

· 药理 ·

铁皮石斛对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠 心肌纤维化的抑制作用

李庆敏^{1,2}, 瞿武林², 陈伯钧^{1*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 郴州市第一人民医院, 湖南 郴州 423000)

[摘要] **目的:** 基于缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠模型心动周期、心肌病理切片、心肌半乳糖凝集素 3 (Gal-3) 转化生长因子- β (TGF- β), Smad 同源物 3 重组蛋白 (Smad3) 蛋白表达情况, 探讨铁皮石斛对模型大鼠心肌纤维化的干预效果。**方法:** 采用冠状动脉左前降支进行结扎术建立心衰心气虚型大鼠模型, 将大鼠分为正常组, 模型组, 缬沙坦组 ($9.43 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 铁皮石斛组 ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 共 4 组, 每组 10 只, 正常组和模型组给予等体积生理盐水。通过动物高分辨超声记录仪记录各组大鼠心动周期左室舒张末期内径 (LVEDD), 左室收缩末期内径 (LVESD), 左心射血分数 (LVEF), 左心室短轴缩短率 (LVFS) 变化; 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒测定 I 型胶原羧基端前肽 (PICP), III 型胶原羧基端前肽 (PIIINP); 苏木素-伊红 (HE) 染色观察心肌细胞形态变化, 马松 (Masson) 染色观察心肌纤维组织、胶原组织变化, 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 4 组小鼠心肌半乳糖凝集素 3 (Gal-3), 转化生长因子- β (TGF- β), Smad 同源物 3 重组蛋白 (Smad3) 蛋白表达情况。**结果:** 与正常组比较, 模型组 LVEDD, LVEF, LVFS 水平明显降低 ($P < 0.05$), LVESD, PICP, PIIINP 水平升高 ($P < 0.05$), Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 缬沙坦组、铁皮石斛组 LVEDD, LVEF, LVFS 明显升高 ($P < 0.05$), LVESD, PICP, PIIINP 水平明显降低 ($P < 0.05$), Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), 且铁皮石斛组低于缬沙坦组 ($P < 0.05$); HE 染色结果显示, 铁皮石斛组心肌细胞形态明显改善, Masson 染色结果显示, 铁皮石斛组心肌纤维组织、胶原组织形态明显改善。**结论:** 铁皮石斛可有效抑制缺血再灌注后心衰心气虚症候大鼠心肌纤维化, 机制可能为降低 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达有关。

[关键词] 铁皮石斛; 缺血再灌注; 心衰心气虚证; 心肌纤维化

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2019) 15-0083-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191502

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190417.1344.013.html>

[网络出版时间] 2019-04-18 16:31

Effect and Mechanism of Dendrobii Officinalis Caulis in Intervening and Preventing Myocardial Fibrosis in Rats with Heart Failure and Heart Qi Deficiency Syndrome After Ischemia-reperfusion

LI Qing-min^{1,2}, QU Wu-lin², CHEN Bo-jun^{1*}

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou 423000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expressions of cardiac cycle, myocardial pathology, galectin-3 (Gal-3), transforming growth factor- β (TGF- β), Smad homologue 3 recombinant protein (Smad3) in rats with heart failure and heart failure after ischemia-reperfusion, and the intervention effect of Dendrobii Officinalis Caulis

[收稿日期] 20181226(001)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (81700269); 广东省中医药科学院治未病研究专项 (YN2014WB09); 广东省中医药科学院应用基础研究横向课题项目 (2015KT1136)

