

丹红注射液对急性心肌梗死模型大鼠炎症反应和心肌形态学的影响[△]

施洋^{1,2,3,4*}, 侯宝林^{1,2}, 樊登峰^{1,2}, 樊官伟^{3,4#} (1.克拉玛依市人民医院药剂科, 新疆 克拉玛依 834000; 2.克拉玛依市中医医院药剂科, 新疆 克拉玛依 834000; 3.天津市现代中药重点实验室/省部共建国家重点实验室培育基地, 天津 300193; 4.天津中医药大学中医药研究院, 天津 300193)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)19-2602-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.19.03

摘要 目的:研究丹红注射液(DHI)对急性心肌梗死(简称“心梗”)模型大鼠心肌保护的作用机制。方法:将30只大鼠按照随机数字表法分成假手术组(生理盐水,肌内注射)、模型组(生理盐水,肌内注射)和DHI组(0.76 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复制心梗模型。造模成功后,各组大鼠每天给药1次,连续给药14 d。在术后24、48 h,采用全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)水平;给药14 d后,采用酶联免疫吸附法检测各组大鼠血清中白细胞介素1 β (IL-1 β)、C反应蛋白(CRP)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平,采用超声仪观察各组大鼠左心室室壁运动变化情况,并结合苏木精-伊红染色及MASSON染色进行心肌形态学分析。结果:与假手术组比较,模型组大鼠在术后24 h血清中LDH、CK、CK-MB水平显著升高($P < 0.05$);给药14 d后血清中IL-1 β 、CRP、TNF- α 水平显著升高($P < 0.05$),左心室前壁几乎无波动,且心肌组织中仅有少量心肌细胞存活,出现细胞体积增大、排列松散,细胞核固缩或溶解等变化,心梗面积百分比显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较,DHI组大鼠在术后48 h血清中LDH、CK、CK-MB水平显著降低($P < 0.05$);给药14 d后血清中IL-1 β 、CRP、TNF- α 水平显著降低($P < 0.05$),左心室扩张程度明显减轻,心室壁增厚且出现波动,心肌纤维化程度降低,心肌细胞坏死数量减少,心梗面积百分比显著降低($P < 0.05$)。结论:DHI可通过降低心肌酶谱和炎症因子水平抑制心肌纤维化,从而改善心梗。

关键词 丹红注射液;心肌梗死模型;心肌酶谱;炎症因子;形态学分析;大鼠

Effects of Danhong Injection on Inflammatory Reaction and Myocardial Morphology of Acute Myocardial Infarction Model Rats

SHI Yang^{1,2,3,4}, HOU Baolin^{1,2}, FAN Dengfeng^{1,2}, FAN Guanwei^{3,4} (1.Dept. of Pharmacy, Karamay Municipal People's Hospital, Xinjiang Karamay 834000, China; 2.Dept. of Pharmacy, Karamay Municipal Hospital of TCM, Xinjiang Karamay 834000, China; 3.Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine/State Key Laboratory Breeding Base, Tianjin 300193, China; 4.Research Institute of TCM, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of Danhong injection (DHI) on myocardial protection of acute myocardial infarction (AMI) model rats. METHODS: Totally 30 rats were randomly divided into sham operation group (normal saline, im), model group (normal saline, im) and DHI group (0.76 mL/kg, im) according to random number table method, with 10 rats in each group. Except for sham operation group, AMI model was induced by ligation of left anterior descending coronary artery in other groups. After modeling, rats were given relevant medicine once a day, for consecutive 14 d. 24, 48 h after operation, the serum levels of LDH, CK and CK-MB were determined by automatic biochemical analyzer. 14 d after medication, the serum levels of IL-1 β , CRP and TNF- α were determined by ELISA. Echocardiography was applied to observe the changes of left ventricular wall movement of rats in each group. Based on HE staining and MASSON staining, morphological analysis was performed for myocardial. RESULTS: Compared with sham operation group, the serum levels of LDH, CK and CK-MB in model group were increased significantly 24 h after operation ($P < 0.05$). 14 d after medication, the serum levels of IL-1 β , CRP and TNF- α were increased significantly ($P < 0.05$); there was almost no fluctuation in the anterior wall of the left ventricle; in the myocardial tissue, only a small number of myocardial cells survived, while cell volume increased and arranged loosely; nuclear condensation or dissolution were also found;

