异荭草苷减轻Ang Ⅱ诱导高血压小鼠心肌损伤及细胞凋亡研究

余 维[1,2],林新标[1,2],曹 艺[1,2],谢 意[1,2],郭 智[1,2],吴美珠[1,2],沈阿灵[1,2],连大卫[1,2*]
(1.福建中医药大学中西医结合学院 中西医结合研究院,福建 福州 350122;
2.福建省中西医结合老年性疾病重点实验室,福建 福州 350122)

摘 要: 目的 探究异荭草苷对血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ)诱导的高血压小鼠心肌损伤和细胞凋亡的影响及作用机制。 方法 检索PharmMapper、STITCH和TargetNet数据库预测异荭草苷作用靶点。从GeneCards、OMIM、TTD数据库获得高血压病相关疾病靶点,采用Venny 2.1平台分析其交集靶点。将筛选获得的交集靶点通过STRING数据库构建并分析蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,筛选异荭草苷抗高血压作用的核心靶点,并进行基因本体论(GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。将36只雄性SPF级C57BL/6小鼠依据基线血压随机分为对照组、模型组、异荭草苷低剂量组(简称低剂量组)、异荭草苷中剂量组(简称中剂量组)、异荭草苷高剂量组(简称高剂量组)和缬沙坦组,每组6只。除对照组灌注等量生理盐水外,其余各组均通过微泵按500 ng/(kg·min)持续输注Ang Ⅱ建立高血压小鼠模型;低、中、高剂量组从术后第1天起分别按0.1、1、10 mg/(kg·d)给予异荭草苷药液灌胃,阳性药组按10 mg/(kg·d)给予缬沙坦药液灌胃,对照组和模型组均给予等体积的0.1 mL蒸馏水灌胃。Ang Ⅱ微泵渗透造模与药物灌胃干预同时进行,持续42 d。采用小动物超声仪评估心功能;HE染色观察心脏组织病理形态学改变;ELISA检测血清肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)、肌酸激酶(CK)及肌钙蛋白(cTn)含量;TUNEL染色观察心肌细胞凋亡情况;免疫组化检测心肌组织B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白(Bax)、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、磷酸化PI3K(p-PI3K)、蛋白激酶B(Akt)和磷酸化Akt(p-Akt)蛋白表达水平。 结果 网络药理学筛选得到高血压疾病靶点11 719个,异荭草苷潜在作用靶点274个,二者交集靶点99个;其中核心靶点为热休克蛋白90家族A类成员1(HSP90AA1)、抑癌基因P53(TP53)、沉默信息调节因子1(SIRT1)、蛋白激酶Bα(Akt1)、雌激素受体α(ESR1)、前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)等;GO富集分析结果涉及脂肪酸代谢过程、细胞内受体信号通路、凋亡信号通路的调控等;KEGG通路富集分析共获取127条通路,包括凋亡通路、PI3K/Akt信号通路等。HE染色结果显示:对照组心肌组织排列整齐,横纹清晰,胞质与胞核染色均匀;模型组心肌细胞排列紊乱,横纹结构不清;异荭草苷各给药组心肌组织病理性改变较模型组有所改善。TUNEL染色显示:对照组心肌细胞核形态规整,呈现均匀的深蓝色;模型组中可见凋亡小体分布于视野中;各给药组心肌细胞排列较模型组趋于规则。与对照组比较,模型组LVEF和LVFS均明显降低($P<0.05$);血清CK-MB、CK和cTn含量均明显升高($P<0.05$);心肌细胞凋亡率明显升高($P<0.05$);心脏组织Bax/Bcl-2明显升高($P<0.05$),p-PI3K/PI3K和p-Akt/Akt均明显降低($P<0.05$)。与模型组比较,低、中、高剂量组和缬沙坦组LVEF、LVFS均明显升高($P<0.05$);血清CK-MB、CK和cTn含量均明显降低($P<0.05$);心肌细胞凋亡率明显降低($P<0.05$);心脏组织Bax/Bcl-2均明显降低($P<0.05$),p-Akt/Akt和p-PI3K/PI3K均明显升高($P<0.05$)。 结论 异荭草苷可减轻Ang Ⅱ诱导的高血压小鼠心肌损伤与细胞凋亡,其作用可能与激活PI3K/Akt信号通路有关。

关键词: 高血压;心肌损伤;异荭草苷;细胞凋亡;PI3K/Akt信号通路

高血压是最常见的慢性心血管疾病之一,据统计,我国18岁以上居民高血压患病率达31.6%,患病人数约2.45亿[1]。长期血压升高可持续驱动心脏结构与功能重构,最终增加心力衰竭等不良结局风险[2]。临床降压治疗虽已形成较成熟的药物体系,但部分患者心肌损伤与细胞凋亡等病理过程并不随血压控制而同步逆转[3],高血压相关心肌保护仍存在未满足的临床需求。因此围绕心肌细胞凋亡这一关键环节开展机制研究与药物干预探索,具有重要意义。PI3K/Akt信号通路是调控细胞存活与凋亡的核心通路之一[4],该通路活性异常可导致促凋亡信号增强和抗凋亡保护减弱,从而推动心肌细胞凋亡并加重心肌组织损伤[5]。因而,以磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)和蛋白激酶B(Akt)信号轴为切入点阐明高血压心肌损伤的分子基础,并筛选具有调控该通路潜力的干预分子,有望为高血压心肌保护提供更具针对性的策略。

