

参附注射液对重症监护病房获得性衰弱模型大鼠的保护效应及其作用机制

王舒 余志宏 蓝海兵 李伟 李福星

南昌大学第二附属医院重症医学科, 江西南昌 330006

通信作者: 李福星, Email: 277985460@qq.com

【摘要】 目的 观察参附注射液对重症监护病房获得性衰弱(ICU-AW)的影响及作用机制。**方法** 选择雄性 SPF 级 SD 大鼠 20 只,按随机数字表法分为正常对照组(7 只)、模型组(7 只)、参附注射液治疗组(6 只)。采用左后肢固定 7 d 并腹腔注射 2.5 mg/kg 脂多糖(LPS)每日 1 次、持续 3 d 的方法复制 ICU-AW 大鼠模型,正常对照组不进行干预。参附注射液治疗组于制模后 4 d 尾静脉注射参附注射液 5 mL/kg,连续 7 d,每日 2 次(间隔 8 h);正常对照组及模型组注射等量生理盐水。于制模前和制模后 3、7、11 d,各组大鼠进行抓力测试和趾伸展评分(DAS);于制模后 7 d、11 d,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组血清中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的含量;于制模后 11 d,取各组大鼠左后肢肌肉组织,行苏木素-伊红(HE)染色和 Masson 染色观察组织病理学改变;采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测各组大鼠肌肉组织磷酸化核转录因子- κ B p65(p-NF- κ B p65)的蛋白表达水平;采用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测各组大鼠肌肉组织中肌肉环状指 1(MuRF1)和肌肉萎缩盒 F(MAFbx)的 mRNA 表达水平。**结果** 与正常对照组比较,模型组制模后 3 d、11 d DAS 评分均明显增加(分: 2.71 ± 1.25 、 3.50 ± 0.84 比 0.00 ± 0.00 , 均 $P < 0.05$),制模后 11 d 模型组大鼠左后肢抓力明显下降(g : 12.22 ± 3.60 比 87.89 ± 27.96 , $P < 0.05$),血清 IL-1 β 、TNF- α 含量均明显升高[IL-1 β (ng/L): 150.21 ± 28.24 比 112.34 ± 11.00 , TNF- α (ng/L): 47.10 ± 10.73 比 22.96 ± 4.18 , 均 $P < 0.05$],肌肉组织中 MAFbx、MuRF1 mRNA 及 p-NF- κ Bp65 的蛋白表达水平均明显升高[MAFbx mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 3.43 ± 0.27 比 1.00 ± 0.07 , MuRF1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 1.53 ± 0.22 比 1.01 ± 0.14 , p-NF- κ B p65 蛋白表达 (p-NF- κ B p65/Tublin): 0.78 ± 0.09 比 0.30 ± 0.05 , 均 $P < 0.05$]。与模型组比较,参附注射液治疗组制模 11 d 后大鼠左后肢抓力(g : 32.06 ± 10.92 比 12.22 ± 3.60)和 DAS 评分(分: 2.00 ± 1.10 比 3.50 ± 0.84)均明显降低(均 $P < 0.05$),血清 IL-1 β 含量(ng/L: 111.19 ± 24.93 比 150.21 ± 28.24 , $P < 0.05$)和肌肉组织中 MAFbx、MuRF1 mRNA 及 p-NF- κ B p65 的蛋白表达水平均明显降低[MAFbx mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.87 ± 0.09 比 3.43 ± 0.27 , MuRF1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.56 ± 0.14 比 1.53 ± 0.22 , p-NF- κ B p65 蛋白表达 (p-NF- κ Bp65/Tublin): 0.43 ± 0.06 比 0.78 ± 0.09 , 均 $P < 0.05$]。HE 和 Masson 染色结果显示,模型组肌肉组织纤维化严重,肌细胞核内移,肌细胞出现溶解坏死,肌纤维萎缩;与模型组比较,参附注射液治疗组肌细胞损伤、肌萎缩及纤维化均有所改善。**结论** 参附注射液可通过调控 NF- κ B 信号通路及 MAFbx/MuRF1 表达抑制 ICU-AW 大鼠的炎症反应,缓解肌萎缩,从而改善肌力。

【关键词】 重症监护病房获得性衰弱; 参附注射液; 大鼠; 骨骼肌

基金项目: 江西省中医药管理局科技计划一般项目(2021A050);江西省自然科学基金面上项目(20252BAC240577)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.04.015

Protective effects and mechanisms of Shenfu injection on intensive care unit-acquired weakness in rat models

