制乙酰辅酶A羧化酶(ACC)的活性,抑制脂肪合成[13]。因此,普洱茶改善NAFLD的部分机制可能是减少肝脏FAS表达,抑制ACC活性来抑制脂肪合成;增加肝HSL表达,促进肝内脂质分解。普洱茶改善NAFLD的具体机制还需要进一步研究。

参考文献:

[1] Duvnjak M, Lerotic I, Barsic N, *et al*. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(34): 4539-4550.

[2] Fan J G, Farrell G C. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China [J]. J Hepatol, 2009, 50(1): 204-210.

[3] Musso G, Gambino R, Cassader M, *et al*. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. Hepatology, 2010, 52(1): 79-104.

[4] 徐湘婷, 王鹏, 罗绍忠, 等. 普洱茶预防SD大鼠高脂血症及抗氧化、保护血管内皮的研究 [J]. 云南农业大学学报, 2011, 26(2): 260-264.

[5] Cao Z H, Gu D H, Lin Q Y, *et al*. Effect of pu-erh tea on body fat and lipid profiles in rats with diet-induced obesity [J]. Phytother Res, 2011, 25(2): 234-238.

[6] Oi Y, Hou I C, Fujita H, *et al*. Antiobesity effects of Chinese black tea (Pu-erh tea) extract and gallic acid [J]. Phytother Res, 2012, 26(4): 475-481.

[7] Hayakawa S, Kimura T, Saeki K, *et al*. Apoptosis-inducing activity of high molecular weight fractions of tea extracts [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2001, 65(2): 459-462.

[8] Xu Z J, Fan J G, Ding X D, *et al*. Characterization of high-fat, diet-induced, non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis in rats[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(4): 931-940.

[9] Musso G, Gambino R, Cassader M. Non-alcoholic fatty liver disease from pathogenesis to management: an update[J]. Obes Rev, 2010, 11(6): 430-445.

[10] Hou Y, Shao W, Xiao R, *et al*. Pu-erh tea aqueous extracts lower atherosclerotic risk factors in a rat hyperlipidemia model[J]. Exp Gerontol, 2009, 44(6/7): 434-439.

[11] Gong J, Peng C, Chen T, *et al*. Effects of theabrownin from pu-erh tea on the metabolism of serum lipids in rats: mechanism of action [J]. J Food Sci, 2010, 75(6): H182-H189.

[12] Reid B N, Ables G P, Otlivanchik O A, *et al*. Hepatic overexpression of hormone-sensitive lipase and adipose triglyceride lipase promotes fatty acid oxidation, stimulates direct release of free fatty acids, and ameliorates steatosis [J]. J Biol Chem, 2008, 283(19): 13087-13099.

[13] Way T D, Lin H Y, Kuo D H, *et al*. Pu-erh tea attenuates hyperlipogenesis and induces hepatoma cells growth arrest through activating AMP-activated protein kinase (AMPK) in human HepG2 cells [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(12): 5257-5264.

(**收稿**:2013-03-04;**修回**:2013-04-18)

(编辑 王 红)

文章编号:1000-5404(2013)18-1995-04

短篇论著

Ang Ⅱ对大鼠心肌梗死后TGF-β1表达的影响及对心室肌重构的作用

韩素霞,郭李平,常建梅,李 鹏,王 娟,吕忠英 (830000 乌鲁木齐,新疆医科大学第五附属医院心血管内科)

[**摘要**] **目的** 探讨血管紧张素Ⅱ(Angiotensin Ⅱ,Ang Ⅱ)对大鼠心肌梗死后心肌组织中转化生长因子-β1(transforming growth factor β1,TGF-β1)表达的影响及对梗死心肌的作用。**方法** 健康雄性SD大鼠60只(体质量180~220 g),通过结扎冠状动脉前降支建立大鼠心肌梗死模型。术后48 h将存活的36只大鼠分为4组:假手术组($n=10$)、心肌梗死组($n=9$)、小剂量AT_1受体(angiotensinⅡtype-1 receptor,AT_1R)拮抗剂氯沙坦钾干预组($n=8$)、大剂量氯沙坦钾干预组($n=9$)。4周后取大鼠心脏左心室组织,采用放射免疫法测定梗死心肌中Ang Ⅱ的含量,用免疫组化、Western blot法检测TGF-β1的表达。**结果** 心肌梗死组心室肌组织匀浆中Ang Ⅱ含量较假手术组显著增高($P<0.05$),氯沙坦钾组与心肌梗死组相比,Ang Ⅱ的水平显著降低($P<0.05$),并具有剂量依赖性。免疫组化和Western blot结果提示心肌梗死组心肌组织中TGF-β1较假手术组显著升高($P<0.05$),经氯沙坦钾干预后与心肌梗死组比较,TGF-β1表达水平呈剂量依赖性降低($P<0.05$)。**结论** Ang Ⅱ通过与AT_1R结合后可增加大鼠心肌梗死后心室肌组织中TGF-β1的蛋白表达,AT_1受体拮抗剂氯沙坦钾呈剂量依赖性抑制心肌梗死后Ang Ⅱ和TGF-β1的表达,进而改善梗死心肌的重构。

