

# 丹皮酚对急性心肌梗死模型大鼠心肌病理改变及 TGF- $\beta_1$ , Collagen III 表达的影响

时召平<sup>1</sup>, 周晓慧<sup>2</sup>, 徐倩<sup>2</sup>, 赵静怡<sup>1</sup>, 曹凯<sup>2\*</sup>

(1. 河北省中药研究与开发重点实验室, 河北承德 067000, 2. 承德医学院, 河北承德 067000)

**[摘要]** 目的:探讨丹皮酚(paeonol, Pae)对急性心肌梗死模型大鼠心肌病理改变及转化生长因子- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), 胶原蛋白 III (Collagen III) 表达的影响。方法:SPF 级雄性 SD 大鼠, 采用左冠状前降支(LAD)结扎法制作在体大鼠急性心肌梗死模型, 记录结扎前及结扎后 10, 20, 40, 60, 120 min, 24 h 心电图变化, 测量各个时点 ST 段的偏移幅度并进行统计学分析, 将造模成功后的大鼠随机分为模型组、丹皮酚低、中、高剂量组、卡托普利组; 另有只穿线不结扎的假手术组, 共 6 组, 丹皮酚低、中、高剂量组分别给予 ip 8.0, 12.0, 16.0 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量的丹皮酚注射液, 假手术组与模型组每天 ip 等体积生理盐水, 卡托普利组用蒸馏水稀释其片剂碾成的药粉, 给予 ig 10.0 mg·kg<sup>-1</sup>, 所有干预均 1 次/d; 28 d 后取材, HE 染色观察心肌组织病理生理学改变情况, 采用免疫组织化学法检测左室梗死区 TGF- $\beta_1$  和 Collagen III 蛋白的表达。结果:HE 染色结果显示:与假手术组比较, 模型组大鼠左室病理生理学改变显著, 梗死灶边缘部分心肌细胞发生肥大、伸长, 左心室壁部分心肌凝固性坏死, 凋亡细胞胞核固缩、胞质伊红深染, 另有部分组织发生疏松水肿, 与模型组比较, 各治疗组大鼠心肌细胞病理改变均不同程度减轻; 免疫组织化学染色结果显示:模型组与假手术组比较, TGF- $\beta_1$  及 collagen III 蛋白的表达明显增多 ( $P < 0.01$ ); 治疗组各组及卡托普利组与模型组比较, TGF- $\beta_1$  及 collagen III 蛋白表达均降低 ( $P < 0.01, P < 0.05$ )。结论:丹皮酚可降低心肌梗死大鼠心肌的病变程度, 改善心室重构及心功能, 其作用机制可能是通过降低心肌组织中 TGF- $\beta_1$  及 collagen III 的表达来实现的。

**[关键词]** 丹皮酚; 心肌梗死; 转化生长因子- $\beta_1$ ; 胶原蛋白 III

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)24-0098-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015240098

## Effect of Paeonol on Myocardial Pathological Changes and TGF- $\beta_1$ , Collagen III Expression in Rat Models

with Acute Myocardial Infarction SHI Zhao-ping<sup>1</sup>, ZHOU Xiao-hui<sup>2</sup>, XU Qian<sup>2</sup>, ZHAO Jing-yi<sup>1</sup>, CAO Kai<sup>2\*</sup>

(1. Key Laboratory of Study and Exploiture for New Drugs of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengde 067000, China; 2. Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects of paeonol on myocardial pathological changes and expression of transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) and Collagen III in rat models with acute myocardial infarction. **Method:** The left anterior descending coronary branch (LAD) ligation was used to produce *in vivo* acute myocardial infarction models in SPF male SD rats. Electrocardiogram changes were recorded before ligation, 10, 20, 40, 60, 120 minutes and 24 hours after ligation, the deviation of ST-segment was measured and analyzed and the successfully modeled rats were randomly divided into the model group, low-, medium-and high-dose paeonol groups, captopril control group, and threaded but not ligated sham group. Low-, medium-and high-dose paeonol groups received ip injection of paeonol at 8.0, 12.0, 16.0 mg·kg<sup>-1</sup> respectively. Sham group and model group received ip injection of the same volume of saline daily. In captopril group, distilled water was used to dilute the crushed powder of captopril tablet and ig applied at 10.0 mg·kg<sup>-1</sup>. All interventions were done once a day, samples were collected after 28 d, and the pathophysiology changes of myocardial tissues were observed by HE staining, and TGF- $\beta_1$  and Collagen III protein expression were detected by immunohistochemical assay. **Result:**

