

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.23.002

文章编号: 1005-8982 (2020) 23-0006-05

## 比索洛尔对慢性心力衰竭大鼠心肌细胞功能及 MAPK/ERK1/2 信号通路的影响

马玉茹, 赵琳

(宁夏医科大学总医院 心脏中心内科, 宁夏 银川 750004)

**摘要:** **目的** 探讨比索洛尔对慢性心力衰竭大鼠心肌细胞功能及 MAPK/ERK1/2 信号通路的影响。**方法** 将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、比索洛尔组, 每组 15 只。采用超声心动图检测各组大鼠心功能相关指标; 实验结束后, 处死大鼠, 并对大鼠心肌组织进行 HE 染色; 采用 Western blotting 检测大鼠心肌组织中 MAPK 蛋白、p-MAPK 蛋白、ERK1/2 蛋白、p-ERK1/2 蛋白的表达水平。**结果** 3 组大鼠心脏功能各指标比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。模型组大鼠的左心室舒张末期内径 (LVEDD)、左心室收缩末期内径 (LVESD) 较对照组变大 ( $P < 0.05$ ), 舒张末期左心室后壁厚度 (LVPWD)、收缩末期左心室后壁厚度 (LVPWS)、左心室射血分数 (LVEF) 较对照组变薄或降低 ( $P < 0.05$ )。比索洛尔组 LVEDD、LVESD 较模型组变小 ( $P < 0.05$ ), LVPWD、LVPWS、LVEF 较模型组增厚或升高 ( $P < 0.05$ )。3 组大鼠的慢性心力衰竭生化指标比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。模型组 NT-proBNP、Mb、cTnI、CK-MB 水平较比索洛尔组和对照组升高 ( $P < 0.05$ ), 其余相关指标较比索洛尔组和对照组降低 ( $P < 0.05$ )。3 组大鼠心肌组织 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白的表达水平比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。模型组 ERK1/2 及 p-MAPK 蛋白的表达水平较对照组升高 ( $P < 0.05$ ); 比索洛尔组的 ERK1/2 和 p-MAPK 蛋白的表达水平较模型组降低 ( $P < 0.05$ )。**结论** 比索洛尔能通过抑制 MAPK/ERK1/2 信号通路激活, 发挥保护心力衰竭大鼠心肌细胞的作用。

**关键词:** 心力衰竭; 比索洛尔; 心功能; 心肌细胞

**中图分类号:** R541.6

**文献标识码:** A

## Effects of bisoprolol on functions of cardiomyocyte and MAPK/ERK1/2 signaling pathway in rats with chronic heart failure

Yu-ru Ma, Lin Zhao

(Department of Cardiac Central Internal Medicine, General Hospital of Ningxia Medical University,  
Yinchuan, Ningxia 750004, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of bisoprolol on the functions of cardiomyocyte and MAPK/ERK1/2 signaling pathway in rats with chronic heart failure. **Methods** SD rats were randomly divided into three groups: control group, model group and bisoprolol group ( $n = 15$ ). Cardiac function of mice in each group was detected, HE staining was performed on myocardial tissues, and the expression level of related proteins in myocardial tissues was detected. **Results** The comparison of the indexes of cardiac function in the three groups were statistically significant by analysis of variance ( $P < 0.01$ ). Compared with the control group, LVEDD and LVESD in the model group increased ( $P < 0.05$ ), while LVPWTD, VPWTs and LVEF decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, LVEDD and LVESD in the bisoprolol group decreased ( $P < 0.05$ ), while LVPWTD, LVPWTs and

收稿日期: 2020-06-14

LVEF increased ( $P < 0.05$ ). The comparison of biochemical indexes of chronic heart failure in the three groups was statistically significant by analysis of variance ( $P < 0.05$ ). The levels of NT-proBNP, Mb, cTnI and CK-MB in model group were the highest, followed by bisoprolol group and control group, but the other indexes in model group were the lowest ( $P < 0.05$ ) by pairwise comparison. The comparison of MAPK/ERK signaling pathway-related protein expression in myocardial tissue of the three groups was statistically significant by analysis of variance ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, ERK1/2 and p-MAPK protein levels in the model group increased ( $P < 0.05$ ), while ERK1/2 and p-MAPK protein levels in the bisoprolol group decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Antisterone can protect cardiac myocytes of rats with heart failure by inhibiting the activation of MAPK / ERK1/2 signaling pathway.

