

张颖,谢璐璐,张兆鹏,等. 黄精多糖通过抑制心肌细胞焦亡改善糖尿病心肌病[J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(4): 58-68.

Zhang Y, Xie LL, Zhang ZP, et al. *Polygonatum sibiricum* polysaccharides may improve diabetic cardiomyopathy by inhibiting pyroptosis [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(4): 58-68.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.04.006

黄精多糖通过抑制心肌细胞焦亡改善糖尿病心肌病

张颖¹, 谢璐璐², 张兆鹏³, 高睿¹, 魏旭阳¹, 金美英⁴, 郭军鹏^{5*}

(1. 长春中医药大学中西医结合学院, 长春 130117; 2. 长春中医药大学中医学院, 长春 130117; 3. 长春中医药大学药学院, 长春 130117; 4. 长春中医药大学附属第三临床医院, 长春 130117; 5. 长春中医药大学临床医学院, 长春 130117)

【摘要】 目的 探究黄精多糖(*Polygonatum sibiricum* polysaccharides, PSP)对糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathies, DCM)的保护作用及机制。**方法** 40只SPF级雄性SD大鼠随机分为正常组、模型组、PSP组和二甲双胍组,高脂喂养4周后腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)建立糖尿病动物模型,灌胃给药12周,每两周记录体质量、血糖。第16周时通过无创超声心动仪检测心功能;HE、Masson染色评估大鼠心肌组织病理变化及心肌纤维化程度;酶联免疫吸附实验(ELISA)检测大鼠血清白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-18(interleukin-18, IL-18)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)及高密度脂蛋白(HDL)水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠心肌组织中纤维化相关蛋白TGF- β 1、Smad2、Collagen-I、Collagen-III及焦亡相关蛋白NLRP3、ASC、Caspase-1的表达水平。细胞实验通过将H9c2细胞暴露于高糖(40 mmol/L)环境以模拟体外DCM模型,CCK-8法检测细胞活力;流式细胞术检测凋亡细胞比率。**结果** 与模型组比较,治疗组大鼠血糖、血脂及血清炎症因子水平显著降低($P<0.05$),左室射血分数(EF%)和短轴缩短率(FS%)显著升高($P<0.05$),心功能得到改善;心肌纤维排列较整齐,胶原纤维堆积减少;心肌组织NLRP3、ASC、Caspase-1、Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1及Smad2蛋白表达水平明显降低($P<0.05$)。细胞实验中PSP组提高了高糖诱导的H9c2心肌细胞活力、降低凋亡细胞比例。**结论** PSP能改善糖尿病大鼠糖脂代谢,保护心功能,延缓心肌纤维化的发生,同时可以提高心肌细胞活力,其作用机制可能与抑制细胞焦亡从而延缓心室重构有关。

【关键词】 黄精多糖;糖尿病心肌病;焦亡;心肌纤维化;炎症反应

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2025)04-0058-11

Polygonatum sibiricum polysaccharides may improve diabetic cardiomyopathy by inhibiting pyroptosis

ZHANG Ying¹, XIE Lulu², ZHANG Zhaopeng³, GAO Rui¹, WEI Xuyang¹, JIN Meiyang⁴, GUO Junpeng^{5*}

(1. College of Integrative Chinese and Western Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China. 2. School of Traditional Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117. 3. Pharmaceutical College, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117. 4. the Third Affiliated Clinical Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117. 5. School of Clinical Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117)