[**关键词**] 血管紧张素Ⅱ;心肌梗死;转化生长因子-β1;AT_1受体拮抗剂

[**中图法分类号**] R341;R542.22;R977.6 [**文献标志码**] A

[**通信作者**] 韩素霞,E-mail:hsx0016@163.com

[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130625.1251.011.html(2013-06-25)

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是临床常见的急危重疾病,发病率逐年升高,心肌梗死后心室肌细胞重构与心肌梗死患者死亡率密切相关[1-2]。研究心室肌细胞重构的机制,对寻求有效延缓或抑制心室肌细胞重构的方法及降低心肌梗死后死亡率具有重要意义。肾素-血管紧张素系统(Renin-angiotensin system, RAS)在维持机体稳态和正常生理功能方面发挥着重要作用。研究[3]证实RAS系统在心血管疾病中起重要作用,RAS系统通过其效应激素血管紧张素Ⅱ(*Angiotensin* Ⅱ, *Ang* Ⅱ)参与疾病的发生、发展。AngⅡ可调控血管平滑肌增生,加速心肌纤维化,促进心肌细胞肥大和心室重构。心肌梗死后心肌的纤维化程度与心功能的预后成反比,也与RAS系统的异常活动紧密相关。研究[4]表明,RAS激活、AngⅡ增高引起的心肌纤维化均与TGF-β1增加有关,TGF-β1的增加成了诸多因素导致心肌纤维化的共同通路。TGF-β1是一个对多种细胞具有刺激或抑制作用的多功能因子,对胚胎发育,器官形成,脂代谢,纤维化,细胞增殖、凋亡、迁移等起调节作用,是近年来心血管病领域研究的热点,在心肌梗死后心室重构过程中有重要作用[5-6]。本实验拟采用AT_1受体拮抗剂干预治疗,观察AngⅡ对心肌梗死后大鼠心肌TGF-β1表达的影响及对心室肌重构的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 健康雄性6周龄SD大鼠60只,体质量180~220 g,购自新疆医科大学实验动物科学研究部。

1.1.2 试剂及仪器 氯沙坦钾片(商品名:科素亚,杭州默沙东制药公司),小动物呼吸机(成都泰盟科技有限公司),AngⅡ放射免疫分析试剂盒(北京北方生物技术研究所),兔抗TGF-β1(英国Abcam公司),DAB显色液、鼠抗β-actin(北京中杉金桥生物技术有限公司)。酶标仪、蛋白电泳仪、凝胶图像分析仪(美国Bio-Rad公司),全自动显微镜(德国Leica公司)。

1.2 大鼠心肌梗死模型制备及分组

腹腔注射盐酸氯胺酮注射液75 mg/kg麻醉大鼠,沿胸骨左缘0.5~1 cm处剪开皮肤、暴露心脏,剪开心包,在左冠状动脉前降支(LAD)距其根部起始部3~5 mm处结扎(假手术组只在相同部位穿线不结扎),以心脏局部心肌颜色变苍白、节段性运动不良为判断冠状动脉结扎成功(即制模成功)的标志。术后48 h将存活的36只大鼠随机分为4组:①假手术组($n=10$);②心肌梗死组($n=9$);③小剂量氯沙坦钾干预组[MI+氯沙坦钾15 mg/(kg·d), $n=8$];④大剂量氯沙坦钾干预组[MI+氯沙坦钾30 mg/(kg·d), $n=9$]。小剂量、大剂量氯沙坦钾组按大鼠体质量以15、30 mg/(kg·d)灌胃,假手术组和心肌梗死组用等量生理盐水灌胃,1次/d,干预治疗4周后,将存活大鼠全部纳入研究。

