

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.13.015

芪参颗粒对心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化的影响

高鹏荣, 张建, 刘俊杰, 弓铭, 王勇, 王伟*

(北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029)

摘要 目的 探讨芪参颗粒治疗心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化的可能作用机制。方法 50 只 SD 大鼠随机分为假手术组 15 只、模型组 12 只、芪参颗粒组 12 只、非诺贝特组 11 只。除假手术组外, 其余各组大鼠采用左心冠状动脉结扎诱导心肌梗死后心力衰竭大鼠模型。芪参颗粒组给予芪参颗粒 18.66 g/(kg·d) 灌胃, 非诺贝特组给予非诺贝特胶囊 10 mg/(kg·d) 灌胃, 假手术组和模型组给予同体积生理盐水灌胃, 连续给药 28 天。检测各组大鼠心功能, 分别观察各组大鼠心肌组织病理变化, 并采用 Western blot 法检测大鼠心肌组织中转化生长因子 β (TGF- β)、Smad3、Wnt1a、 β -catenin、Wnt1 诱导的分泌蛋白 1 (WISP-1)、Wnt5a 蛋白含量。结果 与假手术组比较, 模型组左室射血分数 (EF)、短轴缩短率 (FS) 均显著降低, 左室舒张末内径 (LVIDd)、左室收缩末内径 (LVIDs) 均显著增高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 芪参颗粒组 EF、FS 显著升高, LVIDd、LVIDs 显著降低, 非诺贝特组 EF、FS 显著升高, LVIDs 显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。HE 染色显示, 模型组大鼠心肌细胞排列紊乱, 心肌间质出现大量炎性细胞浸润, 胶原过度沉积, 纤维明显增生, 丧失正常结构; 芪参颗粒组与假手术组细胞排列整齐, 细胞形态基本无变化, 仅表现少量胶原沉积, 心肌纤维化得以改善。与假手术组比较, 模型组 TGF- β 、Smad3、Wnt1a、 β -catenin、WISP-1、Wnt5a 蛋白表达增高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 芪参颗粒组和非诺贝特组 TGF- β 、Smad3、Wnt1a、 β -catenin、WISP-1、Wnt5a 蛋白降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 芪参颗粒组与非诺贝特组各指标比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 芪参颗粒能够显著改善心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化, 且与非诺贝特胶囊效果相当, 其机制可能与抑制心肌组织 TGF- β 与 Wnt 通路有关。

关键词 心肌纤维化; 心肌梗死; 心力衰竭; 芪参颗粒; 心功能; 转化生长因子 β

心肌纤维化 (cardiac fibrosis, CF) 是以心肌中基质细胞和细胞外基质蛋白 (extracellular matrix proteins, ECM) 过度积累为特征的疾病^[1]。心肌梗死、高血压病、心肌炎、肥厚性心肌病以及扩张性心肌病等病理性心脏病都是导致心肌纤维化发生和发展的重要因素, 而心肌纤维化则是导致心力衰竭的重要原因之一^[2]。芪参颗粒是由四妙勇安汤加减而来, 前期研究^[3]发现芪参颗粒在抗心肌纤维化以及心肌梗死后心力衰竭方面有着良好的治疗作用, 可以改善心肌梗死后心肌纤维化水平。本研究进一步探讨芪参颗粒对心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化的可能药理机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 90 只, 体重 (220 ± 10) g。购自北京维通利华实验动物中心, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2016-0006。室温 22 ~ 24℃, 湿度 45% ~ 65%, 自由饮水, 普通饲料喂养。

1.2 药物

芪参颗粒由黄芪 30 g、丹参 15 g、黑顺片 9 g、玄参 10 g、金银花 10 g、炙甘草 6 g 组成, 饮片购自北京同仁堂制药有限公司, 按照课题组前期建立的方法^[3]制备颗粒剂; 非诺贝特胶囊 (法国 Laboratoires FOURNIER SAS, 注册证号: H20160155)。

