

丹红注射液对急性心肌梗死大鼠的治疗性血管新生作用研究

卫 国,王慧芳,刘 娟,刘迎宾,王艳华,殷 英

摘要 目的 明确丹红注射液对急性心肌梗死(AMI)大鼠的治疗性血管新生作用。方法 40只大鼠随机分为假手术组、模型组、丹红注射液低(0.5 ml/kg)、中(1.0 ml/kg)、高(2.0 ml/kg)剂量组,每组8只。复制大鼠AMI模型,尾静脉注射法给药,连续给药7 d。超声心动图法测定大鼠左心室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短率(LVFS),酶联免疫法检测大鼠血浆T型肌钙蛋白(TN-T)和脑钠肽(BNP)水平,HE染色法评价大鼠心肌损伤程度,免疫组化法测定大鼠心肌梗死边缘区CD34阳性微血管密度(MVD),免疫印迹法测定大鼠心肌梗死边缘区血管假性血友病因子(vWF)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)和血管内皮生长因子-A(VEGF-A)表达。结果 与假手术组比较,模型组大鼠LVEF、LVFS值下降($P < 0.01$),TN-T和BNP水平升高($P < 0.01$),心肌梗死边缘区 α -SMA($P < 0.05$)、CD34、vWF、VEGF-A表达上调($P < 0.01$);与模型组比较,中、高剂量组LVEF、LVFS值上升,CD34、vWF表达增加($P < 0.05$, $P < 0.01$),低、中、高剂量组TN-T和BNP水平下降, α -SMA、VEGF-A表达进一步增加($P < 0.05$, $P < 0.01$);HE染色显示心肌组织病理损伤减轻。结论 丹红注射液对AMI大鼠具有治疗性血管新生作用。

关键词 丹红注射液;急性心肌梗死;治疗性血管新生

中图分类号 R 256.2;R 285.5;R 972

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)03-0424-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.03.016

2021-10-09 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81403135)

作者单位:空军军医大学第一附属医院药剂科,西安 710032

作者简介:卫 国,男,主管药师;

殷 英,女,主管药师,责任作者, E-mail: yinying0736@126.com

近年来,通过给予药物或血管新生调节因子等外源性干预措施促进血管新生即治疗性血管新生,逐渐成为冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary artery heart disease, CAHD)治疗的重点关注领域^[1]。中药因其多靶点、多机制、安全性高等优势,在CAHD治疗性血管新生疗法中愈来愈受到关注^[2]。丹红注射液(danhong injection, DHI)是由丹参和红花两味传统中药按一定比例配伍制成的中药注射剂,具有通脉生络,去瘀生新的功效,能有效治疗血脉痹阻所致的“胸痹”或者“真心痛”。但目前DHI对缺血心肌的保护作用与其“生新”功能的相关性研究较少,该研究主要考察DHI对急性心肌梗死(acute myocardium infarction, AMI)大鼠缺血心肌的保护作用和对冠状动脉血管新生的促进作用,从而明确DHI对AMI损伤是否具有治疗性血管新生作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性SD大鼠40只,SPF级,体质量250~280 g,由空军军医大学实验动物中心提供,合格证号:SCXK-(军)2012-0007。

1.1.2 仪器与设备 HX-100E小动物呼吸机(成都泰盟科技公司);BL-420S系列生物机能实验系统(成都泰盟科技公司);IX71+DP72型倒置显微镜(日本奥林巴斯公司);Vevo 770型小动物超声波影像诊断仪(加拿大visualsonics公司);LMT260-XY图像采集系统(德国Leica公司);CHEMIDOC凝胶

lin-induced glucose uptake in H9c2 cardiomyocytes. It increased ROS production, pretreatment with N-acetyl-L-cysteine (NAC), a ROS scavenger, reversed HUA-inhibited glucose uptake induced by insulin. HUA exposure directly increased the phospho-IRS1 (Ser307) response to insulin and inhibited that of phospho-Akt in H9C2 cardiomyocytes, which was blocked by NAC. Furthermore, the acute hyperuricemic mice model showed impaired glucose tolerance and insulin tolerance accompanied by increased phospho-IRS1 (Ser307) and inhibited phospho-Akt response to insulin in myocardial tissues. **Conclusion** HUA inhibits insulin signaling and induces insulin resistance in cardiomyocytes *in vitro* and *in vivo*, which is a novel potential mechanism of hyperuricemic-related cardiovascular disease.

