

实验研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.14.013

真武汤对心力衰竭模型大鼠心室重构及心肌细胞凋亡、纤维化的影响

刘中勇, 李林*, 方家

(江西中医药大学附属医院, 江西省南昌市八一大道 445 号, 330006)

摘要 目的 探讨真武汤治疗心力衰竭的可能作用机制。方法 将 50 只 Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组及真武汤低、中、高剂量组, 每组 10 只。除假手术组外其余各组采用结扎腹主动脉方法建立心力衰竭模型。真武汤低、中、高剂量组分别给予真武汤 6、12、18 g/(kg·d) 灌胃, 假手术组、模型组分别给予蒸馏水 3 ml 灌胃, 每天 1 次, 连续给药 28 天。给药后各组大鼠行高频超声心动图检查, 测定左心室舒张末期腔内径 (LVIDD)、左心室收缩末期腔内径 (LVESD)、左心室射血分数 (LVEF) 及左心室短轴缩短指数 (FS)。TUNEL 法检测并计算各组大鼠心肌细胞凋亡指数; ELISA 法检测各组大鼠心肌组织 I 型胶原蛋白 (Col I)、III 型胶原蛋白 (Col III) 表达; Real-time PCR 检测各组大鼠心肌组织骨膜蛋白、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、C/EBP 环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白 (CHOP) mRNA 表达; Western blot 法检测各组大鼠心肌组织骨膜蛋白、TGF- $\beta 1$ 、GRP78、CHOP 蛋白表达。结果 与模型组比较, 真武汤高、中、低剂量组心脏超声各项指标、心肌纤维化程度均明显改善, 心肌凋亡细胞显著减少, Col I、Col III 表达, 骨膜蛋白、TGF- $\beta 1$ 、GRP78、CHOP 蛋白及 mRNA 表达均明显降低, 且真武汤高剂量组改善最为明显 ($P < 0.05$)。结论 真武汤可改善心力衰竭大鼠心室重构, 减少心肌细胞凋亡和心肌纤维化, 可能是其治疗心力衰竭的机制之一。

关键词 心力衰竭; 真武汤; 心室重构; 细胞凋亡; 心肌纤维化; 内质网应激

随着我国逐步进入老年社会, 心血管疾病进入高发期, 而心力衰竭是各种原因引起的心脏功能病变的终末期, 临床主要表现为心室重构、射血分数不足及心律失常。心力衰竭在确诊后 5 年生存率不足 40%, 严重者 1 年生存率不足 50%^[1], 因此, 积极寻找心力衰竭有效的治疗方法及治疗药物仍是目前亟待解决的问题。我们在前期研究中发现, 真武汤具有逆转心力衰竭小鼠心室重构的作用, 其机制可能是通过抑制 TGF- β /JNK 通路, 从而缓解心肌肥厚^[2]。在心力衰竭末期, 心室重构往往表现为心室壁变薄, 心室腔呈扩张改变。本研究观察真武汤对心力衰竭模型大鼠心肌组织中内质网应激标志蛋白 GRP78、CHOP, 以及对心肌细胞凋亡的影响, 为真武汤治疗心力衰竭提供理论依据。

1 材料及方法

1.1 动物

成年二级雄性 Wistar 大鼠 50 只, 周龄 11 ~ 12 周, 体重 (200 ± 20) g, 动物许可证号: SCXK(赣) 2014-016, 由江西中医药大学基础医学部提供。

1.2 药物

真武汤组成: 白术、茯苓、白芍、生姜、炮附片比例为 2 : 3 : 3 : 3 : 1。单煎白术将药液滤出备用; 另煎炮附片, 待水沸后 2 h 放入白芍、生姜、茯苓, 分 2 次将药液滤出, 再将白术药液与其混匀, 浓缩成 1 g 生药/ml 溶液。庆大霉素, 湖北天药药业股份有限公司, 批号 11592136。

