

基于微循环可视化和代谢组学探讨丹参片对大鼠冠脉微循环障碍的改善作用

黄玉清^{1,2,3}, 陈兰英^{1,2,3*}, 汪文龙^{1,2,3}, 袁蓓欣^{1,2,3}, 张莹^{1,2,3}, 侯薇^{1,2,3}, 谢欣序^{1,2}, 刘荣华^{1,3}

(1. 江西中医药大学, 江西南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西南昌 330006; 3. 江西中医药大学中药药效物质基础江西省重点实验室, 江西南昌 330004)

摘要: 目的 研究丹参片对冠脉微循环障碍(CMD)的改善作用。方法 将大鼠随机分为假手术组、模型组和丹参低、高剂量组(1、2 g/kg),每组10只;第6天给药45 min后,模型组和给药组大鼠左心室内注射微球构建冠脉微循环障碍(CMD)模型,假手术组注射等量生理盐水。第7天给药45 min后,检测血流动力学、血液流变学指标;采用微循环可视化—DiI混合灌注法观察心脏微血管形态(面积、密度及半径),并根据泊肃叶公式计算微血管血流阻力;HE染色法观察心肌组织病理形态;生化法检测血浆CK、K-MB、LDH、Glu、NO水平;UPLC-QTOF-MS和代谢组学技术分析血清代谢物变化。结果 与模型组比较,各给药组CMD大鼠血流量、血压及左心压升高($P<0.05$, $P<0.01$);红细胞压积、纤维蛋白原及血浆黏度改善($P<0.05$);血清肌酸激酶、肌酸激酶同工酶、乳酸脱氢酶、葡萄糖降低($P<0.05$, $P<0.01$),NO水平升高($P<0.01$);血管面积、密度及半径增加($P<0.05$, $P<0.01$),血管空隙度和血流阻力降低($P<0.01$),心肌纤维断裂、纤维间隙增宽和炎性细胞浸润的情况改善。与假手术组比较,模型组大鼠血清中含有34种差异代谢物,而丹参可显著回调其中12种的水平。丹参可能通过调节丙酮酸代谢、甘油磷脂代谢、脂肪酸降解、花生四烯酸代谢、精氨酸生物合成代谢、鞘脂代谢等通路来改善CMD。结论 丹参片可通过调节心脏物质代谢、减轻炎症、刺激NO生成、缓解内皮损伤等来改善微球栓塞所致的CMD大鼠冠脉微循环障碍。

关键词: 丹参;微球栓塞;冠脉微循环障碍;微循环可视化;代谢组学

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)05-1699-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.05.046

冠脉微循环障碍(CMD)是指当冠脉微循环结构或功能受损时,冠状动脉血流受阻,心脏自身供氧不足,导致心肌缺血、心绞痛,甚至心力衰竭等症状,对人体健康造成极大的危害^[1-2]。由于CMD发病率逐年上升,患病人群趋于年轻化,易反复发作,预后较差且具体发病机制尚未明确^[3-4],所以寻找CMD的治疗药物具有重要的临床意义。

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎,具有活血祛瘀、通经止痛等功效^[5],可提高耐缺氧能力、扩张血管、降低血液黏度、保护心肌等^[6-7],被广泛用于治疗心脑血管疾病。但丹参保护CMD的作用机制尚未明确,且其对体内代谢物轮廓的调节作用尚未见报道。近年来,代谢组学技术广泛应用于中医药研究领域,揭示了生物体生理病理状态和小分子代谢物的动态变化机制^[8-10]。因此,本研究通过向大鼠左心室注射微球构建CMD模型,通过DiI混合灌注技术实现微血管可视化,并采用UPLC-QTOF-MS代谢组学技术分析丹参片干预后CMD

大鼠血清代谢物的变化及可能的作用机制,以期为丹参治疗CMD提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 40只SPF级雄性SD大鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(湘)2019-0004],体质量(250 ± 10)g,饲养温度(23 ± 2)℃,相对湿度(50 ± 10)%,昼夜交替环境下饲养。实验经江西中医药大学实验动物伦理委员会批准(伦理号JZSYDWLL-20200801)。

1.2 药物与试剂 丹参片(上海雷允上药业有限公司,批号210327);肌酸激酶同工酶(CK-MB)测定试剂盒(北京利德曼生化股份有限公司,批号20090320);乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒[富士胶片和光纯耀(上海)化学有限公司,批号20201104137];葡萄糖(Glu)测定试剂盒(上海荣盛生物药业股份有限公司,批号20201104137);NO试测定剂盒(南京建成生物工程研究所

收稿日期: 2024-12-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(82160732);江西省自然科学基金重点项目(20224ACB206043)

作者简介: 黄玉清(1998—),女,硕士,研究方向中药药效评价及其作用机制。Tel: 13970566793, E-mail: 420827406@qq.com

*通信作者: 陈兰英(1966—),女,博士,教授,研究方向中药药效评价及其作用机制。Tel: (0791) 87119611, E-mail: clyxy2513@163.com

有限公司, 批号 20210125); 聚乙烯微球(直径 42 μm, 上海泽元生物科技有限责任公司, 批号 210405)。DiI C₁₂、DiI C₁₈(上海麦克林生化科技股份有限公司, 批号 C12210335、BCCF7490)。

1.3 仪器 全自动生化分析仪(日本 Hitachi 公司); WelchUltimate UHPLC C₁₈色谱柱、UPLCI-CLASS 四元液相色谱系统、SYNAPTG2-S 质谱仪(美国 Waters 公司); 正置荧光显微镜(日本 Nikon 公司); 离心机(上海安亭科学仪器厂); 激光共聚焦显微镜(德国 Leica 公司)。

2 方法

2.1 造模 大鼠麻醉后, 固定, 左胸备皮, 分离皮下及肌肉组织, 暴露心包和主动脉, 血管夹夹闭主动脉 10 s, 期间快速将 0.1 mL 生理盐水悬浮液(含有 3 000 个聚乙烯微球)经心尖注射到左心室, 松开血管夹, 若大鼠 ST 段出现异常变化则认为 CMD 大鼠模型构建成功。待大鼠呼吸恢复后, 缝合胸腔。假手术组仅向左心室内注射等体积生理盐水, 其余操作相同。

2.2 分组与给药 用洁净的研钵将 30 片丹参片(9 g/片)研成粉末, 加入 45 mL 生理盐水, 制成质量浓度为 0.2 g/mL 的溶液(按照 2020 版《中国药典》要求, 每片丹参片中丹酚酸 B 含量不少于 11 mg)。

将 40 只大鼠按体质量随机分为假手术组、模型组及丹参低、高剂量组(1、2 g/kg), 给药组灌胃给予相应剂量药物, 假手术组和模型组灌胃给予等体积生理盐水, 连续 7 d。第 6 天给药 45 min 后, 对模型组和给药组大鼠进行造模, 第 7 天给药 45 min 后取材。

