

## 参芍片对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

郭 阳, 徐巧巧, 代金枝\*

(三峡大学附属仁和医院药学部, 湖北 宜昌 443001)

**摘要:** **目的** 探讨参芍片对大鼠急性心肌缺血再灌注(MI/R)的保护作用。**方法** 采用经典冠状动脉左前降支结扎再灌注手术构建MI/R损伤模型。40只大鼠随机分为假手术组,模型组,参芍片组(1.87 g/kg)和阿托伐他汀阳性药物组(80 mg/kg),每组8只,灌胃给药1次/d,连续7 d。记录大鼠心脏血流动力学指标, TTC染色法测定大鼠心肌梗死范围, HE染色和TUNEL染色法分别观察心肌组织形态学和心肌细胞凋亡,生化法测定LDH、CK-MB、SOD、MDA、GSH-Px水平, ELISA法测定血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平, Western blot法检测大鼠心肌组织Bax、Bcl-2蛋白表达。**结果** 与模型组比较,参芍片组心肌梗死范围明显减小( $P<0.01$ ),改善血流动力学指标、心肌病理性状态以及心肌细胞凋亡,血清中LDH、CK-MB、MDA、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平明显降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),而血清SOD、GSH-Px水平则显著升高( $P<0.05$ ),明显降低了大鼠心肌组织Bax/Bcl-2比例( $P<0.01$ )。**结论** 参芍片能减少大鼠MI/R引起的心肌损伤、氧化损伤、炎症反应和关键凋亡蛋白表达,从而对心血管起保护作用。

**关键词:** 参芍片; 心肌缺血再灌注; 心肌保护

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)12-2882-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.011

## Protective effects of Shenshao Tablets on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats

GUO Yang, XU Qiao-qiao, DAI Jin-zhi\*

(Department of pharmacy, Affiliated Renhe Hospital of China Three Gorges University, Yichang 443001, China)

**ABSTRACT: AIM** To investigate the protective effects of Shenshao Tablets (SST) on myocardial ischemia-reperfusion (MI/R) injury in rats. **METHODS** The MI/R injury model was produced by using the ligation of the left anterior descending coronary artery. Forty rats were randomly divided into sham operation group, model group, SST group (1.87 g/kg) and atorvastatin positive drug group (80 mg/kg), with ten rats in each group for treatment once a day by gavage for 7 consecutive days. The rats had their hemodynamic parameters of hearts recorded, their myocardial infarct size determined by TTC staining, and their myocardial histomorphology and cardiomyocyte apoptosis observed by HE staining and TUNEL staining, respectively. Their levels of LDH, CK-MB, SOD, MDA, and GSH-Px were determined by biochemical method, their levels of serum TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  were measured by ELISA, and finally their expressions of myocardial Bax and Bcl-2 were detected by Western blot. **RESULTS** Compared with the model group, the SST group shared significantly reduced myocardial infarction range ( $P<0.01$ ), improved hemodynamic parameters, myocardial pathological state and myocardial apoptosis, significantly decreased serum LDH, CK-MB, MDA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  levels ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), significantly increased serum SOD and GSH-Px levels ( $P<0.05$ ), and significantly reduced Bax/Bcl-2 proportion in rat myocardial tissue ( $P<0.01$ ). **CONCLUSION** Being a significant protector of the rats' cardiovascular functions, SST limits the myocardial injury, the oxidative damages, the inflammatory reactions, and the key apoptotic protein expressions.

