

心血管疾病的实验室检测专题·论著 DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.19.002

血根碱调节 HMGB1/RAGE 信号通路对慢性心力衰竭大鼠心肌炎症及细胞凋亡的影响*

张鹏,林桂雄,卓裕丰,程宏基,陈钦修,谢文杰,冯燕玲[△]

广州市番禺区何贤纪念医院心内科,广东广州 511400

摘要:目的 探讨血根碱调节高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)/晚期糖基化终末产物受体(RAGE)信号通路对慢性心力衰竭(CHF)大鼠心肌炎症及细胞凋亡的影响。方法 通过结扎冠状动脉的左前降支建立 CHF 大鼠模型,随机分为 CHF 组、血根碱低剂量组(血根碱-L 组,1.00 mg/kg 血根碱)、血根碱中剂量组(血根碱-M 组,2.50 mg/kg 血根碱)、血根碱高剂量组(血根碱-H 组,6.25 mg/kg 血根碱)以及血根碱-H+rHMGB1 组(6.25 mg/kg 血根碱+8 μ g/kg rHMGB1),并以仅开胸的正常大鼠作为假手术组,每组 10 只大鼠。干预结束后,进行超声心动图指标[缩短分数(FS)、左室射血分数(LVEF)、室间隔厚度(IVS)以及舒张末期左室内径(LVIDD)]检测;称取心脏质量,计算心脏指数;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组血清中白细胞介素(IL)-1 β 、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平;分别采用苏木精-伊红(HE)染色、缺口末端标记(TUNEL)染色观察心脏组织病理学变化及细胞凋亡变化;采用蛋白质免疫印迹技术检测心脏组织中 HMGB1、RAGE 蛋白表达。**结果** 与假手术组相比,CHF 组 LVIDD、心脏指数、细胞凋亡率及 IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1 蛋白、RAGE 蛋白水平明显增加($P<0.05$),FS、IVS、LVEF 及 IL-10 水平明显降低($P<0.05$);与 CHF 组相比,血根碱不同剂量组 LVIDD、心脏指数、细胞凋亡率及 IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1 蛋白、RAGE 蛋白水平明显降低($P<0.05$),FS、IVS、LVEF 及 IL-10 水平明显增加($P<0.05$);在血根碱不同剂量组中,LVIDD、心脏指数、细胞凋亡率及 IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1 蛋白、RAGE 蛋白水平均为血根碱-L 组>血根碱-M 组>血根碱-H 组,FS、IVS、LVEF 及 IL-10 水平均为血根碱-L 组<血根碱-M 组<血根碱-H 组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);与血根碱-H 组相比,血根碱-H+rHMGB1 组 LVIDD、心脏指数、细胞凋亡率及 IL-1 β 、TNF- α 、HMGB1 蛋白、RAGE 蛋白水平均明显增加($P<0.05$),FS、IVS、LVEF 及 IL-10 水平均明显降低($P<0.05$)。**结论** 血根碱可改善 CHF 大鼠心功能,抑制其心肌炎症及细胞凋亡,以高剂量血根碱效果最佳,可能与调节 HMGB1/RAGE 信号通路有关。

关键词:血根碱; 慢性心力衰竭; 心肌炎症; 细胞凋亡; 高迁移率族蛋白 B1; 晚期糖基化终末产物受体; 信号通路

中图法分类号:R541.6;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)19-2790-07

Effects of sanguinarine regulating HMGB1/RAGE signaling pathway on myocarditis and cellular apoptosis in rats with chronic heart failure*

ZHANG Peng, LIN Guixiong, ZHUO Yufeng, CHENG Hongji, CHEN Qinxiu, XIE Wenjie, FENG Yanling[△]

Department of Cardiovascular Internal Medicine, Panyu District Hexian Memorial Hospital, Guangzhou, Guangdong 511400, China

Abstract: **Objective** To explore the effect of sanguinarine regulating the high mobility group protein B1 (HMGB1)/late glycation end product receptor (RAGE) signaling pathway on myocarditis and cellular apoptosis in rats with chronic heart failure (CHF). **Methods** The CHF rat model was established by ligating the left anterior descending branch of the coronary artery. The rats were randomly divided into the CHF group, sanguinarine low dose group (sanguinarine-L group, 1.00 mg/kg sanguinarine), sanguinarine medium dose group (sanguinarine-M group, 2.50 mg/kg sanguinarine), sanguinarine high dose group (sanguinarine-H group, 6.25 mg/kg sanguinarine) and sanguinarine-H+rHMGB1 group (6.25 mg/kg sanguinarine+8 μ g/kg