Wang Shu, Yu Zhihong, Lan Haibing, Li Wei, Li Fuxing

Department of Intensive Care Unit, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China

Corresponding author: Li Fuxing, Email: 277985460@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of Shenfu injection on intensive care unit-acquired weakness (ICU-AW). **Methods** Twenty male specific pathogen free (SPF) Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into a normal control group ($n = 7$), a model group ($n = 7$), and a Shenfu injection treatment group ($n = 6$) using a random number table method. The ICU-AW rat model was established by fixing the left hind limb for 7 days combined with intraperitoneal injection of 2.5 mg/kg lipopolysaccharide (LPS) once daily for 3 consecutive days; the normal control group received no intervention. At 4 days after modeling, the Shenfu injection treatment group received Shenfu injection 5 mL/kg via tail vein injection, twice daily (8 hours apart) for 7 consecutive days; the normal control group and the model group received an equal volume of normal saline. Before model establishment and on days 3, 7, and 11 after modeling, grip strength test and digit abduction scoring (DAS) were performed in each group. Serum levels of interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on days 7, and 11 after modeling. Left hind limb muscle were collected for hematoxylin-eosin (HE) staining and Masson staining to observe histopathological changes on days 11 after modeling. The protein

expression level of phosphorylated nuclear factor- κ B p65 (p-NF- κ B p65) was detected by Western blotting. The mRNA expression levels of muscle ring finger 1 (MuRF1) and muscle atrophy F-box gene (MAFbx) were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR). **Results** Compared with the normal control group, the DAS in the model group at 3 days and 11 days after modeling were both increased (2.71 ± 1.25 , 3.50 ± 0.84 vs. 0.00 ± 0.00 , both $P < 0.05$); at 11 days after modeling, the grip strength of left hind limb in the model group was significantly decreased (g: 12.22 ± 3.60 vs. 87.89 ± 27.96 , $P < 0.05$), serum levels of IL-1 β and TNF- α were significantly increased [IL-1 β (ng/L): 150.21 ± 28.24 vs. 112.34 ± 11.00 , TNF- α (ng/L): 47.10 ± 10.73 vs. 22.96 ± 4.18 , both $P < 0.05$], the mRNA expression levels of MAFbx and MuRF1 and the protein expression level of p-NF- κ B p65 in muscle were all increased [MAFbx mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$): 3.43 ± 0.27 vs. 1.00 ± 0.07 , MuRF1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$): 1.53 ± 0.22 vs. 1.01 ± 0.14 , protein expression of p-NF- κ B p65 (p-NF- κ B p65/Tublin): 0.78 ± 0.09 vs. 0.30 ± 0.05 , all $P < 0.05$]. Compared with the model group, at 11 days after modeling in the Shenfu injection treatment group, the grip strength of left hind limb (g: 32.06 ± 10.92 vs. 12.22 ± 3.60) and DAS (2.00 ± 1.10 vs. 3.50 ± 0.84) were both significantly decreased (both $P < 0.05$), the serum IL-1 β level (ng/L: 111.19 ± 24.93 vs. 150.21 ± 28.24 , $P < 0.05$) and the mRNA expression levels of MAFbx and MuRF1 and the protein expression level of p-NF- κ B p65 in muscle were all significantly decreased [MAFbx mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$): 0.87 ± 0.09 vs. 3.43 ± 0.27 , MuRF1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$): 0.56 ± 0.14 vs. 1.53 ± 0.22 , protein expression of p-NF- κ B p65 (p-NF- κ B p65/Tublin): 0.43 ± 0.06 vs. 0.78 ± 0.09 , all $P < 0.05$]. HE and Masson staining showed that severe fibrosis, nuclear internalization of myocytes, myocyte lysis and necrosis, and muscle fiber atrophy in the model group; compared with the model group, the Shenfu injection treatment group showed improvements in myocyte injury, muscle atrophy, and fibrosis. **Conclusion** Shenfu injection can inhibit the inflammatory response and alleviate muscle atrophy in ICU-AW rats by regulating the NF- κ B signaling pathway and the expression of MAFbx/MuRF1, thereby improving muscle strength.

