

夏枯草提取物对 AHF 模型大鼠心肌保护作用及 SDF-1 表达水平的影响

刘宏扬¹, 张睿¹, 任公平^{2*}

(1. 齐齐哈尔市中医医院, 黑龙江 齐齐哈尔 161000;
2. 牡丹江医学院 红旗医院, 黑龙江 牡丹江 157011)

[摘要] **目的:**探讨夏枯草提取物对急性心力衰竭(AHF)模型大鼠心肌保护作用及基质细胞衍生因子-1(SDF-1)表达的影响,探讨其治疗 AHF 的可能作用机制。**方法:**采用 Wistar 大鼠建立 AHF 模型,随机分为 4 组,AHF 模型组(AHF 组),给予等体积生理盐水 *ig*;夏枯草低剂量组,按照夏枯草提取物 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量 *ig*;夏枯草中剂量组,按照夏枯草提取物 $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量 *ig*;夏枯草高剂量组,按照夏枯草提取物 $2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量 *ig*;另设假手术组(Sham 组),给予等体积生理盐水 *ig*。6 周后进行血流动力学、超声心动图测量,并分别采用流式细胞术,苏木素-伊红(HE)染色测量 CD34⁺ 细胞阳性率,微血管密度(MVD)。进一步采用蛋白质免疫印迹(Western blot)和实时荧光定量-聚合酶链式反应(qPCR)分析检测 SDF-1 蛋白和 SDF-1 mRNA 表达的变化。**结果:**夏枯草提取物可有效改善 AHF 大鼠左心室舒张功能,减轻心室壁厚度,促进 CD34⁺ 细胞的动员和新生血管的形成,与 AHF 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。夏枯草提取物可使 SDF-1 蛋白和 SDF-1 mRNA 的表达显著增加,与 AHF 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**夏枯草提取物对衰竭心脏有明显的保护作用,其机制可能与促进新生血管的形成,升高 SDF-1 表达水平和动员 CD34⁺ 细胞释放至外周血有关。

[关键词] 夏枯草提取物;急性心力衰竭;基质细胞衍生因子-1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)08-0171-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080171

Protective Effects of *Prunellae Spica* Extract on Myocardium and Its Effect on Expression of SDF-1 in AHF Rat Model

LIU Hong-yang¹, ZHANG Rui¹, REN Gong-ping^{2*}

(1. *Hospital of Traditional Chinese Medicine of Qiqihar, Qiqihar 161000, China;*
2. *Hongqi Hospital of Mudanjiang Medical University, Mudanjiang 157011, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of *Prunellae Spica* extract on the myocardium and its effect on the expression of stromal cell derived factor-1 (SDF-1) in acute heart failure (AHF) rat models and discuss its possible mechanism. **Method:** Wistar rats were used to establish AHF models and randomly divided into four groups, such as AHF model group (AHF group) with equal volume of normal saline by intragastric administration; *Prunellae Spica* low-dose group, $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ *Prunellae Spica* extract by intragastric administration; *Prunellae Spica* middle-dose group, $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ *Prunellae Spica* extract by intragastric administration; and *Prunellae Spica* high-dose group, $2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ *Prunellae Spica* extract by intragastric administration. Another sham operation group (Sham group) was set to receive equal volume of normal saline by intragastric administration. After 6 weeks, hemorheology examination and ultrasonic cardiogram were taken. The positive rate of CD34⁺ cells and microvessel density (MVD) were measured by flow cytometry and HE staining

[收稿日期] 20150627(002)

[基金项目] 黑龙江省中医药管理局项目(ZHY14-W76)

[第一作者] 刘宏扬,主治医师,从事急性心力衰竭的急诊急救工作,Tel:15145288887,E-mail:liuhongyang8203@163.com

[通讯作者] *任公平,主治医师,硕士,从事中西医结合防治老年病研究,Tel:13836313729,E-mail:gongpingren@163.com

respectively. Western blot and qPCR were further used to detect the protein and mRNA expressions of SDF-1. **Result:** Prunellae Spica extract can effectively improve left ventricular diastolic function, reduce ventricular wall thickness and promote formation of CD34⁺ cell mobilization and angiogenesis in AHF rat models, with statistically significant difference as compared with AHF group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Prunellae Spica extract can significantly increase the expressions of SDF-1 protein and SDF-1mRNA, with statistically significant difference as compared with AHF group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Prunellae Spica extract has obvious protective effect on heart failure, and the mechanism may be related to promoting angiogenesis, increasing SDF-1 expression levels and mobilizing the release of CD34⁺ cells to peripheral blood.