**Keywords:** heart failure; Bisoprolol; heart function; myocytes, cardiac

心力衰竭是多种原因引起的一种心脏泵功能不全综合征<sup>[1]</sup>。从广义来讲,心力衰竭是指在适当的回心血量的情况下心排量不能满足机体代谢的需要<sup>[2-4]</sup>。而慢性心力衰竭是由各种原因引起心脏结构和功能的变化,导致左心室充盈和左心室射血分数(LVEF)降低而引起的一组临床综合征,是各种心血管疾病发展的最终阶段,也是心血管疾病死亡的主要原因<sup>[5]</sup>。研究显示<sup>[6-7]</sup>,慢性心力衰竭患者5年生存率不足50%。所以,探讨临床治疗慢性心力衰竭的有效方法成为研究的重点。目前, $\beta$ 受体阻滞剂是临床治疗慢性心力衰竭的重要手段<sup>[8-9]</sup>。比索洛尔是一种 $\beta$ 受体阻滞剂,可以选择性地阻断肾上腺素与 $\beta_1$ 受体的连接来发挥作用<sup>[10]</sup>。研究显示<sup>[11-12]</sup>,比索洛尔可显著降低重度心力衰竭患者的病死率,但其具体的分子机制有待进一步研究。本研究旨在探讨比索洛尔保护功能衰竭心肌细胞的相关机制,以期为更有效的临床治疗提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物与试剂

8 ~ 10 周 SPF 级雄性 SD 大鼠 45 只,体重(220 ± 50) g,购自第三军医大学第三附属医院野战外科研究所[动物合格证号:0001517,实验动物使用许可证号:SYXK(渝)2017-0005],MAPK 抗体、p-MAPK 抗体、ERK1/2 抗体、p-ERK1/2 抗体购自美国 Santa Cruze 公司,HE 染色试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司,比索洛尔购自杭州民生公司(批号:T05F555)。

### 1.2 模型复制及分组

随机取 15 只大鼠作为对照组,随机取 50 只大鼠用于复制慢性心力衰竭模型。模型复制方法参照文献<sup>[13]</sup>,具体方法:腹腔注射阿霉素,单次注射剂量为 2.5 mg/(kg·次),2 周内注射 6 次,总注射剂量为 15 mg/kg。对照组腹腔注射等量生理盐水。阿霉素首次腹腔注射 5 周后,进行超声心动图检查,模型大鼠

心腔扩大,左心室短轴缩短率 <30% 表明模型复制成功。排除死亡大鼠,共有 35 只大鼠模型复制成功。随机选取 30 只模型复制成功的大鼠分为比索洛尔组和模型组,每组 15 只,剩余 5 只未纳入实验组。比索洛尔组给予比索洛尔灌胃,剂量为 0.9 mg/(kg·d),模型组和对照组均给予 10 ml/kg 蒸馏水灌胃,连续灌胃 35 d。同时,模型组和比索洛尔组继续腹腔注射阿霉素,1 次/周。

### 1.3 心功能检测

给药结束后,采用超声心动图检测大鼠心功能。检查前,采用地西洋和氯胺酮进行麻醉,剂量分别为 5 mg/kg 和 50 mg/kg,腹腔注射。麻醉后用超高分辨率小动物超声系统(VeVo)进行检测,指标包括左室射血分数(LVEF)、舒张末期左心室后壁厚度(LVPWD)、收缩末期左心室后壁厚度(LVPWS)、左心室舒张末期径(LVEDD)、左心室收缩末期径(LVESD)。

### 1.4 慢性心力衰竭生化指标检测

采集各组大鼠静脉血 4 ml,采用日立 7600-020 型全自动生化分析仪(日本日立公司)检测患者的 N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、肌红蛋白(Mb)、心肌肌钙蛋白(cTnI)及肌酸激酶同工酶(CK-MB),试剂盒均购自南京建成生物有限公司,按照试剂盒说明书步骤操作。