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81273891);国家重点基础研究发展计划(973计划)课题(No.2012CB518404);教育部“创新团队发展计划”项目(No.IRT1276)

* 药师,硕士。研究方向:临床药学、心血管药理学。电话:0990-6865417。E-mail:shiyangjutcm@126.com

通信作者:研究员,博士生导师,博士。研究方向:心血管药理学。电话:022-59596163。E-mail:fgw1005@hotmail.com

the percentage of myocardial infarction area was increased significantly ($P<0.05$). Compared with model group, the serum levels of LDH, CK and CK-MB in DHI group were decreased significantly 48 h after operation ($P<0.05$). Serum levels of IL-1 β , CRP and TNF- α were decreased significantly 14 d after medication ($P<0.05$). The degree of left ventricle dilation decreased significantly, and ventricular wall thickened and fluctuated; myocardial fibrosis decreased, necrosis of myocardial cells decreased, and the percentage of myocardial infarction area decreased significantly ($P<0.05$). CONCLUSIONS: DHI plays the role of improvement of AMI by decreasing the levels of myocardial enzyme spectrum indexes and inflammatory factors and inhibiting myocardial fibrosis.

KEYWORDS Danhong injection; Acute myocardial infarction model; Myocardial enzyme spectrum; Inflammatory factors; Morphological analysis; Rat

急性心肌梗死(简称“心梗”)是指在冠状动脉病变的基础上,由于冠状动脉急性、持续性缺血缺氧,血液供应中断,使心肌出现严重而持久的急性缺血,最终导致心肌发生的缺血性坏死^[1]。截至2015年,全世界范围内1/3的死因是急性心血管疾病,这其中死于心梗的比例又占到半数以上^[2]。心梗具有较高的发病率,严重危害人类健康,提高心梗的防治水平,降低患者的病死率,已成为当今医学研究的重大课题之一^[3]。

丹红注射液(DHI)是以中医理论为指导,采用现代制药工艺对丹参、红花进行提取后制成的中药注射剂,主要成分有丹参水溶性成分丹参酸、丹参酚酸及红花水溶性成分红花黄色素、红花酚苷和儿茶酚等,具有活血化瘀、通脉舒络等功效,临床上广泛用于瘀血闭阻所致的胸痹及中风、冠心病、心绞痛、心梗等的治疗^[4]。现代药理学研究表明,DHI具有心肌保护、抗炎、抗凝抑栓、抗凋亡等作用^[5]。炎症反应在心梗的发展过程中占据重要地位,且与心梗的预后紧密相关。心肌损伤后,机体释放多种炎症因子并引起炎症反应,从而对心肌造成进一步损害。减轻炎症反应导致的心肌损害,保护心肌细胞结构完整,是心梗后治疗的常规手段。基于此,本研究旨在研究DHI对心梗模型大鼠血清中炎症因子水平的影响,利用超声仪观察左心室壁运动变化情况,并结合形态学分析,评估DHI对心脏的保护作用,进而为其临床应用及阐明其更多的作用机制提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

MP-150型多导生理记录仪(美国Biopac公司);Microlab 300型全自动生化分析仪(荷兰威图科学公司);ALC-V8型小动物呼吸机(上海精密科学仪器有限公司);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);DP71型倒置显微镜(日本奥林巴斯公司);Microfuge22R型冷冻离心机(美国Beckman公司)。

1.2 药品与试剂

DHI(菏泽步长制药有限公司,批号:17121030,规格:10 mL/支);注射用青霉素钠(石家庄制药集团有限

公司,批号:017140617,规格:0.96 g/瓶);乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:A020-1、A032、H197、H002、H126、H052);伊红染色液、苏木精染色液(北京索莱宝科技有限公司,批号:G1100、H8070);MASSON三染试剂盒(美国Sigma公司,批号:HT15-1KT)。

