

基于 NF- κ B 信号通路探讨黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌保护作用

罗锦花 詹剑华*

南昌大学第一附属医院烧伤科 330006

【摘要】目的：本研究旨在探讨黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌的保护作用及其与 NF- κ B 信号通路的关系。方法：健康成年 Wistar 大鼠 45 只，随机分成三组：脓毒症+黄芪多糖组（n=15）、脓毒症组（n=15）、正常对照组（n=15）。脓毒症大鼠模型建立，采用 LPS 10 mg/kg 腹腔注射建立脓毒症模型。脓毒症+黄芪多糖组是脓毒症大鼠模型建立后黄芪多糖 10 mg/kg 腹腔注射 7 天。采用 ELISA 方法检测大鼠外周血中肌酸酶同工酶（CK-MB）、肌钙蛋白 T（CTnT）、TNF- α 、IL-6 的含量；ELISA 法检测心肌组织中血管活性物质血管紧张素 II（AngII）、内皮素-1 的含量及 NF- κ B 蛋白表达水平。结果：与正常对照组相比，脓毒症组血 CK-MB、CTnT、TNF- α 、IL-6 的水平明显上升，心肌组织中 AngII、内皮素-1 水平明显升高，NF- κ B 蛋白表达水平显著增多；与脓毒症相比，脓毒症+黄芪多糖组血 CK-MB、CTnT、TNF- α 、IL-6 的水平明显下降，心肌组织中 AngII、内皮素-1 水平明显减少，NF- κ B 蛋白表达水平显著下降。结论：黄芪多糖可以通过减轻炎症反应，减少血管活性物质血管紧张素 II（AngII）、内皮素-1 的生成，对脓毒症大鼠心肌起保护作用。

【关键词】黄芪多糖；严重烧伤；大鼠；心肌保护；NF- κ B 信号通路

烧伤脓毒症是严重烧伤后的全身炎症感染反应，易造成多器官功能障碍且病死率较高。脓毒症相关心肌功能障碍（sepsis-related myocardial dysfunction, SRMD）是造成脓毒症患者死亡的主要原因之一^[1]。在脓毒症患者中伴有心脏功能障碍患者的病死率达 70%，而不伴心肌功能障碍患者的病死率为 20%。因此，烧伤脓毒症后心肌功能障碍的发生机理的及其防治一直是烧伤学者关注的重点^[2]。近年来，中医药在防治烧伤方面显示出独特的优势，其中黄芪多糖具有抗炎、抗氧化、抗凋亡等多重作用，对心肌细胞具有保护作用^[3]。本研究基于 NF- κ B 信号通路探讨黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌的保护作用及其机制。

1 材料和方法

1.1 动物实验及分组：健康清洁级成年 Wistar 大鼠 45 只，200 克左右（由南昌大学医学院动物部提供，许可证号：SYSK（赣）2021-0003），按随机数字表法分成三组：脓毒症+黄芪多糖组（n=15）、脓毒症组（n=15）、正常对照组（n=15）。适应性喂养一周，采用 LPS 10 mg/kg 腹

腔注射建立脓毒症模型，脓毒症+黄芪多糖组是脓毒症大鼠模型建立后给予腹腔注射剂量为 200 mg/kg 的 10 mL 黄芪多糖溶液连续 7 天，每日一次。脓毒症组及正常对照组则是于同一时相点注射 10 mL 生理盐水。于伤后 7 天对大鼠实施安乐死，然后通过开胸获得心脏样本后放血收集血样。

1.2 观察指标及检测方法

1.2.1 心肌损伤指标的测定 将收集到的血标本通过离心后，采用 ELISA 方法检测大鼠外周血中 CK-MB、CTnT 的含量，具体实验步骤按照相应试剂盒的说明书进行操作。

1.2.2 ELISA 法检测心肌组织中血管活性物质 Ang II 和内皮素-1 的含量：将心肌组织浆、离心，收集上层上清液，离心去除杂质，取 100 μ L，采用 ELISA 法检测法检测 AngII、内皮素-1 指标的含量，操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.3 炎症因子的测定 将收集到的血标本通过离心后，采用 ELISA

