

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.07.017

实验研究

扶正化瘀胶囊对心肌梗死后心肌纤维化大鼠细胞外基质代谢的影响

祁轶斐¹, 任学娇¹, 蒯利霞¹, 吴爱明¹, 赵明镜¹, 赵一舟¹,
成文堃¹, 王婕¹, 朱珂¹, 陈萌², 张冬梅^{*}

(1. 北京中医药大学东直门医院, 北京市东城区海运仓 5 号, 100700; 2. 北京中医药大学基础医学院)

摘要 目的 探讨扶正化瘀胶囊治疗心肌梗死后心肌纤维化的可能作用机制。方法 24 只大鼠随机分为模型组、扶正化瘀组、卡托普利组、假手术组, 每组 6 只。除假手术组外, 其余各组采用左冠状动脉前降支结扎术制备大鼠心肌梗死模型。造模后扶正化瘀组给予扶正化瘀胶囊 0.4 g/(kg·d) 灌胃, 卡托普利组给予卡托普利 2.25 mg/(kg·d) 灌胃, 假手术组和模型组均给予等体积的去离子水灌胃, 各组均每日 1 次, 连续 8 周。采用天狼星红染色检测心肌胶原分数 (CVF), 免疫组化、实时荧光定量 PCR 法分别检测 I 型胶原、基质金属蛋白酶 2 (MMP-2)、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、基质金属蛋白酶抑制剂 1 (TIMP-1)、基质金属蛋白酶抑制剂 2 (TIMP-2) 蛋白及 mRNA 表达。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠 CVF、MMP-2/TIMP-2 及 I 型胶原、MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白及 mRNA 表达均升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 扶正化瘀组、卡托普利组 CVF、MMP-2/TIMP-2 及 I 型胶原、MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白及 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与卡托普利组比较, 扶正化瘀组 CVF、TIMP-1 蛋白表达升高, TIMP-1 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 扶正化瘀胶囊能改善大鼠心肌梗死后心肌纤维化, 其机制可能与调控 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白和 mRNA 表达及 MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1 有关。

关键词 心肌纤维化; 心肌梗死; 扶正化瘀胶囊; 细胞外基质; 基质金属蛋白酶

心肌纤维化 (myocardial fibrosis, MF) 与心肌梗死、高血压病、糖尿病心肌病等多种疾病密切相关, 是许多心脏疾病的终末阶段。胶原纤维的过量沉积、胶原浓度的显著升高、胶原成分的改变及排列紊乱是其病变的主要特征^[1]。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 及基质金属蛋白酶抑制剂 (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMPs) 的失衡所导致的细胞外基质降解失衡是心肌纤维化的重要病理机制之一^[2]。扶正化瘀胶囊由丹参、桃仁、松花粉、五味子、绞股蓝、虫草菌丝组成, 具有活血祛瘀、益精养肝的功效, 可以通过抑制肝形状细胞活化与增殖、抑制胶原形成、保护肝细胞等机制, 起到缓解乙型肝炎肝纤维化、肝硬化及其并发症的作用^[3-4]。研究发现, 扶正化瘀

胶囊除了可以改善肝纤维化外, 还具有改善心肌梗死后心肌纤维化的作用^[5], 但其具体作用机制尚不明确。本研究拟观察扶正化瘀胶囊对模型大鼠细胞外基质代谢的影响, 探讨其对改善心肌纤维化的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

成年正常雄性 SD 大鼠, 40 只, 清洁级, 体重 180 ~ 200 g。由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001。

1.2 药物

扶正化瘀胶囊 (上海黄海制药有限责任公司, 批号: 151040); 卡托普利片 (中美上海施贵宝制药有限公司, 批号: AAD7212)。

基金项目: 国家自然科学基金 (81473662)