2.3 血流动力学检测 大鼠麻醉后, 分离左颈动脉, 紧密血流探头套在左颈动脉以检测血流量(MBF); 分离大鼠左侧大腿根部皮下肌肉组织, 暴露股动脉, 插入 PE-50 导管, Power Lab 软件监测动脉血压变化; 分离右颈动脉, 将 PE-50 导管经右颈动脉插入左心室后, 监测左心室压力变化。

2.4 血液流变学检测 大鼠腹主动脉采血, 血液流变仪检测红细胞计数(RBC)、红细胞压积(HCT)、血红蛋白浓度(HGB)、纤维蛋白原(FIB) 和血浆黏度(PV)。

2.5 微血管形态观察及血流阻力检测 DiI C₁₂ 和 DiI C₁₈ 均是通过侧向扩散对整个细胞进行染色的亲脂性膜染料^[11], 将二者按比例混匀后, 夹闭大鼠降总动脉, 充分暴露大鼠心脏, 依次灌注 DiI 混合液、10% 甲醛溶液, 待心脏停止跳动后, 取出心脏避光固定, 脱水, 包埋, 切片, 封片, 激光共聚焦显微镜下观察微血管形态, 包括血管面积、血管半径、血管密度; 再根据微血管半径、全血高切黏度及泊肃叶定律计算血流阻力。

2.6 HE 染色法观察心脏病理改变 取出大鼠心脏后, 浸泡在生理盐水中, 小心挤出残留的淤血, 置于 10% 甲醛中固定。取固定后的心脏组织, 脱水, 包埋, 切片, HE 染色, 于光学显微镜下观察。

2.7 生化指标检测 采用全自动生化分析仪检测血浆心肌损伤指标 CK、K-MB 及 LDH 水平; 按相应试剂盒说明书测

定血浆 Glu、NO 水平。

2.8 代谢组学分析血清代谢物变化

2.8.1 血清样品溶液制备 取 50 μL 血清与 200 μL 2-氯-L-丙氨酸混匀, 静置 10 min 后 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 即得。QC 样本由所有样本血清等量混匀而成。

2.8.2 分析条件

2.8.2.1 色谱 WelchUltimate UHPLC C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相水(含 0.1% 甲酸)(A)-B(乙腈), 梯度见表 1; 体积流量 5 μL/min; 柱温 40 °C; 进样量 1 μL。

表 1 高效液相色谱洗脱条件

时间/min	A 水(含 0.1% 甲酸)/%	B 乙腈/%
0~3	95~80	5~20
3~5	80~55	20~45
5~7	55~45	45~55
7~16	45~35	55~65
16~18	35~20	65~80
18~20	20~5	80~95
20~23	5~95	95~5

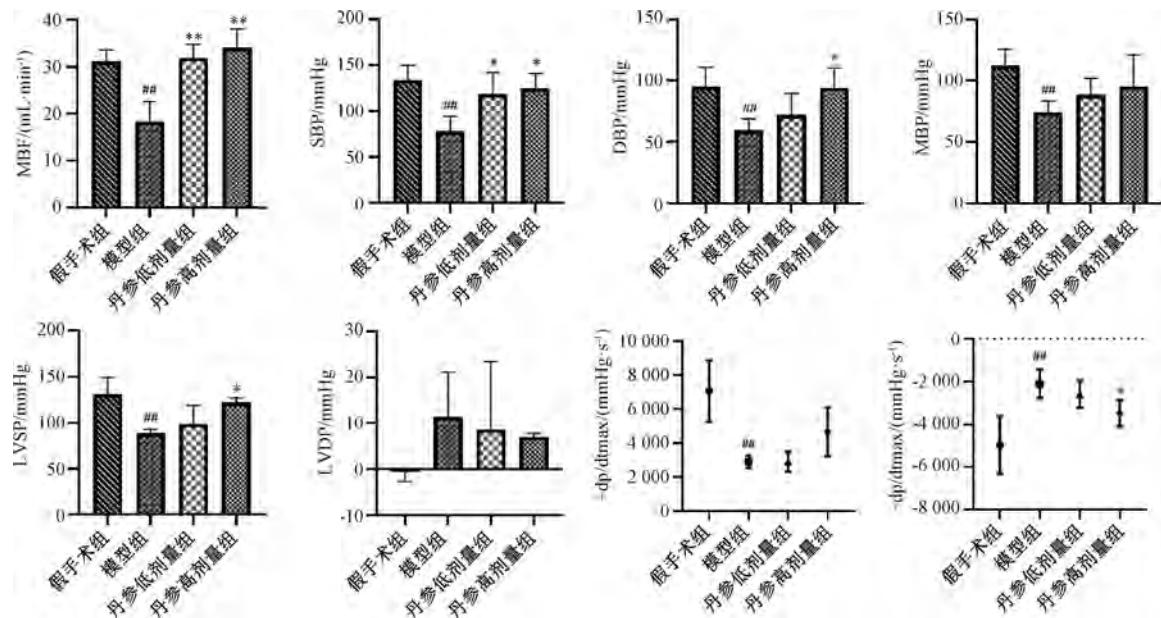
2.8.2.2 质谱 电喷雾离子源; 正、负离子扫描; 扫描范围 50~1 200 Da; 毛细管电压 3、-2.5 kV; 离子源温度 120 °C; 气帘气体积流量 50 L/h; 脱溶剂气体积流量 50 L/h, 温度 400 °C; 碰撞能量 20~40 eV; 锥孔电压 40 V; 扫描时间 0.3 s。

2.8.3 数据处理 通过 SIMCA 14.0 软件结合主成分分析、正交偏最小二乘判别分析对各样品进行置换检验; Ezinfo 3.0 软件筛选出符合变量重要性投影(VIP>1)且 P<0.05 的化合物, 其中以误差 <15×10⁻⁶ 为标准, 通过 HMDB 和 Metlin 网站查询所有化合物代谢物的 MS/MS 数据, 进行对比分析及鉴定。将本实验所鉴定出的差异代谢物信息输入 MetaboAnalyst 5.0 软件进行 KEGG 分析, 得到相关代谢通路。

2.9 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.0 软件进行处理, 数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 丹参片对 CMD 大鼠血流动力学的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、血流量(MBF)、平均血压(MBP)、左室收缩压(LVSP)、等容收缩期左心室内压力最大上升速率(LV+dp/dtmax)降低(P<0.01), 等容收缩期左心室内压力最大下降速率(LV-dp/dtmax)上升(P<0.01), 左室舒张压(LVDP)无明显变化(P>0.05)。与模型组比较, 丹参高剂量组 MBF、SBP、DBP、LVSP 升高(P<0.05, P<0.01), MBP、LV+dp/dtmax 无明显变化(P>0.05), LV-dp/dtmax 降低(P<0.05), LVMP 无明显变化(P>0.05); 丹参低剂量组 MBF、SBP 升高(P<0.05, P<0.01), DBP、MBP、LVSP、LV+dp/dtmax、LVDP、LV-dp/dtmax 无明显变化(P>0.05), 见图 1。