【基金项目】 吉林省中医药管理局科技计划项目(2022056)。

【作者简介】 张颖(1994—),女,在读硕士研究生,研究方向:重大慢病的中西医结合基础研究。E-mail:zy07311246@163.com

【通信作者】 郭军鹏(1973—),男,博士,教授,博士生导师,研究方向:中医药防治老年病。E-mail:Guojp1228@163.com

【 Abstract 】 Objective To investigate the protective effect and mechanism of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides (PSP) on diabetic cardiomyopathy (DCM). **Methods** Forty SPF-grade male Sprague-Dawley rats were divided randomly into Control, Model, PSP, and metformin groups. After 4 weeks of feeding a high-fat diet, streptozotocin was injected intraperitoneally to establish a rat model of diabetes mellitus. The drug was administered by gavage for 12 weeks, and body mass and blood glucose were recorded every 2 weeks. Cardiac function was detected by non-invasive echocardiography at week 16. Myocardial histopathological changes and the degree of myocardial fibrosis were assessed by hematoxylin and eosin and Masson staining. Serum interleukin (IL)-6, IL-1 β , IL-18, tumor necrosis factor- α (TNF- α), triglycerides, total cholesterol, low-density lipoprotein, and high-density lipoprotein were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Expression levels of the fibrosis-related proteins transforming growth factor (TGF)- β 1, Smad2, Collagen-I, Collagen-III, and the pyroptosis-related proteins NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC), and Caspase-1 were detected in rat myocardial tissues by Western blot. Cellular experiments were performed by exposing H9c2 cells to high glucose (40 mmol/L) to mimic the *in vitro* DCM model, cell viability was detected by Cell Counting Kit-8 assay, and the apoptotic cell ratio was detected by flow cytometry. **Results** Rats in the treatment group had significantly lower blood glucose, lipid, and serum inflammatory factor levels compared with the model group ($P < 0.05$), significantly higher ejection fraction and fractional shortening values ($P < 0.05$), and improved cardiac function. Myocardial fibers were better aligned and collagen fiber accumulation was reduced, and myocardial tissue levels of NLRP3, ASC, Caspase-1, Collagen-I, Collagen-III, TGF- β 1, and Smad2 were significantly reduced ($P < 0.05$). In the cellular assay, PSP increased the viability and decreased the proportion of apoptotic cells in high glucose-induced H9c2 cardiomyocytes. **Conclusions** PSP can improve glucose-lipid metabolism, protect cardiac function, and delay the occurrence of myocardial fibrosis in diabetic rats, and can also improve the viability of cardiomyocytes. Its mechanism of action may be related to the inhibition of cellular pyroptosis and delayed occurrence of ventricular remodeling.

【 Keywords 】 *Polygonatum sibiricum* polysaccharides; diabetic cardiomyopathy; pyroptosis; myocardial fibrosis; inflammation response

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

糖尿病是临床常见的代谢性疾病,常伴随心脏、肾及眼部等多种组织器官并发症^[1]。近年来,随着人们生活方式的变化,糖尿病患者的数量呈逐年上升趋势,与此同时,其相关并发症的发病率也呈现出不断攀升的态势^[2]。目前全球约有 5.37 亿糖尿病患者,早期发现并发症以及主动管理血糖对于预防和减轻微血管和大血管并发症以及死亡负担至关重要^[3]。糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathies, DCM)是糖尿病患者晚期常见的一种心脏并发症及主要致死原因之一,其特征在早期阶段主要表现为左心室肥厚及舒张功能障碍,进展至晚期,则体现为心脏纤维化及收缩能力下降,这一过程最终导致临床心力衰竭的发生。临床中主要是通过对症治疗来缓解症状,值得注意的是,糖尿病患者面临相对较高的心功能不全风险,这是长期高血糖的结果。心脏结构、功能及代谢改变贯穿其中,成为这一

系列病理演变的显著标志^[4-5]。

DCM 的病理生理学很复杂,包括心肌纤维化、氧化应激、心肌炎症、细胞自噬等。近年来,焦亡这一程序性细胞死亡方式得到关注。研究表明,糖尿病导致的心肌损伤过程中存在细胞焦亡,并且可能是这一病理状态下心肌细胞死亡的主导机制^[6-7]。糖尿病所导致的糖脂代谢紊乱、糖基化终末产物积累、炎症细胞因子释放以及活性氧的产生,共同促进了体内的炎症反应和氧化应激状态的激活,是 DCM 发病的主要驱动因素^[8]。NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症小体作为焦亡的经典途径,能够触发炎症级联反应,导致大量促炎细胞因子释放,进而介导细胞焦亡过程,加剧心肌损伤^[9-10]。

黄精是传统药食两用中药材,有益气滋阴、

健脾养血、补肾润肺等功效,常用于消渴症,也就是现代医学中的糖尿病^[11-12],其中黄精多糖(*Polygonatum sibiricum* polysaccharides, PSP)是其最重要的活性成分。研究发现,PSP 具有调节血脂、降血糖、抗炎、抗氧化、抗细胞凋亡等作用^[13]。PSP 可以通过调节氧化应激、炎症反应和凋亡指数保护视网膜色素上皮细胞免受高糖诱导的损伤^[14]。在 LPS 诱导的脓毒症模型中,PSP 通过 NLRP3/GSDMD 信号抑制肝细胞凋亡减轻肝损伤^[15]。此外,PSP 通过调节脑内氧化应激水平、HPA 轴和胆碱能系统功能改善航天狭小空间诱导的认知功能损伤^[16]。但 PSP 改善 DCM 的研究较少,由于 DCM 发生发展过程中的复杂性,PSP 改善 DCM 的药理机制尚不明确。因此,本文旨在探讨 PSP 通过调控 NLRP3 炎症小体相关通路抑制细胞焦亡、减轻炎症反应,改善心功能及心肌纤维化,延缓 DCM 进程。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