* 基金项目:广东省广州市科技计划项目(202102080548);广东省基础与应用基础研究基金项目(2021B1551140064)。

作者简介:张鹏,女,副主任医师,从事心血管疾病的基础与临床方向的研究。 [△] 通信作者,E-mail:38135628@qq.com。

rHMGB1). The normal rats with only thoracotomy were used as the sham surgery group, 10 rats in each group. After the intervention, the echocardiographic indicators such as fractional shortening (FS), left ventricular ejection fraction (LVEF), interventricular septal thickness (IVS) and end diastolic left ventricular diameter (LVIDD) were measured; the heart was weighed and the heart index was calculated; the enzyme linked immunosorbent assay was used to detect the levels of serum interleukin (IL)-1 β , IL-10 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in each group; the hematoxylin eosin (HE) staining was used and the notch end labeling (TUNEL) staining was adopted to observe the histopathological changes and cellular apoptosis in cardiac tissues; the protein immunoblotting technology was adopted to detect the expression of HMGB1 and RAGE proteins in cardiac tissue. **Results** Compared with the sham surgery group, the levels of LVIDD, cardiac index, cellular apoptosis rate, IL-1 β , TNF- α , HMGB1 protein and RAGE protein in the CHF group were significantly increased ($P < 0.05$), while the FS, IVS, LVEF and IL-10 levels were significantly decreased ($P < 0.05$); compared with the CHF group, the LVIDD, cardiac index, cellular apoptosis rate and the expression levels of IL-1 β , TNF- α , HMGB1 protein and RAGE protein in the different sanguinarine doses groups were significantly reduced ($P < 0.05$), while the levels of FS, IVS, LVEF and IL-10 were significantly increased ($P < 0.05$); in different doses sanguinarine groups, LVIDD, cardiac index, cellular apoptosis rate, IL-1 β , TNF- α , HMGB1 protein and RAGE protein levels all were the sanguinarine L group $>$ sanguinarine M group $>$ sanguinarine H group, while the FS, IVS, LVEF and IL-10 levels all were the sanguinarine L group $<$ sanguinarine M group $<$ sanguinarine H group. The differences between any two groups were statistically significant ($P < 0.05$); compared with the sanguinarine H group, LVIDD, cardiac index, cellular apoptosis rate and levels of IL-1 β , TNF- α , HMGB1 protein and RAGE protein in the sanguinarine H + rHMGB1 group were significantly increased ($P < 0.05$), while the levels of FS, IVS, LVEF and IL-10 were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Sanguinarine could improve the heart function, inhibit myocarditis and cellular apoptosis in CHF rats, the effect in high dose is optimal, which may be related to regulate the HMGB1/RAGE signaling pathway.

Key words: sanguinarine; chronic heart failure; myocardial inflammation; cellular apoptosis; high mobility group protein B1; late glycation end product receptor; signaling pathway

慢性心力衰竭(CHF)是多种心脏疾病发展的终末期,早期预防或有针对性的治疗可以延缓心力衰竭的进展^[1-2]。目前临床治疗 CHF 的常见药物如血管紧张素 II 受体阻断药、醛固酮受体拮抗药,均能在一定程度上降低患者住院率、病死率,但患者仍然会出现部分不良反应^[3-4]。因此,需要探寻新的治疗药物缓解 CHF 的进展。血根碱是一种苯并菲啶生物碱,具有抗炎和心脏保护作用^[5]。研究发现血根碱对主动脉结扎诱导的心脏肥大、纤维化和功能障碍具有保护作用,是心脏重塑和心力衰竭的潜在治疗药物^[6]。CHF 被认为是一种与炎症相关的疾病,炎症反应的过度激活可诱导心肌细胞凋亡、坏死,促进心肌重构和心力衰竭发生,因此,关注心肌炎症相关机制对诊治 CHF 至关重要^[7-8]。高迁移率族蛋白 1(HMGB1)是先天免疫系统的关键介质,可与晚期糖基化终末产物受体(RAGE)结合,参与许多疾病如局部缺血、关节炎、自身免疫性疾病、脓毒症、神经退行性疾病及癌症的发展^[9]。研究表明 HMGB1-RAGE 轴在炎症性心肌病发病机制中发挥重要作用,是炎症性心肌病一种新的治疗方向^[10],初步推测 HMGB1/RAGE 信号

通路可能影响 CHF 的发展。本研究旨在探讨血根碱调节 HMGB1/RAGE 信号通路对 CHF 大鼠心肌炎症及细胞凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 长沙市天勤生物技术有限公司提供 63 只 5 周雄性 Sprague Dawley 大鼠(体质量 100 ~ 150 g),许可证号:SCXK(湘)2019-0014。

