

- 2016, 244(1): 1-8
- 6 杨雅婷, 张惠莉, 高继东. 男性藏汉族 2 型糖尿病患者血清 Apelin 水平对比 [J]. 医学研究杂志, 2014, 43(4): 125-127
- 7 Hus - Citharel A, Bouby N, Frugiere A, *et al.* Effect of apelin on glomerular hemodynamic function in the rat kidney [J]. *Kidney Int*, 2008, 74(4): 486-494
- 8 Zhang L, Li F, Su X, *et al.* Melatonin prevents lung injury by regulating apelin 13 to improve mitochondrial dysfunction [J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(7): 73
- 9 Poursmaeili - Babaki E, Esmaceli - Mahani S, Abbasnejad M, *et al.* Protective effect of neuropeptide apelin - 13 on 6 - hydroxydopamine - induced neurotoxicity in SH - SY5Y dopaminergic cells: involvement of its antioxidant and antiapoptotic properties [J]. *Rejuvenation Res*, 2018, 21(2): 162-167
- 10 Pisarenko O, Shulzhenko V, Studneva I, *et al.* Structural apelin analogues: mitochondrial ROS inhibition and cardiometabolic protection in myocardial ischaemia reperfusion injury [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(12): 2933-2945
- 11 Simpkin JC, Yellon DM, Davidson SM, *et al.* Apelin - 13 and apelin - 36 exhibit direct cardioprotective activity against ischemia - reperfusion injury [J]. *Basic Res Cardiol*, 2007, 102(6): 518-528
- 12 Wang LY, Diaol ZL, Zheng JF, *et al.* Apelin attenuates TGF - β 1 - induced epithelial to mesenchymal transition via activation of PKC - epsilon in human renal tubular epithelial cells [J]. *Peptides*, 2017, 96(1): 44-52
- 13 Nowak G, Takacsova - Bakajsova D, Megyesi J. Deletion of protein kinase C - epsilon attenuates mitochondrial dysfunction and ameliorates ischemic renal injury [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 312(1): F109-F120
- 14 Guo Y, Ni J, Chen S, *et al.* MicroRNA - 709 mediates acute tubular injury through effects on mitochondrial function [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(2): 449-461
- 15 Zhan M, Brooks C, Liu F, *et al.* Mitochondrial dynamics: regulatory mechanisms and emerging role in renal pathophysiology [J]. *Kidney Int*, 2013, 83(4): 568-581
- 16 Szeto HH, Liu S, Soong Y, *et al.* Mitochondria protection after acute ischemia prevents prolonged upregulation of IL - 1 β and IL - 18 and arrests CKD [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(5): 1437-1449
- 17 Tang WX, Wu WH, Qiu HY, *et al.* Amelioration of rhabdomyolysis - induced renal mitochondrial injury and apoptosis through suppression of Drp - 1 translocation [J]. *J Nephrol*, 2013, 26(6): 1073-1082
- 18 Benigni A, Perico L, Macconi D. Mitochondrial dynamics is linked to longevity and Protects from end - organ injury: the emerging role of Sirtuin 3 [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 25(4): 185-199
- 19 Suzuki T, Yamaguchi H, Kikusato M, *et al.* Mitochondrial acid 5 binds mitochondria and ameliorates renal tubular and cardiac myocyte damage [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(7): 1925-1932

(收稿日期:2019-11-16)

(修回日期:2019-11-28)

脂联素对脓毒症小鼠脑损伤的保护作用及机制

张占琴 王 强

摘 要 **目的** 观察脂联素对脂多糖诱导脓毒症小鼠脑损伤的保护作用,并探索线粒体功能在其中发挥的作用。**方法** 健康雄性 C57BL/6 小鼠 84 只,6~8 月龄,体质量 20~25g,采用数字表法随机分为 4 组,即空白对照组(CON 组)、脂联素对照组(APN 组)、脓毒症模型组(LPS 组)和脂联素干预组(LPS + APN 组)。应用旷场实验和跳台实验观察小鼠的行为学变化,进行 HE 染色观察海马病理形态学改变,提取海马线粒体检测 ROS、MDA、SOD 的表达,Western blot 法检测海马 Bcl - 2、Bax、cleaved caspase - 3 蛋白表达。**结果** LPS 组小鼠在旷场和跳台实验中表现出的学习记忆能力较对照组明显下降,使用脂联素干预后学习记忆能力有所改善;LPS 组小鼠海马神经元结构遭到破坏,海马线粒体 ROS 和 MDA 含量增加、SOD 水平降低,Bcl - 2、Bax、cleaved caspase - 3 蛋白表达水平增加。使用脂联素干预后神经元结构紊乱减轻,线粒体相关的氧化应激和凋亡水平降低。**结论** 线粒体损伤诱导的氧化应激和凋亡可能参与了脓毒症小鼠脑损伤,脂联素可能通过抑制线粒体损伤相关的氧化应激和凋亡来发挥神经保护以及改善认知作用。