选用 40 只 6~8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量(220 ± 20)g,购自辽宁长生生物科技有限公司[SCXK(辽)2020-0001]。所有实验动物均饲养于长春中医药大学 SPF 级动物实验中心[SYXK(吉)2023-0015],实验环境温度维持在 21~25℃,相对湿度控制在 42%~70%。本研究方案已通过长春中医药大学实验动物伦理审查委员会的批准(2024414),符合 3R 原则。

1.1.2 细胞

H9c2 大鼠心肌细胞购自武汉塞维尔公司(STCC30008G)。

1.2 主要试剂与仪器

PSP(成都埃法生物科技有限公司,批号 AFCB1702);盐酸二甲双胍(每片 0.5 g,江苏默克制药有限公司,批号 H20023370);链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(北京索莱宝科技有限公司,批号 S8050),异氟烷(河北金达福药业有限公司,2018 兽药生产证字 03121 号);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(Solarbio,批号 G1120);Masson 三色染色试剂盒(Solarbio,批号 G1340);IL-6 试剂盒(批号 HY-H0007)、IL-18 试剂盒(批号 HY-

10288)、IL-1 β 试剂盒(批号 bs-0812P)、TNF- α 试剂盒(批号 HY-H0019)购于北京华英;BCA 蛋白浓度试剂盒(上海碧云天,批号 P0009);NLRP3 抗体(批号 27458-1-AP)、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)抗体(批号 10500-1-AP)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶-1(Caspase-1)抗体(批号 22915-1-AP)、I 型胶原蛋白(Collagen-I)抗体(批号 14695-1-AP)、III 型胶原蛋白(Collagen-III)抗体(批号 22734-1-AP)、Smad2 蛋白抗体(批号 12570-1-AP)、转化生长因子 β 蛋白(TGF- β 1)抗体(批号 81746-2-RR)购于武汉三鹰;H9c2 细胞专用培养基(武汉塞维尔,批号 GZ30008);CCK-8 试剂盒(NCM Biotech,批号 C6005);Annexin V-FITC/PI 双染法细胞凋亡检测试剂盒(Elabscience,批号 AK13200)。超声仪器(苏州珂纳医疗科技有限公司);血糖仪(瑞士罗氏公司);生物显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司);酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);DYY-7C 型电泳仪(北京六一仪器厂);VE-186 型转移电泳槽(Tanon 公司);VDS 凝胶成像仪(Pharmacia Biotech 公司);流式细胞仪(BD Biosciences)。

1.3 实验方法

1.3.1 糖尿病大鼠模型制备、分组、给药

40 只 6~8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠,适应性饲养一周后随机分为正常(Control)组和糖尿病组。正常组给予普通饲料喂养,糖尿病组高脂高糖喂养 4 周后腹腔注射 40 mg/kg STZ 建立糖尿病动物模型,连续 5 d 空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L 视为糖尿病模型建立成功。将建模成功动物随机分为模型(Model)组、黄精多糖(PSP)组、二甲双胍(Met)组,每组 10 只。正常组和模型组给予等体积生理盐水,PSP 组给予 PSP 120 mg/(kg·d),二甲双胍组给予二甲双胍 67.5 mg/(kg·d),连续灌胃 12 周。每 2 周检测大鼠体质量和空腹血糖。

1.3.2 超声检测大鼠心脏功能及标本收集

最后一次给药后,禁食不禁水 12 h,异氟烷麻醉,进行心脏超声检查,检测左室射血分数(EF%)、短轴缩短率(FS%)等心功能指标;腹主动脉采血,3500 r/min 离心提取上清,-80℃冻存备用;取出心脏,部分心肌组织-80℃冻存,其余浸入 4%多聚甲醛固定。

1.3.3 心肌组织病理学检测

将组织样本置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h, 经乙醇梯度脱水、透明、浸蜡、包埋和切片制备后, 进行 HE 染色和 Masson 染色, 光学显微镜下仔细观察并记录各组心肌组织的病理形态学改变。