1.3 主要试剂和仪器

葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) 抗体 (货号: GTX62592)、C/EBP 环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白 (CHOP) 抗体 (货号:

基金项目: 国家自然科学基金 (8140680)

* 通讯作者: 304553307@qq.com, 13803527962

GTX63049)、I 型胶原蛋白 (Col I, 货号: AB82354) 及 III 型胶原蛋白 (Col III, 货号: AB82362) 试剂盒均购自中国欣博盛公司; 骨膜蛋白抗体 (货号: AB23657)、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 抗体 (货号: AB10362)、磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 抗体 (货号: AB14387) 均购自美国 Abcam 公司; TUNEL 试剂盒 (批号: 11684817910) 购自 Roche 公司; HE 染色试剂盒 (货号: G1120) 购自中国 Solarbio 公司; Masson 染色试剂盒 (货号: PT0003) 购自中国博谷公司。VIVID E9 多普勒彩色超声仪, 美国 GE 公司; BX43 光学显微镜, 日本 Olympus 公司。

1.4 动物分组及模型制备

50 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组及真武汤低、中、高剂量组, 每组 10 只。适应饲养 1 周后, 模型组及真武汤低、中、高剂量组参照文献 [6] 建立心力衰竭大鼠模型: 10% 水合氯醛 (0.3 ml/100 g) 腹腔注射麻醉, 于左上腹开腹, 充分暴露腹主动脉。用 8 号针头将腹主动脉结扎, 将针头拔除后使腹主动脉管腔形成 50% 环形缩窄。术后肌肉注射庆大霉素 8 万 U, 每天 1 次, 连续 3 天。假手术组大鼠仅分离腹主动脉并不完全结扎。术后第 8 周开始给药, 真武汤低、中、高剂量组分别给予真武汤 6、12、18 g/(kg·d) 灌胃, 假手术组、模型组分别给予蒸馏水 3 ml 灌胃, 每天 1 次, 各组均连续灌胃 28 天。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 心脏多普勒超声检查 给药 28 天后, 对大鼠进行经胸心脏超声心动图检查。10% 水合氯醛 (0.2 g/kg) 腹腔注射麻醉大鼠, 在二维超声引导下, M 型超声测定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) 及左心室短轴缩短指数 (FS), 每个测定值均取 4 个连续完整心动周期测量, 取平均值。

1.5.2 心肌组织病理学观察 心脏超声心动图检查后, 立即处死大鼠, 充分暴露心脏后将心脏取出, 保留一部分心肌组织并投入到 4% 多聚甲醛溶液固定液中, 经乙醇脱水、石蜡包埋后, 置于切片中连续切片, 经脱蜡、二甲苯透明后进行 HE 及 Masson 染色。HE 染色样本于 BX43 光学显微镜观察心肌细胞核排列、心肌纤维粗细及心肌纤维分布等情况。用 Image J 6.0 图像分析软件对 Masson 染色图片进行心肌组织胶原容积分数 (CVF) 分析,

CVF = 胶原面积/总面积。其余心肌组织部分制作组织匀浆用于检测实验相关蛋白。

1.5.3 心肌细胞凋亡 采用 TUNEL 法检测, 操作按照试剂盒说明进行。移动心肌组织切片, 选取细胞分布较均匀的高倍视野计数 1000 个以上, 在相邻的 10 个视野下, 红褐色细胞即阳性细胞, 计算凋亡指数。凋亡指数 = 各视野阳性细胞数/视野所有细胞总数 $\times 100\%$ 。

