强心汤对慢性心力衰竭大鼠心肌线粒体稳态和能量代谢的影响Δ

庞　延[1,2*]，毛美玲[2]，卢健棋[3#]，陈佳永[2]，唐梅玲[3]，黄溥玮[3]（1.广西中医药大学第一附属医院急诊科，南宁 530001；2.广西中医药大学研究生院，南宁　530001；3.广西中医药大学第一附属医院心血管一区，南宁 530001）

中图分类号　R285；R256.2　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）15-1831-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.15.06

摘　要　目的　基于线粒体自噬，探讨强心汤对慢性心力衰竭（CHF）大鼠心肌线粒体稳态和能量代谢的影响。**方法**　取雄性SD大鼠，通过结扎左冠状动脉前降支构建CHF模型，并将造模成功的大鼠按随机数字表法分为模型组、强心汤组[12.25 g/（kg·d），按生药量计]、卡托普利组[10.38 mg/（kg·d）]、强心汤+卡托普利组（用法用量同各单药组），每组8只；另取正常大鼠8只，仅于左冠状动脉前降支穿线但不结扎，作为假手术组。从造模成功次日开始，各药物组大鼠每天分2次灌胃相应药液，连续28 d。末次给药后，检测梗死心肌组织中腺苷三磷酸（ATP）、腺苷一磷酸（AMP）、游离脂肪酸（FFA）水平，观察其病理改变和线粒体形态，检测其B细胞淋巴瘤2（Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bax）、TANK结合激酶1（TBK1）、p62蛋白的表达情况。**结果**　与假手术组比较，模型组大鼠心肌组织纤维化明显，大量线粒体肿胀、融合，内嵴断裂；梗死心肌组织中AMP、FFA水平和Bax、p62蛋白的表达均显著升高或上调，ATP水平和Bcl-2、TBK1蛋白的表达均显著降低或下调（$P<0.05$）。与模型组比较，各药物组大鼠心肌组织病理改变和线粒体肿胀均有所改善，梗死心肌组织中AMP、FFA水平和Bax、p62蛋白的表达均显著降低或下调（$P<0.05$），ATP水平和Bcl-2、TBK1蛋白的表达均显著升高或上调（$P<0.05$），且强心汤+卡托普利组的效果优于各单药组（$P<0.05$）。**结论**　强心汤能够减轻CHF大鼠心肌纤维化、线粒体肿胀，改善其心肌能量代谢；上述作用可能与调控Bcl-2、Bax、TBK1、p62蛋白表达，促进心肌线粒体自噬有关。

关键词　强心汤；慢性心力衰竭；线粒体自噬；线粒体稳态；能量代谢

Effects of Qiangxin decoction on myocardial mitochondrial homeostasis and energy metabolism in chronic heart failure rats

PANG Yan[1,2], MAO Meiling[2], LU Jianqi[3], CHEN Jiayong[2], TANG Meiling[3], HUANG Puwei[3] (1. Dept. of Emergency, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 2. Graduate School, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 3. Cardiovascular Zone 1, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects of Qiangxin decoction on myocardial mitochondrial and energy metabolism in rats with chronic heart failure (CHF) based on mitophagy. **METHODS** Male SD rats were collected to establish CHF model by ligating the left anterior descending branch of coronary artery. The successful modeling rats were divided into model group, Qiangxin decoction group [12.25 g/(kg·d), calculated by crude drug], captopril group [10.38 mg/(kg·d)], and Qiangxin decoction+captopril group (the same usage and dosage as single drug group) according to a random number table method, with 8 rats in each group. Another 8 normal rats were selected and received threading in the left anterior descending branch of the coronary artery without ligation as the sham operation group. Starting from the second day after successful modeling, the rats in administration groups were given relevant drug intragastrically, twice a day, for consecutive 28 days. After the last medication, the levels of adenosine triphosphate (ATP), adenosine monophosphate (AMP) and free fatty acid (FFA) in infarcted myocardial tissues were detected, the pathological changes and mitochondrial morphology of the infarcted myocardial tissue were observed, as well as the protein expressions of B cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 related X protein (Bax), TANK-binding kinase 1 (TBK1), p62 were detected in each group. **RESULTS** Compared with the sham operation group, the infarcted myocardial tissue fibrosis was changed evidently, with a large number of mitochondrial swelling and fusion, and internal cristae rupture; the levels of AMP and FFA, the protein expressions of Bax and p62 were all increased or up-regulated significantly in infarcted myocardial tissue, while the level of ATP, and the protein expressions of Bcl-2 and TBK1 were all decreased