**[收稿日期]** 20141215(007)

**[基金项目]** 河北省自然科学基金项目(C2011406009); 河北省教育厅科学研究重点项目(ZD20131068)

**[第一作者]** 时召平, 硕士, 从事心血管药理学科研研究, Tel:13623246881, E-mail:13623246881@163.com

**[通讯作者]** \*曹凯, 硕士, 教授, 从事生物化学教学与科研研究, Tel:0314-2290999, E-mail:caokai58@163.com

HE staining results showed that compared with the sham group, pathophysiological changes were significant in left ventricle of the model group, with cardiac hypertrophy and elongation in edge part of infarct lesions, and part coagulation necrosis in left ventricular wall, nucleus pycnosis of apoptotic cell, anachromasis for cytoplasmic eosin, and part tissues had loose edema. Compared with model group, pathological changes in rats myocardial cells were relieved to certain extents in various treatment groups. Immunohistochemical staining results showed that compared with the sham group, TGF- $\beta_1$  and Collagen III protein expression levels were significantly higher in the model group ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, TGF- $\beta_1$  and Collagen III protein expression levels were decreased in all dose paeonol and captopril groups ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Paeonol could reduce the myocardial lesion extent in rats with myocardial infarction, improve ventricular remodeling and cardiac function, and its mechanism maybe related to the decrease of the levels of TGF- $\beta_1$  and Collagen III.

**[Key words]** paeonol; myocardial infarction; transforming growth factor- $\beta_1$ ; collagen III

随着人们生活和饮食习惯的改变,冠心病的风险指数越来越高,由此引发心肌梗死的发病率逐年升高,目前已成为严重威胁人类健康,病死率居首位的疾病之一。急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)后,心室发生进行性扩张和外型改变,称为梗死后的“心室重构”。丹皮酚(paeonol, Pae)又称牡丹酚,是毛茛科植物牡丹根皮和萝科植物徐长卿干燥根或全草的主要活性成分<sup>[1]</sup>,丹皮酚具有镇静催眠、解热镇痛、抗菌消炎、免疫调节、抗氧化及保护心脑血管等广泛的药理活性<sup>[2-4]</sup>,丹皮酚还能通过抗凝、抗血小板聚集改善血液循环<sup>[5]</sup>,同时对缺血再灌注具有保护作用<sup>[6]</sup>,笔者课题组前期实验证实丹皮酚可在一定程度上改善大鼠 AMI 后心室重构及心肌组织病理改变<sup>[7]</sup>,本实验继续采用结扎大鼠左冠状动脉前降支造成心肌梗死后的室重构模型,通过组织病理学相关技术手段,进一步探讨其作用机制,并与临床防治心室重构的有效药物卡托普利(Captopril)进行对比,以期为临床上心血管疾病的防治提供新的思路,并为其开发利用提供科学依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康雄性 SD 大鼠, SPF 级, 体重 220 ~ 240 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 合格证号 SCXK(京)2009-0004, 清洁条件下喂食标准饲料, 自由饮水。

**1.2 药物及试剂** 丹皮酚注射液(宁波天真制药有限公司, 批号 20110603), 卡托普利片(北京亚宝生物药业有限公司, 批号 911090011), 注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司, 批号 D0909312), 转化生长因子- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ , 美国 Santa Cruz 公司, 批号 sc-146), 胶原蛋白 III 抗体(Collagen III, 英国 Abcam 公司, ab82354), 即用型免疫组化 SP 试剂盒(批号

