

· 经典名方 ·

保元汤合苓桂术甘汤加减对心肌梗死后心衰大鼠心肌线粒体损伤及NLRP3/GSDMD介导的细胞焦亡的影响

朱婷婷¹, 吕李飞^{1,2}, 尚碧月¹, 张芷唯¹, 吕顺新¹, 王雨霏^{1,3}, 崔向宁^{1*}, 路迎冬^{1*}

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053;

2. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405; 3. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 目的:探讨保元汤合苓桂术甘汤加减对心肌梗死后心力衰竭大鼠的治疗作用及其对NOD样受体蛋白3(NLRP3)/溶皮素D(GSDMD)相关细胞焦亡的影响。方法:选取60只雄性SD大鼠,随机分为假手术组,模型组,保元汤合苓桂术甘汤加减低、中、高剂量组及沙库巴曲缬沙坦钠组,每组10只。除假手术组外,其余各组均采用冠状动脉左前降支结扎建立心肌梗死模型。保元汤合苓桂术甘汤低、中、高剂量组分别以2.52、5.04、10.08 g·kg⁻¹剂量灌胃,沙库巴曲缬沙坦钠组以0.021 g·kg⁻¹剂量灌胃,假手术组与模型组灌胃等体积生理盐水,造模成功后第1天开始给药,每日1次,灌胃4周。采用超声心动图检测左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心室舒张末期与收缩末期内径(LVIDd、LVIDs)、后壁厚度(LVPWd、LVPWs)及容积(LV Vold、LV Vols);计算心脏质量指数、心腔比;苏木素-伊红(HE)、天狼猩红染色观察心肌组织形态及胶原沉积;免疫组化检测I型胶原(Collagen I)、NLRP3、GSDMD、白细胞介素-1 β (IL-1 β)表达;透射电镜观察心肌线粒体超微结构;四甲基罗丹明甲酯(TMRM)染色检测心肌细胞线粒体膜电位(MMP)水平;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测各组心肌组织NLRP3、胱天蛋白酶-1(Caspase-1)、GSDMD、IL-1 β 、白细胞介素-18(IL-18) mRNA表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测各组心肌组织NLRP3、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18、核转录因子- κ B(NF- κ B) p50、NF- κ B p65蛋白表达;酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1 β 、IL-6水平。结果:与假手术组比较,模型组大鼠LVIDd、LVIDs、LV Vold、LV Vols、心脏质量指数、心腔比均明显升高($P<0.05$),而LVPWs、LVEF、LVFS和MMP明显下降($P<0.05$);心肌炎症、纤维化及线粒体损伤明显,NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 、GSDMD、IL-18 mRNA和蛋白表达,NF- κ B p50、NF- κ B p65蛋白表达及血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平明显升高($P<0.05$)。与模型组比较,保元汤合苓桂术甘汤加减高剂量组可明显降低LVIDd、LVIDs、LV Vols、心脏质量指数、心腔比($P<0.05$),明显提高LVPWs、LVEF、LVFS和MMP($P<0.05$),减轻心肌炎症和纤维化,改善线粒体结构与功能,下调NLRP3、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18、NF- κ B p50、NF- κ B p65表达($P<0.05$),并明显减少血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平($P<0.05$)。结论:保元汤合苓桂术甘汤加减可改善心肌梗死后心室重构与心功能,可能与改善线粒体损伤及抑制NLRP3/GSDMD相关细胞焦亡有关。

[关键词] 保元汤; 苓桂术甘汤; 心肌梗死; 心力衰竭; 细胞焦亡

[中图分类号] R242;R541;R256.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)17-0001-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20261091

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260224.1132.001>

[网络出版日期] 2026-02-24 15:12:23 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



Effect of Modified Baoyuantang Combined with Lingui Zhugantang on Myocardial Mitochondrial Damage and NLRP3/GSDMD-mediated Pyroptosis in Rat Model of Post-myocardial Infarction Heart Failure

ZHU Tingting¹, LYU Lifei^{1,2}, SHANG Biye¹, ZHANG Zhiwei¹, LYU Shunxin¹, WANG Yufei^{1,3},

[收稿日期] 2025-12-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82305016);中国中医科学院优秀青年科技人才培养专项(ZZ18-YQ-015)

[第一作者] 朱婷婷,在读博士,从事中西医结合防治心血管疾病研究,E-mail:zhutt1022@163.com

[通信作者] * 崔向宁,博士,主任医师,从事中西医结合防治心血管疾病研究,E-mail:cuixiangning@126.com;

* 路迎冬,硕士,主管技师,从事中西医结合防治心血管疾病研究,E-mail:yingdonglu1988@126.com

CUI Xiangning^{1*}, LU Yingdong^{1*}

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;

2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effects of modified Baoyuantang combined with Linggui Zhugantang on post-myocardial infarction heart failure in rats and its influence on NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3)/gasdermin D (GSDMD)-mediated pyroptosis. **Methods:** Sixty male SD rats were randomized into sham, model, low-, medium-, and high-dose (2.52, 5.04, 10.08 g·kg⁻¹, respectively) modified Baoyuantang combined with Linggui Zhugantang, and sacubitril/valsartan sodium (0.021 g·kg⁻¹) groups, with 10 rats in each group. Except the sham group, the other groups underwent left anterior descending coronary artery ligation for the modeling of myocardial infarction. The treatment groups were administrated with corresponding drugs by gavage, and the sham and model groups received an equal volume of normal saline. Administration began on the first day after successful modeling, once daily, for 4 weeks. Echocardiography was used to measure left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS), left ventricular end-diastolic and end-systolic diameters (LVIDd and LVIDs), left ventricular posterior wall thicknesses at end-diastole and end-systole (LVPWd, LVPWs), and left ventricular volumes at end-diastole and end-systole (LV Vold and LV Vols). Cardiac mass index and heart weight-to-tibia length ratio were calculated. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Sirius Red staining were performed to observe myocardial morphology and collagen deposition. Immunohistochemistry was employed to detect the expression of type I collagen (Collagen I), NLRP3, GSDMD, and interleukin-1 β (IL-1 β). Transmission electron microscopy was used to observe the mitochondrial ultrastructure. Tetramethylrhodamine methyl ester (TMRM) staining was conducted to assess mitochondrial membrane potential (MMP) in cardiomyocytes. Real-time PCR was used to quantify the mRNA levels of NLRP3, cysteinyl aspartate-specific proteinase-1 (Caspase-1), IL-1 β , GSDMD, and interleukin-18 (IL-18) in the myocardial tissue. Western blotting was employed to determine the protein levels of NLRP3, Caspase-1, GSDMD, IL-1 β , IL-18, nuclear factor kappa-B (NF- κ B) p50, and NF- κ B p65 in the myocardial tissue. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted to measure the serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-1 β , and IL-6. **Results:** Compared with the sham group, the model group showed increased LVIDd, LVIDs, LV Vold, LV Vols, cardiac mass index, and heart weight-to-tibia length ratio ($P<0.05$), decreased LVPWs, LVEF, LVFS, and MMP ($P<0.05$), evident myocardial inflammation, fibrosis, and mitochondrial damage, upregulated expression of NLRP3, Caspase-1, GSDMD, IL-1 β , IL-18, NF- κ B p50, and NF- κ B p65, and elevated serum levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 ($P<0.05$). Compared with the model group, modified Baoyuantang combined with Linggui Zhugantang reduced the LVIDd, LVIDs, LV Vols, cardiac mass index, and heart weight-to-tibia length ratio ($P<0.05$), increased the LVPWs, LVEF, LVFS, and MMP ($P<0.05$), alleviated myocardial inflammation and fibrosis, improved the mitochondrial structure and function, downregulated the expression of NLRP3, Caspase-1, GSDMD, IL-1 β , IL-18, NF- κ B p50, and NF- κ B p65 ($P<0.05$), and reduced the serum levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 ($P<0.05$). **Conclusion:** Modified Baoyuantang combined with Linggui Zhugantang can ameliorate post-myocardial infarction ventricular remodeling and improve the cardiac function by reducing mitochondrial damage and inhibiting NLRP3/GSDMD-mediated pyroptosis.