[Key words] Intensive care unit-acquired weakness; Shenfu injection; Rats; Skeletal muscle

Fund program: General Project of Science and Technology Program of Jiangxi Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine (2021A050); Jiangxi Provincial Natural Science Foundation (20252BAC240577)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.04.015

重症监护病房获得性衰弱(intensive care unit-acquired weakness, ICU-AW)是危重患者经常发生的神经病变和(或)肌肉病变,可导致急性期及长期不良预后^[1-3]。脓毒症及全身炎症反应是促进 ICU-AW 发生的重要因素^[4-5]。动物及临床试验显示,参附注射液在严重脓毒症中有改善血流动力学及抗炎的作用^[6]。本研究使用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)注射联合后肢固定的方法复制 ICU-AW 大鼠模型,观察参附注射液干预后大鼠肌力和骨骼肌组织形态学变化、炎症因子、磷酸化核转录因子- κ B p65 (phosphorylated nuclear factor- κ B p65, p-NF- κ B p65)及肌萎缩相关基因的表达水平,探讨参附注射液对 ICU-AW 的影响及潜在机制,阐明参附注射液在脓毒症所致 ICU-AW 防治中的价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂:选择雄性 SPF 级 SD 大鼠,体质量 220~240 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物许可证号:SCXK(京)2019-0008。LPS 由美国 MCE 公司生产,白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒由武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司生产, RNA 超纯提取试剂盒由江苏康为世纪生物股份有限

公司生产,微管蛋白(Tubulin)一抗由美国 Affinity 公司生产, p-NF- κ B p65 一抗由美国 Proteintech 公司生产,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔二抗、马松(Masson)三色染色液由武汉塞维尔生物科技有限公司生产。

1.2 研究分组及 ICU-AW 模型制备:按随机数字表法将 20 只大鼠分为正常对照组(7 只)、模型组(7 只)、参附注射液治疗组(6 只)。采用腹腔注射 LPS 2.5 mg/kg,每日 1 次,连续 3 d 联合左后肢固定 7 d^[7]的方法构建 ICU-AW 动物模型;正常对照组不进行干预。制模后 4 d,参附注射液治疗组于尾静脉注射参附注射液 5 mL/kg,每日 2 次,每次间隔 8 h,连续 7 d。

1.3 伦理学:本研究符合实验动物福利伦理要求,由实验平台江西中洪博元生物技术有限公司伦理委员会批准(审批号:LL-202402190001),实验过程中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 肌肉组织病理学观察:制模后 3 d,随机处死正常对照组及模型组大鼠各 1 只,取左后肢肌肉行苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察肌肉组织病理学改变以评估制模效果。制模后 11 d 处死各组所有大鼠取左后肢肌肉组织,进行 HE 和 Masson 染色。将肌肉组织用 4% 多聚甲醛水溶液

固定,石蜡包埋,然后制成 5 μm 厚切片,经烤片、脱蜡、水化后,用 HE 染色,乙醇脱水,用超净高级封片胶封片。石蜡切片脱蜡水化后,按照 Masson 三色染色法操作,二甲苯透明切片,中性树胶封片。在显微镜下观察各组肌肉组织的病理学改变,采集并分析图像。

1.4.2 肌力评估:于制模前和制模后 3、7、11 d 采用抓力测试仪测试各组大鼠左后肢抓力,并进行趾伸展评分(digit abduction scoring, DAS)。抓力测试 DAS 由同一名实验员完成。DAS 分为 5 个等级^[8],对应分值为 0~4 分,0 分为平足(脚掌平),正常外展脚趾;1 分为平足,2 个脚趾触碰,不能外展;2 分为平足,所有脚趾或 3 个脚趾触碰,不能外展,顶端略有空隙;3 分为平足,5 个脚趾触碰,不能外展或弯足(脚掌弯曲),4 个脚趾触碰;4 分为弯足,5 个脚趾触碰。分值越高代表肌力越差。

1.4.3 采用 ELISA 检测各组血清中 IL-1 β 、TNF- α 的含量:于制模后 7 d、11 d 取各组大鼠尾静脉采血,1 000 $\times g$ 离心 20 min,取上清液,采用 ELISA 检测各组血清中 IL-1 β 、TNF- α 的含量,操作严格按试剂盒说明书进行。

1.4.4 采用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qPCR)检测各组大鼠肌肉组织中肌肉环状指 1 (muscle ring finger 1, MuRF1)和肌肉萎缩盒 F (muscular atrophy F-box, MAFbx)的 mRNA 表达:制模后 11 d 处死所有大鼠取左后肢肌肉组织,充分研磨,采用 RNA 超纯提取试剂盒提取 mRNA,利用安徽生物系统有限公司合成的引物序列,通过 RNA 逆转录试剂盒合成互补 DNA,以互补 DNA 为模板,进一步实施扩增反应,在 qPCR 仪上检测,最后以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 MuRF1 和 MAFbx 的 mRNA 表达水平。