SP-9000), DAB 显色液购于北京中杉金桥生物技术有限公司, 其他试剂均为市售分析纯。

**1.3 仪器** DW3000-B 型小动物人工呼吸机(淮北正华生物科技有限公司), ECG-6511 型心电图机(上海光电医用电子仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 动物造模** 根据相关文献<sup>[8]</sup>, 采用结扎左冠状动脉前降支(LAD)的方法制备大鼠 AMI 模型。4%水合氯醛 ip ( $3 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 麻醉, 术区备皮, 仰卧固定, 以标准 II 导联监测其心电图, 气管插管后缝线固定, 消毒开胸, 在左侧第 3, 4 肋间处斜向剪开皮肤, 逐层钝性分离肌肉至胸膜, 于第 4, 5 肋间距胸骨左缘约 2 mm 处打开胸壁, 剪断第 3, 4 肋, 置入开睑器撑开肋骨, 剪开心包膜, 用无菌棉签推开左心耳, 充分暴露心脏, 轻压右侧胸壁挤出心脏, 用无菌 5 ~ 0 号医用缝合线在肺动脉圆锥与左心耳之间距主动脉根部约 5 mm 处结扎左冠状动脉前降支, 结扎深度约 1 ~ 2 mm。撤除开睑器, 将心脏迅速放回胸腔, 用无针头注射器吸尽腹腔空气及少量瘀血, 逐层缝合伤口, 观察并记录结扎后 10 min 大鼠心电图, 比较结扎前后心电图趋势, 以心电图出现 ST 段抬高 1/2 以上、同时肉眼观察结扎区域心肌变苍白视为 MI 模型成功, 逐层缝合关胸, 待自主呼吸恢复后, 拔掉气管插管并清理口腔内分泌物。假手术组绕过左冠状动脉打松结。余步骤同上, 手术全程在恒温无菌下进行。

**2.2 分组及给药** 术后大鼠注射青霉素(每只 40 万  $\text{U} \cdot \text{d}^{-1}$ , 连续注射 3 d) 预防感染。适应性饲养 3 d 后将存活大鼠随机分为模型组, 丹皮酚低剂量组(丹皮酚  $8.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 丹皮酚中剂量组(丹皮酚  $12.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 丹皮酚高剂量组(丹皮酚  $16.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 阳性药组(卡托普利片  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 5

组,连同假手术组共 6 组,每组 10 只,卡托普利片碾成粉末后用蒸馏水稀释。*ig* 给药,丹皮酚 *ip* 给药,各给药组每天定时给予相应药物 1 次,连续给药 4 周。假手术组与模型组每天 *ip* 等体积生理盐水。

**2.3 心电图观察** 缝合关胸后记录 II 导联心电图 ST 段以及观察 J 点(QRS 波群的终点与 T 波交接处)的变化,以相邻两个 P 波的峰谷连线为基线,测量其与 J 点的距离(即 ΔJ),观察大鼠实验前后 10, 20, 40, 60, 120 min, 24 h 时心电图的改变情况。

**2.4 取材及检测方法** 大鼠予 4% 水合氯醛 *ip* 进行麻醉,电子天平称重(BW, g),处死并迅速摘取心脏,剪去大血管、心房,冰生理盐水冲去血渍,无菌滤纸吸干,沿心脏梗死区的左心室长轴切开,放入 10% 中性缓冲福尔马林固定液中 4 ℃ 温度固定 12~24 h,常规脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋,切片处理。

**2.4.1 病理组织分析** 参照文献[9]中的方法,石蜡切片常规脱蜡至水,每个标本横切面连续切片 3 张用于 HE 染色。乙醇梯度脱水后,经历苏木素染色,0.5% 盐酸乙醇分化,伊红复染,中性树胶固定后观察,细胞核呈蓝色,细胞浆及其他组织呈粉色,每张切片(×200)随机取 10 个梗死区视野进行观察并拍照,采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件进行分析。

**2.4.2 免疫组织化学法检测心肌组织 TGF-β<sub>1</sub>, Collagen III 蛋白的表达** 石蜡切片脱蜡至水,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 灭活内源性酶。PBS 洗 2 min × 3 次,置于 pH