[第一作者] 李庆敏, 在读博士, 副主任医师, 从事中西医结合治疗心血管疾病的研究, E-mail: lyuh1983@163.com

[通信作者] * 陈伯钧, 主任医师, 博士生导师, 从事心血管病的预防及治疗研究, E-mail: cbojun_666@163.com

(DOC) myocardial fibrosis in model rats. **Method:** A rat model of heart failure and Qi deficiency was established through ligation of the left anterior descending coronary artery. The rats were divided into blank group, model group, valsartan group ($9.43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and DOC group ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), with 10 in each group. The blank group and the model group were given an equal volume of physiological saline. The changes in left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end-systolic dimension (LVESD), left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS) of the cardiac cycle of rats in each group were recorded by high-resolution ultrasound system. The carboxyterminal propeptide of type I procollagen (PICP), and carboxyterminal propeptide of type III procollagen (PIIINP) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. The morphological changes of myocardial cells were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The changes of myocardial fiber tissue and collagen were observed by Masson staining. Western blot was used to detect the protein expressions of Gal-3, TGF- β , Smad3. **Result:** Compared with the blank group, the levels of LVEDD, LVEF, and LVFS were lower in the model group ($P < 0.05$), the levels of LVESD, PICP and PIIINP were increased ($P < 0.05$), while the expression levels of Gal-3, TGF- β , and Smad3 were decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, LVEDD, LVEF, LVFS of the control group and the experimental group were better than the model group ($P < 0.05$), and LVESD, PICP, PIIINP levels of the experimental group were lower than the control group ($P < 0.05$), LVESD, PPIC, PIIINP were lower than those of the model group ($P < 0.05$), expression levels of Gal-3, TGF- β and Smad3 were lower than those in the model group ($P < 0.05$), and the experimental group was lower than the control group ($P < 0.05$). According to HE staining, the morphological changes in myocardial cells in the experimental group were more significant than that in the control group. Masson staining showed that the morphological changes of myocardial fibrous tissue and collagen tissue in the experimental group were more significant than that in the control group. **Conclusion:** DOC can effectively inhibit myocardial fibrosis in rats with heart failure and heart Qi deficiency syndrome after ischemia-reperfusion. The mechanism may be correlated with the reduction of the expressions of Gal-3, TGF- β and Smad3.

[**Key words**] *Dendrobii Officinalis Caulis*; ischemia-reperfusion; heart failure and heart Qi deficiency syndrome; myocardial fibrosis

心力衰竭是多种心血管疾病发展至终末阶段的主要表现,已经成为人类残疾、死亡的主要原因之一^[1]。心力衰竭发生后,患者心肌多会发生再灌注损伤,致使心肌进一步受损,引发心肌纤维化改变,导致患者心脏功能进一步恶化。心肌纤维化属于心力衰竭发生以及发展过程中的一种病理变化,以心肌细胞组织坏死性凋亡、心脏体积变大、胶原纤维化增生以及室壁厚度异常增加为主要表现。在中医理论中,心力衰竭属于“胸痹”“心悸”等范畴,气虚、血瘀是其主要的病理基础,心气虚则为主要病机^[2-3]。因此通过对心肌纤维化进行抑制,对于延缓心衰具有积极意义。

铁皮石斛最早记载于《神农本草经·草·上品》:味甘平,主伤中,除痹,下气,补五脏虚劳,羸瘦,强阴。《太平圣惠方》载有石斛丸和石斛酒等方剂,具有治疗劳损、心气虚损等作用^[4],现代药理学研究表明具有降低血液黏稠度、改善微循环、抗氧化等多方面效果。近年来也有实验研究证明石斛对冠心病

改善有一定作用,临床上也多用于心脑血管疾病治疗的方剂当中^[5-8]。此次研究以 40 只大鼠为对象,分作 4 组后分别予以不同干预,旨在进一步探讨铁皮石斛阻止缺血再灌注后心衰心气虚证候大鼠心肌纤维化的效果与机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠共 40 只,体质量 220 ~ 260 g,由广州中医药大学实验动物中心提供,饲养条件为温度 20 ℃,湿度 40% ~ 70%,照明、黑暗各 12 h。此研究动物使用与相关动物保护条例相符合,且由广州中医药大学动物实验伦理会批准此研究,编号 2017-026。