Key words high uric acid; cardiomyocytes; insulin resistance; glucose uptake

成像系统(美国 Bio-Rad 公司);5804R 型冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.1.3 试药与试剂 DHI (10 ml/支,批号:14121025)由山东丹红制药有限公司生产;伊文思蓝(evans blue,EB)、2,3,5-氯化三苯基四氮唑蓝(triphenyl tetrazolium chloride,TTC)购自美国 Sigma 公司;T 型肌钙蛋白(troponin T,TN-T)试剂盒、脑钠肽(brain natriuretic peptide,BNP)试剂盒购自南京建成生物科技有限公司;兔抗大鼠血小板-内皮细胞黏附分子(cell adhesion 34,CD34)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor A,VEGF-A)、血管假性血友病因子(von willebrand factor,vWF)、兔抗大鼠 α -平滑肌肌动蛋白(α -Smooth muscle actin, α -SMA)、兔抗大鼠 β -肌动蛋白(β -actin, β -actin)一抗购自美国 Cell Signaling 公司;过氧化物酶标记的羊抗兔的二抗购自美国 Abcam 公司;水合氯醛、多聚甲醛购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与给药 40 只大鼠随机分为 5 组:假手术组、模型组、DHI 低(0.5 ml/kg)、中(1.0 ml/kg)、高(2.0 ml/kg)剂量组;每组 8 只。造模 24 h 后给药,尾静脉注射,每天一次,模型组和假手术组给予生理盐水(2 ml/kg),连续给药 7 d 后取材。

1.2.2 大鼠 AMI 模型制备 大鼠称重,按 4 ml/kg 腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉大鼠,仰卧位固定于专用木板上,连接生物机能实验系统,记录标准 II 导联心电图;行气管插管术并连接呼吸机,设置呼吸机参数(频率:75 次/min;潮气量:8~9 ml;呼吸比=2:1);于第 3~5 肋间开胸,充分暴露心脏,剪开心包膜,于左心耳下方 1~2 mm 处进针,绕左冠状动脉前降支穿线、结扎;以大鼠心脏左室前壁变白且心电图 ST 段出现明显抬高(幅度>0.2 mV),表明模型建立成功;关闭胸腔,排除胸腔气体,逐层缝合。待大鼠恢复自主呼吸,撤去呼吸机,将大鼠置温箱中,待其自然苏醒。术后每只大鼠按 150 万 U/(kg·d)腹腔注射青霉素,连续 3 d,以防感染。

1.2.3 心功能测定 采用超声心动图法评价大鼠心功能。术前及末次给药后 6 h 测定,以二维超声(频率 15 MHz)和 M 型超声检测左室收缩功能指标,记录左室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter,LVEDD)、左室收缩末期内径(left ventricular end systolic diameter,LVESD),计算大鼠左室射血分数(left ventricular ejection fraction,LVEF)、左室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening,

LVFS)。各参数均计算 3 个心动周期的平均值。

1.2.4 取材与样本处理 每组剩余存活大鼠第 2 次心功能测定完毕后,10% 水合氯醛腹腔注射麻醉,腹主动脉取血 2 ml,供血清生化指标测定;随后处死大鼠,取出心脏,剪取左心室梗死区域边缘心肌组织,分为 2 份,一份置 -80 °C 保存,供免疫印迹实验用;另一份 4% 多聚甲醛固定 24 h,乙醇梯度脱水、石蜡包埋,切片,供免疫组化(HE 染色和 CD34 染色)实验用。