注：与假手术组比较，#P<0.01；与模型组比较，*P<0.05，**P<0.01。

图1 丹参片对CMD大鼠血流动力学的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=4)

3.2 丹参片对CMD大鼠血液流变学的影响 与假手术组比较，模型组大鼠RBC、HCT降低 (P<0.05)，HGB无明显变化 (P>0.05)；FIB升高 (P<0.05)，PV无明显变化 (P>0.05)。与模型组比较，丹参高剂量组大鼠HCT升高

(P<0.05)，RBC、HGB无明显变化 (P>0.05)，FIB降低 (P<0.05)，PV无明显变化 (P>0.05)；丹参低剂量组大鼠RBC、HCT及HGB无明显变化 (P>0.05)，FIB降低 (P<0.05)，PV无明显变化 (P>0.05)，见表2。

表2 丹参片对CMD大鼠血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=4)

组别	剂量/(g·kg⁻¹)	RBC/(×10¹²·L⁻¹)	HCT/%	HGB/(g·kg⁻¹)	FIB/(g·kg⁻¹)	PV/(mPa.s)
假手术组	—	4.51±0.33	0.44±0.03	140.34±10.20	1.93±0.06	1.06±0.13
模型组	—	3.94±0.27 [#]	0.38±0.03 [#]	127.96±3.01	3.98±1.20 [#]	1.82±0.99
丹参低剂量组	1	4.22±0.17	0.42±0.02	131.10±5.36	1.96±0.05 [*]	1.23±0.09
丹参高剂量组	2	4.14±0.38	0.44±0.03 [*]	132.67±5.94	1.91±0.06 [*]	1.10±0.06

注：与假手术组比较，#P<0.05；与模型组比较，*P<0.05。

3.3 丹参片对CMD大鼠微血管形态及血流阻力的影响 假手术组大鼠血管形态完整，灌注顺畅，血管轮廓清晰；模型组大鼠血管被聚乙烯微球栓塞，血流受阻，血管不均匀；各给药组大鼠血管形态有所改善。利用AngioTool软件分析血管形态相关指标得出，与假手术组比较，模型组大鼠血管面积、半径及密度降低 (P<0.01)，空隙度升高 (P<0.01)；与模型组比较，各给药组血管密度升高 (P<0.01)，空隙度降低 (P<0.05, P<0.01)，丹参高剂量组血管面积、半径升高 (P<0.05, P<0.01)；丹参低剂量组血管面积、半径无明显变化 (P>0.05)。与假手术组比较，模型组血流阻力升高 (P<0.01)；与模型组比较，各给药组血流阻力降低 (P<0.05, P<0.01)，见图2。

3.4 丹参片对CMD大鼠心肌组织病理形态的影响 假手术组大鼠心肌组织结构形态正常；模型组大鼠存在明显微球空洞，心肌细胞排列紊乱，纤维溶解，存在大量炎性细胞浸润；各给药组大鼠心肌细胞损伤程度明显降低，炎性细胞浸润明显减少，见图3。

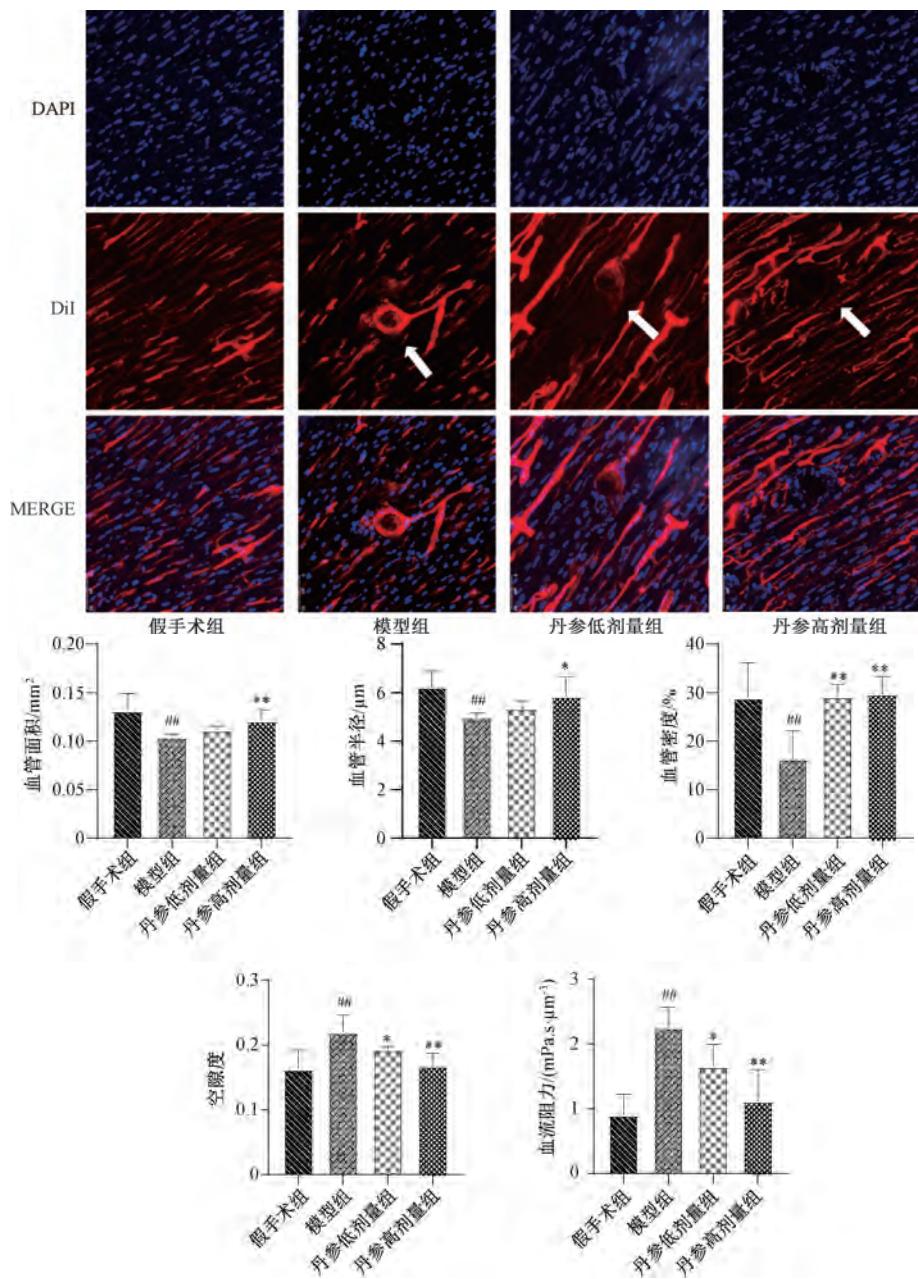
3.5 丹参片对CMD大鼠血浆心肌损伤相关指标的影响 与假手术组比较，模型组大鼠血浆CK-MB、LDH及