关键词 脂联素 脓毒症脑损伤 线粒体 认知功能

中图分类号 R742

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.05.010

Protective Effect of Adiponectin on Septic Cerebral Injury and its Mechanism. Zhang Zhanqin, Wang Qiang. Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi 710061, China

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81801958);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(一般项目)(青年)(2019JQ-352)

作者单位:710061 西安交通大学第一附属医院麻醉手术部

通讯作者:张占琴,电子信箱:zhangzhanqin12@sina.com

Abstract Objective To investigate the protective effect of adiponectin on C57BL/6 mice with lipopolysaccharide – induced septic cerebral injury, and to explore the role of mitochondrial function in the mechanism of sepsis – associated cognitive dysfunction. **Methods** Healthy male C57BL/6 mice ($n = 84$), aged 6 – 8 months, weighing 20 – 25 g, were randomly divided into 4 groups: control (CON) group, adiponectin (APN) group, sepsis model (LPS) group and adiponectin treatment (LPS + APN) group. The behavioral changes of the mice were observed using the open – field test and step – down test. HE staining was used to observe the morphology of hippocampal neurons. ROS, MDA content and SOD activity of mitochondria in hippocampal tissues were detected by the kit. Western blot was used to detect the expressions of Bcl – 2, Bax and cleaved caspase – 3 proteins. **Results** Compared with the control group, the learning and memory of the model mice in the open – field test and step – down test were significantly decreased, and the decline were reversed after adiponectin intervention. Meanwhile, the levels of Bcl – 2, Bax and cleaved caspase – 3 protein expressions and the percentage of apoptotic cells increased, accompanied with the increased ROS, MDA content, reduced SOD activity and destroyed hippocampal cell structure. In the adiponectin intervention group, less pronounced cell structure destruction, depressed mitochondria – associated apoptosis and oxidative stress levels were observed compared with the LPS group. **Conclusion** The mitochondria – associated oxidative stress and apoptosis may be involved in cognitive impairment in septic mice. Adiponectin probably plays a protective effect in improving the cognitive function by inhibiting the mitochondria – associated apoptosis and antioxidative stress.

Key words Adiponectin; Septic cerebral injury; Mitochondria; Cognitive function

脓毒症是一种由机体对感染的反应失调引发危及生命的多器官功能障碍的致死性疾病^[1]。据流行病学报道,脓毒症患者约占总住院患者的2%,在重症监护病房(intensive care unit, ICU)中其所占比例为30.2%,病死率高达55.7%^[2]。脓毒症患者常常出现神经系统并发症,其与患者疾病的严重性和预后密切相关^[3]。脓毒症脑病(sepsis – associated encephalopathy, SAE)是脓毒症最常见的中枢神经系统并发症,目前SAE的发生率尚无定论,国外有研究报道其发生率可高达70%^[4]。SAE可发生在脓毒症的任何阶段,主要临床常表现为精神活动的延迟,注意力、定向力受损等,临床统计显示脑功能损伤和患者预后呈正相关,转入ICU时存在昏迷的脓毒症患者病死率高达60%,SAE是预测患者病死率的独立风险因素,合并SAE显著增加脓毒症的治疗难度^[5]。此外,Iwashyna等^[6]对脓毒症存活患者进行长达3年的随访,发现依然有17%患者发生中、重度认知功能障碍。因此积极治疗SAE对降低脓毒症患者病死率及改善预后具有重要意义。

