

· 药理 ·

通脉养心丸和通心络胶囊“同病异治”心肌无复流的机制

刘思琦^{1,2}, 杨文清¹, 陈婷^{1,2}, 唐艳^{1,3}, 王菊¹, 彭雅旋¹, 秦灏学¹, 邓岚月¹, 龚佳璐¹,
徐宁¹, 张淑颖⁴, 张伟^{1*}, 陈婷^{1,3,5*}

- (1. 湖南中医药大学 中西医结合心脑血管疾病防治湖南省重点实验室, 长沙 410208;
2. 湖南中医药大学 针灸推拿与康复学院, 长沙 410208;
3. 湖南省中药粉体与创新药物研究省部共建国家重点实验室培育基地, 长沙 410208;
4. 上海健康医学院 临床医学院, 上海 200237;
5. 省部共建组分中药国家重点实验室, 天津 301617)

【摘要】 目的:基于整合药理学和实验验证探讨通脉养心丸(TMYX)和通心络胶囊(TXL)“同病异治”心肌缺血再灌注后无复流(NR)的机制。**方法:**将8周龄SPF级SD大鼠80只随机分为假手术组、NR组、TMYX组($4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、TXL组($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 每组20只。通过原位结扎冠状动脉左前降支方法建立大鼠心肌缺血再灌注无复流模型, 术后4 h第1次灌胃, 给药7 d。采用硫磺素S染色观察大鼠心肌NR面积, 超声心动图检测心功能, 苏木素-伊红(HE)染色观察心肌组织病理变化, 全自动生化分析仪检测心肌酶活性, 再通过整合药理学进行京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析, 最后采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测心肌组织核心靶点鸟苷酸环化酶(sGC)、环磷酸鸟苷(cGMP)依赖性蛋白激酶(PKG)、磷酸化-磷脂酰肌醇3-激酶(p-PI3K)、p-蛋白激酶B(p-Akt)和缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)的蛋白表达情况。**结果:**与假手术组比较, NR组心肌NR面积增加, 左室射血分数(EF)、左室短轴缩短率(FS)、流出道峰值流速(LVOT Peak)、左心室每搏输出量(LVSV)显著降低($P<0.01$), 心肌组织可见心肌纤维断裂紊乱、炎性细胞浸润, 心肌肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)活性均显著升高($P<0.01$), 心肌组织sGC、PKG、p-PI3K(Tyr458)和p-Akt(Tyr315)蛋白表达明显降低($P<0.05$, $P<0.01$), HIF-1 α 蛋白表达呈降低趋势。与NR组比较, TMYX组和TXL组心肌NR面积呈降低趋势, EF、FS、LVOT Peak明显升高($P<0.05$, $P<0.01$), LVSV呈上升趋势, 改善心肌病理形态与炎性浸润, CK、CK-MB和LDH活性均明显下降($P<0.05$, $P<0.01$), 心肌组织sGC、PKG、p-PI3K(Tyr458)蛋白表达明显升高($P<0.05$, $P<0.01$), p-Akt(Tyr315)和HIF-1 α 蛋白表达呈上升趋势。比较两复方的疗效, TMYX具有更好的恢复NR大鼠心脏功能, 保护心脏结构的趋势; TXL具有更好的改善NR大鼠心肌NR面积, 降低心肌酶活性的趋势。通过整合药理学分析和实验验证发现, TMYX和TXL均能通过激活cGMP/PKG通路调节血管张力; 激活PI3K/Akt信号通路舒张血管; 激活HIF-1 α 信号通路, 抑制氧化应激, 从而达到减轻NR现象的作用。但TMYX在激活cGMP/PKG信号通路方面具有优势; TXL在激活PI3K/Akt信号通路方面具有优势; 两复方在HIF-1信号通路作用效果相当, 可能为起作用的共同通路。**结论:**TMYX和TXL都可以改善NR损伤。TMYX主要通过激活cGMP/PKG信号通路发挥对NR的保护作用, TXL则主要通过PI3K/Akt通路发挥该作用。HIF-1信号通路可能是两复方发挥对NR保护作用的共同通路。该研究揭示了TMYX和TXL治疗NR效果及作用机制的异同, 为两复方更好地应用于临床提供了实验基础和理论依据。

【关键词】 通脉养心丸; 通心络; 同病异治; 心肌缺血再灌注后无复流; 整合药理学

【中图分类号】 R277; R285; R289 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2026)17-0125-09

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.20260137

【网络出版地址】 <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20251223.1930.004>

【网络出版日期】 2025-12-24 10:05:31 **【增强出版附件】** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



【收稿日期】 2025-09-15

【基金项目】 国家自然科学基金项目(82405131); 中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地开放基金项目(23PTKF1019); 组分中药国家重点实验室资助课题(CBCM2024103); 高层次人才科研启动基金项目(1101/0001020); 国家自然科学基金预研项目(22023YYJJ04); 湖南中医药大学2024年校级大学生创新创业训练计划项目(X202410541235); 湖南中医药大学本科生科研创新基金项目(2025BKS068)

【第一作者】 刘思琦, 从事中西医结合防治心血管疾病研究, E-mail: 1297318422@qq.com

【通信作者】 * 陈婷, 博士, 副教授, 从事中西医结合防治心血管疾病研究, E-mail: 13920368971@163.com;

* 张伟, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中西医结合防治心脑血管疾病研究, E-mail: zhangwei1979@hnu.edu.cn

Mechanisms of Tongmai Yangxin Pills and Tongxinluo Capsules in Treating Myocardial No-reflow Based on Treating Same Disease with Different Methods

LIU Siqu^{1,2}, YANG Wenqing¹, CHEN Ting^{1,2}, TANG Yan^{1,3}, WANG Ju¹, PENG Yaxuan¹, QIN Haoxue¹,
DENG Lanyue¹, GONG Jialu¹, XU Ning¹, ZHANG Shuying⁴, ZHANG Wei^{1*}, CHEN Ting^{1,3,5*}