[**Key words**] Prunellae Spica extract; acute heart failure; stromal cell derived factor-1

急性心力衰竭(acute heart failure, AHF)是心力衰竭的症状和体征急骤发生的一种临床综合征,需要紧急救治,其预后极差,严重危害人类健康^[1]。AHF 病死率极高,1 年的病死率达 30%,死亡率高于同龄人群的 4~8 倍,5 年生存率不足 40%^[2-3]。因此,寻找 AHF 安全有效的治疗方法或者治疗药物显得尤为重要。夏枯草是我国传统的中草药,为唇形科植物夏枯草的干燥果穗,具有清热解毒、清肝明目、软坚散结等功效作用。有学者研究表明,夏枯草具有降低血压和增强心肌收缩力的作用^[4-5]。虽然夏枯草具有增强心肌收缩力的作用,但是有关于其对 AHF 的研究未见报道。本研究通过建立 AHF 大鼠模型,探讨夏枯草提取物对 AHF 模型大鼠血流动力学、心脏功能以及基质细胞衍生因子-1(stromal cell derived factor-1, SDF-1)的影响,为明确夏枯草提取物治疗 AHF 提供实验依据,探讨其保护 AHF 大鼠心肌的可能作用机制。

1 材料

1.1 动物 健康清洁级 Wistar 系大鼠 70 只,体重 200~250 g,购于哈尔滨医科大学动物实验中心,实验动物使用合格证号 SYXK(黑)2012-0033。饲养于标准环境,自由饮食,12 h 光照周期。所有实验操作均遵守中国动物实用指南。

1.2 药物及试剂 夏枯草提取物参照孙振昌等^[6]方法由齐齐哈尔市中医医院炮制室制备。将夏枯草的干燥果穗以 85%~96% 的乙醇浸泡于多功能提取器内,24 h 后加热、回流 3~6 h 得提取液;将提取液减压浓缩至干得浸膏,用体积比为三氯甲烷-水 1:0.5~1.2 对所得浸膏进行萃取,分别收集有机相和水相,减压浓缩至干;取有机相,用体积比为三氯甲烷-甲醇-水(5~10):(2~5):(2~6)进行溶解,静置 3~6 h,取上层,将上层溶液减压浓缩至干;取上层残留物加水溶解,比例按上层残留物-水 1 mg:0.5~5 mL;大孔吸附树脂吸附,以甲醇-水溶液洗

脱,收集 30%~80% 甲醇洗脱液,洗脱液减压浓缩至干即得夏枯草提取物。以无菌生理盐水将其配制为所需浓度,4℃ 冰箱保存备用。Pharmingen 染色缓冲液稀释(美国 BD 公司,批号),PE/cy5 anti-mouse CD34,anti-CD34-FITC 抗体,抗 SDF-1 抗体, M-MLV 逆转录试剂盒,Quant SYBR Green PCR 试剂盒。