1.2 药物与试剂 铁皮石斛购自广西仁济堂中药饮片有限公司,批号 20180905,经广州中医药大学药学院刘中秋教授鉴定为正品,铁皮石斛试剂制备方法为取铁皮石斛干条,粉碎后经过 100 目筛,获得细粉,称取所需剂量后,加入灭菌水搅拌为匀浆。苏木素-伊红 (HE) 染色液 (上海如吉生物科技有限公

司,批号 SJH0446);马松(Masson)染色剂试剂盒(南京森贝伽生物有限公司,批号 SBJ-0288);I 型胶原羧基端前肽(PICP),III 型胶原羧基端前肽(PIIINP)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(中国 Abclonal Technology 公司,批号分别为 ab11042, ab25417);一抗半乳糖凝集素-3(Gal-3),一抗转化生长因子- β (TGF- β),一抗 Smad3,二抗,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(武汉 Servicebio 公司,批号分别为 GB11636, GB11179, GB13196, GB23303, GB11001);戊巴比妥钠(上海新亚药业有限公司,批号 86900796000911);青霉素注射液(华北制药股份有限公司,批号 P20150202135920884);缙沙坦(北京诺华制药有限公司,批号 P20141229151355945,研磨后通过蒸馏水溶解为 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液)。

1.3 仪器 病理图像分析软件为 Image-Pro Plus 6.0(美国 Cybernetics 公司);Vevo770 型小动物高分辨超声仪(加拿大 Visual Sonics 公司),Leica EG1160 型石蜡包埋机,Leica RM2125RTS 型石蜡病理切片机(上海洪纪仪器设备有限公司),800C 型离心机(上海安亭科学仪器厂),ABI-7500 型 PCR 仪(美国 Advanced Bionics 公司)。

2 方法

2.1 模型制备 参考文献[5]进行动物模型造模,通过 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 戊巴比妥钠对大鼠进行腹腔麻醉,以背位进行固定,行气管插管,将呼吸机接入,展开人工呼吸,频率 80 次/min,潮气量 0.7 ~ 0.8 mL。对大鼠左胸 3 ~ 4 肋进行备皮、消毒,作 1.5 cm 切口,钝性对肌层进行分离,开胸。通过开胸器将手术视野扩大,剪开心包,对大鼠左冠状动脉进行扎紧,阻断血流,4 h,解开左冠状动脉,恢复灌注,可见大鼠呼吸、心率平稳后,终止人工呼吸,通过青霉素予以抗感染,对大鼠的冠状动脉左前降支进行结扎,获得心梗 8 周后的缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠模型^[2]。

2.2 分组与干预 依据干预方式差异对 40 只大鼠进行分组,分别为正常组 10 只,常规饲养;模型组 10 只,建立缺血再灌注后心衰心气虚症候模型不予以干预;同时根据“人和动物体表面积折算的等效剂量比率表”换算得到各组给药剂量;模型组 10 只,建立缺血再灌注后心衰心气虚症候模型。缙沙坦及铁皮石斛给药剂量均参照文献中最佳效果剂量设定^[9-10]。缙沙坦给药剂量为 $9.43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃,铁皮石斛给药剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃,正常组与模型组给予等量去离子水灌胃,各组每日均灌胃 1 次,

连续灌胃 2 周。

2.3 超声心动图 予以小鼠麻醉,于胸前备皮,通过动物高分辨超声仪展开检查,测定心动周期左室舒张末期内径(LVEDD),左室收缩末期内径(LVESD),左心射血分数(LVEF),左心室短轴缩短率(LVFS),测量 3 个心动周期,取平均值。

2.4 标本留取 完成心脏超声检测后,于大鼠下腔静脉采集血液标本,置于促凝管中,于 4 °C 环境中行 $4\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 处理,取上清保存于 -80 °C 环境中。安乐处死大鼠,对其心脏组织进行留取,通过 4 °C 生理盐水进行冲洗,将大鼠心房、右心室剪去,留下左心室,对横截面进行留取,通过 4% 的多聚甲醛进行固定,保存备用。