* 通讯作者: chaweto@126.com

1.3 主要试剂与仪器

戊巴比妥钠 (北京化学试剂公司, 批号: 020919); 天狼星红染色液试剂盒 (索莱宝公司, 批号: 20170214); Trizol 核酸提取液 (Ambion 公司, 批号: 140502); RT-PCR 试剂盒 (批号: 00412755); SYBR Select Master Mix (批号: 1610048) 均为美国 Thermo 公司产品; 基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 抗体 (货号: AF1488)、基质金属蛋白酶抑制剂 1 (TIMP1) 抗体 (货号: AF580) 均为 RD System 公司产品; I 型胶原蛋白抗体 (货号: ab34710)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 抗体 (货号: ab76003)、基质金属蛋白酶抑制剂 2 (TIMP-2) 抗体 (货号: ab1828) 均为 Abcam 公司产品; 兔超敏二步法免疫组化检测试剂 (货号: PV-9001)、山羊超敏二步法免疫组化检测试剂 (货号: PV-9003)、小鼠超敏二步法免疫组化检测试剂 (货号: PV-9005)、DAB 显色试剂盒 (货号: K163318G) 均为北京中杉金桥生物技术有限公司产品。

动物呼吸机 (型号: ALC-V8, 上海奥尔科特生物科技有限公司); 心电图机 (型号: Fx-7202, CardiMax 公司); 紫外分光光度计 (型号: Gene Quant, Pharmacia Biotech 公司); 基因扩增仪 (型号: GeneAmp PCR system 9700, 美国 AB 公司); 实时荧光定量 PCR 仪 (型号: Mx3000P, 美国安捷伦科技公司); 光学显微镜 (型号: BX53, Olympus 公司)。

1.4 动物造模、分组及给药

40 只大鼠依照随机数字表分为 32 只造模组和 8 只假手术组。造模组大鼠参照文献 [6] 制造急性心肌梗死模型, 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔麻醉后背位固定, 气管插管, 连接呼吸机和心电图机。于左胸第 3、4 肋间打开 1.5 cm 长开口, 撕开心包膜, 暴露心脏, 于动脉圆锥与左心耳之间下 1 mm 处结扎左冠状动脉前降支。肉眼可见左室前壁心肌颜色变苍白且心电图显示 ST 段显著抬高时, 重置心脏于胸腔, 缝合胸壁, 术后给予速尿和利多卡因均 1 ml/只, 并连续 3 天注射青霉素 40 U 预防感染。假手术组只穿线不结扎。造模成功的 23 只大鼠依照随机数字表法分为模型组 7 只、卡托普利组 8 只、扶正化瘀组 8 只。模型组于 48 h 内死亡 1 只, 剩余 6 只。为统一各组鼠数, 卡托普利组和扶正化瘀组用随机数字表法各选出 6 只。

造模第 2 天开始给药, 给药剂量按照人常用剂量为等效剂量, 经等效体表面积公式^[7]换算后,

在保证每只大鼠每 100 g 体重灌 0.5 ml 溶液的前提下配置各组药液浓度。扶正化瘀组给予扶正化瘀胶囊 0.4 g/(kg·d) 灌胃, 卡托普利片组给予卡托普利片 2.25 mg/(kg·d) 灌胃, 假手术组和模型组均给予等体积的去离子水灌胃。各组均每日 1 次, 连续 8 周。

1.5 观察指标及方法

给药结束后, 大鼠用 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔麻醉, 打开胸腔, 摘取心脏。沿心脏最大横径切开心脏, 从最大横径向心底部取约 6 mm 厚度的组织, 迅速放入 4% 多聚甲醛中固定, 常规脱水石蜡包埋, 制作切片, 片厚 4 μm。取心肌梗死边缘区组织块待检。

1.5.1 心肌胶原容积分数 (CVF) 采用天狼星红染色法, 按照试剂盒说明书进行操作。心肌组织切片经脱蜡至水, 分别进行 weigert 铁苏木素染色、酸性分化液分化、天狼星红染色液滴染处理。显微镜 400 倍放大, 镜下随机取 8 个梗死边缘区视野。镜下胶原纤维、肌纤维、细胞核分别呈红、黄、蓝色。采用 Image-Pro Plus Version 6.0 软件进行图像分析, 测算 CVF, $CVF = \frac{\text{胶原面积}}{(\text{胶原面积} + \text{心肌面积})} \times 100\%$ 。

1.5.2 心肌 I 型胶原、MMP-2、MMP-9、TIMP-1 和 TIMP-2 蛋白表达 采用免疫组化法。心肌组织切片二甲苯脱蜡、梯度酒精水化, 微波抗原热修复充分暴露抗原, 3% 过氧化氢灭活内源性过氧化物酶, 滴加一抗并于 4℃ 冰箱过夜孵育、PBS 清洗后孵育二抗, DAB 显色, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片。光学显微镜下观察, 细胞浆棕黄色染色颗粒为阳性表达。图片通过 Image-Pro Plus Version 6.0 进行图像分析, 采用平均光密度 (IOD) / 视野内组织总面积表示。