[Keywords] Baoyuantang; Linggui Zhugantang; myocardial infarction; heart failure; pyroptosis

心肌梗死(以下简称心梗)后心力衰竭(以下简称心衰)是心血管疾病终末期主要死亡原因之一,仍是临床治疗中的重大挑战。尽管再灌注及药物干预措施显著提高了心梗急性期的生存率,但相当一部分患者在数周至数月内仍因持续的心室重构和心功能进行性下降而发展为心衰,其发生率和致残率逐年攀升,严重影响长期预后与生活质量^[1-2]。因此,阐明心梗后心衰的关键病理机制并探索有效干预策略至关重要。近年来研究表明,心梗后持续的无菌性炎症反应在心室重构和心肌功能恶化中发挥核心作用^[3]。其中,NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体介导的细胞焦亡作为一种典型的炎性细胞死亡方式,被认为是推动心肌细胞丢失

和心室重构的重要机制^[4]。此外,越来越多证据提示,心梗后线粒体结构破坏、膜电位下降等线粒体损伤可成为炎症小体激活与心肌损伤持续加重的关键信号来源^[5]。因此,保护线粒体功能并抑制NLRP3/消皮素D(GSDMD)介导的细胞焦亡,可能为延缓心梗后心衰进展提供新的治疗思路。

中医药在防治心梗后心衰方面具有多靶点、系统性调节的优势。邓铁涛教授提出“心衰从脾论治”理论,认为脾气虚衰贯穿心衰形成与演变,健脾益气、温阳化饮是治疗心衰的重要治则^[6]。保元汤益气健脾补虚^[7],苓桂术甘汤温阳健脾利水^[8],二者合用可益气固本、温阳利水,已被证实治疗心梗后心衰疗效确切^[9]。然而,其是否通过其改善心肌线

粒体损伤并抑制 NLRP3/GSDMD 介导的细胞焦亡从而改善心室重构、延缓心功能恶化尚未阐明。基于此,本研究拟以心梗后心衰大鼠为研究对象,探讨保元汤合苓桂术甘汤加减对心肌线粒体损伤及 NLRP3/GSDMD 介导的细胞焦亡的影响,旨在揭示其中药改善心梗后心衰的潜在机制,为临床防治提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 实验动物选用 SPF 级雄性 SD 大鼠共 60 只,体质量(200 ± 20) g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供[合格证号 SCXK(京)2021-0017]。大鼠饲养于中国中医科学院中医基础理论研究所的 SPF 级屏障环境中,饲养条件为室温 $20\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 40%~60%、自然昼夜交替光照,并自由摄取标准饲料及饮水。实验开始前,所有动物均进行 1 周的适应性饲养。

1.2 伦理 研究方案经中国中医科学院广安门医院动物伦理委员会审查批准(IACUC-GAMH-2024-065)。

1.3 药物与试剂 保元汤合苓桂术甘汤加减(人参 3 g、黄芪 9 g、肉桂 3 g、茯苓 12 g、桂枝 9 g、白术 6 g、炙甘草 6 g;其中人参购自上药(辽宁)中药资源有限公司,批号 240605;黄芪、肉桂、茯苓、桂枝、炙甘草购自北京丰泰金源药业有限公司,批号分别为 24112402、24101205、24112004、24102503、24100601;白术购自北京人卫药业有限公司,批号 4060905)。饮片由中国中医科学院广安门医院中药师陈海铮鉴定符合均符合 2025 年版《中华人民共和国药典》规定标准。按剂量取上述药材饮片,取总药材 10 倍量纯净水浸泡药材 30 min 后,武火煮沸,文火再煎煮 20 min,取药汁同样水量,武火煮沸后文火煎煮 20 min,取药汁,将 2 次药汁混合,使用旋转蒸发仪浓缩药液至生药质量浓度为 $0.504\sim 1.008\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,分装后置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。沙库巴曲缬沙坦钠混悬液(北京诺华制药有限公司,国药准字 HJ20170363,批号 THAM1,100 mg/片),研碎后溶于纯净水中配置成质量浓度为 $2.1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 混悬液。苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、4% 组织细胞固定液、2.5% 戊二醛固定液、肝素、大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)检测试剂盒、大鼠白细胞介素- 1β (IL- 1β)检测试剂盒、大鼠白细胞介素-6(IL-6)检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号分别为 G1120、P1110、P1126、H8060、SEKR-0009、SEKR-0002、SEKR-0005);天狼猩红染色液(Sirius red)试剂

盒(珠海贝索生物技术有限公司,货号 BA4079A);四甲基罗丹明甲酯(TMRM)染色试剂、线粒体超氧化物指示剂(MitoSOX)(美国赛默飞世尔科技有限公司,货号分别为 T668、M36008);RNA Easy Fast 动物组织/细胞总 RNA 提取试剂盒、FastKing 一步法除基因组 cDNA 第一链合成预混试剂、FastReal 快速荧光定量聚合酶链式反应(PCR)预混试剂(SYBR Green)(北京天根生化科技有限公司,货号分别为 DP451、KR118、FP217);I 型胶原(Collagen I)抗体(北京博奥森生物技术有限公司,货号 bs-0578R);NLRP3 抗体(美国 NSJ Bioreagents 公司,货号 R30750);GSDMD 抗体、核转录因子- κB (NF- κB) p50 抗体、NF- κB p65 抗体(英国 abcam 公司,货号分别为 ab219800、ab32360、ab194726);胱天蛋白酶-1 (Caspase-1)抗体、IL- 1β 抗体、IL-18 抗体(美国 Proteintech 公司,货号分别为 81482-1-RR、26048-1-AP、10663-1-AP);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、超敏 ECL 化学发光试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号分别为 GB11002、G2020);辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔免疫球蛋白 G (IgG, H+L)(上海碧云天生物技术股份有限公司,货号 A0208)。

1.4 仪器 N-1100 型旋转蒸发仪(上海泉杰仪器有限公司);RM6240 生物信号采集处理系统(成都仪器厂);Vevo2100 型高分辨率小动物成像系统(加拿大 Visual Sonics 公司);EG1150 型包埋机、SM2010R 型病理切片机(德国 Leica 公司);CKX53 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司);H7650 型透射电子显微镜(日本 Hitachi 公司);Mini-PROTEAN 型凝胶电泳转印系统、Doc™XR+型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司);BY-R20 高速离心机(北京白洋医疗器械有限公司);NanoDrop™ One/OneC 型微量 UV-Vis 分光光度计(美国赛默飞世尔科技有限公司);LightCycler® 480 II 型实时荧光定量 PCR (Real-time PCR)仪(瑞士 Roche 公司);Milli-Q Advantage A10 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

2 方法

2.1 模型制备、分组与给药 通过结扎大鼠左前降支冠状动脉(LAD)建立心梗模型。适应性喂养 1 周后的大鼠,胸部脱毛并进行皮肤准备后,腹腔注射戊巴比妥钠($40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)进行麻醉,仰卧位固定四肢于手术台上。随后实施气管插管,连接小动物呼吸机进行机械辅助通气。经左胸第 3~4 肋间开胸暴露心脏后,使用 5-0 无创缝合线结扎左前降支冠状

动脉,结扎点位于主动脉圆锥与左心耳连线下方1 mm。结扎成功后,可观察到结扎部位以下心肌呈苍白。手术完成后,逐层缝合胸壁,并在大鼠生命体征平稳后停用呼吸机。术后连续3 d腹腔注射青霉素以预防感染。术后24 h,通过体表心电图检测Q波变化,若病理性Q波导联 ≥ 5 ,则判断心梗模型制备成功。术后第7天,使用超声心动评估左心室射血分数(LVEF), $LVEF \leq 45\%$ 被作为心衰模型成功的标准。假手术组在心脏相同位置穿线但不结扎,其余操作步骤一致。