**KEY WORDS:** Shenshao Tablets (SST); myocardial ischemia-reperfusion (MI/R); myocardial protection

收稿日期: 2019-01-20

作者简介: 郭 阳(1988—),女,硕士,主管药师,从事药物安全性研究。Tel: (0717) 6551830, E-mail: 463928957@qq.com

\*通信作者: 代金枝(1972—),女,主任药师,从事药物安全性研究。Tel: (0717) 6551830, E-mail: 840056152@qq.com

随着社会及生活水平的不断发展, 心血管疾病的患病率在我国不断攀升, 死亡率稳居首位, 心血管疾病亦是全球头号死因。心肌缺血再灌注损伤 (Myocardial ischemia / reperfusion, MI/R), 亦称为心肌复氧损伤, 是在缺血或缺氧后血液供应返回组织 (再灌注) 时引起的心肌组织损伤<sup>[1]</sup>。心肌缺血可使诱发组织损伤甚至细胞死亡, 但是心肌在缺血后重新恢复血流灌注时, 往往会诱导线粒体氧化损伤、胞内钙超载、炎症反应、能量代谢异常、细胞自噬增强, 从而出现心肌损伤加重的现象<sup>[2-3]</sup>。然而, 目前临床所常用的 MI/R 药物针对性较强、个体差异性较大、副作用较多, 其应用具有明显的局限性<sup>[4]</sup>。因此, 深入研究 MI/R 的生理机制及寻找针对 MI/R 的治疗药物成为目前心血管领域的热点命题。

中医药是中华民族两千多年来智慧的结晶。MI/R 归属于中医学的“胸痹”“心悸”等范畴, 中医病机归结于气虚血瘀、寒凝、热毒集聚等, 其根本病机是本虚标实<sup>[5]</sup>。过去几十年的国内外学者研究揭示了多种中药主要成分、中药复方和方剂对 MI/R 诱导的组织损伤的保护和治疗作用, 涉及多种调节机制, 如调节能量代谢、抗氧化、抑制炎症细胞因子释放、抑制血栓形成等<sup>[6]</sup>。参芍片是由白芍提取物、人参茎叶皂苷, 加以羧甲淀粉钠、糊精等辅料制成的包薄膜衣的中药片剂, 收录于《中国药典》, 其功效为活血化瘀、益气止痛, 临床主要用于治疗气虚血瘀所致的胸闷、胸痛、心悸、气短等症<sup>[7]</sup>。然而, 参芍片在治疗 MI/R 方面的研究仍然匮乏。

研究旨在建立 MI/R 诱导的心肌损伤作用模型, 探讨参芍片对 MI/R 大鼠血流动力学、血清生化指标以及心肌组织凋亡相关蛋白表达的影响, 为参芍片的心肌保护作用机制提供新依据。

## 1 材料

1.1 动物 40 只健康雄性 SD 大鼠, 体质量 (250±10) g, 购自三峡大学实验动物中心, 实验动物生产许可证号 SCXK (鄂) 2011-0012。

1.2 试药 参芍片 (批号 180718736) 购自保定天浩制药有限公司, 阿托伐他汀钙片 (批号 H98114) 购自辉瑞制药有限公司。乳酸脱氢酶 (Lactate dehydrogenase, LDH; 批号 A020-2-2)、肌酸激酶同工酶 (Creatine kinase-MB, CK-MB; 批号 E006-1-1)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD; 批号 A001-3-2)、丙二醛 (Ma-

londialdehyde, MDA; 批号 A003-1-2)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px; 批号 A005-1-2) 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor, TNF- $\alpha$ ; 批号 H052) 购自武汉华美生物工程有限公司。1% TTC 染色液 (批号 SBJ-0485) 购自南京森贝伽生物科技有限公司。TUNEL 试剂盒 (批号 11684795910) 购自瑞士 Roche 公司; 白介素-1 $\beta$  (Interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ; 批号 P5106)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒 (批号 P0 012 A)、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (批号 P0015) 购自碧云天生物技术有限公司; Bax (货号 ab32503)、Bcl-2 (货号 ab196495) 及 Gapdh (货号 ab181602) 抗体购自英国 Abcam 公司。其他试剂为分析纯。

