

丹皮酚联合三七总皂苷对心梗后心室重构 大鼠 TNF- α , IL-1 β mRNA 表达的影响

范彦芳, 李前宽, 石凯行, 贾卓雅, 周晓慧, 曹凯*
(承德医学院, 河北承德 067000)

[摘要] **目的:**通过检测丹皮酚联合三七总皂苷用药后大鼠心肌中肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的 mRNA 的变化, 探讨丹皮酚联合三七总皂苷对大鼠急性心肌梗死 (AMI) 后引发心室重构的影响及机制。**方法:**80 只雄性 SD 大鼠中随机选取的 70 只, 结扎左冠状动脉的前降支制备 AMI 大鼠的动物模型。存活且成模大鼠依照干预不同随机的分成模型组、丹皮酚 (Pae 8 mg·kg⁻¹) 组、三七总皂苷 (NTS 40 mg·kg⁻¹) 组、联合低剂量组 (Pae 4 mg·kg⁻¹ + NTS 20 mg·kg⁻¹)、联合高剂量组 (Pae 8 mg·kg⁻¹ + NTS 40 mg·kg⁻¹), 卡托普利组 (10 mg·kg⁻¹) 阳性药组, 此外设立假手术组。各组分别给予相应药物腹腔注射, 连续 28 d。苏木素-伊红 (HE) 染色法观察各组大鼠心肌组织的病理学变化, 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 法检测 NF- κ Bp65, p-I κ B- α 蛋白的表达水平, 逆转录 PCR (RT-PCR) 检测 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 表达水平。**结果:**与假手术组比较, 模型组心肌病理改变明显, NF- κ Bp65, p-I κ B- α 蛋白的表达和 TNF- α , IL-1 β 的 mRNA 表达显著升高 ($P < 0.01$); 同模型组比较, 各用药组心肌病理改变有不同程度改善, 目的蛋白与目的基因的表达显著降低 ($P < 0.01$); 并且联合用药组中各指标的改善情况明显优于单味药组 ($P < 0.05, P < 0.01$), 联合用药高剂量组较低剂量组作用更显著 ($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**丹皮酚联合三七总皂苷能协同改善心梗后大鼠心室重构, 其机制可能与阻断 NF- κ B/I κ B 信号通路, 下调 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 的表达减少炎症反应有关。

[关键词] 丹皮酚; 三七总皂苷; 联合; 心肌梗死; 心室重构

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)12-0132-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017120132

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1436.058.html>

[网络出版时间] 2017-03-24 14:36

Effect of Paeonol Combined with Notoginseng Total Saponins on mRNA Expression of TNF- α and IL-1 β in Rats with Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction

FAN Yan-fang, LI Qian-kuan, SHI Kai-hang, JIA Zhuo-ya, ZHOU Xiao-hui, CAO Kai*
(Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and mechanism of paeonol (Pae) combined with Notoginseng total saponins (NTS) on tumor necrosis factor tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin interleukin-1 β (IL-1 β) mRNA expression levels in myocardium tissues in rats with ventricular remodeling after acute myocardial infarction (AMI). **Method:** Totally 80 male SD rats were selected, and 70 of them were randomly used to establish AMI rat models by ligaturing left anterior descending (LAD) artery. Alive and successfully modeled rats were randomly divided into model group, Pae group (8 mg·kg⁻¹), NTS group (40 mg·kg⁻¹), Pae + NTS group low-dose group (Pae 4 mg·kg⁻¹ + NTS 20 mg·kg⁻¹), high-dose group (Pae 8 mg·kg⁻¹ + NTS 40 mg·kg⁻¹) and captopril positive control group (10 mg·kg⁻¹) according to different

[收稿日期] 20161223(010)

[基金项目] 河北省自然科学基金项目(C2011406009); 河北省教育厅重点项目(ZD20131068)