1.3.4 酶联免疫吸附实验 (ELISA) 检测血清中炎症因子表达

完成腹主动脉采血后, 将样本静置 30 min, 随后使用离心机 3500 r/min 离心 15 min。分离并获取上清液部分, 并严格遵循 ELISA 检测试剂盒的操作说明, 测定血清中 IL-6、IL-18、IL-1 β 、TNF- α 、TG、TC、LDL 及 HDL 的含量。

1.3.5 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 分析

用 RIPA 裂解冷冻的大鼠心肌组织以提取总蛋白, 使用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离后转移到 PVDF 膜上。5% 的脱脂奶粉封闭 1 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育一抗过夜, 次日二抗孵育 1 h, 全自动化学发光凝胶成像仪显影, Image J 2.14.0 计算检测结果。

1.3.6 CCK-8 法检测 H9c2 心肌细胞活力

将对数生长的 H9c2 细胞以 3000/孔种植于 96 孔板。细胞贴壁后使用不同浓度 (0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg/mL) 的 PSP 在 40 mmol/L 高糖条件下分别干预 H9c2 细胞 12 h、24 h、48 h, 加入 10 μL CCK-8, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h; 酶标仪测定 450 nm 处吸光度 (A_{450})。计算细胞活力/% = (实验组 A_{450} - 空白组 A_{450}) / (对照组 A_{450} - 空白组 A_{450}) $\times 100\%$ 。

1.3.7 细胞培养及分组

当 H9c2 细胞达到 80% ~ 90% 融合时传代或给药处理。将细胞以 1×10^5 /孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后进行干预: 正常 (Control, 完全培养基) 组、高糖 (HG, 葡萄糖浓度 40 mmol/L) 组、PSP 低剂量 (PSP-L, 40 mmol/L 葡萄糖和 0.5 mg/mL PSP) 组、PSP 高剂量 (PSP-H, 40 mmol/L 葡萄糖和 1.0 mg/mL PSP) 组。干预 24 h 后进行后续检测。

1.3.8 流式细胞术检测 H9c2 心肌细胞凋亡

H9c2 细胞接种于 6 孔板中, 药物处理 24 h, 从培养皿中抽取细胞培养液备用, 加入适量不含 EDTA 的胰酶对细胞进行消化。将先前提取的细胞培养液加入, 轻轻吹打后将悬液转移至离心管

内, 以 1000 r/min 的速率离心 5 min, 使用 PBS 对细胞进行两次洗涤并计数, 收集细胞数量介于 $1 \sim 5 \times 10^5$ 之间, 再以 2000 r/min 的速率离心 5 min。加入 100 μL 的 Binding Buffer 重悬细胞, 再向细胞悬液中加入 Annexin V-FITC 和 PI 染液各 5 μL , 室温下避光孵育 15 min。最后加入 400 μL 的 Binding Buffer, 使用流式细胞仪进行检测。

1.3.9 Western blot 检测 H9c2 心肌细胞蛋白表达

H9c2 细胞以 1×10^6 的密度接种于 6 孔板中, 给药 24 h, 冰浴裂解 20 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心提取总蛋白。电泳后转移至 PVDF 膜, 封闭 1 h, 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。二抗室温下孵育 1 h, 化学发光试剂盒和成像系统检测蛋白条带, Image J 2.14.0 分析蛋白水平。

1.4 统计学方法

利用 SPSS 26.0 统计软件对数据进行深入分析, 计量数据均表示为平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 形式。符合正态分布的数据, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 方法; 方差齐性的数据, 两两比较运用最小显著差异法 (LSD)。当 $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PSP 对大鼠糖脂代谢影响

PSP 对糖尿病大鼠具有显著的降血糖效果。与正常组比较, 模型组大鼠空腹血糖明显上升 ($P < 0.01$), 而 PSP 组与二甲双胍组则显著降低这一水平 ($P < 0.05$)。此外, 模型组大鼠体质量相较于正常组显著下降, PSP 组与二甲双胍组大鼠体质量较模型组有所提升 ($P < 0.05$)。进一步分析血脂指标发现, 模型组大鼠 TG、TC、LDL 水平显著高于正常组 ($P < 0.01$), 而 HDL 水平则显著降低 ($P < 0.01$)。相比之下, PSP 组与二甲双胍组大鼠的 TG、TC 及 LDL 水平显著降低 ($P < 0.05$), HDL 水平显著升高 ($P < 0.01$)。综上所述, PSP 能有效降低糖尿病大鼠的血糖及血脂水平 (图 1)。

