红景天苷通过细胞外信号调节激酶/丝裂原活化蛋白激酶信号通路改善大鼠心肌缺血再灌注血管内皮损伤的机制

李瑞芳[1],牛燕运[2],贾 岩[1]

1.邯郸市中医院(河北中医学院附属医院)临床药学科,邯郸 056001;2.邯郸市中医院(河北中医学院附属医院)心血管内科,邯郸 056001

摘要:目的 基于细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)/丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)信号通路,探究红景天苷(salidroside,Sal)对心肌缺血再灌注(myocardial ischemia-reperfusion,MIR)大鼠血管内皮损伤的干预作用。**方法** 将50只大鼠采用随机数字表法分为假手术(Sham)组、模型(Model)组、Sal低剂量(low-dose salidroside,Sal-L)组、Sal高剂量(high-dose salidroside,Sal-H)组、Sal-H+PD98059[MAPK激酶1/2(MAPK kinase 1 and 2,MEK1/2)抑制剂]组,每组10只。除Sham组外,其余各组均采用在体冠状动脉结扎法构建MIR大鼠模型。冠状动脉活结结扎30 min后,分别对各组大鼠腹腔注射对应剂量的生理盐水、100 mg·kg^{-1} Sal、200 mg·kg^{-1} Sal、10 mg·kg^{-1} PD98059。采用2,3,5-氯化三苯基四氮唑染色(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining,TTC)法定量检测大鼠心肌梗死面积;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色观察心肌组织病理形态学特征;末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记法(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling,TUNEL)检测心肌细胞凋亡情况;酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)检测大鼠血清内皮素-1(endothelin-1,ET-1)、血栓素A2(thromboxane A2,TXA2)和前列环素(prostaglandin I2,PGI2)含量;蛋白印迹(Western blotting)法检测心肌细胞凋亡相关蛋白和ERK/MAPK信号通路相关蛋白的表达。**结果** 与Sham组比较,Model组大鼠出现心肌纤维断裂、心肌细胞形态异常、炎症细胞浸润明显等病理损伤表现,且心肌梗死面积、心肌细胞凋亡率、血清TXA2和ET-1含量、心肌组织cleaved caspase-3及Bax蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$),血清PGI2含量、心肌组织Bcl-2蛋白表达及p-Raf/Raf、p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK2磷酸化水平均显著降低($P<0.05$);与Model组比较,Sal-L组和Sal-H组大鼠的心肌病理损伤明显改善,心肌梗死面积减小,心肌细胞凋亡率、血清TXA2和ET-1含量、心肌组织cleaved caspase-3及Bax蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$),血清PGI2含量、心肌组织Bcl-2蛋白表达及p-Raf/Raf、p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK2磷酸化水平均显著升高($P<0.05$);而MEK1/2抑制剂PD98059可显著逆转Sal对MIR大鼠心肌损伤的防护效应($P<0.05$)。**结论** Sal可通过激活ERK/MAPK信号通路调控心肌细胞凋亡,进而改善由MIR引起的大鼠血管内皮损伤。

关键词:红景天苷;心肌缺血再灌注;细胞凋亡;细胞外信号调节激酶/丝裂原活化蛋白激酶信号通路;血管内皮损伤

DOI:10.3969/j.issn.1004-2407.2026.05.011

CSTR:32412.14.2026.05.011

中图分类号:R972 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-2407(2026)05-0078-09

Mechanism of salidroside in ameliorating vascular endothelial injury induced by myocardial ischemia-reperfusion *via* the extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase signaling pathway in rats

LI Ruifang[1], NIU Yanyun[2], JIA Yan[1]

1. Department of Clinical Pharmacy, Handan Traditional Chinese Medicine Hospital (The Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine), Handan 056001, China; 2. Department of Cardiovascular Medicine, Handan Traditional Chinese Medicine Hospital (The Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine), Handan 056001, China

Abstract: Objective To explore the intervention effect of salidroside (Sal) on vascular endothelial injury in rats with myocardial ischemia-reperfusion (MIR) and its relationship with the extracellular signal-regulated kinase (ERK)/mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway. **Methods** 50 rats were allocated into 5 groups: Sham group, model group, low-dose salidroside (Sal-L) group, high-dose salidroside (Sal-H) group, and Sal-H+PD98059 [MAPK kinase 1 and 2 (MEK1/2) inhibitor] group, with 10 rats in each group. MIR models were induced by coronary artery occlusion in all groups except the sham group. After 30 minutes of ischemia, the rats received intraperitoneal injections of saline, 100 mg·kg^{-1} Sal, 200 mg·kg^{-1} Sal, or 200 mg·kg^{-1} Sal combined with 10 mg·kg^{-1} PD98059, respectively. The myocardial infarction area was assessed by 2,3,5-triphenyltetrazolium

收稿日期:2025-03-06

基金项目:河北省卫生健康委员会科研项目(编号:20201384);邯郸市科学技术研究与发展计划项目(编号:23422083090ZC)

chloride（TTC）staining. Hematoxylin-eosin（HE）and terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling（TUNEL）staining were used to examine myocardial pathology and apoptosis，respectively. The serum levels of endothelin-1（ET-1），thromboxane A2（TXA2），and prostaglandin I2（PGI2）were measured by enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）. Western blotting analysis was performed to determine the protein expression levels of apoptosis-related factors and components of the ERK/MAPK pathway. **Results** Compared with the sham group，the model group exhibited ruptured myocardial fibers，deformed cardiomyocytes，and inflammatory cell infiltration. The myocardial infarction area，apoptosis rate，serum levels of TXA2 and ET-1，and myocardial protein expression of cleaved caspase-3 and B-cell lymphoma-2（Bcl-2）associated X protein（Bax）were significantly increased（$P<0.05$）. Conversely，the serum PGI2，myocardial Bcl-2，and the ratios of phosphorylated p-Raf/Raf，p-MEK1/2/MEK1/2，and p-ERK1/2/ERK1/2 were decreased（$P<0.05$）. Compared with the model group，Sal-L and Sal-H treatments attenuated myocardial damage，reduced the infarction area and apoptosis rate，decreased the serum levels of TXA2 and ET-1，and downregulated myocardial caspase-3 and Bax expression（$P<0.05$），while increasing the serum levels of PGI2 and myocardial Bcl-2，p-Raf/Raf，p-MEK1/2/MEK1/2，and p-ERK1/2/ERK1/2（$P<0.05$）. Co-treatment with PD98059 reversed the protective effects of Sal-H on MIR rats（$P<0.05$）. **Conclusion** Sal may regulate apoptosis by activating the ERK/MAPK signaling pathway，thereby alleviating endothelial damage induced by MIR.