(1. Key Laboratory of Hunan Province for Integrated Traditional Chinese and Western Medicine on Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral Diseases, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. School of Acupuncture, Massage and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 3. National Key Laboratory Cultivation Base of Chinese Medicinal Powder and Innovative Medicinal Jointly Established by Province and Ministry, Changsha 410208, China; 4. School of Clinical Medicine, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 200237, China; 5. State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanisms of Tongmai Yangxin pills (TMYX) and Tongxinluo capsules (TXL) in treating no-reflow (NR) after myocardial ischemia and reperfusion following the concept of treating the same disease with different methods, based on integrative pharmacology and experimental validation. **Methods:** Eighty 8-week-old SPF-grade SD rats were randomly assigned into four groups ($n=20$): sham operation, NR, TMYX ($4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and TXL ($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). A rat model of myocardial ischemia-reperfusion no-reflow was established by *in-situ* ligation of the left anterior descending coronary artery. Gastric gavage was first performed 4 h after the operation, and samples were collected on day 7. Thioflavin S staining was used to observe the NR area in rat myocardium. Echocardiography was performed to examine the cardiac function. Hematoxylin-eosin (HE) staining was conducted to observe the pathological changes of the myocardial tissue. An automatic biochemical analyzer was adopted to measure myocardial enzyme activity. Then, integrative pharmacology was applied for Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis. Finally, Western blot was employed to quantify the protein levels of key targets in the myocardial tissue, including soluble guanylyl cyclase (sGC), cyclic guanosine monophosphate (cGMP)/dependent protein kinase (PKG), phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase (p-PI3K), phosphorylated protein kinase B (p-Akt), and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α). **Results:** Compared with the sham operation group, the NR group showed increased NR area of myocardium, decreased left ventricular ejection fraction (EF), left ventricular fractional shortening (FS), left ventricular outflow tract peak velocity (LVOT Peak), and left ventricular stroke volume (LVSF) ($P<0.01$), fractured and disordered myocardial fibers as well as inflammatory cell infiltration in the myocardial tissue, enhanced activities of creatine kinase (CK), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), and lactate dehydrogenase (LDH) in the myocardial tissue ($P<0.01$), and downregulated protein levels of sGC, PKG, phosphorylated (p)-PI3K (Tyr458), and p-Akt (Tyr315) in the myocardial tissue ($P<0.05$, $P<0.01$). The expression level of HIF-1 α protein showed a downward trend. Compared with the NR group, the TMYX group and TXL group exhibited a decreasing trend in myocardial NR area, EF, FS, and LVOT Peak significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$), LVSF showed an upward trend, ameliorated myocardial pathological morphology and inflammatory infiltration, reductions in CK, CK-MB, and LDH activities ($P<0.05$, $P<0.01$), and upregulated protein levels of sGC, PKG, p-PI3K (Tyr458) in myocardial tissue ($P<0.05$, $P<0.01$), the protein expressions of p-Akt (Tyr315) and HIF-1 α showed an upward trend. A comparison of the therapeutic effects between the two compound prescriptions showed that TMYX tended to exert a better effect in restoring cardiac function and protecting cardiac structure in NR rats, whereas TXL was more effective in reducing myocardial NR area and lowering myocardial enzyme activities in NR rats. Integrative pharmacology analysis combined with experimental verification demonstrated that both TMYX and TXL could alleviate NR through the following mechanisms: activating the cyclic cGMP/PKG signaling pathway to regulate vascular tone, activating the PI3K/Akt signaling pathway to dilate blood vessels, and activating the HIF-1 signaling pathway to inhibit oxidative stress. However, TMYX had an advantage in activating the cGMP/PKG pathway, while TXL was superior in activating the PI3K/Akt pathway. The two compound prescriptions exerted comparable effects on the HIF-1 signaling pathway, which might serve as their common therapeutic pathway. **Conclusion:** Both TMYX and TXL could alleviate NR damage. TMYX exerts its protective effect against NR mainly by activating the cGMP/PKG signaling pathway, while TXL exerts its effect mainly through the PI3K/Akt pathway. The HIF-1 α signaling pathway may be a common pathway for the two compound prescriptions to exert their protective effects against NR. This study reveals the similarities and differences between TMYX and TXL in the treatment effect and mechanism for NR, providing an experimental basis and a theoretical basis for better clinical application of the two compound prescriptions.

[Keywords] Tongmai Yangxin pills; Tongxinluo; treating the same disease with different methods; no-reflow after myocardial ischemia and reperfusion; integrative pharmacology

无复流(NR)是急性心肌梗死患者在经皮冠状动脉介入(PCI)或溶栓治疗后,心肌组织再灌注并不完全,甚至无再灌注的现象,表现为冠脉血流减慢或无血流^[1]。现有研究表明,其主要机制与炎症、钙离子平衡扰乱、线粒体活动受损、氧化应激及细胞死亡等有关^[2-3]。针对NR现象,临床常用硝普钠、曲美他嗪、腺苷及替罗非班等,但疗效尚不尽如人意。中医药防治NR有从整体出发、多环节、多靶点的优势,其效应是综合作用的结果,更易从整体上促进机体恢复动态平衡。

“同病异治”起源于战国至东汉时期的《黄帝内经》,经汉代《伤寒杂病论》的灵活实践,是中医特有的诊疗法则,也被越来越多的研究者所关注^[4]。随着时代的进步,更多研究者从新的角度探寻同病异治的原理并用以指导临床实践^[5-6]。通脉养心丸(TMYX)和通心络(TXL)是临床上用来治疗心血管疾病的常用复方,其中TMYX是在《伤寒论》中经典方的炙甘草汤的基础上以“益气养阴、通脉止痛”为治则进行化裁而来^[7-8],课题组前期发现,TMYX能通过激活环磷酸腺苷(cAMP)/蛋白激酶A(PKA)信号通路舒张冠脉微血管改善NR现象^[9]。TXL则是基于清代叶天士提出的络病学理论为指导以通络为治则的复方^[10]。研究表明,TXL可以减轻炎症反应改善心肌缺血再灌注损伤和NR现象^[11]。两方均为临床用治NR的常用方剂^[12-13],体现了同病异治的中医特色,但其治疗NR的共性机制及个性特点尚不明确。

整合药理学通过构建“药物成分-药物作用靶点-疾病相关靶点”相互作用网络,可从整体上系统揭示中药复方多成分、多靶点、多环节的调节机制,与中医整体观念和辨证论治有异曲同工之妙,为阐明中医学“同病异治”的观点提供有效途径^[14-15]。本研究运用整合药理学构建TMYX与TXL治疗NR的分子网络,预测其核心靶点与关键通路,并进行实验验证,阐明两方作用机制的异同,以期为临床治疗NR提供理论支撑。