2.5 ELISA 试剂盒检测血清 PICP,PIIINP 水平 取大鼠血清,通过 ELISA 试剂盒测定 PICP,PIIINP,操作均按照说明书进行。

2.6 HE 染色观察大鼠心肌组织变化 取出待测标本,通过 4 °C 的生理盐水进行冲洗,以 4% 多聚甲醛进行 24 h 固定,取出,逐级实施乙醇脱水,以二甲苯进行透明处理,浸蜡,通过石蜡进行包埋,切片,置入 60 °C 烤箱,0.5 h。逐步行脱蜡、乙醇水化处理,以苏木素进行 5 min 浸泡,自来水洗涤,通过 1% 盐酸乙醇进行分化处理,自来水洗涤,返蓝,于镜下进行观察,通过 1% 伊红进行 1 min 浸泡,逐级行乙醇脱水,透明、封片,镜下观察心肌形态。

2.7 Masson 染色观察大鼠肌纤维组织变化 取出待测标本,通过双蒸水进行冲洗,以 70% 乙醇和 90% 乙醇分别予以浸泡,至脱水后,以二甲苯予以透明,1 h 后,加入石蜡浸泡心肌组织,冷却包埋 30 min,于切片机上对蜡块切片处理,厚度控制 $4 \mu\text{m}$,予以脱蜡,以苏木素染色液对其进行染色,时长为 10 min,再以双蒸水冲洗,以 1% 盐酸-乙醇进行 15 s 处理,并用双蒸水进行 25 min 冲刷,以 Masson 丽春红酸性品红液予以 10 min 染色,再用双蒸水冲刷,通过 1% 磷钼酸水溶液对其进行分化,再用苯胺蓝液予以 5 min 的染色,以 1% 冰醋酸对染色切片进行 1 min 浸泡,并以 95% 乙醇与无水乙醇展开脱水处理后,以二甲苯予以透明,待其干透前滴加足量中性树胶,确保切片充分浸泡,待中性树胶成功封固,镜下观察。

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达情况 取脑组织 50 mg,冰上研磨, $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 取上清,用 BCA 蛋白质试剂盒测定 3 组蛋白量;依次加样、

凝胶电泳、转膜和室温封闭;按抗体说明书加入一抗 Gal-3 (1 : 3 000), TGF- β (1 : 3 000), Smad3 (1 : 3 000), 内参为 GAPDH, 置 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜, 洗膜, 再加入二抗 (1 : 1 万), ECL 显色;置于凝胶图像成像分析系统, 曝光各组蛋白条带, 拍照, 用 Image J 量化 Western blot 条带灰度值。

2.9 统计学分析 对研究数据展开统计学分析前, 予以 Kolmogorov-Smirnov 检验, 分类资料统计应用表, PXC 表卡方检验进行, Fisher 检验低数量指标, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验定量资料, 水平因素较多时展开 F 检验, S-N-K 检验多重对比, 随后以

SPSS 21.0 展开分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠 LVEDD, LVESD, LVEF, LVFS 的影响 与正常组比较, 模型组 LVEDD, LVEF, LVFS 水平明显降低, LVESD 水平明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 缬沙坦组及铁皮石斛组 LVEDD, LVEF, LVFS 水平明显升高, LVESD 水平明显降低 ($P < 0.05$), 且铁皮石斛组 LVEDD, LVESD, LVEF, LVFS 优于缬沙坦组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 铁皮石斛对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠 LVEDD, LVESD, LVEF, LVFS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of *Dendrobii Officinalis Caulis* (DOC) on LVEDD, LVESD, LVEF and LVFS in rats with heart failure and Qi deficiency after ischemia-reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	LVEDD/mm	LVESD/mm	LVEF/%	LVFS/%
正常	-	7.81 \pm 0.35	3.69 \pm 0.13	83.12 \pm 4.35	45.68 \pm 3.56
模型	-	7.14 \pm 0.23 ¹⁾	4.92 \pm 0.24 ¹⁾	53.76 \pm 2.83 ¹⁾	26.54 \pm 2.35 ¹⁾
缬沙坦	9.43	7.68 \pm 0.13 ²⁾	4.79 \pm 0.21 ²⁾	62.38 \pm 1.79 ²⁾	31.58 \pm 2.12 ²⁾
铁皮石斛	10	7.52 \pm 0.12 ^{2,3)}	4.17 \pm 0.18 ^{2,3)}	68.86 \pm 2.64 ^{2,3)}	37.26 \pm 2.18 ^{2,3)}