Key words：salidroside；myocardial ischemia-reperfusion；cell apoptosis；extracellular signal-regulated kinase（ERK）/mitogen-activated protein kinase（MAPK）signaling pathway；vascular endothelial injury

心肌缺血再灌注（myocardial ischemia-reperfusion，MIR）损伤是心血管疾病在诊疗过程中亟待解决的难点问题，尤其在冠状动脉粥样硬化性心脏病、急性心肌梗死等疾病的介入治疗中尤为突出。再灌注治疗虽然能够恢复心肌血液供应，但会继发加重心肌细胞损伤和心脏功能障碍，影响疾病预后[1]。流行病学数据显示，全球每年有数百万人因MIR损伤导致的心脏不良事件而死亡[2]，因此，深入阐明MIR损伤的病理机制、探索高效的防治靶点与干预策略，已成为当前心血管领域的研究热点。在MIR损伤的病理进程中，血管内皮细胞损伤是启动并持续加重心肌损伤的关键环节。已有研究证实，血管内皮功能障碍会导致血管舒张收缩调节异常、血小板异常积聚、白细胞附着增多和炎症级联反应激活，进而影响心肌细胞存活和心脏整体功能[3-4]。红景天苷（salidroside，Sal）是红景天属植物中广泛存在的苯丙素类活性物质，具有抗炎、抗氧化、抗凋亡和心血管保护等多种药理学活性[5]。现有研究已证实Sal可有效缓解由MIR造成的心肌损伤[6]，但其具体分子机制尚未完全阐明。

细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase，ERK）是丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPK）超家族的核心成员，广泛参与细胞增殖、分化、凋亡等多种生物学过程的调控[6]。研究表明，生理状态下，血栓素A_2（thromboxane A_2，TXA_2）、内皮素-1（endothelin-1，ET-1）、前列环素（prostacyclin，PGI_2）等血管内皮损伤标志物可通过调控ERK/MAPK通路活性，维持血管正常功能，参与血小板聚集、血管收缩与舒张等生理过程的调节。而在动脉粥样硬化、血栓形成、MIR损伤等病理状态下，上述标志物的异常产生和释放可导致ERK/MAPK信号通路过度激活，进而诱发炎症反应、细胞异常增殖和迁移，加速心血管疾病的发生、发展[7]。基于此，本研究聚焦ERK/MAPK信号通路，探讨Sal对MIR大鼠血管内皮损伤的干预作用及潜在的分子机制。

1　仪器与材料

1.1　仪器

ChemiDoc型蛋白印迹（Western blotting）成像系统（美国Bio-Rad公司）；ECLIPSE型倒置式生物显微镜（日本Nikon公司）；S60型数字全景扫描仪（日本光子公司）；M200 PRO型多功能酶标仪（瑞士帝肯公司）。

1.2　试药

红景天苷（批号为PD98059，质量分数≥98%，上海源叶生物科技有限公司）；2，3，5-三苯基氯化四氮唑（2，3，5-triphenyltetrazolium chloride，TTC）染液（批号为S19037，北京索莱宝科技有限公司）；苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染液（批号为C0105-20230115）、末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记（terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling，TUNEL）染色试剂盒（批号为C1086-20221208，上海碧云天生物技术有限公司）；ET-1试剂盒（批号为H093-20230321）、TXA2（批号为H192-20230114）、PGI2（批号为H238-20230410），均购自南京建成生物工程研究所；兔抗cleaved caspase-3抗体（批号为GR3456712-5）、兔抗B细胞淋巴瘤蛋白-2（B-cell

lymphoma-2,Bcl-2)抗体(批号为GR3421098-3)、兔抗Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X protein,Bax)抗体(批号为GR3356721-8)、兔抗快速加速纤维肉瘤蛋白(rapidly accelerated fibrosarcoma,Raf)抗体(批号为GR3478123-1)、兔抗磷酸化Raf(phosphorylated Raf,p-Raf)抗体(批号为GR3582104-6)、兔抗MEK1/2抗体(批号为GR3610945-2)、兔抗p-MEK1/2抗体(批号为GR3526718-4)、兔抗ERK2抗体(批号为GR3689021-7)、兔抗p-ERK1/2抗体(批号为GR3745612-9)、兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH)抗体(批号为GR3319087-3),均购自英国Abcam公司。

1.3 实验动物

50只无特定病原体级雄性斯普拉格-杜勒大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,体质量为(200±20) g,动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0067。本实验经本院动物实验伦理委员会审核、批准。