1.3 仪器 Vingmed Vivid 7 型超声机(美国 GE Ultra-sound 公司),BL-420F 型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司),Applied Biosystems 7500 型定量 PCR 仪(美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 AHF 模型的建立及实验分组 给予 60 只 Wistar 大鼠 ip 40 $m \cdot kg^{-1}$ 1.0% 戊巴比妥钠,麻醉 5~10 min 后固定于实验台,气管插管接呼吸机机械通气(呼吸频率 70 次/min,潮气量 6~7 mL/次),分离右侧颈动脉,经颈动脉行左心室置管,记录大鼠左心功能变化,选用标准 II 导联连接心电图,计算机软件记录波形。经颈动脉将导管插入左心室腔,记录正常值一段时间后,由股静脉以 4 $mL \cdot h^{-1}$ 的速度注射 1.0% 戊巴比妥钠,当平均左心室内压最大上升速率(+dp/dtmax)和最大下降速率(-dp/dtmax)降到正常值的 2/3 左右,改为注射速度为 1 $mL \cdot h^{-1}$,维持 5 min 以上,±dp/dtmax 无上升倾向,说明 AHF 模型成功建立^[7-9]。术后常规抗感染治疗。共成功建立 AHF 模型 35 只,随机分为 4 组,分别为 AHF 模型组(AHF 组),8 只,等体积生理盐水 ig ;低剂量组,9 只,按照夏枯草提取物 0.5 $g \cdot kg^{-1}$ 剂量 ig ;中剂量组,9 只,按照夏枯草提取物 1.0 $g \cdot kg^{-1}$ 剂量 ig ;高剂量组,9 只,按照夏枯草提取物 2.0 $g \cdot kg^{-1}$ 剂量 ig ,以上给药方法参照梁健钦等^[5]方法。另设假手术组(Sham 组),10 只,除未注射戊巴比妥钠外,其余方法与模型建立相同,等体积生理盐水 ig 。各组均为每天 1 次 ig ,共 6 周。

2.2 指标检测

2.2.1 血流动力学测量 用药 6 周后生物机能实验系统测量血流动力学参数。主要参数包括心率 (HR), 收缩压 (SBP), 舒张压 (DBP), 左心室收缩压 (LVSP), 左心室舒张期末压 (LVEDP), $+dp/dt_{max}$, $-dp/dt_{max}$ 。以 Weiss 公式计算左心室松弛时间常数 (Tau)。

2.2.2 超声心动图测量 用药 6 周后超声机进行检测左心室功能, 探头频率为 10 MHz。取胸骨旁左心室长轴及短轴切面进行测量, 主要参数包括室间隔 (IVS) 和左心室后壁厚度 (LVPWT), 左心室舒张末期内径 (LVEDD), 左心室收缩末期内径 (LVESD), 左心室射血分数 (LVEF), 左心室质量指数 (LVMI), 峰值速度比率 (E/A 值)。每个参数测量 3 个连续完整心动周期, 取平均值。

2.2.3 流式细胞术 大鼠尾静脉采血 0.5 mL, 枸橼酸钠抗凝, Pharmingen 染色缓冲液稀释。取 2 根试管, 各加入全血 100 μ L, 然后 1 管加入 PE/cy5 anti-mouse CD34 20 μ L, 另 1 管加入 anti-CD34-FITC 20 μ L 暗处孵育 25 min 后, 加入红细胞裂解液 2 mL, 混匀, 上机分析。设单核细胞门鉴定 CD34⁺ 细胞, 计数 10 000 个细胞。Cell Quest Pro 软件进行分析 CD34⁺ 细胞阳性率。

2.2.4 微血管密度 (MVD) 测量 心肌组织标本 4.0% 多聚甲醛固定、石蜡包埋、苏木素-伊红 (HE) 染色, 显微镜观察。首先选择低倍视野下观察微血管最为丰富处, 以管腔内见红细胞为判断标准, 然后随机选择 3 个高倍视野进行拍照。Image-proPlus 6.0 软件系统进行微血管计数, 取其平均值。MVD = 血管数/ mm^2 。

2.2.5 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 分析 心肌组织标本在蛋白酶抑制剂存在下匀浆, 以获得蛋白质提取物。Bradford 法测定蛋白质含量。取蛋白质 20 μ g 加入等体积 2 \times 上样缓冲液, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 min。随后进行 7.5% SDS-PAGE 凝胶电泳。电泳后, 电转至 0.45 μ m 硝酸纤维素膜, 用含 5% 的脱脂奶粉 PBST (25 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris pH 7.5, 150 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, 0.1% 聚山梨酯 20) 封闭 1 h, 分别加入抗 SDF-1 抗体 (1:2 000 稀释) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, PBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。加入 HRP 标记的二抗 (1:2 000 稀释) 室温孵育 2 h, PBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。按同样的方法与 GAPDH 抗体孵育。ECL 化学发光试剂显色, 通过 Bio-Rad 凝胶成像进行目的条带的表达检测及分析。蛋白的相对表达强度 = 目标蛋白表达强度/GAPDH