1.3 HE染色

取冠脉前降支结扎部位以下左室心肌组织,于4%多聚甲醛中固定24 h后常规石蜡包埋、切片、HE染色,在光学显微镜下观察心肌病理改变。

1.4 放射免疫分析测定AngⅡ含量

用AngⅡ放射免疫分析测定盒测定各组心肌中AngⅡ含量,由四川大学基础医学院核医学科放免室操作。

1.5 Western blot检测TGF-β1蛋白表达

制备大鼠心肌组织蛋白提取液,将各组心肌组织提取的蛋白进行变性处理,经上样、电泳、转膜、孵育一抗、二抗,然后进行显影、成像、分析,用Quantity One凝胶图像处理系统测定各组目的蛋白与内参(β-actin)表达量的比值。

1.6 统计学分析

数据用$\bar{x} \pm s$表示,采用SPSS 17.0统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 心脏组织形态学变化

HE染色结果提示:假手术组心肌纤维排列整齐,细胞核规则,横纹清晰,心肌间无炎症细胞;心肌梗死组心肌纤维中断,大量心肌纤维及细胞核溶解消失,肌纤维呈空管状,心肌纤维肿胀、溶解断裂、坏死甚至融合成大片状,可见部分心肌细胞空泡变性,炎性细胞浸润等,部分梗死区被纤维结缔组织取代并有炎症细胞浸润,证实心肌梗死模型建立成功。

2.2 放射免疫法测定心肌组织中AngⅡ的含量

心肌梗死后心肌组织中AngⅡ含量(53.02±1.96)较假手术组(32.26±1.66)、氯沙坦钾组显著增高($P<0.05$),大剂量氯沙坦钾组(36.79±1.39)与小剂量氯沙坦钾组(43.79±1.62)相比显著降低($P<0.05$)。

2.3 免疫组化检测心肌组织中TGF-β1表达

与假手术组比较,心肌梗死组大鼠心肌组织细胞的TGF-β1表达增加,细胞质中可见较多棕黄色染色,染色呈强阳性。氯沙坦钾剂量依赖性干预后,TGF-β1在心肌组织细胞质的表达明显减弱。心肌梗死组(0.33±0.05)左室心肌组织中TGF-β1含量较假手术组(0.13±0.02)显著升高($P<0.05$),小剂量氯沙坦钾组(0.27±0.06)与心肌梗死组比较,TGF-β1含量呈剂量依赖性降低($P<0.05$)。

2.4 Western blot检测TGF-β1蛋白表达

心肌梗死组(0.73±0.02)心肌组织中TGF-β1的表达较假手术组(0.45±0.08)显著升高($P<0.05$),小剂量氯沙坦钾组(0.61±0.07)与心肌梗死组比较,TGF-β1的水平显著降低($P<0.05$),大剂量氯沙坦钾组(0.54±0.05)与小剂量氯沙坦钾组相比,TGF-β1的水平显著减低($P<0.05$)。

3 讨论

心肌梗死后心室肌组织重构包括心肌细胞肥大、心肌纤维化及神经激素、细胞因子表达的变化等[7]。AngⅡ是RAS系统的关键活性物质,是一种作用强大的缩血管多肽[8]。AngⅡ通过与血管紧张素Ⅰ型受体(AT_1)和Ⅱ型受体(AT_2)相结合起作用,与AT_1结合后表现为心血管收缩加强,血管平滑肌增生、参与血管内皮细胞增生、迁移、单核细胞激活及致炎作用,促进细胞凋亡,加速心肌纤维化,促进心肌肥大和重构[9]。心肌梗死后RAS系统过度激活,梗死区及非梗死区的AngⅡ和AngⅡ受体增加[10]。Xu等[11]研究发现AT1受体拮抗剂ARB类药物能抑制心室肌重构,并能减低心肌梗死后患者的死亡率。

本实验中,通过结扎大鼠冠状动脉前降支建立心肌梗死模型,左室心肌病理切片结果显示部分心肌细胞空泡变,大量心肌纤维及细胞核溶解消失,肌纤维呈空管状,心肌纤维肿胀、溶解断裂、坏死甚至融合成大片状,部分梗死区被纤维结缔组织取代并有炎症细胞浸润。放射免疫法结果提示心肌梗死组心肌AngⅡ水平增高,给予AT_1受体拮抗剂氯沙坦钾干预后心肌AngⅡ水平呈剂量依赖性减少。提示AngⅡ在引起心肌梗死后心肌重构发展的病理变化进程中起作用。