1.2 主要实验试剂与仪器 血根碱购自武汉普洛弗生物科技有限公司;人重组 HMGB1 蛋白(rHMGB1)购自 Sigma 公司;白细胞介素(IL)-1 β 、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂购自南京建诚生物科技有限公司;缺口末端标记(TUNEL)染色试剂盒购自北京索宝莱科技有限公司;HMGB1、RAGE 一抗购自 Abcam 公司。BX50F4 光学显微镜购自 Olympus 公司;DYCZ-40D 转膜仪、DYY-6C 电泳仪购自北京六一生物科技有限公司;Multiskan MK3 酶标仪购自 Thermo Fisher 公司;超声影像系统购自上海玉研科学仪器有限公司;心电图仪购自上海光电医用电子仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 CHF 大鼠模型的制备及干预 63 只大鼠自由获取食物和水,并在室温(22 ± 2)℃和湿度(50±2)%下保持 12 h 的光照/黑暗循环中适应性喂养 1 周后均无异常。随机选取 53 只大鼠进行 CHF 大鼠模型的构建^[11]:1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,固定于手术台上,气管插管成功后连接呼吸机,打开胸部(左胸 3~4 肋间),大鼠用 5-0 号丝线结扎左冠状动脉前降支起源点 3 mm 处,结扎成功的标志是结扎部位以下心肌变白、心电图显示 ST 段或 T 段异常。12 周后,当左室射血分数(LVEF)低于 40%,标志着 CHF 大鼠模型构建成功,该过程共有 50 只大鼠造模成功,并以仅穿线并不结扎的 10 只正常大鼠作为假手术组。将 50 只造模大鼠随机分为 CHF 组、血根碱低剂量(血根碱-L)组、血根碱中剂量(血根碱-M)组、血根碱高剂量(血根碱-H)组以及血根碱-H+rHMGB1 组。其中血根碱-L 组、血根碱-M 组、血根碱-H 组在前期预实验及参考文献[12]的基础上分别以生理盐水溶解、配制血根碱,随后给予大鼠腹腔注射 1.00、2.50、6.25 mg/kg 血根碱干预;血根碱-H+rHMGB1 组腹腔注射 6.25 mg/kg 血根碱,同时以 8 μg/kg rHMGB1 尾部注射干预^[13];假手术组及 CHF 组以腹腔注射、尾部注射等体积的生理盐水干预。每天每组各干预 1 次,连续干预 4 周。

1.3.2 超声心动图检测 干预结束后,腹腔注射麻醉大鼠,使用 Vevo 2100 MS-250 探头经胸二维超声引导进行超声心动图检查,其指标包括缩短分数(FS)、LVEF、室间隔厚度(IVS)以及舒张末期左室内径(LVIDD)。

1.3.3 心脏指数检测 称取大鼠给药治疗后的体质量及分离的心脏质量,利用心脏质量/大鼠体质量计算心脏指数。

1.3.4 采用 ELISA 检测各组血清中 IL-1β、IL-10、TNF-α 水平 采集大鼠腹部血样,离心后收集血清,按照试剂盒操作说明检测血清中 IL-1β、IL-10、TNF-α 水平。

1.3.5 HE 染色检测心脏组织病理学变化 将心脏的左心室组织切成两部分:一部分固定在 4%多聚甲醛中,然后包埋在石蜡中,将心脏组织切成厚度为 4 μm 的切片。随后使用 HE 试剂盒对切片进行染色,使用显微镜观察心脏组织的病理学变化。

1.3.6 TUNEL 染色观察心脏组织细胞凋亡变化 将心脏组织固定在 4%多聚甲醛中,包埋并制备组织切片,脱石蜡,在梯度乙醇中脱水,按照 TUNEL 试剂盒操作染色,经 TUNEL 染色的凋亡细胞核呈棕黄色。最后在共聚焦激光扫描显微镜下观察凋亡细胞。

1.3.7 采用蛋白质免疫印迹技术检测 HMGB1/

RAGE 通路相关蛋白表达 将另一部分左心室组织在放射免疫沉淀法裂解(RIPA)缓冲液中匀浆获得全细胞裂解物,并离心分离蛋白质。将等量(20 μg)蛋白质与上样缓冲液混合,将蛋白质在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,并转到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,将膜与 5%脱脂牛奶在室温下孵育 1 h,将膜与 HMGB1、RAGE 一抗孵育,次日在室温下与抗兔辣根过氧化物酶(HRP)偶联免疫球蛋白 G(IgG)孵育 3 h 后,然后将膜与电化学发光(ECL)试剂一起孵育,以可视化蛋白条带,观察蛋白反应条带,使用 Image J 软件量化条带强度,所有蛋白条带以 β-actin 为内参。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 27.0 软件分析实验数据。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠超声心动图指标比较 与假手术组相比,CHF 组 LVIDD 明显增加($P < 0.05$),FS、IVS、LVEF 明显降低($P < 0.05$);与 CHF 组相比,血根碱不同剂量组 LVIDD 明显降低($P < 0.05$),FS、IVS、LVEF 明显增加($P < 0.05$);在血根碱不同剂量组中,LVIDD 为血根碱-L 组 > 血根碱-M 组 > 血根碱-H 组,FS、IVS、LVEF 为血根碱-L 组 < 血根碱-M 组 < 血根碱-H 组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与血根碱-H 组相比,血根碱-H+rHMGB1 组 LVIDD 明显增加($P < 0.05$),FS、IVS、LVEF 明显降低($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠心脏指数比较 假手术组、CHF 组、血根碱-L 组、血根碱-M 组、血根碱-H 组、血根碱-H+rHMGB1 组大鼠心脏指数分别为(1.97 ± 0.20)%、(3.96 ± 0.39)%、(3.26 ± 0.30)%、(2.68 ± 0.25)%、(2.07 ± 0.21)%、(3.44 ± 0.34)%,6 组间比较,差异有统计学意义($F = 82.298, P < 0.001$)。与假手术组相比,CHF 组心脏指数明显增加($P < 0.05$);与 CHF 组相比,血根碱不同剂量组心脏指数均明显降低($P < 0.05$),且血根碱-L 组 > 血根碱-M 组 > 血根碱-H 组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与血根碱-H 组相比,血根碱-H+rHMGB1 组心脏指数明显增加($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠 IL-1β、IL-10、TNF-α 水平比较 与假手术组相比,CHF 组 IL-1β、TNF-α 水平明显增加($P < 0.05$),IL-10 水平明显降低($P < 0.05$);与 CHF 组相比,血根碱不同剂量组 IL-1β、TNF-α 水平均明显降低($P < 0.05$),IL-10 水平均明显增加($P < 0.05$);在血根碱不同剂量组中,IL-1β、TNF-α 水平均为血根碱-L 组 > 血根碱-M 组 > 血根碱-H 组,IL-10 水平为

