

黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌损伤的保护作用

杨 龙¹, 韩 冬², 巩文艺²

1. 沧州市中心医院 急诊科, 河北 沧州 061001

2. 沧州市中心医院 药学部, 河北 沧州 061001

摘 要: **目的** 观察黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡的影响, 并探讨其作用机制。**方法** 120 只大鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松 (5 mg/kg) 组和黄芪多糖 10、20、40 mg/kg 组, 每组 20 只。采用 92 °C 水浴 18 s 的方法制备大鼠 30% 总体表面积占比 (TBSA) III 度烧伤模型。各治疗组均 ip 给药 1 mL/kg; 对照组、模型组均 ip 给予生理盐水 1 mL/kg。24 h 后, TUNEL 法检测心肌细胞凋亡情况并计算凋亡指数, 测定血清中心肌酶天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、肌酸磷酸激酶 (CPK)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和肌钙蛋白 T (cTnT) 水平, 测定心肌组织中抗氧化酶超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、髓过氧化物酶 (MPO) 活性和丙二醛 (MDA) 含量; RT-PCR 法检测心肌组织中 AKT mRNA、bcl-2 mRNA、Bax mRNA 表达并计算 bcl-2/Bax 表达比值; Western blotting 法检测心肌组织中 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 黄芪多糖组大鼠心肌细胞凋亡数量明显减少。与模型组比较, 黄芪多糖 20、40 mg/kg 治疗 24 h 能够显著降低严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡指数; AST、CPK、LDH、cTnT 水平显著降低; SOD、CAT、MPO 活性显著升高, MDA 含量显著降低; AKT mRNA、bcl-2 mRNA 表达显著上调、Bax mRNA 表达显著下调, bcl-2/Bax 比值显著升高; 显著降低 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达量 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌损伤具有保护作用, 其作用机制可能与黄芪多糖能够有效降低氧化应激损伤和调节凋亡相关基因和蛋白表达有关。

关键词: 黄芪多糖; III 度烧伤; 大鼠; 心肌损伤; 蛋白表达; 保护作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2016)03 - 0284 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.03.004

Protection of Astragalus polysaccharides on myocardial damage in severely burned rats

YANG Long¹, HAN Dong², GONG Wen-yi²

1. Department of Emergency, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061001, China

2. Department of Pharmacy, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061001, China

Abstract: Objective To investigate the protective effects of Astragalus polysaccharides on myocardial damage in severely burned rats, and discuss its mechanism. **Methods** Totally 120 rats were randomly divided into control group, model group, dexamethasone (5 mg/kg) group, and Astragalus polysaccharides (10, 20, and 40 mg/kg) groups, and each group had 20 rats. The model rats with 30% TBSA (III degree) were made by bathing in 92 °C water for 18 s. The rats in treatment groups were ip injected with the 1 mL/kg drugs, but rats in control and model groups were ip administered with 1 mL/kg normal saline. After 24 h, the apoptosis of cardiomyocytes was observed by TUNEL staining, and the apoptosis index was calculated. The contents of AST, CPK, LDH, and cTnT in serum were determined. The activities of SOD, CAT, and MPO, and the content of MDA in myocardial tissue were measured. The expression of AKT mRNA, Bax mRNA, and bcl-2 mRNA was determined by RT-PCR method, and the ratio of bcl-2/Bax was calculated. The expression of caspase-3 and NF- κ B was determined by Western blotting. **Results** Compared with model group, the cardiomyocytes apoptosis in Astragalus polysaccharides groups were significantly improved. Compared with model group, the apoptosis index of Astragalus polysaccharides (20 and 40 mg/kg) groups were significantly decreased; The levels of AST, CPK, LDH, and cTnT in serum were significantly decreased; The activities of SOD, CAT, and MPO were significantly increased, but the content of MDA was significantly decreased; The expression of AKT mRNA and Bax mRNA were significantly up-regulated and the Bax mRNA was significantly down-regulated, the ratio of bcl-2/Bax was significantly increased. The expression of caspase-3 and NF- κ B were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01). **Conclusion** Astragalus polysaccharides has protection on myocardial damage in severely

收稿日期: 2015-11-17

基金项目: 沧州市科技计划项目 (151302166)

作者简介: 杨 龙, 硕士, 主治医师, 从事急诊医学工作。E-mail: czhlw@163.com

burned rats, which might be related to reduce oxidative stress injury and regulate the expression of apoptosis-related genes and protein.