1.3 试剂与仪器

RIPA 裂解液 (货号: C1053)、蛋白酶抑制剂混合物 (货号: P1265)、BCA 蛋白质定量试剂盒

基金项目: 国家自然科学基金 (8153000367)

* 通讯作者: wangwei26960@126.com

(货号: P1511-2), 北京普利莱基因技术有限公司; 转化生长因子 β (TGF- β , 货号: 3711, 1: 2000)、Smad3 (货号: 9513, 1: 2000), Cell Signaling 公司; Wnt1a (货号: ab85060, 1: 2000)、 β -catenin (货号: ab27798, 1: 2000)、Wnt1 诱导的分泌蛋白 1 (WISP-1, 货号: ab178547, 1: 2000)、Wnt5a (货号: ab72583, 1: 2000)、二抗 (货号: ab150077, 1: 16000), Abcam 公司; 1% 戊巴比妥钠 (批号: 261-776-6, Sigma); 4% 多聚甲醛 (货号: BH705)、乙醇 (货号: BH679)、盐酸 (货号: a0300003)、2% 冰醋酸 (货号: BH001)、1% 磷钨酸 (货号: BH503), 北京化工厂; 二甲苯 (货号: kgf021, 凯基生物); 苏木精 (货号: c1410)、丽春红 (货号: p1600)、PVDF 膜 (货号: P2120-0.45)、10X 封闭洗涤缓冲液 (货号: B1009)、ECL 发光液 (货号: P1010-100), 北京普利莱基因技术有限公司; 苯胺蓝 (货号: 016-21302, 日本和光纯药工业株式会社)。

石蜡熔蜡箱 (樱花病理仪器株式会社, 型号: PM-401); Multiskan 全自动酶标仪 (Thermo 公司, 型号: Mk3); 凝胶成像仪 (Bio-Rad 公司, 型号: Molecular Imagery ChemiDoc™ XRST); 电泳仪 (Bio-Rad 公司, 型号: Mini Protean Tetra Cell 552BR); 光学显微镜 (奥林巴斯公司, 型号: IX71); 小动物超声影像系统 (VisualSonics 公司, 型号: Vevo2100)。

1.4 动物分组、造模及给药

90 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后按照体重由轻到重进行排序, 将序号相邻的 6 只大鼠分为 1 组, 共分为 15 个小组, 每个小组内按体重由轻到重重新编号 (1~6), 采用随机数表, 每当表中出现尾数为 1~6 之间的数时 (包含 1 和 6), 则取小组中序号与随机数尾数相应的大鼠为假手术组大鼠, 其余组内大鼠归为模型组, 各组大鼠依次分组, 最终分为假手术组 15 只和模型组 75 只。模型组大鼠进行左心冠状动脉结扎^[4-5], 术后进行心电图检测, 大鼠心电图标准 12 导联中出现 6~8 个导联 Q 波的大鼠纳入研究范围。假手术组大鼠只穿线不结扎, 其余处理同模型组大鼠。以小动物超声结果中左室射血分数 (EF) <45% 作为心力衰竭评价标准^[6]。

将 35 只造模成功的大鼠按体重由轻到重排序, 每 3 只相邻序号的大鼠分为 1 组, 共分为 12 组, 每个小组内按体重由轻到重重新编号 (1~3), 采用随机数表, 每当表中出现尾数为 1~3 之间的随机数 (包含 1 和 3), 则取小组内序号与随机数尾

数相同的大鼠分入相应组别, 最终分别为 1-模型组、2-芪参颗粒组、3-非诺贝特组, 且当每组中两只大鼠被归入相应组别后, 第 3 只大鼠自动归入剩余组别, 分为模型组 12 只、芪参颗粒组 12 只、非诺贝特组 11 只。根据本团队之前实验结果^[3,4], 芪参颗粒组给予芪参颗粒 18.66 g/(kg·d) 灌胃, 非诺贝特组给予非诺贝特胶囊 10 mg/(kg·d) 灌胃, 均每日 1 次; 假手术组和模型组大鼠给予 1 ml/(100 g·d) 生理盐水灌胃。各组均连续灌胃 28 天。