Δ**基金项目**　广西自然科学基金项目（No.2021GXNSFBA196018，No.2021GXNSFAA220111）；国家自然科学基金项目（No.82160887）；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.2024005-06-02）

＊**第一作者**　主治医师，博士研究生。研究方向：中西医结合防治心血管病。E-mail：271528495@qq.com

＃**通信作者**　主任医师，教授，博士生导师。研究方向：中西医结合防治心血管病。E-mail：lujianqi666@163.com

or down-regulated significantly ($P<0.05$). Compared with the model group, the pathological changes of infarcted myocardial tissue and mitochondrial swelling had been improved; the levels of AMP and FFA, and the protein expressions of Bax and p62 in infarcted myocardial tissue were significantly decreased or down-regulated in administration groups, while the level of ATP, and the protein expressions of Bcl-2 and TBK1 were increased or up-regulated significantly ($P<0.05$). And the effect of Qiangxin decoction+captopril group was better than that of single drug group. **CONCLUSIONS** Qiangxin decoction can alleviate myocardial fibrosis and mitochondrial swelling in CHF rats, and improve their myocardial energy metabolism, which may be related to regulating the expression of Bcl-2, Bax, TBK1 and p62 proteins and promoting myocardial mitophagy.

KEYWORDS Qiangxin decoction; chronic heart failure; mitophagy; mitochondrial homeostasis; energy metabolism

慢性心力衰竭（chronic cardiac failure，CHF）是心血管疾病的终末阶段，其1年和5年病死率分别高达20%和53%[1]。据推算，目前我国CHF患者多达890万，且随着人口老龄化加剧和危险人群增加，其患病率将进一步升高[2]。尽管现有CHF诊疗方案不断细化，新型药物和器械辅助治疗有益证据不断增多，但临床对CHF患者再住院率和死亡率的控制仍难以达到预期[3-4]。心脏为高能量消耗器官，可借助游离脂肪酸（free fatty acid，FFA）、葡萄糖、乳酸等物质代谢不断提供的腺苷三磷酸（adenosine triphosphate，ATP）来维持其基础代谢和收缩功能，且这一过程与线粒体氧化磷酸化密切相关[5]。研究证实，线粒体功能异常是心力衰竭的重要诱因之一，心肌严重缺血缺氧可引起线粒体受损并产生大量活性氧（reactive oxygen species，ROS），从而导致心肌细胞死亡、成纤维细胞增殖和ATP供能减少，最终诱发CHF；而线粒体自噬作为抵抗细胞应激的内在保护机制，对于清除受损线粒体、维持线粒体形态和功能、减少ROS产生、保证能量代谢至关重要[6-7]。可见，靶向调节线粒体自噬可能是CHF的重要治疗途径。

强心汤是广西名中医卢健棋教授治疗CHF的有效验方[8]。该方能通过上调人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因诱导激酶1（phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten gene-induced putative kinase 1，PINK1）、E3泛素连接酶Parkin的表达来促进线粒体自噬、减少ROS生产和抑制心肌细胞凋亡，从而发挥改善心功能的作用[9]。PINK1、Parkin分别通过线粒体融合蛋白1、2和选择性自噬接头蛋白p62、TANK结合激酶1（TANK-binding kinase 1，TBK1）2种不同下游因子调控途径来介导线粒体自噬[10-11]。基于此，本研究拟从线粒体自噬角度出发，进一步明确强心汤对PINK1/Parkin信号通路下游TBK1、p62等重要线粒体自噬因子的调控作用及对线粒体形态、能量代谢的影响，以期为该方的临床应用提供更深入的科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括ECG-1103G Vet型心电图机（深圳市凯沃尔电子有限公司）、DW-3000c型小动物呼吸机（北京众实迪创科技发展有限责任公司）、KD-TS3S1型组织脱水机（浙江省金华市科迪仪器设备有限公司）、HistoCore Arcadia型石蜡包埋机（德国Leica公司）、BX43型显微镜（日本Olympus公司）、HT7800/HT7700型透射电镜（日本Hitachi公司）、Infinite® 200PRO型多功能酶标仪（瑞士Tecan公司）、PowerPac Basic型电泳仪（美国Bio-Rad公司）、Chemi Doc™ XRS+型超高灵敏度化学发光成像系统[伯乐生命医学产品（上海）有限公司]等。