1.5.4 心肌组织 Col I、Col III 蛋白表达 采用 ELISA 法检测, 严格按照说明书操作。

1.5.5 心肌组织骨膜蛋白、TGF- $\beta 1$ 、GRP78 及 CHOP 蛋白表达 采用 Western blot 法检测, 加入 RIPA 裂解液及蛋白酶抑制剂 PMSF, 提取蛋白质, 测定浓度。取样 15 μ l 以 10% 的 SDS-PAGE 电泳, 常规转膜后脱脂奶粉封闭, 加一抗骨膜蛋白抗体 (1:500)、TGF- $\beta 1$ 抗体 (1:1000)、GRP78 抗体 (1:500) 及 CHOP 抗体 (1:200) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗脱 5 min $\times$ 3 次, 辣根过氧化物酶标抗二抗 (1:1000) 室温孵育 2 h, TBST 洗脱 10 min $\times$ 3 次, ECL 化学发光显像。目的蛋白的相对表达量 = 目的蛋白的灰度值/内参 GAPDH 的灰度值。

1.5.6 心肌组织骨膜蛋白、TGF- $\beta 1$ 、GRP78 及 CHOP mRNA 表达 采用 Real-time PCR 法检测, 经过总 RNA 提取后进行 RNA 浓度检测, 反转录后将 cDNA 模板 1 μ l、上下游引物 10 μ mol/L 各 0.5 μ l 加入到 SYBR GREEN mastermix 10 μ l 中, 再用 ddH₂O 补足至 20 μ l。待 PCR 循环结束后, 立即将样本温度提升为 95 $^{\circ}$ C, 维持 10 min, 再降至 60 $^{\circ}$ C, 维持 20s; 从 60 $^{\circ}$ C 提升至 72 $^{\circ}$ C, 维持 30s, 最后降至 4 $^{\circ}$ C 维持 5 min, 此过程循环 40 次。每个样品基因行 6 个复孔平行实验, 实验结果采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析数据。引物由江西中医药大学/江西省中医病因生物学重点实验室合成。骨膜蛋白: F: 5'-GCTGCTGTTCTGTGTGATA-3', R: 5'-GTG-GCTGTGTAAGGCATTCA-3'; TGF- $\beta 1$: F: 5'-CCAAGGAGACGGAATACAGG-3', R: 5'-GTGTTG-GTTGTAGAGGGCAAG-3'; GRP78: F: 5'-GATA-ATCAGCCACCGTAA-3', R: 5'-TTGTTTCCTGTC-CCTTTGT-3'; CHOP: F: 5'-GATGTGGATG-GCACGGTAG-3', R: 5'-GTTCCCTTATTTGTGATG-CA-3'; β -actin: F: 5'-GGAGATTACTGCCCTG-GCTCCTAGC-3', R: 5'-GGCCGGACTCATCG-TACTCCTGCTT-3'。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心脏超声结果比较

表 1 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠心脏 LVEDD 明显增大, LVESD、LVEF 及 FS 明显减小 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 真武汤高、中、低剂量组心脏超声各项指标均明显改善, 且真武汤高剂量组改善显著优于真武汤中、低剂量组 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠心肌组织病理学观察

2.2.1 HE 染色结果 光镜下与假手术组相比, 模型组大鼠心肌纤维增粗, 心肌纤维间隔增宽, 细胞核排列紊乱, 可见大量淋巴细胞浸润现象; 真武汤高、中、低剂量组大鼠大部分心肌病理切片上述情况均明显好转, 与真武汤低剂量组相比, 真武汤中、高剂量组大鼠心肌纤维间隔明显改善, 淋巴细胞浸润现象减少; 与真武汤中剂量组相比, 真武汤高剂量组心肌组织病理改善明显, 上述改变基本消失。

2.2.2 Masson 染色结果 CVF 分析结果及图 1 示, 假手术组大鼠心肌组织只见少许纤维组织并且呈均匀分布, CVF 为 (2.38 ± 0.11)%; 模型组大鼠可见大量纤维组织聚集于血管和心肌细胞周围, CVF 为 (23.75 ± 1.55)%, 明显高于假手术组 ($P < 0.05$), 心肌组织纤维化严重; 真武汤高、中、低剂量组大鼠心肌 CVF 分别为 ($16.74 \pm$

3.22)%、(9.63 ± 0.47)% 和 (6.83 ± 0.92)%, 与模型组比较, 心肌纤维化程度均明显减轻 ($P < 0.05$), 且剂量越高心肌纤维化程度越低 ($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠心肌细胞凋亡指数比较