1.2.5 血清生化指标测定 采用酶联免疫法测定,从大鼠腹主动脉抽血 2 ml 至肝素管,静置 15 min,3 000 r/min 离心 20 min,留血清,按照试剂盒说明书中的操作步骤测定其中的 TN-T 和 BNP 含量。

1.2.6 HE 染色 取“1.2.4”中制备的石蜡切片,脱蜡至水,苏木精染色,水洗后盐酸乙醇分化,自来水冲洗,伊红染色,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,在光学显微镜下观察心肌梗死边缘区心肌细胞。

1.2.7 微血管密度(microvessel density,MVD)测定 取“1.2.4”中制备的石蜡切片,采用免疫组化法(SP 法)染色,DAB 显色,其中 CD34 抗体浓度为 1:200;用抗体稀释液代替一抗作为阴性对照。染色后,先用低倍镜($\times 40$ 视野下)扫视玻片,找到梗死边缘区血管密度最高的区域,然后在高倍镜下($\times 400$ 视野下)计数视野内被染色的血管数。凡呈棕黄色的单个血管内皮细胞或细胞簇均被计数,但管腔>25 μ m 的血管除外。计算单位面积内微血管的数量,即 MVD,随机选取 5 个视野/张,计算平均值。

1.2.8 蛋白表达测定 采用免疫印迹(Western blot)法测定。取“1.2.4”中 -80 °C 保存心肌组织,剪碎,冰浴条件下,加入蛋白裂解液裂解,冷冻离心机中(4 °C,12 000 r/min)离心 20 min,取上清,用考马斯亮兰蛋白定量试剂盒定量;煮沸法行蛋白变性后取等量蛋白经 SDS-PAGE 电泳分离,转至 PVDF 膜上,37 °C 下脱脂奶粉封闭,加入 1:1 000 稀释的 vWF、 α -SMA、VEGF-A、 β -actin 一抗,4 °C 孵育过夜,加入 1:5 000 稀释的羊抗兔的二抗,37 °C 孵育 30 min,ECL 发光显色,凝胶成像系统进行摄影分析。蛋白表达以目的蛋白与 β -actin 条带灰度值的比值表示,各组蛋白相对水平以其对假手术组倍数表示。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析,所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,One-way ANOVA 方差分析法比较组间差异,SNK 法进行两两比较, $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠存活情况 给药结束后,40 只大鼠存活 34 只,假手术组、模型组、DHI 低、中、高剂量组大鼠分别死亡 0、1、2、2 和 1 只,死亡原因包括麻醉意外、心律失常和呼吸衰竭,各组死亡率差异无统计学意义。

2.2 DHI 对 AMI 大鼠心功能的影响 术前各组大鼠心功能比较差异无统计学意义;造模 7 d 后,假手术组大鼠心功能与术前比较差异无统计学意义;与假手术组大鼠 LVEF (79.00 ± 3.10)% 和 LVFS (39.83 ± 3.92)% 比较,模型组大鼠 LVEF (35.33 ± 4.32)% 和 LVFS (19.83 ± 3.60)% 下降 ($P < 0.01$);DHI 能剂量依赖性的升高大鼠 LVEF 和 LVFS 值,其中,中剂量组 [LVEF (50.67 ± 3.01)%, LVFS (26.17 ± 2.64)%],高剂量组 [LVEF (56.00 ± 4.82)%, LVFS (29.33 ± 4.23)%] 大鼠心功能与模型组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 1。

2.3 DHI 对 AMI 大鼠血清 TN-T 和 BNP 水平的影响 造模 7 d 后,模型组血清 TN-T (6.30 ± 0.68) ng/ml 和 BNP (125.33 ± 6.71) pg/ml 含量仍高于假手术组 TN-T (0.27 ± 0.12) ng/ml 和 BNP ($28.83 \pm$

3.87) pg/ml,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);而给予不同剂量的 DHI 治疗后,大鼠血清 TN-T [低: (5.72 ± 0.45) ng/ml、中: (4.78 ± 0.47) ng/ml、高: (3.43 ± 0.45) ng/ml] 和 BNP [低: (115.17 ± 6.18) pg/ml、中: (105.17 ± 5.23) pg/ml、高: (94.83 ± 5.04) pg/ml] 水平均下降,与模型组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 2。