1.2 主要药品与试剂

强心汤组方为炮附片（先煎）10 g，黄芪30 g，党参15 g，桂枝、川芎、丹参、葶苈子、茯苓、白术各10 g，柏子仁（打）12 g，炙甘草6 g，玉竹10 g。所有组方中药饮片均由广西中医药大学第一附属医院提供，经该院药学部杨正腾副主任药师鉴定均为真品。

卡托普利片（阳性对照，批号220317，规格25 mg）购自国药集团汕头金石制药有限公司；ATP、FFA酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒和兔p62、B细胞淋巴瘤2（B cell lymphoma-2，Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2 related X protein，Bax）多克隆抗体（货号分别为JYM0725Ra、RA20313、PAB46078、PAB33482、PAB46088）均购自武汉贝茵莱生物科技有限公司；兔TBK1多克隆抗体（货号DF7026）购自美国Affinity公司；兔甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）多克隆抗体、ECL化学发光底物（超敏）（货号分别为BL006B、BL523A）均购自兰杰柯科技有限公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗、Masson三色染色液（货号分别为GB23303、G1006）均购自武汉塞维尔生物科技有限公司；高效RIPA组织/细胞裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒、聚丙烯酰胺凝胶电泳促凝剂、TBST缓冲液（货号分别为R0010、PC0020、T8090、T1082）均购自北京索莱宝科技有限公司；腺苷一磷酸（adenosine monophosphate，AMP）ELISA试剂盒（货号JYM0575Ra）购自武汉基因美生物科技有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为健康清洁级成年雄性SD大鼠，共40只，体重（220±25）g，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司，实验动物生产许可证号为SCXK（京）2019-0010。所有动物均饲养于温度20～26 ℃、相对湿度

40%～70%的动物房内，自由摄食、饮水。本实验方案通过广西中医药大学实验动物福利伦理委员会审批，批准编号为DW20220907-211。

2 方法

2.1 药液的配制

取组方中药饮片，由广西中医药大学第一附属医院制剂中心按下法统一煎煮：取炮附子，加10倍量水，浸泡30 min后文火浓煎2 h，煎液过滤、浓缩后得炮附子煎煮液15 mL；取其余中药饮片，混匀后加10倍量水，浸泡30 min后文火浓煎40 min，煎液过滤后浓缩至200 mL；将该浓缩液与炮附子煎煮液混合，得质量浓度为0.665 g/mL（以生药量计）的强心汤药液，备用。

取卡托普利片，粉碎后用生理盐水溶解并稀释，制得质量浓度为1 mg/mL的混悬液，备用。

2.2 造模、分组与给药

大鼠适应性喂养7 d后，参考相关文献[12]方法建立CHF模型：大鼠腹腔注射1%戊巴比妥钠3.5 mg/kg麻醉后，以仰卧位固定，连接心电图机并行气管插管机械通气，于前胸部以碘伏消毒备皮，打开胸廓，在左心耳下与肺动脉根部约1.5 mm处迅速穿线结扎左冠状动脉前降支，待心电图监测提示ST段抬高后将心脏回纳胸腔并关胸逐层缝合。术后2周，若心脏彩超检查示大鼠左室射血分数下降20%～30%，则判定CHF模型建立成功[12]。

将造模成功的大鼠按随机数字表法分为模型组、强心汤组、卡托普利组、强心汤+卡托普利组，每组8只；同时，另取正常大鼠8只，仅于左冠状动脉前降支穿线但不结扎，作为假手术组。从造模成功次日开始，强心汤组大鼠灌胃强心汤药液12.25 g/（kg·d）（按生药量计，剂量根据成人与大鼠等效剂量换算公式计算而得），卡托普利组大鼠灌胃卡托普利混悬液10.38 mg/（kg·d）（剂量根据成人与大鼠等效剂量换算公式计算而得），强心汤+卡托普利组大鼠灌胃强心汤药液和卡托普利混悬液（剂量同各单药组）；假手术组和模型组大鼠灌胃生理盐水2 mL。每天分2次灌胃，连续28 d。

2.3 大鼠梗死心肌组织中ATP、AMP、FFA水平检测

采用ELISA法检测。末次给药后，按“2.2”项下方法将各组大鼠麻醉，开胸取出心脏，用4 ℃生理盐水清洗2～3次后切取左心室梗死心肌组织（假手术组大鼠取左心室相同部位心肌组织，下同），一部分于－80 ℃下冻存，另一部分于4%多聚甲醛中固定，备用。取各组大鼠冻存的梗死心肌组织适量，用磷酸盐缓冲液充分匀浆后，以3 000 r/min离心20 min，取上清液，使用酶标仪于450 nm波长处检测吸光度值并根据试剂盒说明书中的标准曲线法计算血清中ATP、AMP、FFA水平。

