◆实验研究◆

淫羊藿苷通过NO-cGMP-PKG减轻炎症并改善射血分数保留型心衰大鼠的心室重塑

陈丽珍[1]，杨雷[2]，许锦文[1]

1. 上海中医药大学，上海 201203；2. 浦江县中医院内二科，浙江 浦江 322200

［摘要］**目的：**观察淫羊藿苷（ICA）通过一氧化氮（NO）-环磷酸鸟苷（cGMP）-蛋白激酶G（PKG）通路对射血分数保留型心衰（HFPEF）大鼠心室重塑的影响。**方法：**建立醋酸脱氧皮质酮（DOCA）敏感型HFPEF大鼠模型，造模成功后，随机分成Model组、ICA低、中、高剂量组、抑制剂组，随机选取12只大鼠作为control组，各组灌胃相应药物，每天1次，连续6周。超声心动图检测大鼠心功能；心导管法测定血流动力学参数；HE染色观察大鼠心肌组织病理损伤；试剂盒检测NO、cGMP、活性氧（ROS）、白细胞介素（IL）-6、IL-1β、肿瘤坏死因子（TNF）-α水平；免疫荧光染色观察血小板-内皮细胞黏附分子-1（CD31）表达；Western blot检测PKG、内皮型一氧化氮合成酶（eNOS）、诱导性一氧化氮合酶（iNOS）、可溶性鸟苷酸环化酶α（sGCα）蛋白表达。**结果：**与control组比较，Model组大鼠左室射血分数（LVEF）、左心室缩短分数（LVFS）、二尖瓣舒张早期/舒张晚期血流速度最大峰值（E/A）、左心室收缩压（LVSP）、左室压力最大上升速率（+dp/dt max）、左室压力最大下降速率（-dp/dt max）、NO、cGMP水平、CD31及PKG、eNOS、sGCα蛋白表达水平降低（$P<0.05$），左心室前壁厚度（LVAM）、左心室后壁厚度（LVPW）、左心室舒张末期内径（LVEDD）、左心室收缩末期内径（LVESD）、左心室舒张末期压力（LVEDP）、ROS、IL-6、IL-1β、TNF-α水平、iNOS蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。与Model组比较，ICA低、中、高剂量组大鼠LVEF、LVFS、E/A、LVSP、+dp/dt max、-dp/dt max、NO、cGMP水平、CD31及PKG、eNOS、sGCα蛋白表达水平升高（$P<0.05$），LVAM、LVPW、LVEDD、LVESD、LVEDP、ROS、IL-6、IL-1β、TNF-α水平、iNOS蛋白表达水平降低（$P<0.05$），其中ICA高剂量组变化更显著（$P<0.05$）。与ICA高剂量组比较，抑制剂组大鼠LVEF、LVFS、E/A、LVSP、+dp/dt max、-dp/dt max、NO、cGMP水平、CD31及PKG、eNOS、sGCα蛋白表达水平降低（$P<0.05$），LVAM、LVPW、LVEDD、LVESD、LVEDP、ROS、IL-6、IL-1β、TNF-α水平、iNOS蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。**结论：**ICA可能通过激活NO-cGMP-PKG通路，减轻炎症反应、改善心室重塑。

［关键词］射血分数保留型心衰；大鼠；淫羊藿苷；NO-cGMP-PKG；炎症；心室重塑

［中图分类号］R541.6+1 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2024）03-0209-08

DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2024.03.040

Icariin Alleviating Inflammation and Improving Ventricular Remodeling in Rats with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction Through NO-cGMP-PKG

CHEN Lizhen[1], *YANG Lei*[2], *XU Jinwen*[1]

1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. The Second Department of Internal

［收稿日期］2023-08-09
［修回日期］2023-11-20
［作者简介］陈丽珍（1987-），女，主治医师，E-mail：chen_c123@126.com。
［通信作者］许锦文（1959-），男，研究员，E-mail：jwxu1001@163.com。

Medicine，Pujiang County Hospital of Chinese Medicine，Pujiang Zhejiang 322200，China