1.3 仪器 BL-420 生物机能实验系统 (成都泰盟软件有限公司); Multiskan™ FC 酶标仪 (美国 Thermo Scientific 公司); Centrifuge 5424R 台式离心机 (德国 Eppendorf 公司); Milli-Q 超纯水系统 (美国 Millipore 公司); XS105DualRange 电子天平 (德国 Mettler Toledo 公司); SAR-830 小动物呼吸机 (美国 CWE 公司); 低温冰箱 (美国 Thermo Scientific 公司); ICC50HD 光学显微镜、SP8 DIVE 共聚焦显微镜 (德国 LEICA 公司); E-Gel Imager 凝胶成像仪 (美国 Thermo Scientific 公司); GraphPad Prism 6 (GraphPad Software); Image J (National Institutes of Health)。

## 2 方法

2.1 分组、造模 在清洁级动物实验室环境中, 所有动物自适应饲养 1 周后, 将动物随机分为假手术组、模型组、参芍片组、阳性对照 (阿托伐他汀) 组, 每组 10 只。假手术组、模型组给予连续灌胃生理盐水 1 周, 1 次/d, 1 mL/次。将参芍片除包衣后研细, 加入生理盐水进行搅拌混合, 随后对参芍片组给予参芍片细粉与生理盐水的混悬液连续灌胃 1 周, 1 次/d, 给药剂量主要参考了前期研究报道<sup>[7]</sup>中参芍片对犬急性心肌缺血的有效治疗中等剂量 (1.87 g/kg)。阳性药物组给予阿托伐他汀与生理盐水的混悬液连续灌胃 1 周, 1 次/d, 剂量为 80 mg/kg<sup>[8]</sup>。最后 1 次灌药结束后, 采用戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 将各组大鼠麻醉, 仰卧固定, 去毛备皮, 经口插气管, 连接动物呼吸机 (呼吸频率 90 次/min, 潮气量约 100 mL/kg) 和生物机能系统。参照文献 [9] 报道, 制作缺血再灌注模型, 首先于大鼠左胸第三、四肋间逐层开胸, 挤出

心脏，在肺动脉圆锥和左心耳交界下缘离左心耳1~1.5 mm用5/0号线穿线结扎冠状动脉左前降支，阻断冠脉血流，结扎（心电图ST明显抬高>0.1 mV或T波高耸为缺血标志）30 min后，松开结扎线再灌注（ST段抬高后约回落1/2）120 min。假手术组动物冠状动脉左前降支只穿线不结扎，其他3组动物均进行缺血再灌注手术。

**2.2 检测血流动力学** 采用BL-420生物机能系统记录各组大鼠（ $n=10$ ）左室收缩压（Left ventricular systolic pressure, LVSP）、左室舒张末压（Left ventricular end diastolic pressure, LVEDP）和左室内压力最大上升/下降速率（Maximal rate of the increase / decrease rates of left ventricular pressure,  $\pm dp/dt_{max}$ ）和心率（Heart rate, HR）的变化。

**2.3 检测血清生化指标** 在血流动力学检测结束后，模型组、阳性对照组各有2只大鼠死亡，参芍片组有1只大鼠死亡，随后经大鼠腹主动脉取血，于4℃下以3 000 r/min转速离心10 min，取上清血清样本。严格按照试剂盒操作说明，检测各组大鼠血清中的LDH、CK-MB、SOD、MDA、GSH-Px、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平。

**2.4 检测梗死范围** 取完血清样本后，随即处死大鼠，取心脏样本。用生理盐水冲洗残余血液后，每组随机选取6个动物心脏样本于-20℃条件下放置20 min后，将心脏固定并切致得到薄片，采用1% TTC染色液在35℃水浴中染色约10 min，随即用生理盐水冲洗终止染色，取样拍照，以梗死面积占左心室面积的百分比为表示，计算梗死范围百分比。