按照人和动物体表面积折算,大鼠与人之间的剂量换算系数为6.3,大鼠等效给药量($g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$)= $6.3 \times$ 人给药量($g \cdot kg^{-1}$),得出保元汤合苓桂术甘汤的同等给药剂量为 $5.04 g \cdot kg^{-1}$,低剂量为同等剂量的1/2,高剂量为同等剂量的2倍。本实验共纳入60只雄性SD大鼠,其中10只作为假手术组,其余50只行冠状动脉左前降支结扎以建立心梗模型。50只结扎大鼠中术后存活并造模成功者共45只,将其随机分为模型组、中药低、中、高剂量组(保元汤合苓桂术甘汤 2.52 、 5.04 、 $10.08 g \cdot kg^{-1}$ 及沙库巴曲缬沙坦钠组($0.021 g \cdot kg^{-1}$),每组9只。造模成功后第1天起,予以药物灌胃1次/d,假手术组和模型组给予等体积0.9%生理盐水灌胃,灌胃体积 $10 mL \cdot kg^{-1}$,连续灌胃4周。

2.2 观察指标

2.2.1 超声心动图检测心脏结构和功能 连续治疗4周后,采用Vevo 2100高分辨率超声成像系统进行无创经胸超声心动图检测,以大鼠左心室结构和功能。所有大鼠均用戊巴比妥钠($40 mg \cdot kg^{-1}$)麻醉,定位探头于左胸部乳头肌尖水平,行超声心动图检查,检测反应心脏结构及功能的相关参数:LVEF、左心室短轴缩短分数(LVFS)、左心室舒张末期内径(LVIDd)、左心室收缩末期内径(LVIDs)、左心室舒张末期后壁厚度(LVPWd)、左心室收缩末期后壁厚度(LVPWs)、左心室舒张末期容积(LV Vold)和左心室收缩末期容积(LV Vols),连续取得3个心动周期平均值。

2.2.2 心脏外观、心脏质量指数、心腔比评估心脏肥大情况 所有大鼠给药4周后第2天,戊巴比妥钠深度麻醉后迅速打开胸腔取出心脏,剪去附着物后用预冷的生理盐水冲洗干净心腔内残余血液,经滤纸吸干心脏表面水分后,剪去多余组织,进行心脏拍照并称质量。剥离大鼠左侧胫骨,游标卡尺测量胫骨长度。计算心脏质量指数:心脏质量指数=

心脏质量/体质量($mg \cdot g^{-1}$);心腔比=心脏质量/胫骨长度($mg \cdot mm^{-1}$)。

2.2.3 HE、天狼猩红染色检测心肌组织病理变化

取心肌组织,使用生理盐水冲洗,置于4%多聚甲醛溶液中,室温下固定过夜后,将标本进行修剪脱水、浸蜡包埋,切成 $4 \mu m$ 厚的横切面,分别用HE和天狼猩红染色,封片,显微镜下观察心肌组织病理改变及纤维化程度,使用Image J软件量化纤维化面积百分比(阳性染色面积/总面积 $\times 100\%$)。

2.2.4 免疫组化(IHC)检测Collagen I、NLRP3、GSDMD、IL-1 β 表达 厚度约为 $4 \mu m$ 的石蜡包埋心肌组织切片经脱蜡和水化处理,浸入pH 6.0的柠檬酸盐缓冲液中,并在 $140^\circ C$ 下进行高压处理以修复抗原。随后,切片与3%过氧化氢孵育以灭活内源性过氧化物酶活性。经正常山羊血清封闭后,切片与Collagen I抗体(1:500)、NLRP3抗体(1:500)、GSDMD(1:1 000)、IL-1 β (1:500)在 $4^\circ C$ 下孵育过夜。次日,切片与酶标记的山羊抗兔二抗(1:50)在 $37^\circ C$ 下进一步孵育30 min,最终使用3,3'-二氨基联苯胺(DAB)检测试剂盒进行染色。光学显微镜下观察,以细胞胞浆出现棕黄色着色为阳性结果,使用Image J软件分析阳性表达率。

2.2.5 透射电镜观察心肌线粒体超微结构 使用透射电镜观察心肌线粒体的超微结构。将心脏组织切成 $<1 mm^3$ 的小块,用2.5%戊二醛固定24 h,然后磷酸盐缓冲液洗涤。随后,组织用1%四氧化锇固定后,通过一系列梯度乙醇分级脱水,包埋、 $50 nm$ 切片、染色,最后用透射电镜拍照,采集图像。

2.2.6 TMRM染色检测心肌线粒体膜电位(MMP)水平 首先采用Langerdorff灌流法分离心肌细胞。具体操作流程为:SD大鼠注射肝素钠以防止血液凝固,随后在深度麻醉下实施安乐死。随后切断主动脉取出心脏,并立即置于Langerdorff灌注系统中进行钙离子去除和胶原酶消化处理。之后将心室组织切碎、循环并过滤,随后进行3次离心步骤,逐步添加氯化钙直至达到生理钙浓度。将灌流分离的心肌细胞与TMRM($100 nmol \cdot L^{-1}$)在 $37^\circ C$ 避光孵育30 min,以检测MMP水平。荧光信号经荧光显微镜成像后,使用Image J软件进行定量分析。

2.2.7 Real-time PCR检测心肌组织NLRP3/GSDMD信号通路及相关炎症指标mRNA表达水平 采用RNA提取试剂盒提取心肌组织总RNA, NanoDorp仪器测定RNA总浓度。根据Real-time PCR试剂盒说明书配制反应体系,反应条件为

95℃、2 min,循环1次进行预变性,95℃、5 s,60℃、10 s,72℃、15 s,循环40次分别进行变性、退火和延伸。GAPDH为内参引物,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析指标 NLRP3、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18 mRNA 相对表达量。引物由北京天一辉远生物科技有限公司合成,引物序列见表1。

表1 引物序列
Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
NLRP3	上游 CTTTGCAGCGATCAACAGG	133
	下游 CAAACCTATCCACTCCTCTTCAAG	
Caspase-1	上游 GAAGATGATGGCATTAAAGAAGG	98
	下游 GGCATATTCTTTCATGTGTTTG	
GSDMD	上游 ATGAATGTGTGTATGCTGCG	132
	下游 GGTCAACCACAAACACGTCAT	
IL-1 β	上游 GCTGACAGACCCCAAAAGA	176
	下游 CTCCACGGGCAAGACATAG	
IL-18	上游 GAAGGCTCTGTGTCAACTTC	121
	下游 CTGCGGTTGTACAGTGAAGTC	
GAPDH	上游 CTCATGACCACAGTCCATGC	155
	下游 TTCAGCTCTGGGATGACCTT	

2.2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测心肌组织 NLRP3/GSDMD 信号通路及相关炎症指标蛋白表达水平 使用蛋白裂解液提取大鼠心脏组织总蛋白,用聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)法测蛋白浓度,并将各组蛋白浓度调一致,水浴变性后加入 loading buffer。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳后,电转移到PVDF膜上。用5%脱脂奶粉-TBST溶液室温封闭1 h后,加入一抗:NLRP3(1:800)、Caspase-1(1:10 000)、IL-1 β (1:5 000)、GSDMD(1:2 000)、IL-18(1:5 000)、NF- κ B p50(1:1 000)、NF- κ B p65(1:1 000)、GAPDH(1:4 000),4℃冰箱过夜。次日加入二抗(1:1 000),室温孵育1 h后,加入ECL发光液显影。并设GAPDH为内参照,使用Image J软件分析蛋白条带。

2.2.9 酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平 所有大鼠给药4周后第2天,腹主动脉取血,室温放置30~60 min后4℃、3 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清血清分装并置-80℃保存。根据试剂盒说明书,分别测定血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

2.3 统计学处理 采用SPSS 25.0软件分析,所有

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。计量资料采用完全随机资料的方差分析(ANOVA),计数资料采用卡方检验或Fisher精确检验。所有统计检验均采取双侧检验, $P<0.05$ 表示具有统计学意义。