[第一作者] 范彦芳, 在读硕士, 从事心血管药物药理学研究, Tel:13103078281, E-mail:13103078281@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:0314-2290632, E-mail:caokai58@163.com

interventions, and another 10 rats were used as sham operation group. The rats in various treatment groups received intraperitoneal injection of drugs for 28 days. Then the pathology changes of myocardial tissues were observed by htoxylin eosin (HE) staining; the protein expression levels of NF- κ Bp65 and p-I κ B- α were detected by Western blot assay, and the mRNA expression levels of TNF- α and IL-1 β were detected by reverse transcriptase PCR (RT-PCR). **Result:** As compared with sham operation group, there were obvious myocardial pathological changes in model group, with significantly increased NF- κ Bp65 and p-I κ B- α protein expression levels as well as TNF- α and IL-1 β mRNA expression levels ($P < 0.01$). As compared with the model group, the myocardial pathological changes were improved to varying degrees in various treatment groups, with significantly decreased expressions of interest protein and interest mRNA ($P < 0.01$). In addition, the improvement in combined drug use groups was superior to that in single substance drug group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the effect in high dose combined drug use group was more significant than that in low dose combined drug use group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The combination of Pae and NTS can play obvious synergistic action in improving ventricular remodeling in rats after myocardial infarction, and its mechanism may be associated with blocking the NF- κ B/I κ B pathway, down-regulating mRNA expression levels of TNF- α and IL-1 β , and attenuating the inflammatory reactions.

[**Key words**] paeonol; Notoginseng total saponins; durg combination; myocardial infarction; ventricular remodeling

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 后心肌组织在基因表达、结构、代谢及功能等方面发生模式上的改变重建, 即心室重构, 包括心肌细胞的肥厚, 长宽比例发生变化, 逐渐变性和坏死; 心肌间质发生纤维化; 细胞外基质的胶原网的量和质的改变, 心脏收缩的功能下降。它是导致慢性心衰进而降低患者生存率的关键^[1-2]。因此, 抑制心梗后的心室重构将可暂缓慢性心力衰竭的发生发展。丹皮酚 (paeonol, Pae) 是一类小分子的酚类化合物, 从中药萝藦科植物徐长卿和毛茛科植物牡丹的茎和根皮中分离而来的^[3], 三七总皂苷 (Notoginseng total saponins, NTS) 是五加科植物三七的主要有效成分, 具有补血、止血, 溶栓, 降低心肌组织的耗氧量等多种药理作用^[4]。本课题组前期研究证实, 二者均有抑制心肌纤维化改善心室重构, 保护心血管的作用, 且二者联用可协同抑制转化生长因子- β (TGF- β)/Smads 信号通路改善心室重构^[5-6]。然而, 二者联合应用在影响核因子- κ B (NF- κ B) 信号通路改善心室重构上是否存在协同作用未曾见有报道, 本研究观察 Pae 联合 NTS 对心梗后心室重构大鼠心肌中肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的 mRNA 的变化, 探讨 Pae 联合 NTS 对 NF- κ B/I κ B 信号通路是否具有协同作用。

1 材料

1.1 动物 80 只健康 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 (200 \pm 20) g (北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2012-0001, 本研究获得承

德医学院实验动物伦理委员会批准 (编号 20161011), 所有实验研究均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

1.2 药物及试剂 Pae (丹皮酚注射液, 主要成分丹皮酚, 辅料为聚山梨酯-80, 无水乙醇, 规格 5 g·L⁻¹, 宁波天真制药有限公司, 批号 20110603); NTS (血塞通注射液, 成分为三七总皂苷, 辅料氯化钠, 昆明制药有限公司, 批号 14EJ219-12), 卡托普利片 (开封制药, 批号 20140702); 组织裂解液 (美国 Biomiga 公司, 批号 PC1001); 兔抗 NF- κ Bp65 (美国 Santa Cruze 公司, 批号 SC-109); 小鼠抗 β -actin 及磷酸化-I κ B (p-I κ B) 多克隆抗体 (北京中杉金桥公司, 批号分别为 TA-09, ZS-8404); Trizol (北京 TIANGEN 生物公司, 批号 DPI21221); PCR 反转录试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 批号 RR420A, RR047A); β -肌动蛋白 (β -actin), TNF- α 和 IL-1 β 引物 (上海生物工程股份有限公司, 批号均为 YW-6)。