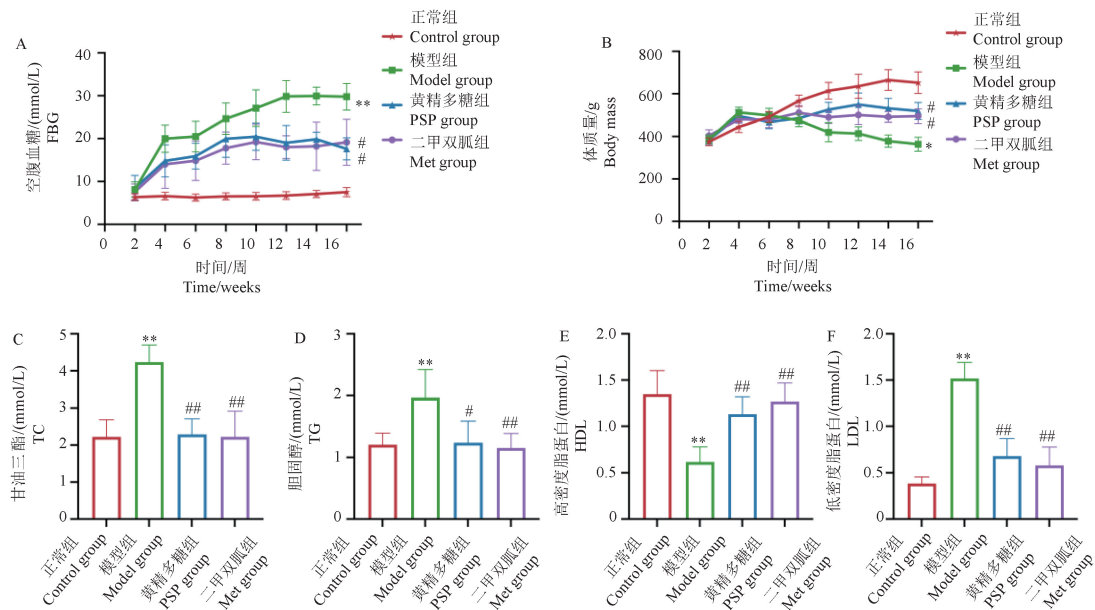
2.2 PSP 对大鼠心功能的影响

如图 2 所示, 治疗 12 周后, 通过超声心动图检查大鼠心功能, 与正常组比较, 模型组大鼠 EF、FS 均降低 ($P < 0.01$), PSP 组、二甲双胍组心功能明显改善 ($P < 0.05$)。

2.3 PSP 对 DCM 大鼠心肌炎症的影响

与正常组相比,模型组 IL-6、IL-18、IL-1 β 和 TNF- α 含量增加,差异具有统计学意义 ($P <$

0.01);与模型组相比,PSP 组及二甲双胍组 IL-6、IL-18、IL-1 β 和 TNF- α 均降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$,表 1)。