### 1.5 心肌组织 HE 染色

实验结束后处死大鼠,完整取下心脏组织,常规石蜡包埋,切片,烤片,冷却后低温冻存。经二甲苯脱蜡,乙醇梯度水化。苏木精染色 30 ~ 60 s,冲洗 5 min,伊红染色 30 s,冲洗 5 min;乙醇梯度脱水,干燥,二甲苯透明,中性树胶封固,晾干,置光学显微镜下观察。

### 1.6 Western blotting 检测 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白

收集各组的大鼠心肌组织,提取总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度。混合上样缓冲液,煮沸变性,电泳、

转膜、封闭、一抗二抗孵育、ECL 法显影定影。通过 Quantity One 软件分析条带强度,以 GAPDH 为内参,检测 MAPK、p-MAPK、ERK1/2 及 p-ERK1/2 蛋白的表达水平。

### 1.7 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,比较用单因素方差分析,进一步两两比较用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3 组大鼠的一般情况

对照组大鼠一般状况良好,进食、饮水及二便正常,无死亡。模型组大鼠在模型复制后,出现明显精神不佳,进食、饮水量减少,活动量也减少,毛发无光泽。比索洛尔组出现不良症状的时间较模型组晚,进食量及饮水量略高于模型组。模型组、比索洛尔组大鼠体重均呈逐渐下降趋势,但比索洛尔组大鼠体重下降较为缓慢。

### 2.2 3 组大鼠心脏功能的比较

3 组大鼠心脏功能各指标比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。模型组大鼠的 LVEDD、LVESD 较对照组变大 ( $P < 0.05$ ),LVPWD、LVPWS、LVEF 较

对照组变薄或降低 ( $P < 0.05$ );比索洛尔组 LVEDD、LVESD 较模型组变小 ( $P < 0.05$ ),LVPWD、LVPWS、LVEF 较模型组增厚或升高 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.3 3 组大鼠慢性心力衰竭生化指标的比较

3 组大鼠的慢性心力衰竭各生化指标的比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。模型组 NT-proBNP、Mb、cTnI、CK-MB 水平较对照组升高 ( $P < 0.05$ );比索洛尔组 NT-proBNP、Mb、cTnI、CK-MB 水平较模型组降低 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.4 3 组大鼠心肌组织 HE 染色结果

HE 染色发现,对照组大鼠心肌细胞排列整齐、结构完整、无炎症细胞浸润。模型组及比索洛尔组大鼠心室壁显著增厚,心腔明显缩小,血管内膜增厚呈明显的纤维化,心肌细胞结构紊乱,可见炎症细胞浸润。比索洛尔组大鼠心肌细胞结构相对完整,与模型组相比,心肌细胞水肿、坏死现象有所好转。见图 1。

### 2.5 3 组大鼠心肌组织 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白表达水平的比较

3 组大鼠心肌组织 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白表达水平比较,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。模型组的 MAPK/ERK 蛋白的表达水平较对照组升高 ( $P < 0.05$ );比索洛尔组的 MAPK/ERK 蛋白的表达水平较模型组降低 ( $P < 0.05$ )。见表 3 和图 2。

表 1 3 组大鼠心脏功能比较 ( $n=15, \bar{x} \pm s$ )