已有研究[12]证实,不同浓度AngⅡ可刺激血管平滑肌细胞而诱导TGF-β1的表达,且TGF-β1的表达与AngⅡ浓度呈正相关,TGF-β1水平随着AngⅡ作用时间延长而增加。TGF-β1具广泛的生理或病理学作用,活化的TGF-β1过度表达在致纤维化、促血管平滑肌细胞增殖和重构方面作用非常显著[6]。TGF-β1参与冠状动脉粥样硬化的形成、房颤、心室重构、心肌肥厚和心力衰竭等过程,调控炎症反应、细胞增殖及胶原纤维沉积,在心肌梗死后心室重构过程中起着重要作用[13]。

据Nian等[14]报道,心肌梗死后心室肌组织TGF-β1表达水平明显增高,而在正常大鼠心脏心室肌组织中表达较低。有研究[15]发现AngⅡ通过刺激AT_1受体可以直接诱导TGF-β1的产生,同时TGF-β1可使AT_1受体的表达增加,二者相互作用间接使AngⅡ的表达增加。本研究免疫组化和Western blot结果证实:随着心肌梗死组大鼠心室肌AngⅡ水平的增高,TGF-β1蛋白表达水平明显增高;AngⅡ受体(AT_1型)拮抗剂替米沙坦在抑制心室肌AngⅡ水平的同时,对心肌梗死后TGF-β1的产生也有抑制作用,并在一定范围内呈剂量依赖性。该研究结果提示大鼠心肌梗死后心室肌组织中AngⅡ水平增加并进一步刺激TGF-β1表达水平增加,AngⅡ受体拮抗剂-氯沙坦钾,可拮抗AngⅡ与AT_1受体亚型(AngⅡ作用位点)的高亲和性结合,减少大鼠心肌梗死后心室肌AngⅡ水平和TGF-β1的表达,从而有效抑制大鼠心肌梗死后心室肌组织的重构改变。

综上所述,大鼠心肌梗死后,心肌细胞空泡变,心肌纤维肿胀、溶解断裂、坏死甚至融合成大片状,部分梗死区被纤维结缔组织取代并有炎症细胞浸润等导致心室重构,心室肌组织中AngⅡ通过与AT_1受体结合后刺激TGF-β1生成,二者在梗死心室肌组织重构中起作用。因此,深入探索AngⅡ和TGF-β1的作用途径及信号传导通路,可进一步为心肌重构病变的靶向治疗提供新的思路。

参考文献:

[1] 王亚静, 吴新华. 心肌梗死后心力衰竭发生机制的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2012, 11(9): 726-727.

[2] Zhang Y, Wang H, Kovacs A, *et al*. Reduced expression of Cx43 attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction *via* impaired TGF-beta signaling[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(2): H477-H487.

[3] Higuchi T, Fukushima K, Xia J, *et al*. Radionuclide imaging of angiotensin II type 1 receptor upregulation after myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. J Nucl Med, 2010, 51(12): 1956-1961.

[4] Ammarguellat F, Larouche L, Schiffrin E L. Myocardial fibrosis in DOCA-salt hypertensive rats: effect of endothelin ET(A) receptor antagonism[J]. Circulation, 2001, 103(2): 319-324.

[5] Horiguchi M, Ota M, Rifkin D B. Matrix control of transforming growth factor-β function[J]. J Biochem, 2012, 152(4): 321-329.

[6] Zhao T, Satou Y, Sugata K, *et al*. HTLV-1 bZIP factor enhances TGF-β signaling through p300 coactivator[J]. Blood, 2011, 118(7): 1865-1876.

[7] Tiyyagura S R, Pinney S P. Left ventricular remodeling after myocardial Infarction: past, present, and future[J]. Mt Sinai J Med, 2006, 73(6): 840-851.

[8] Piastowska-Ciesielska A W, Drobnik J, Zarzynska J, *et al*. Influence of myocardial infarction on changes in the expression of angiotensin type 1 receptor in the rat prostate[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2011, 49(3): 497-503.

[9] Carey R M, Siragy H M. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation[J]. Endocr Rev, 2003, 24(3): 261-271.

[10] Pretorius L, Owen K L, Jennings G L, *et al*. Promoting physiological hypertrophy in the failing heart[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2008, 35(4): 438-441.