蛋白表达强度。

2.2.6 实时荧光定量-聚合酶链式反应 (qPCR) 分析 按照 TRIzol 试剂盒说明书抽提总 RNA。Nanodrop2000 检测 RNA 纯度。使用 M-MLV 逆转录试剂盒进行逆转录反应成单链的 cDNA, 操作按照试剂盒说明书进行。利用 Pubmed 查找相关基因序列, 并利用引物合成软件 Primer Premier 5.0 设计引物, SDF-1 引物序列上游 5'-TTGCCAGCACAAAGA CACTCC-3', 下游 5'-CTCCAAAGCAAACCGAATAC AG-3', 片段长度 226 bp; GAPDH 引物序列上游 5'-CCAGTATGATTCTACCCACGGC-3', 下游 5'-CGG AGATGATGACCCTTTTGGC-3', 片段长度 227 bp。使用 PCR 试剂盒按照 PCR 引物进行扩增, 用定量 PCR 仪测出 ΔC_t 值及熔解曲线, 计算出相对基因表达量。每份样品检测 3 次。

2.3 统计学分析 采用 Graphpad5.0 软件进行描述性统计, 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 正态资料组间比较采用 *t* 检验, 多样本均数采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 AHF 大鼠血流动力学的影响 AHF 组与 Sham 组大鼠比较, 可见 SBP, DBP, LVSP 和 LVEDP 显著升高, $-LVdP/dt_{max}$ 明显下降, Tau 明显延长, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 HR 和 $+LVdP/dt_{max}$ 改变不明显, 差异不具有统计学意义, 说明 AHF 组大鼠血压上升, 左心室舒张时间延长、舒张速度下降而引起 LVEDP 上升; 夏枯草提取物中剂量组和高剂量组与 AHF 组大鼠比较, 可见 SBP, DBP, LVSP 和 LVEDP 显著降低, $-LVdP/dt_{max}$ 明显升高, Tau 明显缩短, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明夏枯草提取物可明显改善 AHF 大鼠心肌舒张功能。见表 1。

3.2 对 AHF 大鼠超声心动图结果的影响 AHF 组与 Sham 组大鼠比较, 可见 E/A 明显增高, LVMI 明显增加, IVS 和 LVPWT 显著增厚, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 LVESD, LVEDD 和 LVEF 改变不明显, 差异不具有统计学意义, 说明 AHF 组大鼠舒张功能受损, 左心室壁增厚; 夏枯草提取物中剂量组和高剂量组与 AHF 组大鼠比较, 可见 E/A 明显降低, LVMI 明显减少, IVS 和 LVPWT 厚度显著减轻, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 结合血流动力学数据说明夏枯草提取物可明显改善 AHF 大鼠左心室舒张功能, 部分逆转左心室肥厚。见表 2。

表 1 夏枯草提取物对 AHF 大鼠血流动力学的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of *Prunellae Spica* extract on haemodynamics in AHF rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	HR /次·min ⁻¹	SBP /mmHg	DBP /mmHg	LVSP /mmHg
Sham	-	8	352 ± 109	121 ± 37	97 ± 24	129 ± 34
AHF	-	9	363 ± 112	186 ± 57 ¹⁾	158 ± 51 ¹⁾	196 ± 55 ¹⁾
夏枯草	0.5	9	358 ± 108	179 ± 51	150 ± 47	173 ± 47
	1.0	9	357 ± 110	163 ± 39 ²⁾	138 ± 40 ²⁾	159 ± 41 ²⁾
	2.0	10	355 ± 107	141 ± 32 ³⁾	122 ± 34 ³⁾	141 ± 32 ²⁾