6.0 枸橼酸缓冲液中,微波修复抗原 10 min,滴加 5% BSA 封闭液,5% 牛血清封闭。加兔抗大鼠一抗,4 ℃ 孵育过夜。加生物素标记的二抗稀释浓度(1:100)。以 PBS 代替一抗做阴性对照。以 1% DAB 显色,双蒸水终止反应。苏木精复染,盐酸乙醇分化,脱水,透明,封片。TGF-β<sub>1</sub> 一抗稀释浓度(1:50),Collagen III 一抗稀释浓度(1:100)。光镜下进行组织观察分析。镜下观察 TGF-β<sub>1</sub> 和 III 型胶原经免疫组化染色后细胞呈棕黄色着色为阳性,每张免疫组化染色切片(×200)随机取 10 个梗死区视野进行观察并拍照,采用 Image pro plus 6.0 图像分析软件对目标蛋白表达含量进行半定量分析,分别测定 TGF-β<sub>1</sub> 和 III 型胶原的吸光度 A,以 10 个视野的 A 值的平均值作为各标本的 TGF-β<sub>1</sub> 和 III 型胶原的表达值。

**2.5 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 软件进行处理,实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间计量资料比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法多重比较,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对 AMI 大鼠心电图的影响** 与假手术组比较,模型组大鼠结扎左冠状动脉前降支后,心电图 J 点明显抬高,随着时间延长而逐渐降低,表明模型组大鼠心肌梗死明显( $P < 0.01$ );丹皮酚中、高剂量组对大鼠结扎左冠状动脉前降支诱导的心电图 J 点升高具有明显的回落作用,与模型组比较有显著性差异( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 丹皮酚对大鼠不同时间点心电图变化的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Effects of Pae on electrocardiogram changes of different time points in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

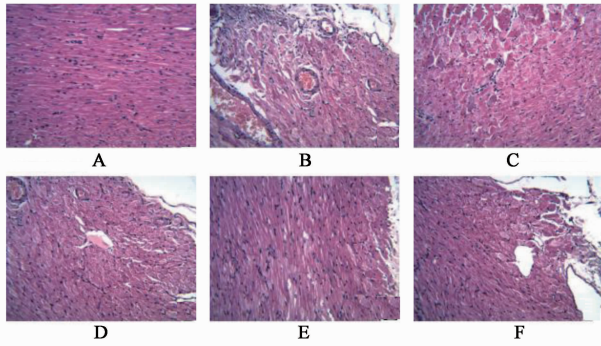
组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	手术前/mV	手术后/mV					
			10 min	20 min	40 min	60 min	120 min	24 h
假手术	-	0.08 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.04	0.09 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.09 ± 0.02
模型	-	0.10 ± 0.03	0.27 ± 0.06 <sup>1)</sup>	0.25 ± 0.04 <sup>1)</sup>	0.21 ± 0.05 <sup>1)</sup>	0.20 ± 0.05 <sup>1)</sup>	0.23 ± 0.05 <sup>1)</sup>	0.20 ± 0.04 <sup>1)</sup>
丹皮酚	8.0	0.07 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.22 ± 0.05	0.19 ± 0.06	0.18 ± 0.05	0.18 ± 0.04	0.16 ± 0.03
	12.0	0.11 ± 0.04	0.25 ± 0.06	0.23 ± 0.04	0.20 ± 0.03	0.17 ± 0.04	0.13 ± 0.02 <sup>3)</sup>	0.14 ± 0.02 <sup>2)</sup>
	16.0	0.08 ± 0.04	0.17 ± 0.08 <sup>2)</sup>	0.15 ± 0.04 <sup>2)</sup>	0.13 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.11 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.10 ± 0.03 <sup>3)</sup>	0.12 ± 0.02 <sup>3)</sup>
卡托普利	10.0	0.09 ± 0.03	0.18 ± 0.05 <sup>2)</sup>	0.15 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.14 ± 0.05 <sup>2)</sup>	0.10 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.11 ± 0.03 <sup>3)</sup>	0.11 ± 0.02 <sup>3)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ (表 2 同)。