假手术组大鼠心肌细胞凋亡指数为 (2.78 ± 1.14), 模型组为 (24.53 ± 2.1), 较假手术组显著升高 ($P < 0.05$)。真武汤高、中、低剂量组大鼠心肌细胞凋亡指数分别为 (5.43 ± 0.72)、(13.82 ± 2.11) 和 (19.34 ± 2.56), 与模型组比较均显著降低 ($P < 0.05$), 且随着剂量的升高, 细胞凋亡指数减少 ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠心肌组织 Col I 及 Col III 蛋白表达

表 2 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌组织 Col I 及 Col III 蛋白表达明显上升 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 真武汤高、中、低组 Col I 及 Col III 蛋白表达均明显降低, 且随剂量的升高, Col I 及 Col III 表达逐渐降低 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠心肌组织 Col I 及 Col III 蛋白表达比较 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Col I	Col III
假手术组	10	72.94 ± 14.25	45.24 ± 6.52
模型组	10	$124.63 \pm 17.32^*$	$79.74 \pm 5.74^*$
真武汤低剂量组	10	$113.56 \pm 8.25^\Delta$	$75.64 \pm 9.43^\Delta$
真武汤中剂量组	10	$90.46 \pm 8.24^\Delta^\blacktriangle$	$64.56 \pm 8.35^\Delta^\blacktriangle$
真武汤高剂量组	10	$81.57 \pm 6.42^\Delta^\blacktriangle^\#$	$55.98 \pm 3.57^\Delta^\blacktriangle^\#$

注: Col I, I 型胶原蛋白; Col III, III 型胶原蛋白; 与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与真武汤低剂量组比较, $\blacktriangle P < 0.05$; 与真武汤中剂量组比较, $\#P < 0.05$

表 1 各组大鼠心脏超声结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	LVEDD (mm)	LVESD (mm)	LVEF (%)	FS (%)
假手术组	10	4.48 ± 0.26	2.23 ± 0.08	85.52 ± 2.22	49.40 ± 2.50
模型组	10	$6.27 \pm 0.53^*$	$1.68 \pm 0.17^*$	$67.31 \pm 5.73^*$	$41.50 \pm 1.13^*$
真武汤低剂量组	10	$5.89 \pm 0.18^\Delta$	$1.81 \pm 0.07^\Delta$	$74.75 \pm 3.64^\Delta$	$45.53 \pm 2.31^\Delta$
真武汤中剂量组	10	$5.38 \pm 0.43^\Delta^\blacktriangle$	$1.89 \pm 0.16^\Delta$	$79.52 \pm 4.62^\Delta^\blacktriangle$	$46.07 \pm 3.15^\Delta$
真武汤高剂量组	10	$4.79 \pm 0.38^\Delta^\blacktriangle^\#$	$2.19 \pm 0.25^\Delta^\blacktriangle^\#$	$83.49 \pm 4.24^\Delta^\blacktriangle^\#$	$48.96 \pm 2.28^\Delta^\blacktriangle^\#$

注: LVEDD, 左心室舒张末期径; LVESD, 左心室收缩末期径; LVEF, 左心室射血分数; FS, 左心室短轴缩短指数; 与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与真武汤低剂量组比较, $\blacktriangle P < 0.05$; 与真武汤中剂量组比较, $\#P < 0.05$