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$; 与缬沙坦组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.2 对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠血清 PICP, PIIINP 的影响 与正常组比较, 模型组血清 PICP, PIIINP 水平明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 缬沙坦组、铁皮石斛组血清 PICP, PIIINP 水平明显降低 ($P < 0.05$), 铁皮石斛组血清 PICP, PIIINP 水平较缬沙坦组低 ($P < 0.05$)。见表 2。

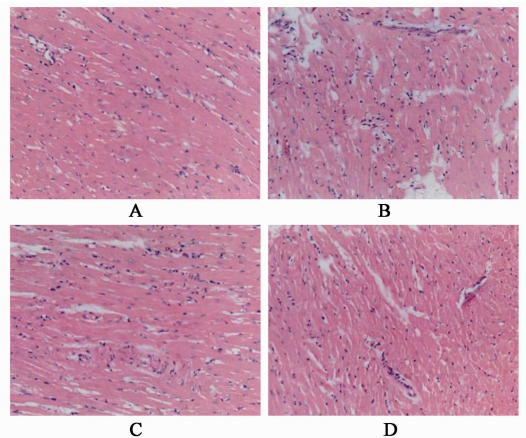
表 2 铁皮石斛对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠血清 PICP, PIIINP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of DOC on serum PICP and PIIINP in rats with heart failure and Qi deficiency after ischemia-reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	PICP	PIIINP
正常	-	13.28 \pm 1.57	6.12 \pm 0.45
模型	-	33.24 \pm 3.56 ¹⁾	15.68 \pm 0.56 ¹⁾
缬沙坦	9.43	26.72 \pm 2.33 ²⁾	11.67 \pm 0.35 ²⁾
铁皮石斛	10	21.13 \pm 1.34 ^{2,3)}	9.83 \pm 0.23 ^{2,3)}

3.3 对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠心肌形态的影响 正常组大鼠心肌细胞呈整齐状态排列, 胞核密度适中, 清晰可见胞浆纹理, 细胞间隙处于正常状态; 模型组小鼠心肌细胞排列紊乱, 可见多种形态, 心肌细胞肥大, 核深染, 细胞间隙较大, 可见空泡性改变, 间质血管可见充血; 缬沙坦组小鼠心肌细胞

有一定紊乱, 部分核深染, 可见轻度的空泡变性; 铁皮石斛组小鼠心肌细胞基本整齐, 心肌细胞无明显肥大, 核染不明显, 伴有少量间质血管充血。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 缬沙坦组; D. 铁皮石斛组

图 1 铁皮石斛对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠心肌形态病理学变化的影响 (HE, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of DOC on myocardial morphological pathological changes in rats with heart failure and Qi deficiency after ischemia-reperfusion (HE, $\times 200$)

3.4 对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 缬沙坦组、铁皮石斛组

Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$), 且铁皮石斛组低于缙沙坦组 ($P < 0.05$)。见图 2, 表 3。

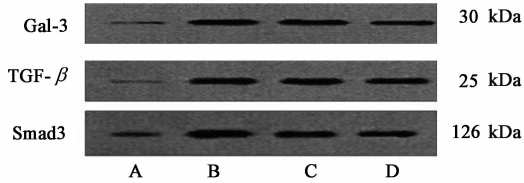


图 2 各组大鼠 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达电泳
Fig. 2 Electrophoresis of Gal-3, TGF- β and Smad3 proteins expression in rats