Key words: Astragalus polysaccharides; III degree burn; rat; myocardial damage; protein expression; protection

黄芪为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fish.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fish.) Bge. 的干燥根, 首载于《神农本草经》, 为我国传统中药品种, 其味甘, 性微温, 具有益气补虚之功效。现代药学研究发现, 黄芪多糖是黄芪的主要活性成分之一^[1], 具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、降糖、增强机体免疫功能等多种药理作用^[2-6]。本研究拟采用 92 °C 水浴 18 s 的方法制备 30% 总体表面积占比 (TBSA) III 度烧伤大鼠模型, 研究黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡和炎症反应的抑制作用, 并探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级 Wistar 大鼠, 雄性, 8 周龄, 体质量 200~240 g, 购自河北省实验动物中心提供, 许可证号 SCXK (冀) 2013-1-003, 动物合格证号 201505012。

1.2 药物与试剂

黄芪多糖 (西安沃森生物科技有限公司, 批号 20140627, 质量分数 ≥ 70%); 地塞米松磷酸钠注射液 (焦作福瑞堂制药有限公司, 规格 1 mL : 5 mg, 批号 20140913); 乳酸钠林格注射液 (河南双鹤华利药业有限公司, 规格 500 mL/瓶, 批号 20131225); SOD、CAT、MPO、MDA 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所, 批号分别为 140530、140718、140911、140623; AST、CPK、LDH、cTnT 试剂盒均购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, 批号分别为 140521004、141013008、140702012、140817015; TUNEL 检测试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司, 批号 140716; AKT、bcl-2、Bax 上下游引物均购自上海博亚生物技术有限公司, 批号分别为 20141024、20141107、20141019; caspase-3 单抗、NF-κB 单抗、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 均购自上海碧云天生物技术有限公司, 批号分别为 20140518、20140725、20131214。

1.3 主要仪器

UV-1200 紫外-可见光分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司); BS-200 全自动生化分析仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司); RM-2135 型石蜡切片机 (德国 Leica 公司); iMark 型酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司); DYY-11 型多用电泳仪、DYCZ-

40B 转印泳槽 (北京六一仪器厂); RT-PCR 仪 (武汉新未来仪器技术有限公司)。

1.4 动物分组与模型制备

将 120 只大鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松 (5 mg/kg) 组和黄芪多糖 10、20、40 mg/kg 组, 每组 20 只。黄芪多糖 20 mg/kg 剂量相当于人等效剂量, 黄芪多糖 10、40 mg/kg 剂量分别相当于人等效剂量的 1/2、2 倍量。

参照黄跃生等^[17]报道的实验方法制备 30% TBSA III 度烧伤大鼠模型: 大鼠腹腔注射乌拉坦实施麻醉, 经 10% 硫化钠脱毛 24 h 后, 于 92 °C 恒温水浴 18 s 复制 30% TBSA III 度烧伤 (经病理切片证实); 对照组大鼠行麻醉、脱毛, 然后于 37 °C 恒温水浴 18 s。造模完成后, 各组大鼠均立即 ip 乳酸钠林格注射液 40 mg/kg 进行复苏; 取黄芪多糖适量, 精确称定, 用生理盐水配制 40 mg/mL 的溶液, 并依此稀释制备 20、10 mg/mL 黄芪多糖溶液。为了保证给药容积一致, 各治疗组均 ip 给药 1 mL/kg; 对照组、模型组均给予生理盐水, 剂量为 1 mL/kg。给药 24 h 后取材, 检测各指标。

1.5 心肌细胞凋亡状况的观察和凋亡指数的计算

腹腔注射乌拉坦实施麻醉, 开胸取心脏组织, 用生理盐水冲洗干净后置于 4% 多聚甲醛溶液中进行固定, 然后行石蜡包埋、切片 (厚度约 5 μm) 和展片处理。经常规脱蜡处理后, 按照 TUNEL 试剂盒操作方法逐步进行处理, 然后通过光学显微镜观察心肌细胞凋亡状况 (细胞核黄染为阳性着色) 并照相保存。每张切片随机选取 5 个视野, 分别计数细胞总数和凋亡细胞数, 取平均值, 计算凋亡指数。