1.5 检测指标与方法

给药结束后检测各组大鼠心功能, 之后按 50 mg/kg 剂量腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉大鼠, 摘取大鼠心脏, 留取部分心脏组织用 4% 多聚甲醛固定, 梯度乙醇脱水, 石蜡包埋, 切片, 备 HE 染色、Masson 染色使用, 其余大鼠心脏取左心室梗死边缘区组织进行 Western blot 检测。

1.5.1 超声检测心功能 检测大鼠 EF、短轴缩短率 (FS)、左室舒张末内径 (LVIDd)、左室收缩末内径 (LVIDs)。

1.5.2 HE 染色观察心肌组织病理 将石蜡切片进行 HE 常规染色, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片, 于光学显微镜下观察心肌梗死边缘区心肌细胞。

1.5.3 Masson 染色观察心肌组织病理 将石蜡切片加入二甲苯中进行脱蜡, 在 100%、95%、85%、75% 乙醇中脱水 5 min, 流水清洗进行铬化处理, 滴加苏木精染色 5 min, 水洗后在盐酸中酸化 5 s, 再次水洗后滴加丽春红染色 5 min, 滴加 2% 冰醋酸进行清洗, 置于 1% 磷钨酸中 5 min, 加入苯胺蓝染色 5 min, 滴加 2% 冰醋酸进行清洗后加入无水乙醇进行脱水处理, 最后进行透明、封片, 于光学显微镜下观察心肌梗死边缘区心肌细胞。

1.5.4 Western blot 法检测心肌组织 TGF- β 、Smad3、Wnt1a、 β -catenin、WISP-1、Wnt5a 蛋白含量 RIPA 裂解缓冲液提取总蛋白, BCA 法进行蛋白定量; 蛋白上样量 50 μ g/10 μ l, 电压 80~120 V, 电泳 1~1.5 h。将凝胶上的蛋白通过电转步骤转移到 PVDF 膜, 以 5% 脱脂奶粉 37℃ 封闭 1 h, TGF- β 、Smad3、Wnt1a、 β -catenin、WISP-1、Wnt5a 抗体与膜在抗体孵育盒内孵育 4℃ 过夜。TBST 漂洗 PVDF 膜 3 次, 10 min/次; 取出 PVDF 膜加入二抗, 常温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次后, 滴 ECL 发光液进行曝光, 记录蛋白条带的灰度值。

表 1 各组大鼠心功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	EF (%)	FS (%)	LVIDd (cm)	LVIDs (cm)
假手术组	13	92.43 ± 3.68	68.16 ± 7.44	5.81 ± 0.57	2.22 ± 0.64
模型组	9	36.57 ± 4.20*	18.15 ± 3.59*	9.90 ± 0.95*	8.05 ± 1.16*
芪参颗粒组	10	49.00 ± 8.40 ^{△△}	25.11 ± 6.20 ^{△△}	8.20 ± 0.99 ^{△△}	6.76 ± 1.07 ^{△△}
非诺贝特组	9	48.36 ± 9.68 ^{△△}	24.69 ± 3.98 ^{△△}	9.73 ± 0.28	7.40 ± 0.21 [△]

注: EF, 左室射血分数; FS, 短轴缩短率; LVIDd, 左室舒张末内径; LVIDs, 左室收缩末内径; 与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

1.6 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 数据均符合正态分布, 以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多样本间比较用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

实验中假手术组大鼠死亡 2 只, 模型组死亡 3 只, 芪参颗粒组死亡 2 只, 非诺贝特组死亡 2 只。实验终末存活大鼠为假手术组 13 只、模型组 9 只、芪参颗粒组 10 只、非诺贝特组 9 只。