方法检测大鼠外周血中 TNF- α 、IL-6 的含量以评估炎症因子水平。

1.2.4 Western-Blot 方法检测心肌组织 NF- κ B 蛋白表达水平: 将心肌组织浆、离心, 收集上层上清液, 离心去除杂质, 取 100 μ L, 采用 Western-Blot 方法检测心肌组织 NF- κ B 蛋白表达水平。

1.3 统计学方法: 采用 SPSS23.0 软件进行统计分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 两两比较采用 LSD-t 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠心功能变化情况: 与正常对照组相比, 脓毒症组血 CK-MB、CTnT 的水平明显上升 (P<0.05), 心肌组织中 AngII、内皮素-1 水平明显升高 (P<0.05); 与脓毒症相比, 脓毒症+黄芪多糖组血 CK-MB、CTnT 的水平明显下降 (P<0.05), 心肌组织中 AngII、内皮素-1 水平明显减少 (P<0.05)。

表 1 各组大鼠心功能指标 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	CK-MB (1000U/L)	CTnT (ug/L)	AngII (ng/mL)	内皮素-1 (ng/mL)
正常对照组	15	1.49 \pm 0.35	0.07 \pm 0.03	214.36 \pm 19.35	3.7 \pm 0.28
脓毒症组	15	6.42 \pm 0.49 ^a	0.64 \pm 0.09 ^a	491.13 \pm 26.58 ^a	16.03 \pm 0.97 ^a
脓毒症+黄芪多糖组	15	3.96 \pm 0.7 ^b	0.35 \pm 0.08 ^b	269.12 \pm 20.15 ^b	5.57 \pm 0.59 ^b

a 与正常对照组比较 P<0.05, b 与脓毒症组比较 P<0.05。

表 2 各组大鼠 TNF- α 、IL-6 的含量及 NF- κ B 蛋白水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)	NF- κ B (ng/g)
正常对照组	15	3.13 \pm 0.51	4.41 \pm 0.44	147.47 \pm 6.17
脓毒症组	15	13.03 \pm 0.99 ^a	14.94 \pm 0.74 ^a	288.78 \pm 12.49 ^a
脓毒症+黄芪多糖组	15	7.53 \pm 0.52 ^b	8.21 \pm 0.67 ^b	189.4 \pm 8.63 ^b

a 与正常对照组比较 P<0.05, b 与脓毒症组比较 P<0.05。

2.2 各组大鼠 TNF- α 、IL-6 的含量及 NF- κ B 蛋白水平变化: 与正常对照组相比, 脓毒症组血 TNF- α 、IL-6 的水平明显上升 (P<0.05), 心肌组织中 NF- κ B 蛋白表达水平显著增多 (P<0.05); 与脓毒症相比, 脓毒症+黄芪多糖组血 TNF- α 、IL-6 的水平明显下降, 心肌组织中 NF- κ B 蛋白表达水平显著下降 (P<0.05)。

3 讨论

脓毒症中, 机体的炎症反应失控最主要的原因是促进炎症机制的过度激活, 导致全身炎症反应综合症。本研究中, 脓毒症大鼠细胞炎症因子 TNF- α 、IL-6 水平明显升高, 同时心肌损伤指标血清 CK-MB 及 CTnT

明显上升, 说明脓毒症大鼠心肌受到损害。CK-MB 是心肌细胞中特异性较高的酶, 当心肌受损时, CK-MB 的活性会明显升高。研究表明, 脓症患者中 CK-MB 的水平与心肌损伤的程度呈正相关。因此, 监测 CK-MB 的水平可以有助于早期发现脓毒症心肌损伤, 并及时采取相应的治疗措施。CTnT 是一种心肌细胞内的蛋白质, 当心肌受损时, CTnT 会释放到血液中。与 CK-MB 相比, CTnT 的特异性和敏感性更高, 因此在诊断心肌损伤方面具有更高的价值。研究表明, 脓症患者中 CTnT 的水平与心肌损伤的程度和预后密切相关。