3 结果

3.1 对心梗后心衰大鼠心脏结构和功能的影响

与假手术组比较,模型组大鼠 LVIDd、LVIDs、LV Vold、LV Vols 均明显升高,LVPWs、LVEF、LVFS 均明显降低($P<0.05$)。与模型组比较,中药低、中、高剂量组及沙库巴曲缬沙坦钠组 LVEF、LVFS 均明显升高($P<0.05$)、LV Vols 明显降低($P<0.05$),中药中、高剂量组及沙库巴曲缬沙坦钠组 LVIDs 明显降低($P<0.05$),中药高剂量组及沙库巴曲缬沙坦钠组 LVIDd、LV Vold 均明显降低($P<0.05$),中药高剂量组 LVPWs 明显升高($P<0.05$),沙库巴曲缬沙坦钠组 LVPWd 明显升高($P<0.05$)。与中药低剂量组比较,中药中、高剂量组及沙库巴曲缬沙坦钠组 LVEF、LVFS 均明显升高($P<0.05$),中药高剂量组及沙库巴曲缬沙坦钠组 LVIDs、LV Vols 均明显降低($P<0.05$),沙库巴曲缬沙坦钠组 LVIDd 明显降低($P<0.05$)。与沙库巴曲缬沙坦钠组比较,中药高剂量组 LVEF、LVFS 均明显升高($P<0.05$)。见表2。

3.2 对心梗后心衰大鼠心脏肥大的影响

与假手术组比较,心梗模型组大鼠心脏表面不光滑,外观明显增大,左心室部分可见明显苍白色梗死瘢痕区,心脏质量比及心腔比均略有增大($P<0.05$);与模型组比较,中药中、高剂量及沙库巴曲缬沙坦钠干预后均有明显改善($P<0.05$),具有剂量依赖性,与中药低剂量组比较,中药高剂量组改善更明显($P<0.05$)。见图1、表3。

3.3 对心梗后心衰大鼠心脏组织病理学的影响

大鼠心肌组织 HE 染色结果显示,假手术组心肌细胞排列整齐、结构完整,间质正常,无明显炎性细胞浸润。模型组大鼠梗死边缘区心肌细胞排列紊乱,形态异常,部分细胞发生断裂坏死,伴随明显炎性细胞浸润。与模型组比较,不同剂量中药组及沙库巴曲缬沙坦钠组心肌组织损伤程度均明显减轻,炎性浸润均有所缓解。见图2。

3.4 对心梗后心衰大鼠心肌纤维化的影响

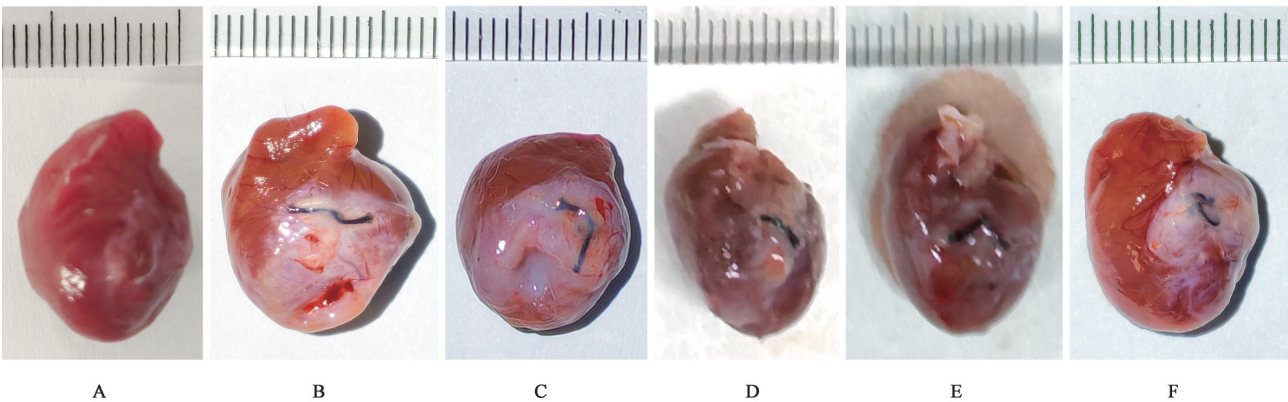
采用天狼猩红染色及 Collagen I 免疫组化染色评估各组大鼠心肌组织胶原沉积情况,以判断心肌纤维化程度。假手术组心肌组织中胶原纤维分布稀少,Collagen I 呈低水平表达;模型组则表现为大量胶原沉积伴瘢痕形成,与假手术组比较,模型组

表2 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心脏结构和功能的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of modified Baoyuantang combined with Linggui Zhugantang (MBL) on cardiac structure and function in rats with post-myocardial infarction heart failure ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	LVIDd/mm	LVIDs/mm	LVPWd/mm	LVPWs/mm
假手术组		6.36±0.41	2.78±0.46	2.72±0.49	3.71±0.33
模型组		8.71±0.76 ¹⁾	7.26±0.72 ¹⁾	2.10±0.71	2.75±0.65 ¹⁾
中药低剂量组	2.52	8.43±0.79	6.46±0.62	2.20±0.59	2.94±0.65
中药中剂量组	5.04	8.55±0.45	6.11±0.35 ²⁾	2.44±0.52	3.15±0.52
中药高剂量组	10.08	7.50±0.95 ²⁾	4.40±0.48 ^{2,3)}	2.11±0.45	3.47±0.71 ²⁾
沙库巴曲缬沙坦钠组	0.021	6.39±1.89 ^{2,3)}	4.25±1.19 ^{2,3)}	2.94±0.98 ²⁾	3.37±0.54
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	LVEF/%	LVFS/%	LV Vold/ μL	LV Vols/ μL
假手术组		85.72±4.23	56.46±5.32	206.63±30.32	30.10±11.94
模型组		33.47±3.69 ¹⁾	16.70±2.03 ¹⁾	420.04±83.16 ¹⁾	280.29±61.25 ¹⁾
中药低剂量组	2.52	45.00±1.22 ²⁾	23.36±0.71 ²⁾	390.65±80.71	215.15±46.47 ²⁾
中药中剂量组	5.04	53.12±1.88 ^{2,3)}	28.60±1.23 ^{2,3)}	400.72±46.43	187.98±24.19 ²⁾
中药高剂量组	10.08	70.38±2.91 ^{2,3,4)}	41.18±2.62 ^{2,3,4)}	303.61±87.81 ²⁾	89.08±22.66 ^{2,3)}
沙库巴曲缬沙坦钠组	0.021	60.79±1.89 ^{2,3)}	33.15±1.75 ^{2,3)}	227.93±129.13 ²⁾	88.71±48.50 ^{2,3)}

注:与假手术组比较¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$;与中药低剂量组比较³⁾ $P<0.05$;与沙库巴曲缬沙坦钠组比较⁴⁾ $P<0.05$ (表3和表4同)



注:A.假手术组;B.模型组;C-E.中药低、中、高剂量组;F.沙库巴曲缬沙坦钠组(图2-图4同)

图1 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心脏肥大的影响

Fig. 1 Effect of MBL on cardiac hypertrophy in rats with post-myocardial infarction heart failure

表3 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心脏质量指数及心腔比的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of MBL on cardiac mass ratio and cardiac-to-leg ratio in rats with post-myocardial infarction heart failure ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	心脏质量指数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	心腔比/ $\text{mg}\cdot\text{mm}^{-1}$
假手术组		2.80±0.17	35.76±1.48
模型组		3.36±0.18 ¹⁾	52.14±2.12 ¹⁾
中药低剂量组	2.52	3.20±0.16	49.99±1.98
中药中剂量组	5.04	3.13±0.15 ²⁾	46.03±3.67 ^{2,3)}
中药高剂量组	10.08	3.02±0.14 ^{2,3)}	42.05±2.40 ^{2,3)}
沙库巴曲缬沙坦钠组	0.021	3.03±0.11 ^{2,3)}	42.70±2.56 ^{2,3)}

Collagen I 表达明显升高($P<0.05$)。经中药及沙库巴曲缬沙坦钠干预后,心肌组织胶原沉积明显减

少,Collagen I 表达明显下调($P<0.05$);与中药低剂量组比较,中药高剂量组及沙库巴曲缬沙坦钠组胶原纤维面积下调更为明显,差异有统计学意义($P<0.05$),提示其能够有效减轻心肌纤维化病变。见图3、图4及表4。

