

参麦注射液通过调控 TGF- β /Smads 信号通路改善慢性心力衰竭大鼠心室重构的作用研究^Δ

施 洋^{1,2*}, 张晟肇^{3#}, 陈振东¹, 曹永宏⁴, 王 辉⁴, 杨英来⁵, 王洋洋⁵ (1. 克拉玛依市中西医结合医院(市人民医院)药剂科, 新疆 克拉玛依 834000; 2. 天津中医药大学中医药研究院, 天津 301617; 3. 新疆维吾尔自治区人民医院克拉玛依医院药学部, 新疆 克拉玛依 834000; 4. 克拉玛依市中西医结合医院(市人民医院)检验科, 新疆 克拉玛依 834000; 5. 新疆第二医学院药学院, 新疆 克拉玛依 834000)

中图分类号 R932;R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2024)09-1025-06

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2024.09.001



摘要 目的:研究参麦注射液对慢性心力衰竭(CHF)模型大鼠心脏功能改善的作用机制。方法:将40只大鼠按照随机数字表法分为假手术组(0.9%氯化钠注射液,肌内注射)、模型组(0.9%氯化钠注射液,肌内注射)、阳性对照组(缬沙坦10 mg/kg,灌胃给药)和SMI组(参麦注射液0.38 mL/kg,肌内注射),每组10只。除假手术组外,其余各组大鼠均采用左冠状动脉前降支结扎法制备CHF模型。造模成功后,每组大鼠1日给药1次,连续28 d。采用超声心动仪观测大鼠左心室变化并结合血流动力学改变评估心功能状况,应用酶联免疫吸附试验测定N末端B型利钠肽原(NT-proBNP)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、结缔组织生长因子(CTGF)水平,利用苏木精-伊红染色及MASSON染色观察心肌形态学变化。通过实时定量逆转录聚合酶链式反应检测TGF- β 1、Smad蛋白(Smad2、Smad3及Smad7)表达水平。结果:与假手术组相比,模型组大鼠左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)、收缩末期左心室后壁厚度(LVPWs)、流出道血流峰值、左心室内压(LVP)、左心室收缩压(LVSP)、左心室压力最大上升速率和最大下降速率(+dp/dt_{max}, -dp/dt_{min})均明显降低,收缩末期左心室容积(LV Vols)、内径(LVIDs)和左心室舒张末压(LVEDP)明显升高;血清NT-proBNP、TGF- β 1、MMP-9和CTGF水平显著升高;心肌组织中TGF- β 1、Smad2、Smad3的mRNA表达程度升高,Smad7 mRNA表达程度降低,上述差异均有统计学意义($P < 0.01$)。形态学结果显示,CHF大鼠存活心肌细胞少,结构凌乱,纤维化程度严重。与模型组相比,SMI组可显著提升CHF大鼠心脏LVEF、LVFS和LVPWs水平,减少LV vols、LVIDs,改善血流动力学情况,降低NT-proBNP、TGF- β 1、MMP-9和CTGF水平,显著下调心肌TGF- β 1、Smad2、Smad3 mRNA表达并上调Smad7 mRNA表达水平,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。参麦注射液可抑制心肌细胞坏死,减轻心肌纤维化。结论:参麦注射液可通过提高心功能,改善血流动力学,减轻心肌损伤,降低纤维化程度,并调控TGF- β /Smads信号通路等多途径实现抑制心室重构作用,发挥抗CHF作用。

关键词 参麦注射液;慢性心力衰竭;心功能;心室重构;转化生长因子- β /Smads蛋白信号通路;心脏保护

Effect of Shenmai Injection on Improving Ventricular Remodeling in Rats with Chronic Heart Failure by Regulating TGF- β /Smads Signaling Pathway^Δ

SHI Yang^{1,2}, ZHANG Shengzhao³, CHEN Zhendong¹, CAO Yonghong⁴, WANG Hui⁴, YANG Yinglai⁵, WANG Yangyang⁵ (1. Dept. of Pharmacy, Karamay Municipal Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine (Karamay Municipal Peoples' Hospital), Xinjiang Karamay 834000, China; 2. Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 3. Dept. of Pharmacy, Karamay Hospital, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Xinjiang Karamay 834000, China; 4. Dept. of Laboratory, Karamay Municipal Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine (Karamay Municipal Peoples' Hospital), Xinjiang Karamay 834000, China; 5. College of Pharmacy, Xinjiang Second Medical College, Xinjiang Karamay 834000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To probe into the mechanism of Shenmai injection (SMI) on improving ventricular remodeling in rats with chronic heart failure (CHF). **METHODS:** According to random number table method, 40 rats