凋亡指数 = 凋亡细胞数 / 细胞总数

1.6 血清中 AST、CPK、LDH、cTnT 水平的测定

大鼠麻醉后经腹主动脉取血, 1 500 r/min 离心 10 min 后取血清, 按照各试剂盒操作方法步骤, 通过生化分析仪平行测定各组大鼠血清中心肌酶 (AST、CPK、LDH) 和 cTnT 水平。

1.7 心肌组织中 SOD、CAT、MPO 活性和 MDA 含量的测定

待“1.6”项下取血完成后, 取心肌组织, 冲洗干净后剪碎, 加入适量冷裂解液, 进行研磨匀浆, 3 000 r/min 离心 10 min 后取上层清液, 按照各试剂盒操作方法逐步进行处理后, 采用紫外-可见分光

光度计平行测定各组大鼠心肌组织中 SOD、CAT、MPO 活性和 MDA 含量。

1.8 心肌组织中 AKT mRNA、bcl-2 mRNA、Bax mRNA 表达的测定及 bcl-2/Bax 表达比值的计算

从基因文库中查到大鼠 AKT、bcl-2、Bax 基因 cDNA 序列,应用 Oligo 软件程序设计上、下游引物,见表 1。

表 1 大鼠 AKT、bcl-2、Bax 基因上、下游引物

Table 1 Upstream and downstream primers of AKT, Bcl-2, and Bax genes in rats

基因	引物
AKT 上游	5'-TCAGTAGCATCCGGCAATTATC-3'
下游	5'-TGCTCAATCAAAGCCACAGTC-3'
bcl-2 上游	5'-GGGATGCCTTTGTGGAAC-3'
下游	5'-TGATTGACCATTTGCCTGA-3'
Bax 上游	5'-ATCCAGGATCGAGCAGGGAGGATGG-3'
下游	5'-AGATGGTCACTGTCTGCCATGTGGG-3'
β -actin 上游	5'-CCTGTATGCCTCTGGTCGTA-3'
下游	5'-CCATCTCTTGCTCGAAGTCT-3'

参照“1.7”项下方法制备组织匀浆液,加入适量氯仿,摇匀,静置 5 min 后离心,取上清液,加入等体积的异丙醇后静置 10 min,再次离心后弃上清液;加入适当 75%乙醇清洗沉淀,12 000×g 低温(4℃)离心 5 min;弃上清液保留沉淀;然后采用 SYBR Green I 荧光定量 RT-PCR 法检测大鼠心肌组织中 AKT mRNA、Bax、Bcl-2 mRNA 表达:取 C-DNA 模板 4 μ L,SYBR Green I 试剂 25 μ L,20 μ mol/L 上、下游引物各 1 μ L,5 U/ μ L Taq 酶 0.5 μ L。加双蒸水至 50 μ L,再加石蜡油 20 μ L,瞬时离心 2 s,放入 ABI5700 型实时荧光定量 PCR 扩增仪中进行 PCR 反应。扩增完毕读取 Ct 值,进行溶解曲线分析,用琼脂糖凝胶电泳分析扩增产物特异性 mRNA 定量:采用相对定量法,以 β -actin 为参照,利用 Ct 值计算 Bax、bcl-2 mRNA 的相对量,即 bcl-2/Bax 表达比值。

$$X \text{ mRNA} = 2^{Ct(X) - Ct(\beta\text{-actin})}$$

X 为目的基因;Ct 每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数

1.9 心肌组织 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达的 Western blotting 法测定

取“1.7”项下制备的组织匀浆上清液,通过 BCA 法进行蛋白粗定量后,逐步进行变性、上样、电泳、转膜、丽春红溶液染色、室温下 5%脱脂奶

粉封闭 2 h、一抗(caspase-3、NF- κ B、 β -actin)4℃过夜、洗膜、二抗室温孵育 1 h 后经 ECL 显色,实验结果应用 Quantity One 软件进行分析。