1.4.5 采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测各组肌肉组织中 p-NF- κB p65 的蛋白表达:制模后 11 d 处死各组所有大鼠取左后肢的肌肉组织,加入裂解液,充分研磨,12 000 r/min(离心半径 6.26 cm)4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,取上清液获取总蛋白。用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)法测定蛋白浓度。蛋白变性后上样,十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)凝胶电泳 1.5 h,湿法转膜 80 min,用 5% 脱脂奶粉在室温下封闭 1 h,加入 p-NF- κB p65 一抗稀释液 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,再加入对应的二抗室温孵育 2 h,用电化学发光

(electrochemiluminescent immunoassay, ECL)曝光液浸湿聚偏二氟乙烯膜,置于超高敏感度化学发光成像系统中显影。Image lab 软件分析各组蛋白条带的灰度值,以目的蛋白与内参照 Tubulin 灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达水平。

1.5 统计学分析:使用 SPSS 29.0 统计软件分析数据。计量资料均符合正态分布,以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间数据比较采用方差分析,两两比较采用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 参附注射液干预时点的确定:与正常对照组比较,制模后 3 d,模型组、参附注射液治疗组 DAS 评分均明显增加(表 1;均 $P < 0.05$);HE 染色显示(图 1):正常对照组肌肉组织结构形态正常,肌纤维结构致密;模型组肌肉组织内有大量纤维增生、炎症细胞浸润、出血现象,肌纤维萎缩并出现溶解坏死。证实制模后 3 d 大鼠出现明显的 ICU-AW 表现,因此参附注射液治疗组于制模后 4 d 开始尾静脉注射参附注射液。

表 1 各组大鼠不同时点左后肢 DAS 评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	DAS 评分(分)	
		制模前	制模后 3 d
正常对照组	7	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
模型组	7	0.00 $\pm$ 0.00	2.71 $\pm$ 1.25 ^{ab}
参附注射液治疗组	6	0.00 $\pm$ 0.00	2.50 $\pm$ 0.55 ^{ab}
组别	动物数 (只)	DAS 评分(分)	
		制模后 7 d	制模后 11 d
正常对照组	7	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
模型组	7	3.67 $\pm$ 0.82 ^{ab}	3.50 $\pm$ 0.84 ^{ab}
参附注射液治疗组	6	3.17 $\pm$ 0.41 ^{ab}	2.00 $\pm$ 1.10 ^{abc}

注:与本组制模前比较,^a $P < 0.05$;与正常对照组同期比较,^b $P < 0.05$;与模型组同期比较,^c $P < 0.05$

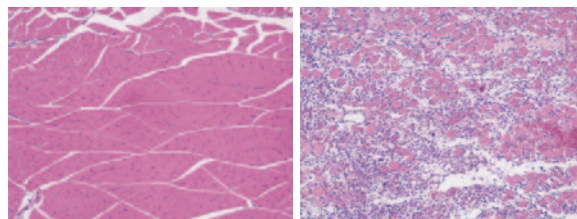


图 1 光镜下观察正常对照组(左)和模型组(右)大鼠骨骼肌组织病理学改变 HE 染色 中倍放大

2.2 参附注射液对 ICU-AW 大鼠肌力的影响(表 1~2):制模前各组大鼠左后肢抓力比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),DAS 评分均为 0。与本组制模前比较,制模后 3 d 模型组和参附注射液治疗

组 DAS 评分均明显增加,制模后 7 d 模型组和参附注射液治疗组 DAS 评分均达高峰且左后肢抓力显著下降(均 $P<0.05$),制模后 11 d 模型组和参附注射液治疗组的肌力仍未恢复到制模前水平(均 $P<0.05$)。与正常对照组比较,制模后 7 d、11 d 模型组左后肢抓力明显下降,制模后 3、7、11 d DAS 评分均明显升高(均 $P<0.05$)。与模型组比较,制模后 7 d 和 11 d,参附注射液治疗组大鼠左后肢抓力均明显增加,制模后 11 d DAS 评分降低(均 $P<0.05$)。

表 2 各组大鼠不同时点左后肢抓力比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	左后肢抓力(g)		
		制模前	制模后 7 d	制模后 11 d
正常对照组	7	45.44 ± 13.05	54.78 ± 23.20	87.89 ± 27.96
模型组	7	45.48 ± 12.22	3.67 ± 1.64 ^{ab}	12.22 ± 3.60 ^{ab}
参附注射液 治疗组	6	50.94 ± 11.16	6.00 ± 1.88 ^{abc}	32.06 ± 10.92 ^{abc}