1.3 仪器 DW3000-B 型小型动物呼吸机 (淮北正华有限公司), ECG-6511 型心电图仪 (上海光电仪器有限公司), DYY-BC 型电泳仪 (北京市六一仪器厂), 全自动快速凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 AMI 模型制备 80 只 SD 大鼠中随机选取的 70 只, 腹腔麻醉, 开胸后结扎大鼠左冠状动脉的前降支制备 AMI 模型, 以心电图显示 ST 段弓背向上抬高 1/2 以上作为 AMI 模型成功建立的标准^[7], 手

术完成后逐层缝合关闭胸腔;剩余 10 只为假手术组,仅在左冠状动脉前降支相同位置处穿线不结扎。手术后青霉素抗感染 3 d,存活大鼠再次心电图检测,实验大鼠术中、术后死亡 6 只,未成模 4 只,将成模大鼠随机分为 6 组,每组 10 只。给药过程中死亡 7 只,剩 63 只完成实验,分别为 Pae 组 9 只($8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),NTS 组 9 只($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),联合低剂量组 9 只(Pae $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + NTS $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),联合高剂量组 9 只(Pae $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + NTS $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),卡托普利组 9 只($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和模型组 8 只。各用药组大鼠以腹腔注射方式每天 1 次给予相应的药物,连续 28 d,模型组和假手术组大鼠同样给药方式给予等量生理盐水 28 d。

2.2 苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠心肌组织病理改变 给药 28 d 后,水合氯醛(4%)腹腔麻醉大鼠,快速开胸取出心脏,切取梗死部位心肌组织浸泡在 10% 中性福尔马林缓冲液中固定,参照文献[8]常规组织脱水包埋,制成蜡块。每组蜡块标本 $4 \mu\text{m}$ 厚度连续切片 3 张,常规 HE 染色,脱蜡至水,乙醇梯度脱水,苏木素染色,0.5% 盐酸乙醇分化,伊红染色,乙醇梯度脱水,透明,封固。每张石蜡切片 200 倍显微镜下观察心肌组织的病理改变,随机截取 5 个视野拍照。

2.3 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测 NF- κ Bp65 和 p-I κ B- α 的蛋白表达水平 在低温环境中,向剪碎的心肌组织 100 mg 中加入 PBS 1 mL,冰上匀浆至均匀且巨检无块状组织,将组织液转移至预冷的离心管中, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min。弃上清,留沉淀。向离心管中加入 1 mL 磷酸盐缓冲液(PBS),混匀器充分震荡。 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 重复此步骤至上清透明为止。弃上清,加入裂解液(RIPA:PMSF = 100:1)500 μL ,冰浴 40 min,每 5 min 震荡一次, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清液。BCA 法进行蛋白含量测定,绘制出标准曲线,取总蛋白 50 μg 上样。按 4:1 混合蛋白液与 $5 \times$ Buffer 上样缓冲液, $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min 至蛋白变性。12% SDS-PAGE 稳压电泳,冰中 130 mA 稳流转膜,含有 5% 脱脂奶粉和 TBST 混合液 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 浸封过夜。次日孵育抗体,将膜放于 1:800 一抗稀释液中室温摇床上孵育 2 h,每次用 TBST 洗膜 15 min,共洗 3 次;加入 1:5 000 二抗稀释液,室温摇床上孵育 2 h,每次用 TBST 洗膜 5 min,共洗 3 次;显影暗室中将 ECL 发光液滴加到载有蛋白的膜上反应 5 min,避光显影、定影。Quantity One 分析软件依次