血根碱-L组<血根碱-M组<血根碱-H组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);与血根碱-H组相比,血根碱-H+rHMGB1组IL-1 β 、TNF- α 水平明显增加($P<0.05$),IL-10水平明显降低($P<0.05$)。见表2。

表1 各组大鼠超声心动图指标比较($n=10, \bar{x} \pm s$)				
组别	LVIDD(mm)	FSC(%)	IVS(mm)	LVEF(%)
假手术组	5.24 $\pm$ 0.53	59.67 $\pm$ 5.98	2.04 $\pm$ 0.21	78.64 $\pm$ 7.91
CHF组	11.76 $\pm$ 1.19 ^a	13.52 $\pm$ 1.37 ^a	0.56 $\pm$ 0.06 ^a	29.31 $\pm$ 2.96 ^a
血根碱-L组	9.34 $\pm$ 0.95 ^b	18.64 $\pm$ 1.88 ^b	0.86 $\pm$ 0.09 ^b	36.42 $\pm$ 3.66 ^b
血根碱-M组	7.52 $\pm$ 0.76 ^{bc}	25.37 $\pm$ 2.55 ^{bc}	1.24 $\pm$ 0.13 ^{bc}	45.21 $\pm$ 4.53 ^{bc}
血根碱-H组	5.31 $\pm$ 0.54 ^{bcd}	36.54 $\pm$ 3.67 ^{bcd}	1.86 $\pm$ 0.19 ^{bcd}	61.27 $\pm$ 6.15 ^{bcd}
血根碱-H+rHMGB1组	9.55 $\pm$ 0.96 ^e	17.64 $\pm$ 1.78 ^e	0.77 $\pm$ 0.08 ^e	34.85 $\pm$ 3.49 ^e
F	149.076	513.692	177.470	151.706
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与CHF组比较,^b $P<0.05$;与血根碱-L组比较,^c $P<0.05$;与血根碱-M组比较,^d $P<0.05$;与血根碱-H组比较,^e $P<0.05$ 。

2.4 血根碱对心脏组织病理学的影响 假手术组结构清晰,细胞形态正常;CHF组细胞结构模糊,体积缩小,炎症浸润较为明显;血根碱-L组、血根碱-M组、血根碱-H组病理损伤得到改善;但血根碱-H+rHMGB1组较血根碱-H组炎症浸润增加,病理损伤与CHF组无明显差异。见图1。

表2 各组大鼠IL-1 β 、IL-10、TNF- α 水平比较($n=10, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)			
组别	IL-1 β	IL-10	TNF- α
假手术组	22.15 $\pm$ 2.22	16.34 $\pm$ 1.67	6.16 $\pm$ 0.62
CHF组	53.77 $\pm$ 5.38 ^a	4.58 $\pm$ 0.46 ^a	17.64 $\pm$ 1.78 ^a
血根碱-L组	41.35 $\pm$ 4.14 ^b	7.61 $\pm$ 0.77 ^b	12.05 $\pm$ 1.22 ^b
血根碱-M组	31.11 $\pm$ 3.12 ^{bc}	10.24 $\pm$ 1.08 ^{bc}	9.48 $\pm$ 0.95 ^{bc}
血根碱-H组	24.22 $\pm$ 2.43 ^{bcd}	15.34 $\pm$ 1.58 ^{bcd}	6.34 $\pm$ 0.64 ^{bcd}
血根碱-H+rHMGB1组	45.34 $\pm$ 4.55 ^e	6.85 $\pm$ 0.69 ^e	13.27 $\pm$ 1.35 ^e
F	147.579	155.403	197.363
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与CHF组比较,^b $P<0.05$;与血根碱-L组比较,^c $P<0.05$;与血根碱-M组比较,^d $P<0.05$;与血根碱-H组比较,^e $P<0.05$ 。

2.5 各组大鼠心肌细胞凋亡情况比较 假手术组、CHF组、血根碱-L组、血根碱-M组、血根碱-H组、血根碱-H+rHMGB1组大鼠细胞凋亡率分别为(5.52 $\pm$ 0.56)%、(44.34 $\pm$ 4.45)%、(35.62 $\pm$ 3.58)%、(25.34 $\pm$ 2.57)%、(15.22 $\pm$ 1.55)%、(36.27 $\pm$ 3.65)%,6组间比较,差异有统计学意义($F=208.427, P<0.001$)。与假手术组相比,CHF组细胞凋亡率明显增加($P<0.05$);与CHF组相比,血根碱不同剂量组细胞凋亡