Abstract：Objective： To observe the effects of Icariin (ICA) on ventricular remodeling in rats with heart failure with preserved ejection fraction (HFPEF) through nitric oxide (NO) – cyclic guanosine monophosphate (cGMP) – protein kinase G (PKG) pathway. **Methods：** Deoxycorticosterone acetate (DOCA)– sensitive HFPEF rat models of were established，and were randomly divided into the model group，the low–dose，medium–dose and high–dose of ICA groups，and the inhibitor group；a total of 12 rats were randomly selected as the control group. Each group was given the gastric irrigation with corresponding medicines once a day for 6 weeks. The heart function of rats was detected by echocardiography；hemodynamic parameters were measured by cardiac catheterization procedure；the pathological injury of myocardium was observed by HE staining；the levels of NO，cGMP，reactive oxygen species (ROS)，interleukin (IL)–6，IL–1β，and tumor necrosis factor (TNF)–α were detected by reagent kit；the expressions of platelet–endothelial cell adhesion molecule– 1 (CD31) were observed by immunofluorescence staining；the expressions of PKG，endothelial nitric oxide synthase (eNOS)，inducable nitric oxide synthase (iNOS)，and soluble guanylate cyclase α (sGCα) were detected by Western blot. **Results：** When compared with those in the control group，the levels of LVEF，LVFS，E/A，LVSP，+dp/dt max，–dp/dt max，NO，and cGMP，CD31，and the protein expression levels of PKG，eNOS and sGCα in the model group were decreased ($P<0.05$)；the levels of LVAM，LVPW，LVEDD，LVESD，LVEDP，ROS，IL–6，IL–1β，and TNF–α，and iNOS protein expression levels in the model group were increased ($P<0.05$). When compared with those in the model group，the levels of LVEF，LVFS，E/A，LVSP，+dp/dt max，–dp/dt max，NO，and cGMP，CD31，and the protein expression levels of PKG，eNOS and sGCα in the low–dose，medium–dose and high–dose of ICA groups were increased ($P<0.05$)；the levels of LVAM，LVPW，LVEDD，LVESD，LVEDP，ROS，IL–6，IL–1β，and TNF–α，and iNOS protein expression level in the low–dose，medium–dose and high–dose of ICA groups were decreased ($P<0.05$)；the changes were more significant in the high–dose of ICA group ($P<0.05$). When compared with those in the high–dose of ICA group，the levels of LVEF，LVFS，E/A，LVSP，+dp/dt max，–dp/dt max，NO，and cGMP，CD31，and the protein expression levels of PKG，eNOS and sGCα in the inhibitor group were decreased ($P<0.05$)；the expression level levels of LVAM，LVPW，LVEDD，LVESD，LVEDP，ROS，IL–6，IL–1β，and TNF–α，and iNOS protein in the inhibitor group were increased ($P<0.05$). **Conclusion：** ICA can reduce inflammation and improve ventricular remodeling by activating NO–cGMP–PKG pathway.

Keywords： Heart failure with preserved ejection fraction；Rats；Icariin；NO–cGMP–PKG；Inflammation；Ventricular remodeling

射血分数保留型心衰(HFPEF)已成为心力衰竭的主要形式，随着人口的老龄化以及肥胖、糖尿病和高血压患病率的增加，其患病率正在迅速增长[1]。心室重塑和舒张功能障碍是HFPEF的标志，其特征是左心室肥大，硬度升高和充盈压增加，微血管内皮炎症也是影响HFPEF发生发展的关键机制。HFPEF患者的心功能和生活质量严重受损，而且目前缺乏可以有效降低其发病率或死亡率的治疗方法[2]。淫羊藿苷(ICA)是中药淫羊藿的主要活性成分，具有抗炎、抗氧化、心脏保护等多种药理作用[3]。ICA通过抑制氧化应激诱导的炎症、细胞凋亡，显著改善异丙肾上腺素诱导Wistar大鼠的心力衰竭[4]。ICA通过Apelin/Sirt3途径预防线粒体功能障碍，从而减弱糖尿病心肌病的发展[5]。ICA通过调

节 CD147/MMP-9 通路影响心肌梗死后的心脏重塑[6]。研究表明，一氧化氮(NO)-环磷酸鸟苷(cGMP)-蛋白激酶 G(PKG)是心脏功能的重要调节通路，HFPEF 患者的心肌匀浆中 cGMP 含量和 PKG 生物活性显著降低，HFPEF 大鼠中检测到 NO-cGMP-PKG 途径的缺乏，抑制该信号通路可参与 HFPEF 的进展[7-8]。NO-cGMP-PKG 通路下调可能归因于冠状动脉微血管内皮炎症激活和亚硝化/氧化应激引起的心肌 NO 生物利用度降低[9]。但 ICA 通过调节 NO-cGMP-PKG 信号通路对 HFPEF 大鼠炎症和心室重塑的影响尚不清楚。因此，本研究探讨 ICA 对 HFPEF 大鼠炎症和心室重塑的影响及其作用的分子机制，以期为临床治疗 HFPEF 提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠购自上海斯莱克实验动物有限公司，生产许可编号：SCXK(沪)2020-0004，8～10 周龄，体质量 200～210 g，适应性喂养 1 周，饲养温度 22 ℃，湿度 55%～60%，12 h 光暗循环。不禁水食。本研究经动物伦理委员会批准(PZSHTCM210618001)。