扫描显影条带灰度值,对目的蛋白和 β -actin 蛋白条带的灰度值进行定量分析,用其比值来表明目的蛋白的相对表达情况。

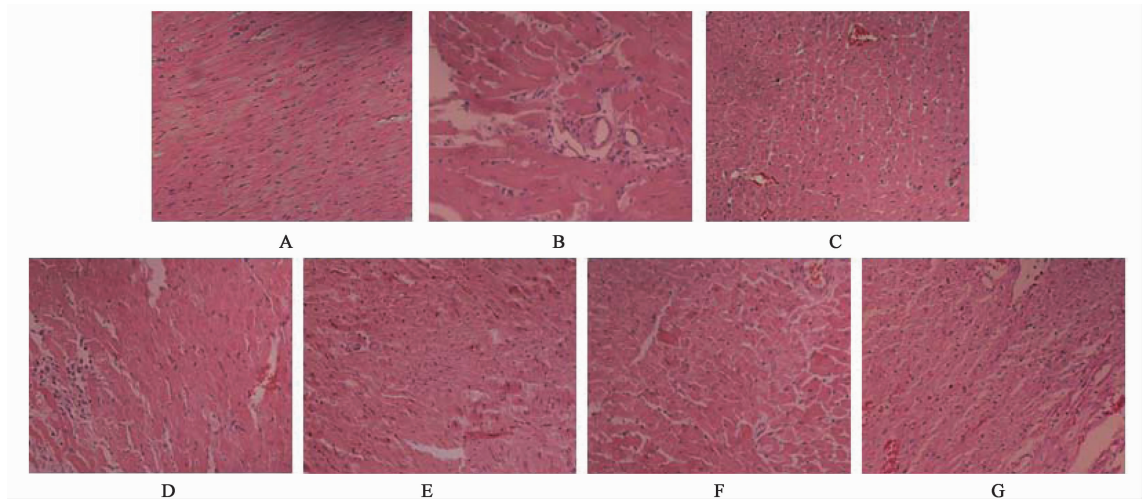
2.4 逆转录 PCR(RT-PCR)检测 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 表达水平 取心脏组织后采用 Trizol 提取总 RNA,将 RNA 反转录成 cDNA,实验步骤严格参照反转录试剂盒所附的说明书进行。RT-PCR 法检测 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 的表达量, β -actin 为内参。TNF- α 的引物序列:上游引物 5'-GTCGTAGCAAA CCACCAAGC-3',下游引物 5'-GAAGAGAACCTGGG AGTAGATAAGG-3',扩增片段 147 bp;IL-1 β 的引物序列:上游引物 5'-AAAAATGCCTCGTGCTGTCT-3',下游引物 5'-TCGTTGCTTGTCTCTCCTTG-3',扩增片段 118 bp; β -actin:上游引物 5'-TGTCACCAACTG GGACGATA-3',下游引物 5'-GGGGTGTGAAGGTC TCAA-3',扩增片段 165 bp。目的基因扩增的反应条件为: $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 3 min 完成预变性, $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 30 s 变性,TNF- α ,IL-1 β 和 β -actin 均在退火温度 $59 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 30 s 完成退火, $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 30 s 完成延伸,共 32 个循环,最后 $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 min。分别取 6 μL 产物,在 150 V 恒压条件下完成 45 min 的琼脂糖凝胶电泳,全自动快速凝胶成像系统观察并摄取图像。用 Quantity One 定量分析软件扫描各产物灰度值,采用目的基因条带的灰度值与 β -actin 基因条带灰度值的比值来分析目的基因 mRNA 的表达量。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件完成数据分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用单因素方差分析进行组间比较,LSD- t 法进行组间多重比较, $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

3 结果

3.1 对心梗后心室重构大鼠心肌组织病理改变的影响 假手术组大鼠心肌组织形态正常;模型组大鼠心肌纤维排列紊乱,出现断裂、溶解、坏死且炎性细胞浸润、结缔组织严重增生,心肌细胞染色不均,胞核固缩、破碎、甚至消失。与模型组比较,各用药组大鼠心肌的病理结构都有不等程度的改善,心肌纤维较完整,排布较整齐,炎性浸润减轻,细胞染色大致匀称,其中联合高剂量组和卡托普利组改善最明显且程度相当。见图 1。

3.2 对心梗后心室重构大鼠心肌组织中 NF- κ Bp65 和 p-I κ B- α 的蛋白表达水平的影响 与假手术组比较,NF- κ Bp65,p-I κ B- α 蛋白的表达量在模型组大鼠心肌组织中显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,NF- κ Bp65,p-I κ B- α 蛋白的表达量在各用药组均中



A. 假手术组; B. 模型组; C. 卡托普利组; D. Pae 组; E. NTS 组; F. 联合高剂量组; G. 联合低剂量组 (图 2, 3 同)

图 1 Pae 联合 NTS 对心梗后心室重构大鼠心肌组织病理改变的影响 (HE, ×200)

Fig. 1 Effect of Pae combined with NTS on pathological changes of myocardial tissues in AMI rats (HE, ×200)