注:与本组制模前比较,^a $P<0.05$;与正常对照组同期比较,^b $P<0.05$;与模型组同期比较,^c $P<0.05$

2.3 各组 ICU-AW 大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 含量比较(表 3):与正常对照组比较,制模后 7 d、11 d 模型组血清中 IL-1 β 、TNF- α 含量均明显升高(均 $P<0.05$);与模型组比较,制模后 7 d 参附注射液治疗组血清中 IL-1 β 、TNF- α 含量均明显降低(均 $P<0.05$),制模后 11 d 参附注射液治疗组 IL-1 β 含量明显降低($P<0.05$),而 TNF- α 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3 各组大鼠不同时间点血清 IL-1 β 、TNF- α 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物数 (只)	IL-1 β (ng/L)	TNF- α (ng/L)
正常对照组	制模后 7 d	6	120.06 ± 22.13	22.05 ± 3.44
	制模后 11 d	6	112.34 ± 11.00	22.96 ± 4.18
模型组	制模后 7 d	6	265.32 ± 82.18 ^a	35.61 ± 6.10 ^a
	制模后 11 d	6	150.21 ± 28.24 ^{ab}	47.10 ± 10.73 ^a
参附注射液 治疗组	制模后 7 d	6	125.72 ± 32.02 ^c	24.32 ± 4.11 ^c
	制模后 11 d	6	111.19 ± 24.93 ^c	41.96 ± 2.54 ^{ab}

注:与正常对照组同期比较,^a $P<0.05$;与本组制模后 7 d 比较,^b $P<0.05$;与模型组同期比较,^c $P<0.05$

2.4 各组 ICU-AW 大鼠骨骼肌 MAFbx、MuRF1 mRNA 表达水平比较(表 4):与正常对照组比较,模型组肌肉组织中 MAFbx、MuRF1 的 mRNA 水平明显升高(均 $P<0.05$);与模型组比较,参附注射液治疗组 MAFbx、MuRF1 的 mRNA 表达水平明显下降(均 $P<0.05$)。

表 4 各组大鼠肌肉组织中 MAFbx、MuRF1 的 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	MAFbx mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	MuRF1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)
正常对照组	6	1.00 ± 0.07	1.01 ± 0.14
模型组	6	3.43 ± 0.27 ^a	1.53 ± 0.22 ^a
参附注射液治疗组	6	0.87 ± 0.09 ^b	0.56 ± 0.14 ^{ab}

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

2.5 各组 ICU-AW 大鼠 p-NF- κ B p65 的蛋白表达水平比较(表 5;图 2):与正常对照组比较,模型组大鼠肌肉组织 p-NF- κ B p65 的蛋白表达水平明显升高($P<0.05$);与模型组比较,参附注射液治疗组 p-NF- κ B p65 的蛋白表达明显降低($P<0.05$)。

表 5 各组大鼠骨骼肌组织中 p-NF- κ B p65 蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	p-NF- κ B p65 蛋白表达 (p-NF- κ B p65/Tubulin)
正常对照组	6	0.30 ± 0.05
模型组	6	0.78 ± 0.09 ^a
参附注射液治疗组	6	0.43 ± 0.06 ^{ab}