有研究表明,脂联素缺乏增加促炎性细胞因子表达,血清中低脂联素浓度与脓毒症的严重程度具有负相关性,然而脂联素是否具有改善脓毒症脑损伤的作用尚未可知^[7]。脂联素可引起肌细胞线粒体数量增加,脓毒症患者普遍存在线粒体抗氧化能力下降和活性氧、自由基过度产生,最终导致线粒体氧化还原平衡失衡,而脂联素对脓毒症脑损伤的保护作用是否与改善线粒体功能有关,这一问题仍有待研究^[8,9]。本研究应用脂联素对脓毒症模型小鼠进行干预,探讨脂

联素治疗对脓毒症脑损伤发挥的效应,以期脂联素应用于SAE患者提供实验理论依据。

材料与方法

1. 实验动物:6 ~ 8 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠,体质量 22 ~ 25 g,购自西安交通大学动物实验中心,购买后适应性喂养 3 天,予自由饮食饮水。所有动物实验遵循国家所制定的有关实验动物保护和使用的指南,并经西安交通大学实验动物伦理学委员会批准通过。

2. 主要试剂:脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(Escherichia Coli O55:B5,美国 Sigma 公司);脂联素(以色列 ProSpec 公司);活性氧(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和超氧化物歧化酶(superoxide diamutase, SOD)检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);凋亡相关蛋白 B 淋巴瘤-2(B – cell lymphoma – 2, Bcl – 2)、Bcl – 2 相关蛋白(B – cell lymphoma 2 – Associated X, Bax)、活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(cleaved caspase – 3)和 β – actin 一抗(武汉三鹰生物技术有限公司)。

3. 分组、模型制备和标本采集:168 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠,采用数字表法随机分为空白对照组(CON 组)、脂联素对照组(APN 组)、脓毒症模型组(LPS 组)、脂联素干预组(LPS + APN 组)。参照文献[10]方法采用腹腔注射 LPS 15 mg/kg 制备脓毒症脑病模型,CON 组腹腔注射等量 0.9% 氯化钠注射液, LPS 组侧脑室注射等量 0.9% 氯化钠注射液, LPS + APN 组造模后 30 min 给予侧脑室注射 APN 0.1 μ g/g。一部分小鼠(每组 10 只)造模 24 h 后于麻

醉下断头取大脑,迅速分离大脑组织,取左侧大脑海马切面置于 40g/L 多聚甲醛溶液中固定,右侧海马组织液氮速冻后转于 -80°C 冰箱保存待用。其余小鼠(每组 16 只)造模后 2 周采用旷场实验和跳台实验对小鼠进行行为学实验,实验完毕后处死小鼠。本研究动物处置方法符合动物伦理学标准。

4. 旷场实验:取一个长 50cm × 50cm × 50cm 的旷场,箱底划分为 25 个方格,造模后 2 周将小鼠($n = 16$)放入旷场中心方格内,在旷场上方安置摄像机,记录 5min 内小鼠跨格数和站立次数。每次实验后清理小鼠留在旷场中的粪便。共进行为期 2 天的测试,第 1 天为训练期,第 2 天为试验期。由于动物对于再次进入同一个熟悉场景具有适应性的特性,该测试对跨格数和站立次数的统计分析主要用来评估训练期的运动表现和试验期的非空间学习记忆能力。

5. 跳台实验:造模后 2 周进行为期 2 天的跳台实验($n = 16$),训练期将小鼠放入跳台反射箱,适应 3min 后将其移上安全台,然后底部电栅栏通电,小鼠被电击 2s 后取出,并记录其从平台跳下来的时间,训练期内如果该动物未跳下平台则弃之不用。试验期(24h 后)将动物再次放在平台上,观察 3min,记录小鼠从平台跳下所需的时间,即跳台潜伏期。如果动物跳下平台时受到电击,再次放置于平台后动物可形成记忆而不跳下平台,跳台潜伏期常被用来作为评价学习记忆能力的重要指标。

6. 苏木精 - 伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色观察皮质病理改变:造模 24h 后分离大脑组织($n = 5$),取左侧大脑海马切面经 40g/L 多聚甲醛固定后,常规脱水、透明、石蜡包埋,海马组织切片后行 HE 染色,正置显微镜下采集数据并拍照。