2 方法

2.1 模型构建、分组与干预

将50只大鼠采用随机数字表法分为假手术(Sham)组、模型(Model)组、Sal低剂量(low-dose salidroside,Sal-L)组、Sal高剂量(high-dose salidroside,Sal-H)组、Sal-H+PD98059[MAPK激酶1/2(MAPK kinase 1 and 2,MEK1/2)抑制剂]组,每组10只。所有大鼠均适应性饲养1周,自由进食饮水。除Sham组外,其余各组参照文献[8]中的方法建立大鼠MIR模型:经大鼠左胸切口暴露第3、4肋间心脏组织,于左前降支冠状动脉起始处预置缝线打活结,结扎后可见左心室前壁苍白,提示心肌缺血模型构建成功。缺血0.5 h后,各组大鼠给予对应干预处理,随后解除结扎以恢复冠状动脉血流,建立再灌注损伤模型,逐层缝合胸腔。大鼠出现面部紧张、攀爬无力、嗅探减少和颤抖等行为表现,判定造模成功。Sham组只进行开胸穿线操作,不结扎冠状动脉。参照既往研究[9-10]设定给药剂量与方式:Sal-L组、Sal-H组大鼠缺血0.5 h后分别腹腔注射100、200 mg·kg^{-1} Sal;Sal-H+PD98059组大鼠给予200 mg·kg^{-1} Sal干预前,预先腹腔注射10 mg·kg^{-1} PD98059;Sham组和Model组均给予等体积生理盐水腹腔注射。

2.2 心肌梗死面积的检测

再灌注2 h后,各组随机选取5只大鼠,经颈静脉注入低温体积分数1% TTC溶液,避光孵育10 min。随后对大鼠进行安乐死并快速摘取心脏,将心肌组织样本均匀切成1 mm厚度的薄片,置于体积分数4%多聚甲醛溶液中4 ℃固定6 h。固定完成后对心肌切片拍照,采用ImageJ 1.8.0图像软件定量分析心肌梗死面积,并计算心肌梗死面积占比。心肌梗死面积占比(%)=(心肌白色梗死区域面积/心肌切片总面积)×100%。

2.3 心肌组织HE染色病理观察

再灌注2 h后,取各组剩余5只大鼠,经腹主动脉采血,4 ℃离心分离血清备用;快速安乐处死大鼠并摘取心脏组织,选取梗死周边心肌组织样本,部分样本置于-80 ℃超低温冰箱中保存备用,剩余样本经体积分数4%多聚甲醛固定、梯度脱水、石蜡包埋后,制成5 μm连续石蜡切片。切片经常规二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水、HE染色、透明、脱水处理后用中性树胶封片。采用光学显微镜观察各组心肌组织病理形态学变化并采集图像,分析心肌损伤程度。

2.4 血清内皮功能指标的检测

严格按照大鼠TXA2、ET-1、PGI2 ELISA试剂盒说明书步骤操作,对各组大鼠血清中三项内皮功能相关指标的含量进行定量检测与分析。

2.5 TUNEL染色检测心肌细胞凋亡

心肌石蜡切片经常规脱蜡水化、蛋白酶K处理、过氧化氢封闭处理后,用三羟甲基氨基甲烷缓冲液充分清洗。严格按照TUNEL试剂盒操作流程滴加反应液,DAPI染液复染细胞核,抗荧光淬灭剂封片。采用荧光显微镜采集各组心肌组织荧光图像,ImageJ 1.8.0图像软件统计分析心肌细胞凋亡率。

2.6 Western blotting检测目标蛋白表达

取-80 ℃保存的梗死周围心肌组织,低温充分研磨后提取总蛋白,经过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白样本,转移至聚偏二氟乙烯膜。室温条件下使用质量分数5%脱脂奶粉封闭2 h,封闭完成后洗涤膜片,加入cleaved caspase-3、Bcl-2、Bax、Raf、p-Raf、MEK1/2、p-MEK1/2、ERK2、p-ERK1/2一抗,4 ℃摇床孵育过夜。次日复温后洗涤膜片,加入对应二抗室温孵育2 h。增强化学发光法显影,凝胶成像系统采集蛋白条带图像,ImageJ 1.8.0图像软件检测各条带的灰度值,以GAPDH为内参,计算目的蛋白的相对表达量及蛋白磷酸化相对比值。

2.7 统计学方法

采用GraphPad Prism 8.0软件进行数据分析。所有计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示。多组间比较采用单因

素方差分析，组间两两比较采用 Tukey 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3　结果

3.1　Sal 对 MIR 大鼠心肌梗死面积的影响

与 Sham 组比较，Model 组大鼠的心肌梗死面积显著增大（$P<0.05$）；与 Model 组比较，Sal-L 组、Sal-H 组大鼠的心肌梗死面积均显著减小（$P<0.05$）；与 Sal-H 组比较，Sal-H＋PD98059 组大鼠的心肌梗死面积显著增大（$P<0.05$）。见图 1、表 1。