异荭草苷是一种天然黄酮碳苷类化合物,不仅可通过抑制小胶质细胞活化及神经炎症发挥神经保护效应[6],还表现出显著的抗炎镇痛活性[7],并可减轻脂多糖诱导的心肌细胞损伤[8],但其对血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ,Ang Ⅱ)诱导高血压状态下心肌损伤的保护作用及机制仍缺乏直接证据。基于此,本研究结合网络药理学与动物实验,系统挖掘异荭草苷治疗高血压的潜在作用靶点与关键

收稿日期: 2026-03-12;**接受日期:** 2026-04-23
基金项目: 福建省自然科学基金项目(2024J010032);福建省科技创新联合资金项目(2024Y9514);福建中医药大学校管课题(X2022001,X2022003)
通信作者: 连大卫,E-mail:675836257@qq.com
DOI: 10.13260/j.cnki.jfjtcm.2026.08009

信号通路，并在血管紧张素Ⅱ诱导的高血压小鼠模型中，从心功能、心肌损伤与心肌细胞凋亡等层面评价其心脏保护效应，重点围绕PI3K/Akt信号通路进行验证，从而阐明异荭草苷干预高血压心肌损伤的潜在机制，为其后续转化应用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物 SPF级健康雄性C57BL/6小鼠36只，体质量（21.7±0.8）g，购自上海斯莱克实验动物有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（沪）2022-0004，饲养于福建中医药大学实验动物中心，实验动物使用许可证号：SYXK（闽）2019-0007。饲养环境条件：温度（23±1）℃，相对湿度50%，12 h明暗交替循环，并允许小鼠自由摄取食物和饮水。本研究已通过福建中医药大学动物伦理委员会批准（审批号：FJTCMIACUC2025115）。

1.2 实验药物 异荭草苷（上海源叶生物科技有限公司，货号：B21528，质量分数为98%）溶于蒸馏水中，分别配制成浓度为0.1、1、10 mg/kg的异荭草苷溶液；缬沙坦（德国Merck公司，货号：137862-53-4）溶于蒸馏水中，配制成10 mg/kg的缬沙坦溶液。

1.3 实验试剂 Ang Ⅱ（英国Abcam公司，货号：ab120183）；肌酸激酶同工酶MB（CK-MB）检测试剂盒（货号：MM-43703M1）、肌酸激酶（CK）检测试剂盒（货号：MM-0734M1）、肌钙蛋白（cTn）检测试剂盒（货号：MM-0427M1）均购自江苏酶免实业有限公司；TUNEL试剂盒（上海碧云天生物技术股份有限公司，货号：C1098）；Akt抗体（货号：4691S）、磷酸化Akt（p-Akt）抗体（货号：4060S）、PI3K抗体（货号：41339）、磷酸化PI3K（p-PI3K）抗体（货号：65038）、B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白（Bax）抗体（货号：34260）均购自南京赛戈巍生物科技有限公司；B细胞淋巴瘤-2（Bcl-2）抗体（杭州华安生物技术有限公司，货号：ET1702-53）；伊红染色液（货号：G1100）、苏木素染色液（货号：G114）均购自北京索莱宝科技公司；即用型免疫组化UltraSensitive™ SP试剂盒（货号：KIT-9730）、DAB显色试剂盒（货号：DAB-0031/1031）均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.4 实验仪器 超高分辨率小动物超声仪（加拿大Visual Sonics公司，型号：Vevo 2100）；生物组织石蜡包埋机（湖北孝感亚光医用电子技术有限公司，型号：YB-7LF）；石蜡切片机（德国Leica公司，型号：BIOCUT）；荧光正置显微镜（日本Nikon公司，型号：Nikon ECLIPSE Ci-L）。

2 实验方法

2.1 网络药理学分析

2.1.1 药物活性成分及作用靶点筛选 以异荭草苷（Isoorientin）为关键词，在PubChem数据库（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）检索“Isoorientin”获取异荭草苷的SMILES号和异荭草苷的sdf文件（PubChem CID：114776），作为后续预测的配体结构基础。将SDF文件提交至PharmMapper（https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/submitfile.html）数据库，以“Human Protein Targets Only”为筛选条件，选取排名前200的靶点作为候选靶点，在STITCH数据库（http://stitch.embl.de/）和TargetNet数据库（http://targetnet.scbdd.com）中输入异荭草苷的PubChem CID或SMILES，限定物种为“Homo sapiens”，其中STITCH数据库筛选条件设定为：仅保留置信度评分（Confidence Score）≥0.15。取上述3个数据库预测结果的交集，剔除重复靶点，获得异荭草苷的靶点基因名。

2.1.2 高血压疾病相关靶点获取 在GeneCards（https://www.genecards.org/）、OMIM（https://omim.org/）、TTD（https://ttd.idrblab.cn/）数据库中，设置关键词为“hypertension”，物种为“Homo sapiens”，获取疾病靶点，随后对所得结果进行整合与去重，获得最终的疾病靶点。

2.1.3 异荭草苷治疗原发性高血压潜在靶点获取 通过Venny 2.1平台（https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/）对异荭草苷作用靶点与高血压相关靶点进行韦恩图分析，其交集被视作异荭草苷治疗高血压的潜在作用靶点。