1.3 动物

SPF级SD大鼠30只,♂,体质量220~250 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司[实验动物生产合格证号:SCXK(京)2014-0008]。购入后大鼠饲养于天津中医药大学医学动物实验中心清洁级动物房中,控制饲养房内温度为20~25℃、相对湿度为40%~60%、明暗环境各12 h交替。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将30只SD大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组和DHI组,每组10只。模型组和DHI组大鼠采用左冠状动脉前降支结扎法复制心梗模型,具体操作如下:将模型组和DHI组大鼠麻醉后颈部及胸前备皮,仰卧位固定于手术台中央,碘伏消毒备皮区皮肤。沿颈部正中切开皮肤,避开甲状腺,钝性分离肌肉,不锈钢钩牵拉暴露气管。用静脉鞘管针带芯经口插入气管,拔出针芯,连接呼吸机设定参数(呼吸频率80次/min,潮气量4 mL,呼-吸比为1:1)后进行辅助呼吸。将多导生理记录仪的电极分别插入大鼠右上(负极)及左下肢(正极),记录标准II导联心电图。于大鼠左胸第三、四肋间隙作一斜行切口约1.5 cm,止血钳逐层分离皮下肌肉组织后撑开胸腔,并用牵拉钩牵拉,暴露心脏。在体视显微镜视野下,剥离心包膜,持6/0无创缝合丝线,于肺动脉圆锥与左心耳交界,距离冠状动脉起始点下方1~2 mm处进针,深度1.0~1.5 mm进行结扎(结扎后心电图表现为S-T段弓背向上抬高,T波高耸,QRS波电压增高伴波幅增宽即判定为造模成功^[6])。结扎力度适中,避免力量过大导致血管及心肌断裂。结扎完毕后,立即用干燥棉签清理胸腔,挤出胸腔内残余气体,并用3/0缝合线逐层缝

合肌肉及皮肤,切口处进行局部消毒。观察1 min后将大鼠放置在恒温电热毯上,待大鼠恢复自主呼吸后,拔出气管插管。假手术组大鼠只穿线不结扎,其余处理同上。术后连续3 d腹腔注射青霉素钠(40万U/只)预防感染,并同时给予相应药物,DHI组大鼠肌内注射DHI(0.76 mL/kg,根据临床用量换算而得的等效剂量),假手术组和模型组大鼠肌内注射生理盐水(0.76 mL/kg),每天给药1次,连续给药14 d。由于模型组大鼠在术后有2只死亡,故最终每组选8只大鼠进行结果分析。

2.2 血清心肌酶谱及炎症指标测定

大鼠行冠状结扎术后24、48 h,眼内眦取血,将血样置于37 ℃恒温水浴中静置2 h,然后以3 500 r/min离心10 min,吸取上清液至EP管中,应用全自动生化分析仪按照试剂盒操作说明对心肌酶谱LDH、CK、CK-MB水平进行检测。给药14 d后,处死并抽取腹主动脉血,按上述操作制备血清,然后按照相应试剂盒说明书方法对血清中炎症因子(IL-1 β 、CRP和TNF- α)水平进行检测。

2.3 左心室室壁运动变化情况评价

连续给药14 d后进行左心室室壁运动的变化情况评价。以异氟烷麻醉(完全麻醉:1%氧气+5%异氟烷于麻醉盒内吸入麻醉;持续麻醉:1%氧气+2%异氟烷吸入麻醉)后,对大鼠进行心脏超声评价。取M-型超声长轴切面,获得M-型超声图像,将取样线定位至左心室最大腔径处,观察左室前壁、后壁厚度及左心室室壁运动变化情况。

2.4 大鼠心肌形态学观察

表1 各组大鼠血清中LDH、CK、CK-MB水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=8, U/L$)

Tab 1 Determination results of serum levels of LDH, CK, CK-MB in rats in each group($\bar{x} \pm s, n=8, U/L$)

组别	LDH			CK			CK-MB		
	术前	术后24 h	术后48 h	术前	术后24 h	术后48 h	术前	术后24 h	术后48 h
假手术组	996.88 \pm 329.84	1 474.13 \pm 307.02*	759.53 \pm 232.67	409.50 \pm 90.98	1 092.63 \pm 90.52*	448.26 \pm 87.18	746.88 \pm 167.59	1 732.05 \pm 730.52*	903.31 \pm 136.05
模型组	1 078.75 \pm 444.90	1 761.88 \pm 335.89*	1 365.13 \pm 317.28	432.75 \pm 114.69	1 038.38 \pm 171.37*	742.89 \pm 142.91	789.00 \pm 209.94	2 148.13 \pm 244.30*	1 519.22 \pm 303.41*
DHI组	1 024.25 \pm 389.11	2 073.50 \pm 233.23*	1 049.59 \pm 284.31*	413.00 \pm 98.12	1 074.75 \pm 139.80*	537.20 \pm 211.63*	751.62 \pm 177.49	2 107.50 \pm 601.39*	1 050.64 \pm 361.08*