2.1 各组大鼠心功能指标比较

表 1 示, 与假手术组比较, 模型组 EF、FS 均显著降低, LVIDd、LVIDs 均显著增高 ($P < 0.01$), 说明模型组大鼠心功能显著降低; 与模型组比较, 芪参颗粒组 EF、FS 显著升高, LVIDd、LVIDs 显著降低, 非诺贝特组 EF、FS 显著升高, LVIDs 显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 芪参颗粒组与非诺贝特组各指标比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠心肌组织 HE 染色结果

假手术组心肌细胞完整, 排列整齐, 细胞形态基本无变化。模型组大鼠心肌细胞排列紊乱, 心肌间质出现大量炎性细胞浸润, 纤维明显增生, 胶原过度沉积, 丧失正常结构。芪参颗粒组心肌细胞形态均匀, 较少发生炎细胞浸润, 与非诺贝特组相比, 芪参颗粒组细胞形态更为均匀, 炎性细胞浸润更为局限, 纤维增生得到更好抑制。

2.3 各组大鼠心肌组织 Masson 染色结果

假手术组心肌细胞呈鲜红色, 排列整齐有序, 心肌细胞中分布着纤细的胶原纤维, 几乎没有胶原蛋白沉积。模型组心肌细胞明显减少, 形状大小不一, 结构松散凌乱, 并有大量胶原纤维形成, 呈网络状包绕心肌细胞。芪参颗粒组心肌细胞排列较为有序, 形状规则, 仅见少量胶原纤维, 减少胶原沉积效果明显, 抗心肌纤维化效果显著。非诺贝特组心肌细胞排列较为有序, 散见少量胶原沉积, 显示

出与芪参颗粒类似的治疗效果。芪参颗粒组在减少心肌胶原沉积、抑制心肌纤维化进程方面效果较非诺贝特组更为显著。

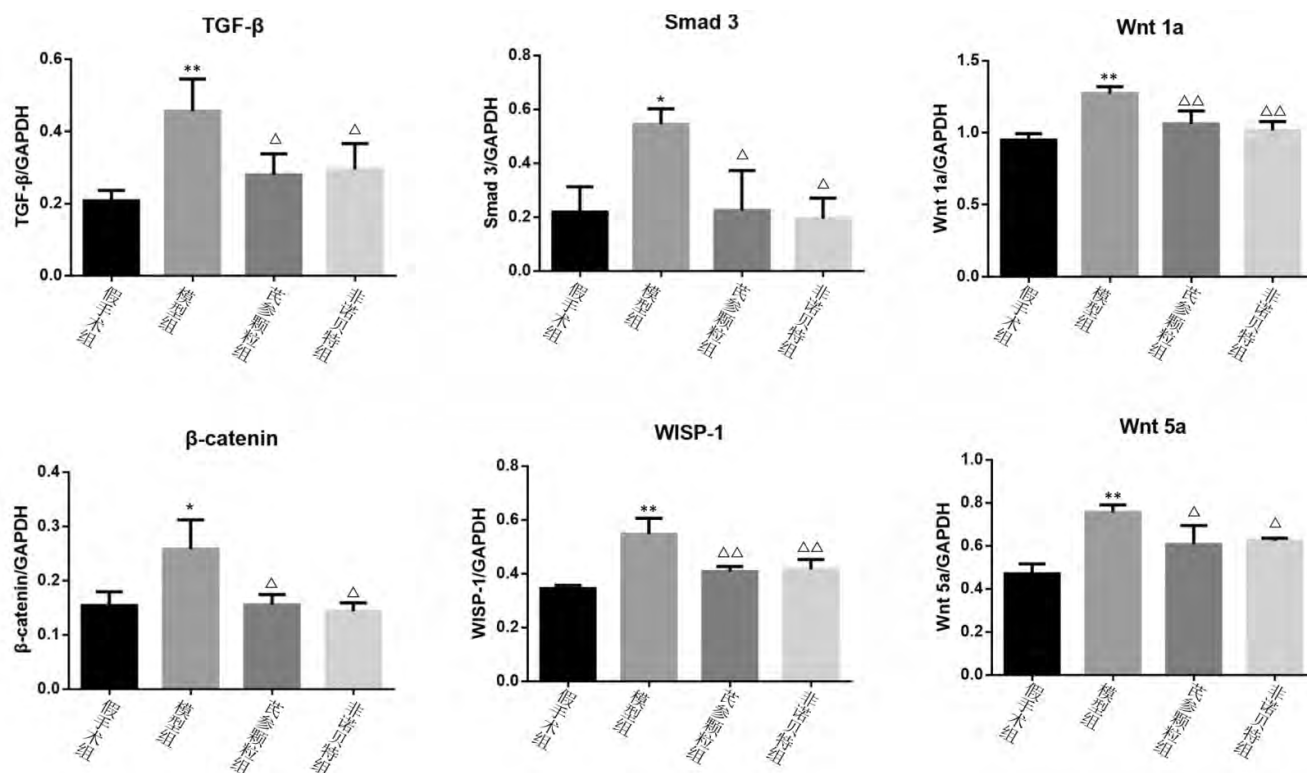
2.4 各组大鼠心肌组织 TGF- β 、Smad3、Wnt1a、 β -catenin、WISP-1、Wnt5a 蛋白表达比较