2.4 DHI 对 AMI 大鼠心肌病理的影响 假手术组心肌纤维排列整齐,结构正常;模型组大鼠心肌细胞大量坏死,肌纤维断裂,可见大量炎性细胞浸润;给予不同剂量 DHI 治疗后,心肌细胞坏死程度,组织炎性细胞浸润程度均有不同程度改善。见图 3。

2.5 DHI 对 AMI 大鼠心肌梗死边缘区 MVD 的影响

造模 7 d 后,各实验组大鼠心肌梗死边缘区均可发现 CD34 阳性细胞或细胞簇,即新生微血管;模型组新生血管数量即 MVD 值 (16.80 ± 3.03) n/mm²,较假手术组 (7.60 ± 1.82) n/mm² 有增加,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);三个剂量的 DHI 治疗能不同程度的促进微血管新生,与模型组比较,中 (33.60 ± 5.86) n/mm²、高 (50.60 ± 4.51) n/mm² 剂量组心肌梗死边缘区 MVD 值增加,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 4。

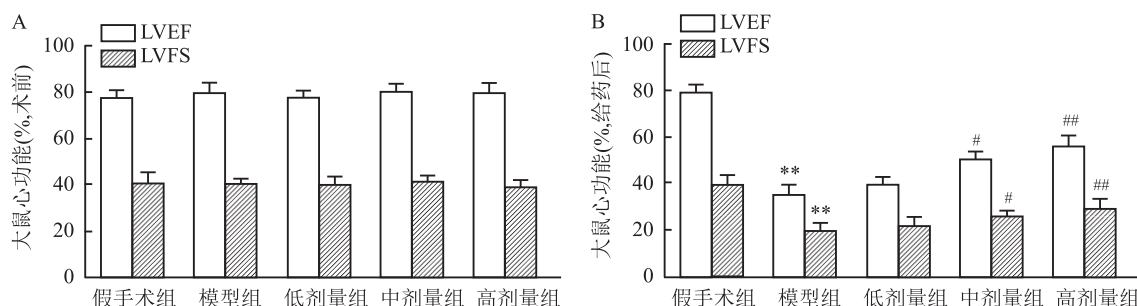


图1 超声心动图法检测 DHI 对 AMI 大鼠心功能的影响

A: 术前各组大鼠心功能; B: 术后各组大鼠心功能; 与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

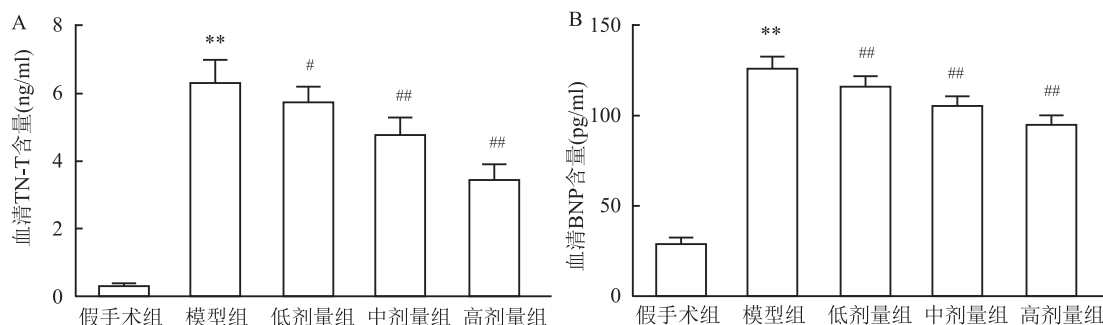


图2 ELISA 法检测 DHI 对 AMI 大鼠血清 TN-T 和 BNP 含量的影响

A: 各组血清 TN-T 含量; B: 各组血清 BNP 含量; 与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