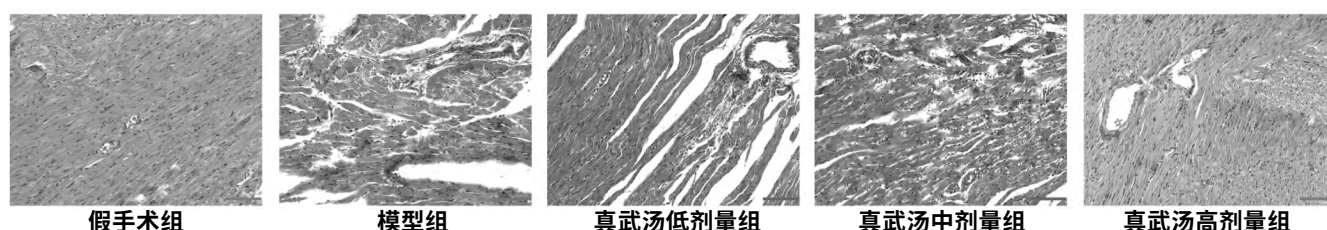


图 1 各组大鼠心肌组织 Masson 染色结果 ($\times 200$)

表 3 各组大鼠心肌组织骨膜蛋白、TGF-β1、GRP78 及 CHOP mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	骨膜蛋白	TGF-β1	GRP78	CHOP
假手术组	10	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.00
模型组	10	2.53 ± 0.34*	3.86 ± 0.57*	2.75 ± 0.35*	4.24 ± 0.63*
真武汤低剂量组	10	1.76 ± 0.23 [△]	3.06 ± 0.45 [△]	2.26 ± 0.07 [△]	2.65 ± 0.45 [△]
真武汤中剂量组	10	1.43 ± 0.08 ^{△▲}	1.24 ± 0.09 ^{△▲}	1.78 ± 0.09 ^{△▲}	1.46 ± 0.03 ^{△▲}
真武汤高剂量组	10	1.07 ± 0.05 ^{△▲#}	1.19 ± 0.02 ^{△▲#}	1.33 ± 0.30 ^{△▲#}	0.91 ± 0.01 ^{△▲#}

注: TGF-β1, 转化生长因子 β1; GRP78, 葡萄糖调节蛋白 78; CHOP, C/EBP 环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白; 与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与真武汤低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$; 与真武汤中剂量组比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 各组大鼠心肌组织骨膜蛋白、TGF-β1、GRP78 及 CHOP 蛋白表达比较 (/GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	骨膜蛋白	TGF-β1	GRP78	CHOP
假手术组	10	0.69 ± 0.04	0.14 ± 0.04	0.58 ± 0.06	0.15 ± 0.01
模型组	10	1.14 ± 0.08*	0.47 ± 0.02*	0.94 ± 0.14*	1.06 ± 0.26*
真武汤低剂量组	10	0.76 ± 0.07 [△]	0.42 ± 0.03 [△]	0.71 ± 0.21 [△]	0.31 ± 0.07 [△]
真武汤中剂量组	10	0.67 ± 0.05 ^{△▲}	0.32 ± 0.01 ^{△▲}	0.49 ± 0.06 ^{△▲}	0.24 ± 0.00 ^{△▲}
真武汤高剂量组	10	0.51 ± 0.09 ^{△▲#}	0.16 ± 0.00 ^{△▲#}	0.37 ± 0.03 ^{△▲#}	0.09 ± 0.01 ^{△▲#}

注: TGF-β1, 转化生长因子 β1; GRP78, 葡萄糖调节蛋白 78; CHOP, C/EBP 环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白; 与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与真武汤低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$; 与真武汤中剂量组比较, $\Delta P < 0.05$

2.5 各组大鼠心肌组织骨膜蛋白、TGF-β1、GRP78 及 CHOP mRNA 表达比较

表 3 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠骨膜蛋白、TGF-β1、GRP78 及 CHOP mRNA 表达明显上升 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 真武汤高、中、低剂量组大鼠心肌组织中骨膜蛋白、TGF-β1、GRP78 及 CHOP mRNA 表达均明显降低 ($P < 0.05$), 且随剂量的升高而逐渐降低 ($P < 0.05$)。