图 1 示, 与假手术组比较, 模型组 TGF- β 、Smad3、Wnt1a、 β -catenin、WISP-1、Wnt5a 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 芪参颗粒组和非诺贝特组 TGF- β 、Smad3、Wnt1a、 β -catenin、WISP-1、Wnt5a 蛋白表达均有下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 芪参颗粒组和非诺贝特组各蛋白表达比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

中医学认为, 心肌纤维化是正气虚弱和邪气亢盛共同作用的结果, 其中正气虚弱包括气血阴阳的虚弱, 邪气亢盛包括湿热、痰浊、瘀血和毒邪等作用^[1]。由于心肌纤维化始终都有正气亏虚的表现, 同时心脉多有瘀阻, 在心肌纤维化前期多正气虚, 后期多邪气实, 因此, 在早期应以扶正祛邪并用, 晚期则可以扶助正气为主, 主要目的为驱除邪气而不伤正气, 补益正气而不留邪气。芪参颗粒以温阳益气、活血解毒为治则, 方用黄芪补气升阳、丹参活血祛瘀, 二药相配益气活血, 共为君药; 附子补火助阳, 为臣药; 玄参、金银花清热解毒, 为佐药; 炙甘草调和药性, 为使药。前期研究表明, 该方可以有效改善心力衰竭大鼠心功能^[2], 减少心肌纤维化的发生和发展^[3]。

研究显示, TGF- β 、Wnt 蛋白能够促使成纤维细胞和肌成纤维细胞激活和分化, 在心肌纤维化过程中有重要的调控作用^[4]。在心肌梗死动物模型中使用抗 TGF- β 抗体阻断 TGF- β 可以减少胶原沉积和 ECM 的产生^[5]。TGF- β 的信号传导依赖 Smads 蛋白, Smads 蛋白作为 TGF- β 信号传导系统下游通路中重要的细胞内蛋白分子, 可以将 TGF- β 信号从细胞表面传递到细胞核, 从而使编码胶原蛋



注: TGF-β, 转化生长因子 β; WISP-1, Wnt1 诱导的分泌蛋白 1; 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, Δ $P < 0.05$, ΔΔ $P < 0.01$

图 1 各组大鼠心肌组织 TGF-β、Smad3、Wnt1a、β-catenin、WISP-1、Wnt5a 蛋白表达比较

白合成的靶基因激活^[11]。实验研究表明, TGF-β 诱导的胶原合成需要 Smad3 的活性来完成^[11], 而在心肌梗死小鼠模型中 Smad3 缺陷可以显著减少胶原蛋白产生并显著减少心肌纤维化的发生和发展^[12]。