1.10 统计学方法

运用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用 One-way ANOVA 进行分析;计数资料采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡的影响

对照组大鼠心肌细胞仅可见极少量凋亡细胞,模型组凋亡细胞数量明显增多;而与模型组比较,黄芪多糖组大鼠心肌细胞凋亡数量明显减少,以黄芪多糖 40 mg/kg 组效果最显著,见图 1。

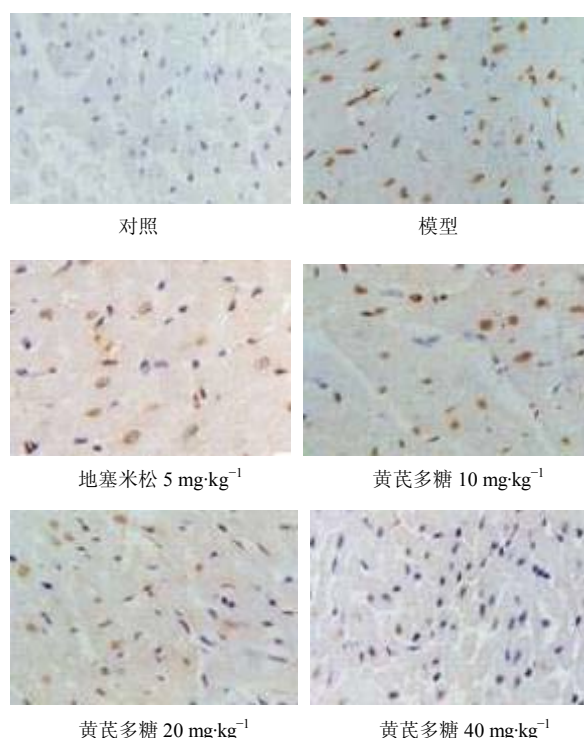


图 1 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡状况的影响(TUNEL 染色)

Fig. 1 Effect of Astragalus polysaccharides on myocardial cell apoptosis in severely burned rats (TUNEL staining)

2.2 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡指数的影响

模型组大鼠心肌细胞凋亡指数较对照组显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,黄芪多糖 20、40 mg/kg 治疗 24 h 能够显著降低严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡指数($P < 0.05$ 、0.01),见表 2。

表2 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)Table 2 Effects of Astragalus polysaccharides on myocardial cell apoptosis index of severely burned rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	凋亡指数/%
对照	—	2.3 ± 1.5
模型	—	54.7 ± 8.2**
地塞米松	5	39.4 ± 7.6 [△]
黄芪多糖	10	49.1 ± 9.3
	20	40.5 ± 7.8 [△]
	40	21.6 ± 5.4 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs control group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

2.3 黄芪多糖对严重烧伤大鼠血清中 AST、CPK、LDH 和 cTnT 水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清中 AST、CPK、LDH、cTnT 水平均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芪多糖 20、40 mg/kg 组 AST、CPK、LDH、

cTnT 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 见表 3。

2.4 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌组织 SOD、CAT、MPO 活性和 MDA 含量的影响

与对照组比较, 模型组大鼠心肌组织中 SOD、CAT、MPO 活性显著降低, 且 MDA 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芪多糖 20、40 mg/kg 组 SOD、CAT 活性显著升高, MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 其中黄芪多糖 40 mg/kg 组 MPO 活性显著升高 ($P < 0.01$), 见表 4。

2.5 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌组织中 AKT mRNA、bcl-2 mRNA、Bax mRNA 表达及 bcl-2/Bax 表达比值的影响

模型组大鼠心肌组织中 AKT mRNA、bcl-2 mRNA、Bax mRNA 表达较对照组显著上调 ($P < 0.01$), bcl-2/Bax 比值显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与模型组比较, 经黄芪多糖 20、40 mg/kg 治疗 24 h 后, AKT mRNA、bcl-2 mRNA 表达显著上调、Bax mRNA 表达显著下调, bcl-2/Bax 比值显著升高, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 0.01), 见表 5。