1 材料

1.1 动物 选取8周龄SPF级SD大鼠80只,雄性,体质量240~260 g,实验动物和饲料来自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号SCXK(湘)2019-0004,饲养于湖南中医药大学动物实验中心SPF级屏障实验室,温度20~25℃,湿度50%~65%,造模前自由摄食和饮水。

1.2 伦理 本实验经湖南中医药大学动物伦理委

员会批准,动物伦理编号LLBH-202212160001。

1.3 药物 TMYX(天津中新药业集团有限公司,国药准字Z12020589,批号1070353),TXL(石家庄以岭药业有限公司,国药准字Z19980015,批号A2303055)。

1.4 试剂 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液(北京索莱宝科技有限公司,货号C8621);硫磺素S(德国Sigma公司,货号T1892-25G);超声耦合剂(天津市西苑寺制作所,货号YY0299);蛋白酶抑制剂[生工生物工程(上海)股份有限公司,货号C1009];兔单克隆抗体甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、兔单克隆抗体环磷酸鸟苷(cGMP)依赖性蛋白激酶(PKG)、兔单克隆抗体磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、HRP标记山羊抗兔IgG二抗(美国CST公司,批号分别为5174T、C8A4、4292、7074P2);兔多克隆抗体鸟苷酸环化酶(sGC)、兔多克隆蛋白激酶B(Akt)、兔多克隆磷酸化(p)-Akt(Tyr315)(北京博奥森生物技术有限公司,批号分别为bs-13544R、bs-6951R、bs-5193R-0);兔单克隆p-PI3K(Tyr458)(美国Thermo公司,批号PA5-17387);兔多克隆抗体缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)(戴格生物公司,批号db12445);肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)(中生北控生物科技股份有限公司,批号分别为YZB/0695-2010、A020-2、A006-2)。

1.5 仪器 Vevo2100型超声心动图(加拿大VisualSonics公司);CKX 41-F32 FL型光学显微镜(日本Olympus公司);全自动生化分析仪(英国VERTU公司);Legend Micro 17型离心机(赛默飞世尔科技公司);Heraeus Fresco 17型超速冷冻离心机、石蜡切片机(美国Thermo Fisher Scientific公司);Mini-PROTEAN Tetra型电泳槽、Mini Trans-Blot型转印槽、GelDoc XR+凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);TissueFAXS PLUS型全景组织细胞定量分析系统(奥地利TissueGnostics GmbH公司);KD-BMIV型电脑生物包埋机(浙江金华科迪仪器设备有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 适应性饲养大鼠1周,术前禁食不禁水12 h,实验组大鼠腹腔内注射3%戊巴比妥钠(10 mL·kg⁻¹)进行麻醉,结扎冠状动脉左前降支(LAD),在左心耳根部下方打一松结,松结内放入2/0棉线。将冠脉及棉线一起结扎,第二结为滑结,造成心肌缺血。阻断LAD 2 h后,拔出棉线,恢复血

流灌注并缝合,其中假手术(Sham)组只穿线不结扎。再灌注2 h后,根据心脏射血分数的数值将大鼠分入不同的实验小组。实验共设4个组别:Sham组、NR组、TMYX组(剂量 $4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)^[16]及TXL组($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)^[17], $n=20$ 。Sham组和NR组给予相同体积的0.5%CMC-Na溶液作为对照,其他组别进行灌胃治疗。首次给药时间为再灌注后4 h,共7 d。

2.2 NR和缺血面积的测量 首先,将6%硫磺素S以 $1\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 注射到大鼠下腔静脉中。注射硫磺素S后1 min,进行LAD的原位结扎。取下心脏,分离左右心房及右心室,并将右心室在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温环境中速冻10 min。将左心室均匀分成5块。随后把心肌组织切片放入温度设定为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的培养箱内。完成上述步骤后,在波长为365 nm的光源下观察荧光区域。荧光区是回流区,非荧光区是NR区。利用Image-Pro Plus 6.0计算各区域的面积。即 $\text{NR}=\text{心肌面积NR}/\text{心脏总面积}\times 100\%$ 。

2.3 NR大鼠心脏结构和功能的测定 通过超声心动图测量大鼠心脏的功能和结构,探头频率为12 MHz。麻醉后将大鼠固定在大鼠板上,暴露胸部,探头涂有偶联剂进行检查,探头置于胸骨左侧,与胸骨中线成 30° 角,然后将M型样线垂直于室间隔和左室后壁,得到M型超声心动图。测量指标包括左室射血分数(EF)、左室短轴缩短率(FS)、流出道峰值流速(LVOT Peak)、左心室每搏输出量(LVSV)。

2.4 苏木素-伊红(HE)染色检测NR大鼠心肌细胞的组织病理学变化 老鼠麻醉后,心脏被迅速取出。将心脏置于4%甲醛溶液中24 h,用梯度乙醇脱水,二甲苯透明后石蜡切片,二甲苯脱蜡,用梯度乙醇水化还原。进行HE染色,在乙醇梯度中脱水,并用二甲苯处理直至透明。然后,在光学显微镜下观察形态学变化。

2.5 心肌酶活性检测 当心肌细胞受到损伤时,会释放CK、LDH和CK-MB。在第7天给药1 h后,收集大鼠血液,在 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ (离心半径10 cm)下离心10 min。收集上层血清用全自动生化分析仪检测CK、CK-MB和LDH活性。

2.6 整合药理学分析 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)得到TXL化学成分信息,从Pubchem数据库得出SMILES号。将SMILES号导入Swiss得到TXL作用预测靶点。通过David(<https://David.Ncicrf.gov>)数据库将NR基因ID转化为基因名,分别筛选TMYX和TXL与NR共同靶

点,导入David数据库,通过功能分析部分进行京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析,KEGG结果中筛选结果($P<0.05$),通过微生信基因分析在线工具数据平台绘制柱状图,对共同靶点进行KEGG通路富集分析。