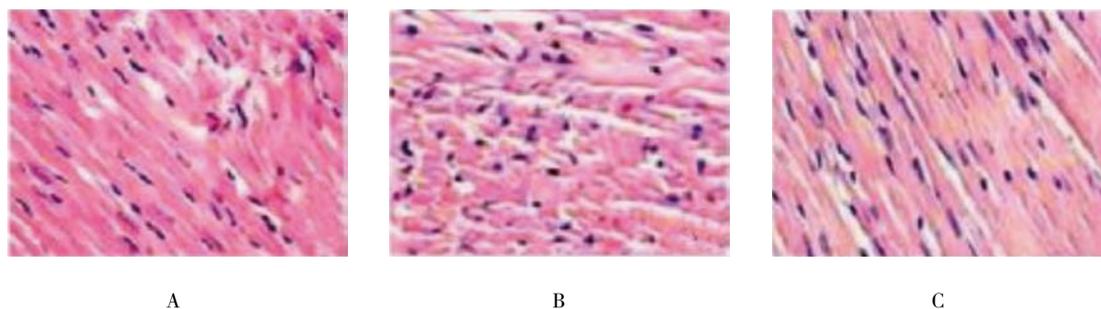
组别	LVEDD/mm	LVESD/mm	LVPWD/mm	LVPWS/mm	LVEF/%
对照组	4.9 $\pm$ 0.8	2.7 $\pm$ 0.6	1.8 $\pm$ 0.4	3.1 $\pm$ 0.7	83.5 $\pm$ 11.3
模型组	9.3 $\pm$ 0.9 <sup>①</sup>	8.9 $\pm$ 1.1 <sup>①</sup>	1.4 $\pm$ 0.5 <sup>①</sup>	1.9 $\pm$ 0.5 <sup>①</sup>	34.6 $\pm$ 3.1 <sup>①</sup>
比索洛尔组	5.8 $\pm$ 0.4 <sup>①②</sup>	4.6 $\pm$ 0.4 <sup>①②</sup>	1.8 $\pm$ 0.5 <sup>①②</sup>	2.6 $\pm$ 0.5 <sup>②</sup>	61.3 $\pm$ 7.2 <sup>①②</sup>
F 值	9.043	14.344	17.405	18.026	17.930
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

表 2 3 组大鼠慢性心力衰竭生化指标比较 ( $n=15, \bar{x} \pm s$ )

组别	NT-proBNP/ (ng/L)	Mb/ ( $\mu$ g/L)	cTnI/ ( $\mu$ g/L)	CK-MB/ (u/L)
对照组	0.2 $\pm$ 0.0	40.6 $\pm$ 2.7	0.1 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.2
模型组	7.6 $\pm$ 1.6 <sup>①</sup>	145.3 $\pm$ 13.7 <sup>①</sup>	0.6 $\pm$ 0.1 <sup>①</sup>	4.5 $\pm$ 1.5 <sup>①</sup>
比索洛尔组	3.0 $\pm$ 0.8 <sup>①②</sup>	82.5 $\pm$ 5.5 <sup>①②</sup>	0.2 $\pm$ 0.0 <sup>①②</sup>	2.3 $\pm$ 0.7 <sup>①②</sup>
F 值	14.824	24.545	26.013	13.820
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注:①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。



A: 对照组; B: 模型组; C: 比索洛尔组。  
图 1 3 组大鼠心肌组织染色 (HE × 100)

表 3 3 组大鼠心肌组织 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白表达水平比较 ( $n=15, \bar{x} \pm s$ )

组别	MAPK	p-MAPK	ERK1/2	p-ERK1/2
对照组	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
模型组	1.0 ± 0.2 <sup>①</sup>	1.3 ± 0.2 <sup>①</sup>	0.5 ± 0.1 <sup>①</sup>	0.6 ± 1.0 <sup>①</sup>
比索洛尔组	0.8 ± 0.1 <sup>①②</sup>	0.5 ± 0.2 <sup>①②</sup>	0.3 ± 0.1 <sup>①②</sup>	0.3 ± 0.1 <sup>①②</sup>
F 值	12.983	9.349	14.034	10.870
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

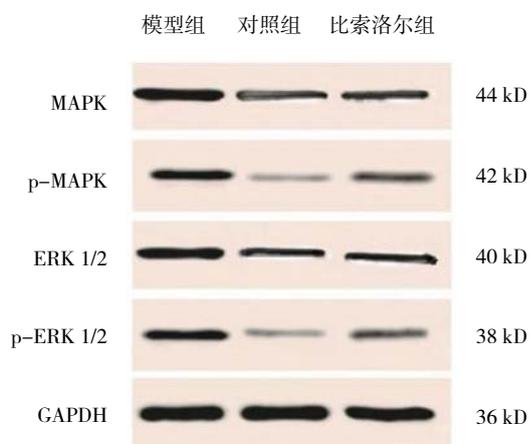


图 2 3 组大鼠心肌组织 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白表达

### 3 讨论

心力衰竭是指心肌受到严重的伤害, 无法正常地泵出足够的血液来满足身体各个器官活动及代谢的需求, 心脏结构逐渐肥大, 并无法满足身体组织、器官的代谢需求, 是病态的生理状况, 也可能是任何心脏疾病最终的表现<sup>[4]</sup>。2016 年版的中西医专家共识共推荐 6 类常用西药治疗心力衰竭: 包括 ACEI 类、 $\beta$  受体阻滞剂、ARA 类、利尿剂、地高辛、血管扩张剂等。螺内酯又称为比索洛尔, 是治疗心力衰竭的常