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

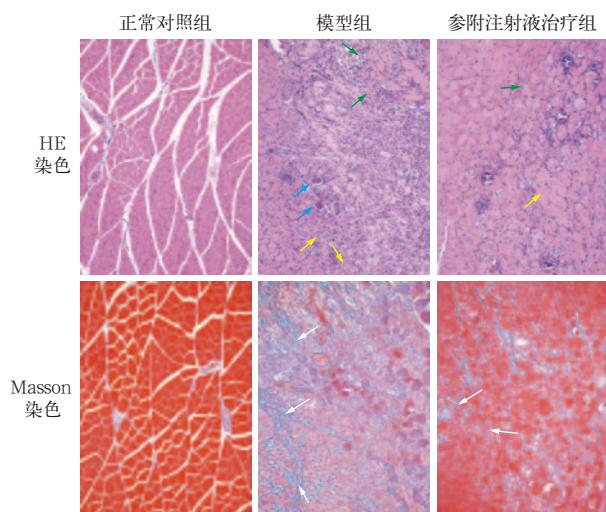


图 2 Western blotting 检测各组大鼠骨骼肌组织中 p-NF- κ B p65 的蛋白表达水平

2.6 各组 ICU-AW 大鼠骨骼肌损伤及纤维化水平比较(表 6;图 3):HE 染色显示,制模后 11 d,正常对照组肌肉纤维横断面呈多角形,细胞核位于肌纤维周围,肌束排列规则,仅在血管周围存在少量胶原纤维,未见明显异常;模型组肌肉组织结构疏松,肌萎缩,肌细胞核增多、内移(黄色箭头),部分肌细胞出现溶解坏死(绿色箭头)及钙化(蓝色箭头),纤维化严重(白色箭头);与模型组比较,参附注射液治疗组核内移、肌细胞溶解坏死、肌萎缩及纤维化等情况均得到改善。Masson 染色显示,正常对照组仅在血管周围存在少量胶原纤维;模型组肌纤维萎缩变细,间质胶原纤维沉积明显增多、纤维化严重(白色箭头);与模型组比较,参附注射液治疗组纤维化明显减少。Masson 染色量化分析显示,模型组胶原容积分数较正常对照组显著升高($P<0.05$),参附注射液治疗组胶原容积分数较模型组呈下降趋势,但两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 6 各组大鼠骨骼肌组织胶原容积分数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	胶原容积分数
正常对照组	6	0.29 ± 0.12
模型组	6	2.66 ± 1.41 ^a
参附注射液治疗组	6	1.49 ± 0.69 ^a

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$ 

注:黄色箭头代表肌细胞核增多、内移,绿色箭头代表肌细胞溶解坏死,蓝色箭头代表肌细胞钙化,白色箭头代表肌细胞纤维化严重

图 3 光镜下观察各组大鼠骨骼肌组织病理学改变
中倍放大

3 讨论

建立动物模型对于深入研究 ICU-AW 至关重要。目前 ICU-AW 动物模型主要包括脓毒症模型、去神经-类固醇模型、废用性模型、ICU 模型等,这些制备模型的方法各有优缺点,但总的来说模拟的临床状态及病理状态比较单一^[9]。研究显示,SD 大鼠进行多种手段联合干预建立的 ICU-AW 动物模型能较好地模拟临床状态,且模型稳定^[7]。因此,本研究参照文献采用脓毒症联合单肢固定手段制备动物模型,结果显示,正常对照组大鼠骨骼肌纤维形态正常,模型组肌纤维核增多、内移,肌纤维萎缩并出现溶解坏死,肌肉组织纤维化严重、大量炎症细胞浸润;与正常对照组比较,模型组大鼠肌力下降明显且持续时间长,提示模型制备成功。

参附注射液是由红参、附子两味药物组成的中药制剂,现代药理学研究表明,其有多种药理学作用。动物实验显示,参附注射液能降低血清促炎介质 TNF- α 和 IL-6 水平,调节促炎/抗炎因子的平衡^[10-11]。也有临床研究显示,联合使用参附注射液和早期液体复苏可更好地改善血液动力学,减少对重要器官的损害,并缩短脓毒性休克患者的机械通

气和 ICU 住院时间^[12-13]。《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》^[14]中对于参附注射液在脓毒性休克中的治疗作用给予了肯定。本研究显示,针对脓毒症联合肢体固定诱导的 ICU-AW 大鼠模型,参附注射液可减轻其骨骼肌损伤坏死、肌萎缩及肌肉组织纤维化,明显改善其肌力。