2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测心肌组织中sGC、PKG、p-PI3K(Tyr458)、p-Akt(Tyr315)和HIF-1 α 蛋白表达 取冷冻心肌组织0.1 g,预冷生理盐水冲洗干净,低温匀浆机匀浆。置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $14\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心30 min(离心半径10 cm),取上清。BCA蛋白定量试剂盒检测蛋白含量, $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温金属浴加热10 min使蛋白变性,分装冻存。取样品 $3\text{ }\mu\text{L}$ 进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、转膜,5%脱脂奶粉封闭、TBST洗膜后分别使用sGC、PKG、p-PI3K(Tyr458)、p-Akt(Tyr315)、HIF-1 α (1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:500、1:1 000)及GAPDH(1:1 000)一抗 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育过夜,TBST充分洗涤后加二抗(1:5 000)室温孵育1 h,TBST洗涤后,增强化学发光法(ECL)曝光,利用Image J软件进行蛋白条带灰度值检测。

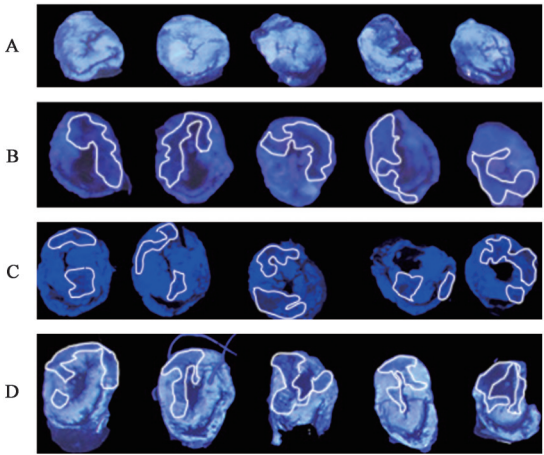
2.8 统计学分析 使用统计软件SPSS 26.0进行数据分析。数值以 $\bar{x}\pm s$ 的形式展示,根据Shapiro-Wilk test检验评估数据结果是否具有正态性;该组数据峰度值和偏度值 <1 则认为该组具有相似正态性,符合正态分布再通过单因素方差分析(One-way ANOVA)检验,以最小显著性差异法(LSD)或Dunnett T3法做进一步的检测。不符合正态,通过非参数Kruskal-Wallis test检测,最后使用Graphpad Prism制作结果图。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 TMYX和TXL对NR大鼠NR心肌面积的影响 与Sham组比较,NR组心肌NR面积升高;与NR组比较,TMYX组与TXL组的心肌NR面积降低,差异无统计学意义。见图1、表1。

3.2 TMYX和TXL对NR大鼠心脏结构和功能的影响 与Sham组比较,NR组的EF、FS、LVOT Peak、LVSV均显著降低($P<0.01$);与NR组比较,TMYX组、TXL组EF、FS、LVOT Peak明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),LVSV呈上升趋势,差异无统计学意义。见表2及增强出版附加材料。

3.3 TMYX和TXL对NR大鼠心肌组织病理变化的影响 与Sham组比较,NR组心肌细胞损伤明显,心肌纤维排列不齐,相互交叉的心肌纤维结构模糊,有明显的炎性细胞浸润,核浆缺失,胞浆染色



注:A.Sham组;B.NR组;C.TMYX组;D.TXL组(图2-图5同)
图1 TMYX和TXL对NR大鼠无复流心肌面积的影响
Fig.1 Effect of TMYX and TXL on NR myocardial area in NR rats

杂乱,毛细血管减少,出现水肿、出血和坏死。与NR组比较,TMYX组与TXL组明显缓解了心肌损伤,显著降低了病变区域范围,水肿现象减少,仅观

表2 TMYX和TXL对NR大鼠心脏结构和功能的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 2 Effect of TMYX and TXL on cardiac structure and function in NR rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	EF/%	FS/%	LVOT peak/ $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$	LVSV/ $\text{mm}\cdot\mu\text{L}^{-1}$
Sham组		82.89 $\pm$ 6.17	50.86 $\pm$ 7.83	1 048.29 $\pm$ 122.89	157.16 $\pm$ 4.91
NR组		39.48 $\pm$ 18.88 ²⁾	20.35 $\pm$ 11.17 ²⁾	837.02 $\pm$ 103.27 ²⁾	111.71 $\pm$ 18.46 ²⁾
TMYX组	4	71.86 $\pm$ 8.49 ³⁾	37.81 $\pm$ 5.56 ⁴⁾	994.34 $\pm$ 111.50 ³⁾	149.92 $\pm$ 28.65
TXL组	0.002	70.37 $\pm$ 7.67 ³⁾	37.24 $\pm$ 6.45 ⁴⁾	984.15 $\pm$ 144.45 ³⁾	136.29 $\pm$ 27.85

注:与Sham组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与NR组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表3-表6同)

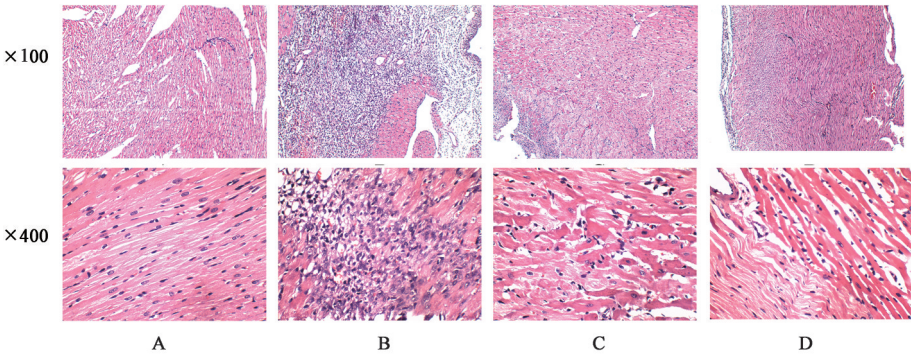


图2 TMYX和TXL对NR大鼠心肌病理变化的影响(HE)
Fig.2 Effect of TMYX and TXL on myocardial pathological changes in NR rats (HE)

3.5 TMYX和TXL改善NR的KEGG通路富集分析 经过富集分析,共鉴定出182条TMYX-NR相关的KEGG富集通路,并依照其重要程度进行了排列,从中筛选出了29条最为关键的富集通路予以展现,见增强出版附加材料,这些通路主要包括cGMP/PKG通路、物质代谢活动、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、细胞自噬现象、PI3K/Akt信

表1 TMYX和TXL对NR大鼠NR心肌面积的影响($\bar{x}\pm s, n=5$)
Table 1 Effect of TMYX and TXL on NR myocardial area in NR rats ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	NR面积/%
NR组		27.87 $\pm$ 12.41
TMYX组	4	23.85 $\pm$ 6.08
TXL组	0.002	21.82 $\pm$ 9.75