2.6 各组大鼠心肌组织骨膜蛋白、TGF-β1、GRP78 及 CHOP 蛋白表达比较

表 4 示, 与假手术比较, 模型组大鼠心肌组织骨膜蛋白、TGF-β1、GRP78 及 CHOP 蛋白表达明显上升 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 真武汤高、中、低剂量组大鼠心肌组织中骨膜蛋白、TGF-β1、GRP78 及 CHOP 蛋白表达均明显降低 ($P < 0.05$), 且随剂量的升高而逐渐降低 ($P < 0.05$)。

3 讨论

真武汤以大辛大热的附子为君药, 温肾助阳, 以化气行水, 兼暖脾土, 以温运水湿; 臣以茯苓、白术健脾利湿, 淡渗利水, 使水气从小便而出; 佐以生姜之温散, 既助附子以温阳祛寒, 又伍茯苓、白术以散水湿; 用白芍之意乃一药三用, 一者利小便以行水气, 一者柔肝以止腹痛, 一者敛阴舒筋, 以止筋惕肉瞤; 诸药配伍, 温脾肾, 利水湿, 共奏温阳利水之功。在临床应用中, 对治疗心力衰竭具有良好的效果^[4]。

心力衰竭可通过多种原因引起复杂的心肌自身病变, 而且可导致外周及心脏本身供血异常。心力衰竭一旦进入失代偿期往往预示着不良后果的发生, 甚至发生不良事件。现代医学认为, 心力衰竭的病理基础为心室重构^[5]。心室重构是指当心肌受到外来因素或缺血、血氧等因素影响出现的代偿性改变, 这种改变包括心室几何形状、室壁厚度及心肌组织结构变化等。有研究^[6]报道, 左心室重构的程度与缺血性心肌病的病程进展关系密切, 说明抑制左心室重构是治疗缺血性心肌病的关键因素。本研究应用心脏超声技术检测各组大鼠心功能相关指标, 结果显示模型组大鼠出现 LVEDD 增大, LVESD、LVEF、FS 减少等心力衰竭特征, 说明模型建立成功。经过真武汤治疗后, 上述心室重构及心力衰竭等特征均明显改善, 且随着给药剂量的增多对心室重构的抑制作用越明显, 提示真武汤尤其高剂量具有良好的逆转心室重构、提高心功能的作用。

大量研究^[7-9]证实, 心肌纤维化在心力衰竭的发生和发展中扮演着重要角色。有研究^[8]结果显示, 心肌组织胶原含量升高 2~3 倍即可导致心室充盈异常或心室顺应性下降, 升高 4 倍即可导致心脏射血分数异常。本研究通过 Masson 染色及 TUNEL 检测发现, 真武汤可有效抑制心力衰竭大鼠心肌纤维化及心肌细胞凋亡, 这可能是真武汤改善心功能的原因之一。

骨膜蛋白在心肌病理状态下与胶原纤维的生成

关系密切,且可与 ColI 直接交联,加速细胞外基质的整合与沉积,从而加速心肌纤维化程度^[10-11]。GRP78 又称免疫球蛋白重链结合蛋白,是现阶段公认的内质网应激(ERS)标志物^[12]。ERS 是近年来新发现的凋亡机制,现阶段研究认为其发生的主要原因是内质网折叠蛋白功能异常,导致错误蛋白在内质网内堆积,短时间的 ERS 是细胞自我修复的一种方法,但长期的 ERS 即可引起细胞凋亡^[13]。CHOP 又称生长停滞及诱导 DNA 损伤的基因 153,可直接参与调节下游凋亡基因的表达,通过直接调节核内的靶基因,增加细胞对 ERS 介导凋亡的敏感性^[14]。本研究发现,模型组大鼠心肌组织中 ColI、ColIII 及纤维化相关因子骨膜蛋白、TGF- β 1 表达明显上升,说明心肌纤维化参与了大鼠心力衰竭的发生,这与既往研究结果^[15]相似。同时,心力衰竭大鼠心肌组织中 ERS 标志物 GRP78 及内质网下游凋亡标志蛋白 CHOP 表达明显上升,说明 ERS 所引发的细胞凋亡参与了心力衰竭的发生和发展。应用真武汤干预后,骨膜蛋白、TGF- β 1、GRP78 及 CHOP 蛋白表达均呈改善趋势,且随用药剂量的增多改善状况更明显,说明高剂量真武汤可更有效地抑制 ERS 信号通路,并抑制纤维化相关因子及骨膜蛋白、TGF- β 1 的表达,从而使心肌组织中 ColI、ColIII 的沉积、纤维化程度减低,进而逆转心室重构,达到改善心力衰竭大鼠心功能的目的。