3.5 对心梗后心衰大鼠心肌线粒体超微结构的影响 基于高剂量保元汤合苓桂术甘汤加减在改善心脏结构、功能及组织病理方面的显著效果,后续机制研究选取该剂量组进行观察。透射电镜结果显示,假手术组大鼠心肌线粒体外膜完整、嵴结构清晰且排列规则;模型组线粒体形态明显异常,表现为肿胀、排列紊乱、密度下降,伴嵴断裂模糊及基质肿胀变性;经保元汤合苓桂术甘汤加减及沙库巴

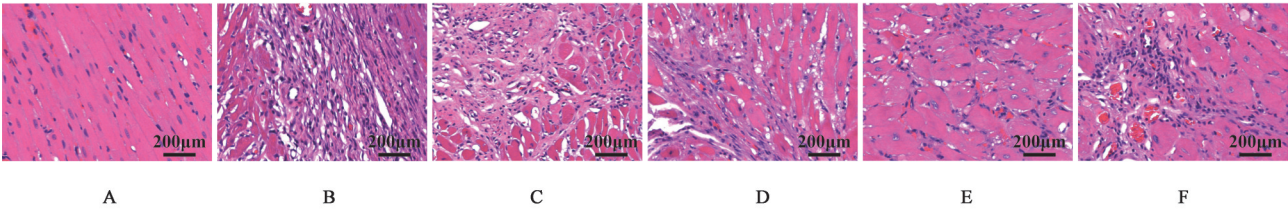


图2 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心脏组织病理学的影响(HE,×200)
Fig. 2 Effect of MBL on cardiac histopathology in rats with post-myocardial infarction heart failure (HE,×200)

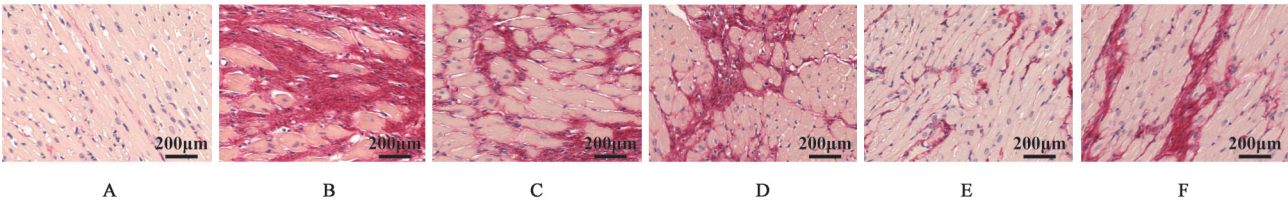


图3 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌组织纤维化的影响(天狼猩红,×200)
Fig. 3 Effect of MBL on cardiac tissue fibrosis in rats with post-myocardial infarction heart failure (Sirius red,×200)

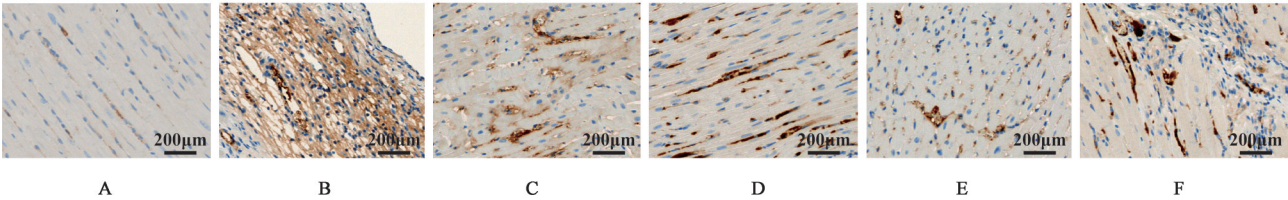


图4 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌Collagen I表达的影响(免疫组化,×200)
Fig. 4 Effect of MBL on protein expression of Collagen I in myocardium of rats with post-myocardial infarction heart failure (IHC,×200)

表4 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌纤维化的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of MBL with modifications on cardiac tissue fibrosis in rats with post-myocardial infarction heart failure ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	胶原纤维 面积/%	Collagen I 阳性表达
假手术组		4.86±0.28	0.14±0.02
模型组		44.37±1.30 ¹⁾	0.90±0.07 ¹⁾
中药低剂量组	2.52	37.71±3.90 ²⁾	0.71±0.09 ²⁾
中药中剂量组	5.04	33.08±1.66 ^{2,3)}	0.56±0.06 ^{2,3)}
中药高剂量组	10.08	24.99±1.96 ^{2,3)}	0.44±0.03 ^{2,3)}
沙库巴曲缬沙坦钠组	0.021	24.48±1.31 ^{2,3)}	0.48±0.09 ^{2,3)}

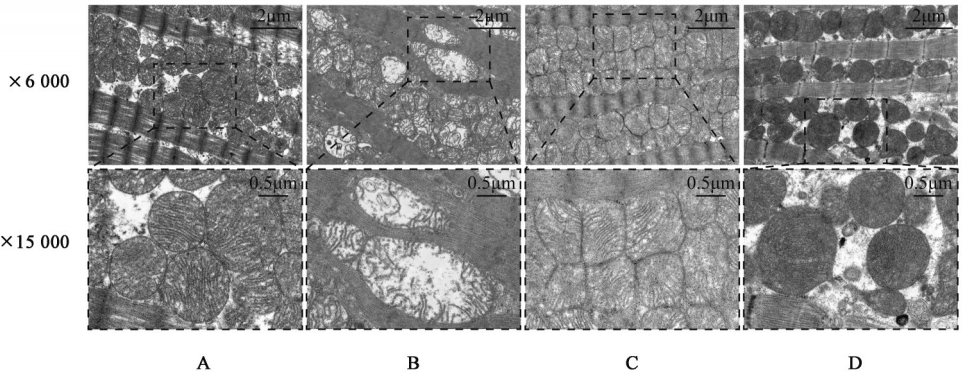
曲缬沙坦钠干预后,线粒体结构和排列均较模型组明显改善。见图5。

3.6 对心梗后心衰大鼠心肌MMP的影响 为进一步评估心肌细胞线粒体功能变化,采用Langendorff灌流法分离大鼠心室肌细胞,并在荧光显微镜下检测TMRM荧光强度以反映线粒体MMP水平。结果显示,与假手术组比较,模型组MMP明显下降($P<0.05$)。与模型组比较,经中药干预及沙库巴曲缬沙坦钠治疗后,MMP明显升高($P<0.05$)。见图6和表5。

3.7 对心梗后心衰大鼠心肌NLRP3/GSDMD信号通路及相关炎症指标mRNA表达的影响 与假手术组比较,模型组NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 、GSDMD、IL-18 mRNA表达明显升高($P<0.05$);与模型组比较,中药组和沙库巴曲缬沙坦钠组NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 、GSDMD、IL-18 mRNA表达明显降低($P<0.05$)。见表6。

3.8 对心梗后心衰大鼠心肌NLRP3/GSDMD信号通路及相关炎症指标蛋白表达的影响 Western blot结果显示,与假手术组比较,模型组NLRP3、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18、NF- κ B p50、NF- κ B p65蛋白表达明显升高($P<0.05$)。与模型组比较,中药高剂量组和沙库巴曲缬沙坦钠组NLRP3/GSDMD信号通路及相关炎症蛋白表达明显降低($P<0.05$)。免疫组化结果显示,与假手术组比较,模型组NLRP3、GSDMD、IL-1 β 蛋白表达明显升高($P<0.05$);与模型组比较,中药高剂量组和沙库巴曲缬沙坦钠组NLRP3、GSDMD、IL-1 β 蛋白表达明显降低($P<0.05$)。见图7、图8、表7和增强出版附加材料。

3.9 对心梗后心衰大鼠血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血清



注:A.假手术组;B.模型组;C.中药高剂量组;D.沙库巴曲缬沙坦钠组(图6-图8同)