观察到少许炎症细胞浸润和细胞间水肿情况,偶尔出现空泡样细胞,心肌细胞结构保存较完好,心肌组织损伤状况好转。综上结果表明,TMYX和TXL能够改善NR大鼠心肌组织的病理变化。见图2。

3.4 TMYX和TXL对NR大鼠心肌酶活性的影响 与Sham组比较,NR组CK、CK-MB和LDH的活性显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$);与NR组比较,TMYX组和TXL组CK、CK-MB、LDH活性明显降低($P<0.05, P<0.01$)。综上结果表明,TMYX和TXL能降低NR大鼠心肌酶活性。见表3。

号通路及p53信号通路等。TXL-NR的共同靶点在KEGG途径中富集涉及141个富集通路,按照显著水平从高至低排列,优先呈现前29项,涵盖的关键通路主要涉及蛋白质的分解与摄取、新陈代谢流程、MAPK信号传导途径、PI3K/Akt信号通路、核转录因子- κB (NF- κB)信号传递途径、Rap1信号通路及细胞外基质与受体的相互作用等。把TMYX-NR和

表 3 TMYX 和 TXL 对 NR 大鼠心肌酶(CK、CK-MB、LDH)活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of TMYX and TXL on activity of myocardial enzymes (CK, CK-MB, LDH) in NR rats ($\bar{x}\pm s, n=10$) U·L ⁻¹				
组别	剂量/g·kg ⁻¹	CK	CK-MB	LDH
Sham 组		389.09±148.09	962.77±235.22	859.46±236.28
NR 组		710.91±130.12 ²⁾	722.46±376.98 ²⁾	728.00±333.20 ²⁾
TMYX 组	4	443.55±162.15 ⁴⁾	315.77±172.88 ³⁾	362.54±170.16 ³⁾
TXL 组	0.002	454.00±145.67 ⁴⁾	244.08±443.56 ³⁾	1 095.77±354.12 ⁴⁾

TXL-NR 改善 NR 的共同靶点做 KEGG 分析, 选取排名前 29 的进行展示, HIF 和 cAMP 信号通路可能是两药实现同病异治效果的共同机制。见增强出版附加材料。

3.6 TMYX 和 TXL 对 sGC、PKG 蛋白表达的影响
与 Sham 组比较, NR 组 sGC、PKG 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$); 与 NR 组比较, TMYX 组和 TXL 组 sGC、PKG 蛋白表达显著升高 ($P<0.01$)。见图 3、表 4。

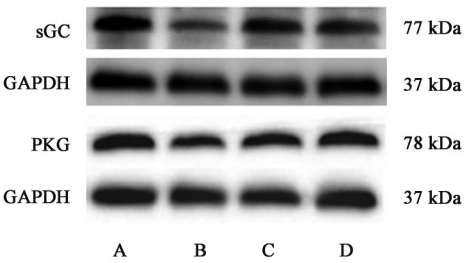


图 3 NR 大鼠心肌 cGMP/PKG 通路 sGC、PKG 蛋白表达电泳
Fig. 3 Electrophoresis of sGC and PKG protein expression in myocardial cGMP/PKG pathway of NR rats

表 4 TMYX 和 TXL 对 NR 大鼠心肌组织 cGMP/PKG 信号通路 sGC、PKG 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of TMYX and TXL on expression of sGC and PKG protein in myocardial cGMP/PKG pathway of NR rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)			
组别	剂量/g·kg ⁻¹	sGC/GAPDH	PKG/GAPDH
Sham 组		0.93±0.06	0.88±0.06
NR 组		0.37±0.05 ²⁾	0.62±0.05 ²⁾
TMYX 组	4	0.94±0.04 ⁴⁾	0.83±0.05 ⁴⁾
TXL 组	0.002	0.78±0.07 ⁴⁾	0.79±0.04 ⁴⁾

3.7 TMYX 与 TXL 对 p-PI3K (Tyr458) 和 p-Akt (Tyr315) 蛋白表达的影响
与 Sham 组比较, NR 组 p-PI3K (Tyr458) 和 p-Akt (Tyr315) 蛋白表达明显降低 ($P<0.05, P<0.01$); 与 NR 组比较, TMYX 组和 TXL 组 p-PI3K (Tyr458) 蛋白表达明显升高 ($P<0.05$), p-Akt (Tyr315) 呈上升趋势, 差异无统计学意义。见图 4、表 5。

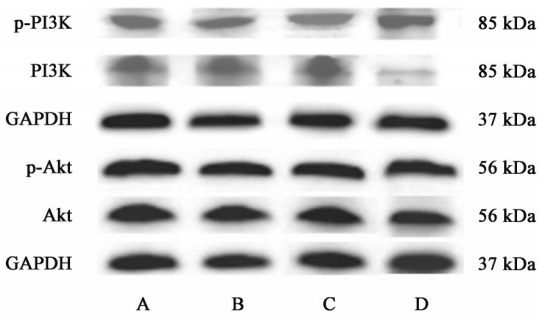


图 4 NR 大鼠心肌组织 p-PI3K (Tyr458) 和 p-Akt (Tyr315) 蛋白表达电泳

Fig. 4 Electrophoresis of p-PI3K (Tyr458) and p-Akt (Tyr315) protein expression in myocardial of NR rats

表 5 TMYX 和 TXL 对 NR 大鼠心肌 p-PI3K (Tyr458) 和 p-Akt (Tyr315) 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of TMYX and TXL on expression of p-PI3K (Tyr458) and p-Akt (Tyr315) protein in myocardial of NR rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)			
组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-PI3K (Tyr458)/PI3K	p-Akt (Tyr315)/Akt
Sham 组		2.21±0.03	1.24±0.01
NR 组		1.19±0.01 ²⁾	1.10±0.03 ¹⁾
TMYX 组	4	2.81±0.17 ³⁾	1.19±0.01
TXL 组	0.002	3.45±0.29 ³⁾	1.39±0.10

3.8 TMYX 与 TXL 对 HIF-1 α 蛋白表达的影响
与 Sham 组比较, NR 组 HIF-1 α 蛋白表达降低; 与 NR 组比较, TMYX 组、TXL 组 HIF-1 α 蛋白表达上升, 差异无统计学意义。见图 5、表 6。