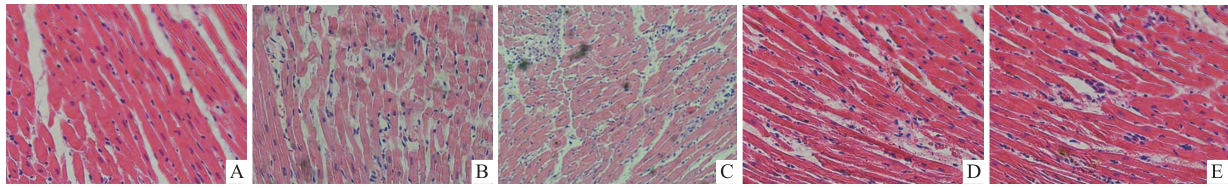


图3 HE染色法检测DHI对AMI大鼠心肌病理损伤的影响 ×200

A:假手术组; B:模型组; C:低剂量组; D:中剂量组; E:高剂量组

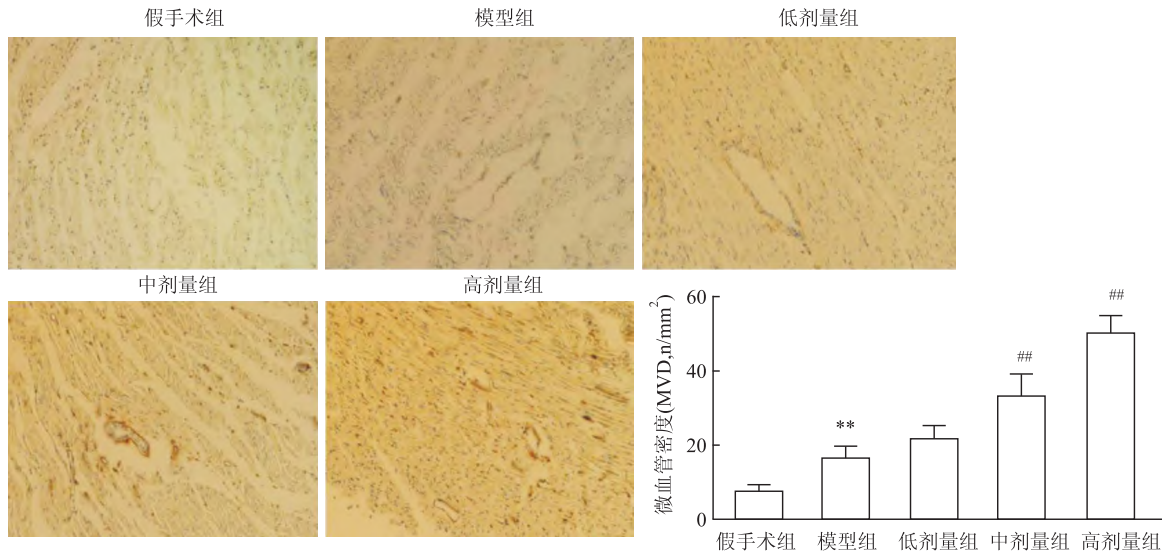


图4 免疫组化法检测DHI对AMI大鼠心肌梗死边缘区MVD的影响

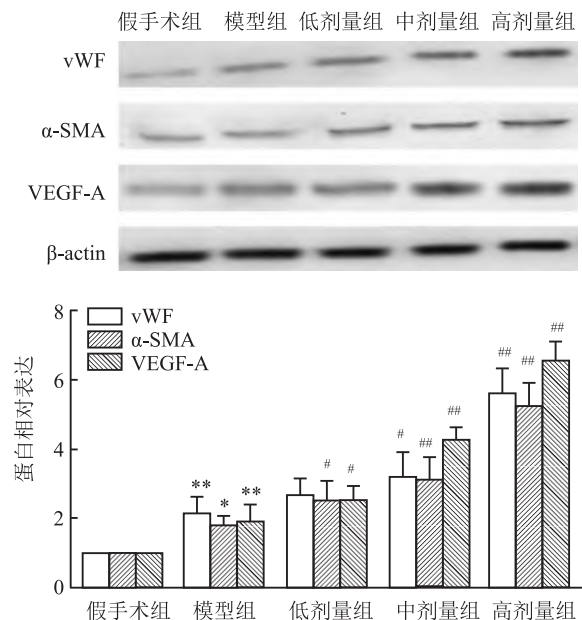
与假手术组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