1.2 主要试剂与仪器 淫羊藿苷(J36861)，上海金穗生物科技有限公司；醋酸脱氧皮质酮(DOCA，货号：30856)，上海贝万塔生物科技有限公司；亚硝基左旋精氨酸甲酯(L-NAME，货号：BLL-Bytd0133)，上海佰利莱生物科技有限公司；HE 染色试剂盒(货号：G1120-100)、活性氧(ROS)试剂盒(货号：CA1410)，北京 Solarbio 公司；蛋白提取试剂盒(货号：KALANG)，上海康朗生物科技有限公司；IL-6、IL-1β(E-EL-R0896c、E-EL-R0012c)、TNF-α(货号：E-EL-R2856c)、cGMP(E-EL-0083c)ELISA 试剂盒，武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；NO 测定试剂盒(A013-2-1)，南京建成；兔源一抗 PKG(ab90502)、eNOS(ab300071)、iNOS(ab178945)、sGCα(ab154841)、GAPDH(ab9485)抗体以及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(ab6721)，美国 Abcam 公司；多功能全自动酶标仪(HBS-ScanX)，南京德铁实验设备有限公司；光学显微镜(CX31)，日本奥林巴斯公司；小动物超声系统(Vevo 3100LT)，加拿大 FUJIFILM 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物建模、分组和给药 麻醉并固定大鼠后，手术缝合线结扎整个肾动静脉及输尿管，剪去肾脏，给 1%盐水饮用、同时皮下注射 DOCA(25 mg/kg，4 d/次)，自由饮食。4 周后检测大鼠心功能，射血分数(EF)大于 50%且左室舒张期充盈速度比值(E/A)降低，则表明 HFPEF 大鼠模型构建成功[10]。将造模成功的大鼠随机分为 Model 组、ICA 低、中、高剂量组、抑制剂组，随机选取 12 只未行手术的大鼠作为 control 组，ICA 低、中、高剂量组大鼠灌胃 1、5、10 mg/kg 的 ICA[4]，抑制剂组大鼠灌胃 10 mg/kg 的 ICA 和 0.5g/kg 的一氧化氮合酶(NOS)抑制剂-亚硝基左旋精氨酸甲酯(L-NAME)[11]，control 组和 Model 组灌胃等量的生理盐水，每天 1 次，连续 6 周。

1.3.2 大鼠心功能的检测 给药结束后，麻醉大鼠，用小动物超声系统检测大鼠左室射血分数(LVEF)、左室缩短分数(LVFS)、左心室前/后壁厚度(LVAM/LVPW)、左心室舒张末期内径/收缩末期内径(LVEDD/LVESD)、二尖瓣舒张早期/舒张晚期血流速度最大峰值(E/A)。

1.3.3 血流动力学检测 腹腔注射 1%戊巴比妥钠麻醉大鼠，暴露左颈总动脉并插入导管至左心室腔，记录左心室收缩压(LVSP)、左心室舒张末期压力(LVEDP)及左室压力最大上升或下降速率(+dp/dt max、-dp/dt max)。

1.3.4 HE 染色 每组处死 6 只大鼠，收集心脏，部分心肌组织在多聚甲醛(4%)固定过夜后，蔗糖梯度脱水，石蜡包埋后切片(3 μm)。切片经二甲苯、乙醇脱蜡和水化，随后进行 HE 染色，最后在显微镜下观察染色结果。

1.3.5 NO、ROS、cGMP、IL-6、IL-1β、TNF-α 水平检测 将大鼠心肌组织制成匀浆后，离心后取上清，根据试剂盒检测大鼠心肌组织中 NO、ROS、cGMP、IL-6、IL-1β、TNF-α 含量。

1.3.6 免疫荧光染色 大鼠心肌组织经脱水、包埋切片、脱蜡、山羊血清封闭、PBS 漂洗后加入 CD31 一抗抗体，4 ℃避光孵育过夜，加入生物素标记山羊抗兔 IgG(H+L)二抗室温下避光孵育 1 h，经 PBS 洗涤、DAPI 避光复染 5 min、封片，荧光显微镜观察并拍摄照片。Image J 软件计算 CD31 平均荧光强度。

1.3.7 PKG、eNOS、iNOS、sGCα 蛋白表达检测 提取大鼠心肌组织蛋白，定量后进行电泳，转膜后室温封闭 2 h，再分别加入 PKG(1∶1 000)、

eNOS(1∶2 000)、iNOS(1∶2 000)、sGCα(1∶1 000)、GAPDH(1∶1 000)一抗4 ℃孵育过夜，加入二抗(1∶2 000)室温孵育90 min。Image J软件分析计算蛋白相对表达水平。

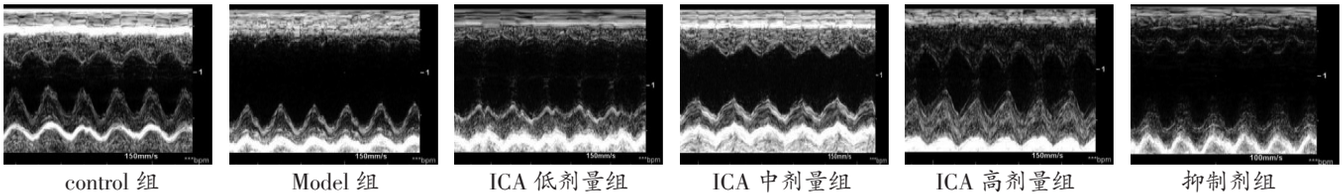
1.4　统计学方法　实验数据用Graphpad Prism 9.0软件进行分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示。多组间的比较用单因素方差分析，SNK-q检验用于组间的比较。组内比较采用配对样本t检验。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　各组大鼠心功能比较　见图1、表1。与control组比较，Model组大鼠LVEF、LVFS、E/A降低，LVAM、LVPW、LVEDD、LVESD升高($P<0.05$)；与Model组比较，ICA低、中、高剂量组大鼠LVEF、LVFS、E/A升高，LVAM、LVPW、LVEDD、LVESD降低，其中ICA高剂量组变化更显著($P<0.05$)；与ICA高剂量组比较，抑制剂组大鼠LVEF、LVFS、E/A降低，LVAM、LVPW、LVEDD、LVESD升高($P<0.05$)。