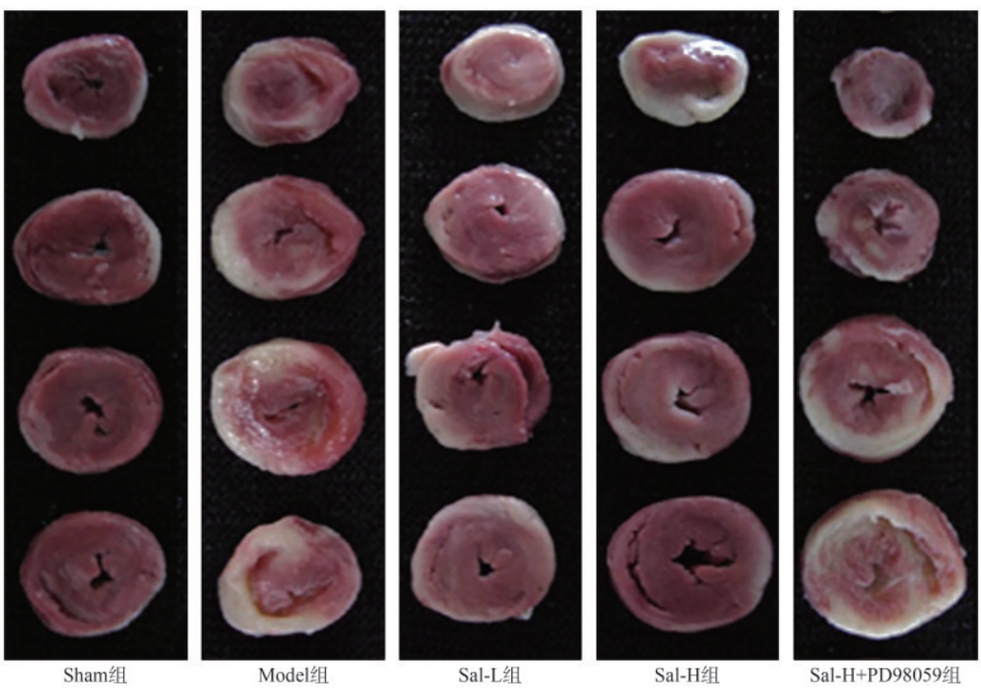


图 1　各组 MIR 大鼠心肌组织 TCC 染色情况

Fig. 1 TCC staining results of myocardial tissue of MIR rats in each group

表 1　各组 MIR 大鼠心肌梗死面积的比较（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Tab. 1 Comparison of myocardial infarction area of MIR rats in each group ($\bar{x}\pm s$, n=5)

组别	心肌梗死面积
Sham 组	0
Model 组	66.94%±4.49%[a]
Sal-L 组	37.75%±3.04%[b]
Sal-H 组	33.40%±1.84%[b]
Sal-H＋PD98059 组	52.42%±4.58%[c]

注：与 Sham 组比较，[a]$P<0.05$；与 Model 组比较，[b]$P<0.05$；与 Sal-H 组比较，[c]$P<0.05$。

3.2　Sal 对 MIR 大鼠心肌组织病理形态的影响

Sham 组大鼠的心肌组织纤维排列整齐有序，心肌细胞膜、细胞核结构完整，细胞质染色均匀，无明显病理损伤；Model 组大鼠的心肌纤维排列紊乱、多处断裂，部分心肌细胞核出现皱缩与变形，心肌间质可见大量炎症细胞浸润，病理损伤显著；Sal-L 组与 Sal-H 组大鼠的上述心肌病理损伤均得到明显改善；Sal-H＋PD98059 组大鼠的心肌损伤程度轻于 Model 组，但显著重于 Sal-L 组和 Sal-H 组。见图 2。

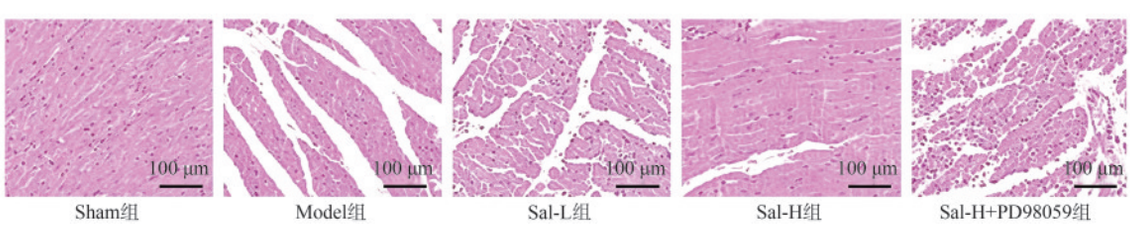


图 2　各组 MIR 大鼠心肌组织 HE 染色情况

Fig. 2 HE staining results of myocardial tissue of MIR rats in each group

3.3　Sal 对 MIR 大鼠血管内皮损伤相关因子的影响

与 Sham 组比较，Model 组大鼠的血清 TXA2、ET-1 含量均显著升高，PGI2 含量显著降低（$P<0.05$）；与 Model 组比较，Sal-L 组、Sal-H 组大鼠的血清 TXA2、ET-1 含量均显著降低，PGI2 含量均显著升高（$P<0.05$）；与 Sal-H 组比较，Sal-H＋PD98059

组大鼠的血清TXA2、ET-1含量均显著升高，PGI2含量显著降低（$P<0.05$）。见表2。

表2 各组MIR大鼠血清TXA2、ET-1和PGI2水平的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

Tab. 2 Comparison of the serum levels of TXA2, ET-1, and PGI2 in the MIR rats among the groups ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	TXA2/(ng·L^{-1})	ET-1/(ng·L^{-1})	PGI2/(ng·L^{-1})
Sham组	125.50±23.97	25.77±2.63	216.04±29.73
Model组	220.65±28.05[a]	88.21±5.93[a]	97.52±9.92[a]
Sal-L组	152.47±15.42[b]	52.43±2.35[b]	154.70±17.59[b]
Sal-H组	142.40±10.48[b]	36.73±2.90[b]	179.56±18.85[b]
Sal-H+PD98059组	180.34±12.88[c]	59.15±5.17[c]	139.30±8.58[c]

注：与Sham组比较，[a]$P<0.05$；与Model组比较，[b]$P<0.05$；与Sal-H组比较，[c]$P<0.05$。

3.4 Sal对MIR大鼠心肌细胞凋亡的影响

与Sham组比较，Model组大鼠的心肌组织细胞凋亡率显著升高（$P<0.05$）；与Model组比较，Sal-L组、Sal-H组大鼠的心肌组织细胞凋亡率均显著降低（$P<0.05$）；与Sal-H组比较，Sal-H+PD98059组大鼠的心肌组织细胞凋亡率显著升高（$P<0.05$）。见图3、表3。