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	LVEDP /mmHg	(+LVdP/dtmax) /mmHg·s ⁻¹	(-LVdP/dtmax) /mmHg·s ⁻¹	Tau /ms
Sham	-	8	10.8 ± 3.4	4 217 ± 1 286	4 921 ± 1 327	5.77 ± 1.94
AHF	-	9	36.9 ± 10.9 ¹⁾	4 193 ± 1 194	1 997 ± 505 ¹⁾	18.36 ± 4.81 ¹⁾
夏枯草	0.5	9	30.1 ± 8.6	4 209 ± 1 180	2 075 ± 518	17.92 ± 4.73
	1.0	9	27.2 ± 6.7 ²⁾	4 247 ± 1 181	2 756 ± 673 ²⁾	14.12 ± 4.04 ²⁾
	2.0	10	20.8 ± 5.3 ³⁾	4 293 ± 1 181	4 345 ± 1 219 ³⁾	8.94 ± 2.73 ³⁾

注:与 Sham 组大鼠比较¹⁾ $P < 0.05$,与 AHF 组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2~6 同)。

表 2 夏枯草提取物对 AHF 大鼠超声心动图结果的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of *Prunellae Spica* extract on supersonic and enchanted graph results in AHF rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	IVS/mm	LVPWT/mm	LVESD/mm	LVEDD/mm	LVEF	LVMI	E/A
Sham	-	8	1.27 ± 0.31	1.82 ± 0.46	1.93 ± 0.51	4.98 ± 1.21	0.76 ± 0.25	0.035 ± 0.011	1.47 ± 0.41
AHF	-	9	1.96 ± 0.53 ¹⁾	2.62 ± 0.75 ¹⁾	1.98 ± 0.51	5.13 ± 1.65	0.79 ± 0.24	0.071 ± 0.026 ¹⁾	2.61 ± 0.75 ¹⁾
夏枯草	0.5	9	1.91 ± 0.50	2.58 ± 0.72	1.97 ± 0.51	5.14 ± 1.64	0.79 ± 0.25	0.67 ± 0.22	2.55 ± 0.72
	1.0	9	1.77 ± 0.48 ²⁾	2.42 ± 0.71 ²⁾	1.94 ± 0.47	5.16 ± 1.66	0.81 ± 0.27	0.055 ± 0.013 ²⁾	2.07 ± 0.61 ²⁾
	2.0	10	1.65 ± 0.41 ³⁾	2.31 ± 0.68 ³⁾	1.93 ± 0.42	5.16 ± 1.64	0.82 ± 0.24	0.050 ± 0.11 ³⁾	1.98 ± 0.53 ³⁾

3.3 对 AHF 大鼠 CD34⁺ 细胞阳性率的影响 夏枯草提取物中剂量组和高剂量组增加可显著增加外周血 CD34⁺ 细胞阳性细胞比率,与 AHF 组大鼠比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),说明夏枯草提取物增强干/祖细胞从骨髓动员到外周血,可能会促进 AHF 大鼠心肌组织修复。见表 3。

表 3 夏枯草提取物对 AHF 大鼠 CD34⁺ 细胞阳性率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of *Prunellae Spica* extract on positive rate of CD34⁺ cells in AHF rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	CD34 ⁺ 细胞阳性率/%
Sham	-	8	42.37 ± 10.56
AHF	-	9	53.29 ± 12.38 ¹⁾
夏枯草	0.5	9	56.71 ± 12.94
	1.0	9	64.07 ± 19.27 ²⁾
	2.0	10	67.63 ± 20.34 ³⁾

3.4 对 AHF 大鼠心肌组织 MVD 计数的影响 AHF 组与 Sham 组大鼠比较,可见心肌,心内膜和心外膜 MVD 明显降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);夏枯草提取物中剂量组和高剂量组与 AHF 组大鼠比较,可见心肌,心内膜和心外膜 MVD 明显升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),说明夏枯草提取物可促进新生血管的形成。见表 4。

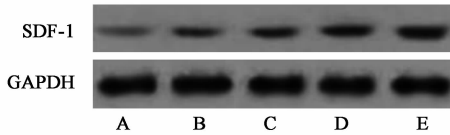
3.5 对 AHF 大鼠 SDF-1 蛋白表达的影响 夏枯草提取物中剂量组和高剂量组与 AHF 组大鼠比较,显著升高 SDF-1 表达水平,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 1,表 5。

