

心肌 1 号对异丙肾上腺素心肌损伤大鼠 SDF-1/CXCR4 轴及 bFGF 的影响

赵 丽 屈百鸣 马 元 沈利水

摘 要 **目的** 观察临床治疗扩张型心肌病的中药经验方心肌 1 号对异丙肾上腺素致心肌损伤大鼠基质细胞衍生因子 1 (SDF-1) 及其受体 CXCR4 和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达的影响。**方法** 选取异丙肾上腺素(ISO)造模成功的心肌损伤大鼠 20 只,随机分为治疗组和对照组,分别予心肌 1 号和生理盐水灌胃,测量不同时间段外周血清 SDF-1、bFGF 的变化水平,第 28 天流式细胞仪测定外周血 CXCR4 的表达水平,随后处死两组大鼠,行 HE 染色观察心肌组织形态学改变、检测心肌匀浆中 SDF-1、bFGF 的质量浓度。**结果** 两组大鼠外周血清 SDF-1 的质量浓度在第 7 天差异无统计学意义($P=0.267$),但在第 14 天和 28 天时治疗组 SDF-1 明显高于对照组($P<0.05$),且治疗组外周血第 28 天 CXCR4 的表达水平也高于对照组($P<0.05$);治疗组心肌匀浆第 28 天 SDF-1 与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$);而 bFGF 在各个时间段两组间同期比较差异均无统计学差异($P>0.05$);HE 染色示治疗组心肌组织损伤较模型对照组轻。**结论** 心肌 1 号能促进 SDF-1、CXCR4 的分泌,其作用机制可能是通过干预 SDF-1/CXCR4 轴来促进损伤心肌的修复。

关键词 心肌 1 号 心肌损伤 细胞因子 异丙肾上腺素 大鼠

Effects of Traditional Chinese Medicine on SDF-1/CXCR4 and bFGF of Myocardial Injured - Rats Induced by Isoproterenol. Zhao Li, Qu Baiming, Ma Yuan, Shen Lishui. Zhejiang University of Chinese Medicine, Zhejiang 310000, China

Abstract **Objective** To observe the influence of Chinese medicine myocardial NO. 1 to the expression of stromal cells derived factor 1 (SDF-1), its receptor CXCR4, and basic fibroblast growth factor (bFGF) in rats with isoproterenol-induced myocardial injury. **Methods** A total of 20 rats with isoproterenol-induced myocardial injury were selected. They were randomly divided into treatment group, savaged with myocardial NO. 1, and control group, savaged with physiological saline. The level of SDF-1 and bFGF in the peripheral blood were measured in different time. On the 28th day the level of CXCR4 in the peripheral blood were measured with flow cytometry. Then the rats were sacrificed, the morphological changes of myocardial tissue by HE staining were observed, and the mass concentration of SDF-1 and bFGF in the myocardial slurry were measured. **Results** There was no statistically difference in the mass concentration of SDF-1 between two groups on the 7th day ($P=0.267$). However on the 14th and 28th day the mass concentration of SDF-1 in the treatment group was obviously higher than that of the control group ($P<0.05$), and on the 28th day the level of CXCR4 in the treatment group was higher than that of the control group ($P<0.05$). There was a statistically difference in the mass concentration of SDF-1 in the myocardial slurry between two groups on the 28th day ($P<0.05$). While there was no statistically difference in the mass concentration of bFGF between two groups at any time ($P>0.05$). It showed that the myocardial tissue injury in the treatment group was lighter than that in the control group by HE staining. **Conclusion** Myocardial NO. 1 can promote the secretion of SDF-1 and CXCR4, and the mechanism may be through intervention SDF-1/CXCR4 axis to facilitate the repair of damaged myocardium.