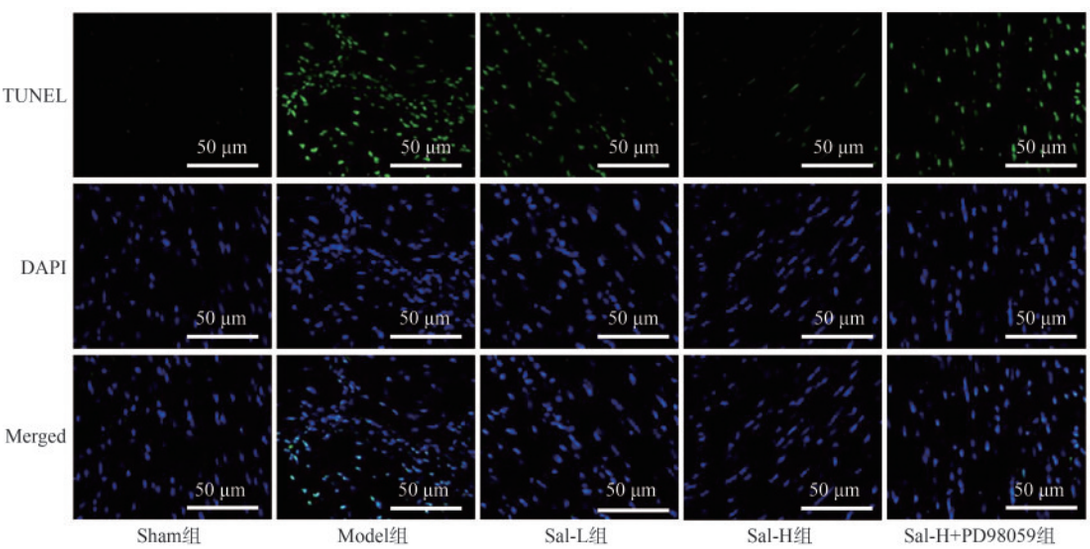


图3 TUNEL荧光染色检测各组MIR大鼠心肌组织细胞的凋亡情况

Fig. 3 TUNEL fluorescence staining detection of cardiomyocyte apoptosis in MIR rats in each group

表3 各组MIR大鼠心肌组织细胞凋亡率的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

Tab. 3 Comparison of cardiomyocyte apoptosis rate of MIR rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	细胞凋亡率
Sham组	5.32%±0.66%
Model组	56.57%±6.06%[a]
Sal-L组	27.46%±3.59%[b]
Sal-H组	20.22%±1.60%[b]
Sal-H+PD98059组	36.17%±4.71%[c]

注：与Sham组比较，[a]$P<0.05$；与Model组比较，[b]$P<0.05$；与Sal-H组比较，[c]$P<0.05$。

3.5 Sal对MIR大鼠心肌组织凋亡相关蛋白的影响

与Sham组比较，Model组大鼠的心肌组织cleaved caspase-3、Bax蛋白相对表达量均显著升高，Bcl-2蛋白相对表达量显著降低（$P<0.05$）；与Model组比较，Sal-L组、Sal-H组大鼠的心肌组织cleaved caspase-3、Bax蛋白相对表达量均显著降低，Bcl-2蛋白相对表达量均显著升高（$P<0.05$）；与Sal-H组比较，Sal-H+PD98059组大鼠的心肌组织cleaved caspase-3、Bax蛋白相对表达量均显著升高，Bcl-2蛋白相对表达量显著降低（$P<0.05$）。见图4、表4。

3.6 Sal对MIR大鼠心肌组织ERK/MAPK信号通路的影响

与Sham组比较，Model组大鼠的心肌组织p-Raf/Raf、p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK2磷酸化比值均显著降低（$P<0.05$）；与Model组比较，Sal-L组、Sal-H组大鼠的心肌组织上述通路蛋白磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$）；与Sal-H组比较，Sal-H+PD98059组大鼠的心肌组织上述通路蛋白磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）。见图5、表5。

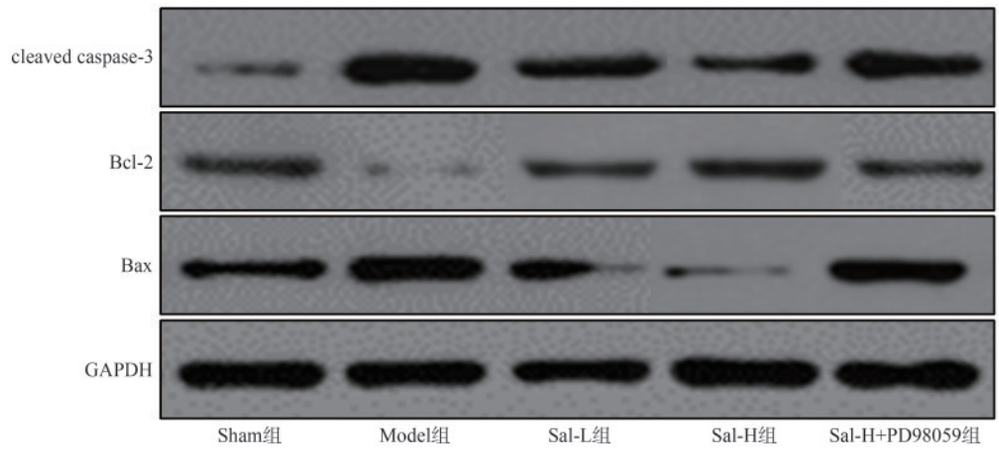


图 4　各组 MIR 大鼠心肌组织 cleaved caspase-3、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达电泳条带

Fig. 4 Protein expression electrophoretic bands of cleaved caspase-3, Bcl-2, and Bax in myocardial tissue of the MIR rats in each group

表 4　各组 MIR 大鼠心肌组织 cleaved caspase-3、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达水平的比较（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Tab. 4 Comparison of the expression levels of cleaved caspase-3, Bcl-2, and Bax protein in myocardial tissue of the MIR rats among the groups ($\bar{x}\pm s$, n=5)

组别	cleaved caspase-3	Bcl-2	Bax
Sham 组	0.18±0.02	0.56±0.05	0.52±0.03
Model 组	1.26±0.12[a]	0.12±0.01[a]	0.97±0.11[a]
Sal-L 组	0.82±0.04[b]	0.36±0.05[b]	0.39±0.01[b]
Sal-H 组	0.45±0.02[b]	0.58±0.07[b]	0.21±0.03[b]
Sal-H＋PD98059 组	1.07±0.13[c]	0.40±0.03[c]	0.76±0.08[c]