2.4 大鼠梗死心肌组织纤维化程度观察

采用Masson染色法观察。取“2.3”项下各组大鼠固定好的梗死心肌组织适量，进行石蜡包埋、切片，脱蜡至水后，根据Masson三色染色液说明书操作，经浸泡、烘烤、冲洗、浸染、沥干、染色、脱水、封片后，使用显微镜观察心肌纤维化程度并采集图像。

2.5 大鼠梗死心肌组织线粒体形态观察

使用透射电镜观察。取“2.3”项下各组大鼠固定好的梗死心肌组织适量，进行石蜡包埋、切片，脱蜡后，进一步切成70～90 nm的超薄切片，经铀-铅双染色后，使用透射电镜对线粒体形态进行观察并拍照。

2.6 大鼠梗死心肌组织中Bax、Bcl-2、TBK1、p62蛋白表达的检测

采用Western blot法检测。取“2.3”项下各组大鼠冻存的梗死心肌组织适量，加入预冷的高效RIPA组织/细胞裂解液充分匀浆，离心后取上清液，以BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度后作变性处理；取变性蛋白适量，进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转移至聚偏二氟乙烯膜上，以5%脱脂奶粉封闭；以TBST缓冲液洗膜后，加入GAPDH、Bax、Bcl-2、TBK1、p62一抗（稀释比例均为1∶1 000），4 ℃下孵育；以TBST缓冲液洗膜后，加入二抗（稀释比例为1∶5 000），37 ℃下孵育；以TBST缓冲液洗膜3次后，加入ECL工作液显影，再置于超高灵敏度化学发光成像系统下曝光成像。使用Image J 1.52软件对蛋白条带进行定量分析，以GAPDH为内参，计算目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值，用以表示目的蛋白的相对表达量（结果以假手术组为参照进行归一化处理）。

2.7 统计学方法

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。所有数据均以$\bar{x}\pm s$表示，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 $T2$检验（方差不齐）。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 各组大鼠梗死心肌组织中ATP、AMP、FFA水平检测结果

与假手术组比较，模型组大鼠梗死心肌组织中ATP水平显著降低（$P<0.05$），AMP、FFA水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，各药物组大鼠梗死心肌组织中ATP水平均显著升高（$P<0.05$），AMP、FFA水平均显著降低（$P<0.05$）；与强心汤组和卡托普利组比较，强心汤+卡托普利组大鼠梗死心肌组织中ATP水平显著升高（$P<0.05$），AMP、FFA水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见表1。

3.2 各组大鼠梗死心肌组织Masson染色结果

假手术组大鼠心肌组织细胞排列整齐，细胞质丰富均匀且间质正常，未见明显梗死灶，未见纤维化结构。模型组大鼠心肌组织细胞排列错乱，可见明显的心肌纤维化。与模型组比较，强心汤组和卡托普利组大鼠心肌细胞排列相对整齐，心肌纤维化程度减轻；强心汤+卡托普利组大鼠心肌细胞排列整齐，心肌纤维化程度较各单药组更轻。结果见图1。

表1　各组大鼠梗死心肌组织中ATP、AMP、FFA水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组别	ATP/(ng/mL)	AMP/(nmol/L)	FFA/(μmol/L)
假手术组	15.75±1.57	76.60±5.92	33.69±3.95
模型组	5.37±0.14[a]	227.29±23.69[a]	86.73±4.89[a]
强心汤组	8.68±0.68[b]	161.16±8.16[b]	62.34±4.40[b]
卡托普利组	7.86±0.82[b]	158.19±9.30[b]	58.64±6.05[b]
强心汤+卡托普利组	12.42±0.86[bcd]	113.72±8.87[bcd]	50.30±4.67[bcd]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与强心汤组比较，$P<0.05$；d：与卡托普利组比较，$P<0.05$。