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81774050);新疆维吾尔自治区青年科学基金项目(No. 2022D01B194);克拉玛依市首届科技创新人才培养项目(No. 克科发[2023]1号);克拉玛依市中西医结合医院(市人民医院)院级科研项目(No. Kzxy2023003)

* 主管药师,硕士。研究方向:临床药学、心血管药理学。E-mail: shiyangtjutm@126.com

通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:临床药学、循证药学。E-mail: zsz90877@163.com

were divided into sham surgery group (0.9% sodium chloride injection, intramuscular injection), model group (0.9% sodium chloride injection, intramuscular injection), positive control group (valsartan 10 mg/kg, intramuscular injection) and SMI group (Shenmai injection 0.38 mL/kg, intramuscular injection), with 10 rats in each group. Except for sham surgery group, another groups were established CHF model by ligation of left anterior descending coronary artery. After establishment of the model, the related drugs were administered once a day for 28 d. Echocardiography was applied to observe the changes of left ventricular and evaluate situation of cardiac function based on hemodynamics. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were performed to measure serum levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), matrix metalloproteinases 9 (MMP-9) and connective tissue growth factor (CTGF). Morphological changes of myocardium were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining and MASSON staining. Expression levels of TGF- β 1, Smad2, Smad3 and Smad7 were detected through quantification reverse transcription polymerase chain reaction. RESULTS: Compared with the sham group, the left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular short-axis shortening rate (LVFS), left ventricular posterior wall thickness (LVPWs), aortic flow peak velocity (AV Peak Velocity), left ventricular pressure (LVP), left ventricular systolic pressure (LVSP), $+dp/dt_{\max}$ and $-dp/dt_{\min}$ in the model group decreased significantly; and left ventricular volume (LV vols), left ventricular end-systolic diameter (LVIDs), left ventricular end diastolic pressure (LVEDP) increased significantly; the serum levels of NT-proBNP, TGF- β 1, MMP-9 and CTGF decreased significantly; the mRNA expression of TGF- β 1, Smad2, and Smad3 increased significantly, the mRNA expression of Smad7 decreased significantly, with statistically significant differences ($P < 0.01$). The morphological analysis showed that there was little cardiomyocyte remained in myocardium with structural disorder and serious degree of fibrosis. Compared with the model group, SMI can significantly increase the levels of LVEF, LVFS and LVPWs in the heart of rats with CHF, reduce LV vols and LVIDs, improve hemodynamics, and reduce the levels of NT-proBNP, TGF- β 1, MMP-9 and CTGF, down-regulate the mRNA expression of TGF- β 1, Smad2 and Smad3 and up-regulate the mRNA expression of Smad7, with statistically significant differences ($P < 0.01$). SMI can inhibit myocardial cell necrosis and alleviate myocardial fibrosis. CONCLUSIONS: SMI could inhibit ventricular remodeling and achieve anti-CHF effects by participating into enhancing cardiac function, improving hemodynamics, alleviating myocardial injury, reducing the degree of fibrosis and regulating TGF- β /Smads signaling pathway.

KEYWORDS Shenmai injection; Chronic heart failure; Cardiac function; Ventricular remodeling; Transforming growth factor- β /Smads signaling pathway; Cardioprotection

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是复杂的临床综合征,常伴随心脏结构改变、射血功能异常、利钠肽水平升高和血流动力学紊乱等^[1]。该病发病率和病死率远超其他疾病,已严重威胁人类生命健康。据流行病学调查,我国 CHF 患病率为 0.9%,35 岁以上人群 CHF 患病率为 1.3%,住院患者病死率为 2.8%,中位生存期为 34 个月^[2]。改善心脏功能、缓解临床症状、降低病死率、提高患者生活质量,既是临床诊疗过程中的焦点,又是生命科学领域研究的热点。参麦注射液由红参、麦冬 2 味中药组方,经现代生产工艺流程制备成中药注射剂,具有益气固脱、养阴生津、生脉的功效^[3-4]。心室重构是特殊的病理过程,发生于心肌损伤后病变修复,表现为心脏形态结构的改变,与 CHF 进展密切相关^[5]。基于此,本研究通过建立 CHF 大鼠模型,旨在考察参麦注射液对大鼠心功能、血流动力学和心脏形态学的影响,探讨其改善 CHF 过程中心室重构的作用机制。