**2.5 观察心肌组织形态学** 心脏样本置于4%多聚甲醛（pH=7.2）中固定2 h，随后继续置于4%多聚甲醛中继续固定24 h；取出固定组织放入包埋盒中进行脱水、透明、修剪和石蜡包埋处理，待包埋心肌组织冷却凝固成块后，切成薄片，厚度为5  $\mu$ m。采用苏木精-伊红染色法（hematoxylin-eosin staining, HE）进行染色处理，用于心肌组织形态学观察。采用TUNEL凋亡试剂盒进行染色处理，用于心肌细胞凋亡检测。其余各组剩余心脏样本（ $n=3$ ）保存至-80℃冰箱。

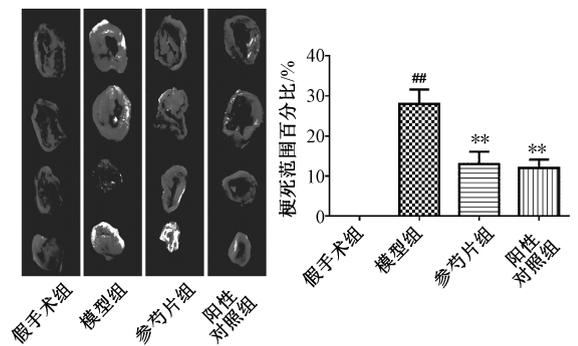
**2.6 检测心肌组织蛋白表达** 采用Western blot法。将解冻后的各组大鼠心肌组织（ $n=3$ ）于液氮中研磨破碎，并置于RIPA裂解液中提取蛋白，4℃下以12 500 r/min转速离心10 min，移取上

清，对蛋白浓度进行测定，SDS-PAGE凝胶对蛋白进行分离，采用半干法将蛋白转至聚偏氟乙烯膜上，5%脱脂奶粉中封闭2 h，加入一抗稀释液，过夜孵育，洗膜3次，置于二抗稀释液中，于振荡摇床充分作用1.5 h，充分洗涤后，加入发光液后于凝胶成像仪进行曝光拍照，并统计灰度值计算相对表达量。

**2.7 统计学分析** 应用GraphPad Prism 6统计学软件对数据进行统计学分析，以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 参芍片对MI/R大鼠心肌梗死范围及血流动力学的影响** 各组心肌梗死范围结果见图1，与模型组比较，参芍片组和阳性对照组的梗死范围百分比显著减少（ $P<0.01$ ）。各组血流动力学参数结果见图2，与假手术组比较，模型组大鼠LVSP、 $+dp/dt_{max}$ 、HR值明显降低（ $P<0.01$ ），LVEDP、 $-dp/dt_{max}$ 则明显升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，参芍片组和阳性对照组动物LVSP、 $+dp/dt_{max}$ 均显著升高，LVEDP、 $-dp/dt_{max}$ 均明显降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）；此外，参芍片组动物HR值亦显著升高。由此表明，参芍片预处理可明显保护缺血再灌注导致的心肌梗死范围和左心室功能损伤。



注：与假手术组比较， $##P<0.01$ ；与模型组比较， $**P<0.01$

**图1 参芍片对MI/R大鼠心肌梗死范围的影响（ $n=6$ ）**  
**Fig. 1 Effects of SST on the myocardial infarction range of MI/R rats（ $n=6$ ）**

**3.2 参芍片对MI/R大鼠心肌组织形态学的影响** 如图3 HE染色结果所示，假手术组动物心肌纤维排列整齐，肌纤维清晰，心肌间质无明显的炎细胞浸润，而模型组动物心肌纤维出现明显的溶解断裂、细胞核破裂、肿胀，而且心肌间质出现大量的炎细胞浸润，可见明显的局灶性心肌细胞坏死。参芍片组和阳性对照组动物心肌细胞明显肿胀减

表1 参芍片对MI/R大鼠血流动力学的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ ,  $1\text{ mmHg}=0.133\text{ kPa}$ )

Tab. 1 Effects of SST on the hemodynamic parameters of MI/R rats ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ ,  $1\text{ mmHg}=0.133\text{ kPa}$ )