均有不同程度的下降 ($P < 0.01$); 并且, $\text{NF-}\kappa\text{Bp65}$, $\text{p-I}\kappa\text{B-}\alpha$ 蛋白在联合用药组的表达量明显低于单味药组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 联合用药高剂量组降低更明显 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 2, 表 1。

3.3 对心梗后心室重构大鼠心肌组织中 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{IL-1}\beta$ 的 mRNA 表达水平的影响 与假手术组比较, 模型组 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{IL-1}\beta$ 的 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各用药组心肌组

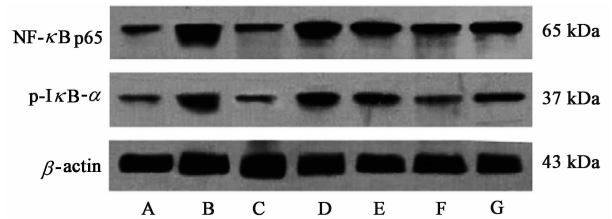


图 2 各组大鼠心肌中 $\text{NF-}\kappa\text{Bp65}$, $\text{p-I}\kappa\text{B-}\alpha$ 蛋白的表达

Fig. 2 Protein expression levels of $\text{NF-}\kappa\text{Bp65}$, $\text{p-I}\kappa\text{B-}\alpha$ in myocardial tissues of each group rats

表 1 Pae 联合 NTS 对心梗后大鼠心肌中 $\text{NF-}\kappa\text{Bp65}$, $\text{p-I}\kappa\text{B-}\alpha$ 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Pae combined with NTS on protein expression levels of $\text{NF-}\kappa\text{Bp65}$, $\text{p-I}\kappa\text{B-}\alpha$ in myocardial tissues of AMI rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	$\text{NF-}\kappa\text{Bp65}/\beta\text{-actin}$	$\text{p-I}\kappa\text{B-}\alpha/\beta\text{-actin}$
假手术	-	10	$0.24 \pm 0.02^{1)}$	$0.16 \pm 0.02^{1)}$
模型	-	8	0.91 ± 0.10	0.77 ± 0.06
卡托普利	10	9	$0.40 \pm 0.07^{1)}$	$0.22 \pm 0.03^{1)}$
Pae	8	9	$0.79 \pm 0.07^{1)}$	$0.45 \pm 0.04^{1)}$
NTS	40	9	$0.75 \pm 0.06^{1)}$	$0.46 \pm 0.02^{1)}$
联合高剂量	8 + 40	9	$0.54 \pm 0.05^{1,3,5,6)}$	$0.31 \pm 0.03^{1,3,5,7)}$
联合低剂量	4 + 20	9	$0.65 \pm 0.06^{1,3,5)}$	$0.38 \pm 0.04^{1,2,4)}$

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与 Pae 组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$; 与 NTS 组比较⁴⁾ $P < 0.05$, ⁵⁾ $P < 0.01$; 与联合低剂量组比较⁶⁾ $P < 0.05$, ⁷⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

织中 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{IL-1}\beta$ 的 mRNA 表达量均有不同程度的降低 ($P < 0.01$); 且联合用药组较 Pae 和 NTS 单味给药组降低明显 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 联合用药高剂量组降低更加显著 ($P < 0.01$)。见图 3, 表 2。

4 讨论

近年调查显示心肌梗死的发病率一路攀升严重威胁了人类的健康^[9-10], 心室重构是 AMI 发生后心

脏自身为保持有效心功能而产生的代偿反应, 为修复已发生的病理改变使心室壁形态结构改建的过程, 但持续的心室重构可使心室壁进行性扩张, 心室不断肥大, 心肌收缩能力逐渐减弱, 从而导致心室功能逐渐衰退, 最终发生心力衰竭而致死亡^[6]。AMI 后心室重构的病理机制复杂多元, 研究表明炎症信号通路, 细胞凋亡, SNS 和 RAAS 都与心室重构的发