表 3 铁皮石斛对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of DOC on expression of Gal-3, TGF- β and Smad3 in rats with heart failure and Qi deficiency after ischemia-reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	Gal-3 /GAPDH	TGF- β /GAPDH	Smad3 /GAPDH
正常	-	0.51 ± 0.21	0.46 ± 0.18	0.55 ± 0.17
模型	-	0.91 ± 0.18 ¹⁾	0.77 ± 0.13 ¹⁾	0.84 ± 0.14 ¹⁾
缙沙坦	9.43	0.62 ± 0.19 ³⁾	0.48 ± 0.17 ³⁾	0.64 ± 0.18 ³⁾
铁皮石斛	10	0.65 ± 0.24 ³⁾	0.52 ± 0.23 ³⁾	0.67 ± 0.16 ²⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ 。

3.5 对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠肌纤维组织的影响 Masson 染色中, 红色表明肌纤维组织正常, 蓝色表明胶原纤维。与正常组比较, 模型组大鼠心肌细胞组织的排列紊乱, 且胶原纤维染色面积多, 表明模型组大鼠心肌间质纤维化。与模型组比较, 缙沙坦组大鼠心肌胶原纤维沉积情况较模型组有所改善, 铁皮石斛组心肌细胞组织的结构排列明显更为整齐, 心肌胶原纤维降低, 提示铁皮石斛组大鼠心肌纤维化有所改善, 且改善情况好于缙沙坦组。见图 3。

4 讨论

心力衰竭是相关心脏疾病发展至晚期导致心功能不全的一种综合征, 患病率、死亡率均较高, 相关研究显示, 心力衰竭 5 年存活率相似于恶性肿瘤^[11]。在中医理论中, 心衰最早见于《脉经》, 中医认为依据不同病机、症状, 心衰可分为多种证型, 心衰-心气虚型是其中常见的一种, 病位虽然在心, 但与肺、脾等密切相关, 初期症状以心气虚为主, 病情进一步发展可见心阳虚、血虚^[12]。心衰心气虚的直接诱因是毒邪侵袭, 毒邪对心脉造成堵塞, 则脉管

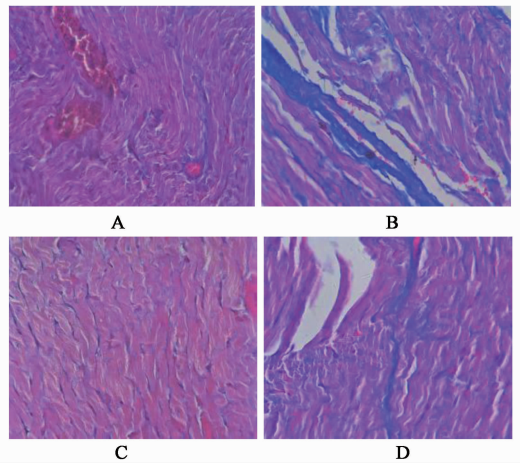


图 3 铁皮石斛对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠肌纤维组织的影响 (Masson, $\times 200$)

Fig. 3 Effect of DOC on muscle fiber tissue of rats with heart failure and Qi deficiency after ischemia-reperfusion (Masson, $\times 200$)