注:与术前比较,* $P<0.05$;与模型组同期比较,# $P<0.05$

Note: vs. before operation, * $P<0.05$; vs. model group at the same time, # $P<0.05$

3.2 给药14 d后大鼠血清中炎症因子水平测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠血清中IL-1 β 、CRP和TNF- α 水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,DHI组大鼠血清中IL-1 β 、CRP和TNF- α 水平显著降低($P<0.05$)。各组大鼠血清中炎症因子水平测定结果见表2。

3.3 给药14 d后大鼠左心室室壁变化情况观察结果

与假手术组比较,模型组大鼠左心室腔呈现出进行性扩张,且扩张程度明显;左心室前壁变薄,几乎无波动现象。与模型组比较,DHI组大鼠左心室腔扩张程度显著减轻,心室壁增厚且呈现出波动现象,结果见图1。

3.4 给药14 d后大鼠心肌形态学观察结果

3.4.1 HE染色结果 HE染色结果显示,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。与假手术组比较,模型组大鼠仅见

将各组大鼠的心脏于4%多聚甲醛溶液中固定,在靠近心尖部1/3处平行于房室沟横行切取3 mm厚度心脏组织块,常规进行脱水、透明、石蜡包埋后制作4 μ m切片,经过摊片、烘片、58 ℃烤片后室温放置过夜,待自然干燥完毕后进行苏木精-伊红(HE)染色和MASSON染色,在倒置光学显微镜下观察各组大鼠心肌形态学变化。取MASSON染色后心脏全景拍摄照片,观察梗死范围并计算心梗面积百分比(以梗死心肌占缺血心肌面积百分比表示),应用Image J软件对梗死范围进行统计。

2.5 统计学方法

采用SPSS 17.0软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,若方差齐时组间两两比较采用LSD法,若方差不齐则采用Dunnett's T_3 法;术后和术前的组间比较采用配对 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 术后24、48 h大鼠血清中心肌酶谱指标测定结果

术后24 h,模型组和DHI组大鼠血清中LDH、CK、CK-MB水平较术前均显著升高($P<0.05$);由于开胸和假手术操作(只穿线,不结扎)对肌肉及心肌会造成轻微损伤,故假手术组大鼠血清中LDH、CK、CK-MB水平较造模前也显著升高($P<0.05$)。术后48 h,DHI组大鼠血清中LDH、CK、CK-MB水平较模型组同期显著降低($P<0.05$)。各组大鼠血清中LDH、CK、CK-MB水平测定结果见表1。

少量存活心肌细胞,存活心肌细胞体积增大,且排列松散、凌乱,细胞核固缩或溶解,细胞间隙增宽,心肌横纹断裂、消失。DHI组大鼠心肌病变程度较模型组显著减轻,残存心肌细胞呈“岛屿状”分布。各组大鼠心肌HE染色结果见图2。

3.4.2 MASSON染色结果 MASSON染色结果显示,假手术组大鼠心肌组织呈红色,组织排列整齐,视野中无胶原纤维出现。造模后,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,其中以模型组大鼠最为严重。此外,模型组大鼠残存心肌组织较少,心肌细胞分布不均,结构破坏严重。与模型组比较,DHI组大鼠心肌纤维化程度减轻,胶原纤维面积明显减小,残存心肌细胞周围有众多新生血管分布。各组大鼠心肌MASSON染色结果见图3。

表2 给药14 d后各组大鼠血清中IL-1 β 、CRP、TNF- α 水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=8, \text{pg/mL}$)

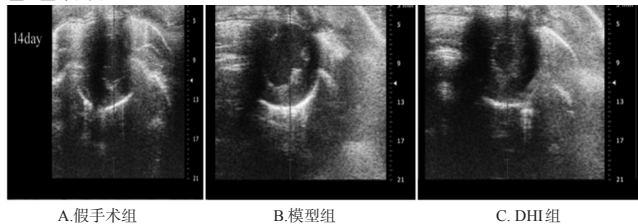
Tab 2 Determination results of serum levels of IL-1 β , CRP and TNF- α of rats in each group after 14 d of administration ($\bar{x} \pm s, n=8, \text{pg/mL}$)