1 材料

1.1 动物

40 只 SPF 级健康雄性 SD 大鼠,体重为 220~240 g,购自新疆医科大学[实验动物生产合格证号:SCXK(新)2023-0001]。购入后饲养于新疆第二医学院实验动物中心,保持室

温 20~25 ℃,相对湿度 40~60%,12 h 明暗环境交替。采用标准饲养方式喂养大鼠,每日定时定量投放鼠粮,饮水不限,垫料每 2 日更换 1 次,适应性饲养 1 周。所有涉及大鼠的实验操作均经过新疆第二医学院实验动物伦理委员会审核批准后执行(伦理批号:SMC-SYLL2023015)。

1.2 仪器

ALC-V8 型小动物呼吸机(上海精密科学仪器有限公司);MP-150 型多导生理记录仪(美国 Biopac 公司);STEMI2000-C 型体视显微镜(德国 Carl Zeiss 公司);VS4153 型超声系统气体麻醉装置、Vevo2100 型小动物超声仪(加拿大 Visual Sonics 公司);PowerLab 压力-容积测定系统(澳大利亚 ADInstruments 公司);Enspire 多功能酶标仪(美国 PerkinElmer 公司);DP71 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);CFX96 型荧光定量聚合酶链反应仪(美国 BIO-RAD 公司);DU-800 型核酸蛋白分析仪(美国 Beckman 公司);VCX130 型超声波细胞破碎仪(美国 Sonics 公司);Pico17 型微量台式离心机(美国 Thermo Fisher 公司)。

1.3 药品与试剂

参麦注射液(四川川大华西药业股份有限公司,国药准字 Z20053302;规格:每支装 20 mL;批号:221014);注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司,国药准字 H13020655;规格:

160 万 U;批号:J3072313);缬沙坦胶囊(珠海天大药业有限公司,国药准字 H20030777;规格:80 mg;批号:3231237)。N 末端 B 型利钠肽原(NT-proBNP)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)和结缔组织生长因子(CTGF)试剂盒(武汉优尔生科技股份有限公司,批号:CEA485Ra、SEA124Ra、SEA553Ra 和 SEA010Ra);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司,批号:C230901);MASSON 三色染色试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司,批号:BP-DL021);Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司,批号:66108);反转录试剂盒、扩增试剂盒(瑞士 Roche 公司,批号:04379012001、04913914001)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

按照随机数字表法将 40 只 SD 大鼠分为假手术组、模型组、阳性对照组和 SMI 组,每组 10 只。除假手术组外,其余各组大鼠均采用左冠状动脉前降支结扎法建立心肌梗死模型,以心电图表现为 ST 段弓背上抬,T 波高耸,QRS 波电压增高伴波幅增宽,即判定心肌梗死造模成功。术后腹腔注射青霉素钠(40 万 U/只)连续 3 d 抗感染,常规饲养 28 d 后超声检测左心室射血分数(LVEF),以 LVEF $\leq$ 35%判定为 CHF 模型制备成功^[6]。

各组大鼠 CHF 造模成功后,按照下列剂量及方式给药:假手术组和模型组大鼠给予 0.9%氯化钠注射液 0.38 mL/kg,肌肉注射;阳性对照组大鼠给予缬沙坦胶囊溶液(取缬沙坦胶囊 1 粒,剥去胶囊壳加入 80 mL 纯水中溶解,于超声波振荡 30 min 助溶,即得质量浓度为 1 mg/mL 的缬沙坦溶液)10 mg/kg,灌胃给药;SMI 组大鼠给予参麦注射液 0.38 mL/kg,肌肉注射。该剂量按照临床实际用量换算获得。各组大鼠自术后第 1 日起每日给予相关药物 1 次,连续 28 d,期间密切观察并记录死亡情况。所有大鼠于末次给药 2 h 后行超声心动检测,经脊椎脱臼法处死并留取心脏标本。