2.6 DHI对AMI大鼠心肌梗死边缘区vWF、 α -SMA和VEGF-A表达的影响 与假手术组 (1.00 ± 0.00) 比较,模型组大鼠心肌梗死边缘区vWF (2.14 ± 0.46)、 α -SMA (1.80 ± 0.25) 和VEGF-A (1.90 ± 0.48) 表达均有不同程度升高,两组间差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); DHI治疗则能更进一步促进这三种蛋白的表达,中、高剂量组vWF [(3.20 ± 0.71) 、 (5.62 ± 0.70)] 表达高于模型组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 低、中、高剂量组的 α -SMA [(2.50 ± 0.56) 、 (3.10 ± 0.66) 、 (5.24 ± 0.67)] 和VEGF-A [(2.50 ± 0.43) 、 (4.28 ± 0.34) 、 (6.52 ± 0.56)] 表达均高于模型组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图5。

3 讨论

血管新生在CAHD治疗中地位日渐提高。因长期心肌缺血导致心肌细胞死亡、心肌局灶性或弥漫性的纤维化以及心室重构,进而引起心肌舒缩功能障碍是CAHD的主要病理机制^[3];而冠状动脉血管新生信号的激活能促进缺血心肌侧支循环的建立,有助于恢复血供,从而挽救顿抑心肌、抑制心肌

细胞死亡,减少心肌结构性和功能性损伤。当发生心肌梗死时,缺血心肌会适应性的表达促血管新生

图5 Western blot法检测DHI对AMI大鼠心肌梗死边缘区vWF、 α -SMA和VEGF-A表达的影响与假手术组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

因子,促进血管再生,但这种内源性的代偿机制作用十分有限^[4];因此,通过各种方法适当的给予外源性促血管新生药物,调节缺血心肌血管新生相关分子的表达,提升心肌的血管再生能力,即治疗性血管新生成为目前 CAHD 治疗的研究热点。中药因其多靶点、多机制、安全性高等优势,在 CAHD 治疗性血管新生疗法中愈来愈受到关注。

DHI 是由丹参和红花两味传统中药按一定比例配伍制成的中药注射剂,具有通脉生络,去瘀生新的功效,在临床上广泛用于各型 CAHD 的治疗。基础研究^[5]表明,DHI 能显著减少心肌缺血大鼠的心肌梗死面积,抑制心肌细胞凋亡,逆转其心室重构,改善大鼠心功能,进而发挥心肌保护作用。现代研究也初步证实了 DHI 的促血管新生活性^[6-7]。然而,DHI 对缺血心肌的保护作用与其“生新”功能的相关性即在体内的治疗性血管新生作用目前仍然研究较少,有待进一步探索。

目前基础研究中多采用结扎、给药、介入、冷冻等方法制作心肌梗死模型,其中,冠状动脉结扎法因为可以最大限度模拟临床,而且更加符合心肌梗死的实际病理过程,是心肌梗死模型最为经典和常用的制作方法^[8]。本研究即通过结扎大鼠冠状动脉左前降支制作 AMI 模型来考察 DHI 的治疗性血管新生作用。心功能的变化与心肌缺血损伤程度和心脏的工作性能密切相关,而大鼠心脏 LVEF 和 LVFS 以及血清 TN-T 和 BNP 水平^[9-10]都是表征大鼠的心功能的关键指标。本研究结果表明,DHI 能明显抑制 AMI 引起的大鼠心脏 LVEF 和 LVFS 下降以及血清 TN-T 和 BNP 含量的增加,且呈剂量依赖性。这些结果提示,DHI 能减少大鼠心肌缺血损伤,改善大鼠心功能,发挥心肌保护作用。文献证实,CD34、vWF、 α -SMA 都是微血管的标志性分子^[11-12],本研究首先即考察了 DHI 对这些分子表达的影响。结果表明,DHI 能剂量依赖性的增加心梗大鼠左室梗死边缘区 CD34 阳性细胞标记的 MVD 以及 vWF 和 α -SMA 蛋白的表达。此外,VEGF-A 是调节血管新