注：与 Sham 组比较，[a]P<0.05；与 Model 组比较，[b]P<0.05；与 Sal-H 组比较，[c]P<0.05。

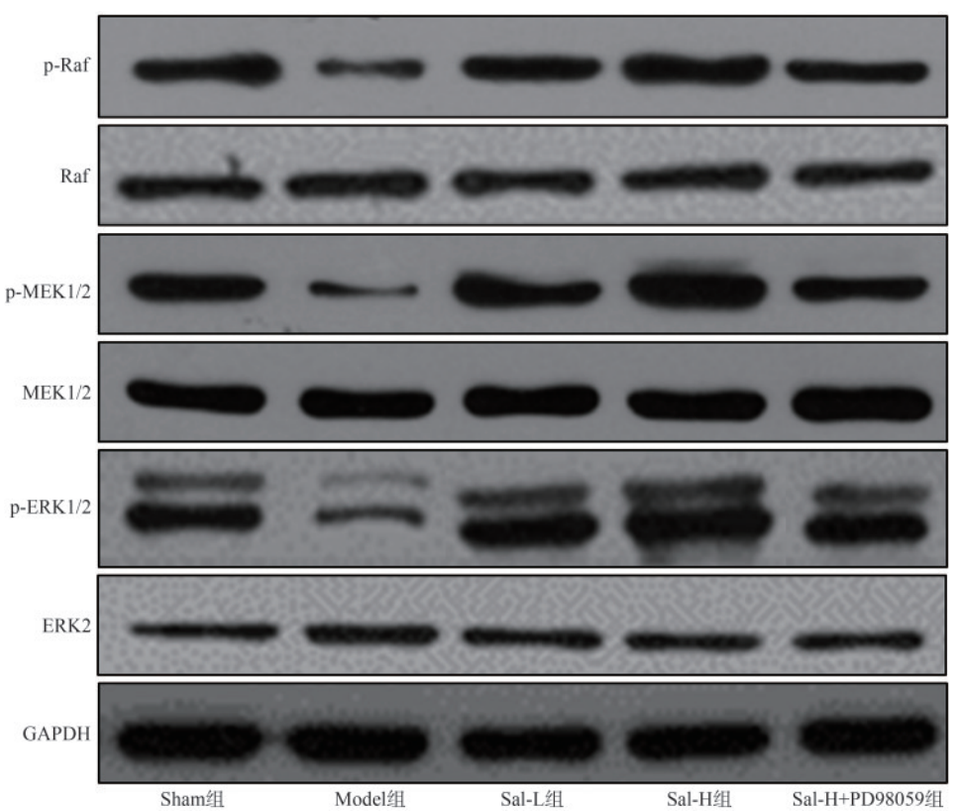


图 5　各组 MIR 大鼠心肌组织 p-Raf、Raf、p-MEK1/2、MEK1/2、p-ERK1/2、ERK2 蛋白表达电泳条带

Fig. 5 Protein expression electrophoretic bands of p-Raf, Raf, p-MEK1/2, MEK1/2, p-ERK1/2, and ERK2 in myocardial tissue of the MIR rats in each group

表5 各组MIR大鼠心肌组织p-Raf/Raf、p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK2蛋白表达水平的比较（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Tab. 5 Comparison of the expression levels of p-Raf/Raf, p-MEK1/2/MEK1/2, and p-ERK1/2/ERK2 protein in myocardial tissue in the MIR rats in each group ($\bar{x}\pm s$, n=5)

组别	p-Raf/Raf	p-MEK1/2/MEK1/2	p-ERK1/2/ERK2
Sham组	1.07±0.10	1.08±0.18	2.02±0.09
Model组	0.38±0.04[a]	0.14±0.02[a]	0.66±0.07[a]
Sal-L组	1.05±0.06[b]	0.87±0.07[b]	1.99±0.31[b]
Sal-H组	1.28±0.06[b]	1.32±0.14[b]	2.48±0.17[b]
Sal-H＋PD98059组	1.03±0.12[c]	0.77±0.05[c]	1.78±0.18[c]

注：与Sham组比较，[a]P<0.05；与Model组比较，[b]P<0.05；与Sal-H组比较，[c]P<0.05。

4 讨论

随着MIR损伤相关研究的不断深入，保持血管内皮结构完整和功能稳态，已成为心血管疾病防护领域的关键研究方向。冠状动脉内皮细胞作为隔绝血液与心肌组织的天然屏障，兼具抗凝、抗血栓、调控血管张力等重要生理功能，是维持心血管内环境稳定的关键结构。血管内皮损伤可诱发冠状动脉异常收缩、血管痉挛，进一步加重心肌缺血性损伤[11-12]。已有研究证实，心肌梗死后内皮功能障碍导致的血管收缩紊乱、炎症浸润和氧化应激反应，是加重MIR损伤进展的重要诱因[13]。因此，保护冠状动脉内皮细胞功能、修复内皮损伤，是预防MIR心肌损伤、改善心血管预后的重要干预靶点。

在传统中医理论中，红景天属药材归属于补益类药物，具有补益元气、强筋健骨、活血化瘀的功效，可通过调和机体气血、增强机体抗应激能力，发挥固本培元的作用，临床常用于改善气虚乏力、心悸失眠、筋骨软弱、跌打损伤等症候[14]。Sal作为红景天的核心活性成分，已被多项研究证实对MIR损伤具有显著的心肌保护作用。相关机制研究结果显示，Sal可通过抑制miR-671-5p相关通路活性，缓解由MIR诱导的心肌细胞损伤[15]。同时可激活Sirtuin 1信号通路，抑制氧化应激和炎症反应，保护血管内皮细胞完整性、改善血管内皮功能[16]。此外，Sal还可上调心肌组织血管内皮生长因子的表达，促进缺血区域血管新生，改善心肌血流灌注[17]。