心肌损伤其发生和发展与多种因素有关。其中, 肾素-血管紧张素系统 (RAS) 和内皮素系统在心血管疾病中的作用备受关注。血管紧张素 II

(AngII)是肾素-血管紧张素系统的主要效应分子,具有强烈的收缩血管和升高血压的作用,还可刺激心肌细胞肥大和增生,诱导心肌纤维化。内皮素-1(ET-1)是由血管内皮细胞合成和释放的一种生物活性多肽,具有强烈的缩血管作用和促进细胞增殖的作用,可导致血管重构和心肌肥厚。因此,研究AngII和ET-1在心肌损伤中的作用机制对于防治心血管疾病具有重要意义^[4]。本研究发现大鼠患脓毒症后AngII、内皮素-1水平明显升高。

全面深入的阐明脓毒症损伤的分子机制,特别是寻找脓毒症中促进炎症机制起关键作用的信号通路或蛋白质分子,探讨通过对促进炎症机制干预来调控炎症反应,为探索脓毒症阶段性治疗的新靶点提供充分的实验依据,对临床治疗脓毒症,降低其死亡率具有非常重要的指导意义。核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是一种具有多向性转录调节作用的序列特异性DNA结合蛋白,正常状态下,NF- κ B与其调节蛋白I κ B结合后以非活性形式存在于细胞质中。但脓毒症时,NF- κ B被激活后迅速转移至细胞核内与靶基因启动子结合,从而启动多种活性物质包括相应细胞因子、粘附分子、炎性因子、免疫相关受体等物质基因的表达,引起相应细胞和组织损伤,参与多种病理过程的发生与发展^[5]。研究表明在LPS诱导的脓毒症大鼠模型,其心肌细胞TLR4mRNA、TLR4蛋白及NF- κ B蛋白表达均增高,心肌细胞出现变性坏死,心脏收缩和舒张功能下降,提示NF- κ B信号通路参与了脓毒症心肌功能障碍的发病机制^[6]。

本研究中,脓毒症大鼠NF- κ B蛋白水平明显升高。而应用黄芪多糖后,发现大鼠受损心肌组织和细胞炎症因子TNF- α 、IL-6水平均得以改善,同时抑制NF- κ B蛋白水平,说明黄芪多糖通过调节NF- κ B信号通路减轻损伤心肌组织和细胞炎症程度。

综上,黄芪多糖能够抑制心肌组织炎症水平,提高心功能,从而减

轻脓毒症所致心肌损伤,其机制可能与NF- κ B信号通路有关。从NF- κ B信号通路的角度深入研究黄芪多糖对脓毒症心功能障碍的保护作用机制,为脓毒症心功能障碍的中药防治提供新的方法和详实的理论基础。

参考文献:

- [1]WANG Q, LIU K, JIN C. Clinical value of microRNA-378a-3p in sepsis and its role in sepsis-induced inflammation and cardiac dysfunction[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 8496-8504.
- [2]MOK G, HENDIN A, REARDON P, et al. Macrocirculatory and microcirculatory endpoints in sepsis resuscitation[J]. J Intensive Care Med, 2021, 36(12): 1385-1391.
- [3]钟林,詹剑华,罗锦花.黄芪多糖对严重烫伤兔心功能损害的作用[J].中华烧伤杂志, 2017, 33(11): 668-676.
- [4]吕品,牛晓娟,陈霞等.左西孟旦联合高容量血液滤过对脓毒症心肌损伤患者内毒素、神经内分泌激素和炎症指标的影响[J].河北医药, 2020, 42(20): 3109-3133.
- [5]O'Flaherty SM, Sutummaporn K, Häggtoft WL, et al. TLR-stimulated eosinophils mediate recruitment and activation of NK cells in vivo. Scand J Immunol, 2017, 85: 417-424.
- [6]ASCI H, OZMEN O, ERZURUMLU Y, et al. Agomelatine protects heart and aorta against lipopolysaccharide-induced cardio-vascular toxicity via inhibition of NF- κ B phosphorylation[J]. Drug Chem Toxicol, 2022, 45(1): 133-142.

基金项目:江西省卫健委科技计划项目(202130187),江西省卫生健康委重点项目(2022Z2006);江西省中医药管理局科技计划一般项目(2023A0331)

通讯作者:詹剑华,男,(1963-)主任医师。