图5 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌线粒体超微结构的影响(透射电镜)

Fig. 5 Effect of MBL on myocardial mitochondrial ultrastructure in rats with post-myocardial infarction heart failure (TEM)

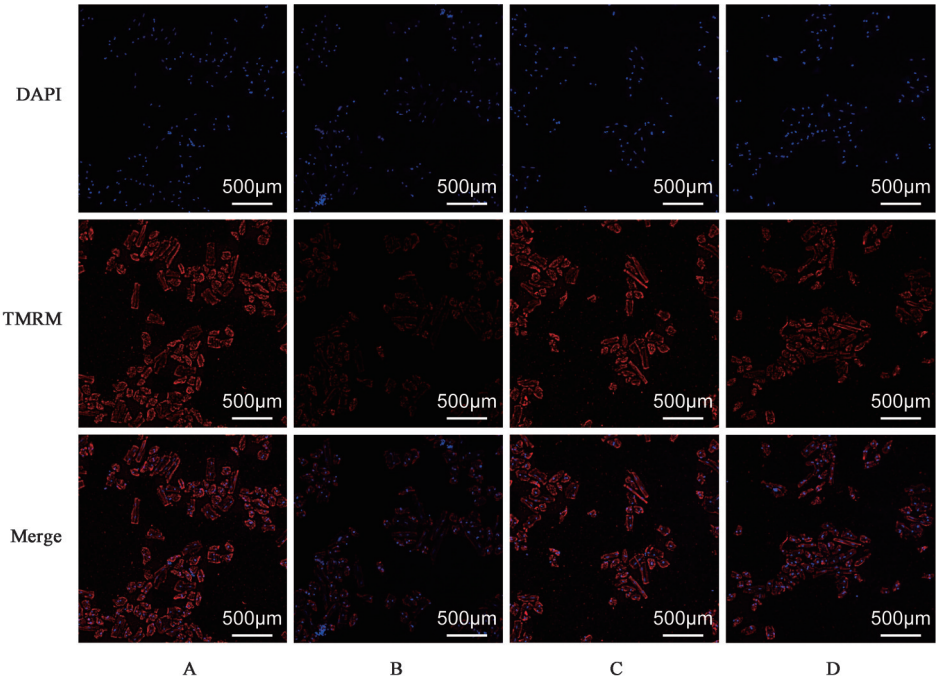


图6 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌MMP的影响(TMRM,×100)

Fig. 6 Effect of MBL on myocardial mmp in rats with post-myocardial infarction heart failure (TMRM,×100)

表5 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌MMP的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of MBL with modifications on myocardial MMP in rats with post-myocardial infarction heart failure ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TMRM 荧光强度
假手术组		2.24±0.18
模型组		0.95±0.10 ¹⁾
中药高剂量组	10.08	1.55±0.50 ²⁾
沙库巴曲缬沙坦钠组	0.021	1.45±0.19 ²⁾

注:与假手术组比较¹⁾P<0.05;与模型组比较²⁾P<0.05(表6-表8同)

TNF-α、IL-1β、IL-6 水平明显升高(P<0.05);与模型组比较,中药组和沙库巴曲缬沙坦钠组血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平明显降低(P<0.05)。见表8。

4 讨论

急性心梗仍是全球范围内导致死亡和致残的主要原因之一,其后的慢性炎症反应、心肌纤维化和心室重构是心功能持续下降的核心病理过程。因此,在病程早期有效抑制炎症反应、减轻心肌纤维化并延缓心室重构,是改善心梗后长期预后的核心策略。中医药因其多成分、多靶点、整体调节的特点,在防治心梗后心衰方面展现出独特优势^[10]。中医学认为心与脾在生理病理上密切相关。《灵枢·营气》云:“从脾注心中。”脾胃为气血生化之源,心主血脉,两者相互依存。脾气健运,则气血充足、心气得以鼓动血行;若脾失健运,则气血乏源、心气亏虚,血脉运行不畅而致心衰,加之脾失运化、水湿内

表6 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌NLRP3/GSDMD信号通路及相关炎症指标mRNA表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of MBL on mRNA expression of NLRP3/GSDMD signaling pathway and inflammatory related indicators in myocardium of rats with post-myocardial infarction heart failure ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NLRP3	Caspase-1	GSDMD	IL-1 β	IL-18
假手术组		1.00 $\pm$ 0.13	1.09 $\pm$ 0.56	1.03 $\pm$ 0.28	1.00 $\pm$ 0.10	1.01 $\pm$ 0.17
模型组		7.21 $\pm$ 0.52 ¹⁾	6.33 $\pm$ 1.31 ¹⁾	9.40 $\pm$ 0.84 ¹⁾	5.56 $\pm$ 0.56 ¹⁾	9.91 $\pm$ 0.31 ¹⁾
中药高剂量组	10.08	1.48 $\pm$ 0.68 ²⁾	1.45 $\pm$ 0.19 ²⁾	1.42 $\pm$ 0.23 ²⁾	1.48 $\pm$ 0.04 ²⁾	1.98 $\pm$ 0.81 ²⁾
沙库巴曲缬沙坦钠组	0.021	1.88 $\pm$ 0.78 ²⁾	3.08 $\pm$ 1.33 ²⁾	2.69 $\pm$ 1.83 ²⁾	1.52 $\pm$ 1.01 ²⁾	1.48 $\pm$ 0.21 ²⁾

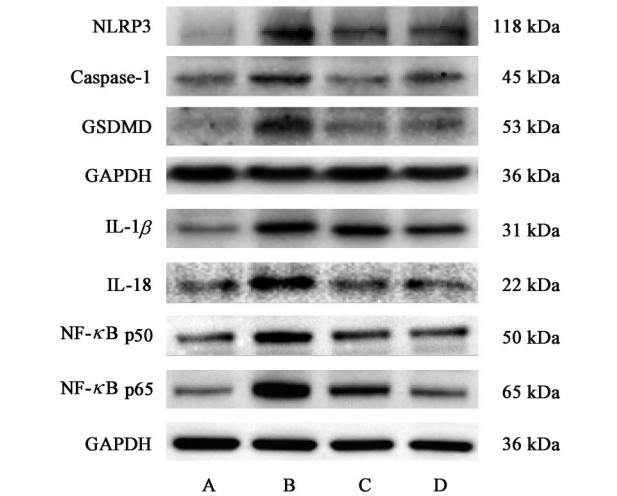


图7 各组心梗后心衰大鼠心肌NLRP3/GSDMD信号通路及相关炎症蛋白表达电泳

Fig. 7 Electrophoresis of protein expression of NLRP3/GSDMD signaling pathway and related inflammatory indicators in myocardium of rats with post-myocardial infarction heart failure

停,又可损伤心阳,加重病情,呈现出“心脾虚衰、水饮凌心”的病理特点。因此,健脾益气、温阳利水是治疗心梗后心衰的重要治法^[6]。基于此,保元汤合

苓桂术甘汤加减被广泛用于临床。保元汤由人参、黄芪、肉桂、甘草组成,功擅大补元气、振奋心阳,偏于扶正固本以复心脏鼓动之力;苓桂术甘汤由茯苓、桂枝、白术、甘草组成,长于温阳化饮、健脾利水,侧重祛邪治标以蠲水饮之患。两方相合,以补为通,以温为用,使补而不滞、利而不伤,补气之效得桂枝通阳而化作运水之力,利水之功得参芪固本而不损已衰之心气,共奏益气固本、温阳利水之效。现代药理研究亦证实,保元汤和苓桂术甘汤中的主要有效成分如人参皂苷、芒果花素、肉桂醛、白术内酯I等具有改善线粒体功能、增强心肌收缩力、减轻炎症与纤维化、抑制心室重构等多重作用,进而发挥心脏保护作用^[11-15],这与中医“益气温阳、健脾利水”的治法高度契合。本研究的结果进一步支持了这一认识,表明保元汤合苓桂术甘汤加减可能通过多靶点、多途径的综合调节,有效改善心梗后心衰的心脏功能。