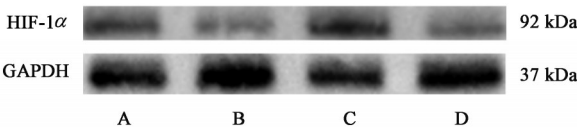


图 5 NR 大鼠心肌组织 HIF1- α 蛋白表达电泳
Fig. 5 Electrophoresis of HIF1- α protein expression in myocardial of NR rats

表 6 TMYX 和 TXL 对 NR 大鼠心肌 HIF1- α 信号通路蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of TMYX and TXL on expression of protein in myocardial HIF1- α Signaling pathway of NR rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)		
组别	剂量/g·kg ⁻¹	HIF-1 α /GAPDH
Sham 组		1.27±0.30
NR 组		0.79±0.32
TMYX 组	4	1.27±0.41
TXL 组	0.002	1.10±0.49

4 讨论

“同病异治”理论强调根据疾病的不同证候表

现而采取不同的治疗方法,体现了中医辨证论治的精髓^[18]。TMYX和TXL两方君臣佐使不同,辨证论治不同,但在临床上都可用来治疗NR和心肌梗死,深刻体现了“同病异治”的学术思想。TMYX由《伤寒论》炙甘草汤化裁而来,组方重在扶正,通过益气养阴以荣养心脉,从而达到通脉止痛之效^[16]。TXL基于络病理论,组方尤重虫类药的应用,取其性善走窜、搜剔通络之力,旨在破血逐瘀、通畅络脉^[19]。在临床实践中,TMYX与TXL因其辨证与治则的差异,呈现出不同的应用特征与优势。TMYX长于益气养阴,故临床多用于治疗气阴两虚型心血管疾病,如慢性心力衰竭、心律失常(室性早搏)及稳定型心绞痛等^[20-21]。TXL以通络为专长,在临床上常用于治疗气虚血瘀型心血管疾病^[22],能有效缓解PCI术后患者心绞痛现象,减少术后血管炎症和血管再狭窄风险^[23]。现代研究表明,TMYX具有舒张血管、抗炎、保护血管内皮、抑制钙离子超载等作用^[24]。TXL具有抗凝、改善内皮、稳定易损斑块、解除血管痉挛等作用^[25],提示两方在作用机制上可能存在一定差异。

本研究首先通过硫磺素S染色、超声心动图检测、心脏组织HE染色、心肌酶活性检测等实验方法,发现TMYX和TXL对NR均具有改善作用,TMYX具有更好地恢复NR大鼠心脏功能,保护心脏结构的趋势;TXL具有更好地改善NR大鼠心肌无复流面积,降低心肌酶活性的趋势。为深入探究两复方在NR治疗作用机制方面的异同,本研究进一步通过整合药理学对TMYX和TXL改善NR的KEGG通路进行富集分析。结果显示,TMYX可能通过激活cGMP/PKG信号通路发挥减轻NR的作用,TXL可能主要通过激活PI3K/Akt通路发挥改善NR损伤的作用。相关研究表明,心肌缺血再灌注过程中cGMP/PKG信号通路的激活可以减少心肌细胞的损伤^[26]。sGC一种是可溶性鸟苷酸环化酶^[27],作为内源性一氧化氮的主要受体,催化三磷酸鸟苷(GTP)转化为cGMP调节PKG,PKG调节血管平滑肌细胞的K⁺通道,从而调节血管张力,在心肌缺血再灌注损伤和NR过程中发挥重要作用^[28]。也有研究表明,cGMP/PKG信号通路的激活对线粒体功能和微血管内皮屏障功能具有保护作用^[29-30]。PI3K/Akt通路是重要的细胞内信号通路之一,调控细胞代谢、生长和增殖及应激反应^[31-32]。PI3K激活后,会诱导Akt发生构象的变化,进而控制细胞凋亡以实现NR的保护^[33]。

Western blot结果显示,两复方均能显著提高sGC、PKG、p-PI3K(Tyr458)蛋白表达。其中TMYX对sGC、PKG的上调作用有强于TXL的趋势,提示TMYX改善NR损伤的作用可能主要通过cGMP/PKG信号通路发挥。而TXL对p-PI3K(Tyr458)及p-Akt(Tyr315)的上调作用要明显强于TMYX,提示TXL主要通过PI3K/Akt通路发挥改善NR损伤的作用。这种机制差异,可能与两复方的组成密切相关。从药物组成来看,TMYX以益气养阴为主,其核心药物如地黄中活性成分地黄寡糖,甘草中甘草素及“地黄-甘草”药对都能激活一氧化氮(NO)/cGMP/PKG信号通路^[34],发挥改善膜电位、提高三磷酸腺苷(ATP)水平,恢复线粒体和微血管内皮细胞功能,保护微血管内皮屏障功能的作用,从而更好地恢复NR大鼠的心脏功能,保护心脏结构。与之比较,TXL以活血通络为主,方中虫类通络药如全蝎和水蛭提取物及水蛭-全蝎药对可特异性调控PI3K/Akt信号通路,发挥抑制炎症、减轻细胞凋亡,改善血流障碍,改善内皮功能、抗凋亡等作用^[35-36],从而具有更好地减少心肌缺血面积和无复流面积,降低心肌酶活性的作用。两药均能改善NR,但因其组方与治法不同,作用机制各有侧重,体现了“同病异治”中辨证施治的现代科学内涵。

进一步把TMYX和TXL改善NR共同靶点的KEGG通路进行富集分析,发现HIF-1 α 信号通路可能是两复方实现对NR保护的共同机制。HIF-1由2个亚基组成,包括诱导表达的HIF-1 α 亚基和组成型的HIF-1 β 亚基。HIF-1 α 是一种氧敏感转录因子,通过抑制氧化应激反应来减轻NR。在正常氧浓度条件下,HIF-1 α 在特定的脯氨酸残基上发生羟化反应,导致该亚基被迅速泛素化,并通过蛋白酶体降解。然而,在缺氧条件下,HIF-1 α 不会被氧依赖性泛素蛋白酶体系统降解,从而保持稳定表达^[37],有助于心肌组织在NR时适应缺氧环境。Western blot结果发现,TMYX和TXL均可增强HIF-1 α 表达,与整合药理学结果一致,并且TMYX与TXL增强HIF-1 α 蛋白表达能力相当,说明两复方改善NR损伤的共同作用机制,可能与激活HIF-1 α 通路有关。