1.5.3 心肌 I 型胶原、MMP-2、MMP-9、TIMP-1 和 TIMP-2 mRNA 表达

采用实时荧光定量 PCR 法, 用 Trizol 核酸提取液提取梗死边缘区心肌组织总 RNA。紫外分光光度计测量 RNA 的纯度及浓度。根据反转录试剂盒说明书进行反转, 以 cDNA 链为模板进行反应, 反应体系为 20 μl, 其中包括 1 μl cDNA, 10 μmol/L 上下游引物各 1 μl, 2 × SYBER Green PCR mix 10 μl。以 GAPDH 为内参, PCR 引物由北京诺塞基因组研究中心有限公司合成。引物序列如下: I 型胶原, 上游: 5'-TGACCAGCCTCGCTCACAG-3', 下游: 5'-ATCCAGTAGTAATCGCTCTTCCA-3'; MMP-2, 上游: 5'-CCCCTATCTACACCTACACCAA-3',

下游: 5'-CTCACCACGGATCTGAGCAAT-3'; MMP-9, 上游: 5'-AAAGGTCGCTCGGATGGTTAT-3', 下游: 5'-CTGCTTGCCCAAGACGAA-3'; TIMP-1, 上游: 5'-GCCTGTAGCTGTGCCCCAACC-3', 下游: 5'-TGGGGTGTAGGCCAACCGGA-3'; TIMP-2, 上游: 5'-GAATATCTAATTGCAGGGAAGGC-3', 下游: 5'-TGGGTGATGCTAAGCGTGTC-3'; GAPDH, 上游: 5'-AGTTCAACGGCACAGTCAAG-3', 下游: 5'-TACTCAGCACCAGCATCACC-3'。PCR 条件: 95℃ 预变性 10 min, 95℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 20 s, 共 40 个循环。所得 CT 值按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的方法进行均一化处理后再进行统计学分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22 软件进行统计学分析。数据以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 先进行正态性检验, 符合正态分布采用单因素方差分析, 组间比较用 LSD 法, 不符合正态分布的采用 Kruskal-Wallis 检验。检验标准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠 CVF 比较

表 1 示, 与假手术组比较, 模型组 CVF 升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 扶正化瘀组和卡托普利组大鼠 CVF 均降低 ($P < 0.01$); 卡托普利组 CVF 低于扶正化瘀组 ($P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠心肌组织 I 型胶原蛋白及 mRNA 表达比较

表 1 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠 I 型胶原蛋白及 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 扶正化瘀组、卡托普利组大鼠 I 型胶原蛋白

及 mRNA 表达均降低 ($P < 0.01$); 扶正化瘀组与卡托普利组 I 型胶原蛋白及 mRNA 表达比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠 CVF 及心肌组织 I 型胶原蛋白及其 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	CVF (%)	I 型胶原蛋白	I 型胶原 mRNA
假手术组	6	5.21 $\pm$ 0.81	0.05 $\pm$ 0.00	1.03 $\pm$ 0.11
模型组	6	39.25 $\pm$ 0.70**	0.18 $\pm$ 0.00**	3.68 $\pm$ 0.46**
卡托普利组	6	14.85 $\pm$ 0.81** Δ	0.11 $\pm$ 0.00** Δ	2.23 $\pm$ 0.38** Δ
扶正化瘀组	6	23.45 $\pm$ 1.96** Δ	0.11 $\pm$ 0.00** Δ	1.83 $\pm$ 0.16 Δ

注: CVF, 心肌胶原容积分数; 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与卡托普利组比较, $\Delta P < 0.01$

2.3 各组大鼠心肌组织 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白表达及 MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1 比较

表 2 示, 与假手术组比较, 模型组 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白表达及 MMP-2/TIMP-2 升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 扶正化瘀组和卡托普利组 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白表达及 MMP-2/TIMP-2 下降, 扶正化瘀组 MMP-9/TIMP-1 亦下降 ($P < 0.01$); 扶正化瘀组 TIMP-1 蛋白表达高于卡托普利组 ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠心肌组织 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 mRNA 表达比较

