, Tan L, Wang J, *et al.* Effect of levocarnitine on TIMP-1, ICAM-1 expression of rats with coronary heart disease and its myocardial protection effect [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(3): 269-273.
- [17] Murphy E, Steenbergen C. Mechanisms underlying acute protection from cardiac ischemia-reperfusion injury [J]. *Physiol Rev*, 2008, 88(2): 581-609.
- [18] Irfan A, Reichlin T, Twerenbold R, *et al.* Hemodynamic cardiac stress induced myocardial ischemia as detected by the release of cardiac biomarkers: Cardiac troponin T and I, CK-MB and myoglobin [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 61(10): E192.
- [19] Rossoni G, Manfredi B, Colonna V D G, *et al.* Nitric oxide and prostacyclin pathways: An integrated mechanism that limits myocardial infarction progression in anaesthetized rats [J]. *Pharmacol Res*, 2006, 53(4): 359-366.
- [20] Eroglu E, Kocyigit I, Lindholm B. The endothelin system as target for therapeutic interventions in cardiovascular and renal disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 506: 92-106.
- [21] Shibuya M, Claesson-Welsh L. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(5): 549-560.
- [22] Davis B, Tang J, Zhang L, *et al.* Role of vasodilator stimulated phosphoprotein in VEGF induced blood-brain barrier permeability in endothelial cell monolayers [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2010, 28(6): 423-428.
- [23] Sheldon R A, Lee C L, Jiang X, *et al.* Hypoxic preconditioning protection is eliminated in HIF-1 α knockout mice subjected to neonatal hypoxia-ischemia [J]. *Pediatr Res*, 2014, 76(1): 46-53.
- [24] Arany Z, Foo S Y, Ma Y H, *et al.* HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 α [J]. *Nature*, 2008, 451(7181): 1008-1012.
- [25] Hurst J H. William Kaelin, Peter Ratcliffe, and Gregg Semenza receive the 2016 Albert Lasker Basic Medical Research Award [J]. *J Clin Investig*, 2016, 126(10): 3628-3638.

- [26] Ramakrishnan S, Anand V, Roy S. Vascular endothelial growth factor signaling in hypoxia and inflammation [J]. *J Neuroimm Pharmacol*, 2014, 9(2): 142-160.
- [27] Farah C, Michel L Y M, Balligand J L. Nitric oxide signalling in cardiovascular health and disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(5): 292-316.
- [28] Chatsuriyawong S, Gozal D, Kheirandish-Gozal L, et al. Genetic variance in nitric oxide synthase and endothelin genes among children with and without endothelial dysfunction [J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 227.
- [29] Armstrong S C. Protein kinase activation and myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 61(3): 427-436.
- [30] Koistinen P, Siitonen T, Mäntymaa P, et al. Regulation of the acute myeloid leukemia cell line OCI/AML-2 by endothelial nitric oxide synthase under the control of a vascular endothelial growth factor signaling system [J]. *Leukemia*, 2001, 15(9): 1433-1441.
- [31] 唐坤裕, 朱榆红. PI3K/Akt-eNOS-NO 信号通路与脑缺血后适应的研究进展 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2013, 40(1): 67-70.
- [32] Poyton R, Hendrickson M. Crosstalk between nitric oxide and hypoxia-inducible factor signaling pathways: An update [J]. *Res Rep Biochem*, 2015: 147.
- [33] Sandau K B, Fandrey J, Brüne B. Accumulation of HIF-1 α under the influence of nitric oxide [J]. *Blood*, 2001, 97(4): 1009-1015.
- [34] Jung F, Palmer L A, Zhou N, et al. Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia inducible factor-1 in cardiac myocytes [J]. *Circ Res*, 2000, 86(3): 319-325.
- [35] Semenza G L. Hypoxia-inducible factor 1: Regulator of mitochondrial metabolism and mediator of ischemic preconditioning [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(7): 1263-1268.
- [36] Mahfoudh-Boussaid A, Zaouali M A, Hadj-Ayed K, et al. Ischemic preconditioning reduces endoplasmic reticulum stress and upregulates hypoxia inducible factor-1 α in ischemic kidney: The role of nitric oxide [J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 7.

[责任编辑 李亚楠]