用药物之一, 降低了慢性心力衰竭病死率<sup>[15-16]</sup>。本研究用大鼠复制心力衰竭模型, 探讨比索洛尔发挥抗心力衰竭的分子机制。

心力衰竭发生后, 心肌功能受损, 心脏会发生一系列结构改变, 微观层面表现为心肌细胞肥厚、胞外基质及胶原纤维网增生, 即“心室重塑”<sup>[17-18]</sup>。心肌细胞减少使心肌整体收缩力下降; 纤维化的增加又使心室顺应性下降, 重塑更趋明显, 心肌收缩力不能发挥其应有的射血效应, 形成恶性循环, 最终导致不可逆转的终末阶段<sup>[19-20]</sup>。本研究发现, 与模型组比较, 比索洛尔组 LVEDD、LVESD 变小, LVPWTd、LVPWS、LVEF 增厚或升高。一些慢性心力衰竭生化指标对判断患者病情也有一定的指导意义, 本研究检测发现, 模型组大鼠的慢性心力衰竭生化指标 NT-proBNP、Mb、cTnI、CK-MB 水平最高, 比索洛尔组次之, 对照组相关指标水平均最低。表明比索洛尔有效降低心力衰竭指标水平, 抑制炎症因子的产生, 延缓模型大鼠心室重构的进程。HE 染色也证实, 模型组及比索洛尔组大鼠心室壁显著增厚, 心腔明显缩小, 血管内膜增厚呈明显的纤维化。而比索洛尔组大鼠心肌细胞结构相对完整, 与模型组比较, 心肌细胞水肿、坏死现象有所好转。

ERK 包括 ERK1 和 ERK2, 是将信号从表面受体

传导至细胞核的关键分子<sup>[21]</sup>。许多其他信号通路明显活化时,可活化蛋白激酶 ERK 信号通路,ERK 明显活化时,也可活化其他信号通路,从细胞外作用于细胞,至细胞出现相应的生物学效应,通过 MAPK 信号转导通路的三级激酶级联反应<sup>[11]</sup>。在信号网络中 MAPK 信号传递途径起着极为重要的作用,控制着细胞多种生理过程,如细胞生长、发育、分裂、死亡等<sup>[23-24]</sup>,信号传递途径是涉及调节细胞生长、发育及分裂的信号网络的核心<sup>[25]</sup>。在本研究中,通过 Western blotting 检测后发现,与对照组比较,模型组的 ERK1/2 及 p-MAPK 蛋白表达水平升高;而与模型组比较,比索洛尔组的 ERK1/2 和 p-MAPK 蛋白表达水平又相对降低。表明比索洛尔可能通过抑制 MAPK/ERK1/2 信号通路,降低心肌自噬活性,发挥心肌保护作用。