3.3　各组大鼠梗死心肌组织中线粒体形态观察结果

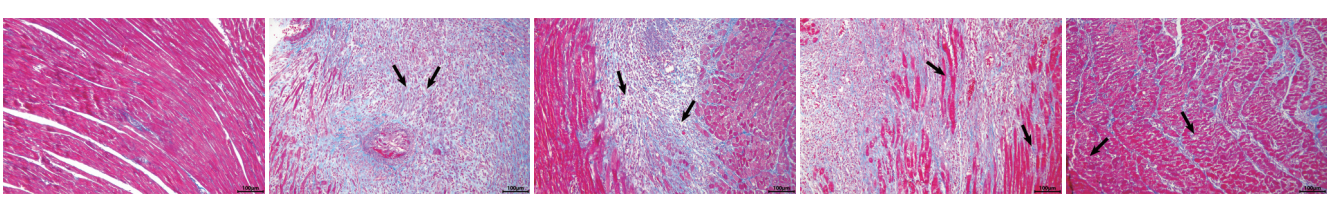
假手术组大鼠心肌组织中线粒体内嵴致密且清晰可见，无肿胀空泡；模型组大鼠梗死心肌组织可见大量线粒体形态发生改变，线粒体肿胀、融合，内嵴断裂；强心汤组大鼠梗死心肌组织中有少量线粒体形态改变，内嵴较完整；卡托普利组大鼠梗死心肌组织中线粒体内嵴致密清晰，有轻度形态改变但较为完整；强心汤+卡托普利组大鼠梗死心肌组织中线粒体形态趋于正常，内嵴清晰完整。结果见图2。

3.4　各组大鼠梗死心肌组织中Bax、Bcl-2、TBK1、p62蛋白表达检测结果

与假手术组比较，模型组大鼠梗死心肌组织中Bax、p62蛋白的相对表达量均显著升高（$P<0.05$），Bcl-2、TBK1蛋白的相对表达量均显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，各药物组大鼠梗死心肌组织中Bax、p62蛋白的相对表达量均显著降低（$P<0.05$），Bcl-2、TBK1蛋白的相对表达量均显著升高（$P<0.05$）；与强心汤组和卡托普利组比较，强心汤+卡托普利组大鼠梗死心肌组织中Bax、p62蛋白的相对表达量均显著降低（$P<0.05$），Bcl-2、TBK1蛋白的相对表达量均显著升高（$P<0.05$）。结果见图3、表2。

4　讨论

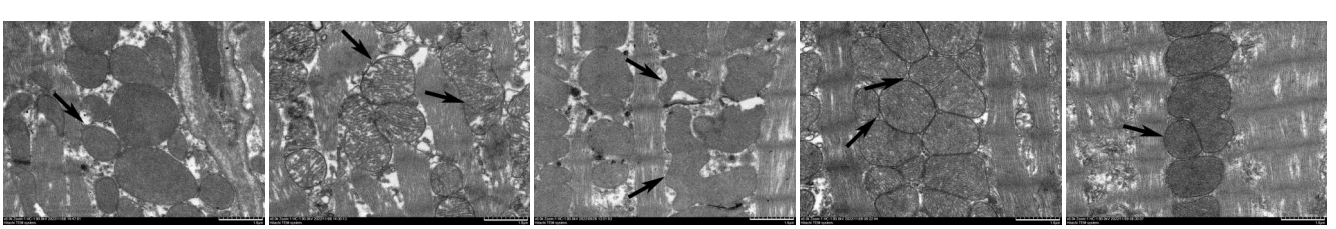
一项前瞻性亚洲CHF登记数据显示，我国CHF患病率为1.3%，1年全因死亡率高达9.6%，是我国严重的公共健康问题之一[13]。即使“新四联”方案已成为目前临床治疗CHF的新的基本准则，但患者的生存质量和预后仍不理想[14]。我国积累了较多中医治疗CHF的临证经验，2022年发布的《慢性心力衰竭中医诊疗指南2022》指出，心力衰竭的病理性质总属本虚标实，多见虚实夹杂[4]。本虚为气、血、阴、阳亏虚，常以气虚为主，兼有阴虚、阳虚；标实以血瘀为主，常兼痰、饮等。因此，临床较为重视CHF的温阳利水、益气活血治法。中药具有多靶点的治疗特点，中西医结合治疗已成为我国CHF临床普遍存在且大众广泛接受的医疗模式[15]。广西名中医卢健棋教授认为，治疗CHF当以“温扶心阳”为要，用药多以温通为主，遂提出了“治心莫远温，心病顾心神”的学术观点，并根据多年临证治疗CHF的经验，创立了强心汤有效验方。此方以黄芪、炮附片为君，可补气温阳；党参益气，桂枝助阳，共为臣；炙甘草补中益气、调和诸药，为使；玉竹防伤阴，茯苓健脾养心利水，配葶苈子和桂枝泻肺利水、通调水道、通益心阳，再佐以白术健脾益气燥湿，丹参、川芎行气活血消瘀，柏子仁养心安神；诸药共奏益气温阳、活血利水之功效。研究表明，血管紧张素Ⅱ（angiotensin Ⅱ，Ang Ⅱ）能够抑制PINK1/Parkin信号通路，从而减轻心肌细胞线粒体自噬所导致的心肌肥大和心肌纤维化，而血管紧张素转化酶抑制剂（angiotensin converting enzyme inhibitor，ACEI）卡托普利能抑制Ang Ⅱ活性，是改善心力衰竭患者预后的基石药物[15]。因此，本研究以化学药卡托普利为阳性对照药，同时探讨了强心汤联合卡托普利这一中西医结合方案用于CHF的干预效果。