组别	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	HR/(beat·min <sup>-1</sup> )	(+dp/dt <sub>max</sub> )/(mmHg·s <sup>-1</sup> )	(-dp/dt <sub>max</sub> )/(mmHg·s <sup>-1</sup> )
假手术组	131.67±16.42	-13.10±2.13	376.43±34.54	5230.34±435.45	-3613.13±334.28
模型组	66.72±12.43 <sup>##</sup>	-7.81±1.04 <sup>##</sup>	254.32±23.32 <sup>##</sup>	3210.62±261.63 <sup>##</sup>	-2610.56±231.84 <sup>##</sup>
参芍片组	112.05±11.38 <sup>**</sup>	-10.24±1.34 <sup>*</sup>	319.22±31.16 <sup>**</sup>	4310.71±297.64 <sup>**</sup>	-3111.24±235.42 <sup>**</sup>
阳性对照组	95.11±8.91 <sup>**</sup>	-11.06±1.18 <sup>*</sup>	287.17±25.89	4631.56±312.86 <sup>**</sup>	-2930.08±209.31 <sup>*</sup>

注:与假手术组比较, <sup>##</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较, <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ 。

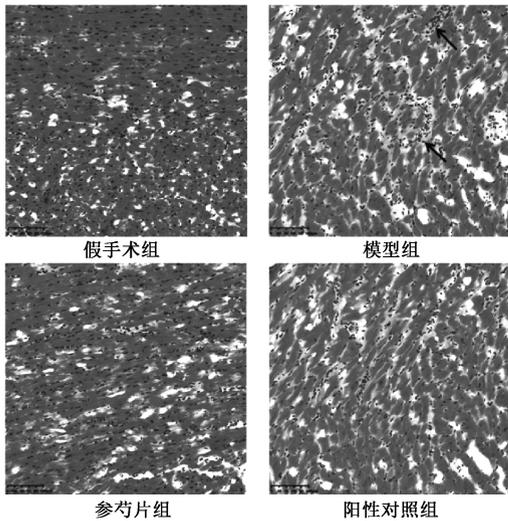
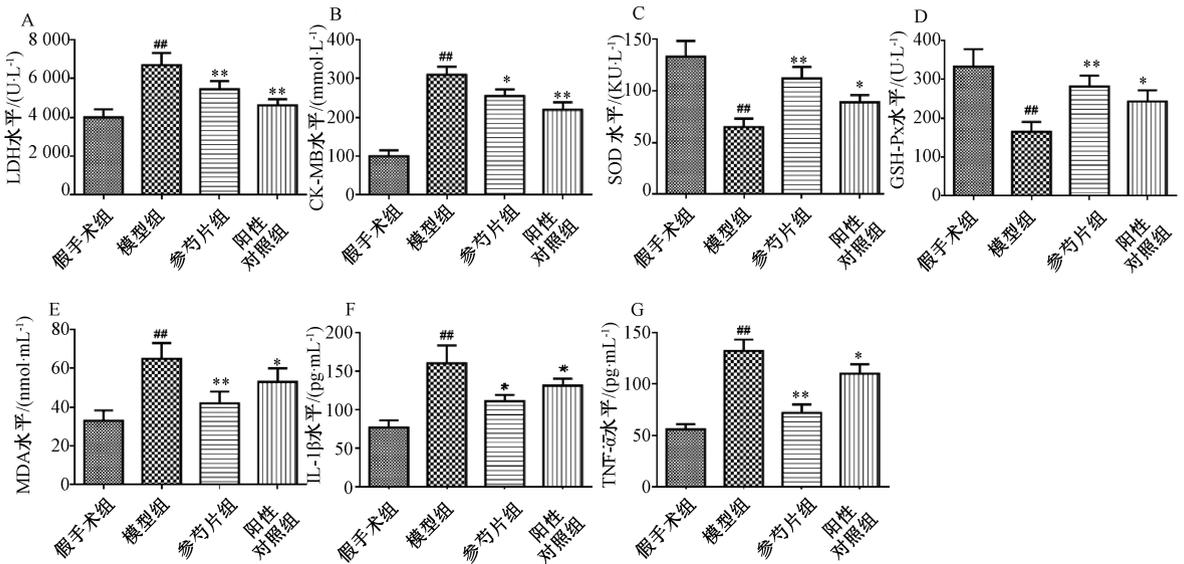