表 3 示, 与假手术组比较, 模型组大鼠 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 扶正化瘀组、卡托普利组 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 mRNA 表达降

表 2 各组大鼠心肌组织 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白表达及 MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	MMP-2	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2	MMP-2/TIMP-2	MMP-9/TIMP-1
假手术组	6	0.06 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.00	0.85 $\pm$ 0.06	1.03 $\pm$ 0.06
模型组	6	0.14 $\pm$ 0.00**	0.15 $\pm$ 0.01**	0.13 $\pm$ 0.00**	0.13 $\pm$ 0.06**	1.06 $\pm$ 0.47*	1.13 $\pm$ 0.06
卡托普利组	6	0.06 $\pm$ 0.00 Δ	0.07 $\pm$ 0.01 Δ	0.07 $\pm$ 0.00 Δ	0.08 $\pm$ 0.01 Δ	0.76 $\pm$ 0.05 Δ	0.93 $\pm$ 0.04
扶正化瘀组	6	0.07 $\pm$ 0.00 Δ	0.07 $\pm$ 0.01 Δ	0.08 $\pm$ 0.00 Δ Δ	0.08 $\pm$ 0.01* Δ	0.80 $\pm$ 0.05 Δ	0.77 $\pm$ 0.07 Δ

注: MMP-2, 基质金属蛋白酶 2; MMP-9, 基质金属蛋白酶 9; TIMP-1, 基质金属蛋白酶抑制剂 1; TIMP-2, 基质金属蛋白酶抑制剂 2; 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与卡托普利组比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 各组大鼠心肌组织 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	MMP-2	MMP-9	TIMP-1	TIMP-2
假手术组	6	1.03 $\pm$ 0.12	1.02 $\pm$ 0.09	1.04 $\pm$ 0.14	1.03 $\pm$ 0.12
模型组	6	3.28 $\pm$ 0.15*	2.44 $\pm$ 0.45*	4.81 $\pm$ 0.61*	2.02 $\pm$ 0.10*
卡托普利组	6	1.86 $\pm$ 0.25* Δ Δ	0.80 $\pm$ 0.18 Δ Δ	3.27 $\pm$ 0.48* Δ	1.67 $\pm$ 0.08* Δ
扶正化瘀组	6	1.84 $\pm$ 0.10* Δ Δ	0.91 $\pm$ 0.16 Δ Δ	1.91 $\pm$ 0.18 Δ Δ Δ	1.52 $\pm$ 0.11* Δ Δ

注: MMP-2, 基质金属蛋白酶 2; MMP-9, 基质金属蛋白酶 9; TIMP-1, 基质金属蛋白酶抑制剂 1; TIMP-2, 基质金属蛋白酶抑制剂 2; 与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta P < 0.01$; 与卡托普利组比较, $\Delta P < 0.05$

低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与卡托普利组比较, 扶正化瘀组 TIMP-1 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。

3 讨论

心肌纤维化是多种心血管疾病的共同终末转归, 依据该病的临床表现, 可以将其归属于中医学“胸痹”“心悸”“水肿”“痰饮”等范畴。该病病机总属本虚标实、久病入络, 本虚以阳气亏虚为主, 标实责之瘀血、痰浊、热毒^[8]。扶正化瘀胶囊是针对乙型肝炎肝硬化正虚血瘀的病机而设, 用治于瘀血阻络, 肝肾不足者。方中丹参、桃仁活血祛瘀, 发酵虫草菌粉、绞股蓝补虚损、益精气, 松花粉益气润燥, 五味子引经。

细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 是一个动态平衡的稳定体系, 为组织、细胞功能的正常发挥提供微环境。ECM 的异常变动, 如沉积增多或降解减少, 均可直接导致纤维化病变的发生^[9]。在心肌中细胞外基质主要由 I 型、III 型胶原组成, 其中 I 型胶原约占心肌胶原的 80%, 以粗纤维形式存在, 具有很强的张力, 决定了心肌的僵硬程度^[10]。本研究结果显示, 模型组 I 型胶原蛋白及其 mRNA 表达上调, 天狼星红染色显示胶原成分显著增多, CVF 明显升高, 提示心室重构, 胶原过度沉积, 心肌纤维化形成。扶正化瘀组和卡托普利组 I 型胶原蛋白及其 mRNA 表达较模型组下调, CVF 明显减少, 表明两者都具有减轻心肌胶原蛋白沉积、缓解心肌纤维化的作用。与扶正化瘀组相比, 卡托普利组 CVF 下降更为显著, 在改善胶原容积方面作用更优。