不通, 加之心气虚无法对血气运行进行推动, 瘀血内阻, 进一步对气机造成阻碍, 导致心肌发生纤维化改变^[13]。

再灌注损伤发生机制极为复杂, 临床研究多认为与心肌活性氧增加、钙超载、炎症反应等有关^[14]。铁皮石斛是兰科附生草本植物, 有“救命仙草”之美誉, 主要成分为多糖, 具有抗炎、抗氧化^[15]、抗动脉粥样硬化、抗疲劳、降压^[16]等多方面作用。唐汉庆等^[17]以大鼠心律失常模型, 予以铁皮石斛多糖干预, 发现铁皮石斛可对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶进行调节, 达到改善冠心病慢性心律失常的效果。本研究结果显示, 实验组 LVEDD, LVESD, LVEF, LVFS 优于模型组, 差异有统计学意义。这与翟旭峰等^[18]的研究结果相似。PICP, PIIINP 水平是反应心肌 I 型, III 型胶原合成情况的主要指标, 也是反应心肌纤维化改变的主要指标^[19-21]。本次研究结果显示, 缙沙坦组、实验组 PICP, PIIINP 水平较模型组低, 且实验组较缙沙坦组低, 差异有统计学意义, 提示铁皮石斛可降低缺血再灌注后心衰心气虚证大鼠血清 PICP, PIIINP 水平, 进而改善阻止心肌纤维化改变。本次研究通过 HE 染色对 4 组大鼠心肌形态进行观察, 经干预后, 实验组心肌形态优于缙沙坦组, Masson 染色后观察, 实验组心肌纤维组织、胶原组织形态改善优于缙沙坦组, 表明铁皮石斛可改善缺血再灌注后心衰心气虚证大鼠心肌形态, 对心肌纤维化进行抑制。Gal-3 是一种由巨噬细胞分泌的蛋白, 是炎症、心肌纤维化的主要介质, 可通过对心肌纤维化、炎症进行调解, 引发心肌重构, 加重心功能

损伤^[22-23]。在心脏纤维化改变中,AngII 发挥着主导作用,可对 TGF- β 表达进行调节,刺激细胞外基质胶原产生,导致心肌发生纤维化改变^[24-27]。本次研究结果显示缙沙坦组、实验组 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达较模型组低,且实验组低于缙沙坦组,表明铁皮石斛可下调 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达。

综上所述,铁皮石斛可有效阻止缺血再灌注后心衰心气虚症候大鼠心肌纤维化改变,其机制可能为下调 Gal-3, TGF- β , Smad3 蛋白表达。但此次研究缺乏大样本数据分析,且仅为大鼠模型试验,尚需展开进一步研究,以探讨铁皮石斛阻止缺血再灌注后心衰心气虚症候大鼠心肌纤维化的作用与机制。

[参考文献]

[1] La V L, Mezzana G, Ometto R, et al. Detectable serum troponin I in patients with heart failure of nonmyocardial ischemic origin[J]. *Am J Cardiol*, 2016, 80(1): 88-90.

[2] 马金, 张艳. 慢性心力衰竭中医病机“气虚-血瘀-水停”与“心室重构”的相关性探讨[J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25(17): 1936-1938.

[3] 孙龙飞, 安冬青, 郭龙. 心力衰竭的中医药治疗优势与特色[J]. *中国中医急症*, 2016, 25(3): 452-456.

[4] 王怀隐. 太平圣惠方[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1958: 245.

[5] 陈桦, 王兵, 唐汉庆, 等. 铁皮石斛多糖对冠心病模型家兔心功能及心肌收缩能力的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(21): 139-143.

[6] 唐汉庆, 赵玉峰, 李天资, 等. 铁皮石斛对冠心病模型家兔心功能和血管变化的影响[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2015, 17(4): 856-860.

[7] 赵智强, 吴勉华, 周学平, 等. 周仲瑛教授从瘀热论治心脑血管疾病学术思想探讨[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2011, 13(9): 5-7.

[8] 黄小珊, 张世田, 唐汉庆, 等. 壮通饮预处理对冠心病血瘀证大鼠 Ang II, AT-1R, Cx43 及其对再灌注损伤的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(16): 157-162.

[9] 王伟伟. Ang II/AT1R 与 PI3K/Akt/eNOS 信号通路在高血压心房结构重塑中的作用以及替米沙坦对高血压大鼠房颤易感性的影响[D]. 福州: 福建医科大学, 2015.