Glu水平上升 (P<0.05, P<0.01)，CK水平无明显变化 (P>0.05)，NO水平降低 (P<0.01)；与模型组比较，各给药组CK-MB、LDH及Glu水平降低 (P<0.05, P<0.01)，CK水平无明显变化 (P>0.05)，NO水平升高 (P<0.05, P<0.01)，见图4。

3.6 丹参片对CMD大鼠血清代谢物的影响

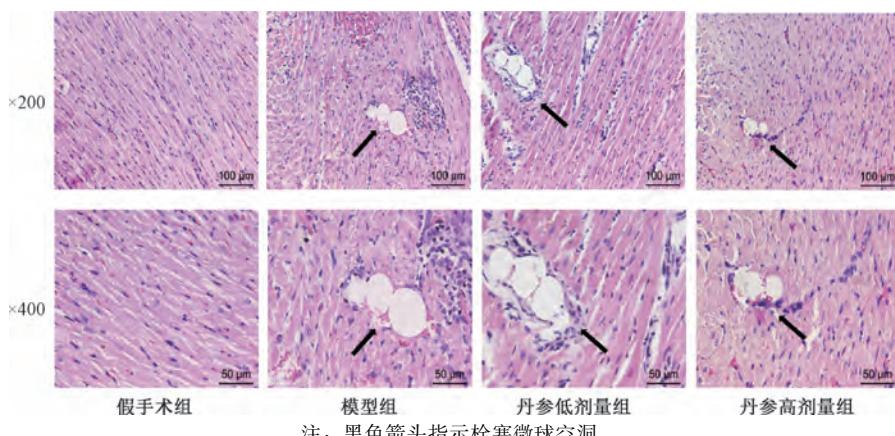
3.6.1 代谢组学法验证 取“2.8.1”项下QC血清样品溶液适量，在“2.8.2”项条件下进样测定6次，正、负总离子流图见图5。由此可知，峰面积RSD<20%的特征峰在正离子模式下占总面积的90%，在负离子模式占总面积的98%，说明QC样本聚集性好，仪器稳定性和重复性高；与假手术组比较，模型组和给药组的总离子流图在部分峰型以及峰面积方面存在差异。

3.6.2 多元统计学分析 主成分分析显示，假手术组、模型组在正、负离子模式下的代谢轮廓均得到了分离，说明CMD模型构建成功，且丹参组代谢轮廓具有向假手术组靠近的趋势（正离子模式： $R^2 X=0.509$, $Q^2=0.324$ ；负离子模式： $R^2 X=0.633$, $Q^2=0.296$ ），见图6。



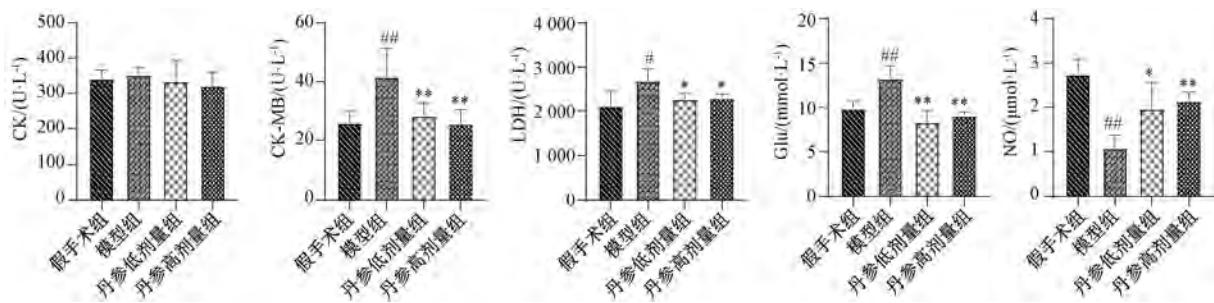
注：白色箭头指示栓塞微球空洞。与假手术组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图2 丹参片对CMD大鼠微血管形态及阻力的影响 ($\times 400$, $\bar{x} \pm s$, n=6)



注：黑色箭头指示栓塞微球空洞。

图3 丹参片对CMD大鼠心肌组织病理改变的影响 (HE染色)



注：与假手术组比较，#P<0.05, ##P<0.01；与模型组比较，*P<0.05, **P<0.01。

图4 丹参片对CMD大鼠血浆CK、CK-MB、LDH、Glu、NO水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=4)