2.2　各组大鼠血流动力学指标比较　见表2。与control组比较，Model组大鼠LVSP、+dp/dt max、−dp/dt max降低，LVEDP升高($P<0.05$)；与Model组比较，ICA低、中、高剂量组大鼠LVSP、+dp/dt max、−dp/dt max升高，LVEDP降低，其中ICA高剂量组变化更显著($P<0.05$)；与ICA高剂量组比较，抑制剂组大鼠LVSP、+dp/dt max、−dp/dt max降低，LVEDP升高($P<0.05$)。

2.3　各组大鼠心肌组织HE染色图　见图2。control组大鼠心肌组织结构正常，细胞排列紧密有序、细胞核清晰；Model组大鼠心肌组织结构受损严重，细



control组　Model组　ICA低剂量组　ICA中剂量组　ICA高剂量组　抑制剂组

图1　各组大鼠超声心电图结果

表1　各组大鼠心功能比较($\bar{x}\pm s$)

组　别	鼠数	LVEF(%)	LVFS(%)	LVAM(mm)	LVPW(mm)	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	E/A
control组	6	80.34±5.17	36.84±2.87	3.05±0.13	3.12±0.21	5.08±0.65	3.12±0.21	1.68±0.12
Model组	6	54.68±3.21①	17.14±1.05①	3.94±0.16①	4.17±0.23①	8.89±0.73①	7.83±0.56①	1.03±0.09①
ICA低剂量组	6	60.24±4.13②	21.13±1.37②	3.65±0.14②	3.85±0.19②	7.82±0.64②	6.54±0.43②	1.26±0.11②
ICA中剂量组	6	67.89±4.62②③	26.87±1.25②③	3.34±0.13②③	3.74±0.20②③	6.74±0.57②③	5.32±0.37②③	1.54±0.13②③
ICA高剂量组	6	74.38±4.87②③④	33.48±1.57②③④	3.10±0.11②③④	3.21±0.18②③④	5.62±0.41②③④	4.10±0.28②③④	1.67±0.10②③④
抑制剂组	6	59.25±3.53⑤	20.14±1.16⑤	3.82±0.15⑤	3.82±0.19⑤	7.73±0.65⑤	6.47±0.46⑤	1.14±0.09⑤

注：①与control组比较，$P<0.05$；②与Model组比较，$P<0.05$；③与ICA低剂量组比较，$P<0.05$；④与ICA中剂量组比较，$P<0.05$；⑤与ICA高剂量组比较，$P<0.05$

表2　各组大鼠血流动力学指标比较($\bar{x}\pm s$)

组　别	鼠数	LVSP(mm Hg)	LVEDP(mm Hg)	+dp/dt max(mm Hg/s)	−dp/dt max(mm Hg/s)
control组	6	133.89±10.74	6.73±1.08	4 325.61±187.96	4 251.27±196.38
Model组	6	81.52±6.19①	19.24±1.96①	2 715.48±154.62①	2 541.39±175.42①
ICA低剂量组	6	90.38±7.42②	15.87±1.43②	3 128.93±162.48②	2 997.86±182.15②
ICA中剂量组	6	102.63±7.85②③	11.49±1.25②③	3 652.17±175.63②③	3 526.94±186.73②③
ICA高剂量组	6	117.49±8.92②③④	7.38±1.04②③④	4 219.87±183.52②③④	4 138.72±194.29②③④
抑制剂组	6	93.68±8.15⑤	16.28±1.72⑤	3 259.84±170.32⑤	3 107.58±179.46⑤

注：①与control组比较，$P<0.05$；②与Model组比较，$P<0.05$；③与ICA低剂量组比较，$P<0.05$；④与ICA中剂量组比较，$P<0.05$；⑤与ICA高剂量组比较，$P<0.05$　1 mm Hg≈0.133 kPa

胞排列松散混乱、充血明显、有炎性细胞浸润现象；ICA低、中、高剂量组与Model组比较，大鼠心肌组织结构受损减轻，细胞排列较有序、充血及炎性细胞浸润相对减轻，ICA高剂量大鼠心肌组织病理改变最为明显；抑制剂组与ICA高剂量组比较，大鼠心肌组织结构受损加重、细胞排列相对松散、充血及炎性细胞浸润加重。