炎症在心梗后清除坏死组织碎片并启动组织修复过程中起着关键作用^[16]。然而,过度或持续性

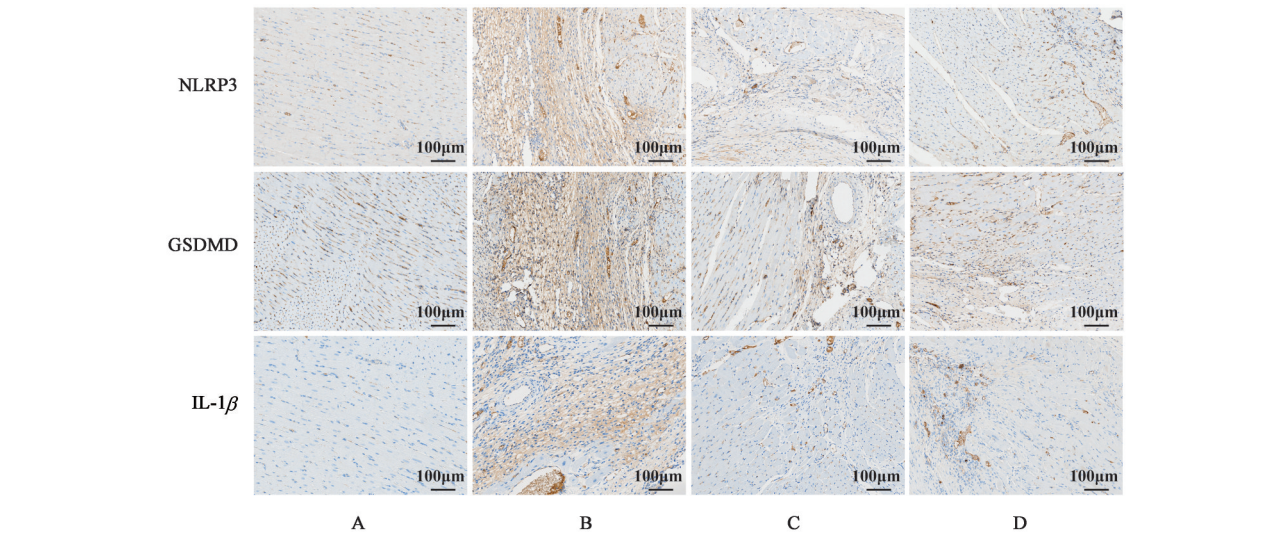


图8 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌NLRP3、GSDMD、IL-1 β 蛋白表达的影响(免疫组化, $\times 200$)

Fig. 8 Effect of MBL on protein expression of NLRP3, GSDMD, and IL-1 β in myocardium of rats with post-myocardial infarction heart failure (IHC, $\times 200$)

表 7 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠心肌 NLRP3、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18、NF- κ B p50、NF- κ B p65 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 7 Effect of MBL on protein expression levels of NLRP3, Caspase-1, GSDMD, IL-1 β , IL-18, NF- κ B p50, and NF- κ B p65 in myocardium of rats with post-myocardial infarction heart failure ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	NLRP3 /GAPDH	Caspase-1 /GAPDH	GSDMD /GAPDH	IL-1 β /GAPDH	IL-18 /GAPDH	NF- κ B p50 /GAPDH	NF- κ B p65 /GAPDH
假手术组		0.56±0.06	0.68±0.03	0.95±0.07	3.09±0.15	0.59±0.07	0.47±0.02	0.29±0.02
模型组		1.41±0.14 ¹⁾	1.08±0.05 ¹⁾	1.95±0.05 ¹⁾	5.68±0.13 ¹⁾	1.87±0.31 ¹⁾	1.50±0.05 ¹⁾	1.04±0.07 ¹⁾
中药高剂量组	10.08	0.83±0.09 ²⁾	0.80±0.04 ²⁾	1.02±0.08 ²⁾	3.10±0.11 ²⁾	1.17±0.18 ²⁾	0.57±0.05 ²⁾	0.74±0.04 ²⁾
沙库巴曲缬沙坦钠组	0.021	1.00±0.10 ²⁾	0.96±0.04 ²⁾	1.67±0.17 ²⁾	4.00±0.16 ²⁾	0.73±0.15 ²⁾	0.50±0.05 ²⁾	0.44±0.02 ²⁾

表 8 保元汤合苓桂术甘汤加减对心梗后心衰大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 8 Effect of MBL on serum levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in rats with post-myocardial infarction heart failure ($\bar{x}\pm s, n=6$) ng·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF- α	IL-1 β	IL-6
假手术组		63.91±13.94	108.03±13.56	72.75±9.27
模型组		182.07±22.39 ¹⁾	222.00±23.10 ¹⁾	138.00±16.23 ¹⁾
中药高剂量组	10.08	120.30±15.39 ²⁾	146.19±13.70 ²⁾	105.11±11.10 ²⁾
沙库巴曲缬沙坦钠组	0.021	139.49±13.94 ²⁾	170.70±18.22 ²⁾	112.77±13.52 ²⁾

炎症会引发异常心脏重构,从而增加不良心血管事件风险^[17]。NLRP3 炎症小体作为固有免疫系统的重要组成部分,在心梗后炎症过程和心衰发生发展中发挥核心作用^[18]。该复合体是一种多蛋白寡聚体复合物,通过产生 IL-1 β 和 IL-18 来激活炎症反应,并在持续激活时促进心肌纤维化和心室重构。除促炎因子外,NLRP3 炎症小体还可通过 Caspase-1 介导的细胞焦亡加重心肌损伤^[19]。细胞焦亡是一类与炎症反应密切相关、由 Gasdermin 蛋白介导、依赖于 Caspase 活性的程序性细胞死亡方式,其典型特征是细胞膜肿胀破裂,促炎性因子和细胞内容物释放到细胞外环境,引起机体产生炎症反应,最终导致细胞死亡与组织损害^[20]。该过程中,活化的 Caspase-1 裂解 GSDMD,生成其 N 端片段,聚合形成直径约 21 nm 的膜孔,促进成熟 IL-1 β 、IL-18 等释放并破坏膜完整性,放大炎症损伤^[21]。越来越多研究显示,NLRP3 介导的焦亡在心梗后心肌损伤中起重要作用^[22-23]。在本研究中,观察到心梗后心衰大鼠心肌组织中 NLRP3、Caspase-1、GSDMD、NF- κ B p50、NF- κ B p65 表达显著增加,同时伴随 IL-1 β 和 IL-18 等促炎因子水平升高,表明 NLRP3 炎症小体及 GSDMD 介导的细胞焦亡在心梗后心衰中被激活。这与既往研究结果一致,即 NLRP3 驱动的炎症反应及焦亡是“心梗-炎症-损伤”恶性循环的重要节点,这种恶性循环最终导致心肌细胞大量丢失、间质纤维化加剧和心功能进行性恶化。而高剂量组保元汤合苓桂术甘汤加减可明显下调上述关键分

子表达,降低炎症因子并减轻心肌损伤,提示其可通过抑制 NLRP3/GSDMD 信号通路活化来发挥心肌保护作用。

NLRP3 炎症小体的激活受多种上游信号调控,包括离子通量变化、氧化应激及损伤相关分子模式的释放等^[24]。其中,线粒体损伤被视为重要的促炎信号来源,已被广泛认为参与心梗后 NLRP3 炎症小体的激活过程。在线粒体受损时,线粒体 DNA 外泄、心磷脂外翻等损伤相关分子模式可作为“危险信号”促进炎症小体组装,其中心磷脂甚至被报道可直接结合 NLRP3 的 LRR 结构域,增强其活性^[25-27]。此外,线粒体功能障碍导致的能量代谢紊乱、氧化还原失衡和离子稳态破坏亦可能间接推动 NLRP3 炎症小体的激活^[28-29]。本研究中,心梗后心衰大鼠心肌组织出现明显的线粒体超微结构破坏,膜电位下降亦提示线粒体功能受损。中药干预后,上述结构与功能指标均不同程度改善,提示其可能通过减轻细胞损伤微环境,从而间接降低炎症小体激活及 GSDMD 介导的细胞焦亡。然而,本研究并未通过干预实验直接验证线粒体损伤与 NLRP3 激活之间的因果关系,线粒体损伤在 NLRP3/GSDMD 信号通路中的具体定位仍不明确,相关机制有待进一步深入研究。