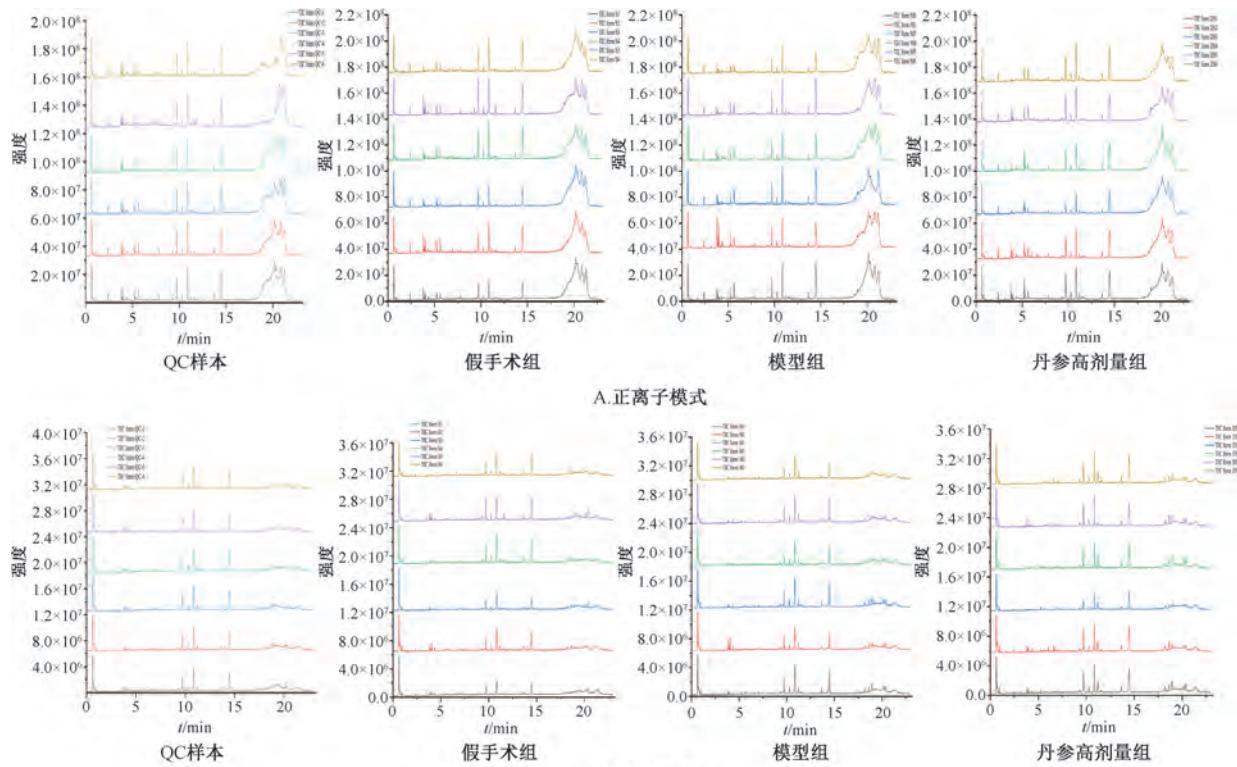
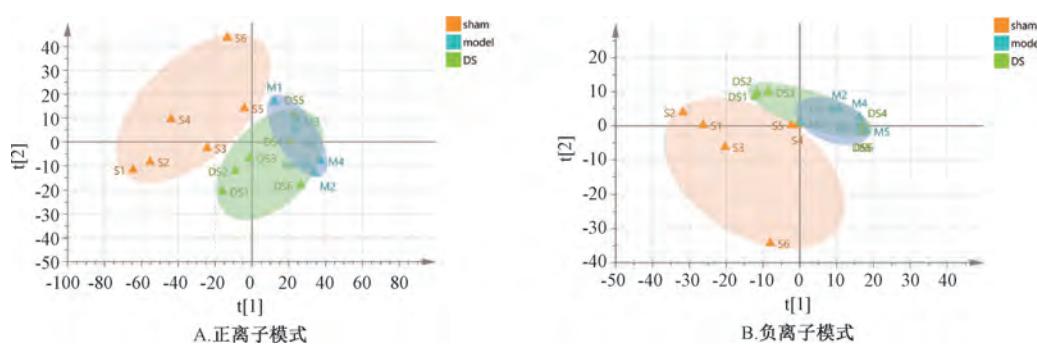


图5 QC样品及各组样品总离子流图



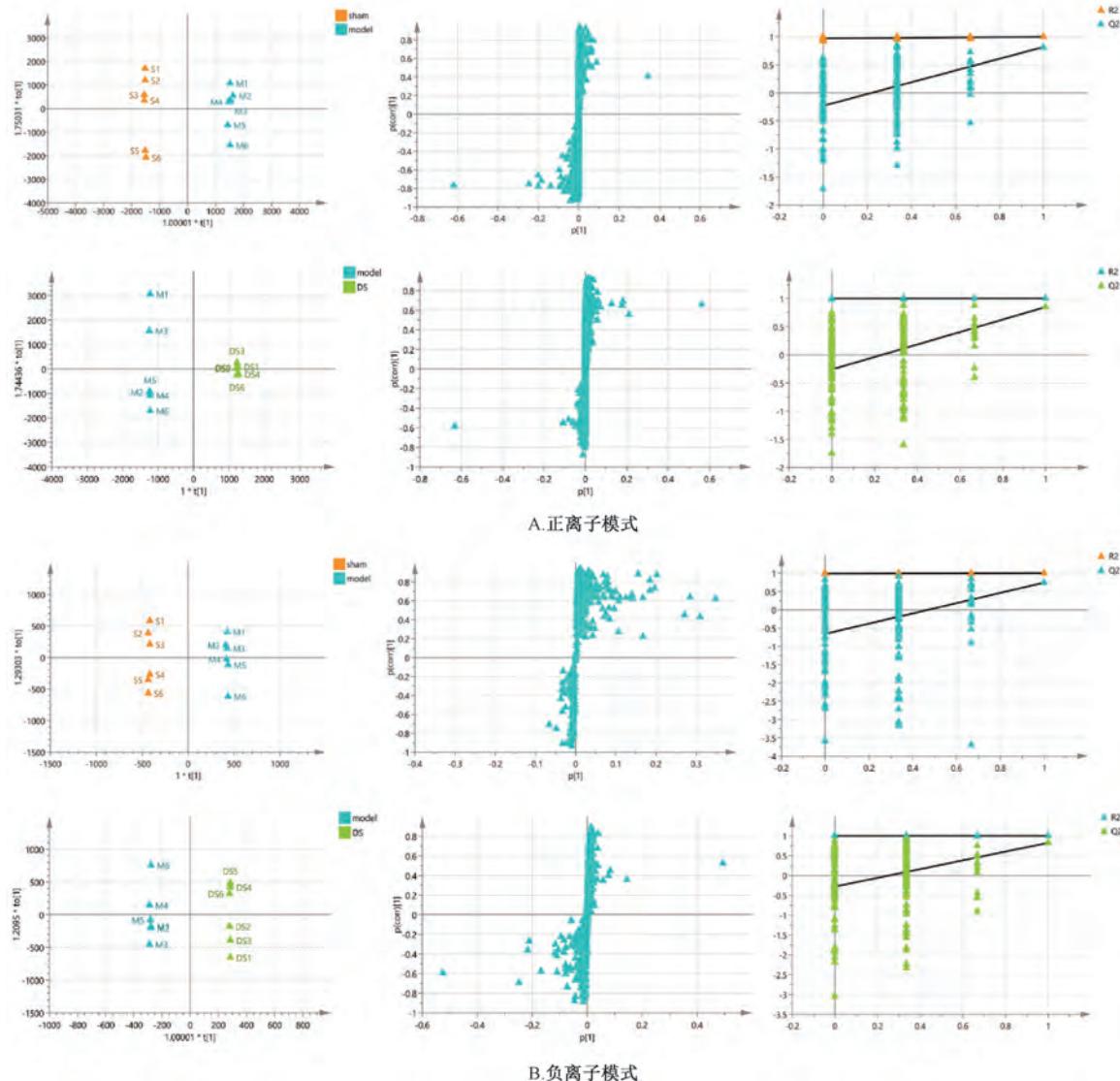
注：sham为假手术组，model为模型组，DS为丹参低剂量组。

图6 主成分分析得分图

正交偏最小二乘判别分析显示，假手术组和模型组正、负离子模式下的 R^2X 、 R^2Y 和 Q^2 分别为 0.911、0.999、0.818 和 0.954、1、0.743。表明分析法对CMD大鼠内源性代谢物变化情况有很好的解释能力，且对组间差异变量预