Key words Traditional chinese medicine myocardial No. 1; Myocardial injury; Cell factors; Isoproterenol; Rats

心血管疾病是危害人类健康的主要疾患之一,心肌损伤后机体分泌多种细胞因子、生长因子等参与损伤组织的修复,其中基质细胞衍生因子(SDF-1)与其特异性受体 CXCR4 相互作用构成的 SDF-1/CXCR4 反应轴是最为关键的调节性因子,对于心血管发

育、血管再生、炎症反应、干细胞动员和归巢并黏附于靶器官都起着至关重要的作用^[1]。碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)是一种碱性多肽,目前研究发现其是体内最为有效的血管生成因子之一,有促进创伤修复和组织再生的作用^[2]。笔者医院心内科利用中药经验方心肌 1 号治疗扩张型心肌病取得了良好的临床效果,能提高左室射血分数,明显改善心功能。本实验通过观察心肌 1 号对异丙肾上腺素(ISO)心肌损伤大鼠 SDF-1 及其受体 CXCR4 和 bFGF 表达

作者单位:310000 杭州,中医药大学(赵丽、马元、沈利水);
310014 杭州,浙江省人民医院(屈百鸣)
通讯作者:屈百鸣,电子信箱:qubaiming@163.com

的影响,来探讨心肌 1 号修复损伤心肌的作用机制,为心肌 1 号在临床上的应用提供实验依据。

材料与方 法

1. 动物模型和分组:健康清洁级 Wistar 大鼠 30 只,体重 150 ~ 160g(由浙江中医药大学实验动物中心提供),经适应性喂养 1 周后,30 只大鼠分别腹腔注射 ISO 15mg/kg,连续 3 天,予末次注射 72h 后,行心脏超声检查,测定左室射血分数(EF),以 EF < 60% 为心肌损伤模型成立(预实验结果表明,EF < 60% 时,大鼠开始出现萎靡不振、进食量减少等表现,组织形态学观察示心内膜下心肌组织广泛变性、坏死)。筛选出符合标准的 Wistar 大鼠 20 只,随机分为两组:①治疗组:10 只,每天同一时间予心肌 1 号 10.5g/(kg · d)灌胃(生药含量 1.05g/ml),1 次/天,连续 28 天;②对照组:10 只,每天同一时间予同等剂量的生理盐水灌胃,连续 28 天。

2. 试剂:心肌 1 号复方:黄芪、麦冬等,药材由浙江省人民医院中药房提供,文火水煎两次过滤去渣,合并水煎液后浓缩成含生药 1.05g/ml 的溶液,4℃ 冰箱保存;异丙肾上腺素:上海禾丰制药有限公司;SDF - 1、bFGF Elisa 试剂盒:杭州都泰生物科技有限公司;CXCR4 单克隆抗体:北京博奥森生物技术有限公司。

3. 大鼠外周血及心肌匀浆中 SDF - 1、bFGF 及 CXCR4 的

检测:两组大鼠灌胃第 7、14、28 天时取外周静脉抗凝血 0.5ml,分离出血清,冻存于 -20℃ 冰箱备用,最后与制备出的心肌匀浆上清液一起,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 SDF - 1、bFGF 的质量浓度。取第 28 天时的外周血 0.5ml,用 PE 标记的 CXCR4 单克隆抗体对大鼠外周血中的单个核细胞进行标记后,使用流式细胞仪对其进行识别和读数。

4. 心肌组织切片 HE 染色:观察终点第 28 天时,处死两组大鼠,取新鲜左室近心尖处心肌,4% 的多聚甲醛固定后逐级乙醇脱水,常规石蜡包埋后连续切片,HE 染色,光镜下观察病理改变。

5. 统计学方法:实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间两两比较采用独立样本的 *t* 检验,所用实验数据均使用 SPSS 17.0 软件行方差分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 外周血清及心肌匀浆中 SDF - 1 的检测结果:筛选出的 20 只 Wistar 大鼠均生存到实验结束,与对照组相比,心肌 1 号治疗组大鼠外周血清 SDF - 1 的质量浓度在第 7 天时无明显差异(*P* = 0.267),在 14 天和 28 天时均增高,分别为(*P* = 0.010)、(*P* < 0.05);且治疗组心肌匀浆中 SDF - 1 也高于同期对照组(*P* < 0.05)(表 1)。

表 1 外周血清及心肌匀浆不同时间段 SDF - 1 的质量浓度($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	7 天(血清)	14 天(血清)	28 天(血清)	28 天(心肌匀浆)
治疗组	10	240.32 ± 38.33 *	301.13 ± 63.53 #	291.62 ± 60.59 #	570.69 ± 60.51 #
对照组	10	221.72 ± 34.13	211.16 ± 41.58	177.22 ± 23.76	475.76 ± 34.08