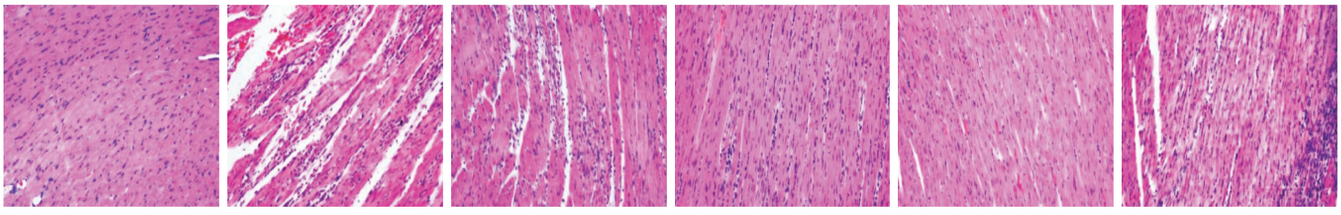


图2　各组大鼠心肌组织HE染色图（×200）

2.4　各组大鼠心肌组织中NO、cGMP、ROS水平比较　见表3。与control组比较，Model组大鼠心肌组织中NO、cGMP水平降低，ROS水平升高（$P<0.05$）；与Model组比较，ICA低、中、高剂量组大鼠心肌组织中NO、cGMP水平升高，ROS水平降低，其中ICA高剂量组变化更显著（$P<0.05$）；与ICA高剂量组比较，抑制剂组大鼠心肌组织中NO、cGMP水平降低，ROS水平升高（$P<0.05$）。

表3　各组大鼠心肌组织中NO、cGMP、ROS水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组　别	鼠数	NO（μmol/mL）	cGMP（pmol/mL）	ROS（ng/mL）
control组	6	39.68±2.05	45.68±3.27	45.13±2.57
Model组	6	12.37±1.13①	19.46±1.48①	87.45±5.39①
ICA低剂量组	6	17.46±1.24②	25.73±1.63②	76.61±4.65②
ICA中剂量组	6	23.39±1.53②③	31.52±2.41②③	63.27±3.79②③
ICA高剂量组	6	32.51±1.85②③④	38.29±3.16②③④	49.85±3.24②③④
抑制剂组	6	18.37±1.46⑤	27.15±1.74⑤	75.89±4.68⑤

注：①与control组比较，$P<0.05$；②与Model组比较，$P<0.05$；③与ICA低剂量组比较，$P<0.05$；④与ICA中剂量组比较，$P<0.05$；⑤与ICA高剂量组比较，$P<0.05$

2.5　各组大鼠心肌组织中IL-6、IL-1β、TNF-α水平比较　见表4。与control组比较，Model组大鼠心肌组织中IL-6、IL-1β、TNF-α水平升高（$P<0.05$）；与Model组比较，ICA低、中、高剂量组大鼠心肌组织中IL-6、IL-1β、TNF-α水平降低，其中ICA高剂量组变化更显著（$P<0.05$）；与ICA高剂量组比较，抑制剂组大鼠心肌组织中IL-6、IL-1β、TNF-α水平升高（$P<0.05$）。

2.6　各组大鼠CD31表达比较　见图3、表5。与control组比较，Model组大鼠心肌组织中CD31表达水平降低（$P<0.05$）；与Model组比较，ICA低、中、高剂量组大鼠心肌组织中CD31表达水平升高，其中ICA高剂量组变化更显著（$P<0.05$）；与ICA高剂量组比较，抑制剂组大鼠心肌组织中CD31表达水平降低（$P<0.05$）。

2.7　各组大鼠心肌组织中PKG、eNOS、iNOS、sGCα蛋白表达比较　见图4、表6。与control组比较，Model组大鼠心肌组织中PKG、eNOS、sGCα蛋白表达水平降低，iNOS蛋白表达水平升高（$P<0.05$）；与Model组比较，ICA低、中、高剂量组大鼠心肌组织中PKG、eNOS、sGCα蛋白表达水平升高，iNOS蛋白表达水平降低，其中ICA高剂量组变化更显著（$P<0.05$）；与ICA高剂量组比较，抑制剂组大鼠心肌组织中PKG、eNOS、sGCα蛋白表达水平降低，iNOS蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。

表4　各组大鼠心肌组织中IL-6、IL-1β、TNF-α水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组　别	鼠数	IL-6（pg/mL）	IL-1β（pg/mL）	TNF-α（pg/mL）
control组	6	70.58±8.41	101.52±12.14	51.29±6.38
Model组	6	348.92±17.86①	486.73±22.38①	292.82±16.21①
ICA低剂量组	6	281.78±15.39②	389.65±21.46②	230.74±13.48②
ICA中剂量组	6	212.29±13.76②③	302.47±19.83②③	154.81±14.07②③
ICA高剂量组	6	113.62±11.94②③④	160.49±17.98②③④	72.54±9.26②③④
抑制剂组	6	293.15±16.24⑤	375.48±20.95⑤	218.42±12.73⑤

注：①与control组比较，$P<0.05$；②与Model组比较，$P<0.05$；③与ICA低剂量组比较，$P<0.05$；④与ICA中剂量组比较，$P<0.05$；⑤与ICA高剂量组比较，$P<0.05$