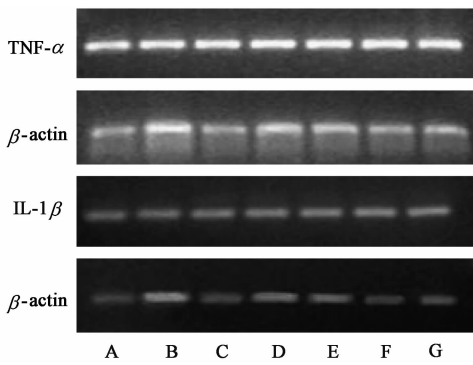


图 3 各组大鼠心肌中 TNF- α , IL-1 β mRNA 的表达
Fig. 3 mRNA expression levels of TNF- α , IL-1 β in myocardial tissues of each group rats

表 2 Pae 联合 NTS 对心梗大鼠心肌中 TNF- α , IL-1 β mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Pae combined with NTS on mRNA expression levels of TNF- α , IL-1 β in myocardial tissues of AMI rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	TNF- α / β -actin	IL-1 β / β -actin
假手术	-	10	0.58 ± 0.03 ¹⁾	0.46 ± 0.05 ¹⁾
模型	-	8	1.30 ± 0.04	1.36 ± 0.06
卡托普利	10	9	0.69 ± 0.03 ¹⁾	0.58 ± 0.06 ¹⁾
Pae	8	9	0.93 ± 0.01 ¹⁾	0.95 ± 0.04 ¹⁾
NTS	40	9	0.90 ± 0.01 ¹⁾	0.94 ± 0.03 ¹⁾
联合高剂量	8 + 40	9	0.71 ± 0.05 ^{1,3,5,7)}	0.63 ± 0.05 ^{1,3,5,7)}
联合低剂量	4 + 20	9	0.86 ± 0.04 ^{1,2,4)}	0.87 ± 0.03 ^{1,2,4)}

κ B 的活化,进而形成细胞因子激活的正反馈通路和恶性循环,加速心室重构^[14-15]。有研究证实,抑制 NF- κ B 的激活降低相关因子的表达,能减轻心肌炎症损伤引起的心室重构,减缓慢性心衰的发生,提高生存质量^[16]。

近年来,中医药治疗心脏疾病在多方面显示出优势,从温阳、益气、活血等方面取得了一定的临床效果,具有广阔的前景,有实验研究证实中药单体在抗心肌纤维化改善心室重构上确有作用,近年来,很多研究仅做研究结果陈述,缺乏将中药抗心肌纤维化改善心室重构的作用与中医学整体观念,辨证论治,中药药性,中药配伍等中医药基础理论进行关联的研究。本课题组前期时召平等^[9]研究证实 Pae 能够抑制心肌纤维化改善大鼠心梗后的心室重构且剂量为 8 mg·kg⁻¹时疗效最佳。也有研究表明,NTS 可通过多种途径治疗心血管疾病,徐江等^[17]在评价 NTS 对大鼠心脏毒性作用的研究中证实 50 mg·kg⁻¹为其不产生心脏毒性作用的剂量,为保证安全有效本研究选用剂量 40 mg·kg⁻¹^[18],因此本实验以中药药性和中药配伍等理论为指导,选取 Pae 和 NTS 联合配伍应用,为中药能够逆转心肌纤维化改善心室

生密切相关。其中炎症通路的激活进而诱导炎症细胞因子过量表达是心室重构发生和发展的主要机制。因此,减轻炎症细胞对心功能的损害显得尤其重要^[11]。NF- κ B 是细胞内重要的核转录因子,参与多种与炎症有关的基因表达的调控,以 p65 二聚体的形式较多见^[12],静息条件下以无活性的 NF- κ B-I κ B 复合物形式存在于胞浆中,外源刺激会引起抑制蛋白 I κ B 降解通过磷酸化、泛素化和蛋白酶途径,导致复合物解体,NF- κ B 启动^[13]。NF- κ B 在激活状态下诱导炎症细胞因子(如 TNF- α , IL-1 β)过表达引发的炎症反应是心室重构发生发展的重要机制, TNF- α , IL-1 β 的过量表达又可以进一步促进 NF-