组别	IL-1 β	CRP	TNF- α
假手术组	50.08 \pm 17.37	7.30 \pm 0.55	20.55 \pm 8.77
模型组	76.39 \pm 13.62*	8.18 \pm 0.82*	73.86 \pm 24.42*
DHI组	46.79 \pm 16.05#	6.86 \pm 0.91#	28.47 \pm 7.03#

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

Note: vs. sham operation group, * $P<0.05$; vs. model group, # $P<0.05$

左心室外观图:



左心室室壁图:

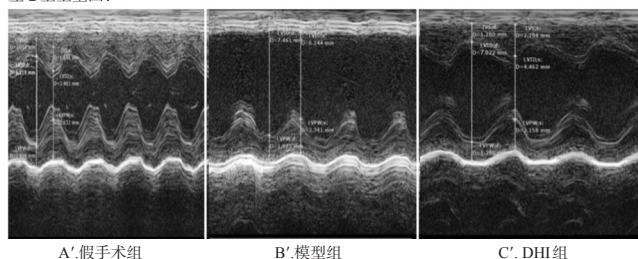


图1 连续给药14 d后各组大鼠左心室室壁运动变化情况

Fig 1 Changes of left ventricular wall in rats in each group after consecutive 14 d of administration

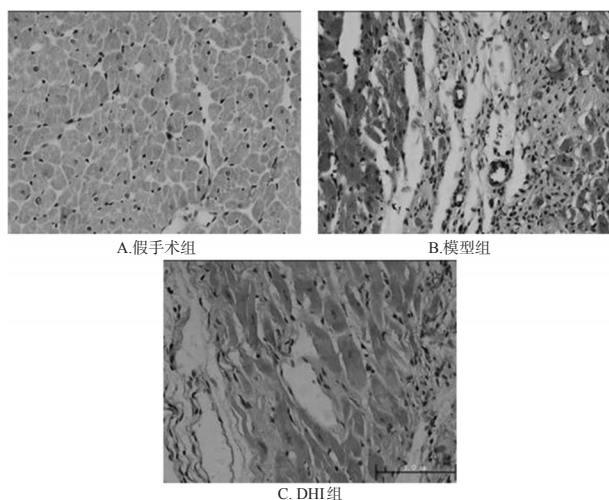


图2 给药14 d后各组大鼠心肌HE染色结果($\times 400$)
Fig 2 Result of HE staining of myocardial tissue of rats in each group after 14 d of administration ($\times 400$)

对MASSON染色心脏全景拍片后,发现模型组大鼠左心室壁明显变薄,纤维化程度严重,心室腔较假手

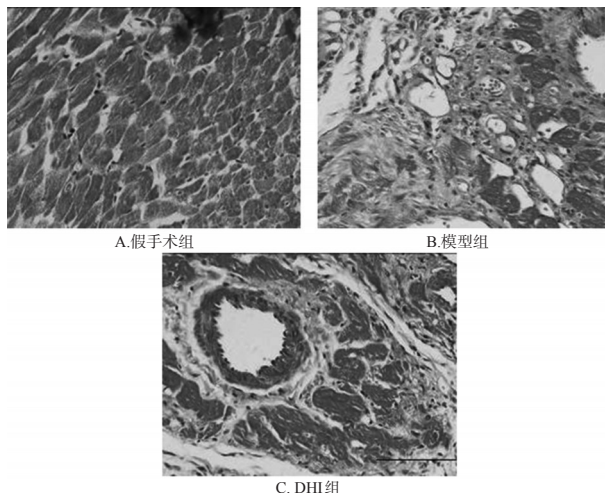


图3 给药14 d后各组大鼠心肌MASSON染色结果($\times 400$)

Fig 3 Result of MASSON staining of myocardial tissue of rats in each group after 14 d of administration ($\times 400$)

术组显著扩张。DHI组大鼠残存心肌组织多,室壁梗死面积面积较小,心室腔缩小,梗死区与正常心肌组织交界处分界模糊。应用Image J软件分析发现,模型组大鼠心梗面积百分比较假手术组显著升高($P<0.05$),DHI组大鼠心梗面积百分比较模型组显著降低($P<0.05$)。各组大鼠心肌MASSON染色全景图见图4,心肌梗死面积百分比统计结果见图5。