7. 海马线粒体 ROS、MDA、SOD 检测:造模 24h 后取右侧海马组织($n = 5$),按先前方法提取线粒体,裂解液重悬后 BCA 法测定蛋白水平后备用^[11]。将线粒体悬液稀释至蛋白质量浓度为 1mg/ml,取 50 μl 线粒体悬液加入反应液,酶标仪行定量检测,按相应的说明书步骤操作,酶标仪读取吸光度值,按公式计算出数值后分别除以相应蛋白浓度即得各样本 ROS、MDA、SOD 水平。

8. 海马 Bcl-2、Bax、cyt-c、cleaved caspase-3 蛋白表达的检测:造模 24h 后取右侧海马组织($n = 5$),提取海马总蛋白制备上样样品,聚丙烯酰胺凝胶电泳后,将蛋白电转至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 1h。相继

孵育相应的一抗和二抗之后,经 Bio-Rad 凝胶成像系统扫描获得图像。

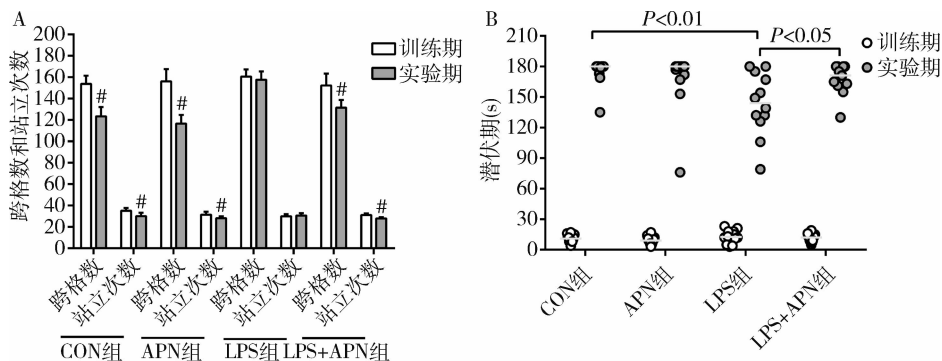
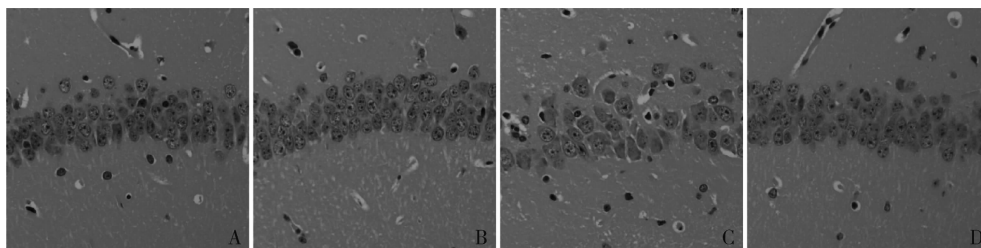
9. 统计学方法:使用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较方差齐采用 LSD 法,方差不齐采用 Dunnett T3 检验。跳台实验潜伏期采用中位数和四分位数 [$M(Q1, Q3)$] 表示,统计分析采用 Mann-Whitney U 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组小鼠行为学特征:造模后 2 周采用旷场实验($n = 16$)和跳台实验($n = 16$)对 4 组小鼠进行行为学实验。在旷场实验中,跨格数和站立次数的统计用来反应动物开发新环境的运动能力。训练期各组小鼠间的跨格数和站立次数比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与训练期比较,试验期 CON 组和 APN 组跨格数和站立次数显著减少($P < 0.01$),表明小鼠具有良好的记忆能力。与训练期比较,LPS 组小鼠跨格数和站立次数并未有明显改变,脂联素干预(LPS + APN 组)后,小鼠跨格数和站立次数减少($P < 0.01$)。在跳台实验中,训练期各组小鼠从跳台跳下来的时间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与训练期比较,试验期 CON 组和 APN 组跳台潜伏期显著延长($P < 0.01$),同样表明小鼠具有良好的记忆能力。在试验期,与 CON 组比较,LPS 组跳台潜伏期延迟显著降低,提示记忆受损($P < 0.01$);与 LPS 组比较,脂联素干预(LPS + APN)组可显著延长潜伏期($P < 0.05$),详见图 1。

2. 各组小鼠海马形态学改变:选取海马 CA1 区进行形态学观察,CON 组和 APN 组小鼠神经细胞形态结构清晰,细胞排列规则致密,神经元胞质丰富,胞核大而圆,核仁清楚(图 2 中 A、B);LPS 组可见细胞结构不清,神经元数量减少,神经元空泡样改变,核固缩、深染(图 2C);与 LPS 组比较,LPS + APN 组多数细胞结构清晰,神经元数量明显增多,发生空泡样变、核固缩以及深染的神经元减少(图 2D)。