本研究结合整合药理学与实验验证探讨了TMYX和TXL改善NR损伤的个性特点与共同机制,两复方在治疗NR过程中呈现出方剂多成分、多靶点、整合调节的特点,既有共同作用靶点与通路(如HIF-1 α),也存在不同的主导信号通路(TMYX以cGMP/PKG为主,TXL以PI3K/Akt为主),且在相

同通路中的调控强度亦有差异。本研究阐释了TMYX与TXL改善NR的作用机制,为两复方“同病异治”的作用机制提供更多的现代科学依据,为其临床应用提供更多的理论支持。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] TRUONG H L, NGUYEN X D, NGUYEN D H, et al. Autologous blood injection intracoronary artery for treating slow-flow and no-reflow in acute coronary syndrome related to primary PCI[J]. Clin Case Rep, 2022, 10(2): e05328.
- [2] HAUSENLOY D J, CHILIAN W, CREA F, et al. The coronary circulation in acute myocardial ischaemia/reperfusion injury: A target for cardioprotection [J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(7): 1143-1155.
- [3] CHOUCANI E T, PELL V R, GAUDE E, et al. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS[J]. Nature, 2014, 515(7527): 431-435.
- [4] ZHANG X, ZHOU L, QIAN X. The mechanism of "treating different diseases with the same treatment" by Qiangji Jianpi decoction in ankylosing spondylitis combined with inflammatory bowel disease: A comprehensive analysis of multiple methods [J]. Gastroenterol Res Pract, 2024, 2024: 9709260.
- [5] 李鸿,于官正,胡雪黎,等. 基于网络药理学与实验验证探讨四君子汤与痛泻要方“同病异治”溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(3): 52-60.
- LI H, YU G Z, HU X L, et al. Mechanisms of Si Junzitang and Tongxie Yaofang against ulcerative colitis following "same disease with different treatments" based on network pharmacology and experimental verification [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(3): 52-60.
- [6] 梁景乾,蔡晶茹,怀宝庆,等. 苓桂术甘汤与肾气丸“同病异治”慢性心力衰竭的机制[J]. 西北药学杂志, 2023, 38(3): 54-61.
- LIANG J Q, CAI J R, HUAI B G, et al. Mechanism of Linggui Zhugan decoction and Shenqi pills in the treatment of chronic cardiac failure based on the theory of "treating the same disease with different methods" [J]. Northwest Pharm J, 2023, 38(3): 54-61.
- [7] 王旭,于鲁,李珠,等. 通脉养心方及其化学成分治疗心肌缺血/再灌注损伤的作用机制研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(9): 3012-3021.
- WANG X, YU L, LI Z, et al. Research progress on mechanism of Tongmai Yangxin recipe and its chemical components in treatment of myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(9): 3012-3021.
- [8] 蔡晓月,李甜,温玉,等. 通脉养心丸治疗缓慢性心律失常(气阴两虚证)的随机对照研究[J]. 天津中医药, 2023, 40(3): 286-290.
- CAI X Y, LI T, WEN Y, et al. A randomized controlled study on Tongmai Yangxin pill in the treatment of bradyarrhythmia (Qi-Yin deficiency syndrome) [J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2023, 40(3): 286-290.
- [9] CHEN R, CHEN T, WANG T, et al. Tongmai Yangxin pill reduces myocardial no-reflow via endothelium-dependent NO-

- cGMP signaling by activation of the cAMP/PKA pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 267: 113462.
- [10] 袁国强,常成成,张凤虹,等. 通心络防治急性心肌梗死再灌注后无再流研究进展[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(2): 208-211.
- YUAN G Q, CHANG C C, ZHANG F H, et al. Research progress of Tongxinluo capsule in preventing and treating no-reflow after acute myocardial infarction and reperfusion [J]. Chin J Difficult Complicated Cases, 2023, 22(2): 208-211.
- [11] YANG Y, LI X, CHEN G, et al. Traditional Chinese medicine compound (Tongxinluo) and clinical outcomes of patients with acute myocardial infarction: The CTS-AMI randomized clinical trial [J]. JAMA, 2023, 330(16): 1534-1545.
- [12] 郝学增,张立晶,王显. 通脉养心丸对PCI术后微血管病变胸痹患者miR-126调控机制[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(7): 2687-2692.
- HAO X Z, ZHANG L J, WANG X. Regulatory mechanism of Tongmai Yangxin pill to miR-126 in microangiopathy chest obstruction induced by PCI [J]. Genomics Appl Biol, 2017, 36(7): 2687-2692.
- [13] 荣惠,郑俊良,袁敏. 尼可地尔联合通心络胶囊对无复流高风险心肌梗死的疗效[J]. 临床医药实践, 2024, 33(7): 495-497, 534.
- RONG H, ZHENG J L, YUAN M, et al. Effect of nicorandil combined with Tongxinluo capsule on no-reflow high-risk myocardial infarction [J]. Clin Med Pract, 2024, 33(7): 495-497, 534.
- [14] JIASHUO W U, FANGQING Z, ZHUANGZHUANG L I, et al. Integration strategy of network pharmacology in traditional Chinese medicine: A narrative review [J]. J Tradit Chin Med, 2022, 42(3): 479-486.
- [15] LIAN Y, WANG Q, MU J, et al. Network pharmacology assessment of Qingkailing injection treatment of cholestatic hepatitis [J]. J Tradit Chin Med, 2021, 41(1): 167-180.
- [16] 陈婷,刘海瑞,张燕燕,等. 通脉养心丸通过上调GPER激活HIF-1 α /eNOS信号通路减轻心肌缺血再灌注后无复流的作用机制研究[J]. 药学报, 2023, 58(11): 3311-3320.
- CHEN T, LIU H R, ZHANG Y Y, et al. Mechanism of Tongmai Yangxin pill to reduce the no-reflow after myocardial ischemia and reperfusion by activating HIF-1 α /eNOS signaling pathway up-regulated by GPER [J]. Acta Pharm Sin, 2023, 58(11): 3311-3320.
- [17] 李大鹏,孙党辉,张春茹,等. 通心络胶囊对自发性高血压大鼠血管内皮功能和炎症机制影响研究[J]. 实用医院临床杂志, 2017, 14(4): 241-243.
- LI D P, SUN D H, ZHANG C R, et al. Effect of Tong Xin Luo capsule on the vascular endothelial function and inflammatory factor mechanism of spontaneously hypertensive rats [J]. Pract J Clin Med, 2017, 14(4): 241-243.
- [18] 田力欣,赵天易,何丽云,等.《黄帝内经》“同病异治”再认识[J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(9): 1416-1420.
- TIAN L X, ZHAO T Y, HE L Y, et al. Further understanding of "same disease while different treatment" in Inner Canon of Huangdi [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2023, 29(9): 1416-1420.