2.1.4 蛋白互作网络图构建以及核心靶点筛选 将筛选获得的交集靶点导入STRING数据库（https://cn.string-db.org/），并将物种限定为“Homo sapiens”，以构建其蛋白质-蛋白质相互作用（PPI）网络。随后，将网络数据以TSV格式导出，并利用Cytoscape 3.8.0软件进行可视化。采用基于网络拓扑参数的评估方法筛选网络中的核心靶点，具体指标有：度中心性（Degree）、中介中心性（Betweenness）、特征向量中心性（Eigenvector）及网络中心性（Network）等。最终，将各项指标的中位数作为截断值，筛选获得核心靶点。

2.1.5 生物信息学分析 以人类（Homo sapiens）全基因组为背景，对交集靶点进行基因本体论（GO）功能注释和京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析。设定$P<0.05$为显著性阈值，筛选出显著富集的信号通路及基因本体[包括生物学过程（BP）、细胞组分（CC）和分子功能（MF）]，并利用微生信在线平台绘制气泡图对富集结果进行可视化。

2.2 动物实验

2.2.1 分组、造模和给药 将36只C57BL/6小鼠依据基线血压随机分为对照组、模型组、异荭草苷低剂量组（简称低剂量组）、异荭草苷中剂量组（简称

中剂量组）、异荭草苷高剂量组（简称高剂量组）和缬沙坦组。经 1.5% 异氟烷麻醉后，将已用生理盐水于 37 ℃平衡过夜的渗透微泵皮下植入小鼠体内。随后，除对照组灌注等量生理盐水外，其余各组均通过微泵以 500 ng/（kg·min）的速率持续给予 Ang Ⅱ，整个过程持续 42 d。低、中、高剂量组从术后第 1 天起分别按 0.1、1、10 mg/（kg·d）给予异荭草苷药液灌胃，阳性药组按 10 mg/（kg·d）给予缬沙坦药液灌胃，对照组和模型组均给予等体积的 0.1 mL 蒸馏水灌胃，Ang Ⅱ造模与药物干预同时进行[9]，连续灌胃给药 42 d。

2.2.2　小动物超声仪检测小鼠心脏功能　采用小动物超声仪评估心功能。小鼠给药 6 周后，使用异氟烷吸入麻醉，将小鼠背卧位固定于 37 ℃加热板，胸前区涂抹耦合剂。继而使用 30 MHz 高频探头获取标准左心室长轴切面图像，并据此计算左室射血分数（LVEF）和左室短轴缩短率（LVFS）作为心功能指标。

2.2.3　HE 染色观察心脏组织病理形态学变化　小鼠麻醉取材后，将心脏组织置于 4% 多聚甲醛中固定 48 h，随后依次进行脱水、石蜡包埋，并制备成 4 μm 厚的切片，进行烤片、烘片。切片经二甲苯溶液脱蜡 2 次，每次 20 min，以彻底去除石蜡。随后依次浸入梯度乙醇（100% Ⅰ、100% Ⅱ、95%、80%、70%）中进行水化，每级浸泡 5 min，最后以纯水浸洗 2 次，每次 5 min。最后进行伊红染色、苏木素染色，中性树胶封片。于光学显微镜下观察并随机选取 6 个视野采集图像，评估心肌组织病理学变化。

2.2.4　ELISA 检测血清 CK-MB、CK、CTn 含量　将小鼠全血样本常温中静置 2 h，4 ℃下 2 000 ×*g* 离心 20 min，收集血清。将 ELISA 试剂盒平衡至室温，严格按照说明书步骤，于微孔板中依次加入预先配制的标准品及待测样本，严格按照说明书步骤，使用酶标仪于 450 nm 波长下测定各孔吸光度值，根据标准曲线计算样本中 CK-MB、CK 和 cTn 含量。

2.2.5　TUNEL 染色检测心肌细胞凋亡情况　将心脏组织样本固定后进行石蜡包埋，制备切片；切片脱蜡后，依据试剂盒说明书步骤操作，用 DAB 显色，苏木素复染，最后在荧光显微镜下观察并采集图像，并计算细胞凋亡率。

2.2.6　免疫组化检测心脏组织 Bax、Bcl-2、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 蛋白表达水平　将心脏石蜡切片常规脱蜡，依次浸入二甲苯Ⅰ、Ⅱ及梯度乙醇（100%、100%、95%、80%、70%），后于纯水中浸泡 2 次（每次 5 min）。切片浸入抗原修复液，高压热修复煮沸 10 min，自然冷却至室温；组化笔画疏水圈，PBS 溶液冲洗 3 次，每次 5 min。滴加内源性过氧化物酶阻断剂（试剂 1），室温孵育 10 min，PBS 溶液冲洗；滴加非特异染色阻断剂（试剂 2），室温封闭 1 h，弃去封闭液，分别滴加一抗 Bax（1∶100）、Bcl-2（1∶1 000）、p-PI3K（1∶300）、PI3K（1∶200）、p-Akt（1∶100）、Akt（1∶300）抗体，4 ℃孵育过夜。次日，PBS 溶液洗涤，依次滴加生物素标记的 IgG 聚合物（试剂 3）反应 1 h，冲洗后滴加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶复合物（试剂 4）反应 1 h。冲洗后滴加新配制的 DAB 显色液，苏木素细胞核染色，自来水返蓝，最后用中性树胶封片。在正置光学显微镜下观察并采集图像，采用 ImageJ 软件分析统计阳性表达区域。