测度也较好。模型组与丹参组数据在 $t[1]$ 上明显分离，表明丹参片对CMD大鼠血清代谢物影响较大。置换检验 ($n=200$) 结果为假手术组与模型组正、负模式下的 R^2 和 Q^2 的截距分别为 0.973、-0.23 和 0.99、-0.658，表明模

型不存在过度拟合，见图 7。



注：sham 为假手术组，model 为模型组，DS 为丹参低剂量组。

图 7 正交偏最小二乘判别分析图

3.6.3 差异代谢物 以 VIP >1 、 $P<0.05$ 为标准，共筛选出 34 种差异化合物，正离子模式下 19 种，负离子模式下 5 种。与假手术组比较，模型组大鼠血清中含量显著升高的化合物有 1-磷酸鞘氨醇、15-羟基二十碳四烯酸、二十碳五烯酸等，而甘油三酯、N-棕榈酰丝氨酸、鞘糖脂等 20 种差异化合物含量显著降低，丹参片对瓜氨酸、二十二碳六烯酸、花生四烯酸等 12 种代谢物具有显著的回调作用，见表 3。

3.6.4 丹参片对 CMD 大鼠代谢通路的影响 选取假手术组、模型组及给药组的差异代谢物，在 MetaboAnalyst 5.0 软件和 KEGG 代谢分析平台进行通路富集，得到各组大鼠血清代谢通路。由此可知，丹参片主要影响 CMD 大鼠的花生四烯酸代谢、精氨酸生物合成、丙酮酸代谢等通路，并据此绘制主要代谢相关通路示意图，见图 8~10。

4 讨论

冠脉微循环是调节心脏自身血液循环的重要组成部分，当冠脉微循环发生障碍，心肌濡养不足，导致心功能受损。丹参是一种临幊上常用中药，研究表明丹参在心绞痛、动脉粥样硬化，心肌缺血等方面发挥作用^[12-15]。本实验探讨丹参片对 CMD 大鼠的改善作用，同时对大鼠血清进行非靶向代谢组学分析，研究其可能的作用机制；利用亲脂性荧光染料 DiI 可与细胞膜磷脂双分子层结合迅速标记血管的特性，使微血管形态结构变化可视化，结果表明，造模后大鼠微血管形态改变，给药后显著改善，血流阻力降低。并且聚乙烯微球栓塞血管后，血流量降低，心肌供氧、供血不足及心脏功能受损，导致细胞内的 CK、CK-MB、LDH 等心肌损伤标志物释放到血液中^[16-17]，给药后大鼠 CK、CK-MB 和 LDH 水平降低，CMD 大鼠心肌损伤明显改善，表明丹参片对冠脉微循环障碍大鼠具有保护作用。

表3 差异代谢物信息

序号	HMDB号	化合物	t _R /min	P	Model	DS
1	HMDB0005458	甘油三酯	0.62	0.091 0	↓##	↑
2	HMDB0000904	瓜氨酸	0.62	0.056 0	↓##	↑**
3	HMDB0241932	N-棕榈酰丝氨酸	8.17	0.130 0	↓##	↓
4	HMDB0000277	1-磷酸鞘氨醇	8.21	0.003 7	↑##	↓**
5	HMDB0001383	1-磷酸鞘氨酸	8.63	0.014 0	↑##	↓*
6	HMDB0013620	19(20)-环氧化二十二碳六烯酸	10.94	0.510 0	↑##	↑
7	HMDB0001999	二十碳五烯酸	11.20	0.520 0	↑##	↑
8	HMDB0003876	15-羟基二十碳四烯酸	11.20	0.290 0	↑##	↑
9	HMDB0005998	20-羟二十烷四烯酸	11.20	0.240 0	↑##	↑
10	HMDB0011152	磷酸乙醇胺脂质	11.57	0.640 0	↑#	↓
11	HMDB0002183	二十二碳六烯酸	18.23	0.035 0	↑##	↓*
12	HMDB0001043	花生四烯酸	18.65	0.043 0	↑##	↓*
13	HMDB0004976	鞘糖脂	18.83	0.420 0	↓##	↑
14	HMDB0242048	N-肉豆蔻酰天冬氨酸	18.94	0.570 0	↑##	↓
15	HMDB0007881	磷脂酰胆碱	18.95	0.110 0	↓##	↑
16	HMDB0006840	4,4-二甲基-5a-胆甾-8-烯-3b-醇	19.03	0.071 0	↓##	↑
17	HMDB0006528	二十二碳五烯酸	19.58	0.130 0	↑#	↑
18	HMDB0271810	氧化磷脂酰甘油	20.10	0.230 0	↓##	↑
19	HMDB0002226	肾上腺酸	20.13	0.340 0	↑#	↓
20	HMDB0007083	甘油二酯	20.17	0.005 7	↓##	↑**
21	HMDB0000269	鞘氨酸	20.31	0.270 0	↓##	↓
22	HMDB0293003	氧化二磷酸胞苷-二酰基甘油	20.36	0.470 0	↓##	↑
23	HMDB0003357	N ₂ -乙酰鸟氨酸	20.38	0.650 0	↓##	↓
24	HMDB0276999	氧化磷脂酰肌醇	20.44	0.002 7	↓##	↑**
25	HMDB0283222	氧化磷脂酰丝氨酸	20.47	0.400 0	↓##	↑
26	HMDB0001066	S-乳酰谷胱甘肽	20.57	0.000 4	↓#	↑**
27	HMDB0013513	磷脂酰甘油磷酸盐	20.92	0.220 0	↓##	↑
28	HMDB0261990	氧化磷脂酰乙醇胺	20.95	0.310 0	↓##	↑
29	HMDB0116802	心磷脂	20.97	0.002 4	↓##	↑**
30	HMDB0241349	3,11-二羟基十四烷酰肉碱	21.01	0.290 0	↓##	↑
31	HMDB0001220	前列腺素 E ₂	21.03	0.008 4	↓##	↑**
32	HMDB0301567	9-氢过氧十八烷-10,12-二烯酰辅酶 A	21.10	0.025 0	↑#	↓*
33	HMDB0094687	十八烯酰肉碱	21.15	0.011 0	↓##	↑*
34	HMDB0012107	鞘磷脂	21.27	0.120 0	↑##	↓

注: model 为模型组, DS 为丹参低剂量组。↑为含量上升, ↓为含量下降。与假手术组比较, #P<0.05, ##P<0.01; 与模型组比较, *P<0.05, **P<0.01。