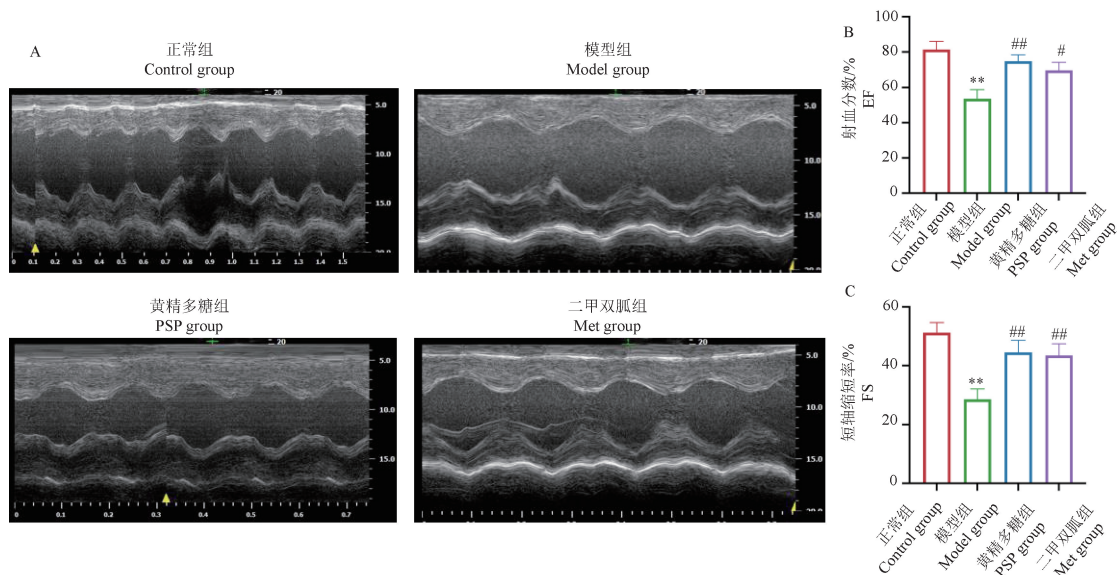


注:A:大鼠空腹血糖水平;B:大鼠体质量;C~F:血清甘油三酯、胆固醇、高密度脂蛋白和低密度脂蛋白水平。与正常组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组相比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图 1 PSP 对 DCM 大鼠糖脂代谢的影响

Note. A, Fasting blood glucose levels of rats. B, Body mass of rats. C~F, Serum TC, TG, HDL, and LDL levels. Compared with Control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with Model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 1 Effect of PSP on glycolipid metabolism in DCM rats



注:A:代表性 M 型多普勒超声心动图;B~C:射血分数和短轴缩短率($n=3$)。与正常组相比,** $P < 0.01$;与模型组相比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图 2 PSP 改善 DCM 大鼠的心功能

Note. A, Representative M-mode Doppler echocardiograms. B~C, Ejection fraction and fractional shortening ($n=3$). Compared with Control group, ** $P < 0.01$. Compared with Model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 2 PSP improves cardiac function in DCM rats

2.4 PSP 减轻 DCM 大鼠心肌纤维化

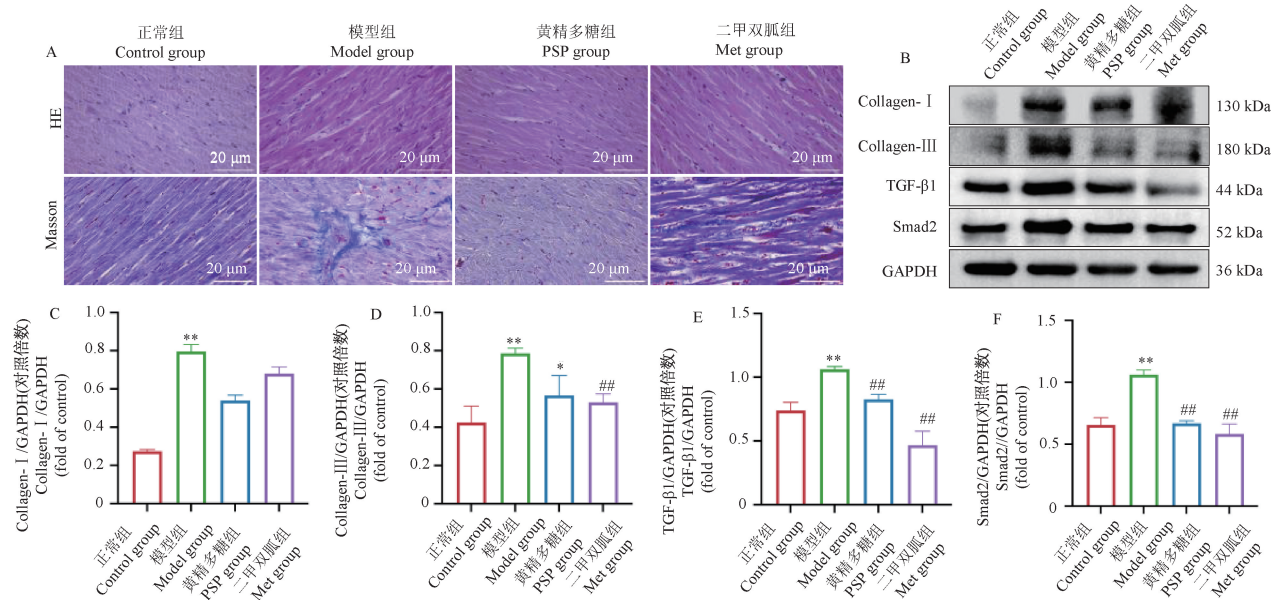
如图 3 所示,采用 HE 及 Masson 染色评估 DCM 大鼠心肌组织病理形态变化。HE 染色可见,正常组中,大鼠心肌结构保持良好完整性,肌纤维排列整齐有序,心肌间质中未见明显炎性细胞浸润。相比之下,模型组大鼠的心肌纤维排列呈现出显著的紊乱状态,肌间隔明显增宽,伴有灶性水肿,间质可见充血及中等量炎性细胞浸润。而在 PSP 组与二甲双胍组中,大鼠心肌纤维