MMPs 和 TIMPs 密切参与细胞外基质的代谢调控^[11]。MMPs 能够降解正常的胶原蛋白网络, 增加病理性的纤维结缔组织^[12]。TIMPs 是 MMPs 内源性抑制剂, 二者相互作用, 共同维持 ECM 稳态。在心肌中, MMP-2 和 MMP-9 同属明胶酶亚类, 其作用底物最为广泛, 是纤维化早期 ECM 主要分解酶^[13-14]。过度表达的 MMP-2、MMP-9 可破坏胶原蛋白网络, 促进成纤维细胞迁移、增殖、分化、炎症细胞的游走及后续 ECM 沉积^[15]。TIMP-1、TIMP-2 分别特异性地参与了 MMP-9、MMP-2 酶原的活化过程^[16]。本研究结果显示, 模型组大鼠心肌梗死边缘区组织内 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白及 mRNA 高表达, MMP-9/TIMP-1、MMP-2/TIMP-2 比值水平升高, 提示 MMP-2、MMP-9 的表达与活性高于 TIMP-1、TIMP-2 的表达

与活性, MMP-9/TIMP-1、MMP-2/TIMP-2 失衡, 细胞外基质代谢紊乱, 心室重构, 心肌纤维化形成。经扶正化瘀胶囊和卡托普利治疗后, MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白及 mRNA 表达下调, MMP-9/TIMP-1、MMP-2/TIMP-2 降低, 提示两者可通过降低 MMPs/TIMPs 使其趋于相对平衡, 调控心肌纤维化。两用药组除了在 TIMP-1 的基因调控和蛋白质水平上各具下调优势外, 在其他方面扶正化瘀胶囊作用与卡托普利相当。

心肌纤维化是心肌梗死后心室重构的重要病理变化, 也是影响患者预后的关键因素^[17]。预防和逆转纤维化是改善心肌梗死预后的重要干预靶点。本研究结果表明, 扶正化瘀胶囊可通过下调 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 蛋白及 mRNA 表达, 调节 MMP-9/TIMP-1、MMP-2/TIMP-2, 调控细胞外基质代谢, 从而降低 I 型胶原蛋白及其 mRNA 表达, 达到了缓解心肌纤维化的治疗效果。由于心肌纤维化的产生是多种复杂因素共同作用的结果, 因此本实验也存在一定的局限性。MMPs/TIMPs 平衡失调所致的 ECM 沉积是导致心肌纤维化的直接病理机制, 而扶正化瘀胶囊是否还参与了前期诸如炎症反应、神经-体液调节、致纤维化因子的释放与调控、非编码 RNA 调节等环节尚无定论, 将在下一步的研究中进行更深入的探讨。

参考文献

- [1] 张召才. 心肌纤维化的研究进展 [J]. 临床心血管病杂志, 2004, 20(1): 58-60.
- [2] LÓPEZ B, GONZÁLEZ A, DíEZ J. Role of matrix metalloproteinases in hypertension-associated cardiac fibrosis [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2004, 13(2): 197-204.
- [3] SONG YN, CHEN J, CAI FF, et al. A metabolic mechanism analysis of Fuzheng-Huayu formula for improving liver cirrhosis with traditional Chinese medicine syndromes [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2017, 38(1): 1-9.
- [4] LIU C, HU Y, XU L, et al. Effect of Fuzheng Huayu formula and its actions against liver fibrosis [J]. Chin Med, 2009, 4: 12. doi: 10.1186/1749-8546-4-12.
- [5] 吴爱明, 翟建英, 张冬梅, 等. 扶正化瘀胶囊对心肌梗死大鼠心肌纤维化的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(14): 2618-2621.
- [6] 王硕仁, 王振涛, 赵明镜, 等. 心气虚病证动物模型及其评价体系的构建 [J]. 中国实验动物学报, 2002, 10(1): 35-40.
- [7] 徐淑云, 卞如瀛, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北

京: 人民卫生出版社, 2002: 203-206.