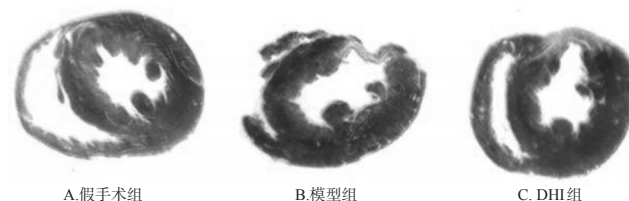
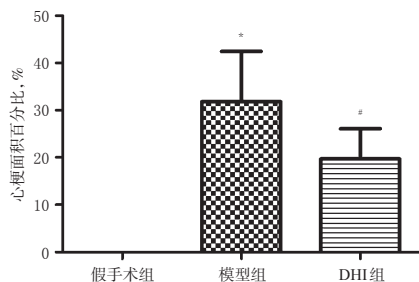


图4 给药14 d后各组大鼠心肌MASSON染色全景图
Fig 4 Results of panorama of MASSON staining of myocardial tissue of rats in each group after 14 d of administration

4 讨论

心血管疾病作为一种现代流行病,是当今危害人类身体健康最为严重的疾病,其发病率、病死率远超其他重大疾病,位居各类疾病之首^[7]。心梗是心血管疾病的首要死因,我国心梗的发病率虽低于发达国家,但随着社会经济的发展及生活方式的改变,其发病率呈现逐年增长的趋势^[8]。心梗急性期心功能受到严重影响,易发生心室重构,致心功能不全,最终导致死亡。因此,早期应用临床手段减少心梗后的心肌损伤及机体反应,可有效改善心功能,提升患者的生存质量。

心脏超声检测在心梗诊断中扮演着重要的角色,目前已成为临床上观察心脏运动及评估心功能状况的常规手段^[9]。在本研究中,从M-型心动超声图可明显看



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

Note: vs. sham operation group, * $P<0.05$; vs. model group, # $P<0.05$

图5 给药14 d后各组大鼠心梗面积百分比统计结果($n=8$)

Fig 5 Statistical result of the percentage of myocardial infarction area of rats in each group after 14 d of administration($n=8$)

出,模型组大鼠心梗后左心室室壁运动大幅减弱,在造模14 d后几乎看不见左心室前壁波动情况。而连续给予DHI 14 d后,发现该情况得到了显著改善,大鼠左心室室壁波动逐渐得到恢复,这表明DHI可有效增强心脏收缩,改善心脏泵血功能。

心梗后,心肌细胞膜通透性增加,心肌细胞中LDH、CK、CK-MB大量释放入血,使得其在血液中含量急剧上升^[10]。CK-MB作为传统的心肌标志物,在临床上用于诊断心梗,其与LDH、CK等共同组成心肌酶谱,对于早期心肌损伤及梗死的判别有着重要作用^[11]。在本研究中,各组大鼠给药术后24 h血清中的LDH、CK、CK-MB水平较造模前均显著升高,这是由于开胸及穿刺操作不可避免地会对心肌造成轻微损伤,故各种类型的心脏手术都会引起血清中LDH、CK、CK-MB等心肌酶水平的升高,且心梗发生后其水平在12~36 h达峰^[12]。而DHI可以显著降心梗模型大鼠术后48 h血清中的LDH、CK、CK-MB水平,表明DHI具有减轻心肌损伤,延缓心肌坏死,降低机体不良应激反应的作用。

心梗的发生发展与许多炎症因子(如IL-1 β 、CRP和TNF- α 等)高度相关^[13-15]。其中,TNF- α 是一种自分泌的炎症因子,参与了心梗过程中心肌损伤的形成和发展。当心梗发生时,TNF- α 表达水平升高,促进白细胞与内皮细胞的黏附和相互作用,使粒细胞向缺血区域的浸润大大增加,从而导致心肌损害^[16]。此外,TNF- α 作为炎症反应的启动因子,能促进内皮细胞黏附白细胞,刺激内皮细胞分泌炎性介质,增加炎性介质渗出及氧自由基的产生^[17]。CRP是机体非特异性免疫的重要组成部分,可激活补体经典途径,增强白细胞吞噬作用,调节淋巴细胞或单核-巨噬系统功能,促进巨噬细胞组织因子生成。IL-1 β 是前期炎症免疫反应的重要诱导剂,能引起巨噬细胞的聚集与活化,激活的中性粒细胞向心肌组织内浸