**3.2 对心脏左室病理组织学的影响** 假手术组心肌组织结构完整,肌纤维排列规则,心肌细胞间隙均匀清楚,细胞核、浆清晰可辨,无明显病理学改变;模型组心肌细胞染色不均匀,心肌纤维排列紊乱且其间隙变窄,肌丝断裂,并伴随溶解和坏死,在坏死区

炎性浸润明显、纤维结缔组织增生严重。另外细胞核固缩、碎裂,胞浆减少或缺失,种种病理变化预示着心肌进行修复性纤维化;丹皮酚低、中、高剂量组与模型组比较心肌细胞病理改变均有不同程度的减轻,心肌细胞染色基本均匀,外观基本正常,排列基

本整齐,心肌细胞间隙均匀,偶尔可见心肌细胞间隙变窄和较轻微的肥大,梗死区有少量心肌坏死和轻微炎性浸润,纤维结缔组织增生不明显,其中高剂量组病变程度明显弱于中剂量组、低剂量组和模型组,与卡托普利  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组效果相当。见图 1。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 丹皮酚  $8.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; D. 丹皮酚  $12.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; E. 丹皮酚  $16.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; F. 卡托普利  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组 (图 2~3 同)

图 1 丹皮酚对大鼠心脏左室组织病理学的影响 (HE,  $\times 200$ )

Fig. 1 Effects of Pae on heart left ventricular pathological histology in rats (HE,  $\times 200$ )

**3.3 对大鼠心肌组织中 TGF- $\beta_1$  表达的影响** TGF- $\beta_1$  免疫组化染色结果显示阳性物质呈棕黄色颗粒。光镜下观察,假手术组未见明显阳性反应,模型组可见心肌细胞胞质有大量棕黄色颗粒,与假手术组比较,模型组大鼠梗死区 TGF- $\beta_1$  表达明显增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较,丹皮酚低、中、高剂量组 TGF- $\beta_1$  表达均不同程度减少 ( $P < 0.01, P < 0.05$ ), 且丹皮酚  $16.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组与卡托普利  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组效果相当。见图 2, 表 2。

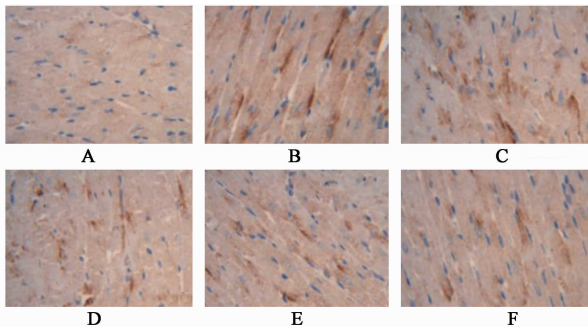


图 2 丹皮酚对大鼠心肌组织中 TGF- $\beta_1$  蛋白表达的影响 (SP,  $\times 200$ )

Fig. 2 Effects of Pae on TGF- $\beta_1$  protein in rats of cardiac muscle tissue (SP,  $\times 200$ )

**3.4 对大鼠心肌组织中 Collagen III 表达的影响** Collagen III 免疫组化染色结果显示阳性物质呈棕黄色颗粒。光镜下观察,假手术组未见明显阳性

反应,模型组可见心肌细胞胞质有大量棕黄色颗粒,与假手术组比较,模型组大鼠梗死区 Collagen III 表达明显增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较,丹皮酚低、中、高剂量组 Collagen III 表达均不同程度减少 ( $P < 0.01, P < 0.05$ )。且丹皮酚  $16.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组与卡托普利  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组效果相当。见图 3, 表 2。

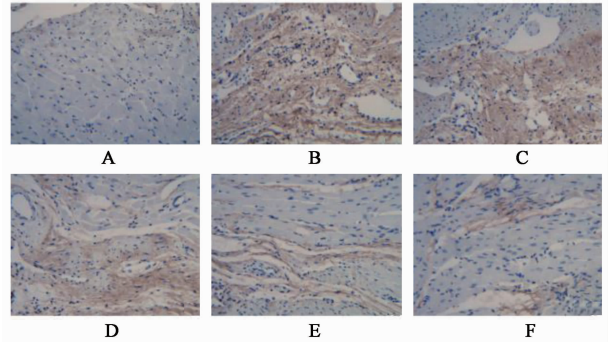


图 3 丹皮酚对大鼠心肌组织中 Collagen III 蛋白表达的影响 (SP,  $\times 200$ )