表3 黄芪多糖对严重烧伤大鼠血清 AST、CPK、LDH、cTnT 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)Table 3 Effects of Astragalus polysaccharides on levels of AST, CPK, LDH, and cTnT in serum of severely burned rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	CPK/(U·L ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)	cTnT/(μg·L ⁻¹)
对照	—	208.7 ± 45.3	285.4 ± 56.0	230.1 ± 42.7	0.25 ± 0.05
模型	—	654.3 ± 97.5**	1 150.2 ± 167.9**	1 006.8 ± 123.6**	4.03 ± 0.76**
地塞米松	5	522.5 ± 76.8 [△]	816.2 ± 108.9 [△]	882.4 ± 127.3	2.57 ± 0.61 [△]
黄芪多糖	10	600.8 ± 104.9	996.7 ± 175.4	912.4 ± 135.6	3.39 ± 0.85
	20	513.4 ± 87.2 [△]	706.3 ± 142.8 ^{△△}	795.1 ± 108.7 [△]	2.14 ± 0.57 ^{△△}
	40	362.7 ± 69.1 ^{△△}	571.4 ± 90.5 ^{△△}	566.5 ± 93.8 ^{△△}	1.30 ± 0.42 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs control group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs model group表4 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌组织 SOD、CAT、MPO 活性和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)Table 4 Effects of Astragalus polysaccharides on activities of SOD, CAT, and MPO and content of MDA in myocardial tissue of severely burned rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	MPO/(U·g ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
对照	—	75.9 ± 8.6	33.7 ± 6.2	2.2 ± 0.4	2.41 ± 0.50
模型	—	51.2 ± 7.0**	18.5 ± 4.9**	4.3 ± 0.8**	4.63 ± 0.72**
地塞米松	5	61.7 ± 8.2 [△]	26.3 ± 6.0 [△]	3.9 ± 1.1	3.40 ± 0.92 [△]
黄芪多糖	10	55.4 ± 6.9	22.7 ± 6.0	4.0 ± 1.2	4.29 ± 1.04
	20	63.1 ± 8.2 [△]	25.4 ± 5.8 [△]	3.6 ± 1.0	3.12 ± 0.83 ^{△△}
	40	67.5 ± 10.4 ^{△△}	28.8 ± 7.4 ^{△△}	2.9 ± 0.7 ^{△△}	2.63 ± 0.77 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs control group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

表 5 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌组织中 AKT mRNA、bcl-2 mRNA、Bax mRNA 表达及 bcl-2/Bax 表达比值的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Table 5 Effects of Astragalus polysaccharides on expression of AKT mRNA, bcl-2 mRNA, and Bax mRNA in myocardial tissue of severely burned rats and ratio of bcl-2/Bax expression ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	AKT ($\times 10^{-3}$)	Bax ($\times 10^{-3}$)	bcl-2 ($\times 10^{-3}$)	bcl-2/Bax
对照	—	1.58±0.37	8.7±2.9	7.4±3.1	0.85±0.43
模型	—	2.06±0.54*	52.5±34.1**	13.9±5.4*	0.28±0.16**
地塞米松	5	2.54±0.72	36.4±20.0 [△]	21.3±9.4 [△]	0.47±0.31 [△]
黄芪多糖	10	2.17±0.68	41.8±23.6	18.2±7.9	0.44±0.23
	20	2.69±0.64 [△]	34.2±19.5 [△]	23.4±10.3 ^{△△}	0.68±0.27 ^{△△}
	40	3.05±0.72 ^{△△}	28.5±13.9 ^{△△}	28.1±12.5 ^{△△}	0.97±0.38 ^{△△}

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group

2.6 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌组织 caspase-3、NF-κB 蛋白表达的影响

通过半定量分析发现, 模型组大鼠心肌组织 caspase-3、NF-κB 蛋白表达量较对照组显著升高

($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芪多糖 20、40 mg/kg 治疗 24 h 能够显著降低严重烧伤大鼠心肌组织 caspase-3、NF-κB 蛋白表达量 ($P < 0.05$ 、0.01), 见图 2、表 6。