3. 各组小鼠海马氧化损伤情况:与 CON 组比较,LPS 组小鼠海马线粒体 ROS 和 MDA 水平升高,SOD 活力下降,差异均有统计学意义(ROS: $P < 0.05$; MDA: $P < 0.01$; SOD: $P = 0.000$);与 LPS 组比较,LPS + APN 组线粒体 ROS 和 MDA 水平下降,SOD 活力增强,差异均有统计学意义(ROS: $P < 0.05$; MDA: $P < 0.05$; SOD: $P = 0.000$),详见表 1。

图1 4组小鼠旷场实验和跳台实验行为学特征($n=16$)A. 旷场实验; B. 跳台实验; 与训练期比较, # $P < 0.01$ 图2 4组小鼠海马形态学改变($n=5$, HE染色, $\times 400$)

A. CON组; B. APN组; C. LPS组; D. LPS+APN组

表1 4组小鼠海马线粒体ROS、MDA和SOD表达情况($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

组别	ROS	MDA	SOD
CON组	141.900 $\pm$ 9.666	4.546 $\pm$ 0.238	19.550 $\pm$ 1.012
APN组	145.200 $\pm$ 11.980	4.686 $\pm$ 0.181	20.060 $\pm$ 1.312
LPS组	219.800 $\pm$ 13.690 **	7.124 $\pm$ 0.788 *	11.080 $\pm$ 0.607 ***
LPS+APN组	172.300 $\pm$ 9.578 #	4.708 $\pm$ 0.499 #	17.440 $\pm$ 0.701 ##

与CON组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P = 0.000$; 与LPS组比较, # $P < 0.05$, ## $P = 0.000$

4. 各组小鼠海马凋亡相关蛋白的表达情况:造模24h后取右侧海马组织检测凋亡相关蛋白表达,与CON组比较,LPS组小鼠海马Bcl-2表达下降($P = 0.000$),Bax和cleaved caspase-3表达升高(Bax: $P = 0.000$;cleaved caspase-3: $P < 0.01$);与LPS组比较,LPS+APN组小鼠海马Bcl-2表达升高($P = 0.000$),Bax和cleaved caspase-3表达下降(Bax: $P < 0.01$;cleaved caspase-3: $P < 0.01$),详见图3和表2。

讨 论

脂联素是良好的胰岛素增敏剂,抗炎调节剂和抗动脉粥样硬化分子,脂联素缺乏增加促炎性细胞因子表达,放大肥胖和脓毒症中促炎表型,补充脂联素后通过调控氧化/硝化应激反应减轻LPS所致脓毒症

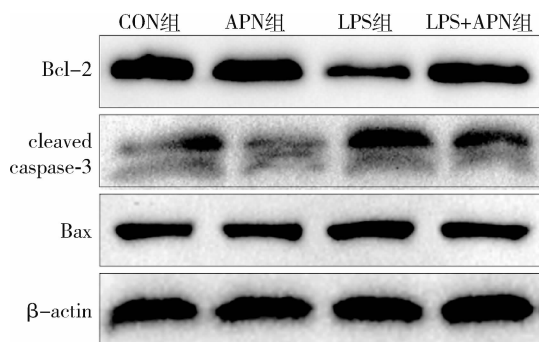


图3 4组小鼠海马内Bcl-2、cleaved caspase-3和Bax蛋白表达

表2 各组细胞中Bcl-2、cleaved caspase-3和Bax蛋白表达($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2/ β -actin	cleaved caspase-3/ β -actin	Bax/ β -actin
CON组	0.55 $\pm$ 0.03	1.04 $\pm$ 0.10	0.59 $\pm$ 0.01
APN组	0.58 $\pm$ 0.01	0.93 $\pm$ 0.04	0.55 $\pm$ 0.02 *
LPS组	0.31 $\pm$ 0.03 ***	1.40 $\pm$ 0.03 **	0.74 $\pm$ 0.03 ***
LPS+APN组	0.55 $\pm$ 0.01 ##	1.00 $\pm$ 0.03 ##	0.61 $\pm$ 0.02 #