与对照组同期比较,**P* > 0.05,#*P* < 0.05

2. 外周血清及心肌匀浆 bFGF 检测结果:两组大鼠外周血清 bFGF 的质量浓度在第 7、14、28 天时组间比较差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。且两组大

鼠心肌匀浆中 bFGF 的质量浓度也无统计学差异(*P* > 0.05)(表 2)。

表 2 外周血清及心肌匀浆不同时间段 bFGF 的质量浓度($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	7 天(血清)	14 天(血清)	28 天(血清)	28 天(心肌匀浆)
治疗组	10	15.28 ± 1.94 *	14.51 ± 1.51 *	13.88 ± 1.99 *	22.16 ± 3.04 *
对照组	10	14.40 ± 2.14	13.27 ± 2.12	12.98 ± 1.93	21.83 ± 2.98

与对照组同期比较,**P* > 0.05

3. 两组大鼠外周血中 CXCR4 表达水平检测结果:第 28 天时心肌 1 号治疗组外周血 CXCR4 表达水平为 2.070% ± 0.249%,显著高于对照组 0.830% ± 0.149%,且组间比较有统计学差异(*P* < 0.05)。

4. 病理组织形态学观察:第 28 天观察终点时,模型对照组大鼠心肌可见广泛心肌变性、坏死,肌纤维损伤,细胞间隙水肿,毛细血管扩张及大量炎性细

胞浸润(图 1)。心肌 1 号治疗组大鼠心肌组织有点片状坏死、细胞间隙水肿、炎细胞浸润较轻,少量纤维化及瘢痕形成(图 2)。

讨 论

心肌缺血缺氧引起的心肌损伤主要由于冠状动脉血供不足或心肌耗氧增加所致,大量文献报道,大剂量 ISO 可使大鼠心肌需氧量增加,心肌收缩力下

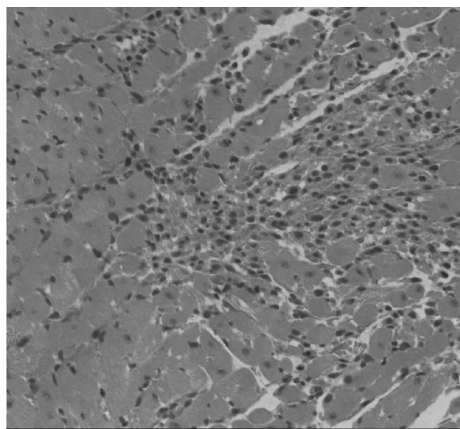


图1 异丙对照组心肌组织形态学表现 (HE, ×400)

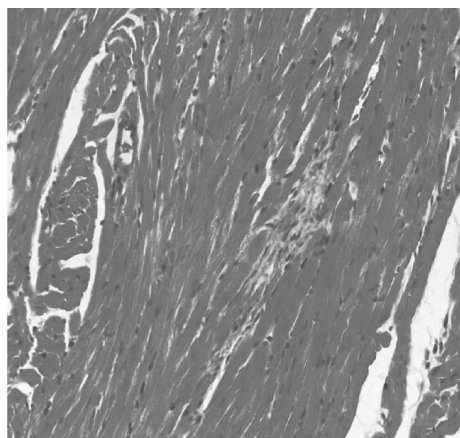


图2 心肌1号治疗组心肌组织形态学表现 (HE, ×400)

降,容量和压力超负荷等,从而导致心肌缺血缺氧^[3~5]。因此,利用 ISO 建立心肌损伤模型方法简便,无创,可重复性高,与临床相关性大,是评价心血管药物常用的心肌损伤模型之一^[6,7]。

传统观念认为,心肌细胞损伤后不能再生,当前的治疗方法只能改善患者的症状,均难改善预后。近年来,动物实验和初期的临床研究展示了干细胞在心肌损伤治疗方面的独特优势,干细胞的释放、迁移和归巢的调节以及不同动员途径其机制涉及多种细胞因子和干细胞之间复杂的相互作用,其中,SDF-1/CXCR4 是最为关键的调节性因子,参与到干细胞动员、归巢、黏附、存活增殖的各个步骤,在组织缺血损伤和心肌再生修复中发挥着重要作用^[8]。SDF-1 是骨髓基质细胞产生的 CXCR 类趋化蛋白,是已知能与受体 CXCR4 结合并使之激活的天然趋化因子之一。SDF-1 与其受体 CXCR4 结合后可通过促进 CXCR4 二聚体形成、内化以及激活与其相偶联的 G 蛋白等机制而激活多种信号转导通路,进而影响细胞的趋