2.2 左心室超声心动及血流动力学评价

大鼠称重标记后胸前区备皮,固定于平台中央,以异氟烷麻醉(完全麻醉:1%氧气+5%异氟烷于麻醉盒内麻醉;持续麻醉:1%氧气+2%异氟烷面罩吸入麻醉)后行超声心动检测。在 B-型超声模式(B-Mode)下获取左心室长轴切面图像,随即切换至 M-型超声模式(M-Mode),获取最大腔径处图像保存。采用长轴测量包(PLAX)分别测量大鼠左心室收缩期及舒张期各项参数,得到左心室前壁厚度(LVAW)、左心室内径(LVID)、左心室后壁厚度(LVPW)和左心室容积(LV Vol)等指标,应用系统自带软件包计算 LVEF 和左心室短轴缩短率(LVFS)。导管经右侧颈总动脉插入左心室,待心室内压波形稳定测量流出道血流峰值(AV Peak Velocity)、左心室内压(LVP)、左心室收缩压(LVSP)、左心室舒张末压(LVEDP)、左心室压力最大上升速率和最大下降速率(+dp/dt_{max}, -dp/dt_{min}),以评估血流动力学情况。

2.3 血清 NT-proBNP、TGF- β 1、MMP-9 和 CTGF 水平测定

大鼠处死前经眼内眦取血,血样置于 37℃恒温水浴中静置 30 min,后以 3 500 r/min 离心(离心半径为 10 cm)15 min,取上清液分装于 200 μ L 的 EP 管中,严格按照试剂盒说明书操作步骤及注意事项执行血清 NT-proBNP、TGF- β 1、MMP-9 和

CTGF 水平测定。

2.4 左心室心肌形态学观察

在 4%多聚甲醛溶液中固定各组大鼠心脏,在紧邻心尖部 1/3 平行于房室沟横切获得 3 mm 厚度心脏组织,进行脱水、透明和石蜡包埋等常规处理,制作 5 μ m 切片。将所得切片经摊展、烘干、烤片后置于室温(25℃)过夜,完全自然干燥后行 HE 染色和 MASSON 染色。封片完成晾干后在倒置显微镜下观察心肌形态学变化并拍照留存。

2.5 心室重构因子表达水平测定

取各组大鼠心脏,剪开右心耳,经 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲溶液冲洗至无残留血液流出,保留左心室游离部分,去除发白梗死区,沿其边缘剪取 50 mg 心肌组织,用锡箔纸包裹后置于冻存管中,随即放入液氮速冻 30 min 后转入-80℃冰箱保存。用超声波细胞破碎仪充分破碎心肌组织,加入 Trizol 试剂提取样本总 RNA,该操作全过程置冰上完成以防止高温降解。分别测定提取后的组织样本总 RNA 的浓度和纯度,合格后进行反转录合成 cDNA 和实时定量逆转录聚合酶链反应检测。反应条件、步骤及操作事项严格按照试剂盒说明书执行。以 GAPDH 作为内参,检测心肌组织中 TGF- β 1、Smad2、Smad3 和 Smad7 相对表达量,引物合成由生工生物工程(上海)股份有限公司承担,序列见表 1。

表 1 各基因引物序列

基因名称	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
TGF- β 1	CGCAACAACGCAATCTATG	ACCAAGGTAACGCCAGGA
Smad2	ACTATACCCACTCCATTCCA	CACTATCACTTAGGCACTCG
Smad3	CCAGTGCTACCTCCAGTGTT	CTGGTGGTCGCTAGTTTCTC
Smad7	GGCTTTCAGATTCCCAACTTC	GGCTTTCAGATTCCCAACTTC
GAPDH	ATGATTCTACCCACGCCAAG	CTGGAAGATGGTGATGGCTT

2.6 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),方差齐时组间两两比较采用 LSD-*t* 检验法,若方差不齐则采用 Dunnett's T3 法,*P*<0.05 为差异有统计学意义,*P*<0.01 为差异有极显著统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠存亡情况

末次给药后记录各组大鼠存亡情况,假手术组未见死亡,存活率为 100%;模型组死亡 2 只,存活率为 80%;阳性对照组和 SMI 组各死亡 1 只,存活率为 90%。模型组大鼠较假手术组体重有所降低,阳性对照组和 SMI 组大鼠较模型组体重有升高趋势,但差异均无统计学意义(*P*>0.05)。