与CON组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P = 0.000$; 与LPS组比较, # $P < 0.01$, ## $P = 0.000$

炎症性肺损伤和心肌损伤程度等,其可能成为改善脓毒症相关脏器功能损伤以及预后的潜在治疗靶

点或药物^[12,13]。SAE 发生率高,治疗难度大,然而其病理生理机制尚不十分明确且未有突破性进展^[5,14,15]。目前已经公认腹腔注射 LPS 能够普遍引起脑损伤,本研究采用腹腔注射 LPS 制备脓毒症模型,探索脂联素对脓毒症脑损伤的作用及机制。结果显示 LPS 组和 LPS + APN 组小鼠 HE 染色见空泡样变、核固缩以及深染等病理改变,提示 LPS 可引起脓毒症小鼠脑组织损伤。与 LPS 组比较,LPS + APN 组空泡样变、核固缩以及深染等病理改变有所减轻,且使用脂联素干预后 LPS + APN 组小鼠在旷场和跳台实验中表现出的学习记忆能力有所改善,表明脂联素对脓毒症小鼠脑组织损伤具有一定的保护作用。

已有研究表明 ROS 生成增多、氧化应激和细胞凋亡等与 SAE 的发生、发展密切相关^[9,16]。线粒体作为细胞的能量工厂,不仅参与细胞能量供应、钙稳态调节、氧化应激、凋亡等生理过程,更为重要的是,汇聚于线粒体的各种细胞信号通路以及线粒体释放的各种关键因子,是决定细胞存活的最终通路^[17]。脂联素通过脂联素受体 1 诱导细胞外 Ca^{2+} 内流、激活 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaMKK}\beta$ 、AMPK 和 SIRT1 和减少 PGC-1 α 乙酰化,最终引起肌细胞线粒体数量增加,这些研究结果提示脂联素在改善线粒体功能方面具有重要作用^[8]。本研究结果显示,脓毒症小鼠海马线粒体中 ROS 和脂质过氧化产物 MDA 生成增多,而抗氧化酶 SOD 活力下降,提示脓毒症脑组织损伤发生时线粒体氧化应激明显增强。APN 干预后,海马线粒体中 ROS 和 MDA 水平降低,而 SOD 活力增强,说明脂联素可减少脓毒症小鼠海马线粒体氧化应激,从而发挥抗氧化保护作用。

线粒体是过量 ROS 产生后的主要促凋亡靶点,ROS 大量产生引起线粒体膜脂质过氧化、线粒体膜上蛋白质和线粒体 DNA 氧化损伤,随后线粒体膜通透性增加和线粒体通透性转换孔开放使 Ca^{2+} 、Cyt-c、凋亡诱导因子 AIF 等大量释放,激活 pro-caspase-9 进而触发 caspases 级联效应引起细胞凋亡^[18]。过量的活性氧也可使线粒体电子传递链解偶联,下调 ATP 产生水平,上调促凋亡蛋白 Bax 的表达水平,最后使线粒体外膜破裂,导致细胞凋亡^[19,20]。在本研究中,脓毒症小鼠海马凋亡细胞明显增多,且 Bcl-2 表达减少,而 Bax 和 cleaved caspase-3 表达增加,提示脓毒症脑损伤发生与线粒体凋亡通路激活有关,这与先前的其他研究结果一致^[21,22]。虽然目前有相当多的证据表明脂联素及其受体在大脑中广泛表达,只有少

数研究关注了脂联素在脑功能紊乱中的作用以及修饰脂联素信号通路的药物的治疗潜力,它们在脑疾病中的确切作用仍不十分清楚。本研究发现脂联素干预后,Bcl-2 表达上调,而 Bax 和 cleaved caspase-3 表达减少,提示脂联素可通过抑制线粒体促凋亡通路激活在脓毒症脑损伤中发挥抗凋亡作用。

综上所述,本研究显示线粒体功能障碍和线粒体促凋亡通路激活可能参与了脓毒症脑损伤的发病过程,而脂联素则通过减少脓毒症小鼠海马线粒体氧化应激抑制线粒体促凋亡通路激活,从而在脓毒症脑损伤中发挥保护作用,为临床运用脂联素治疗 SAE 提供了实验依据。本研究只针对脂联素进行了探讨,而海马脂联素受体及其参与脂联素作用的具体分子机制仍不明确,有待于进一步研究。