A.假手术组　B.模型组　C.强心汤组　D.卡托普利组　E.强心汤+卡托普利组

注：箭头所指为心肌纤维化组织。

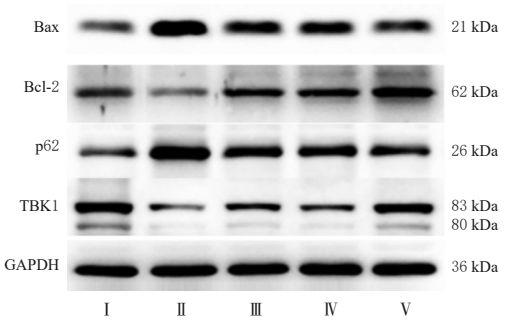
图1　各组大鼠梗死心肌组织纤维化改变显微图（Masson染色，标尺=100 μm）



A.假手术组　B.模型组　C.强心汤组　D.卡托普利组　E.强心汤+卡托普利组

注：箭头所指为线粒体。

图2　各组大鼠梗死心肌组织线粒体形态电镜图（标尺=1.0 μm）



Ⅰ：假手术组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：强心汤组；Ⅳ：卡托普利组；Ⅴ：强心汤+卡托普利组。

图3　各组大鼠梗死心肌组织中Bax、Bcl-2、TBK1、p62蛋白表达电泳图

表2　各组大鼠梗死心肌组织中Bax、Bcl-2、TBK1、p62蛋白的相对表达量比较（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组别	Bax/GAPDH	Bcl-2/GAPDH	p62/GAPDH	TBK1/GAPDH
假手术组	1.05±0.09	1.08±0.03	1.06±0.06	1.04±0.09
模型组	1.83±0.06[a]	0.33±0.08[a]	1.80±0.06[a]	0.40±0.06[a]
强心汤组	1.52±0.04[b]	1.31±0.07[b]	1.49±0.06[b]	0.64±0.09[b]
卡托普利组	1.50±0.08[b]	1.35±0.04[b]	1.53±0.06[b]	0.60±0.07[b]
强心汤+卡托普利组	1.27±0.07[bcd]	1.57±0.07[bcd]	1.21±0.08[bcd]	0.86±.0.05[bcd]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与强心汤组比较，$P<0.05$；d：与卡托普利组比较，$P<0.05$。

既往研究已证实，在正常生理情况下，心肌细胞线粒体可通过氧化磷酸化产生约95%的ATP用于支持心脏的收缩和舒张；当ATP生成出现异常时，心肌细胞将代偿性利用AMP进行能量供应[16—17]。FFA是心肌能量供应的重要底物，当心力衰竭加重时，心肌供能将由有氧氧化转变为无氧酵解，导致FFA蓄积和乳酸大量释放，从而导致心肌细胞损伤加重、心功能恶化[18]。同时，有研究指出，PINK1/Parkin信号通路介导的线粒体自噬能够改善CHF心功能，且Bcl-2、Bax对维持线粒体外膜完整性至关重要；当线粒体受损出现功能障碍时，受损线粒体能够主动释放线粒体DNA，并借助Bcl-2、Bax经线粒体外膜孔隙离开线粒体而驱动炎症反应[11]。此时，线粒体自噬作为抵抗细胞应激的内在保护机制，位于线粒体外膜的PINK1将Parkin募集并驱动后者磷酸化，同时通过Bcl-2、Bax下游因子TBK1激活视神经蛋白磷酸化，诱导p62移至线粒体外膜与微管相关蛋白1轻链3Ⅱ结合，从而形成吞噬泡，以降解受损线粒体、减少细胞死亡[11]。研究指出，在细胞自噬发生过程中，p62在细胞质中被不断降解，而TBK1蛋白表达量与线粒体自噬水平呈正相关[11,19]。