率明显降低($P<0.05$),且血根碱-L组>血根碱-M组>血根碱-H组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);与血根碱-H组相比,血根碱-H+rHMGB1组细胞凋亡率明显增加($P<0.05$)。见图2。

2.6 各组大鼠心脏组织中HMGB1/RAGE通路相关蛋白水平比较 与假手术组相比,CHF组HMGB1、RAGE蛋白水平明显增加($P<0.05$);与CHF组相比,血根碱不同剂量组HMGB1、RAGE蛋白水平均明显降低($P<0.05$),且HMGB1、RAGE蛋白水平均为血根碱-L组>血根碱-M组>血根碱-H组,任意两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);与血根碱-H组相比,血根碱-H+rHMGB1组HMGB1、RAGE蛋白水平明显增加($P<0.05$)。见表3、图3。

表3 各组大鼠心脏组织中HMGB1、RAGE蛋白水平比较($n=10, \bar{x} \pm s$)		
组别	HMGB1/ β -actin	RAGE/ β -actin
假手术组	0.21 $\pm$ 0.03	0.95 $\pm$ 0.10
CHF组	1.06 $\pm$ 0.11 ^a	2.16 $\pm$ 0.22 ^a
血根碱-L组	0.75 $\pm$ 0.08 ^b	1.85 $\pm$ 0.19 ^b
血根碱-M组	0.54 $\pm$ 0.06 ^{bc}	1.42 $\pm$ 0.15 ^{bc}
血根碱-H组	0.24 $\pm$ 0.03 ^{bcd}	1.05 $\pm$ 0.11 ^{bcd}
血根碱-H+rHMGB1组	0.66 $\pm$ 0.07 ^e	1.64 $\pm$ 0.17 ^e
F	249.759	70.687
P	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与CHF组比较,^b $P<0.05$;与血根碱-L组比较,^c $P<0.05$;与血根碱-M组比较,^d $P<0.05$;与血根碱-H组比较,^e $P<0.05$ 。

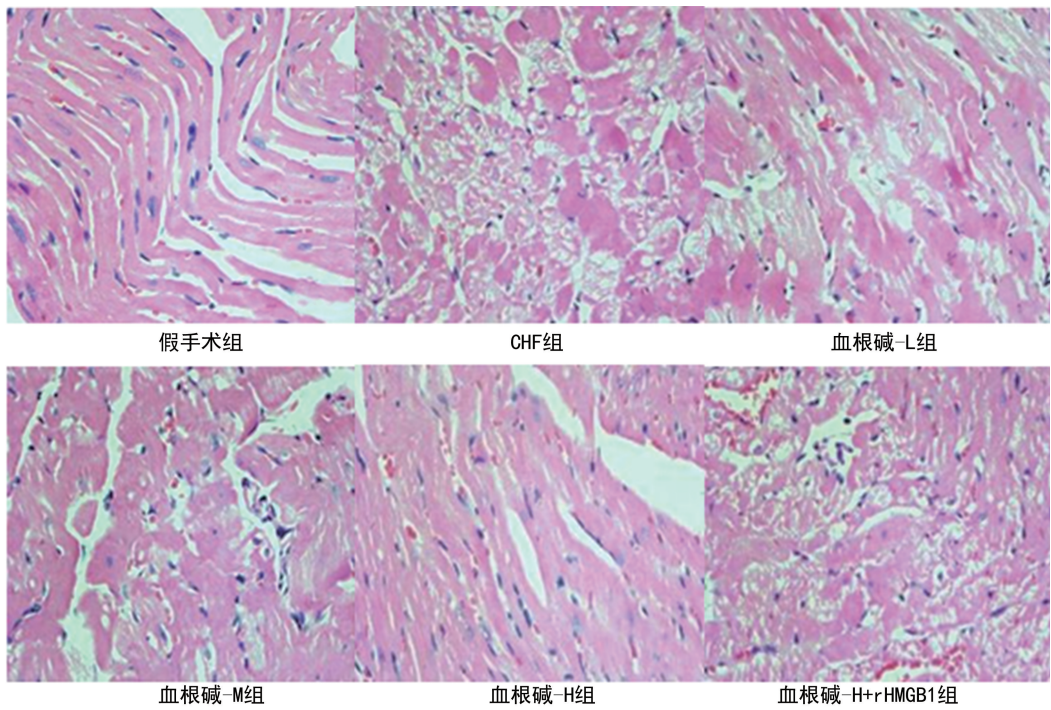


图 1 各组心脏组织病理学变化(HE 染色,400×)