重构提供更多的理论依据。

本研究结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠 AMI 后心肌发生了纤维化,肌丝断裂明显,组织坏死严重,细胞肥大染色不均,胞核固缩、碎裂;各用药组同模型组比较,心肌组织坏死有不同程度的减轻,细胞形态病理变化有不同程度改善。可见,Pae 和 NTS 均可改善心梗后的心室重构,且与单味药组比较,联合用药组的效果更显著,与联合低剂量组比较,联合高剂量组更有优势。此外, NF- κ Bp65, p-I κ B- α 的蛋白表达量和 TNF- α , IL-1 β 的 mRNA 表达水平在模型组大鼠的心肌组织中显著升高;同模型组比较,各用药组的大鼠心肌组织中 NF- κ Bp65, p-I κ B- α 的蛋白表达量和 TNF- α , IL-1 β 的 mRNA 表达水平均有不同程度降低。表明 Pae 及 NTS 改善 AMI 大鼠心功能和心室重构的分子机制可能是抑制了与 NF- κ B/I κ B 炎症信号通路相关的炎症细胞因子 TNF- α , IL-1 β 的表达,且联合用药组中各个指标均有明显的改善,进一步说明 2 种药合用可能呈现一定的协同的作用。

[参考文献]

[1] 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(3):256-264.
- [2] Elias N, Tarasoutchi F, Spina G S, et al. Myocardial fibrosis and ventricular remodeling in severe chronic aortic regurgitation[J]. *Arq Bras Cardiol*, 2009, 92(1):63-67.
- [3] 胡云飞, 徐国兵. 牡丹皮及其主要成分丹皮酚的药理作用研究进展[J]. *安徽医药*, 2014, 18(4):589-592.
- [4] 武双, 崔秀明, 郭从亮, 等. 三七“生打熟补”物质基础及药理作用研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(8):50-53.
- [5] 赵静怡, 董红玉, 周晓慧, 等. 丹皮酚对急性心肌梗死大鼠心室重构及 NF- κ Bp65, IL-1 mRNA 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(15):177-180.
- [6] 聂丹, 孙红丹, 时召平, 等. 丹皮酚、三七总皂苷组方对心肌梗死后心室重构大鼠 TGF- β /Smads 信号通路的影响[J]. *天津医药*, 2016, 44(4):449-452.
- [7] WU Y W, YIN X, Wijaya C, et al. Acute myocardial infarction in rats[J]. *J Vis Exp*, 2011, 48:2464-2467.
- [8] 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):169-181.
- [9] 时召平, 周晓慧, 徐倩, 等. 丹皮酚对大鼠急性心肌梗死所致心肌纤维化的影响及机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(9):150-155.
- [10] 王玉凤, 王帅, 孟宪生, 等. 基于 NF- κ B 信号通路参心麦和颗粒治疗大鼠冠心病作用机制探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(5):133-137.
- [11] Parish R C, Evans J D. Inflammation in chornic heart failure [J]. *Ann Pharmacother*, 2008, 42 (7): 1002-1016.
- [12] Kanters E, Pasparakis M, Gijbels M J, et al. Inhibition of NF- κ B activation in macrophages increases atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice [J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(8):1176-1185.
- [13] 万大国. NF- κ Bp65 在心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡中的表达及罗格列酮对其影响[J]. *医药论坛杂志*, 2009, 30(16):38-39.
- [14] Monaco C, Andreakos E, Kiriakidis S, et al. Canonical pathway of nuclear factor kappa B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(15):5634-5639.
- [15] 周晓慧, 赵静怡, 张树峰, 等. 丹皮酚通过抑制 NF- κ B 信号通路下调 MMP-9 的表达改善心梗后大鼠的心室重构[J]. *中成药*, 2014, 36(12):2599-2602.
- [16] Hamid T, GU Y, Ortines R V, et al. Divergent tumor necrosis factor receptor-related remodeling responses in heart failure: role of nuclear factor-kappaB and inflammatory activation [J]. *Circulation*, 2009, 119(10):1386-1397.
- [17] 徐江, 彭双清, 闫长会, 等. 三七总皂苷对大鼠心脏血流动力学的毒性反应[J]. *中国新药杂志*, 2009, 18(4):349-352.
- [18] 李丽明, 郭洁文, 邓志军, 等. 三七总皂苷改善心肌梗死后心室重构大鼠心功能作用[J]. *今日药学*, 2009, 19(6):3-6.

[责任编辑 周冰冰]