Fig. 3 Effects of Pae on Collagen III protein in rats of cardiac muscle tissue (SP,  $\times 200$ )

表 2 丹皮酚对大鼠心肌组织中 TGF- $\beta_1$ , Collagen III 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effects of Pae on TGF- $\beta_1$ , Collagen III protein in rats of cardiac muscle tissue ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	TGF- $\beta_1$ protem	Collagen III protem
假手术	-	$25.32 \pm 8.24$	$59.37 \pm 13.32$
模型	-	$312.41 \pm 43.16^{1)}$	$634.64 \pm 53.25^{1)}$
丹皮酚	8.0	$237.62 \pm 35.29^{2)}$	$484.32 \pm 76.93^{2)}$
	12.0	$164.47 \pm 12.54^{3)}$	$315.43 \pm 13.53^{3)}$
	16.0	$113.26 \pm 14.35^{3)}$	$208.38 \pm 18.87^{3)}$
卡托普利	10.0	$110.31 \pm 11.63^{3)}$	$196.61 \pm 19.24^{3)}$

#### 4 讨论

本研究采用经典的左冠脉前降支 (LAD) 结扎法建立大鼠急性心肌梗死模型,结扎后即刻可观察到左室前壁颜色变苍白。一般来说,此种方法造成的梗死范围多位于前壁,且大部分都可形成透壁性心肌梗死<sup>[10-11]</sup>,而心电图 ST 段偏移是判断大鼠心肌梗死模型是否成功复制的重要指标。许多研究在模型制作后一段时间内以某个或数个时点观测心电图 ST 段以判断梗死是否形成<sup>[12-14]</sup>。本研究发现:与假手术组比较,模型组大鼠结扎左冠状动脉前降支后,心电图 J 点明显抬高,随着时间的延长逐渐回落。而丹皮酚中、高剂量给药组均能明显降低抬高

的 ST 段 J 点并促其回落。

AMI 后, 心室发生进行性扩张和外型改变, 称为梗死后的“心室重构”, 是急性心肌梗死后发生慢性心衰的主要病理基础, 主要表现为心肌细胞的代偿性肥大、心肌坏死和细胞凋亡, 以及心肌间质成纤维细胞增生、纤维化, 血管结构改变及细胞外基质胶原网的量和组成的变化, 梗死区心壁变薄, 心腔逐渐扩张, 由于梗死区瘢痕缺乏舒缩功能, 从而导致心脏内各方向压力重新分布, 进而加重未梗死区心肌重构, 导致心功能严重下降, 最终出现心功能衰竭。在我国, 高血压和冠心病是心力衰竭的主要病因<sup>[15]</sup>, 而心肌重构是心力衰竭的关键病理环节, 其主要表现为心肌肥厚和心肌纤维化<sup>[16]</sup>。

本研究中 AMI 模型组大鼠心肌细胞不同程度肥大、伸长, 染色不均匀, 心肌纤维排列紊乱且其间隙变窄, 肌丝断裂, 并伴随溶解和坏死, 在坏死区炎症浸润明显、纤维结缔组织增生严重。另外细胞核固缩、碎裂, 胞浆减少或缺失, 种种病理变化预示着心肌进行修复性纤维化, 同时也证实心肌梗死后心室重构模型建立成功<sup>[17]</sup>, 而 Pae 各给药组均有轻微的病理改变, 心肌细胞染色基本均匀, 外观基本正常, 排列基本整齐, 心肌细胞间隙均匀, 偶尔可见心肌细胞间隙变窄和较轻微的肥大, 梗死区有少量心肌坏死和轻微炎症浸润, 纤维结缔组织增生不明显, 较模型组大鼠明显改善, 其作用效果与血管紧张素转化酶抑制剂卡托普利相当, 这提示 Pae 可在一定程度上缓解心室重构, 修复损伤的心肌细胞结构, 起到保护心肌的作用。