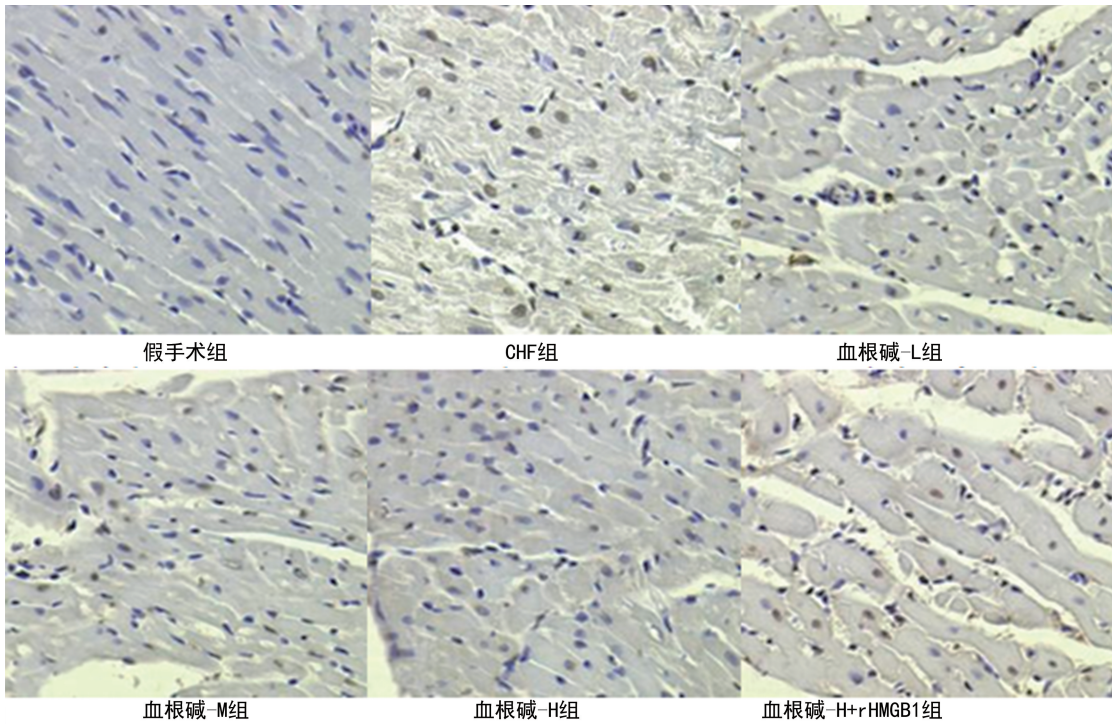
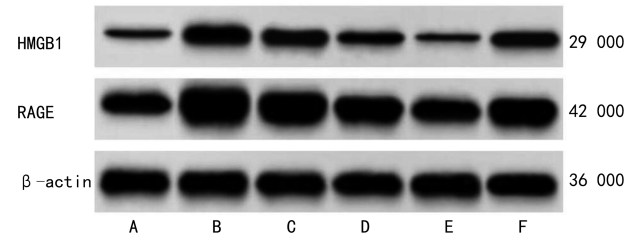


图 2 各组心肌细胞凋亡变化(TUNEL 染色,400×)



注:A为假手术组;B为CHF组;C为血根碱-L组;D为血根碱-M组;E为血根碱-H组;F为血根碱-H+rHMGB1组。
图 3 各组大鼠心脏组织中 HMGB1、RAGE 蛋白表达

3 讨 论

CHF 是一种复杂的综合征,表现为心肌无法维持外周组织血液供应,可能损害全身的能量代谢,导致患者健康状况和生活质量差,已经成为主要的临床和公共卫生问题^[14-15]。因此,寻找潜在的高效药物有助于延缓心力衰竭的进展。

血根碱是一种苯并菲啶生物碱,存在于黄芩、血参、白头翁等多种植物中,是美国食品药品监督管理局(FDA)批准的化合物,可被用作抑制牙菌斑生长的

保健品^[16]。此外,血根碱还具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、增强免疫力等其他生物活性和药理活性^[17]。急性心肌梗死长期以来一直是所有类型心脏疾病中最致命的疾病之一。MA 等^[18]研究证明血根碱作为 p38/MAPK 信号激动剂可以抑制血管生成,具有降低心肌梗死复发的潜在功效。心脏重塑是心力衰竭的主要决定因素,其特征是心脏肥大和纤维化,早期研究表明血根碱对主动脉结扎诱导的小鼠心脏肥大、纤维化和功能障碍具有保护作用^[19]。血根碱能抑制脂多糖诱导的 H9c2 心肌细胞炎症和凋亡,为脓毒症合并心功能不全患者的治疗提供新方法^[20]。基于以上研究,本研究推测血根碱有望用于治疗 CHF。