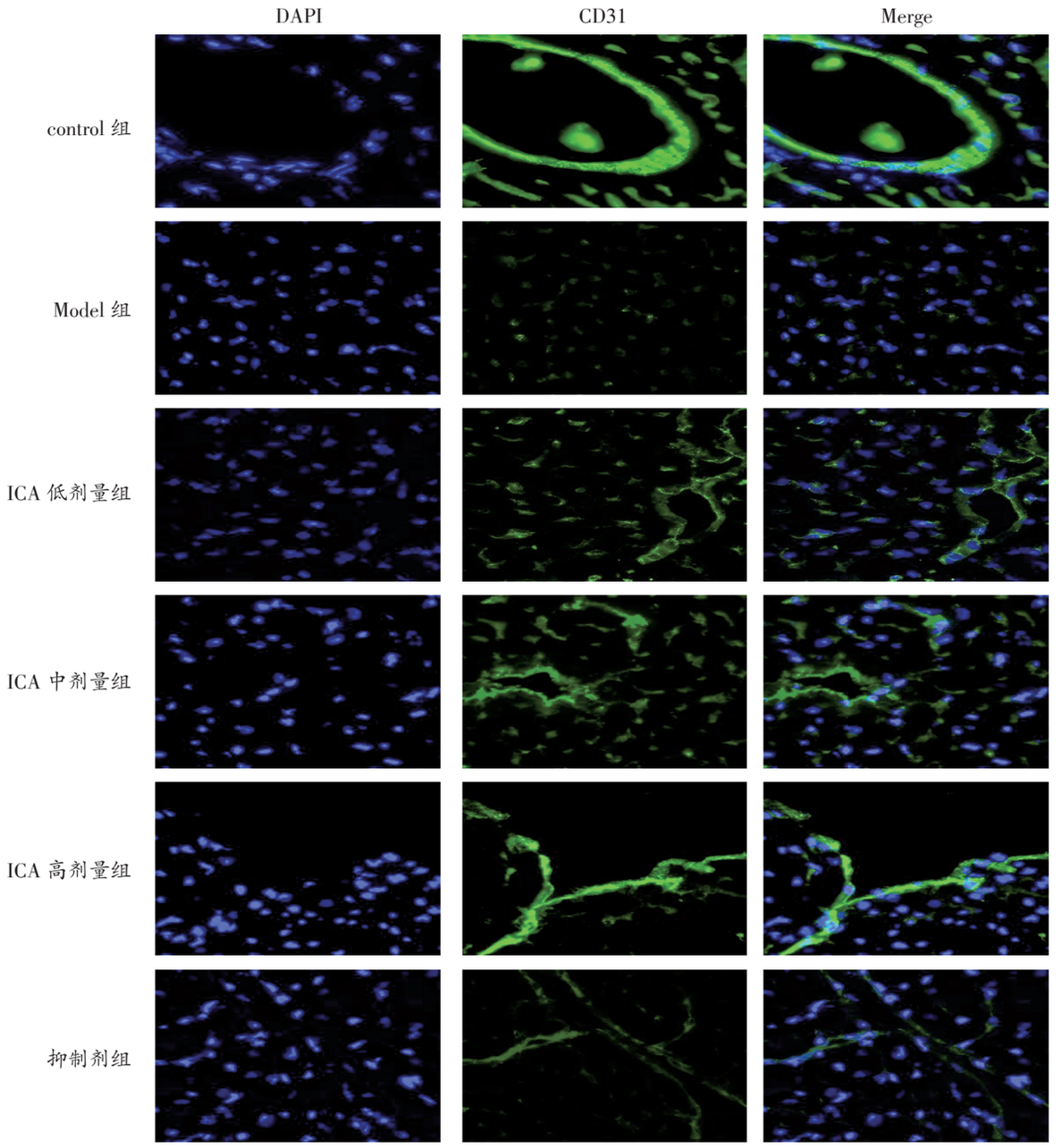
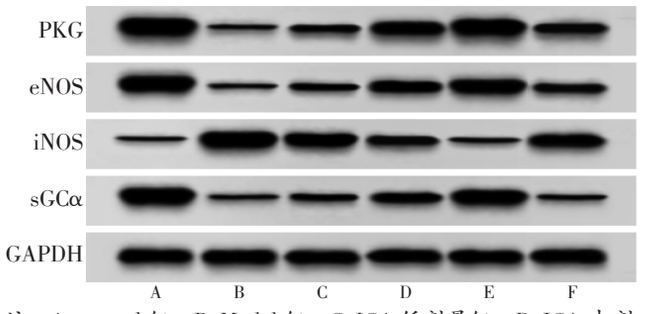


图 3　各组大鼠免疫荧光检测 CD31 的表达

表 5　各组大鼠 CD31 表达比较($\bar{x}\pm s$)

组　别	鼠数	CD31(平均荧光强度)
control 组	6	21.48±1.67
Model 组	6	3.25±0.68①
ICA 低剂量组	6	7.83±0.92②
ICA 中剂量组	6	12.96±1.28②
ICA 高剂量组	6	19.21±1.57②③④
抑制剂组	6	5.23±0.64⑤

注：①与 control 组比较，$P<0.05$；②与 Model 组比较，$P<0.05$；③与 ICA 低剂量组比较，$P<0.05$；④与 ICA 中剂量组比较，$P<0.05$；⑤与 ICA 高剂量组比较，$P<0.05$