排列相对较规整,纤维束间隔增宽不明显,心肌细胞水肿变性较为罕见,间质仅呈现轻度充血与水肿,且炎性细胞浸润较少。Masson 染色结果显示,正常组大鼠心肌纤维被均匀染成红色,且未观察到胶原纤维沉积。模型组大鼠的心肌纤维排列疏松紊乱,伴有大量蓝色胶原纤维堆积。而在 PSP 组中,胶原纤维堆积显著减少,心肌纤维排列趋于整齐。二甲双胍组同样表现出胶原纤维堆积减少,但相较于 PSP 组,其心肌纤维排列

表 1 PSP 对 DCM 大鼠 IL-6、IL-18、IL-1 β 和 TNF- α 含量的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 1 Effects of PSP on IL-6, IL-18, IL-1 β and TNF- α levels in DCM rats($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 Groups	白介素-1 β /(pg/mL) IL-1 β	白介素-6/(pg/mL) IL-6	白介素-18/(pg/mL) IL-18	肿瘤坏死因子- α /(pg/mL) TNF- α
正常组 Control group	16.91 $\pm$ 2.59	107.69 $\pm$ 4.77	53.21 $\pm$ 4.86	32.21 $\pm$ 3.88
模型组 DCM group	30.72 $\pm$ 5.16**	119.40 $\pm$ 2.57**	91.12 $\pm$ 16.38**	47.83 $\pm$ 3.36**
黄精多糖组 PSP group	22.60 $\pm$ 2.10 [#]	160.45 $\pm$ 8.88 [#]	65.12 $\pm$ 8.51 [#]	35.28 $\pm$ 3.44 [#]
二甲双胍组 Met group	23.66 $\pm$ 3.27 [#]	126.74 $\pm$ 7.70 [#]	64.32 $\pm$ 8.95 [#]	33.88 $\pm$ 4.22 [#]

注:与正常组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$ 。
Note. Compared with Control group, ** $P<0.01$. Compared with Model group, [#] $P<0.05$, [#] $P<0.01$.



注:A:HE、Masson 染色检测大鼠心肌组织病理形态变化;B:Western blot 检测大鼠心肌组织中 Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1、Smad2 蛋白的表达;C~F:蛋白表达定量。与正常组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$ 。

图 3 PSP 对 DCM 大鼠心肌纤维化的影响

Note. A, HE and Masson staining was used to detect the histopathological and morphological changes in rats' myocardial tissue. B, Western blot was used to detect the expression of Collagen-I、Collagen-III、TGF- β and Smad2 proteins in rat myocardial tissue. C~F, Quantification of protein expression. Compared with Control group, ** $P<0.01$. Compared with Model group, [#] $P<0.05$, [#] $P<0.01$.

Figure 3 Effect of PSP on myocardial fibrosis in rats with DCM

仍存在一定的疏松紊乱。通过 Western blot 法进一步检测发现,与正常组相比,模型组大鼠心肌组织中 Collagen- I、Collagen- III、TGF- β 1 及 Smad2 蛋白的表达水平均显著升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,PSP 组与二甲双胍组大鼠心肌组织中上述蛋白的表达水平均有所下降 ($P < 0.05$)。这一结果进一步证实了 PSP 在缓解糖尿病大鼠心脏纤维化方面具有积极作用。

2.5 PSP 对大鼠心肌组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达的影响

相较于正常组,模型组大鼠心肌组织中 NLRP3、ASC 以及 Caspase-1 蛋白表达水平均呈现出显著上升的趋势 ($P < 0.01$)。与模型组相比,PSP 组与二甲双胍组大鼠心肌组织中的 NLRP3、ASC 及 Caspase-1 蛋白表达水平均有显著下降 (P