研究表明炎症细胞因子可调节心肌细胞的表型和功能,抑制心肌细胞的收缩功能,诱导巨噬细胞活化产生多种炎症介质,刺激微血管,导致血管内皮功能障碍,进而促进心力衰竭的发展^[21]。心力衰竭时心脏可表达多种炎症因子如 IL-1 β 、TNF- α ,而 IL-10 为抗炎因子,抗炎因子及促炎性细胞因子在 CHF 发展中发挥重要作用^[22]。本研究通过结扎冠状动脉的左前降支建立 CHF 大鼠模型,结果发现 CHF 大鼠 FS、IVS、LVEF 明显降低,心脏指数明显增加,炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 水平明显增加,IL-10 水平明显降低,炎症浸润较为明显,提示 CHF 的发生伴随炎症因子水平的升高,并伴有心腔扩大。心肌细胞凋亡参与影响心脏的功能和结构,是 CHF 病理生理的重要机制^[23]。在 CHF 发展过程中,炎症因子增多,进一步诱导心肌细胞凋亡、坏死,促进心肌纤维化^[24]。本研究发现 CHF 大鼠细胞结构模糊,体积缩小,细胞凋亡明显增加,提示心肌细胞凋亡参与 CHF 的发生,并导致大鼠心功能恶化。但经血根碱干预后,CHF 大鼠心脏组织病理损伤得到改善,FS、IVS、LVEF 明显增加,心脏指数和 IL-1 β 、TNF- α 水平明显降低,IL-10 水平明显增加,炎症浸润减少,细胞凋亡率明显降低,提示血根碱干预 CHF 大鼠可抑制心肌炎症及细胞凋亡,改善其病理损伤,对 CHF 大鼠具有一定的保护作用,但机制尚未阐明。

HMGB1 是一种高度保守的相对分子质量为 30 000 的核蛋白,在被免疫细胞或坏死细胞释放后可作为细胞外信号,介导炎症反应的发生,诱导细胞凋亡^[25]。HMGB1 的受体 RAGE 在正常生理条件下正常表达,然而在慢性炎症期间由于其配体的积聚呈现高度上调状态^[26]。在心肌缺血再灌注损伤研究中,FPS-ZM1 可阻断 HMGB1/RAGE 信号通路,抑制心肌炎症及凋亡,改善小鼠心脏结构^[27]。在心肌梗死研究中,依托咪酯抑制 HMGB1/RAGE 信号通路改善

缺氧/复氧心肌细胞受损,为其治疗提供参考^[28]。研究表明 CHF 患者血清 HMGB1 水平上调,降低 HMGB1 水平可改善 CHF 大鼠氧化应激和炎症反应^[29]。血根碱可通过抑制 HMGB1 表达减轻了肠道辐射损伤^[30],故本研究旨在探索血根碱能否通过 HMGB1/RAGE 信号通路影响 CHF 发展。本实验结果发现 CHF 大鼠心脏组织中 HMGB1、RAGE 蛋白水平明显增加,提示 HMGB1/RAGE 信号通路的激活可能参与 CHF 的发生。但经血根碱干预后, HMGB1、RAGE 蛋白水平降低,CHF 大鼠炎症因子水平得到抑制,细胞凋亡减少,心室功能改善,提示血根碱通过抑制 HMGB1/RAGE 信号通路保护 CHF 大鼠。为进一步验证该结论,本实验以 rHMGB1 上调 HMGB1/RAGE 信号通路,结果发现 rHMGB1 逆转了血根碱对 CHF 大鼠的保护作用,表明血根碱可抑制 CHF 大鼠炎症反应及细胞凋亡是通过抑制 HMGB1/RAGE 信号通路实现的。

综上所述,血根碱可抑制 CHF 大鼠心肌炎症及细胞凋亡,改善大鼠心功能及病理损伤进而保护 CHF 大鼠心肌免受进一步损伤,可能与调节 HMGB1/RAGE 信号通路有关。本研究从体内动物水平上初步证实血根碱对 CHF 的改善作用,为促进药物临床前研究和实现临床转化奠定基础,将有助于新型 CHF 治疗药物的开发。未来会在此基础上采用心肌 H9C2 细胞进行体外细胞实验,进一步验证血根碱的心肌保护作用与机制。

参考文献

- [1] SHI B H, HUANG Y T, NI J Y, et al. Qi Dan Li Xin pill improves chronic heart failure by regulating mTOR/p70S6k-mediated autophagy and inhibiting apoptosis[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6105.
- [2] 王志燕, 陈晨, 吕强, 等. 2021 年 ESC 急性心力衰竭诊断与治疗指南解读[J]. 中华心血管病杂志, 2021, 49(12): 1252-1255.
- [3] 崔东, 孙立立, 张旭, 等. 沙库巴曲缬沙坦钠对老年慢性心力衰竭合并 2 型糖尿病患者肾功能、神经内分泌激素和 TGF- β 1/Smad3 信号通路的影响[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(16): 3102-3106.
- [4] 魏安华, 李娟. 《中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018》药物更新透视[J]. 医药导报, 2019, 38(5): 539-543.
- [5] DENG W, FANG Y, LIU Y, et al. Sanguinarine protects against pressure overload-induced cardiac remodeling via inhibition of nuclear factor- κ B activation[J]. Mol Med Rep, 2018, 10(1): 211-216.
- [6] LAINES-HIDALGO J I, MUÑOZ-SÁNCHEZ J A, LOZA-MÜLLER L, et al. An update of the sanguinarine and