3.2 各组大鼠心功能及血流动力学评价结果

CHF 模型组大鼠左心室前壁运动幅度减弱或消失,室壁变薄,心室腔扩张严重,腔径显著增大,心肌收缩力持续减弱。相较于模型组,SMI 组和阳性对照组大鼠左心室后壁波动增强伴运动幅度提升,室壁增厚,腔径减小,心腔扩张程度减轻,心肌收缩力改善明显,见图 1。与假手术组比较,模型组大鼠 LVEF、LVFS 和 LVPWs 显著降低,LV Vols、LVIDs 显著升高;AV Peak Velocity、LVP、LVSP、+dp/dt_{max} 和 -dp/dt_{min} 显著降低,LVEDP 显著升高,上述差异均有统计学意义(*P*<0.01)。与模型组相比,SMI 组和阳性对照组大鼠 LVEF、LVFS 和 LVPWs 显著升高,伴

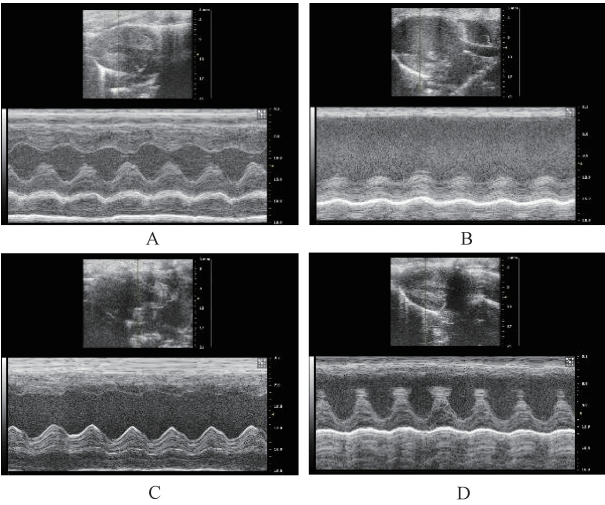
LV Vols、LVIDs 显著降低($P<0.05$, $P<0.01$);AV Peak Velocity、LVP、LVSP、+dp/dt_{max} 和 -dp/dt_{min} 显著升高,LVEDP 显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),上述差异均有统计学意义,见表 2—3。

3.3 各组大鼠血清 NT-proBNP、TGF-β1、MMP-9 和 CTGF 水平测定结果

模型组大鼠血清 NT-proBNP、TGF-β1、MMP-9 和 CTGF 水平较假手术组显著升高($P<0.01$);与模型组比较,SMI 组和阳性对照组大鼠血清 NT-proBNP、TGF-β1 和 MMP-9 水平显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),阳性对照组大鼠 CTGF 含量显著降低($P<0.01$),上述差异均有统计学意义。SMI 组大鼠血清 CTGF 水平较模型组降低,但差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

3.4 各组大鼠心肌形态学观察结果

HE 染色形态学观察发现,假手术组大鼠心肌细胞排列整齐、致密,结构完整、清晰,细胞间隙均匀,细胞外基质少;模型组大鼠相较于假手术组,无或仅见少量存活心肌细胞,且存活细胞体积增大,排列松散、凌乱,细胞核固缩或溶解,心肌间隙



A. 假手术组;B. 模型组;C. 阳性对照组;D. SMI 组。
图 1 各组大鼠左心室超声心动情况

表 2 各组大鼠心功能指标变化情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	LVEF/%	LVFS/%	LVPWs/mm	LV Vols/ μ L	LVIDs/mm
假手术组($n=8$)	72.34 $\pm$ 6.29	42.52 $\pm$ 5.49	3.16 $\pm$ 0.12	50.95 $\pm$ 11.39	3.48 $\pm$ 0.33
模型组($n=8$)	25.76 $\pm$ 9.48**	12.58 $\pm$ 4.96**	2.37 $\pm$ 0.40**	334.04 $\pm$ 56.73**	8.03 $\pm$ 0.65**
阳性对照组($n=8$)	41.83 $\pm$ 13.67##	21.55 $\pm$ 8.01##	2.85 $\pm$ 0.51#	154.92 $\pm$ 63.66##	6.29 $\pm$ 1.24##
SMI 组($n=8$)	37.78 $\pm$ 8.79##	19.08 $\pm$ 4.98##	2.90 $\pm$ 0.28#	188.24 $\pm$ 36.06##	6.28 $\pm$ 0.92##