综上所述,本研究表明,保元汤合苓桂术甘汤加减可通过多重机制改善心梗后心衰,包括减轻心肌纤维化、改善心肌线粒体结构与功能、抑制炎症反应及降低 NLRP3/GSDMD 介导的细胞焦亡。其

心脏保护作用可能来源于对线粒体稳态及炎症信号通路的协同调控。本研究为该方药在心梗后心衰中的应用提供了新的实验依据,但仍需在未来研究中进一步明确其作用的关键靶点及信号级联关系,以期为中医药防治心衰提供更明确的机制支持。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] MARTIN S S, ADAY A W, ALMARZOOQ Z I, et al. 2024 heart disease and stroke statistics: A report of US and Global data from the American Heart Association [J]. Circulation, 2024, 149(8): e347-e913.
- [2] CARBERRY J, MARQUIS-GRAVEL G, O'MEARA E, et al. Where are we with treatment and prevention of heart failure in patients post-myocardial infarction? [J]. JACC Heart Failure, 2024, 12(7): 1157-1165.
- [3] KOLOGRIVOVA I, SHTATOLKINA M, SUSLOVA T, et al. Cells of the immune system in cardiac remodeling: Main players in resolution of inflammation and repair after myocardial infarction [J]. Front Immunol, 2021, 12: 664457.
- [4] TOLDO S, MEZZAROMA E, BUCKLEY LF, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases [J]. Pharmacol Ther, 2022, 236: 108053.
- [5] VRINGER E, TAIT S W G. Mitochondria and cell death-associated inflammation [J]. Cell Death Differ, 2023, 30(2): 304-312.
- [6] 辛来运, 路迎冬, 林雪虹, 等. “心-脾-肠”相关理论在心衰病中的论治思考 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(19): 3634-3637.
- XIN L Y, LU Y D, LIN X H, et al. Theoretical considerations on the “heart-spleen-intestine” correlation in the treatment of heart failure [J]. Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis, 2022, 20(19): 3634-3637.
- [7] 霍丽, 孙元隆, 王肖龙, 等. 保元汤治疗慢性心力衰竭临床疗效的 Meta 分析 [J]. 中国中医急症, 2021, 30(2): 207-212.
- HUO L, SUN Y L, WANG X L, et al. Clinical efficacy of Baoyuan decoction in the treatment of chronic heart failure: A Meta-analysis [J]. Chin J Emerg Tradit Chin Med, 2021, 30(2): 207-212.
- [8] 姚娟, 丁芮, 李向阳, 等. 苓桂术甘汤对心梗后慢性心衰大鼠线粒体分裂-融合及 Sirt3/AMPK 信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(3): 1-9.
- YAO J, DING R, LI X Y, et al. Effect of Linggui Zhugantang on mitochondrial fusion-fission and Sirt3/AMPK signaling pathway in chronic heart failure rats after myocardial infarction [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(3): 1-9.
- [9] 张洋, 崔向宁. 健脾益心方调控心肌梗死后心肌细胞线粒体结构及炎症反应作用和机制研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(7): 15-20.

- ZHANG Y, CUI X N. Effect and mechanism of Jianpi Yixin decoction on treating cardiomyocyte mitochondrial structure and inflammatory reaction on myocardial infarction [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2023, 25(7): 15-20.
- [10] 钟燕, 王振兴. 中医药治疗心肌梗死后心力衰竭的研究进展 [J]. 基层中医药, 2024, 3(2): 119-124.
- ZHONG Y, WANG Z X. Research progress in traditional Chinese medicine treatment of heart failure after myocardial infarction [J]. Basic Chin Med, 2024, 3(2): 119-124.
- [11] CHEN J, HUANG Q, LI J, et al. *Panax ginseng* against myocardial ischemia/reperfusion injury: A review of preclinical evidence and potential mechanisms [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 300: 115715.
- [12] PAN L, ZHANG X F, WEI W S, et al. The cardiovascular protective effect and mechanism of calycosin and its derivatives [J]. Chin J Nat Med, 2020, 18(12): 907-915.
- [13] CHEN G, XU H, XU T, et al. Calycosin reduces myocardial fibrosis and improves cardiac function in post-myocardial infarction mice by suppressing TGFBR1 signaling pathways [J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154277.
- [14] KANG L L, ZHANG D M, MA C H, et al. Author correction: Cinnamaldehyde and allopurinol reduce fructose-induced cardiac inflammation and fibrosis by attenuating CD36-mediated TLR4/6-IRAK4/1 signaling to suppress NLRP3 inflammasome activation [J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 29683.
- [15] SUN C, ZHANG X, YU F, et al. Atractylenolide I alleviates ischemia/reperfusion injury by preserving mitochondrial function and inhibiting caspase-3 activity [J]. J Int Med Res, 2021, 49(2): 300060521993315.
- [16] ANZAI A, KO S, FUKUDA K. Immune and inflammatory networks in myocardial infarction: Current research and its potential implications for the clinic [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(9): 5214.
- [17] SUN K, LI Y Y, JIN J. A double-edged sword of immuno-microenvironment in cardiac homeostasis and injury repair [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 79.
- [18] TOLDO S, ABBATE A. The NLRP3 inflammasome in acute myocardial infarction [J]. Nat Rev Cardiol, 2018, 15(4): 203-214.
- [19] LIU X, ZHANG Z, RUAN J, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores [J]. Nature, 2016, 535(7610): 153-158.
- [20] YAROVINSKY T O, SU M, CHEN C, et al. Pyroptosis in cardiovascular diseases: Pumping gasdermin on the fire [J]. Semin Immunol, 2023, 69: 101809.
- [21] SANTA CRUZ GARCIA A B, SCHNUR K P, MALIK A B, et al. Gasdermin D pores are dynamically regulated by local phosphoinositide circuitry [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 52.
- [22] SHEN J, FAN Z, SUN G, et al. Sacubitril/valsartan (LCZ696) reduces myocardial injury following myocardial infarction by inhibiting NLRP3-induced pyroptosis via the

- TAK1/JNK signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24 (3):676.
- [23] ZHANG X, QU H, YANG T, et al. Astragaloside IV attenuate MI-induced myocardial fibrosis and cardiac remodeling by inhibiting ROS/caspase-1/GSDMD signaling pathway [J]. *Cell Cycle*, 2022, 21(21):2309-2322.
- [24] MARCHI S, GUILBAUD E, TAIT S W G, et al. Mitochondrial control of inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 3(3):159-173.
- [25] XIAN H, WATARI K, SANCHEZ-LOPEZ E, et al. Oxidized DNA fragments exit mitochondria via mPTP- and VDAC-dependent channels to activate NLRP3 inflammasome and interferon signaling[J]. *Immunity*, 2022, 55(8):1370-1385.
- [26] SALLER B S, WÖHRLE S, FISCHER L, et al. Acute suppression of mitochondrial ATP production prevents apoptosis and provides an essential signal for NLRP3 inflammasome activation [J]. *Immunity*, 2025, 58 (1) : 90-107.
- [27] DAGVADORJ J, MIKULSKA-RUMINSKA K, TUMURKHUU G, et al. Recruitment of pro-IL-1 α to mitochondrial cardiolipin, via shared LC3 binding domain, inhibits mitophagy and drives maximal NLRP3 activation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(1):e2015632118.
- [28] WEI XH, CHEN J, WU XF, et al. Salvianolic acid B alleviated myocardial ischemia-reperfusion injury via modulating SIRT3-mediated crosstalk between mitochondrial ROS and NLRP3[J]. *Phytomedicine*, 2025, 136:156260.
- [29] CAI S, ZHAO M, ZHOU B, et al. Mitochondrial dysfunction in macrophages promotes inflammation and suppresses repair after myocardial infarction [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133 (4) : e159498.
- [责任编辑 王鑫]