2.3　统计学方法　采用 SPSS 31.0 软件进行数据分析。计量资料符合正态分布以（$\bar{x}\pm s$）表示，若方差齐，则 2 组间比较采用 LSD-*t* 检验；若方差不齐，则采用 Games-Howell 检验。对于不符合正态分布或方差齐性的数据，采用非参数秩和检验进行分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3　结　果

3.1　网络药理学分析结果

3.1.1　异荭草苷治疗高血压潜在靶点筛选　高血压以“hypertension”为关键词，在 GeneCards、OMIM、TTD 数据库中进行检索，得到 11 719 个与原发性高血压相关的靶点预测，将检索结果合并去重，得到原发性高血压靶点数据库。异荭草苷以“Isoorientin”为关键词，在 STITCH、PharmMapper、TargetNet 数据库进行检索，得到 274 个潜在靶点。

3.1.2　异荭草苷和高血压交集靶点　利用 Venny 2.1 在线平台，将异荭草苷的潜在作用靶点和高血压的疾病靶点取交集，得到异荭草苷改善高血压病的靶点 99 个，通过韦恩图可视化处理见图 1。

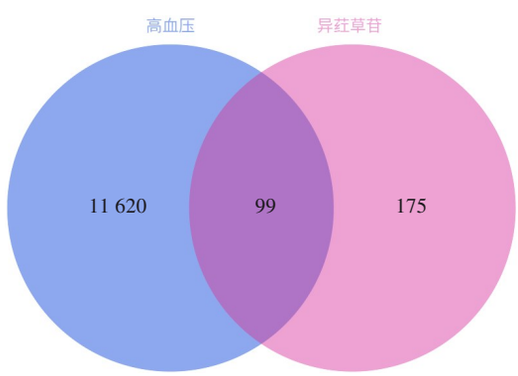
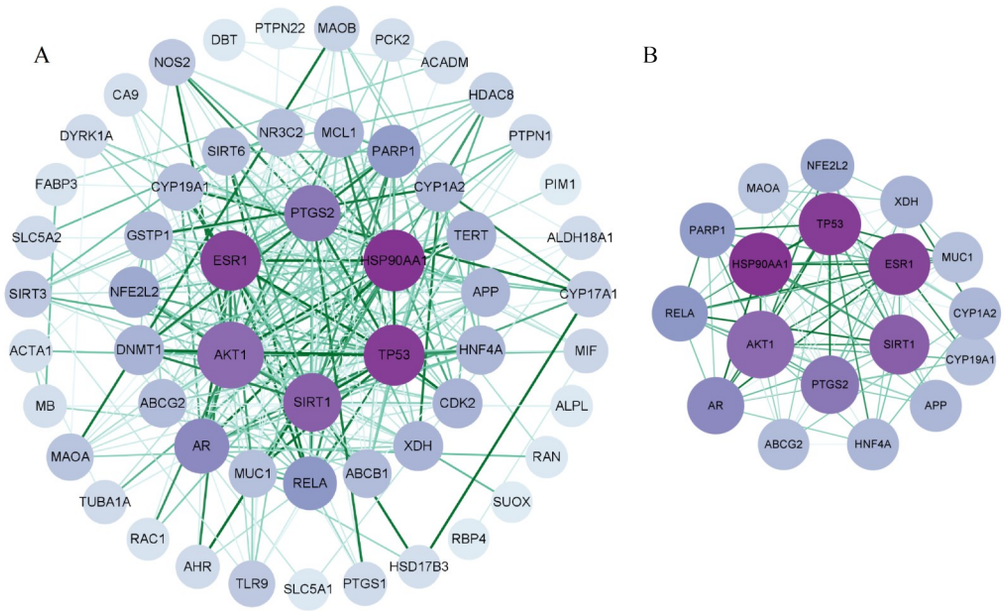


图 1　高血压疾病与异荭草苷作用靶点交集韦恩图

3.1.3　PPI 网络分析　通过 PPI 网络分析筛选异荭草苷治疗高血压的关键靶点，见图 2。结果显示，该网络包含 56 个节点和 296 条边。该网络核心靶点基因有热休克蛋白 90 家族 A 类成员 1（HSP90AA1）、抑癌基因 P53（TP53）、沉默信息调节因子 1（SIRT1）、蛋白激酶 Bα（Akt1）、雌激素受体 α（ESR1）、前列腺