注:与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

表 3 各组大鼠血流动力学指标变化情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	AV Peak Velocity/(mm/s)	LVP/mm Hg	LVSP/mm Hg	LVEDP/mm Hg	(+dp/dt _{max})/(mm Hg/s)	(-dp/dt _{min})/(mm Hg/s)
假手术组($n=8$)	1 235.98 $\pm$ 161.37	53.48 $\pm$ 5.44	101.42 $\pm$ 9.47	3.07 $\pm$ 1.72	5 777.87 $\pm$ 1 115.34	-5 789.55 $\pm$ 1 448.27
模型组($n=8$)	599.14 $\pm$ 56.06**	38.83 $\pm$ 6.03**	84.11 $\pm$ 8.45**	6.62 $\pm$ 1.68**	3 343.77 $\pm$ 504.04**	-3 069.15 $\pm$ 675.78**
阳性对照组($n=8$)	829.94 $\pm$ 77.32##	47.79 $\pm$ 5.76##	90.42 $\pm$ 11.68#	3.51 $\pm$ 2.41##	3 909.23 $\pm$ 1 067.15#	-3 341.42 $\pm$ 966.22#
SMI 组($n=8$)	829.91 $\pm$ 79.67##	50.21 $\pm$ 5.09##	98.71 $\pm$ 10.90##	4.12 $\pm$ 1.31##	4 151.75 $\pm$ 423.10#	-3 939.28 $\pm$ 1 024.24#

注:与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;1 mm Hg=0.133 kPa。

表 4 各组大鼠血清 NT-proBNP、TGF-β1、MMP-9 和 CTGF 水平变化比较($\bar{x}\pm s$)

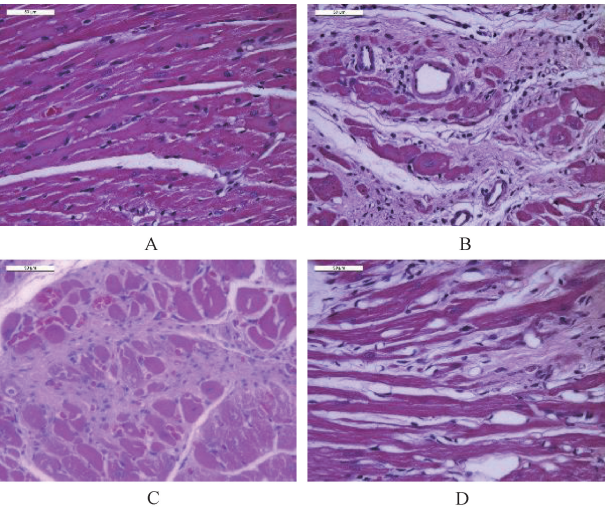
组别	NT-proBNP/(ng/mL)	TGF-β1/(pg/mL)	MMP-9/(ng/mL)	CTGF/(pg/mL)
假手术组($n=8$)	1.57 $\pm$ 0.35	60.58 $\pm$ 16.20	6.43 $\pm$ 2.62	26.82 $\pm$ 7.62
模型组($n=8$)	4.17 $\pm$ 1.44**	297.50 $\pm$ 54.71**	38.94 $\pm$ 5.70**	58.26 $\pm$ 6.74**
阳性对照组($n=8$)	2.29 $\pm$ 0.78#	146.30 $\pm$ 37.06##	15.89 $\pm$ 3.47##	44.97 $\pm$ 9.91##
SMI 组($n=8$)	1.95 $\pm$ 0.71##	205.83 $\pm$ 27.12##	22.09 $\pm$ 5.03##	50.40 $\pm$ 10.01

注:与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

增宽,横纹断裂、消失;SMI 组和阳性对照组则较模型组有明显改善,病理变化较模型组显著减轻,见图 2。MASSON 染色结果显示,CHF 建模后各组大鼠心肌组织梗死边缘区均发生纤维化改变,出现瘢痕,以模型组尤为凸出。此外,模型组残存心肌少,细胞分布不均,结构破坏严重;SMI 组和阳性对照组心肌纤维化程度减轻,胶原纤维面积明显减少,残存心肌细胞周围有较多新生血管分布,见图 3。