- [19] LI X D, YANG Y J, GENG Y J, et al. Tongxinluo reduces myocardial no-reflow and ischemia-reperfusion injury by stimulating the phosphorylation of eNOS via the PKA pathway[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299(4): H1255-H1261.
- [20] 王显,安冬青,中华中医药学会介入心脏病学会代表编制组. 通脉养心丸治疗冠心病心绞痛(气阴两虚证)临床应用专家共识[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(9): 253-258.
- WANG X, AN D Q, Representative Preparation Group of Interventional Cardiology Branch of Chinese Society of Chinese Medicine. Expert consensus on clinical application of Tongmai Yangxin pill in treatment of angina pectoris (Qi-Yin deficiency syndrome)[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2021, 39(9): 253-258.
- [21] 王佳,谭曦轮,王雪森,等. 通心络胶囊对气虚血瘀型慢性冠脉综合征患者中医证素的影响:一项多中心、前瞻性队列研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(13): 170-177.
- WANG J, TAN X L, WANG X S, et al. Effect of Tongxinluo capsules on TCM syndrome elements in patients with chronic coronary syndrome of qi deficiency and blood stasis type: A multicenter and prospective cohort study [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, 31(13): 170-177.
- [22] WANG Y, WANG X, WANG J, et al. Tongmai Yangxin intervening in myocardial remodeling after PCI for coronary heart disease: Study protocol for a double-blind, randomized controlled trial[J]. *Trials*, 2020, 21(1): 287.
- [23] 李军英,郭志刚. 通心络胶囊对冠心病介入术后患者疗效观察及对血管内皮功能和炎症因子影响[J]. *中成药*, 2019, 41(5): 1202-1204.
- LI J Y, GUO Z G. Observation of the efficacy of Tongxinluo capsules in patients after coronary intervention and their effects on endothelial function and inflammatory factors[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2019, 41(5): 1202-1204.
- [24] 张燕燕,秦源学,叶麟晰,等. 通脉养心丸的研究进展及质量标志物(Q-marker)预测分析[J]. *天津中医药*, 2025, 42(3): 387-396.
- ZHANG Y Y, QIN H X, YE L X, et al. Research progress of Tongmai Yangxin pill and prediction analysis of quality marker (Q-marker) [J]. *Tianjin J Tradit Chin Med*, 2025, 42(3): 387-396.
- [25] KUANG X, WANG Y, LIU S, et al. Tongxinluo enhances the effect of atorvastatin on the treatment of atherosclerosis with chronic obstructive pulmonary disease by maintaining the pulmonary microvascular barrier[J]. *Food Sci Nutr*, 2023, 11(1): 390-407.
- [26] ZHANG X, SONG Y, MAI H, et al. Chronic inhibition of cGMP-specific phosphodiesterase 5 attenuates myocardial hypertrophy by promoting mitophagy in cardiomyocytes[J]. *Biochem Pharmacol*, 2025, 242(Pt 3): 117366.
- [27] COSTA M A, ELES GARAY R, BALASZCZUK A M, et al. Role of NPR-C natriuretic receptor in nitric oxide system activation induced by atrial natriuretic peptide [J]. *Regul Pept*, 2006, 135(1/2): 63-68.
- [28] CHEN T, ZHANG Y, CHEN M, et al. Tongmai Yangxin pill alleviates myocardial no-reflow by activating GPER to regulate HIF-1 α signaling and downstream potassium channels[J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1): 499-513.
- [29] WANG J, TOAN S, ZHOU H. Mitochondrial quality control in cardiac microvascular ischemia-reperfusion injury: New insights into the mechanisms and therapeutic potentials [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 156: 104771.
- [30] LI J J, WANG Y J, WANG C M, et al. Shenlian extract decreases mitochondrial autophagy to regulate mitochondrial function in microvascular to alleviate coronary artery no-reflow[J]. *Phytother Res*, 2023, 37(5): 1864-1882.
- [31] MARQUÉS M, KUMAR A, CORTÉS I, et al. Phosphoinositide 3-kinases p110 α and p110 β regulate cell cycle entry, exhibiting distinct activation kinetics in G₁ phase [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(8): 2803-2814.
- [32] ZENG B, LIU L, LIAO X, et al. Thyroid hormone protects cardiomyocytes from H₂O₂-induced oxidative stress via the PI3K-Akt signaling pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 380(2): 205-215.
- [33] AJZASHOKOUHI A H, REZAEI R, OMIDKHODA N, et al. Natural compounds regulate the PI3K/Akt/GSK3 β pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Cell Cycle*, 2023, 22(7): 741-757.
- [34] 王怡,杨静,高杉,等. 基于cGMP-PKG通路探讨地黄-甘草药对保护心肌缺血再灌注损伤的机制[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(11): 2591-2594.
- WANG Y, YANG J, GAO S, et al. Investigation of the mechanism by which rehmannia-licorice herb protects against myocardial ischemia-reperfusion injury based on the cGMP-PKG pathway[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2015, 33(11): 2591-2594.
- [35] WU S, ZHOU Y, PEI Z, et al. Traditional Chinese medicinal leech induces apoptosis and autophagy in glioblastoma by SGK1/Caspase-3 and PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2025, 31(12): e70683.
- [36] 吴青松,巨少华,周凌,等. 水蛭联合全蝎冻干粉对大鼠颈动脉血栓形成及凝血功能和纤溶系统的影响[J]. *中国现代应用药学*, 2024, 41(5): 644-648.
- WU Q S, JU S H, ZHOU L, et al. Effect of leech combined with whole scorpion lyophilized powder on carotid artery thrombosis, coagulation function and fibrinolysis system in rats[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2024, 41(5): 644-648.
- [37] CHOUDHRY H, HARRIS A L. Advances in hypoxia-inducible factor biology [J]. *Cell Metab*, 2018, 27(2): 281-298.

[责任编辑 孙丛丛]