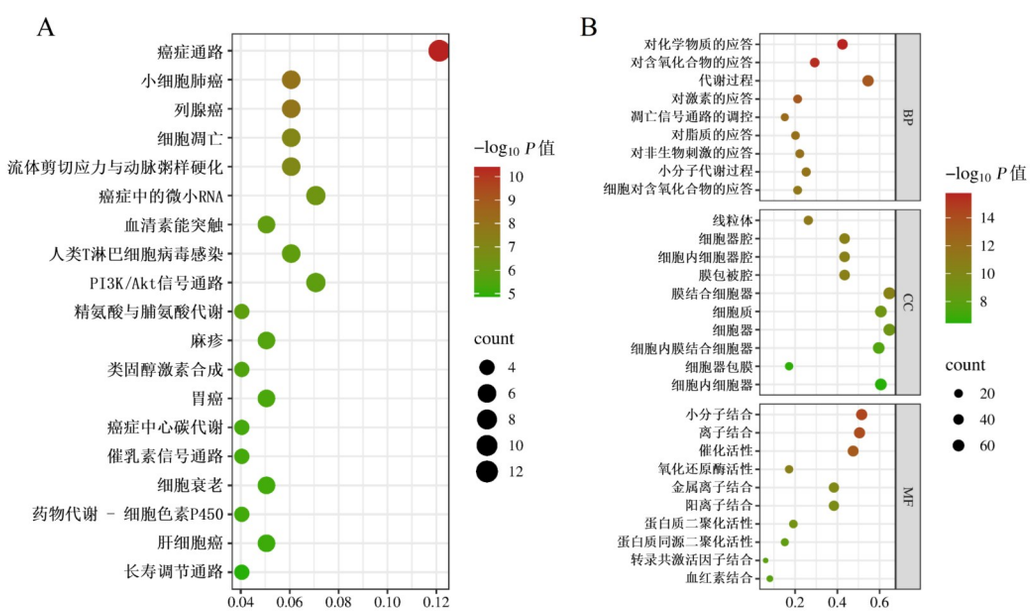
素内过氧化物合酶2(PTGS2)等。



注:A 异荭草苷治疗高血压潜在靶点的 PPI 网络;B 对应的核心靶点网络。图中各节点的大小与其 Degree 值成正比。

图2 异荭草苷治疗高血压交集靶点PPI网络分析图

3.1.4 KEGG通路富集分析和GO功能注释 KEGG通路分析共筛选出127条信号通路,其中核心靶点显著富集于凋亡、PI3K/Akt等关键通路。GO分析进一步显示,这些靶点可被注释到658个BP、38个CC以及105个MF条目。依照*P*值排序,选取各组前10条,共30条进行分析;GO富集分析结果提示核心靶点主要富集于脂肪酸代谢过程、细胞内受体信号通路、凋亡信号通路的调控等生物学过程。见图3。



注:A为KEGG通路富集结果气泡图;B为GO富集结果气泡图。

图3 KEGG通路富集分析和GO功能注释

3.2 动物实验结果

3.2.1 6组小鼠LVEF和LVFS比较 与对照组比较,模型组LVEF和LVFS均明显降低($P<0.05$);与模型组比较,低、中、高剂量组和缬沙坦组LVEF和LVFS均明显升高($P<0.05$)。见表1。

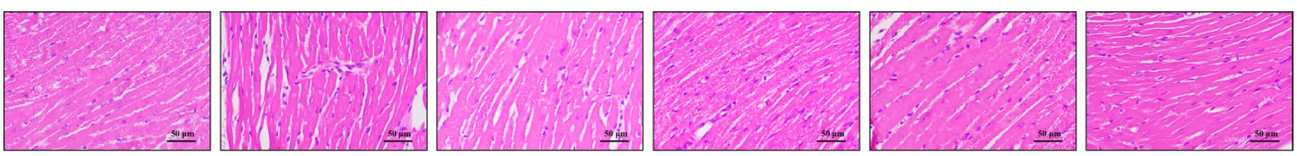
表 1　6 组 LVEF、LVFS 比较（$\bar{x}\pm s$）　%

组别	n	LVEF	LVFS
对照组	6	61.738±8.682	32.738±6.439
模型组	6	36.521±9.524[1)]	17.381±5.146[1)]
低剂量组	6	51.376±6.778[2)]	25.896±4.274[2)]
中剂量组	6	57.160±5.249[2)]	29.551±3.397[2)]
高剂量组	6	61.449±6.734[2)]	32.538±4.615[2)]
缬沙坦组	6	52.266±11.727[2)]	26.809±7.342[2)]

注：与对照组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

3.2.2　6 组心脏组织病理形态学比较　对照组心肌组织排列整齐，横纹清晰，胞质与胞核染色均匀；模型组心肌细胞排列紊乱，横纹结构不清；异荭草苷各给药组心肌组织病理性改变较模型组有所改善。见图 4。

3.2.3　6 组血清 CK-MB、CK 和 cTn 含量比较　与对照组比较，模型组血清 CK-MB、CK 和 cTn 含量均明显升高（$P<0.05$）；与模型组比较，低、中、高剂量组和缬沙坦组血清 CK-MB、CK 和 cTn 含量均明显降低（$P<0.05$）。见表 2。



对照组　模型组　低剂量组　中剂量组　高剂量组　缬沙坦组

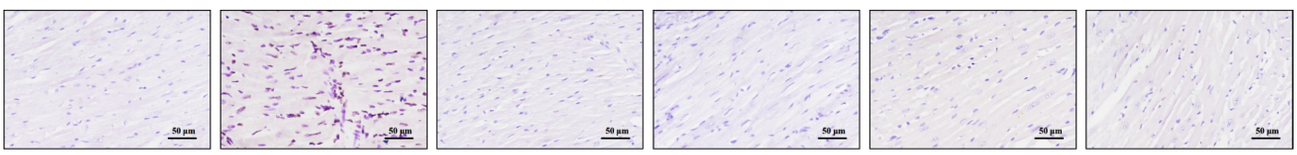
图 4　6 组心脏组织 HE 染色图（×400）

表 2　6 组血清 CK-MB、CK 和 cTn 含量比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	CK-MB/（ng/mL）	CK/（ng/mL）	cTn/（ng/L）
对照组	6	3.335±0.072	4.755±0.487	53.503±2.156
模型组	6	3.921±0.094[1)]	6.087±0.281[1)]	59.916±1.966[1)]
低剂量组	6	3.343±0.102[2)]	5.346±0.413[2)]	53.209±1.339[2)]
中剂量组	6	3.057±0.122[2)]	4.846±0.380[2)]	53.295±2.661[2)]
高剂量组	6	3.096±0.103[2)]	4.859±0.499[2)]	52.868±1.886[2)]
缬沙坦组	6	3.220±0.074[2)]	4.665±0.230[2)]	54.969±2.336[2)]