3.6 对 AHF 大鼠 SDF-1 mRNA 表达的影响 夏枯草提取物中剂量组和高剂量组与 AHF 组大鼠比较,显著升高 SDF-1 mRNA 表达水平,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 6。

表 4 夏枯草提取物对 AHF 大鼠心肌组织 MVD 计数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effects of *Prunellae Spica* extract on myocardial tissue MVD counting in AHF rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	心肌/血管数 $\cdot mm^{-2}$	心内膜/血管数 $\cdot mm^{-2}$	心外膜/血管数 $\cdot mm^{-2}$
Sham	-	8	0.064 ± 0.245	0.210 ± 0.071	0.115 ± 0.032
AHF	-	9	0.031 ± 0.009 ¹⁾	0.019 ± 0.006 ¹⁾	0.030 ± 0.009 ¹⁾
夏枯草	0.5	9	0.032 ± 0.108	0.022 ± 0.006	0.051 ± 0.017
	1.0	9	0.041 ± 0.113 ²⁾	0.112 ± 0.028 ²⁾	0.104 ± 0.032 ²⁾
	2.0	10	0.067 ± 0.022 ³⁾	0.176 ± 0.053 ³⁾	0.131 ± 0.034 ³⁾



A. Sham 组; B. AHF 组; C. 夏枯草 0.5 $g \cdot kg^{-1}$ 组; D. 夏枯草 1.0 $g \cdot kg^{-1}$ 组; E. 夏枯草 2.0 $g \cdot kg^{-1}$ 组

图 1 夏枯草提取物对 AHF 大鼠 SDF-1 蛋白表达的影响

Fig. 1 Effects of *Prunellae Spica* extract on SDF-1 protein expression in AHF rats

表 5 夏枯草提取物对 AHF 大鼠 SDF-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effects of *Prunellae Spica* extract on SDF-1 protein expression in AHF rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	SDF-1 蛋白
Sham	-	8	0.21 ± 0.06
AHF	-	9	0.33 ± 0.08 ¹⁾
夏枯草	0.5	9	0.39 ± 0.08
	1.0	9	0.62 ± 0.14 ²⁾
	2.0	10	0.77 ± 0.19 ³⁾

表 6 夏枯草提取物对 AHF 大鼠 SDF-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effects of *Prunellae Spica* extract on SDF-1 mRNA expression in AHF rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	SDF-1 mRNA
Sham	-	8	0.43 ± 0.11
AHF	-	9	0.46 ± 0.12 ¹⁾
夏枯草	0.5	9	0.52 ± 0.18
	1.0	9	0.76 ± 0.20 ²⁾
	2.0	10	0.85 ± 0.23 ³⁾

4 讨论

AHF 是指由于急性心脏病变引起心排血量显著、急骤降低导致的组织器官灌注不足和急性瘀血综合征,此时心脏功能变化主要表现为心脏收缩功能下降,心室舒张功能及心室顺应性改变,心泵功能降低与泵功能储备下降,出现相应的血流动力学指标异常^[10]。本研究首次报道了夏枯草提取物对 AHF 模型大鼠的影响。结果表明,夏枯草提取物可

有效减轻 AHF 大鼠左心室壁厚度,改善舒张功能,对 AHF 大鼠模型有明显的保护作用。为了确定其可能机制,本研究采用流式细胞术分析了外周血 CD34⁺ 细胞。结果发现,夏枯草提取物增加干/祖细胞的动员,导致 CD34⁺ 细胞数量的增加。此外,心肌组织 MVD 的形成增加,特别是在梗死区心内膜,从而表明夏枯草提取物可作为潜在的临床应用药物。