注：A. control 组；B. Model 组；C. ICA 低剂量组；D. ICA 中剂量组；E. ICA 高剂量组；F. 抑制剂组

图 4　Western blot 检测 PKG、eNOS、iNOS、sGCα 蛋白表达

表6 各组大鼠心肌组织中PKG、eNOS、iNOS、sGCα蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组 别	鼠数	PKG	eNOS	iNOS	sGCα
control组	6	1.83±0.19	1.49±0.11	0.24±0.03	1.67±0.18
Model组	6	0.35±0.04①	0.32±0.05①	1.78±0.14①	0.29±0.03①
ICA低剂量组	6	0.68±0.07②	0.67±0.08②	1.30±0.11②	0.60±0.07②
ICA中剂量组	6	1.21±0.13②③	1.08±0.10②③	0.84±0.09②③	0.94±0.08②③
ICA高剂量组	6	1.65±0.15②③④	1.35±0.12②③④	0.35±0.04②③④	1.42±0.13②③④
抑制剂组	6	0.72±0.09⑤	0.70±0.08⑤	1.16±0.10⑤	0.37±0.04⑤

注：①与control组比较，$P<0.05$；②与Model组比较，$P<0.05$；③与ICA低剂量组比较，$P<0.05$；④与ICA中剂量组比较，$P<0.05$；⑤与ICA高剂量组比较，$P<0.05$

3 讨论

HFPEF的特征是严重的左心室收缩和舒张僵硬、左心室充盈压升高、动脉顺应性降低、左心房高压、肺静脉瘀血和微血管功能障碍等[12]。内皮炎症、心室重塑与HFPEF的发展密切相关，但潜在机制尚不清楚。

心室重塑是影响HFPEF患者心脏功能和预后的重要病理生理机制。本研究采用皮下注射DOCA建立HFPEF大鼠模型并对其研究发现，Model组大鼠LVAM、LVPW、LVEDD、LVESD、LVEDP升高，LVEF、LVFS、E/A、LVSP、+dp/dt max、−dp/dt max降低，Model组大鼠出现左心室肥厚、心室增大、心室舒张功能障碍，提示，HFPEF大鼠模型构建成功。近年来，安全有效的中药成分逐渐进入人们的视野，是治疗HFPEF的一个方向。ICA具有良好的心脏保护作用。ICA通过激活sirtuin-1/FOXO1信号来保护心肌细胞免受缺血/再灌注诱导的氧化应激损伤[13]。研究发现，不同浓度的ICA以剂量依赖性方式抑制大鼠的心脏重塑[6]。Song YH等[14]研究发现，ICA通过调节Bcl-2/Bax轴和基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9的活性并减少心肌凋亡，显著改善异丙肾上腺素诱导的充血性心力衰竭大鼠心功能障碍和心肌重塑。鹿角方能改善慢性心力衰竭患者的心脏功能，而ICA是鹿角方的主要活性成分[15]。本研究发现，ICA能降低LVAM、LVPW、LVEDD、LVESD、LVEDP，升高LVEF、LVFS、E/A、LVSP、+dp/dt max、−dp/dt max，ICA可显著改善HFPEF大鼠的心脏功能及心室重塑。

微血管内皮炎症可能是HFPEF的关键分子机制。促炎细胞因子(IL-6、IL-1β、TNF-α)已被证明可以刺激微血管内皮细胞中ROS的产生。ROS的过量产生导致NO生物利用度降低，从而降低邻近心肌细胞中cGMP以及PKG的浓度[16]。NO可由eNOS催化L-精氨酸生成，通过血管外扩散到血管平滑肌细胞中，可与其受体结合，促进sGC-cGMP-PKG通路的活性，引起血管平滑肌松弛和血管舒张。抑制NO-cGMP-PKG通路可能会增加舒张期的被动张力、心肌肥大和僵硬，导致舒张功能障碍，因此，NO-cGMP-PKG通路介导微血管内皮炎症在HFPEF的治疗中具有重要价值[17]。研究表明，达格列净(钠-葡萄糖共转运蛋白2抑制剂)可以通过抑制主动脉交感神经张力和调节NO-cGMP-PKG通路来降低炎症反应，并逆转HFPEF期间的左心室重塑[18]。在心肌中，激活的NO-cGMP-PKG通路通常具有抗肥大、抗纤维化和血管生成作用，从而抑制心脏重塑。iNOS是内皮功能障碍和血管炎症的关键调节因子，CD31是血管内皮细胞分化的标志物，HFPEF小鼠心肌组织中iNOS上调表达，CD31下调表达[19]。本研究发现，在HFPEF大鼠心肌组织中，IL-6、IL-1β、TNF-α、iNOS炎性因子与氧化应激产物ROS水平显著升高，NO、cGMP水平、CD31及PKG、eNOS、sGCα蛋白表达水平显著降低，ICA可降低IL-6、IL-1β、TNF-α、iNOS炎症因子水平，升高NO、cGMP水平、CD31、PKG、eNOS、sGCα表达，改善微血管内皮炎症。L-NAME作为NOS的抑制剂，会引起内皮功能障碍及炎症反应[20]。在本研究中，L-NAME抑制NO-cGMP-PKG通路激活的同时，显著逆转ICA对炎症反应的抑制作用，减轻对心脏功能及心室重塑的改善作用。提示，ICA可能通过激活NO-cGMP-PKG通路，减轻炎症反应、改善心室重塑。

综上所述，ICA可能通过激活NO-cGMP-PKG通路，减轻炎症反应、改善心室重塑。本研究为治疗HFPEF提供了理论和药物参考。然而本研究尚存在不足之处，仅验证NO-cGMP-PKG信号通路，未对其他靶点、途径进行验证，后续研究将会进一步明确ICA在HFPEF中的作用机理。

[参考文献]

[1] BORLAUG B A. Evaluation and management of heart failure with preserved ejection fraction[J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(9):

559-573.