TGF- $\beta$ s 是一类具有自分泌和旁分泌作用的多功能细胞因子, 包括 3 种不同亚型-TGF- $\beta_1$ , TGF- $\beta_2$  和 TGF- $\beta_3$ , 其中 TGF- $\beta_1$  是最重要的促纤维化生长因子之一<sup>[18]</sup>, 也是心肌重构和纤维化形成过程中的始动因子之一, 具有刺激心肌细胞及心肌成纤维细胞合成心肌胶原纤维的作用<sup>[19]</sup>, 心肌缺血后 TGF- $\beta_1$  的高表达还可以触发细胞间质的胶原沉积和肌成纤维细胞对梗死区域的修复<sup>[20]</sup>。细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 是由胶原蛋白和纤维连接蛋白等组成的复杂网状空间结构, 在维持心脏的正常组织结构中发挥重要作用<sup>[21]</sup>。而心肌纤维化表现为细胞外基质合成与降解之间的失衡, 心肌组织结构中胶原纤维过量积聚、胶原浓度显著升高或胶原容积分数显著增高, 其中主要是 Collagen I 和 Collagen III 明显增多, 胶原蛋白是心肌缺血发生发展过程中梗死区和梗死边缘区进行修复的主要基

质, 是影响间质纤维化和心室重构进程的重要因素<sup>[22]</sup>, Collagen III 是细胞外基质的主要成分, TGF- $\beta_1$  可通过抑制蛋白水解酶的表达, 减少细胞外基质的讲解, 促进胶原沉积, 进而加速心肌纤维化, 降低心室的收缩和舒张功能<sup>[23]</sup>。

笔者对 AMI 大鼠的梗死边缘区进行免疫组化染色, 结果显示, AMI 模型组大鼠心肌组织中 TGF- $\beta_1$ , Collagen III 较假手术组大鼠显著增高, 而 Pae 干预组大鼠中 TGF- $\beta_1$ , Collagen III 的表达较模型组大鼠显著降低, 这提示 Pae 可能通过降低心肌组织中 TGF- $\beta_1$ , Collagen III 的表达而阻断其病理效应, 延缓或抑制 AMI 大鼠心肌纤维化的发生、发展。因此, 笔者推测 TGF- $\beta_1$  参与了 AMI 大鼠心肌纤维化的病理发生、发展的过程, Pae 通过减少 AMI 大鼠 TGF- $\beta_1$  在心肌组织中的表达, 抑制胶原 (Collagen III) 的形成和心肌间质纤维化。

综上所述, 本实验通过在体大鼠 AMI 模型实验, 表明 TGF- $\beta_1$  参与 AMI 大鼠心肌间质纤维化发生、发展的病理过程, 通过有效调低心肌组织 TGF- $\beta_1$  的表达, 减少心肌间质纤维化可能是 Pae 改善心室重构的重要机制之一。

#### [参考文献]

- [1] Guo Q, Li Y K, Wang Z G, et al. Pharmacology research advance of paeonol[J]. Inf Tradit Chin Med, 2009, 26(1):20-23.
- [2] Tseng Y T, Hsu Y Y, Shih Y T, et al. Paeonol attenuates microglia-mediated inflammation and oxidative stress-induced neurotoxicity in rat primary microglia and cortical neurons[J]. Shock, 2012, 37(3):312-318.
- [3] Zhou J, Zhou L, Hou D, et al. Paeonol increases levels of cortical cytochrome oxidase and vascular actin and improves behavior in a rat model of Alzheimer's disease [J]. Brain Res, 2011, 1388:141-147.
- [4] Chou T C. Anti-inflammatory and analgesic effects of paeonol in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia[J]. Br J Pharmacol, 2003, 139(6):1146-1152.
- [5] Koo Y K, Kim J M, Koo J Y, et al. Platelet anti-aggregatory and blood anti-coagulant effects of compounds isolated from *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa*[J]. Pharmazie, 2010, 65(8):624-628.
- [6] Nizamutdinova I T, Jin Y C, Kim J S, et al. Paeonol and paeoniflorin, the main active principles of *Paeonia albiflora*, protect the heart from myocardial ischemia reperfusion injury in rats [J]. Planta Med, 2008, 74(1):14-16.