[11] Xu X, Wan W, Ji L, *et al*. Exercise training combined with angiotensin II receptor blockade limits post-infarct ventricular remodelling in

rats[J]. Cardiovasc Res, 2008, 78(3): 523-532.
[12] Frantz S, Hu K, Adamek A, *et al*. Transforming growth factor beta inhibition increases mortality and left ventricular dilatation after myocardial infarction[J]. Basic Res Cardiol, 2008, 103(5): 485-492.
[13] Blobe G C, Schiemann W P, Lodish H F. Role of transforming growth factor beta in human disease[J]. N Engl J Med, 2000, 342(18): 1350-1358.
[14] Nian M, Lee P, Khaper N, *et al*. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling[J]. Circ Res, 2004, 94(12): 1543-1553.
[15] Iekushi K, Taniyama Y, Kusunoki H, *et al*. Hepatocyte growth factor attenuates transforming growth factor-β-angiotensin II crosstalk through inhibition of the PTEN/Akt pathway[J]. Hypertension, 2011, 58(2): 190-196.

(收稿:2013-02-23;修回:2013-05-23)
(编辑 栾 嘉)

短篇论著

文章编号:1000-5404(2013)18-1998-03

吲哚菁绿血管造影在硬脊膜动静脉瘘手术中的应用价值

牛 胤,蒋周阳,缪洪平,冯 华,陈 志,朱 刚 (400038 重庆,第三军医大学西南医院神经外科,全军神经外科研究所)

[**摘要**] **目的** 探讨吲哚菁绿血管造影在硬脊膜动静脉瘘手术中的应用价值。**方法** 回顾性分析硬脊膜动静脉瘘手术中使用吲哚菁绿血管造影的3例硬脊膜动静脉瘘患者的临床资料。术前行脊髓血管造影明确诊断,通过显微手术直接探查以识别硬膜内的血管连接,然后静脉注射吲哚菁绿来验证。处理瘘口完毕后再次行吲哚菁绿造影。**结果** 3例患者术中的吲哚菁绿血管造影结果与术前脊髓血管造影、术中探查结果均吻合。经成功手术后2例患者症状明显改善,1例症状缓慢改善。**结论** 吲哚菁绿血管造影术实施简单,可实时准确提供脊髓硬脊膜动静脉瘘瘘口位置,明确供血动脉、引流静脉及瘘口情况。

[**关键词**] 硬脊膜动静脉瘘;吲哚菁绿;血管造影
[**中图法分类号**] R654.4;R814.43;R981.1 [**文献标志码**] A

吲哚菁绿血管造影术在传统的动脉瘤显微手术或脑血管搭桥手术中具有重要价值,并已得到广泛应用。Hanel等[1]于2010年首先报道了吲哚菁绿血管造影在脊髓硬脊膜动静脉瘘手术中的应用,至今国内外此类技术在硬脊膜动静脉瘘手术中运用尚处于起步阶段,需进一步明确其应用价值。现总结我科2012年硬脊膜动静脉瘘手术中使用吲哚菁绿血管造影的3例硬脊膜动静脉瘘患者的临床资料,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

3例患者均为男性,平均年龄46(40~51)岁,术前均行脊髓血管造影明确诊断为硬脊膜动静脉瘘。3例瘘口均位于脊髓胸段,行血管内栓塞治疗困难,遂选择显微手术。主要症状包括:进行性加重的双下肢麻木、乏力及大小便功能障碍。

[**基金项目**] "十二五"国家科技支撑计划(2011BA108B08)
[**通信作者**] 朱 刚,电话:(023)68765252
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130701.0925.001.html(2013-07-01)

1.2 影像学资料

3例患者均行脊髓MRI检查,提示脊髓背侧虫蚀样血管流空信号,脊髓受压水肿,1例患者可见脊髓空洞,MRI血管成像提示硬脊膜动静脉瘘,可见引流静脉迂曲扩张沿脊髓上下蜿蜒走行引流。3例患者行脊髓血管造影瘘口分别位于胸4、胸5、胸6(图1),均为单一瘘口,但供血动脉均走行迂曲纤细,因此行血管内栓塞治疗难度大,风险高。



↑:瘘口位于胸6

图1 硬脊膜动静脉瘘患者脊髓血管造影见胸7肋间动脉为硬脊膜动静脉瘘的供血动脉