3.5 各组大鼠心肌 TGF-β1、Smad2、Smad3 和 Smad7 mRNA 表达水平检测结果

与假手术组比较,模型组大鼠心肌 TGF-β1、Smad2 和 Smad3 表达水平显著升高,Smad7 表达水平显著降低,差异均有统计学意义($P<0.01$);与模型组相比,SMI 组和阳性对照组大鼠 TGF-β1、Smad2 和 Smad3 表达水平明显降低,而 Smad7 表达水平明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$),见

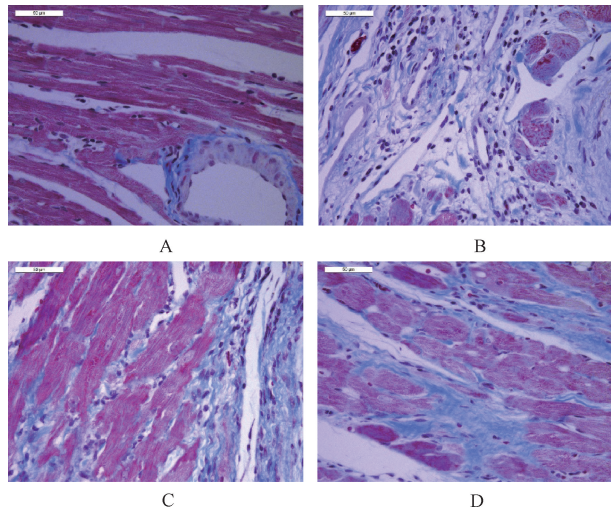


注:A. 假手术组;B. 模型组;C. 阳性对照组;D. SMI 组。
图 2 各组大鼠心肌 HE 染色结果图($\times 400$)

图 4。

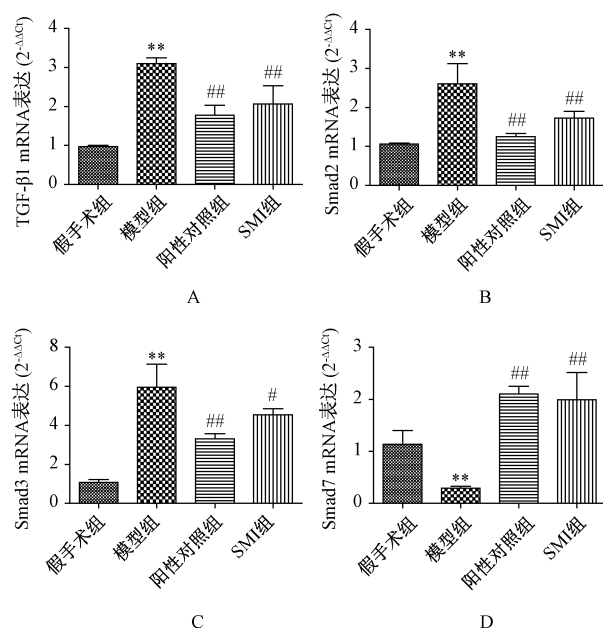
4 讨论

心脏影像学检查和血流动力学检测被认为是诊断 CHF 的客观证据之一,其中超声心动图检查在观察心脏运动状况和评估心功能情况中具有核心地位^[7]。本研究结果显示,CHF 后



注: A. 假手术组; B. 模型组; C. 阳性对照组; D. SMI 组。

图 3 各组大鼠心肌 MASSON 染色结果图 (×400)



A. TGF-β1 mRNA 表达; B. Smad2 mRNA 表达; C. Smad3 mRNA 表达;

D. Smad7 mRNA 表达; 与假手术组比较, ** $P < 0.01$;

与模型组比较, # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$ 。

图 4 各组大鼠心肌 TGF-β1、Smad2、Smad3 和 Smad7 mRNA 表达情况比较

心脏结构发生明显改变,主要表现为左心室室壁变薄、心室腔扩张、容积增大,体现在 LV Vols、LVPWs 和 LVIDs 变化明显,导致 LVEF 和 LVFS 降低。参麦注射液可显著升高 LVPWs,降低 LVIDs 和 LV Vols,提升 LVEF、LVFS,增强心肌收缩力,改善心功能。本研究采用左心室插管术检测血流动力学指标,具有稳定、可靠、可重复等优点,结果发现,CHF 进展过程中 AV Peak Velocity、LVP、LVSP、+dp/dt_{max} 及 -dp/dt_{min} 明显降低,LVEDP 显著升高,提示心功能逐步恶化,进入不可逆期,最终引起死亡。经过参麦注射液给药干预后,上述指标变化显著,心功能明显改善,恶化趋势和程度被抑制。结合超声心动观察