- benzophenanthridine alkaloids' biosynthesis and their applications[J]. *Molecules*, 2022, 27(4):1378.
- [7] SCHIATTARELLA G G, RODOLICO D, HILL J A. Metabolic inflammation in heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(2):423-434.
- [8] GRANDINETTI V, CARLOS F P, ANTONIO E L, et al. Photobiomodulation therapy combined with carvedilol attenuates post-infarction heart failure by suppressing excessive inflammation and oxidative stress in rats[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):9425.
- [9] WATANABE H, SON M. The immune tolerance role of the HMGB1-RAGE axis[J]. *Cells*, 2021, 10(3):564.
- [10] BANGERT A, ANDRASSY M, MÜLLER A M, et al. Critical role of RAGE and HMGB1 in inflammatory heart disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(2):155-164.
- [11] 朱智德, 庞延, 卢健棋, 等. 强心汤对慢性心力衰竭模型大鼠心肌组织 OMA1、OPA1 表达及线粒体形态的影响[J]. *中医杂志*, 2021, 62(3):266-270.
- [12] YU C, LI P, WANG Y X, et al. Sanguinarine attenuates neuropathic pain by inhibiting P38/MAPK activated neuroinflammation in rat model[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14:4725-4733.
- [13] ZHAI Y Y, ZHU Y L, LIU J Y, et al. Dexmedetomidine post-conditioning alleviates cerebral Ischemia-Reperfusion injury in rats by inhibiting high mobility group protein B1 group (HMGB1)/Toll-Like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26:e918617.
- [14] PACHECO D M, SILVEIRA V D, THOMAZ A, et al. Chronic heart failure modifies respiratory mechanics in rats: a randomized controlled trial[J]. *Braz J Phys Ther*, 2016, 20(4):320-327.
- [15] YANG Z Q, HAN Y Y, GAO F, et al. Shengxian decoction protects against chronic heart failure in a rat model via energy regulation mechanisms[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1):200.
- [16] SHU D, ZHU Y, LU M, et al. Sanguinarine attenuates collagen-induced platelet activation and thrombus formation[J]. *Biomedicines*, 2021, 9(5):444.
- [17] LIU F, WANG H J, ZHU X T, et al. Sanguinarine promotes healthspan and innate immunity through a conserved mechanism of ROS-mediated PMK-1/SKN-1 activation[J]. *iScience*, 2022, 25(3):103874.
- [18] MA W M, ZHANG X, LIU Y. miR-124 promotes apoptosis and inhibits the proliferation of vessel endothelial cells through P38/MAPK and PI3K/AKT pathways, making it a potential mechanism of vessel endothelial injury in acute myocardial infarction[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(6):1383.
- [19] DENG W, FANG Y, LIU Y, et al. Sanguinarine protects against pressure overload-induced cardiac remodeling via inhibition of nuclear factor- κ B activation[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1):211-216.
- [20] MENG Y Y, LIU Y, HU Z F, et al. Sanguinarine attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation and apoptosis by inhibiting the TLR4/NF- κ B pathway in H9c2 cardiomyocytes[J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38(2):204-211.
- [21] HANNA A, FRANGOIANNIS N G. Inflammatory cytokines and chemokines as therapeutic targets in heart failure[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2020, 34(6):849-863.
- [22] MAHMOUDI M J, HEDAYAT M, TAGHVAEI M, et al. Interleukin-10 and transforming growth factor beta1 gene polymorphisms in chronic heart failure[J]. *Acta Biomed*, 2019, 90(2):221-227.
- [23] 张叶祥, 胡业彬, 程晓昱, 等. 茯苓温肾胶囊对慢性心力衰竭患者心肌细胞凋亡的干预作用[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2018, 25(5):468-472.
- [24] LI W W, LI Y N, JIANG F, et al. Correlation between serum levels of microRNA-21 and inflammatory factors in patients with chronic heart failure[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2022, 101(38):e30596.
- [25] CHEN R C, KANG R, TANG D L. The mechanism of HMGB1 secretion and release[J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(2):91-102.
- [26] SINGH H, AGRAWAL D K. Therapeutic potential of targeting the HMGB1/RAGE axis in inflammatory diseases[J]. *Molecules*, 2022, 27(21):7311.
- [27] 屠甜甜, 王向明, 狄瑞杰, 等. RAGE 阻断剂 FP S-ZM1 对心肌缺血再灌注损伤的作用研究[J]. *实用老年医学*, 2018, 32(5):425-429.
- [28] 潘敏丽, 黄国定, 卢宏全, 等. 依托咪酯对缺氧复氧诱导心肌细胞炎性损伤及 HMGB1/RAGE/NF- κ B 通路的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2022, 39(2):282-289.
- [29] XIAO N, ZHANG J, CHEN C, et al. miR-129-5p improves cardiac function in rats with chronic heart failure through targeting HMGB1[J]. *Mamm Genome*, 2019, 30(9/10):276-288.
- [30] GU J, ZHAO L, CHEN Y Z, et al. Preventive effect of sanguinarine on intestinal injury in mice exposed to whole abdominal irradiation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 146:112496.