润,进而通过过度炎症反应引起心肌组织损伤^[18]。本研究表明,DHI可以显著降低心梗模型大鼠血清中IL-1 β 、CRP和TNF- α 的含量,减少炎症细胞的浸润和渗出,显示出较好的抗炎作用。

心肌纤维化是心室重构的主要表现之一,不仅会引起心室壁僵硬、顺应性降低、心脏收缩功能和同步性下降,致使心功能减退,严重者还会导致心源性猝死^[19-20]。心梗后心室重构是指左心室形态和大小的改变,主要由3个因素参与:梗死区扩展、梗死愈合和室壁应力。心室重构的早期表现为梗死范围的扩展,晚期表现则是非梗死区心肌的瘢痕修复致心室容量的增加和形态的改变^[21]。上述这些改变,始于心肌缺血性坏死,是诱发心功能失调及心力衰竭的基础,同时也是一种慢性渐进性过程,最终可引起严重的并发症。本研究通过HE染色、MASSON染色,考察了DHI对心梗后心肌形态学的影响。结果表明,DHI可减轻心肌纤维化,减少心肌细胞坏死,降低心肌组织病变程度。

通常,类似研究都会选择血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素II受体拮抗剂等肾素-血管紧张素-醛固酮系统抑制药作为阳性对照药。本研究之所以没有设置该类药物为阳性对照,是因为考虑到本研究的主要目的是考察DHI对心梗急性期损伤保护的作用机制。且该类药物为口服制剂,相比于注射剂吸收慢,起效时间长,对于短期内缺血缺氧引起的心肌损伤的改善效果可能不明显。另外,本研究仅根据临床换算后设置了一个等效剂量组,未设置多个剂量组进行量效分析,后续研究有待进一步完善。

综上所述,DHI可通过改善心梗模型大鼠心功能和心脏形态结构,减轻心肌损伤,抑制炎症反应及心肌纤维化等途径发挥其对心梗的保护作用。

参考文献

- [1] BOERSMA E, MERCADO N, POLDEMANS D, et al. Acute myocardial infarction[J]. *Lancet*, 2003, 361(9360): 847-858.
- [2] ROTH GA, JOHNSON C, ABAJOBIR A, et al. Global, regional, and national burden of cardiovascular diseases for 10 causes, 1990 to 2015[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(1):1-25.
- [3] 陆再英,钟南山.内科学[M]. 7版.北京:人民卫生出版社, 2008:284.
- [4] 刘金虹.丹红注射液的临床应用进展[J]. *中国药房*, 2014, 25(23):2189-2191.
- [5] 王春胜.丹红注射液临床和药理研究现状[J]. *天津药学*, 2013, 25(4):58-60.
- [6] 胡珍,陈景瑞,魏静,等.冠状动脉结扎制备大鼠心肌梗死模型及评价实验研究[J]. *天津中医药*, 2016, 33(2):90-95.
- [7] JORGENSEN T, CAPEWELL S, PRESCOTT E, et al. Population-level changes to promote cardiovascular health

四环素对纳米细菌感染的人肾小管上皮细胞 HK-2 中 CaSR、Claudin-14 表达的影响^Δ

申茂磊^{1*}, 高存祥¹, 郑丽英², 王勤章¹, 徐浩³, 郝志强¹, 傅家豪¹, 钱彪^{1#}(1.石河子大学医学院第一附属医院泌尿外科, 新疆石河子 832000; 2.石河子大学医学院第一附属医院院内感染控制办公室, 新疆石河子 832000; 3.解放军 69235 部队卫生队, 新疆奎屯 833200)

中图分类号 R361^{+.1} 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)19-2607-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.19.04