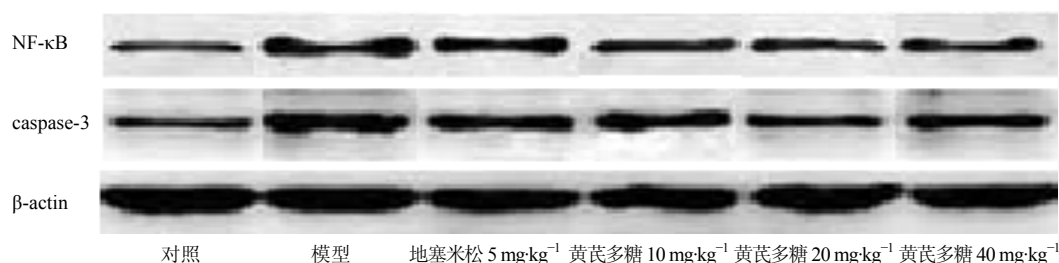


图 2 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌组织中 caspase-3、NF-κB 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effects of Astragalus polysaccharides on expression of caspase-3 and NF-κB in myocardial tissue of severely burned rats

表 6 黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌组织 caspase-3、NF-κB 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Table 6 Effects of Astragalus polysaccharides on expressions of caspase-3 and NF-κB in myocardial tissue of severely burned rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	caspase-3/β-actin	NF-κB/β-actin
对照	—	0.19±0.06	0.15±0.04
模型	—	0.46±0.08**	0.41±0.07**
地塞米松	5	0.36±0.09	0.34±0.06 [△]
黄芪多糖	10	0.40±0.12	0.38±0.10
	20	0.31±0.07 [△]	0.33±0.08 [△]
	40	0.27±0.08 ^{△△}	0.29±0.06 [△]

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group

3 讨论

严重烧伤不仅损害皮肤和皮下组织等直接受热损伤的组织和器官, 还可引起全身各组织器官并发症的发生。其中心肌损伤是烧伤早期即出现的并发症之一^[7], 其病理机制非常复杂; Maassd 等^[8]研

究发现, 心肌细胞凋亡是烧伤所致心肌损伤的重要病理机制通路。

细胞凋亡是有多种基因参与调控的主动性细胞死亡过程, Bcl-2 基因家族是非常重要的参与者, 其中 bcl-2 为抑凋亡基因, Bax 为促凋亡基因, bcl-2

主要在凋亡上游过程发挥作用,它能够与 Bax 蛋白结合形成异二聚体,抑制 Bax 蛋白的促凋亡作用^[9]; Jayanthi 等^[10]进一步研究发现,细胞凋亡甚至更依赖于 bcl-2/Bax 表达比值, bcl-2/Bax 比值越高,抑制凋亡作用越强。caspases 家族是细胞凋亡过程中重要的调控基因,其中 caspase-3 被认为是介导心肌细胞凋亡的重要病理机制之一。此外,周晓慧等^[9]研究发现 bcl-2 蛋白可抑制线粒体膜渗透性转移孔道的开放,阻止细胞色素 C、凋亡诱导因子及其他促凋亡蛋白酶因子-1、caspase-9 结合成三元复合物,阻止 caspase-9 激活,进而抑制 caspase-3 激活,从而抑制凋亡。氧化应激损伤是导致细胞凋亡的重要因素之一,而正常状态下,体内生成的氧自由基能够在 SOD 存在下催化还原氧自由基,生成 H₂O₂^[11],并在 CAT 的作用下进一步还原生成对人体无害的水和氧^[12]。MPO 是中性粒细胞特有酶^[13],其活性也能够反映机体抗氧化能力,所以血清中 SOD、CAT 及 MPO 的活性能够反映机体抗氧化能力;血清中 MDA 水平能够间接反映机体氧化应激损伤程度。NF- κ B 为多效能核转录因子,是连接氧化应激损伤和细胞凋亡的“桥梁”。Angkeow 等^[14]和 Deshpande 等^[15]研究发现,氧化应激或氧自由基可直接或间接激活 NF- κ B;活化的 NF- κ B 将转位进入细胞核内,与凋亡相关基因如 c-myc 等 NF- κ B 调控元件结合,促进基因转录并诱导细胞凋亡^[15]。