泛素连接酶 MuRF1 和 MAFbx 是泛素-蛋白酶体系统介导肌肉蛋白水解的关键正向调节因子,被认为在肌肉萎缩中起关键作用^[15-17],研究证实,ICU-AW 患者呼吸肌及四肢肌肉中泛素蛋白酶系统相关基因的 mRNA 升高、肌肉蛋白泛素化和肌肉蛋白水解增加^[18-20];动物模型研究也显示, MuRF1 和 MAFbx 的 mRNA 表达水平均升高^[21],这与本研究的结果一致,而参附注射液可降低 ICU-AW 大鼠肌肉组织中 MuRF1 和 MAFbx 的 mRNA 表达水平。全身炎症反应是危重症特别是脓毒症患者器官损伤及死亡的重要机制^[22],而促炎细胞因子也被证实与 ICU-AW 发生相关,其中 TNF- α 和 IL-1 对骨骼肌的影响研究最广泛。NF- κ B 作为细胞内重要的转录因子,激活后可上调 TNF- α 、IL-1 β 的表达, TNF- α 增高的同时也会促进 NF- κ B 活化,进一步加重炎症反应。IL-1 可通过多种机制导致 ICU-AW^[9, 23]: 阻断肌浆网钙离子的释放,上调诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达,促进氧化损伤,上调泛素基因表达,诱导骨骼肌蛋白水解,抑制蛋白合成。通常认为 TNF- α 是通过两种机制促进肌无力:促进肌肉萎缩和诱导收缩功能障碍^[9]。TNF- α 通过激活 NF- κ B 和 p38 丝裂素活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK),促进 MuRF1 和 MAFbx 的表达,选择性抑制 NF- κ B 可防止 TNF- α 诱导的肌肉蛋白丢失^[9, 23]。在小鼠制动模型中,抑制 NF- κ B 转录可降低 MuRF1 和 MAFbx 的表达^[24], NF- κ B 的激活还能抑制成肌分化因子的表达,阻碍骨骼肌分化和损伤修复^[25]。本研究结果显示,参附注射液可降低 ICU-AW 大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 含量,以及骨骼肌中 NF- κ B 的蛋白表达,提示参附注射液可抑制炎症反应,并通过减轻促炎细胞因子诱导的骨骼肌功能障碍及肌肉蛋白水解等机制改善 ICU-AW。

本研究结果为参附注射液对 ICU-AW 的防治价值提供了理论依据,但本研究也存在一定局限性和不足之处:除了脓毒症、制动外, ICU-AW 的主要风险因素还有很多,且病理生理机制复杂,还需不同