注：与对照组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

3.2.4　6 组心肌细胞凋亡情况比较　TUNEL 染色显示：对照组心肌细胞核形态规整，呈现均匀的深蓝色；模型组中可见凋亡小体（棕褐色颗粒浓染）分布于视野中；异荭草苷各给药组心肌细胞排列较模型组趋于规则。与对照组比较，模型组细胞凋亡率明显升高（$P<0.05$）；与模型组比较，低、中、高剂量组和缬沙坦组细胞凋亡率均明显降低（$P<0.05$）。见图 5 和表 3。



对照组　模型组　低剂量组　中剂量组　高剂量组　缬沙坦组

图 5　6 组心脏组织 TUNEL 染色图（×400）

表 3　6 组心肌细胞凋亡率比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	细胞凋亡率/%
对照组	6	2.394±1.028
模型组	6	16.956±5.805[1)]
低剂量组	6	3.562±0.855[2)]
中剂量组	6	2.297±0.462[2)]
高剂量组	6	2.088±0.430[2)]
缬沙坦组	6	2.125±0.437[2)]

注：与对照组比较，1）$P<0.05$；与模型组比较，2）$P<0.05$。

3.2.5　6 组心脏组织 Bax/Bcl-2、p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 比较　与对照组比较，模型组心脏组织 Bax/Bcl-2 明显升高（$P<0.05$），p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 均明显降低（$P<0.05$）；与模型组比较，低、中、高剂量组及缬沙坦组心脏组织 Bax/Bcl-2 均明显降低（$P<0.05$），p-Akt/Akt 和 p-PI3K/PI3K 均明显升高（$P<0.05$）。见图 6 和表 4。

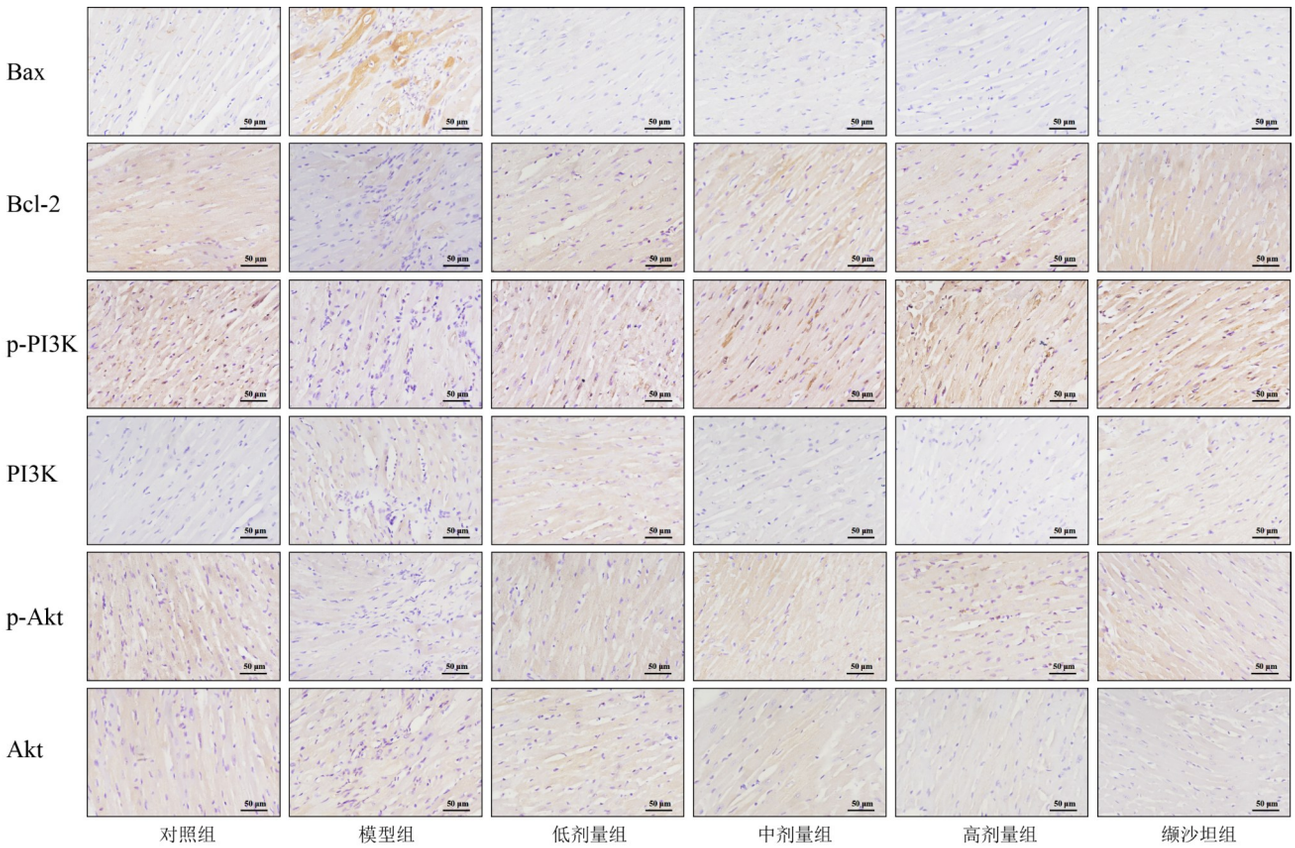


图6 6组心脏组织Bax、Bcl-2、p-PI3K、PI3K、p-Akt和Akt免疫组化图(×400)