摘要 目的:研究四环素对纳米细菌(NB)感染的人肾小管上皮细胞 HK-2 中钙敏感受体(CaSR)、紧密连接蛋白 14(Claudin-14)表达的影响,为抑制肾结石的形成提供参考。方法:将 HK-2 细胞分为空白对照组、NB 组和四环素组(NB+四环素),每组 3 个复孔,各组分别加入相应 NB 和药物后共培养 24 h。采用透射电子显微镜观察各组细胞的形态和超微结构变化,运用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)和 Western blot 法分别检测细胞中 CaSR、Claudin-14 mRNA 和蛋白的表达水平。结果:与空白对照组比较,NB 组细胞膜结构破损,胞核裸露在外,微绒毛基本消失,线粒体数量较少,结构肿胀,细胞中 CaSR、Claudin-14 mRNA 和蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$);四环素组细胞膜结构完整,微绒毛结构稍紊乱,局部绒毛消失,部分线粒体结构肿胀不明显,细胞中 CaSR、Claudin-14 mRNA 和蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$)。与 NB 组比较,四环素组细胞中 CaSR、Claudin-14 mRNA 和蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)。结论:NB 可能通过上调 HK-2 细胞中 CaSR、Claudin-14 mRNA 和蛋白的表达促进肾结石的形成,而四环素可能通过作用于 NB 降低 CaSR、Claudin-14 mRNA 和蛋白的表达抑制肾结石的形成。

关键词 四环素;纳米细菌;人肾小管上皮细胞 HK-2;钙敏感受体;紧密连接蛋白 14

- [J]. *Vnitr Lek*, 2012, 58(12):943-954.
- [8] 刘隆健. 心血管疾病流行病学研究进展[J]. 成都医学院学报, 2013, 8(2):113.
- [9] 林蔚. 超声心动图对大鼠急性心肌梗死的评价作用[D]. 长春:吉林大学, 2012.
- [10] 张伶俐. 传统心肌酶谱检测在急性心肌梗死诊断中的临床意义[J]. 当代医学, 2013, 19(9):108-109.
- [11] 蒋知新, 李美芹, 衣志勇, 等. H-FABP、NT-proBNP、cTnT 和 CK-MB 在急性心肌梗死早期诊断中的价值比较[J]. 临床军医杂志, 2012, 40(3):529-531.
- [12] 王芾, 李佳, 林艺, 等. CK 和 CK-MB 在急性心肌梗死诊断中的价值探讨[J]. 中国现代医药杂志, 2010, 12(8):20-23.
- [13] YE YM, BIRNBAUM D, PEREZ-POLO R, et al. Ticagrelor protects the heart against reperfusion injury and improves remodeling after myocardial infarction[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(8):1805-1814.
- [14] MENG C, LIU C, LIU YW, et al. Oxysophoridine attenuates the injury caused by acute myocardial infarction in rats through anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-apoptotic pathways[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(1):527-532.
- [15] KOENIG W. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: from improved risk prediction to risk-guided therapy[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(6):5126-5134.
- [16] CHEN Y, CHEN ZJ, YH L, et al. Effect of tumor necrosis factor- α on ventricular arrhythmias in rats with acute myocardial infarction in vivo[J]. *World J Emerg Med*, 2010, 1(1):53-58.
- [17] CEN W, CHEN ZL, GU N, et al. Prevention of AMI induced ventricular remodeling: inhibitory effects of heart-protecting musk pill on IL-6 and TNF- α [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017. DOI: 10.1155/2017/3217395.
- [18] YUAN Z, ZHANG JP, YANG C. Ligusticum wallichii extract inhibited the expression of IL-1 β after AMI in rats[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014. DOI: 10.1155/2014/620359.
- [19] 于瑞, 王幼平, 崔琳, 等. 心肌纤维化的发病机制及其研究进展[J]. 中国现代医生, 2015, 53(13):157-160.
- [20] 施洋, 李澜, 邢晓雪, 等. 心肌纤维化与慢性充血性心力衰竭研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(1):87-90.
- [21] WANG LY, YU JH, RDJOUR PA, et al. Danshen injection prevents heart failure by attenuating post-infarct remodeling[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017. DOI: 10.1016/j.jep.2017.04.027.

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81460140)

* 硕士研究生。研究方向:泌尿外科。E-mail: 437294371@qq.com

通信作者:副主任医师。研究方向:泌尿系结石预防及治疗方向。E-mail: qb2003_2000@163.com

(收稿日期:2018-06-07 修回日期:2018-07-23)

(编辑:林静)