- [ 7 ] 赵静怡,张树峰,徐倩,等. 丹皮酚对大鼠急性心肌梗死后心室重构及心功能的影响[J]. 承德医学院学报, 2013,30(3):194-196.
- [ 8 ] Cheng K, Malliaras K, Shen D, et al. Intramyocardial injection of platelet gel promotes endogenous repair and augments cardiac function in rats with myocardial infarction. [J]. Am Coll Cardiol, 2012, 59:256-264
- [ 9 ] 熊兰英,浅谈石蜡制片-HE染色点滴体会[J]. 检验医学与临床,2006,3(4):169-171.
- [10] 黄琨,杨丹丹,郭书文,等. 心肌梗死大鼠毛细血管周细胞变化及益气活血中药对其的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2013,20(7):38-42.
- [11] 黄培培,郭书文,杨蟠储,等. 心肌缺血大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 变化及益气活血药对其的影响[J]. 北京中医药大学学报,2010,52(9):614-617,631.
- [12] 王勇,高大中,殷跃辉,等. 大鼠心肌梗死模型建立方法选择及心电图表现[J]. 中国实验动物学报,2011,19(6):525-529.
- [13] Senthil Kumaran K, Stanely Mainzen Prince P. Protective effects of caffeic acid on lactate dehydrogenase isoenzymes, electrocardiogram, adenosine triphosphatases, and hematology on isoproterenol-induced myocardial infarcted rats [J]. J Biochem Molecular Toxicology,2011,25(2):60-67.
- [14] Zhong H, Xin H, Zhu Y Z, et al. Cardioprotective effects of Chinese herbal medicine braintone on myocardial infarction in rats [J]. J Chin Pharm Sci, 2010,19(3):186-194
- [15] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(2):98-122.
- [16] Van Berlo J H, Maillet M, Molkentin J D. Signaling effectors underlying pathologic growth and remodeling of the heart[J]. J Clin Invest, 2013, 123(1):37-45.
- [17] Brower G L, Janicki J S. Contribution of ventricular remodeling to pathogenesis of heart failure in rats[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 280(2):674-683.
- [18] 李军娜,刘巍,李为民. 转化生长因子- $\beta$  在心脏重构中作用的研究进展[J]. 国际免疫学杂志,2011,34:230-233.
- [19] Gao X, He X, Luo B, et al. Angiotensin II increases collagen expression via transforming growth factor-beta1 and extracellular signal-regulated Kinase in cardiac fibroblasts[J]. Eur J Pharmacol, 2009, 606:115-120.
- [20] Sutton M G, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy [J]. Circulation,2000,101:2981-2988.
- [21] Kong P,Christia P,Frangogiannis N G. The pathogenesis of cardiac fibrosis [J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71:549-574.
- [22] Chen W, Frangogiannis N G. Fibroblasts in post-infarction inflammation and cardiac repair [J]. Biochim Biophys Acta,2013,1833:945-953.
- [23] Li J, Wu F, Zhang H, et al. Insulin inhibits leukocyte-endothelium adherence via an Akt. No-dependent mechanism in myocardial ischemia/reperfusion [J]. J Mol Cell Cardiol,2009,47:512-519.

[责任编辑 周冰冰]

## 《中国实验方剂学杂志》声明

本刊近期发现有某些网站使用类似本刊网站的域名,冒用本刊名义,骗取审稿费及版面费。

现本刊郑重声明:①<http://www.syfjzz.com> 为本刊唯一域名,其他域名均非本刊。

②本刊不会以任何名义收取任何审稿费。

③投稿成功后,为确保稿件安全请与责任编辑电话联系。

对于假冒本刊名义、侵犯本刊权利的不正当行为,本刊将通过法律程序进行维权。