为了阐明夏枯草提取物动员干/祖细胞的机制,本研究对 SDF-1 的表达水平进行了分析。SDF-1 最初是从鼠的骨髓基质细胞中分离出来的,广泛表达于多种组织、器官、系统,在胚胎发育过程、造血、血管发生、心脏发生、白细胞亚群和内皮细胞的趋化作用中起重要的生理和病理作用,主要表达于心脏、脑、肝和肾脏等^[11]。AHF 后,SDF-1 在介导干细胞向心脏迁移和受损心脏的修复过程中发挥关键作用,如将携带 SDF-1 基因的质粒输送到损伤心肌附近,可诱导 CD34⁺ 细胞的迁移,可显著增强骨髓干细胞向梗死心肌迁移,募集干/祖细胞动员至缺血组织^[12-13]。本研究 Western blot 分析结果表明,AHF 组大鼠较 Sham 组 SDF-1 表达水平略有升高,这属于集体对不良刺激的一种应激调节反应,固然当这种应激调节不能够完全对抗外来的损伤刺激时,势必造成进一步损伤。给予夏枯草提取物干预后,SDF-1 表达水平明显升高,且与剂量呈正相关,与 AHF 组比较,差异具有统计学意义。进一步采用 qPCR 分析,SDF-1 mRNA 表达明显升高,结果与 Western blot 分析结果相一致,说明夏枯草提取物可升高 SDF-1 表达水平,从而促进 AHF 大鼠心肌组织修复。

综上所述,夏枯草提取物可有效减轻 AHF 大鼠左心室壁厚度,改善舒张功能及心肌顺应性的降低,对衰竭心脏有明显的保护作用,其机制可能与促进新生血管的形成,升高 SDF-1 表达水平和动员 CD34⁺ 细胞释放至外周血有关,可作为潜在的临床

应用药物。至于夏枯草提取物是否通过其他机制发挥治疗 AHF 机制,如对胰岛素样生长因子-1 表达的影响,本研究将做进一步探讨。

[参考文献]

[1] 余梅玫. 重新认识急性心力衰竭综合征[J]. 心血管病学进展, 2014, 35(6): 680-684.

[2] Fukuda T, Matsumoto A, Kurano M, et al. Cardiac output response to exercise in chronic cardiac failure patients[J]. *Int Heart J*, 2012, 53(5): 293-298.

[3] Bos-Touwen I, Schuurmans M, Monnikhof E M, et al. Patient and disease characteristics associated with activation for self-management in patients with diabetes, chronic obstructive pulmonary disease, chronic heart failure and chronic renal disease: a cross-sectional survey study[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126400.

[4] 向德标, 刘敏. 夏枯草水提取物对离体蛙心收缩功能的影响[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(2): 778-779.

[5] 梁健钦, 熊万娜, 罗远, 等. 夏枯草提取物对大鼠自发性高血压降血压作用研究[J]. *中药材*, 2011, 34(1): 99-100.

[6] 孙振昌, 付晓瑞, 崔莹莹, 等. 夏枯草提取物作用 Jurkat 细胞的分子生物学研究[J]. *中药材*, 2014,

37(8): 1441-1444.

[7] 王加佳, 夏中元, 赵博, 等. DJ-1/PTEN 通路在糖尿病大鼠心肌缺血/再灌注期间对心肌损伤的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2013, 23(23): 37-40.

[8] 邹吉丽, 尹照萍, 张利群, 等. 大鼠心肌缺血再灌注早期心肌及血清中 IL-6、TNF- α 的表达[J]. *中国医科大学学报*, 2013, 42(9): 830-833.

[9] 范连霞, 章建华, 尹华, 等. 急性心力衰竭模型下伏附子入血成分及其体内动态变化的初步研究[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(1): 221-225.

[10] 郭瑶, 周静, 卞慧敏, 等. 川芎嗪衍生物 liguzinediol 对戊巴比妥钠致急性心力衰竭大鼠血流动力学的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(6): 170-174.

[11] 李佳. 基质细胞衍生因子-1 及其受体与心脏疾病[J]. *心脏杂志*, 2008, 20(4): 501-503

[12] 张继红, 覃慧林, 贺海波, 等. 丹参对心衰大鼠心肌保护作用及 SIRT1 和 SDF-1、CXCR4 关系研究[J]. *中药药理与临床*, 2014, 30(6): 96-101.

[13] Periyasamy-Thandavan S, Herberg S, Arounleut P, et al. Caloric restriction and the adipokine leptin alter the SDF-1 signaling axis in bone marrow and in bone marrow derived mesenchymal stem cells [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 410: 64-72.

[责任编辑 周冰冰]