参考文献

- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, *et al.* The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8):801-810
- Machado FR, Cavalcanti AB, Bozza FA, *et al.* The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study [J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(11):1180-1189
- Sweis R, Ortiz J, Biller J. Neurology of sepsis [J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2016, 16(3):21
- Sprung CL, Peduzzi PN, Shatney CH, *et al.* Impact of encephalopathy on mortality in the sepsis syndrome. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group [J]. Crit Care Med, 1990, 18(8):801-806
- Goffin TE, Young GB. Sepsis-associated encephalopathy [J]. Nat Rev Neurol, 2012, 8(10):557-566
- Iwashyna TJ, Cooke CR, Wunsch H, *et al.* Population burden of long-term survivorship after severe sepsis in older Americans [J]. J Am Geriatr Soc, 2012, 60(6):1070-1077
- Venkatesh B, Hickman I, Nisbet J, *et al.* Changes in serum adiponectin concentrations in critical illness: a preliminary investigation [J]. Crit Care, 2009, 13(4):R105
- Iwabu M, Yamauchi T, Okada M, *et al.* Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1 α and mitochondria by Ca^{2+} and AMPK/SIRT1 [J]. Nature, 2010, 464(7293):1313-1319
- Wu J, Zhang M, Hao S, *et al.* Mitochondria-targeted peptide reverses mitochondrial dysfunction and cognitive deficits in sepsis-associated encephalopathy [J]. Mol Neurobiol, 2015, 52(1):783-791
- Weberpals M, Hermes M, Hermann S, *et al.* NOS2 gene deficiency protects from sepsis-induced long-term cognitive deficits [J]. J Neurosci, 2009, 29(45):14177-14184
- Zhang Z, Ma Z, Yan C, *et al.* Muscle-derived autologous mitochondrial transplantation: a novel strategy for treating cerebral ischemic injury [J]. Behav Brain Res, 2019, 356:322-331

(下转第 52 页)

内皮细胞损伤、形成泡沫细胞^[7,10]。笔者经 Western blot 法检测发现,上调 Kv1.3 后 p38 蛋白磷酸化水平明显升高,下调 Kv1.3 引起 p38 蛋白磷酸化水平显著降低,而且呈 oxLDL 依赖性(图 7)。该结果提示,p38 信号通路可被 oxLDL 激活,并可能参与调控 HUVECs 膜受体 LOX-1 摄入 oxLDL。

基于以上的研究数据,笔者认为钾通道 Kv1.3 不仅参与调节 HUVECs LOX-1 的表达水平,还因此调节 HUVECs 摄取 oxLDL,该效应的实现与 p38 信号转导通路有关。本研究为 Kv1.3 参与动脉粥样硬化形成增添了新的实验依据,也令人们更加相信粥样斑块形成与心律失常发生机制密切相关。

参考文献

- Solé L, Roig SR, Vallejo - Gracia A, *et al.* The C - terminal domain of Kv1.3 regulates functional interactions with the KCNE4 subunit [J]. J Cell Sci, 2016, 129(22): 4265 - 4277
- Lei XJ, Ma AQ, Xi YT, *et al.* Inhibitory effects of blocking voltage - dependent potassium channel 1.3 on human monocyte - derived macrophage differentiation into foam cells [J]. J Peking Unive (Health Sci), 2006, 38(6): 257 - 261
- 任涛,王焱,常贺,等. 特异性 Kv1.3 通道阻断剂对大鼠动脉粥样硬化的影响[J]. 中国老年学杂志,2017,37(1):294 - 297
- Chen MY, Qiu H, Lin X, *et al.* Lectin - like oxidized low - density lipoprotein receptor (LOX - 1) in sickle cell disease vasculopathy [J]. Blood Cells Mol Dis, 2016, 60(9): 44 - 48
- Yoshimoto R, Fujita Y, Kakino A. The discovery of LOX - 1, its ligands and clinical significance [J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2011, 25(5): 379 - 391
- Sawamura T, Wakabayashi I, Okamura T. LOX - 1 in atherosclerotic disease [J]. Clin Chim Acta, 2015, 440(2): 157 - 163