为此，本研究对上述指标进行了定量检测。结果显示，与模型组比较，各药物组大鼠梗死心肌组织中ATP生成明显增加，AMP、FFA水平均显著降低，大鼠心肌纤维化及线粒体肿胀均有所改善，TBK1、Bcl-2蛋白的表达均显著上调，p62、Bax蛋白的表达均显著下调，且强心汤+卡托普利组大鼠上述指标的改善较各单药组更为明显。相关研究指出，强心汤组方中黄芪-附子、丹参-葶苈子、茯苓-桂枝药对可通过调控AMP活化的蛋白激酶/核转录因子红系2相关因子2信号通路、丝裂原活化的蛋白激酶8来减弱 Ang Ⅱ活性，这可能是强心汤组和卡托普利组大鼠各指标间比较无明显差异的重要原因[20—22]。值得注意的是，本研究结果显示，卡托普利联合强心汤具有明显的协同作用，但仍需后续研究进一步验证。结合本研究结果和本课题组前期研究结果[9]可知，强心汤可能通过上调PINK1、Parkin、TBK1、Bcl-2蛋白和下调p62、Bax蛋白的表达，减少ROS生成来促进线粒体自噬，从而维持线粒体稳态和心肌能量供应，发挥减轻心肌纤维化、改善CHF的作用。

综上所述，强心汤能够减轻CHF大鼠心肌纤维化、线粒体肿胀，改善其心肌能量代谢；上述作用可能与调控Bcl-2、Bax、TBK1、p62蛋白表达，促进心肌线粒体自噬有关。但由于本研究样本量较小，未来仍需增加样本量，并从其他靶点蛋白、通路进一步探讨强心汤治疗CHF的作用机制，以期为其临床应用提供更多的科学依据。

参考文献

[1] MCDONAGH T A，METRA M，ADAMO M，et al. 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure[J]. Eur Heart J，2021，42(36)：3599-3726.

[2] 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2022概要[J]. 中国循环杂志，2023，38(6)：583-612.
The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health and Disease in China. Report on cardiovascular health and diseases in China 2022：an updated summary [J]. Chin Circ J，2023，38(6)：583-612.

[3] MCDONAGH T A，METRA M，ADAMO M，et al. 2023 focused update of the 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure[J]. Eur Heart J，2023，44(37)：3627-3639.

[4] 中华中医药学会慢性心力衰竭中医诊疗指南项目组. 慢性心力衰竭中医诊疗指南：2022年[J]. 中医杂志，2023，64(7)：743-756.
Project Group of Traditional Chinese Medicine Guideline for Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure，China Association of Chinese Medicine. Traditional Chinese medicine guideline for diagnosis and treatment of chronic heart failure：2022[J]. J Tradit Chin Med，2023，64(7)：743-756.

[5] 高文静，马宏，项美香. 心肌能量底物代谢重构与心力衰竭关系的研究进展[J]. 解放军医学杂志，2021，46(8)：822-826.
GAO W J，MA H，XIANG M X. Research progress on the metabolic remodeling of myocardial energy substrate in heart failure[J]. Med J Chin People's Liberation Army，2021，46(8)：822-826.

[6] GORĄCY A，ROSIK J，SZOSTAK J，et al. Improving mi-

tochondrial function in preclinical models of heart failure: therapeutic targets for future clinical therapies?[J]. Expert Opin Ther Targets, 2023, 27(7): 593-608.

[7] TANG Y, XU W, LIU Y, et al. Autophagy protects mitochondrial health in heart failure[J]. Heart Fail Rev, 2024, 29(1): 113-123.

[8] 庞延,林浩,卢健棋,等. 强心汤联合八段锦治疗老年慢性心力衰竭伴衰弱患者的临床疗效[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(4):104-109.
PANG Y, LIN H, LU J Q, et al. Clinical efficacy of Qiangxin decoction combined with Baduanjin in treatment of elderly patients with chronic heart failure and weakness [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2023, 29(4): 104-109.

[9] 庞延,卢健棋,唐梅玲,等. 强心汤对慢性心力衰竭模型大鼠梗死心肌区组织活性氧及PINK1/parkin介导的线粒体自噬的影响[J]. 中医杂志,2023,64(7):722-728.
PANG Y, LU J Q, TANG M L, et al. Effect of Qiangxin decoction on reactive oxygen species and PINK1/parkin mediated mitochondrial autophagy in myocardium of chronic heart failure model rats[J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(7): 722-728.