结果,二者互为佐证,印证参麦注射液发挥抗 CHF 作用途径之一是改善衰竭心脏功能和血流动力学。

NT-proBNP 主要由心室细胞合成分泌,反映心室压力与容量负荷的变化,相较于脑利尿钠肽,NT-proBNP 在患者体内更加稳定且敏感,因而被公认为临床诊断 CHF 的标志物,对于 CHF 的病情及预后评估具有重要意义^[8-9]。TGF-β1 是 TGF-β 家族中的核心成员,参与 CHF 过程中心肌纤维化和心室重构的形成和发展,与 CHF 严重程度呈正相关^[10]。MMP-9 调控心肌细胞外基质的代谢,常以酶原形式存在。当其激活时,活化酶对心肌细胞外基质成分降解,导致心肌细胞外基质比例失衡,出现异常增生,引起心肌纤维化和心室重构的发生^[11]。CTGF 与多种心血管疾病密切相关,可促进成纤维细胞增殖和胶原分泌,在 CHF 患者中异常表达^[12]。本研究结果发现,参麦注射液可减少血清 NT-proBNP 含量,延缓 CHF 进程,改善预后。此外,参麦注射液通过降低 TGF-β1、MMP-9 和 CTGF 水平,抑制心肌纤维化,减轻心室重构。

CHF 进展中常伴随复杂的病理生理过程,其中心室重构是心脏结构变化的关键环节,常表现为 2 个方面的形态学改变: (1) 心肌细胞肥厚、坏死及凋亡; (2) 成纤维细胞增生及细胞外间质纤维化^[13-14]。本研究通过 HE 和 MASSON 染色,证明了参麦注射液可增加残存心肌细胞数量,维持存活细胞完整结构,增多坏死心肌周围新生血管,抑制梗死边缘区纤维化改变,保护 CHF 所致心脏损伤。

TGF-β/Smads 信号通路在许多心血管疾病密切相关,具有多种生物学效应,参与细胞生长、分化、凋亡和迁移等多个环节^[15]。多项研究证实,TGF-β/Smads 信号通路在心肌纤维化过程中起到至关重要的作用,被公认为经典的组织纤维化信号通路^[16-17]。TGF-β1 作为促纤维化因子,通过 Smad2、Smad3 蛋白介导细胞内信号转导,调节蛋白生成,发挥生物学效应,而 Smad7 蛋白则可抑制该通路转导^[18]。本研究结果显示,参麦注射液通过下调 TGF-β1、Smad2 和 Smad3 mRNA 表达水平,上调 Smad7 mRNA 表达水平,抑制 TGF-β/Smads 信号通路介导的心肌纤维化进程,缓解心室重构,减轻炎症损伤,促使 CHF 大鼠心功能恢复。

综上所述,参麦注射液通过提高 CHF 模型大鼠心功能,改善血流动力学,减轻心肌损伤,降低心肌纤维化因子水平,调控 TGF-β/Smads 信号通路等多途径发挥抗 CHF 作用,实现心脏保护。

参考文献

- [1] MCDONAGH T A, METRA M, ADAMO M, et al. 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure[J]. Eur Heart J, 2021, 42(36): 3599-3726.
- [2] 《中国心血管健康与疾病报告 2022》编写组.《中国心血管健康与疾病报告 2022》概述[J]. 中国心血管病研究, 2023, 21(7): 577-600.
- [3] WU Y, LI T L, LI P C, et al. Effects of Shenmai injection against chronic heart failure: a meta-analysis and systematic review of preclinical and clinical studies[J]. Front Pharmacol, 2024, 14: 1338975.
- [4] 黄小燕, 付雪, 邓意, 等. 参麦注射液心血管保护作用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(17): 237-247.

(下转第 1034 页)