图2 参芍片对MI/R大鼠心肌组织形态学的影响  
Fig. 2 Effects of SST on the myocardial morphology of MI/R rats

轻,纤维细胞、炎细胞浸润程度明显少于模型组,参芍片组在抑制心肌细胞凋亡方面,其局灶性心肌细胞坏死区域明显少于阳性药物组。提示参芍片预处理可明显抑制模型组引起的心肌病理性改变和损伤。

2.3 参芍片对MI/R大鼠血清生化指标的影响 如图4所示,与假手术组比较,模型组动物血清LDH、CK-MB、MDA水平,炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平明显升高,而SOD、GSH-Px则明显降低( $P<0.01$ )。与模型组比较,参芍片组和阳性对照组动物血清LDH、CK-MB、MDA水平,炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平均明显降低,SOD、GSH-Px水平则明显升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。以上结果表明参芍片和阳性药物预处理可明显调节缺血再灌注导致的心肌酶谱损伤、氧化应激水平,抑制炎性介质释放。



注:与假手术组比较, <sup>##</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较, <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$

图3 参芍片对MI/R大鼠血清生化指标的影响 ( $n=8$ )

Fig. 3 Effects of SST on the serum biochemical parameters of MI/R rats ( $n=8$ )

2.4 参芍片对MI/R大鼠心肌组织凋亡及Bax/Bcl-2的影响 如图5 TUNEL染色所示,与假手术组比较,模型组心肌组织存在着大量的凋亡细胞;与模型组比较,假手术组、参芍片组、阳性对

照组心肌组织凋亡细胞明显减少。如图6所示,与假手术组比较,模型组心肌组织Bax/Bcl-2比值明显升高( $P<0.01$ );与模型组比较,参芍片组和阳性对照组心肌组织Bax/Bcl-2比值则明显降低

( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。表明参芍片预处理可明显调节 MI/R 损伤大鼠心肌组织凋亡蛋白 Bax 和 Bcl-2 的异常表达, 从而抑制心肌细胞凋亡。

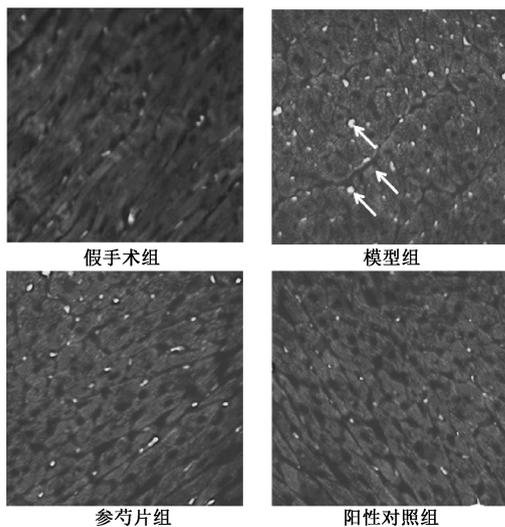


图4 参芍片对 MI/R 大鼠心肌细胞凋亡的影响  
Fig. 4 Effects of SST on the cardiomyocyte apoptosis of MI/R rats