表4 6组心脏组织Bax/Bcl-2、p-PI3K/PI3K和p-Akt/Akt比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Bax/Bcl-2	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt
对照组	6	0.508±0.104	1.908±0.347	1.823±0.130
模型组	6	2.005±0.331[1)]	0.759±0.102[1)]	0.547±0.069[1)]
低剂量组	6	0.548±0.131[2)]	2.033±0.320[2)]	1.544±0.112[2)]
中剂量组	6	0.517±0.056[2)]	1.809±0.197[2)]	1.657±0.086[2)]
高剂量组	6	0.495±0.168[2)]	2.075±0.423[2)]	1.795±0.425[2)]
缬沙坦组	6	0.443±0.071[2)]	2.054±0.291[2)]	1.683±0.123[2)]

注:与对照组比较,1)$P<0.05$;与模型组比较,2)$P<0.05$。

4 讨 论

高血压相关心肌损伤是导致心力衰竭及不良心血管事件的重要基础[10]。Ang Ⅱ不仅可通过升高血压增加心脏负荷,还可直接诱导心肌细胞损伤与细胞凋亡[11],加重心脏结构和功能异常[12]。因此,寻找能够减轻高血压状态下心肌损伤的干预手段具有重要意义。本研究结果显示,Ang Ⅱ持续输注后,小鼠LVEF、LVFS明显下降,心肌组织排列紊乱,血清CK、CK-MB和cTn水平升高,提示模型小鼠已出现较明显的心肌损伤。经异荭草苷和缬沙坦干预后,上述指标均得到不同程度改善,表明其对Ang Ⅱ诱导的高血压心肌损伤具有较好的保护作用。值得注意的是,异荭草苷在心功能、病理形态及血清学损伤指标等多个层面均呈现一致性改善,提示其心肌保护作用较为稳定。

心肌细胞凋亡是高血压性心脏损伤的重要病理环节之一[13]。持续Ang Ⅱ刺激可激活促凋亡信号[14],导致心肌细胞丢失并进一步损害心功能[15]。Bax与Bcl-2分别为促凋亡和抗凋亡蛋白,二者平衡失调是线粒体途径凋亡的重要特征。本研究结果显示,模型组细胞凋亡率明显升高,Bax/Bcl-2比值升高,提示心肌细胞凋亡增强;经异荭草苷干预后,细胞凋亡率明显下降,Bax/Bcl-2比值降低,说明异荭草苷可抑制Ang Ⅱ诱导的心肌细胞凋亡。

为进一步探索异荭草苷的作用机制,本研究结合网络药理学进行了前期预测。结果显示,异荭草苷治疗高血压的潜在靶点与细胞凋亡调控、PI3K/Akt等信号通路密切相关,提示其作用可能具有多靶点、多通路特征。其中PI3K/Akt信号通路是经典的细胞存活信号通路[16],在心肌应激损伤中具有重要的抗凋亡和细胞保护作用。PI3K被激活后可进一步促进Akt磷酸化[17],活化后的Akt可

调控多种下游效应分子[18]，抑制促凋亡信号、增强细胞存活能力[19]，从而减轻心肌损伤。已有研究表明，PI3K/Akt 通路活性下降与高血压[20]、缺血再灌注损伤及心力衰竭[21]等多种心脏病理状态密切相关，其适度激活有助于缓解心肌细胞凋亡和改善心功能[22]。结合前述实验中凋亡水平下降的结果，推测异荭草苷可能通过增强心肌细胞存活信号、抑制凋亡进程而改善心肌损伤，并且 PI3K/Akt 信号通路可能是异荭草苷发挥心肌保护作用的重要通路。

在此基础上，本研究针对 PI3K/Akt 信号通路进行了体内验证。研究结果显示，模型组心肌组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 较对照组明显降低，提示高血压小鼠模型心脏组织 PI3K/Akt 信号通路活性受抑；经异荭草苷干预后，上述指标明显回升。这一变化与细胞凋亡率降低及 Bax/Bcl-2 比值下降具有一致性，说明在异荭草苷干预后，PI3K/Akt 信号增强与凋亡水平下降同步出现，提示二者之间存在较紧密的关联。结合已有理论推测，异荭草苷可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路，提高心肌细胞的生存信号传导，抑制 Ang Ⅱ诱导的促凋亡程序，进而减轻心肌损伤并改善心功能。

综上，异荭草苷可改善 Ang Ⅱ诱导的高血压小鼠心功能与心肌损伤，降低心肌细胞凋亡水平。网络药理学提示其可能与 PI3K/Akt 通路相关，体内实验进一步显示异荭草苷可提高心肌组织 p-PI3K/PI3K 与 p-Akt/Akt 水平，提示其心肌保护作用可能与恢复 PI3K/Akt 通路活性、抑制细胞凋亡有关。然而本研究仍存在一定局限：① 本研究对通路的验证主要来自组织水平的表达观察，尚未通过通路阻断实验明确 PI3K/Akt 在异荭草苷心肌保护效应中的关键地位；② 研究以心肌损伤与细胞凋亡为主要终点，尚未系统评估血压变化及心肌肥厚、纤维化等长期结构性重构指标，因此异荭草苷的整体心脏保护谱仍需进一步完善；③ 本研究目前主要采用免疫组化进行通路验证，后续可结合 Western blot、免疫荧光及体外心肌细胞模型，从蛋白定量和细胞机制层面进一步增强证据强度。最后，异荭草苷作为天然黄酮类成分，其是否还可通过抗氧化应激、抗炎等途径协同参与心肌保护，也值得在后续研究中深入探讨。

参考文献

[1] 国家心血管病中心，中国心血管健康与疾病报告编写组．中国心血管健康与疾病报告 2024 概要[J]．中国循环杂志，2025，40(6)：521-559.