综上所述,比索洛尔能通过抑制 MAPK/ERK1/2 信号通路激活,发挥保护心力衰竭大鼠心肌细胞的作用。

#### 参 考 文 献:

- [1] 胡芳,沈金峰,刘中勇.慢性心力衰竭的中医药研究进展[J].广州中医药大学学报,2020,37(6):1202-1206.
- [2] 国家卫生计生委合理用药专家委员会,中国药师协会.心力衰竭合理用药指南(第2版)[J].中国医学前沿杂志(电子版),2019,11(7):78.
- [3] LUO B B, WU S X, ZHANG Z H, et al. Human heart failure biomarker immunosensor based on excessively tilted fiber gratings[J]. Biomedical Optics Express, 2017, 8(1): 57-67.
- [4] NAMMAS W, KOISTINEN J, PAANA T, et al. Renal sympathetic denervation for treatment of patients with heart failure: summary of the available evidence[J]. Annals of Medicine, 2017, 49(5): 384-395.
- [5] 邢寻静,宋子凯,唐明龙,等.保留射血分数的心力衰竭病理生理机制和治疗的研究进展[J].吉林大学学报(医学版),2019,45(2):457-464.
- [6] JOANNA O, PARDEEP S J. Contemporary management of heart failure in the elderly[J]. Drugs & Aging, 2019, 36(2): 137-146.
- [7] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告2016》概要[J].中国循环杂志,2017,32(6):521-530.
- [8] 孙健.β-受体阻滞剂治疗慢性心力衰竭[J].临床医学,2016,36(6):74-75.
- [9] 张询.β受体阻滞剂对慢性心力衰竭的临床疗效研究[J].检验医学与临床,2017,14(13):1996-1998.
- [10] 施仲伟,冯颖青,王增武,等.β受体阻滞剂在高血压应用中的专家共识[J].中国医学前沿杂志(电子版),2019,11(4):29-39.
- [11] 王文浩,胡嘉慧.美托洛尔与比索洛尔对慢性心力衰竭疗效比较的 Meta 分析[J].广东医科大学学报,2019,37(1):16-24.
- [12] 陈勇鹏.麝香保心丸联合比索洛尔治疗冠心病慢性心力衰竭观察[J].江西医药,2017,52(10):1017-1019.
- [13] 白剑,顾蓉,王丙剑,等.过表达整合素连接激酶可改善慢性心力衰竭大鼠心功能[J].中华心血管病杂志,2014,42(3):225-229.
- [14] BROWN D A, PERRY J B, ALLEN M E, et al. Expert consensus document: Mitochondrial function as a therapeutic target in heart failure[J]. Nature Reviews Cardiology, 2017, 14(4): 238-250.
- [15] JORSAL A, KISTORP C, HOLMAGER P, et al. Effect of liraglutide, a glucagon-like peptide-1 analogue, on left ventricular function in stable chronic heart failure patients with and without diabetes (LIVE)-a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial[J]. European Journal of Heart Failure, 2017, 19(1): 69-77.
- [16] 陈可冀,吴宗贵,朱明军,等.慢性心力衰竭中西医结合诊疗专家共识[J].中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(3):225-232.
- [17] KIM H L, KIM M A, CHOI D J, et al. Gender difference in the prognostic value of N-terminal Pro-B type natriuretic peptide in patients with heart failure- A report from the Korean heart failure registry (KorHF)[J]. Circulation Journal, 2017, 81(9): 1329-1336.
- [18] 陈波,赖晓惠,李东,等.慢性心力衰竭患者心室重塑及其相关血流动力学指标的变化[J].海南医学,2017,28(7):1041-1044.
- [19] CELANO C M, VILLEGAS A C, ALBANESE A M, et al. Depression and anxiety in heart failure: a review[J]. Harvard Review of Psychiatry, 2018, 26(4): 175-184.
- [20] JIN S H, XUE B L. Letter by Jin-shan and Xue-bin regarding article, 'lower risk of heart failure and death in patients initiated on sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors versus other glucose-lowering drugs: the CVD-REAL study (Comparative Effectiveness of Cardiovascular'[J]. Circulation, 2018, 137(9): 988.
- [21] 罗玉梅,张立羽,刘芳.细胞外信号调节激酶的研究进展[J].中国生物制品学杂志,2018,31(1):93-96.
- [22] 魏佳明,朱俊平,王健章,等.中药治疗心力衰竭分子机制研究进展[J].中国中医药信息杂志,2019,26(7):137-140.
- [23] 孙勃,刘士波,王培,等.细菌脂多糖通过 MAPK/ERK1/2 信号通路影响成骨细胞活性和凋亡[J].中国免疫学杂志,2020,36(7):799-803.
- [24] 万敏,许美霞.盐酸羟考酮通过 JNK/p38MAPK 信号通路调控异丙肾上腺素诱导的心肌细胞凋亡的机制[J].中国老年学杂志,2020,40(5):1055-1059.
- [25] JUSTIN D M, ORION D W. Multiple sources of signal amplification within the B-cell Ras/MAPK pathway[J]. Molecular Biology of the Cell, 2019, 30(13): 1575-1633.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 马玉茹,赵琳.比索洛尔对慢性心力衰竭大鼠心肌细胞功能及 MAPK/ERK1/2 信号通路的影响[J].中国现代医学杂志,2020,30(23):6-10.