模型来验证参附注射液的干预效应并进一步研究其分子机制及作用靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fan E, Cheek F, Chlan L, et al. An official American Thoracic Society Clinical Practice guideline: the diagnosis of intensive care unit-acquired weakness in adults [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190 (12): 1437-1446. DOI: 10.1164/rccm.201411-2011ST.
- [2] Van Aerde N, Meersseman P, Debaveye Y, et al. Five-year impact of ICU-acquired neuromuscular complications: a prospective, observational study [J]. *Intensive Care Med*, 2020, 46 (6): 1184-1193. DOI: 10.1007/s00134-020-05927-5.
- [3] Chen J, Huang M. Intensive care unit-acquired weakness: recent insights [J]. *J Intensive Med*, 2024, 4 (1): 73-80. DOI: 10.1016/j.jointm.2023.07.002.
- [4] 郑卉, 史源, 张钊龙, 等. ICU 获得性衰弱的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2024, 36 (3): 308-312. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20231113-00975.
- [5] Winkelman C. The role of inflammation in ICU-acquired weakness [J]. *Crit Care*, 2010, 14 (4): 186. DOI: 10.1186/cc9187.
- [6] 司向, 管向东. 参附注射液在危重症患者中的应用进展 [J/OL]. *中华重症医学电子杂志 (网络版)*, 2020, 6 (1): 92-95. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2096-1537.2020.028.
- [7] 刘芙蓉, 敖雪, 刘蕾, 等. ICU 获得性肌无力动物模型的建立及病理机制探讨 [J]. *医学研究生学报*, 2020, 33 (3): 264-269. DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2020.03.009.
- [8] Aoki KR. A comparison of the safety margins of botulinum neurotoxin serotypes A, B, and F in mice [J]. *Toxicon*, 2001, 39 (12): 1815-1820. DOI: 10.1016/s0041-0101(01)00101-5.
- [9] Friedrich O, Reid MB, Van den Berghe G, et al. The sick and the weak: neuropathies/myopathies in the critically ill [J]. *Physiol Rev*, 2015, 95 (3): 1025-1109. DOI: 10.1152/physrev.00028.2014.
- [10] Xing X, Jiang RL, Wang LC, et al. Shenfu injection alleviates intestine epithelial damage in septic rats [J]. *Am J Emerg Med*, 2015, 33 (11): 1665-1670. DOI: 10.1016/j.ajem.2015.08.001.
- [11] 孙晗, 孙雅楠, 孙佳莹, 等. 基于 NF- κ B 信号通路探讨参附注射液对糖尿病大鼠心脏保护作用的机制 [J]. *中药材*, 2024, 47 (3): 724-729. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2024.03.033.
- [12] Li MQ, Pan CG, Wang XM, et al. Effect of the Shenfu injection combined with early goal-directed therapy on organ functions and outcomes of septic shock patients [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 72 (3): 807-812. DOI: 10.1007/s12013-015-0537-4.
- [13] 李梅玲, 潘婷婷, 吕玲玲, 等. 中医辨证施治联合标准集束化方案治疗脓毒性休克患者的临床疗效 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31 (7): 852-856. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.07.011.
- [14] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症 / 脓毒性休克治疗指南 (2014) [J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (6): 401-426. DOI: 10.3760/j.issn.2095-4352.2015.06.001.
- [15] Nishimura Y, Chunthornng-Orn J, Lord S, et al. Ubiquitin E3 ligase Atrogin-1 protein is regulated via the rapamycin-sensitive mTOR-S6K1 signaling pathway in C2C12 muscle cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2022, 323 (1): C215-C225. DOI: 10.1152/ajpcell.00384.2021.
- [16] Gellhaus B, Böker KO, Schilling AF, et al. Therapeutic consequences of targeting the IGF-1/PI3K/AKT/FOXO3 axis in sarcopenia: a narrative review [J]. *Cells*, 2023, 12 (24): 2787. DOI: 10.3390/cells12242787.
- [17] Peris-Moreno D, Cussonneau L, Combaret L, et al. Ubiquitin ligases at the heart of skeletal muscle atrophy control [J]. *Molecules*, 2021, 26 (2): 407. DOI: 10.3390/molecules26020407.
- [18] Zanders L, Kny M, Hahn A, et al. Sepsis induces interleukin 6, gp130/JAK2/STAT3, and muscle wasting [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2022, 13 (1): 713-727. DOI: 10.1002/jesm.12867.
- [19] Wollersheim T, Woehlecke J, Krebs M, et al. Dynamics of myosin degradation in intensive care unit-acquired weakness during severe critical illness [J]. *Intensive Care Med*, 2014, 40 (4): 528-538. DOI: 10.1007/s00134-014-3224-9.
- [20] Chapela SP, Simancas-Racines D, Montalvan M, et al. Signals for muscular protein turnover and insulin resistance in critically ill patients: a narrative review [J]. *Nutrients*, 2023, 15 (5): 1071. DOI: 10.3390/nu15051071.
- [21] Stana F, Vujovic M, Mayaki D, et al. Differential regulation of the autophagy and proteasome pathways in skeletal muscles in sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2017, 45 (9): e971-e979. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002520.
- [22] Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, et al. Into the eye of the cytokine storm [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2012, 76 (1): 16-32. DOI: 10.1128/MMBR.05015-11.
- [23] 丁明月, 赵霞飞, 任胜勇, 等. ICU 获得性衰弱的发病机制及细胞因子在其中的作用研究进展 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2022, 36 (3): 304-306. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2022.03.022.
- [24] Caron AZ, Haroun S, Leblanc E, et al. The proteasome inhibitor MG132 reduces immobilization-induced skeletal muscle atrophy in mice [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2011, 12: 185. DOI: 10.1186/1471-2474-12-185.
- [25] Shirakawa T, Rojasawasthien T, Inoue A, et al. Tumor necrosis factor alpha regulates myogenesis to inhibit differentiation and promote proliferation in satellite cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 580: 35-40. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.09.067.

(收稿日期: 2025-12-10)

(责任编辑: 邸美仙)

• 读者 • 作者 • 编者 •

《中国中西医结合急救杂志》关于文后参考文献著录格式的写作要求

按 GB/T 7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》执行,采用顺序编码制著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出,并将序号置于方括号中排列于文后。内部刊物、未发表资料(不包括已被接受的待发表资料)、个人通信等请勿作为文献引用,确需引用时,可将其在正文相应处注明。日文汉字请按日文规定书写,勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人全部著录;超过 3 人可以只著录前 3 人,后依文种加表示“等”的文字。作者姓名一律姓氏在前、名字在后,外国人的名字采用首字母缩写形式,缩写名后不加缩写点。不同作者姓名之间用“,”隔开,不用“和”“and”等连词。题名后标注文献类型标志,文献类型和电子资源载体标志代码参照 GB/T 3792-2021《信息与文献 资源描述》。外文期刊名称用缩写,可以采用国际医学期刊编辑委员会推荐的 NLM's Citing Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256>) 中的格式;中文期刊用全名。每条参考文献均须著录起止页码,对有 DOI 编号的文章必须著录 DOI,列于末尾。参考文献必须由作者与其原文核对并无误。示例如下:

- [1] 庄燕,戴林峰,陈秋华,等. 凉血通瘀法治疗脓毒症心肌功能障碍的临床疗效 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2025, 32 (3): 266-270. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2025.03.003.