化、运动、黏附、血管生成、生长等生物学行为^[9]。

心肌1号主要有黄芪、麦冬等组成,前期实验已证实心肌1号能提高大鼠外周血 CD34、CD44 细胞占单个核细胞的比例,促进实验大鼠新生细胞生成,新生细胞能表达心肌特异性蛋白肌钙蛋白 I,但心肌1号诱导骨髓干细胞定向分化的机制尚未明确,故本实验对此做了进一步的研究^[10]。

本实验研究结果表明,两组大鼠外周血清 SDF-1 的质量浓度在第7天差异没有统计学意义 ($P = 0.267$),但在第14天和28天它们有显著性差异,且治疗组 SDF-1 均高于对照组 ($P < 0.05$);第28天治疗组外周血 CXCR4 的表达水平也明显高于对照组 ($P < 0.05$);从表1可以看出,在治疗组中,外周血 SDF-1 从第7天开始增加,第14天达峰值,第28天略微下降,但仍高于第7天的水平,在对照组中,外周血 SDF-1 第7天质量浓度最高,然后逐渐呈下降趋势;心肌匀浆中第28天 SDF-1 的质量浓度较同期对照组高 ($P < 0.05$),并且可以明显看出两组大鼠心肌匀浆第28天时 SDF-1 均较外周血第28天时 SDF-1 要高的多;然而外周血和心肌匀浆 bFGF 两组间同期比较均无统计学差异 ($P > 0.05$)。

组织形态学观察发现,心肌1号治疗心肌组织损伤较模型对照组轻。由于来源于骨髓、动员的 CD34⁺造血干细胞表面表达 CXCR4,而骨髓基质细胞、内皮细胞均能表达对 CXCR4 产生特异性趋化作用的 SDF-1。因此,表达 CXCR4 的外周造血干细胞就能顺着 SDF-1 的浓度梯度从低浓度到高浓度迁徙,从而实现归巢的过程^[11]。因此增加循环中 SDF-1 含量、上调细胞表面 CXCR4 的表达量和通过其他手段增强 SDF-1/CXCR4 轴的生物活性,能增强骨髓干细胞对 SDF-1 的反应性,从而提高细胞的增殖分化能力^[12]。由此可以推断:心肌1号的作用机制可能是通过上调循环中 SDF-1、CXCR4 的表达量,增强了 SDF-1/CXCR4 轴的生物活性,由此调节骨髓干细胞对损伤心肌的修复。然而,这可能是其众多复杂机制中的一种,本实验仅对此进行了初步观察,具体机制还有待于进一步深入研究。

参考文献

- Petit I, Jin D, Rafii S. The SDF-1 - CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neoangiogenesis [J]. Trends Immunol, 2007, 28(7): 299 - 307
- Cui HG, Li HY. Effect of basic fibroblast growth factor (bFGF) on the treatment of exposure of the orbital implants [J]. Zhejiang Univ Sci B, 2007, 8(9): 620 - 625