生的关键信号分子,DHI 亦能显著上调大鼠左室梗死边缘区 VEGF-A 蛋白的表达,提示 DHI 可以显著促进大鼠缺血心肌的冠状动脉血管新生。

综上所述,DHI 能够减少 AMI 引起的大鼠心肌缺血损伤,改善大鼠心功能,其机制可能与其促血管新生作用相关。

参考文献

- [1] Johnson T, Zhao L, Manuel G, et al. Approaches to therapeutic angiogenesis for ischemic heart disease [J]. *J Mol Med*, 2019, 97(2):141-51.
- [2] 施雯婷,赵外荣,周忠焱,等. 中医药促进冠心病血管新生的研究进展[J]. *医学综述*, 2019, 25(18):3667-71.
- [3] 蔡璐,刘信信,顾艳霞,等. 基于填精完形理论治疗缺血性心肌病的临床体会[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2020, 30(12):1029-32.
- [4] 王欣,李磊,陈元友,等. 柚皮素对心肌梗死大鼠血管新生的促进作用及机制研究[J]. *浙江中医药大学学报*, 2021, 45(5):441-6, 459.
- [5] 殷英,卫国,段佳林,等. 丹红注射液对心梗大鼠心肌细胞凋亡及 JAK2/STAT 信号通路的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(11):2051-5.
- [6] 史永平,刘发生,孔浩天,等. 利用斑马鱼模型研究丹红注射液及代表性成分的促进血管生成作用[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(11):2588-90.
- [7] 谭莉,万芳超,刘容,等. 丹红注射液对大鼠急性脑梗死后血管新生的影响[J]. *中医药导报*, 2019, 25(20):71-5.
- [8] 杨文慧,郭涛,杨莉,等. 大鼠急性心肌梗死模型的建立[J]. *中国老年病学杂志*, 2015, 35(12):6019-21.
- [9] 马晓燕,孟珊珊,王琦. 慢性心力衰竭患者心肌肌钙蛋白、CysC 水平变化与心功能分级、预后的相关性分析[J]. *四川解剖学杂志*, 2021, 29(1):127-8.
- [10] 陈方圆,焦长青,黎冉,等. BNP 水平联合心脏结构指标对高血压伴 HFREF 的临床预测价值[J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(3):471-5.
- [11] Fan J H, Li H P, Nie X, et al. MiR-665 aggravates heart failure via suppressing CD34-mediated coronary microvessel angiogenesis[J]. *Aging*, 2018, 10(9):2459-79.
- [12] 王子未,李艳君,李琳,等. 鹿茸促血管新生修复心肌梗死大鼠心肌损伤的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2019, 39(8):965-70.

Study on the effect of danhong injection in promoting therapeutic angiogenesis for acute myocardial infarction

Wei Guo, Wang Huifang, Liu Juan, Liu Yingbin, Wang Yanhua, Yinying

(Dept of Pharmacy, The First Affiliated Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an 710032)

Abstract Objective To confirm the therapeutic angiogenesis of danhong injection (DHI) in acute myocardial

网络出版时间:2022-1-25 7:58 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20220124.0940.017.html