为明确Sal改善MIR损伤的作用是否与血管内皮保护效应相关，本研究检测了血管内皮损伤相关标志物PGI2、TXA2及ET-1的血清表达水平。其中，ET-1是作用持久的强效内源性缩血管因子；PGI2由血管内皮细胞特异性合成与释放，可抑制血小板黏附与聚集、拮抗TXA2的缩血管作用，介导血管扩张，是维持血管稳态的核心保护因子[18]。PGI2表达降低可导致冠状动脉收缩、血小板聚集、血栓生成，加重心肌缺血缺氧损伤；而TXA2作为强效缩血管介质，可进一步加剧血管内皮损伤与血管痉挛[19-20]。本研究结果显示，MIR模型大鼠的血清ET-1、TXA2表达均显著升高，PGI2表达显著降低，表明MIR损伤可诱发血管内皮功能紊乱。经Sal干预后，大鼠的血清ET-1、TXA2表达均显著降低，PGI2表达显著升高，表明Sal可有效调节血管收缩和舒张因子平衡，改善MIR所致的血管内皮功能损伤。

ERK1/2是MAPK家族的关键亚型，可通过Raf-MEK-ERK级联信号通路调控下游靶基因表达，参与介导细胞存活、蛋白质合成等生物学过程[21]。同时，ERK1/2激活可上调Bcl-2等抗凋亡蛋白表达，增强细胞抗凋亡能力，抑制细胞凋亡过程[22]。既往研究表明，MAPK/ERK信号通路在MIR损伤中发挥关键心肌保护作用，可通过抑制心肌细胞凋亡减轻心肌损伤程度[23]。本研究结果显示，MIR模型大鼠存在明显心肌纤维断裂、结构改变、炎症浸润等病理损伤，心肌促凋亡蛋白cleaved caspase-3和Bax表达均显著升高，抗凋亡蛋白Bcl-2表达显著降低；Sal干预可显著逆转上述病理改变，心肌梗死面积减小，细胞凋亡率均显著降低，凋亡相关蛋白高表达，表明Sal可通过调节凋亡相关蛋白的表达，抑制心肌细胞凋亡，缓解MIR心肌损伤。同时，MIR模型大鼠的心肌组织p-Raf/Raf、p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK2磷酸化水平均显著降低，Sal干预可显著上调上述蛋白磷酸化水平；而MEK1/2抑制剂PD98059可有效逆转Sal的心肌与内皮保护作用。上述结果证实，Sal通过激活ERK/MAPK信号通路，缓解MIR导致的血管内皮损伤。该结果与丹酚酸B的既往研究结论一致[24]，即激活ERK/MAPK信号通路可上调抗凋亡蛋白Bcl-2、下调促凋亡蛋白cleaved caspase-3和Bax，抑制心肌细胞凋亡、改善MIR损伤，且该保护效应可被ERK1/2抑制剂PD98059抑制。

综上所述，Sal对MIR大鼠心肌及血管内皮损伤具有显著的保护作用，其机制可能与激活ERK/

MAPK信号通路、调节凋亡相关蛋白表达、改善血管内皮功能密切相关。但本研究仍存在一定局限性，仅聚焦单一信号通路开展机制研究，且样本量有限，尚未探究Sal对其他潜在调控信号通路的影响。后续可扩大样本量、多维度探究Sal抗MIR损伤的分子机制，为其临床应用于心肌缺血再灌注损伤的防治提供更为充分的实验依据与理论支撑。

参考文献：

[1] 唐灿，罗秀菊，彭军. 天然产物抗心肌缺血/再灌注损伤分子机制的研究进展[J]. 中南药学，2024，22(12)：3311-3317.
Tang Can，Luo Xiuju，Peng Jun. Research progress in the molecular mechanism of natural products against myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Central South Pharmacy，2024，22(12)：3311-3317.

[2] 王传池，吴珊，江丽杰，等. 1990—2020年我国冠心病中医证的流行病学调查研究概况[J]. 中国中医基础医学杂志，2020，26(12)：1883-1893.
Wang Chuanchi，Wu Shan，Jiang Lijie，et al. Research situation of traditional Chinese medicine clinical epidemiological investigation of coronary heart disease in China from 1990 to 2020[J]. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine，2020，26(12)：1883-1893.

[3] 郭文辉，于秋香，高培阳. 基于血管内皮细胞结构及功能探讨中医药改善心肌缺血再灌注损伤的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2022，20(1)：65-68.
Guo Wenhui，Yu Qiuxiang，Gao Peiyang. Based on the structure and function of vascular endothelial cells，this paper discusses the research progress of traditional Chinese medicine in improving myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine on Cardio-Cerebrovascular Disease，2022，20(1)：65-68.

[4] 尹安雯，沈玲红，何奔. 冠状动脉微血管内皮细胞功能紊乱机制的研究进展[J]. 中华心血管病杂志，2021，49(1)：90-95.
Yin Anwen，Shen Linghong，He Ben. Research progress on the mechanisms of coronary microvascular endothelial cell dysfunction[J]. Chinese Journal of Cardiology，2021，49(1)：90-95.

[5] 吕丽娜，姜丽红. 红景天苷对心血管系统药理作用研究进展[J]. 现代中药研究与实践，2021，35(5)：87-90.
Lü Lina，Jiang Lihong. Research progress on pharmacological effects of salidroside on cardiovascular system[J]. Research and Practice on Chinese Medicines，2021，35(5)：87-90.

[6] 王秋静，王泺璎，王苹，等. 红景天苷对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌的保护作用[J]. 中成药，2021，43(11)：3147-3151.
Wang Qiujing，Wang Luoying，Wang Ping，et al. Salidroside exerts protective effects on myocardium in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Chinese Traditional Patent Medicine，2021，43(11)：3147-3151.