- 3 Devika PT, Stanely M, Prince P. Protective effect of (-) epigalocatechin - gallate (EGCG) on lipid peroxide metabolism in isoproterenol induced myocardial infarction in male Wistar rats; a histopathological study [J]. Biomed Pharmacother, 2008, 62 (10) : 701 - 708
- 4 Prabhu S, Narayan S, Devi CS. Mechanism of protective action of mangiferin on suppression of inflammatory response and lysosomal instability in rat model of myocardial infarction [J]. Phytother Res, 2009, 23 (6) : 756 - 760
- 5 Liang YF, Liu D, Ochs T, *et al.* Endogenous sulfur dioxide protects against isoproterenol - induced myocardial against isoproterenol - induced myocardial injury and increases myocardial antioxidant capacity in rats [J]. Laboratory Investigation, 2011, 91 : 12 - 23
- 6 Krenke P, Kmecova J, Kucerova D, *et al.* Isoproterenol - induced heart failure in the rat is associated with nitric functional alterations of cardiac function oxide - dependent [J]. Eur J Heart Fail, 2009, 11 (2) : 140 - 146
- 7 Azachenko AA, Okovityl SV, Kulikov AN, *et al.* Comparative characteristics of some pharmacological models of chronic heart failure [J]. Eksp Klin Farmakol, 2008, 71 (6) : 16 - 19
- 8 Tang J, Wang J, Kong X, *et al.* Vascular endothelial growth factor promotes cardiac stem cell migration via the PI3K/Akt path way [J]. Exp Cell Res, 2009, 315 (20) : 3521 - 3531
- 9 Jalili A, Shirvaikar N, Marquez - Curtis L, *et al.* Fifth complement cascade protein (C5) cleavage fragments disrupt the SDF - 1/CXCR4 axis; further evidence that innate immunity orches trates the mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells [J]. Exp Hematol, 2010, 38 (4) : 321 - 332
- 10 汪丽芳, 马元, 屈百鸣. 心肌 1 号对大鼠异丙肾上腺素心肌损伤的骨髓干细胞修复作用研究 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2012, 6 (6) : 1461 - 1465
- 11 Xu M, Uemura R, Dai Y, *et al.* In vitor and in vivo effects of bone marrow stem cells on cardiac structure and function [J], J Mol Cell Cardiol, 2007, 42 (2) : 441 - 448
- 12 Stich S, Haag M. Gene expression profiling of human mesenchymal stem cells chemotactically induced with CXCL12 [J]. Cell Tissue Res, 2009, 336 (2) : 225 - 236
- (收稿日期: 2012 - 07 - 24)
(修回日期: 2012 - 09 - 13)

不同撤机组老年患者呼吸机撤离的影响因素分析

潘小东 赵晓琴 陈 强

摘 要 目的 分析影响长期机械通气 (≥ 10 天) 的老年患者 (年龄 ≥ 60 岁) 撤机困难程度的因素, 探讨撤机的策略。**方法** 回顾性调查广西医科大学第一附属医院内科 ICU 长期机械通气的老年患者入院时一般情况、气管切开、原发病情况, 入院第 1 天 (d1) 及第 10 天 (d10) 的生命体征 (心率、血压、体温、呼吸频率、尿量等), 辅助检查 (血常规、肝肾功能、动脉血气等)。根据撤机的困难程度和时间将撤机成功的病人分为简单撤机组、困难撤机组、延迟撤机组, 对 3 组资料进行对比分析。对影响长期机械通气撤机困难程度的因素进行 Logistic 回归分析。**结果** 共收集 72 例患者, 简单撤机组 14 例, 困难撤机组 27 例, 延迟撤机组 31 例, 血乳酸 (d10)、血浆白蛋白 (d10) 3 组比较差异有统计学意义, 两两比较发现单纯撤机组与延迟撤机组血乳酸差异有统计学意义, 单纯撤机组与困难撤机组比较血浆白蛋白差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 多分类变量 Logistic 分析示血乳酸 (d10) > 2.0 mmol/L 是影响撤机难易程度的独立因素 (OR = 11.584, $P < 0.05$)。**结论** 机械通气后血乳酸 > 2.0 mmol/L 是影响撤机难易程度的独立因素。

关键词 机械通气 撤机 影响因素 临床研究 回顾性分析

Clinical Study of Main Influential Factors of Ventilator Weaning in Different Units of the Elderly Patients with the Long - term Mechanical Ventilation. Pan Xiaodong, Zhao Xiaoqing, Chen Qiang. The Second Afiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To analyze the influential difficulties that prevent elderly patient who adopt mechanical ventilation from weaning ventilation machines and to research into the strategies of weaning ventilation machines. **Methods** To review the general condition, tracheotomy and primary affection of elderly patients who received mechanical ventilation when they were sent to the ICU of Internal Medicine Department in the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, as well as their life feature, including heart rate, blood pressure, body temperature, breath frequency and urinary volume, and results of accessory examinations, including routine blood test, liver and kidney function examination and arterial blood gas examination, on the first day (d1) and the 10th day (d10) in hospital. Accord-

作者单位: 325000 温州医学院附属第二医院急诊科 (潘小东); 广西医科大学附属第一医院内科 (赵晓琴、陈强)

通讯作者: 赵晓琴, 电子信箱: xiaoqin62@sohu.com