[10] 周琪. 铁皮石斛水提物对糖尿病小鼠血糖和肠道菌群的影响[D]. 大连: 大连医科大学, 2017.

[11] Grassi G, Seravalle G, Quarti-Trevano F, et al. Excessive sympathetic activation in heart failure with obesity and metabolic syndrome: characteristics and mechanisms[J]. *Hypertension*, 2016, 49(3): 535-541.

[12] 田鲜美, 刘宇, 王玫, 等. 参附注射液治疗急性心力衰竭(心气阳虚证)并快速性心律失常的临床观察[J]. *中国中医急症*, 2017, 26(4): 676-679.

[13] 李鹤, 刘亚洋, 徐素娥, 等. 益气舒心汤对舒张性心力

衰竭(心气虚证)病人心功能及生活质量的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2016, 14(7): 693-695.

[14] LIU Y, YANG H, LIU L X, et al. NOD2 contributes to myocardial ischemia/reperfusion injury by regulating cardiomyocyte apoptosis and inflammation[J]. *Life Sci*, 2016, 149(4): 10-16.

[15] 张四杰, 钱正, 刘京晶, 等. 铁皮石斛花中花色成分抗氧化性和稳定性研究[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(10): 2025-2031.

[16] 梁凯伦, 方萍, 施秋秋, 等. 铁皮石斛花对高糖高脂饮酒致高血压大鼠的降压作用及机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(1): 147-153.

[17] 唐汉庆, 王兵, 廉春容, 等. 铁皮石斛多糖对冠心病慢性心律失常大鼠 NO、cGMP 及 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响[J]. *动物医学进展*, 2016, 37(12): 77-81.

[18] 翟旭峰, 王瑾, 郑爽, 等. 铁皮石斛对缺血再灌注诱导的心律失常的保护作用[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(7): 1-8.

[19] 赵桂峰, 吴丽玉, 许传嘉. 芪参益气滴丸对心梗后大鼠心功能及心肌纤维化相关蛋白表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(4): 131-136.

[20] MA K, ZHANG C, HUANG M Y, et al. Crosstalk between Beclin-1-dependent autophagy and caspase-dependent apoptosis induced by tanshinone IIA in human osteosarcoma MG-63 cells[J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(4): 1807-1818.

[21] Ravassa S, López B, Querejeta R, et al. Phenotyping of myocardial fibrosis in hypertensive patients with heart failure. Influence on clinical outcome[J]. *J Hypertens*, 2017, 35(4): 853-861.

[22] Souza D F, Silva D N, Carvalho R H, et al. Association of cardiac galectin-3 expression, myocarditis, and fibrosis in chronic chagas disease cardiomyopathy[J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(5): 1134-1146.

[23] 黄海烽, 王春花, 赵玲璐, 等. 丹酚酸 B 抑制血管紧张素 II 诱导心肌成纤维细胞增殖与分化的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(13): 128-132.

[24] 肖一佳, 沈祥春, 李杰平, 等. 心肌纤维化与 TGF- β -Smad 信号系统[J]. *中国新药杂志*, 2016, 25(2): 182-186.

[25] Khan S A, DONG H, Jennifer J, et al. Fibulin-2 is essential for angiotensin II-induced myocardial fibrosis mediated by transforming growth factor (TGF)- β [J]. *Lab Invest*, 2016, 96(7): 773-783.

[26] WU N, GE Y, ZHOU Y, et al. Nanosized titanium dioxide resulted in the activation of TGF- β /Smads/p38MAPK pathway in renal inflammation and fibrosis of mice[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2016, 104(6): 1452-1461.

[27] 石斌豪, 徐宗佩, 樊官伟. 基于 TGF- β_1 /Smads 信号通路治疗心肌梗死后心肌纤维化的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(1): 5-8.

[责任编辑 周冰冰]