- Izma Abdul Zani, Sam L Stephen, Nadeem A Mughal, *et al.* Scavenger receptor structure and function in health and disease [J]. Cells, 2015, 4(2): 178 - 201
- Chen MY, Narumiya S, Masaki T, *et al.* Conserved C - terminal residues within the lectin - like domain of LOX - 1 are essential for oxidized low - density - lipoprotein binding [J]. Biochem J, 2001, 355(Pt2): 289 - 296
- 何军, 马业新. ox - LDL 促进巨噬细胞 LOX - 1 表达及辛伐他汀干预研究[J]. 中国医师杂志, 2007, 9(6): 753 - 756
- 何军, 刘海潮, 马业新. 非对称性二甲基精氨酸促进大鼠主动脉氧化型低密度脂蛋白受体表达[J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(12): 1031 - 1034
- Yokota C, Sawamura T, Watanabe M. High levels of soluble lectin - like oxidized low - density lipoprotein receptor - 1 in acute stroke: an age - and sex - matched cross - sectional study [J]. J Atheroscler Thromb, 2016, 23(10): 1222 - 1226
- Xu S, Ogura S, Chen JW, *et al.* LOX - 1 in atherosclerosis: biological functions and pharmacological modifiers [J]. Cell Mol Life Sci, 2013, 70(16): 2859 - 2872
- Castro AL, Murdocca M, Pucci S, *et al.* Early hippocampal i - LTP and LOX - 1 overexpression induced by anoxia: a potential role in neurodegeneration in NPC mouse model [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(7): 1442
- 张邱兵, 张源明, 程路峰, 等. 新疆哈萨克族高血压病患者外周血 T 淋巴细胞电压依赖性钾通道及钙激活钾通道的电流变化 [J]. 中华心血管病杂志, 2013, 41(12): 1020 - 1024
- Yang Y, Wang YF, Yang XF, *et al.* Specific Kv1.3 blockade modulates key cholesterol - metabolism - associated molecules in human macrophages exposed to ox - LDL [J]. J Lipid Res, 2013, 54(1): 34 - 43

(收稿日期:2019 - 09 - 16)

(修回日期:2019 - 09 - 24)

(上接第 45 页)

- Cai L, Yi F, Dai Z, *et al.* Loss of caveolin - 1 and adiponectin induces severe inflammatory lung injury following LPS challenge through excessive oxidative/nitrate stress [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2014, 306(6): L566 - 573
- Watanabe Y, Shibata R, Ouchi N, *et al.* Adiponectin ameliorates endotoxin - induced acute cardiac injury [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 382035
- Sonneville R, de Montmollin E, Poujade J, *et al.* Potentially modifiable factors contributing to sepsis - associated encephalopathy [J]. Intensive Care Medicine, 2017, 43(8): 1075 - 1084
- Widmann CN, Heneka MT. Long - term cerebral consequences of sepsis [J]. Lancet Neurol, 2014, 13(6): 630 - 636
- Peng QY, Wang YM, Chen CX, *et al.* Inhibiting the CD38/cADPR pathway protected rats against sepsis associated brain injury [J]. Brain Res, 2018, 1678: 56 - 63
- Pfanner N, Warscheid B, Wiedemann N. Mitochondrial proteins: from biogenesis to functional networks [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(5): 267 - 284
- Dawson TM, Dawson VL. Mitochondrial mechanisms of neuronal cell death: potential therapeutics [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2017, 57: 437 - 454
- Santos LC, Vogel R, Chipuk JE, *et al.* Mitochondrial origins of fractional control in regulated cell death [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1313
- Liang J, Cao R, Wang X, *et al.* Mitochondrial PKM2 regulates oxidative stress - induced apoptosis by stabilizing Bcl2 [J]. Cell Res, 2017, 27(3): 329 - 351
- Messaris E, Memos N, Chatzigianni E, *et al.* Time - dependent mitochondrial - mediated programmed neuronal cell death prolongs survival in sepsis [J]. Crit Care Med, 2004, 32(8): 1764 - 1770
- Hara N, Chijiwa M, Yara M, *et al.* Metabolomic analyses of brain tissue in sepsis induced by cecal ligation reveal specific redox alterations——protective effects of the oxygen radical scavenger edaravone [J]. Shock, 2015, 44(6): 578 - 584

(收稿日期:2019 - 08 - 23)

(修回日期:2019 - 11 - 29)