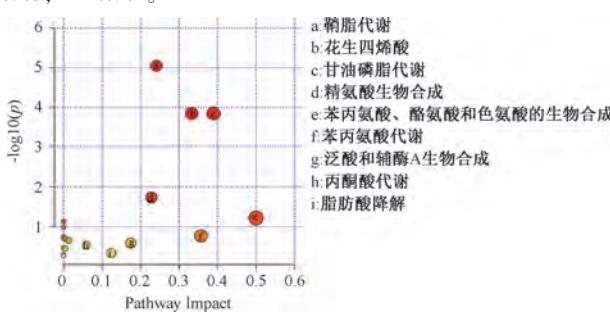


图8 CMD 大鼠差异代谢物通路富集分析

脂肪酸降解、丙酮酸代谢、甘油磷脂代谢及泛酸和辅酶 A 生物合成均与能量代谢有关。脂肪酸在细胞质内被胆酰辅酶 A 活化成酰基辅酶 A, 其与肉碱结合被运输到线粒体内膜上, 并被脂肪酸 β -氧化相关酶分解释放能量, 从而改善心肌损伤^[18-20]。S-乳酰谷胱甘肽 (SLG) 是还原型谷胱甘肽 (GSH) 的来源之一^[21-22]。GSH 参与体内三羧酸循

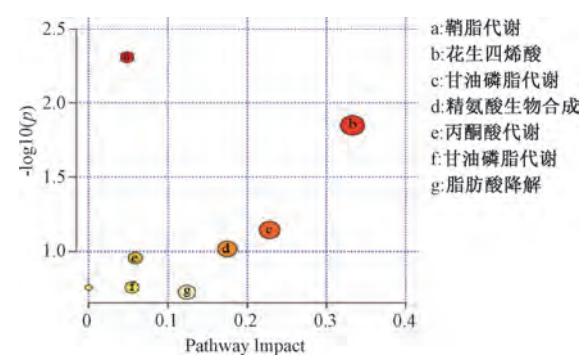


图9 丹参片给药后的差异代谢物通路富集分析

环及糖代谢, 促进糖类、脂肪和蛋白质代谢, 其水平上升后, 激活能量代谢相关酶, 调节心肌细胞能量代谢并起到抗氧化的作用, 减少氧化应激损伤^[23-24]。心磷脂 (CL) 是线粒体膜的组成成分, 可维持线粒体功能, 通过影响 ATP 合成酶、线粒体蛋白功能来参与细胞线粒体能量代谢^[25-27]。

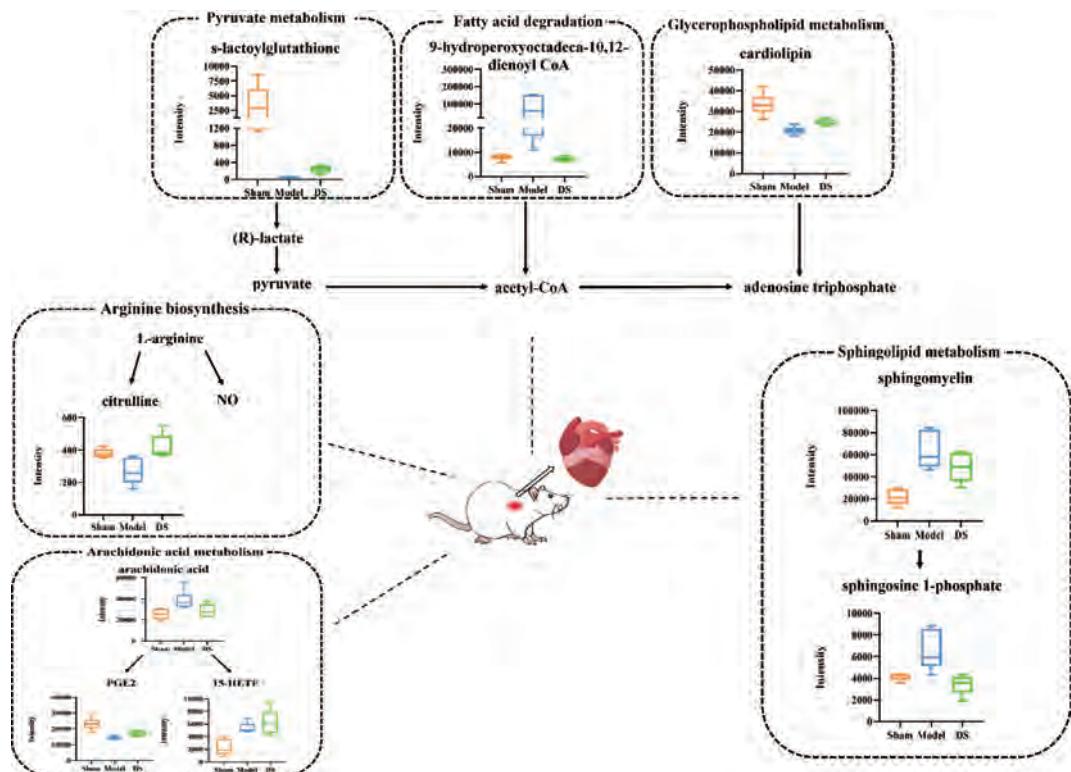


图 10 代谢通路示意图

模型组大鼠血清中 9-氢过氧十八烷-10, 12-二烯酰辅酶 A 水平升高, SLG 和 CL 水平降低。给药后大鼠血清中 9-氢过氧十八烷-10, 12-二烯酰辅酶 A 水平降低, SLG 和 CL 水平升高。结合本实验丹参片干预后大鼠血浆中 Glu 水平降低的现象, 可知丹参极大可能通过提高心肌细胞中能量代谢来改善心脏功能。

微球栓塞血管后, 花生四烯酸在环氧合酶-2 的催化下可生成前列腺素 E₂ (PGE₂)^[28]。PGE₂ 广泛参与心血管系统稳定的维持和调节, 可与受体 EP₁ 和 EP₃ 结合发挥收缩血管的作用, 与受体 EP₂ 和 EP₄ 结合则可舒张血管^[29-32], 但 4 种受体的综合作用是使血管舒张^[33]。精氨酸在内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 催化下生成 NO 和瓜氨酸 (Cit)^[34], NO 生成减少^[35], eNOS 发生解耦联现象, 未耦联的 eNOS 可产生超氧阴离子导致血管内皮氧化应激, 加重心肌损伤^[36]。1-磷酸鞘氨醇 (S1P) 是鞘脂代谢中重要的信号分子, 通过与心脏中的 S1PR1、S1PR2、S1PR3 受体结合, 发挥促炎及血管收缩等功能^[37]。本研究发现, 丹参干预后, PGE₂、Cit、NO 水平升高, S1P 水平降低, 说明丹参可能通过调节精氨酸生物合成使血管舒张, 抑制 S1P 的生成来抑制炎症反应、舒张血管从而保护心肌。

综上所述, 丹参片通过调节花生四烯酸代谢、精氨酸生物合成、丙酮酸代谢、脂肪酸降解、甘油磷脂代谢和泛酸、辅酶 A 生物合成等通路来改善微球栓塞所致的冠脉微循环障碍, 改善心肌损伤, 本研究可为丹参片的临床合理应用提供实验依据。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献:

- Taqueti V R, Dicarli M F. Coronary microvascular disease pathogenic mechanisms and therapeutic options: JACC state-of-the-art review[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72 (21): 2625-2641.
- 张雯雯, 金领峰, 赵国梁, 等. 稳斑汤激活 Nrf2 信号通路减轻氧化应激缓解大鼠冠脉微循环障碍[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(23): 5271-5275.
- 孟宪亮. 益心通络胶囊治疗冠脉微循环病变 60 例临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16 (14): 2069-2071.
- 金领峰, 宫丽鸿, 邸静鑫. 基于网络药理学的“陈皮-半夏”药对治疗冠脉微循环障碍的作用机制研究[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(23): 1822-1829.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020; 77.
- Fang J, Little P J, Xu S W. Atheroprotective effects and molecular targets of tanshinones derived from herbal medicine Danshen[J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(1): 201-228.
- 杨荣来, 王凤荣. 丹参及其制剂治疗冠心病的药理及机制研究新进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11): 164-169.
- 张雨馨, 陈碧莹, 王丽明, 等. 代谢组学在中药作用机制研究中的应用[J]. 中南药学, 2023, 21(7): 1712-1719.
- 刘慧敏, 张 悅, 王佳艺, 等. 代谢组学前沿技术进展及在中药现代研究中的应用[J]. 中草药, 2024, 55 (3): 969-977.
- 汪文龙, 李 安, 陈兰英, 等. 交趾黄檀心材改善大鼠急性

- 心肌缺血的 UPLC-Q-TOF-MS 代谢组学研究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 1043-1053.
- [11] 陈兰英, 李安, 程林辉, 等. 染色剂、心脏切片制备方法及微血管灌注染色评价方法: 江西, CN115014908A[P]. 2022-09-06.
- [12] 单晓晓, 洪帮振, 刘洁, 等. 丹参化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21): 5496-5511.
- [13] Mei X D, Cao Y F, Che Y Y, et al. Danshen: a phytochemical and pharmacological overview[J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(1): 59-80.
- [14] 毛美玲, 谢丽钰, 罗文宽, 等. 丹参及其有效成分对心血管系统的药理机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(7): 120-124.
- [15] 马晓晶, 杨健, 马桂荣, 等. 中药丹参的现代化研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19): 5131-5139.
- [16] 程林辉, 陈兰英, 寿斌耀, 等. 基于网络药理学和实验验证交趾黄檀心材调控能量代谢治疗心肌缺血分子机制[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(24): 6696-6708.
- [17] Węgiel M, Wojtasik B J, Malinowski K, et al. Mid-regional pro-adrenomedullin and lactate dehydrogenase as predictors of left ventricular remodeling in patients with myocardial infarction treated with percutaneous coronary intervention[J]. *Pol Arch Intern Med*, 2022, 132(2): 16150.
- [18] 刘丽, 张学红, 陆彪, 等. 线粒体脂肪酸 β -氧化障碍的研究新进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(5): 4-7.
- [19] Lin T, Yang W Q, Luo W W, et al. Disturbance of fatty acid metabolism promoted vascular endothelial cell senescence via acetyl-CoA-induced protein acetylation modification[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 1198607.
- [20] Kalucka J, Bierhansl L, Conchinha N V, et al. Quiescent endothelial cells upregulate fatty acid β -oxidation for vasculoprotection via redox homeostasis[J]. *Cell Metab*, 2018, 28(6): 881-894. e13.
- [21] Armeni T, Cianfriglia L, Piva F, et al. S-D-Lactoylglutathione can be an alternative supply of mitochondrial glutathione[J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 67: 451-459.
- [22] Forman H J, Zhang H Q, Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis[J]. *Mol Aspects Med*, 2009, 30(1): 1-12.
- [23] Zhang H Q, Forman H J. Glutathione synthesis and its role in redox signaling[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23(7): 722-728.
- [24] 万超. 瑞替普酶联合还原型谷胱甘肽在 ST 段抬高急性心梗死治疗的临床应用疗效[J]. 心血管病防治知识, 2022, 12(36): 26-28.
- [25] Jiang Z T, Shen T, Huynh H L, et al. Cardiolipin regulates mitochondrial ultrastructure and function in mammalian cells[J]. *Genes (Basel)*, 2022, 13(10): 1889.
- [26] Gasanov S E, Kim A A, Yaguzhinsky L S, et al. Non-bilayer structures in mitochondrial membranes regulate ATP synthase activity[J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2018, 1860(2): 586-599.
- [27] Dudek J, Hartmann M, Rehling P. The role of mitochondrial cardiolipin in heart function and its implication in cardiac disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(4): 810-821.
- [28] 余娅, 王虹又, 易宗平, 等. 前列腺素 E₂ 及其受体对心脏的作用研究进展[J]. 安徽医学, 2016, 37(12): 1591-1594.
- [29] Yokoyama U, Iwatsubo K, Umemura M, et al. The prostanoid EP4 receptor and its signaling pathway[J]. *Pharmacol Rev*, 2013, 65(3): 1010-1052.
- [30] Chen L H, Miao Y F, Zhang Y H, et al. Inactivation of the E-prostanoid 3 receptor attenuates the angiotensin II pressor response via decreasing arterial contractility[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(12): 3024-3032.
- [31] Guan Y F, Zhang Y H, Wu J, et al. Antihypertensive effects of selective prostaglandin E2 receptor subtype 1 targeting[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(9): 2496-2505.
- [32] Cheng H, Huang H, Guo Z, et al. Role of prostaglandin E2 in tissue repair and regeneration[J]. *Theranostics*, 2021, 11(18): 8836-8854.
- [33] 陈书涛, 季爽, 郭美娜, 等. 前列腺素 E₂ 受体亚型 1 (EP1) 研究进展[J]. 生理学报, 2024, 76(1): 105-118.
- [34] 丁涵青, 张颖, 韦璐瑶, 等. 精氨酸及其代谢产物对缺血性脑卒中的作用[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(11): 2179-2183.
- [35] Heidorn M, Frodermann T, Böning A, et al. Citrulline improves early post-ischemic recovery of rat hearts *in vitro* by shifting arginine metabolism from polyamine to nitric oxide formation[J]. *Clin Med Insights Cardiol*, 2018, 12: 1179546818771908.
- [36] Janaszak-Jasiecka A, Płoska A, Wierofńska J M, et al. Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: molecular mechanisms as potential therapeutic targets[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28(1): 21.
- [37] Ouyang J, Shu Z H, Chen S H, et al. The role of sphingosine 1-phosphate and its receptors in cardiovascular diseases[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(18): 10290-10301.