当 Wnt 在细胞外与由细胞膜表面受体和低密度脂蛋白受体相关蛋白组成的跨膜复合物结合后将激活 Wnt-β-catenin 经典通路或 Wnt 非经典反应。在 Wnt 经典反应中 Wnt 1 与受体复合物结合可以激活散乱蛋白, 而激活的散乱蛋白能够抑制糖原合成激酶 3β 依赖性降解复合物并破坏细胞质中连续合成的 β-catenin 蛋白, 导致 β-catenin 在细胞中的持续累积并易位到细胞核。β-catenin 作为转录共激活因子与 T 细胞因子及淋巴细胞增强因子转录因子共同启动 Wnt 靶基因^[13-14]。在 Wnt 非经典反应中 Wnt5a 可以通过激活平面细胞极性途径和钙依赖性途径直接触发 Wnt 靶基因转录, 而在心脏成纤维细胞中的促纤维化反应则与 WISP-1 有密切关联^[15]。实验研究亦发现, 在小鼠急性缺血性心脏损伤后的心外膜中 Wnt1 表达增强^[16], 在具有严重心外膜纤维化的人类心脏中也检测到 β-catenin 蛋白表达量增加^[17]。近年来许多研究发现, Wnt 在

各种动物模型中对心肌纤维化作用产生影响, 其中用 Wnt 蛋白天然抑制剂分泌卷曲蛋白相关蛋白消除心肌中可利用的 Wnt 可以减轻心肌纤维化并改善心功能^[18-20], 在实验性自身免疫性心肌炎的小鼠模型中通过使用分泌卷曲蛋白相关蛋白则成功预防了炎症后纤维化的发展^[21]。

本研究结果显示, 芪参颗粒可以显著减轻心肌细胞结构改变程度, 抑制心肌胶原过度沉积与纤维化。TGF-β、Smad3 在模型组心肌细胞内的表达较假手术组升高, 说明 TGF-β 信号通路在心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌中被激活, 心肌纤维化程度显著增加。经芪参颗粒给药 4 周后可以显著抑制 TGF-β、Smad3 蛋白表达, 说明芪参颗粒可以通过抑制 TGF-β 信号通路从而降低心肌纤维化程度。Wnt1a、β-catenin、WISP-1、Wnt5a 在模型组心肌细胞内的表达较假手术组升高, 说明心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化程度加重, 这一点与国外的研究结论^[10-13]一致。经芪参颗粒给药 4 周后 Wnt1a、β-catenin、WISP-1 及 Wnt5a 的表达显著降低, 并与非诺贝特胶囊作用相似, 说明芪参颗粒可以通过抑制 Wnt 经典通路及非经典通路蛋白表达从而抑制心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化程

度,即通过 TGF- β 通路与 Wnt 通路调控心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化的发展是芪参颗粒心肌保护作用的机制之一。

本研究目前只在蛋白层面验证芪参颗粒调控 TGF- β 、Wnt 通路从而对心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌纤维化的作用机制,尚缺乏基因层面的验证结果。同时,芪参颗粒还存在关键有效成分不清以及有效成分与作用靶标之间关系不明确的问题。在后续实验中本课题组将在已有实验结论的基础上进一步分析芪参颗粒各药物组分中有效成分与治疗靶点的对应关系,并在基因层面对芪参颗粒治疗心肌纤维化的机制通路进行验证,以深入探索芪参颗粒改善心功能的药理作用。