[2] CHEN J Y，ZHANG Y J，WANG Y C，et al. Potential mechanisms of Guizhi decoction against hypertension based on network pharmacology and Dahl salt-sensitive rat model [J]. Chin Med，2021，16(1)：34.

[3] DRAZNER M H. The progression of hypertensive heart disease [J]. Circulation，2011，123(3)：327-334.

[4] LI Z H，CHENG L，WEN C，et al. Activation of CNR1/PI3K/AKT pathway by tanshinone Ⅱ A protects hippocampal neurons and ameliorates sleep deprivation-induced cognitive dysfunction in rats [J]. Front Pharmacol，2022，13：823732.

[5] XU R Y，ZHANG Y C，LI A M，et al. LY-294002 enhances the chemosensitivity of liver cancer to oxaliplatin by blocking the PI3K/AKT/HIF-1α pathway [J]. Mol Med Rep，2021，24(1)：508.

[6] 赵一静，李银桂，赵忠正，等．异荭草苷调节小胶质细胞活化抑制内毒素血症小鼠神经炎症的研究[J]．中药新药与临床药理，2021，32(10)：1452-1458.

[7] SUN Y W，CHEN Z，YANG J Y，et al. Pathway-specific enzymes from bamboo and crop leaves biosynthesize anti-nociceptive C-glycosylated flavones [J]. Commun Biol，2020，3(1)：110.

[8] 江尚霞，何许伟．异荭草素调节 HMGB1-RAGE 信号通路对脂多糖诱导的心肌细胞损伤的影响[J]．中国医科大学学报，2025，54(8)：727-732.

[9] 李洋，张艳，闫承慧，等．血管紧张素Ⅱ诱导的小鼠高血压血管重塑模型的建立[J]．中华高血压杂志，2016，24(5)：428-434.

[10] PARKER M，SELF-BROWN S R，RAHIMI A，et al. Longitudinal analysis of the relationship between social isolation and hypertension in early middle adulthood [J]. J Am Heart Assoc，2024，13(9)：e030403.

[11] BARTOSZEWSKA E，CHRAPKOWSKA A，ZIELIŃSKA O，et al. Atrial septal defects：from embryology to pediatric pulmonary hypertension [J]. J Clin Med，2025，14(21)：7698.

[12] GUNES H，SOKMEN A，KAYA H，et al. Evaluation of atrial electromechanical delay to predict atrial fibrillation in hemodialysis patients [J]. Medicina (Kaunas)，2018，54(4)：58.

[13] HO J H，BASKARAN R，WANG M F，et al. Bioactive peptides and exercise modulate the AMPK/SIRT1/PGC-1α/FOXO3 pathway as a therapeutic approach for hypertensive rats [J]. Pharmaceuticals (Basel)，2022，15(7)：819.

[14] RAN Q，CHEN X L，ZHANG C，et al. Pinocembrin decreases atrial fibrillation susceptibility in a rodent model of depression [J]. Front Cardiovasc Med，2022，9：766477.

[15] LIU Y N，WU S，ZHAO Q，et al. Trehalose ameliorates diabetic cardiomyopathy：role of the PK2/PKR pathway [J]. Oxid Med Cell Longev，2021，2021：6779559.

[16] LI J Y，CAO H，ZHOU X C，et al. Advances in the study of traditional Chinese medicine affecting bone metabolism through modulation of oxidative stress [J]. Front Pharmacol，2023，14：1235854.

[17] MANNING B D，TOKER A. AKT/PKB signaling：navigating the network [J]. Cell，2017，169(3)：381-405.

[18] SUSSMAN M A，VÖLKERS M，FISCHER K，et al. Myocardial AKT：the omnipresent nexus [J]. Physiol Rev，2011，91(3)：1023-1070.

[19] KANG K A，WANG Z H，ZHANG R，et al. Myricetin protects cells against oxidative stress-induced apoptosis via regulation of PI3K/Akt and MAPK signaling pathways [J]. Int J Mol Sci，2010，11(11)：4348-4360.

[20] GAO H L，YU X J，FENG Y Q，et al. Luteolin attenuates hypertension via inhibiting NF-κB-mediated inflammation and PI3K/Akt signaling pathway in the hypothalamic paraventricular nucleus [J]. Nutrients，2023，15(3)：502.

[21] DAI B B，LI H P，FAN J H，et al. miR-21 protected against diabetic cardiomyopathy induced diastolic dysfunction by targeting gelsolin [J]. Cardiovasc Diabetol，2018，17(1)：123.

[22] LIN X Y，LIU W Q，CHU Y，et al. Activation of AHR by ITE improves cardiac remodelling and function in rats after myocardial infarction [J]. ESC Heart Fail，2023，10(6)：3622-3636.