参考文献

- [1] TEUIK K, THÜRMER H, HUSBY MI, et al. Nutritional risk is associated with longterm mortality in hospitalized patients with chronic heart failure [J]. Clin Nutr ESPEN, 2016, 12: e20-e29. doi: 10.1016/j.clnesp.2016.02.095.
- [2] 李林,刘中勇,骆始华,等. 真武汤抗心衰与 TGF- β /JNK 信号通路关系的相关性研究 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(5): 1041-1044.
- [3] 刘永明,徐裕亚,那木海,等. 坎离颗粒对压力负荷超载所致舒张性心力衰竭大鼠心肌肌质网钙转运的影响 [J]. 中医杂志, 2016, 56(21): 1867-1870.
- [4] 王远平,熊杰,严夏,等. 真武汤加减治疗充血性心力衰竭的 Meta 分析 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(19): 3679-3685.
- [5] ST JOHN SUTTON M, LINDE C, GOLD MR, et al. Left ventricular architecture, long-term reverse remodeling, and clinical outcome in mild heart failure [J]. JACC Heart Fail, 2017, 5(3): 169-178.
- [6] 崔新明,闫煜烽,张伟. 超声心动图对心肌梗死后患者左心室重构及其心功能关系的研究 [J]. 中国心血管杂志, 2002, 7(1): 37-38.
- [7] 张运,徐瑞. 心肌纤维化: 心力衰竭治疗的新靶标 [J]. 中华医学杂志, 2006, 86(17): 1155-1157.
- [8] 吴少波. 益气解毒法治高血压左室肥厚心肌纤维化临床疗效观察 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(3): 90-91.
- [9] WEBER KT, SUN Y, CAMPBELL SE. Structural remodeling of the heart by fibrous tissue: role of circulating hormones and locally produced peptides [J]. Eur Heart J, 1995, 16(1): 12-18.
- [10] SHIMAZAKI M, NAKAMURA K, KII I, et al. Periostin is essential for cardiac healing after acute myocardial infarction [J]. J Exp Med, 2008, 205(2): 295-303.
- [11] 邹平,吴丹,吴立玲,等. Ang II 促进成年大鼠心脏成纤维细胞 periostin 表达的信号通路研究 [J]. 现代预防医学, 2011, 38(16): 3265-3272.
- [12] 王伊林,赵雅君,杨洋,等. 磷酸肌酸钠对慢病毒介导 Calumenin 蛋白沉默阿霉素损伤心肌细胞内质网应激信号通路的作用 [J]. 临床心血管病杂志, 2015, 31(10): 1119-1122.
- [13] WANG Y, BAO Y, WANG Y, et al. Z-VAD-FMK ameliorates injury of cardiomyocytes induced by adriamycin in dilated cardiomyopathy rats via the PERK/eIF2 α and mitochondrial signaling pathway [J]. Lat Am J Pharm, 2017, 36(1): 5-11.
- [14] 黄金燕,赵连友,林可,等. 高血压大鼠动脉血管平滑肌细胞中 GRP78 和 CHOP 表达的变化及对血管重构的影响 [J]. 心脏杂志, 2011, 23(1): 20-26.
- [15] 章嫡妮,郭瑶,李卓琼,等. Liguzinediol 对压力超负荷大鼠心室重构的影响 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(12): 1699-1704.