参考文献

- [1] LI L, ZHAO Q, KONG W. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis [J]. *Matrix Biol*, 2018, 68-69: 490-506. doi: 10.1016/j.matbio.2018.01.013.
- [2] KONG P, CHRISTIA P, FRANGOGIANNIS NG. The pathogenesis of cardiac fibrosis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71(4): 549-574.
- [3] XIA K, WANG Q, LI C, et al. Effect of QSKL on MAPK and RhoA pathways in a rat model of heart failure [J]. *Evid Base Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 3903898. doi: 10.1155/2017/3903898.
- [4] 张凯, 谢世阳, 王幼平, 等. 冠脉结扎法建立大鼠急性心肌梗死模型方法的探讨 [J]. *中国中医急症*, 2014, 23(8): 1397-1399.
- [5] 陈会强, 崔炜, 方敬, 等. SD 大鼠急性心肌梗死模型制作方法的改进 [J]. *河北医科大学学报*, 2011, 32(11): 1351-1352.
- [6] WANG XF, QU XQ, ZHANG TT, et al. Testosterone suppresses ventricular remodeling and improves left ventricular function in rats following myocardial infarction [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(4): 1283-1291.
- [7] 赵进喜, 王慧如, 贾冕, 等. 心脉病证辨证思路 [J]. *实用中医内科杂志*, 2015, 29(12): 61-63.
- [8] 黄小芳, 张韬, 华玥, 等. Wnt/ β -连环蛋白在高糖诱导心肌成纤维细胞增殖中的作用 [J]. *贵州医科大学学报*, 2014, 39(1): 30-34.
- [9] KUWAHARA F. Transforming growth factor- β function blocking prevents myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in pressure-overloaded rats [J]. *Circulation*, 2002, 106(1): 130-135.
- [10] KI KD, TONG SY, HUH CY, et al. Expression and mutational analysis of TGF- β /Smads signaling in human cervical cancers [J]. *J Gynecol Oncol*, 2009, 20(2): 117-121.
- [11] SHYU KG, WANG BW, CHEN WJ, et al. Mechanism of the inhibitory effect of atorvastatin on endoglin expression induced by transforming growth factor- β 1 in cultured cardiac fibroblasts [J]. *Eur J Heart Fail*, 2010, 12(3): 219-226.
- [12] BUJAK M, REN G, KWEON HJ, et al. Essential role of Smad3 in infarct healing and in the pathogenesis of cardiac remodeling [J]. *Circulation*, 2007, 116(19): 2127-2138.
- [13] MOON RT, KOHN AD, DE FERRARI GV, et al. WNT and β -catenin signalling: diseases and therapies [J]. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(9): 691-701.
- [14] TAO H, YANG JJ, SHI KH, et al. Wnt signaling pathway in cardiac fibrosis: New insights and directions [J]. *Metabolism*, 2016, 65(2): 30-40.
- [15] COLSTON JT, DE LA ROSA SD, KOEHLER M, et al. Wnt-induced secreted protein-1 is a prohypertrophic and profibrotic growth factor [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(3): H1839-H1846.
- [16] DUAN J, GHERGHE C, LIU D, et al. Wnt1/ β -catenin injury response activates the epicardium and cardiac fibroblasts to promote cardiac repair [J]. *EMBO J*, 2012, 31(2): 429-442.
- [17] YE B, GE Y, PERENS G, et al. Canonical Wnt/ β -catenin signaling in epicardial fibrosis of failed pediatric heart allografts with diastolic dysfunction [J]. *Cardiovasculopathol*, 2013, 22(1): 54-57.
- [18] DASKALOPOULOS EP, JANSSEN BJ, BLANKESTEIJN WM. Targeting wntsignaling to improve wound healing after myocardial infarction [J]. *Methods Mol Biol*, 2013, 1037: 355-380. doi: 10.1007/978-1-62703-505-7_21.
- [19] FAN J, QIU L, SHU H, et al. Recombinant frizzled1 protein attenuated cardiac hypertrophy after myocardial infarction via the canonical Wnt signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 9(3): 3069-3080.
- [20] HE W, ZHANG L, NI A, et al. Exogenously administered secreted frizzled related protein 2 (Sfrp2) reduces fibrosis and improves cardiac function in a rat model of myocardial infarction [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(49): 21110 - 21115.
- [21] BLYSZCZUK P, BJÖRN MÜLLER-EDENBORN B, VALENTA T, et al. Transforming growth factor- β -dependent Wnt secretion controls myofibroblast formation and myocardial fibrosis progression in experimental autoimmune myocarditis [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(18): 1413-1425.