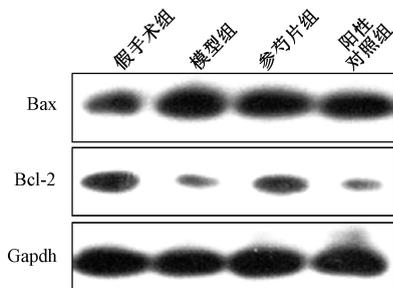


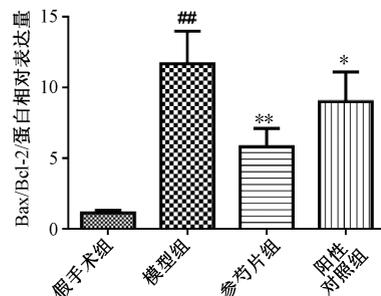
图5 参芍片对 MI/R 大鼠心肌组织 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响 (n=3)  
Fig. 5 Effects of SST on the expression of Bax and Bcl-2 protein in myocardial tissue of rats (n=3)

LDH、CK-MB 水平。参芍片还可降低模型动物血清炎性介质 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  以及脂质过氧化物 MDA 水平, 并且提高血清 SOD、GSH-Px 抗氧化酶活力。此外, 参芍片还可以明显降低 MI/R 引起的心肌细胞凋亡。Bax 和 Bcl-2 是心肌细胞中重要的凋亡基因, Bax 蛋白与 Bcl-2 蛋白结合形成异源二聚体时, 可抑制线粒体、心肌细胞凋亡<sup>[13]</sup>, 过去研究发现药物对 Bax/Bcl-2 蛋白比例的影响, 是调控和改善心肌细胞凋亡关键因素<sup>[14]</sup>。本研究发现, 参芍片还可通过降低心肌组织 Bax/Bcl-2 比值, 从而改善线粒体膜的通透性来抑制凋亡通路的激活和凋亡分子的释放, 而结果明显优于阳性药物预处理组。综合以上结果, 参芍片可通过改善炎症环境和提高抗氧化能力, 降低心肌组织凋亡调控关键蛋白

#### 4 讨论

在急性心肌缺血发展期, 心肌细胞由于受到氧气、营养物质的供应限制, 会致使细胞核、线粒体等多个细胞器损伤或功能异常<sup>[10]</sup>, 致使心肌细胞功能受损, 最终导致心脏出现左心功能参数异常和心肌组织坏死<sup>[11]</sup>。当重新恢复血液供应时, 缺血的心肌未能恢复至之前正常的功能与结构, 而再灌注进一步损伤心肌细胞、内皮细胞, 大量的炎性细胞浸润, 线粒体膜蛋白表达异常, 致使心肌细胞坏死损伤, 最终导致心肌细胞内大量心肌酶、炎症因子释放到血液循环系统<sup>[11]</sup>。此外, 缺血再灌注损伤还会破坏机体的抗氧化系统, 使得氧自由基清除酶活力下降, 导致氧自由基和脂质过氧化物生成, 通过大量释放到循环系统中, 进一步损伤抗氧化应激能力<sup>[10, 12]</sup>。

在本研究中, 我们发现参芍片能够明显缩小 MI/R 模型动物心肌组织梗死范围, 改善 MI/R 造成的左心功能损伤, 显著改善模型动物 LVSP、HR 和  $\pm dp/dt_{max}$  水平, 降低 MI/R 模型动物血清心肌酶



Bax/Bcl-2 的比例, 而改善 MI/R 造成的心肌细胞凋亡。然而, 关于参芍片在发挥抗缺血再灌注的心肌保护作用的具体机制有待进一步研究。

#### 参考文献:

[ 1 ] Turer A T, Hill J A. Pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury and rationale for therapy[J]. *Am J Cardiol*, 2010, 106(3): 360-368.

[ 2 ] Raedschelders K, Ansley D M, Chen D D. The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion[J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 133(2): 230-255.

[ 3 ] Ma S, Wang Y, Chen Y, et al. The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *BBA-Mol Basis Dis*, 2015, 1852(2): 271-276.