Influence of *Zhenwu Decoction* (真武汤) on Ventricular Remodeling and Myocardial Apoptosis and Fibrosis in Heart Failure Model Rats

LIU Zhongyong, LI Lin, FANG Jia

(The Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi, 330006)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Zhenwu Decoction* in the treatment of heart failure.

Methods Fifty Wistar rats were randomly divided into sham operation group, model group, and low, middle and

high dose *Zhenwu Decoction* groups, with 10 rats in each group. All groups except for sham operation group were built heart failure models by ligating abdominal aortic. Low, middle and high dose *Zhenwu Decoction* groups were given 6, 12 and 18 g/(kg · d) of *Zhenwu Decoction* by gavage, respectively, while sham operation group and model group were given 3 ml of distilled water by gavage, respectively, once a day for 28 days. After treatment, high frequency echocardiography was performed for each group to measure left ventricular internal diameter at end-diastole (LVIDD), left ventricular end-systolic dimension (LVESD), left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (FS) of rats. Myocardial apoptosis index was tested and calculated in each group by TUNEL method. Expressions of collagen type I (ColI) and III (ColIII) in myocardium were tested in each group by ELISA method. Expressions of mRNA of periostin, transforming growth factor beta 1 (TGF-β1), Glucose regulated protein 78 (GRP78) and C/EBP homologous protein (CHOP) in myocardium were tested in each group by Real-time PCR method. Protein expression levels of periostin, TGF-β1, GRP78 and CHOP in myocardium were tested in each group by Western blot method. **Results** Compared with those in the model group, all indicators by cardiac ultrasound and degree of myocardial fibrosis were obviously improved, myocardial apoptosis were obviously decreased, expression levels of Col I, Col III, myocardial periostin, TGF-β1, GRP78, CHOP and mRNA were obviously decreased in low, middle and high dose *Zhenwu Decoction* groups, especially the improvement in high dose *Zhenwu Decoction* group ($P < 0.05$). **Conclusion** *Zhenwu Decoction* could improve ventricular remodeling in heart failure rats, decrease myocardial apoptosis and myocardial fibrosis. This may be one of mechanisms of *Zhenwu Decoction* in treating heart failure.

Keywords heart failure; *Zhenwu Decoction*; ventricular remodeling; apoptosis; myocardial fibrosis; endoplasmic reticulum stress

(收稿日期: 2016-12-29; 修回日期: 2017-03-30)

编辑: 王利菊

中西医结合肝癌治疗技术新进展学术研讨会征文通知

由中华中医药学会主办、河南省中医院、《世界中西医结合杂志》社承办的“中西医结合肝癌治疗技术新进展学术研讨会”拟定于 2017 年 9 月 8-10 日在河南省郑州市召开, 会议将邀请知名的中西医肿瘤学专家学者作专题报告及学术论文交流。会议期间, 将聘请部分与会专家为中华中医药学会部分系列杂志的编委并颁发证书。现将有关事项通知如下:

1. 征文内容与要求

未在国内外杂志公开发表的, 内容涉及肝癌、肝硬化、各类慢性肝炎等的文献研究、理论探讨、实验研究、临床研究、药物研究、临证经验总结、思路与方法研究、最新研究进展以及治未病等。论文将择优汇集在《世界中西医结合杂志》增刊中。来稿体裁不限, 要求论点明确, 论据充分, 逻辑性强; 字数 3000~4000 字; 附 400 字以内摘要、3~5 个关键词及 100 字的个人简介。论文发送至邮箱: sjzxyjh@126.com (注明会议征稿)。稿件末尾注明作者姓名、单位、详细通讯地址、邮编、电话、电子邮箱。截稿日期为: 2017 年 8 月 15 日。

2. 会议费用

会务费 1000 元/人, 餐饮、住宿由大会统一安排, 交通费、住宿费自理。

3. 报到地点

河南索尔酒店 (郑州市金水区东风路与丰庆路交叉口向北三百米路西, 河南省中医院西门)。

4. 联系人

乔利梅 13811106829; 杨露露 13522879627