[10] 周爽,蒋智渊,钟国强. 线粒体自噬与心力衰竭[J]. 中国病理生理杂志,2020,36(5):924-929,935.
ZHOU S, JIANG Z Y, ZHONG G Q. Mitophagy and heart failure[J]. Chin J Pathophysiol, 2020, 36(5): 924-929, 935.

[11] MARCHI S, GUILBAUD E, TAIT S W G, et al. Mitochondrial control of inflammation[J]. Nat Rev Immunol, 2023, 23(3): 159-173.

[12] 朱智德,庞延,卢健棋,等. 强心汤对慢性心力衰竭模型大鼠心肌组织OMA1、OPA1表达及线粒体形态的影响[J]. 中医杂志,2021,62(3):266-270,276.
ZHU Z D, PANG Y, LU J Q, et al. Effect of Qiangxin decoction on OMA1 and OPA1 expression and mitochondrial morphology of myocardial tissue in chronic heart failure model rats[J]. J Tradit Chin Med, 2021, 62(3): 266-270, 276.

[13] 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.

[14] HEIDENREICH P A, BOZKURT B, AGUILAR D, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on clinical practice guidelines[J]. J Am Coll Cardiol, 2022, 79(17): e263-e421.

[15] FAN G, CHEN M J, WEI J. Involvement of phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase 1/Parkin-mediated autophagy in angiotensin Ⅱ-induced cardiac hypertrophy in C57BL/6 mice[J]. J Int Med Res, 2020, 48(5): 300060519896143.

[16] XU H X, CUI S M, ZHANG Y M, et al. Mitochondrial Ca^{2+} regulation in the etiology of heart failure: physiological and pathophysiological implications[J]. Acta Pharmacol Sin, 2020, 41(10): 1301-1309.

[17] SABBAH H N. Targeting the mitochondria in heart failure: a translational perspective[J]. JACC Basic Transl Sci, 2020, 5(1): 88-106.

[18] BILLINGSLEY H, CANADA J M, MARKLEY R, et al. Abstract P436: the role of free fatty acids in patients with obesity and heart failure with preserved ejection fraction: a post-hoc analysis of the UFA-preserved pilot study[J/OL]. Circulation, 2020, 141(Suppl. 1)[2024-01-25]. https://www.researchgate.net/publication/339660476. DOI: 10.1161/circ.141.suppl_1.P436.

[19] 熊永红,陶洁,田浩,等. TBK1过表达对小鼠高糖离体心肌细胞缺氧复氧损伤的影响:与线粒体自噬的关系[J]. 中华麻醉学杂志,2021,41(8):996-999.
XIONG Y H, TAO J, TIAN H, et al. Effect of TBK1 overexpression on hypoxia-reoxygenation injury in isolated mouse cardiomyocytes subjected to high glucose: relationship with mitochondrial autophagy[J]. Chin J Anesthesiol, 2021, 41(8): 996-999.

[20] 黎燚华,陈琦,康亮,等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨人参、丹参、葶苈子治疗慢性心力衰竭的分子机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(21):3855-3863.
LI Y H, CHEN Q, KANG L, et al. The molecular mechanism of *Panax ginseng*, *Salvia miltiorrhiza*, and Descurainiae Semen Lepidii Semen in treating chronic heart failure based on network pharmacology and molecular docking [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2022, 20(21): 3855-3863.

[21] 李钰鑫,阎美卉,李森. 基于网络药理学与分子对接研究黄芪-附子治疗慢性心力衰竭的机制[J]. 世界中医药,2022,17(16):2251-2257.
LI Y X, YAN M H, LI S. Mechanism of Astragali Radix-Aconiti Lateralis Radix Preparata in the treatment of chronic heart failure based on network pharmacology and molecular docking[J]. World Chin Med, 2022, 17(16): 2251-2257.

[22] 王文琪,崔磊,张馨方,等. 茯苓桂枝药对对慢性心力衰竭模型大鼠心肌组织血管紧张素Ⅱ受体1及血清炎症因子的影响[J]. 中医杂志,2020,61(21):1921-1926.
WANG W Q, CUI L, ZHANG X F, et al. Effects of drug-pair of Poria and Guizhi (Ramulus Cinnamomi) on angiotensin Ⅱ receptor 1 and serum inflammatory factors of myocardial tissue in chronic heart failure model rats[J]. J Tradit Chin Med, 2020, 61(21): 1921-1926.

(收稿日期:2024-02-29 修回日期:2024-05-20)
(编辑:张元媛)