[ 4 ] Ibáñez B, Heusch G, Ovize M, et al. Evolving therapies for

- myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65 (14): 1454-1471.
- [5] 唐丹丽, 刘寨华, 张华敏. 心肌缺血再灌注损伤中医病机及临床辨治的现代研究进展[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2011, 17(09): 1051-1052.
- [6] Han J Y, Li Q, Ma Z Z, et al. Effects and mechanisms of compound Chinese medicine and major ingredients on microcirculatory dysfunction and organ injury induced by ischemia/reperfusion[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 177: 146-173.
- [7] 闫素云, 谢平, 于东明, 等. 参芍片对犬急性心肌缺血的影响[J]. *第四军医大学学报*, 2002, 23 (20): 1847-1849.
- [8] 赵志芳. 阿托伐他汀预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- [9] Yuan Y, Cao W, Hong Y, Guo X, et al. Tiliacin pretreatment prevents myocardial ischemia-reperfusion injury via preservation of mitochondrial function in rat heart[J]. *Phytomedicine*, 2017, 34: 106-114.
- [10] Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 117: 76-89.
- [11] Yuan L, Dai X, Fu H, et al. Vaspin protects rats against myocardial ischemia/reperfusion injury (MIRI) through the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 835: 132-139.
- [12] Ji C, Song F, Huang G, et al. The protective effects of acupoint gel embedding on rats with myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Life Sci*, 2018, 211: 51-62.
- [13] Schenk R L, Strasser A, Dewson G. BCL-2: long and winding path from discovery to therapeutic target [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(3): 459-469.
- [14] Wang D, Wang J, Liu Y, et al. Roles of Chinese herbal medicines in ischemic heart diseases (IHD) by regulating oxidative stress[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 220: 314-319.

## 白头翁皂苷 PSA 对 SW480 人结直肠癌细胞糖酵解途径关键蛋白及调节因子 HIF-1 $\alpha$ 的影响

崔亚茹, 王慧玲, 陈兰英\*, 官紫祎, 罗颖颖  
(江西中医药大学国家工程研究中心, 江西 南昌 330006)

**摘要:** **目的** 探讨白头翁皂苷 PSA 对人结直肠癌 SW480 细胞糖酵解的影响。**方法** MTT 法检测细胞存活率; 分光光度试剂盒检测葡萄糖消耗及糖酵解产物; 荧光定量 PCR 法检测己糖激酶 II (HKII)、丙酮酸激酶 M2 (PKM2) 和乳酸脱氢酶 A (LDHA) 以及葡萄糖转运体 1 (GLUT1)、单羧酸转运体 4 (MCT4) mRNA 表达; 流式细胞术检测凋亡; Western blot 法检测低氧诱导因子 (HIF-1 $\alpha$ ) 蛋白表达。**结果** 在无血清条件下, 白头翁皂苷 PSA (1~9  $\mu$ g/mL) 能够显著抑制细胞的增殖 ( $P < 0.01$ ), 降低葡萄糖的消耗、乳酸和 ATP 的生成 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 下调 HK-II、PKM2 以及 GLUT1 mRNA 的表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 诱导凋亡 ( $P < 0.01$ ), 降低 HIF-1 $\alpha$  蛋白表达水平 ( $P < 0.05$ )。**结论** 白头翁皂苷 PSA 能够有效干扰 SW480 细胞糖酵解途径, 其机制可能与抑制 HIF-1 $\alpha$  蛋白表达, 下调 HK-II、PKM2 及 GLUT1 mRNA 有关。

**关键词:** 白头翁皂苷 PSA; SW480 细胞; 糖酵解

**中图分类号:** R966

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2019)12-2887-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.012

**收稿日期:** 2018-11-09

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (81460618, 81860720, 81660683); 江西省自然科学基金项目 (2016BAB215190)

**作者简介:** 崔亚茹 (1987—), 女, 硕士, 从事药理学研究。Tel: 13870820285, E-mail: yarucai@163.com

\* **通信作者:** 陈兰英 (1966—), 女, 博士, 教授, 从事中药药效评价及机制研究。Tel: (0791) 87119611, E-mail: clyxy2513@163.com

**网络出版日期:** 2019-04-17

**网络出版地址:** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20190416.1150.002.html>