[7] Guo Y J，Pan W W，Liu S B，et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis[J]. Exp Ther Med，2020，19(3)：1997-2007.

[8] 王婷婷，张健，张再媛，等. 柚皮苷抑制大鼠心肌缺血/再灌注损伤诱导的细胞焦亡[J]. 中国病理生理杂志，2021，37(6)：1019-1026.
Wang Tingting，Zhang Jian，Zhang Zaiyuan，et al. Naringin inhibits pyroptosis induced by myocardial ischemia/reperfusion injury in rats[J]. Chinese Journal of Pathophysiology，2021，37(6)：1019-1026.

[9] 李梦雪，刘琼，彭红星，等. 红景天苷通过NF-κB/Bcl-2信号通路对重症肺炎大鼠肺血管内皮细胞凋亡及IL-23、Th17表达的影响[J]. 陕西中医，2024，45(6)：745-750.
Li Mengxue，Liu Qiong，Peng Hongxing，et al. Effects of salidroside on apoptosis of pulmonary vascular endothelial cells and IL-23，Th17 in rats with severe pneumonia through NF-κB/Bcl-2 signaling pathway[J]. Shaanxi Journal of Traditional Chinese Medicine，2024，45(6)：745-750.

[10] Sun Y，Zhang H，Wu Z，et al. Quercitrin rapidly alleviated depression-like behaviors in lipopolysaccharide-treated mice：The involvement of PI3K/AKT/NF-κB signaling suppression and CREB/BDNF signaling restoration in the hippocampus[J]. ACS Chem Neurosci，2021，12(18)：3387-3396.

[11] 黄麓颖，李程玉. 血管内皮细胞生长因子受体1在心肌缺血/再灌注损伤中保护作用的研究进展[J]. 中国临床新医学，2022，15(3)：269-272.
Huang Luying，Li Chengyu. Research progress in the protective effect of vascular endothelial growth factor receptor 1 on cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. Chinese Journal of New Clinical Medicine，2022，15(3)：269-272.

[12] Cai C，Guo Z，Chang X，et al. Empagliflozin attenuates cardiac microvascular ischemia/reperfusion through activating the AMPKα1/ULK1/FUNDC1/mitophagy pathway[J]. Redox Biol，2022，52：102288.

[13] Yao L，He F，Zhao Q，et al. Spatial multiplexed protein profiling of cardiac ischemia-reperfusion injury[J]. Circ Res，2023，133(1)：86-103.

[14] 王亦舟，郁利霞，邹云娇，等. 红景天属药用植物品质评价及品质影响因素研究进展[J]. 中草药，2024，55(19)：6758-6767.
Wang Yizhou，Yu Lixia，Zou Yunjiao，et al. Research

progress on quality evaluation and quality influencing factors of medicinal plants from *Rhodiola*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2024,55(19):6758-6767.

[15] Yang Y, Liang F, Gao J, et al. Salidroside ameliorates ischemia/reperfusion-induced human cardiomyocyte injury by inhibiting the Circ_0097682/miR-671-5p/USP46 pathway[J]. Cardiovasc Toxicol,2023,23(11/12):406-418.

[16] Liu Q, Chen J, Zeng A, et al. Pharmacological functions of salidroside in renal diseases: Facts and perspectives[J]. Front Pharmacol,2023,14:1309598.

[17] 刘佳,武澎,陈彭生. 红景天苷对心肌梗死小鼠心脏功能的保护作用[J]. 国际心血管病杂志,2023,50(4):229-234,241.
Liu Jia, Wu Peng, Chen Pengsheng. Protective effect of salidroside on cardiac function in mice with myocardial infarction[J]. International Journal of Cardiovascular Disease,2023,50(4):229-234,241.

[18] 宋月月,刘佳丽,刘德坤,等. Piezo1在不同周龄ApoE$^{-/-}$小鼠中的表达水平及对血管内皮功能的作用[J]. 中国病理生理杂志,2023,39(1):74-87.
Song Yueyue, Liu Jiali, Liu Dekun, et al. Expression of Piezo1 in ApoE$^{-/-}$ mice of different ages and its effect on vascular endothelial function[J]. Chinese Journal of Pathophysiology,2023,39(1):74-87.

[19] 张璐,马学竹,黄烨. 二参颗粒对心肌缺血大鼠血清TXA2/PGI2的平衡及炎症细胞因子水平的影响[J]. 中国药师,2020,23(6):1077-1081.
Zhang Lu, Ma Xuezhu, Huang Ye. Effect of Ersheng Granules on the balance of TXA2/PGI2 and inflammatory cytokine levels in myocardial ischemia rats[J]. China Pharmacist,2020,23(6):1077-1081.

[20] 霍娉婷,张昕怡,翟鑫铎,等. 橙皮素对高脂血症大鼠的血管内皮保护作用[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(1):61-65.
Huo Pingting, Zhang Xinyi, Zhai Xinduo, et al. Protective effect of hesperetin on vascular endothelium in hyperlipidemia rats[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology,2023,39(1):61-65.

[21] Zeng J, Zhang L, Huang L, et al. MAZ promotes thyroid cancer progression by driving transcriptional reprogram and enhancing ERK1/2 activation[J]. Cancer Lett,2024,602:217201.

[22] Ansari M Y, Novak K, Haqqi T M. ERK1/2-mediated activation of DRP1 regulates mitochondrial dynamics and apoptosis in chondrocytes[J]. Osteoarthritis Cartilage,2022,30(2):315-328.

[23] Liu Z, Chen H, Song Y, et al. Inhibition of Sat1 alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury through regulation of ferroptosis *via* MAPK/ERK pathway[J]. Front Pharmacol,2024,15:1476718.

[24] Jiang Y, Cai Y, Han R, et al. Salvianolic acids and its potential for cardio-protection against myocardial ischemic reperfusion injury in diabetes[J]. Front Endocrinol,2024,14:1322474.