Effects of *Qishen Granule* (芪参颗粒) on Myocardial Fibrosis in Rats with Heart Failure after Myocardial Infarction

GAO Pengrong, ZHANG Jian, LIU Junjie, GONG Ming, WANG Yong, WANG Wei

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Qishen Granule* (芪参颗粒) in the treatment of myocardial fibrosis in rats with heart failure after myocardial infarction. **Methods** A total of 50 SD rats were randomly divided into a sham operation group with 15 rats, a model group with 12 rats, a *Qishen Granule* group with 12 rats and a fenofibrate group with 11 rats. Except for the sham operation group, the rats in the other groups performed left heart coronary artery ligation to induce heart failure model after myocardial infarction. The *Qishen Granule* group was given 18.66 g/(kg · d) *Qishen Granule* by gavage. The fenofibrate group was given fenofibrate 10 mg/(kg · d) by gavage. The sham operation group and the model group were given the same volume of normal saline. The rats were administered for 28 days. The cardiac function and the pathological changes of myocardial tissue in each group were observed. The expression of transforming growth factor β (TGF- β), Smad3, Wnt1a, β -catenin, Wnt1 induced secreted protein 1 (WISP-1), and Wnt5a protein content in rat myocardium were detected by Western blot. **Results** Compared with the sham operation group, the left ventricular ejection fraction (EF) and fraction shortening (FS) of the model group were significantly decreased, and the left ventricular internal diameter at end-diastole (LVIDd) and the left ventricular internal diameter at end-systolic (LVIDs) were significantly increased ($P < 0.01$); Compared with the model group, the EF and FS of the *Qishen Granule* group were significantly increased, and the LVIDd and LVIDs were significantly decreased. The EF and FS of the fenofibrate group were significantly increased, and the LVIDs were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). HE staining showed that the myocardial cells in the model group were disordered, and a large number of inflammatory cells infiltrated in the myocardial interstitial, excessive collagen deposition, significant fibrosis and loss of normal structure. The cells of the *Qishen Granule* group and the sham operation group were arranged neatly, and the cell morphology basically showed no change. Only a small amount of collagen deposition, and myocardial fibrosis was improved. Compared with the sham operation group, the expression of TGF- β , Smad3, Wnt1a, β -catenin, WISP-1 and Wnt5a protein was increased in the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, the *Qishen Granule* group and the fenofibrate group The protein levels of TGF- β , Smad3, Wnt1a, β -catenin, WISP-1 and Wnt5a in the fenofibrate group were decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no statistically significant difference between the *Qishen Granule* group and the fenofibrate group ($P > 0.05$). **Conclusion** *Qishen Granule* can significantly improve myocardial fibrosis in rats with heart failure after myocardial infarction, and is equivalent to fenofibrate, and its mechanism may be related to the inhibition of TGF- β and Wnt pathway effect.

Keywords myocardial fibrosis; myocardial infarction; heart failure; *Qishen Granule* (芪参颗粒); cardiac function; transforming growth factor β

(收稿日期: 2019-04-21; 修回日期: 2019-05-28)

编辑: 王利芬

欢迎邮购《中医杂志》光盘合订本

1951—1986 年(4 张光盘) 480 元; 1987—1994 年(1 张光盘) 260 元; 1995—2004 年(1 张光盘) 280 元; 2005—2013 年(1 张光盘) 300 元。

光盘合订本为计算机用数据光盘, 收入了同期出版的全部《中医杂志》内容, 可对所有文章进行任意字检索, 方便实用。

汇款地址: 北京东直门内南小街 16 号中医杂志社, 邮政编码: 100700, 收款人: 杨秋雷

电话: (010) 64035632

网址: <http://www.jtem.net.cn>