黄牧华, 周华. 中医药干预心肌纤维化机制研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2016, 30(1): 81-85.

MOORE L, FAN D, BASU R, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) in heart failure [J]. Heart Fail Rev, 2012, 17(4-5): 693-706.

MEREER SE, ODELBURG SJ, SIMON HG. A dynamic spatiotemporal extracellular matrix facilitates epicardial-mediated vertebrate heart regeneration [J]. Dev Biol, 2013, 382(2): 457-469.

叶玉民, 黄子扬. 基质金属蛋白酶与心肌重构关系的研究进展 [J]. 医学综述, 2011, 17(16): 2418-2421.

喻正科, 陈志红, 颜旭, 等. 参竹心康汤对慢性心力衰竭大鼠心室重构的影响 [J]. 中国中医急症, 2013, 22(2): 205-207.

DELEON-PENNELL KY, MESCHIARI CA, JUNG M, et

al. Matrix metalloproteinases in myocardial infarction and heart failure [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2017, 147: 75-100. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.001.

LI M, YANG G, XIE B, et al. Changes in matrix metalloproteinase-9 levels during progression of atrial fibrillation [J]. J Int Med Res, 2014, 42(1): 224-230.

PORTER KE, TURNER NA. Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling [J]. Pharmacol Ther, 2009, 123(2): 255-278.

BAKER A, EDWARDS D, MURPHY G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities [J]. J Cell Sci, 2002, 115(19): 3719-3727.

ELIAS N, TARASOUTCHI F, SPINA GS, et al. Myocardial fibrosis and ventricular remodeling in severe chronic aortic regurgitation [J]. Arq Bras Cardiol, 2009, 92(1): 63-67.

Effect of *Fuzheng Huayu Capsule* (扶正化瘀胶囊) on the Metabolism of Extracellular Matrix in Rats with Myocardial Fibrosis after Myocardial Infarction

QI Yifei¹, REN Xuejiao¹, LOU Lixia¹, WU Aiming¹, ZHAO Mingjing¹, ZHAO Yizhou¹, CHENG Wenkun¹, WANG Jie¹, ZHU Ke¹, CHEN Meng², ZHANG Dongmei¹

(1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100700; 2. School of Basic Medicine, Beijing University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Fuzheng Huayu Capsule* (扶正化瘀胶囊) in treating myocardial fibrosis after myocardial infarction. **Methods** Twenty-four rats were randomly divided into model group, *Fuzheng Huayu* group, captopril group and sham operation group, with 6 rats in each group. Except for the sham operation group, the other groups were treated with left anterior descending coronary artery ligation to prepare myocardial infarction model in rats. After the modeling, the *Fuzheng Huayu* group was given *Fuzheng Huayu Capsule* 0.4 g/(kg · d) by gavage, the captopril group was given captopril 2.25 mg/(kg · d) by gavage, and both the sham operation and model groups were given equal volume of deionized water by gavage. Each group was treated 1 times a day for 8 weeks. Myocardial collagen volume fraction (CVF) was detected by Sirius red staining. The expression of type I collagen, matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1), tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP-2) protein and mRNA were separately detected by immunohistochemistry and real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** Compared with the sham operation group, the expression of CVF, MMP-2/TIMP-2 and type I collagen, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 protein and mRNA were increased in the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, the expression of CVF, MMP-2/TIMP-2 and type I collagen, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 protein and mRNA were decreased in the *Fuzheng Huayu* group and captopril group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the captopril group, the expression of CVF and TIMP-1 protein was increased and the TIMP-1 mRNA expression was decreased in *Fuzheng Huayu* group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** *Fuzheng Huayu Capsule* could improve myocardial fibrosis after myocardial infarction in rats. Its mechanism may be related to the regulation of the expression of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 protein and mRNA and MMP-2/TIMP-2 and MMP-9/TIMP-1.

Keywords myocardial fibrosis; myocardial infarction; *Fuzheng Huayu Capsule*; extracellular matrix; matrix metalloproteinase

(收稿日期: 2017-11-27; 修回日期: 2018-02-05)

编辑: 王利芬