[2] OMOTE K, VERBRUGGE F H, BORLAUG B A. Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Mechanisms and Treatment Strategies[J]. Annu Rev Med, 2022, 73(1): 321-337.

[3] 王义翠，彭慧霞，夏子岚，等. 淫羊藿苷药理作用及应用研究进展[J]. 中华中医药学刊，2023，41(6)：182-186.

[4] SHARMA S, IQUBAL A, KHAN V, et al. Icariin ameliorates oxidative stress-induced inflammation, apoptosis, and heart failure in isoproterenol-challenged Wistar rats[J]. Iran J Basic Med Sci, 2023, 26(5): 517-525.

[5] NI T, LIN N, HUANG X, et al. Icariin Ameliorates Diabetic Cardiomyopathy Through Apelin/Sirt3 Signalling to Improve Mitochondrial Dysfunction[J]. Front Pharmacol, 2020, 11(1): 256-265.

[6] SHI Y, YAN W, LIN Q, et al. Icariin influences cardiac remodeling following myocardial infarction by regulating the CD147/MMP-9 pathway[J]. J Int Med Res, 2018, 46(6): 2371-2385.

[7] QIN L, ZANG M, XU Y, et al. Chlorogenic Acid Alleviates Hyperglycemia-Induced Cardiac Fibrosis through Activation of the NO/cGMP/PKG Pathway in Cardiac Fibroblasts[J]. Mol Nutr Food Res, 2021, 65(2): 1-28.

[8] FRANSSEN C, CHEN S, UNGER A, et al. Myocardial Microvascular Inflammatory Endothelial Activation in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction[J]. JACC Heart Fail, 2016, 4(4): 312-324.

[9] SCHIATTARELLA G G, ALTAMIRANO F, TONG D, et al. Nitrosative stress drives heart failure with preserved ejection fraction[J]. Nature, 2019, 568(7752): 351-356.

[10] 郝佳梦，常丽萍，王璐，等. 基于网络药理学及实验验证探究芪苈强心胶囊治疗射血分数保留型心衰的作用机制[J]. 中草药，2022，53(14)：4365-4375.

[11] 王丽，王莹，黄一聆，等. 烟酸对高胆固醇血症大鼠NO/cGMP/cGK通路及血管内皮功能障碍的影响[J]. 中国老年学杂志，2022，42(24)：6048-6052.

[12] PAGEL P S, TAWIL J N, BOETTCHER B T, et al. Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Comprehensive Review and Update of Diagnosis, Pathophysiology, Treatment, and Perioperative Implications[J]. J Cardiothorac Vasc Anest, 2021, 35(6): 1839-1859.

[13] WU B, FENG J Y, YU L M, et al. Icariin protects cardiomyocytes against ischaemia/reperfusion injury by attenuating sirtuin 1-dependent mitochondrial oxidative damage[J]. Br J Pharmacol, 2018, 175(21): 4137-4153.

[14] SONG Y H, CAI H, GU N, et al. Icariin attenuates cardiac remodelling through down-regulating myocardial apoptosis and matrix metalloproteinase activity in rats with congestive heart failure[J]. J Pharm Pharmacol, 2011, 63(4): 541-549.

[15] MA J Y, SHI X L, LIU L, et al. Evaluation of nine active components of Lu-Jiao Fang in normal and hypertrophic rat myocardia via LC-MS/MS[J]. Biomed Chromatogr, 2020, 34(5): e4814-e4843.

[16] IGUCHI K, SAOTOME M, YAMASHITA K, et al. Pinacidil, a KATP channel opener, stimulates cardiac Na +/Ca2 + exchanger function through the NO/cGMP/PKG signaling pathway in guinea pig cardiac ventricular myocytes[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2019, 392(8): 949-959.

[17] CAI Z, WU C, XU Y, et al. The NO-cGMP-PKG Axis in HFpEF: From Pathological Mechanisms to Potential Therapies[J]. Aging Dis, 2023, 14(1): 46-62.

[18] ZHANG N, FENG B, MA X, et al. Dapagliflozin improves left ventricular remodeling and aorta sympathetic tone in a pig model of heart failure with preserved ejection fraction[J]. Cardiovasc Diabetol, 2019, 18(1): 107-121.

[19] TOURKI B, KAIN V, SHAIKH S R, et al. Deficit of resolution receptor magnifies inflammatory leukocyte directed cardiorenal and endothelial dysfunction with signs of cardiomyopathy of obesity[J]. FASEB J, 2020, 34(8): 10560-10573.

[20] HUANG Y, ZHANG K, LIU M, et al. An herbal preparation ameliorates heart failure with preserved ejection fraction by alleviating microvascular endothelial inflammation and activating NO-cGMP-PKG pathway[J]. Phytomedicine, 2021, 91(1): 1-11.

（责任编辑：郑锋玲）