本研究采用 92 °C 水浴 18 s 的方法制备的 30% TBSA III 度烧伤模型大鼠进行研究发现:经黄芪多糖治疗能显著改善重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡状况、降低凋亡指数,改善抗氧化酶(SOD、CAT、MPO)活性、降低 MDA 含量,降低血清中 AST、CPK、LDH、cTnT 水平,上调抗凋亡基因 AKT、bcl-2 表达,下调促凋亡基因 Bax 和促凋亡蛋白 caspase-3、NF- κ B 表达。提示黄芪多糖对严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡和炎症反应具有抑制作用,其作用机制可能与黄芪多糖能够有效降低氧化应激损伤和调节凋亡相关基因和蛋白表达有关。

参考文献

- [1] Chen H L, Li D F, Chang B Y, *et al.* Effects of Chinese herbal polysaccharides on the immunity and growth performance of young broilers [J]. *Poult Sci*, 2003, 82(3): 364-370.
- [2] 巢 蕾,周 杰,朱萱萱,等. 黄芪多糖对人胃癌细胞系 MKN45 的生长抑制作用及细胞周期的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2012, 30(11): 2474-2477.
- [3] 周振华,王洪新,赵素玲,等. 黄芪多糖对脂多糖诱导大鼠心肌细胞肥大的保护作用 [J]. *中草药*, 2012, 43(3): 524-528.
- [4] 李承德,周文宾,孙 艳,等. 黄芪多糖对哮喘大鼠 Th17/Treg 细胞因子及肺部炎症的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(9): 1275-1278.
- [5] 张 莹,贾英杰,李小江,等. 注射用黄芪多糖对耐顺铂人肺腺癌细胞 A549/DDP 耐药逆转作用研究 [J]. *药物评价研究*, 2012, 35(35): 417-419.
- [6] 陈丹丹,宋 亮,刘丽娟. 黄芪多糖对肺气虚小鼠免疫调节作用 [J]. *陕西中医学院学报*, 2007, 30(3): 35-37.
- [7] 黄跃生,李志清,吴庆云,等. 缺血缺氧在大鼠烧伤后“休克心”中的作用及其机制探讨 [J]. *中华创伤杂志*, 2002, 18(4): 205-209.
- [8] Maassd D L, Hybki D P, White J, *et al.* The time course of cardiac NF-kappaB activation and TNF-alpha secretion by cardiac myocytes after burn injury: contribution to burn-related cardiac contractile dysfunction [J]. *Shock*, 2002, 17(4): 293-299.
- [9] 周晓慧,韩亚玲,杨鹤梅,等. 黄芩茎叶总黄酮对 H₂O₂ 诱导的心肌细胞凋亡相关基因 bcl-2 及 Bax 表达的影响 [J]. *广东医学*, 2007, 28(10): 1590-1591.
- [10] Jayanthi S, Deng X, Bordelon M, *et al.* Methamphetamine causes differential regulation of pro-death and anti-death Bcl-2 genes in the mouse neocortex [J]. *FASEB J*, 2001, 15(10): 1745-1752.
- [11] Lartigue A, Burlat B, Coutard B, *et al.* The megavirus chilensis Cu, Zn-superoxide dismutase: the first viral structure of a typical cellular copper chaperone-independent hyperstable dimeric enzyme [J]. *J Virol*, 2015, 89(1): 824-832.
- [12] Yoon G, Park S. Antioxidant action of soy isoflavones on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in exercised rats [J]. *Nutr Res Pract*, 2014, 8(6): 618-624.
- [13] 刘 振,王鹏飞,刘玲玲,等. 髓过氧化物酶在急性冠脉综合征危险分层中的临床意义 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13(5): 700-701.
- [14] Angkeow P, Deshpande S S, Qi B, *et al.* Redox factor-1: an extra-nuclear role in the regulation of endothelial oxidative stress and apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 2002, 9(7): 717-725.
- [15] Deshpande S S, Angkeow P, Huang J, *et al.* Rac1 inhibits TNF-alpha-induced endothelial cell apoptosis: dual regulation by reactive oxygen species [J]. *FASB J*, 2000, 14(12): 1705-1714.