抗 SARS-CoV-2 N 蛋白单克隆抗体的制备与鉴定

刘江丽^{1*}, 李盈盈^{1*}, 王佳雯¹, 许喻钧^{1,2}, 张艳¹, 黄江涛^{1,2}, 胡祖权¹, 曾柱^{1,2}

摘要 目的 制备针对严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) 核衣壳蛋白(N)的单克隆抗体(mAbs)并鉴定其生物学特性。**方法** 利用大肠杆菌原核表达重组 SARS-CoV-2 N 蛋白,通过杂交瘤技术将小鼠骨髓瘤细胞 SP2/0 与经重组蛋白免疫的 BALB/c 小鼠的脾细胞进行融合,采用间接 ELISA 法和有限稀释法筛选出阳性杂交瘤细胞株,并鉴定其亚型,腹水法制备 mAbs,Protein G 亲和柱纯化后通过 SDS-PAGE、间接 ELISA 和 Western blot 检测其纯度、效价及特异性。**结果** 获得 5 株能稳定分泌抗 SARS-CoV-2 N 蛋白

mAbs 的杂交瘤细胞株,分别命名为 N1~5。通过腹水法制备获得 5 个 mAbs,亚型鉴定结果显示 1 个为 IgG2a * κ 型、4 个为 IgG1 * κ 型,其效价均达到 2×10^4 以上。Western blot 结果表明 5 个 mAbs 都能与重组 SARS-CoV-2 N 蛋白结合。**结论** 通过杂交瘤技术成功制备了 5 个能特异性识别重组 SARS-CoV-2 N 蛋白的 mAbs,为开发免疫诊断试剂奠定了基础。

关键词 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2;核衣壳蛋白;单克隆抗体;免疫学检测

中图分类号 R 392.11;Q 786

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)03-0429-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.03.017

2021-08-26 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:31660258);贵州省科学技术基金(编号:黔科合支撑[2019]2787号;黔科合平台人才[2016]5676);国家级大学生创新创业训练项目(编号:202010660035)

作者单位:贵州医科大学¹生物与工程学院贵州省感染免疫与抗体工程特色重点实验室/生物与医学工程重点实验室、²省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室,贵阳 550025

作者简介:刘江丽,女,硕士研究生;

胡祖权,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:huzhuan@gmc.edu.cn;

曾柱,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:zengzhu@gmc.edu.cn

* 对本文具有同等贡献

2019 年开始,由严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染引起的肺炎在全球范围内大流行^[1]。SARS-CoV-2 传染性强,传播速度快,被世界卫生组织列为对人类危害最严重的病毒之一,严重危害全球公共卫生安全,研制预防、诊断和治疗的方法具有重要意义。在 SARS-CoV-2 的 4 种结构蛋白(S、M、E、N)中,N 蛋白高度保守,具有很高的免疫原性,并在感染过程中大量表达^[2]。因此,N 蛋白被认为是冠状病毒检测及抑制剂药物的靶点,对

infarction (AMI) of rats. **Methods** Forty rats were randomly divided into five groups: Sham group, Model group, DHI low-dose (0.5 ml/kg) group, mid-dose (1.0 ml/kg) group, high-dose (2.0 ml/kg) group. The mouse model of AMI was induced by ligation of the left anterior descending coronary artery. Rats were treated with different doses of DHI (0.5, 1.0, 2.0 ml/kg) for 7 days. Cardiac function of rats was indicated by left ventricular ejection fraction (LVEF) and fractional shortening (LVFS), serum levels of troponin T (TN-T) and brain natriuretic peptide (BNP), myocardial pathological damage, CD34 positive microvessel density (MVD), the expression of Von willebr and factor (vWF), alpha-smooth muscle actin (α -SMA) and vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) were measured by echocardiography, enzyme linked immunosorbent assay, HE staining, immunohistochemistry and Western blot, respectively. **Results** Compared with Sham group, LVEF, LVFS in Model group increased ($P < 0.01$), serum levels of TN-T and BNP decreased ($P < 0.01$), α -SMA ($P < 0.05$), CD34, vWF, VEGF-A ($P < 0.01$) were up-regulated. Compared with Model group, LVEF, LVFS and the expression of CD34, vWF in mid-dose and high-dose groups increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). TN-T, BNP in all dosage groups were reduced while the expression of α -SMA, VEGF-A were further upgraded ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Besides, the pathological damage in the marginal zone of infarcted myocardium was lessened. **Conclusion** DHI has an effect on therapeutic angiogenesis for AMI in rats.

Key words danhong injection; acute myocardial infarction; therapeutic angiogenesis