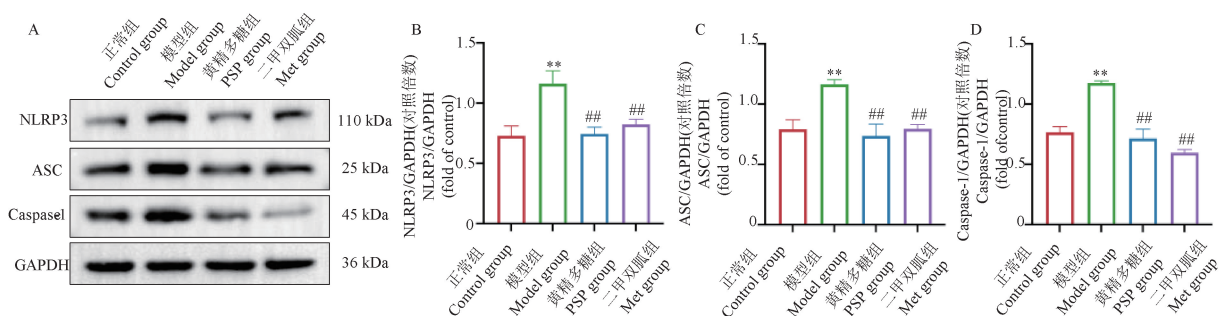
< 0.01)。结果表明,PSP 能有效抑制焦亡相关蛋白在糖尿病大鼠心肌组织中的高表达(图 4)。

2.6 PSP 对高糖诱导的 H9c2 心肌细胞活力的影响

通过 CCK-8 法检测不同浓度 PSP 在不同时间对暴露于高糖环境的 H9c2 细胞生存能力的影响。如图 5 所示,在 12 h 和 24 h 时,0.5 mg/mL 和 1.0 mg/mL 的 PSP 均可提高高糖条件下的细胞活力 ($P < 0.05$),且 24 h 时作用更明显。因此,本研究选取 0.5 mg/mL 和 1.0 mg/mL PSP 作用 24 h 进行体外实验。

2.7 PSP 对高糖诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡的影响

如图 6 所示,使用 Annexin V-FITC、PI 标记细胞,采用流式细胞术检测凋亡细胞比例。高糖

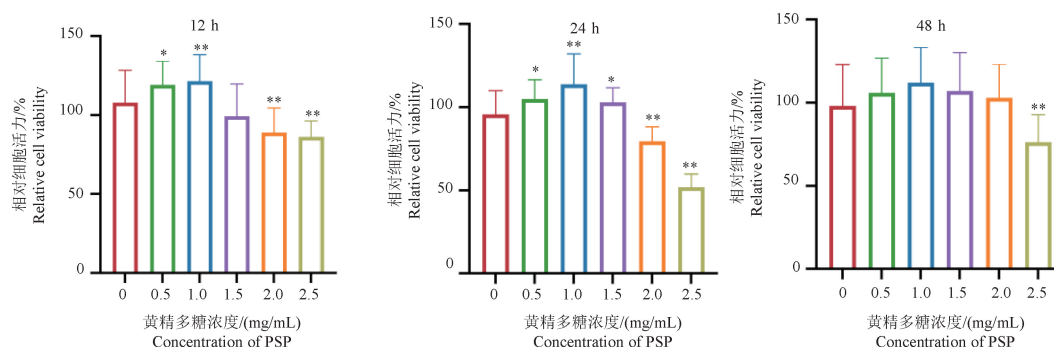


注:A:Western blot 检测大鼠心肌组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达;B~D:蛋白表达定量。与正常组相比,** $P < 0.01$;与模型组相比,## $P < 0.01$ 。

图 4 PSP 对 DCM 大鼠 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平的影响

Note. A, Western blot was used to detect the expression of NLRP3, ASC and Caspase-1 in the myocardium of rats. B~D, Quantification of protein expression. Compared with Control group, ** $P < 0.01$. Compared with Model group, ## $P < 0.01$.

Figure 4 Effects of PSP on NLRP3, ASC and Caspase-1 protein expression levels in rats with DCM



注:与正常组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图 5 PSP 对高糖诱导的 H9c2 心肌细胞活力的影响

Note. Compared with Control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 5 Effect of polysaccharides from PSP on the viability of high glucose-induced H9c2 cardiomyocytes

组的细胞凋亡比例与正常组相比明显升高 (22.96% vs 4.52%)。PSP 低剂量组的细胞凋亡比例下降至 8.4%; PSP 高剂量组的细胞凋亡比例下降至 6.21%。

2.8 PSP 对 H9c2 心肌细胞 Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1 和 Smad2 蛋白表达的影响

Western blot 法检测 H9c2 心肌细胞中

Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1 和 Smad2 蛋白表达情况,图 7 结果显示,与正常组相比,高糖组 Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1 及 Smad2 蛋白的表达水平均显著升高 ($P < 0.01$);与高糖组相比, PSP 低剂量组、高剂量组上述蛋白的表达水平均有所下降 ($P < 0.01$)。这一结果证实了 PSP 可以减轻高糖诱导的心肌细胞纤维化。

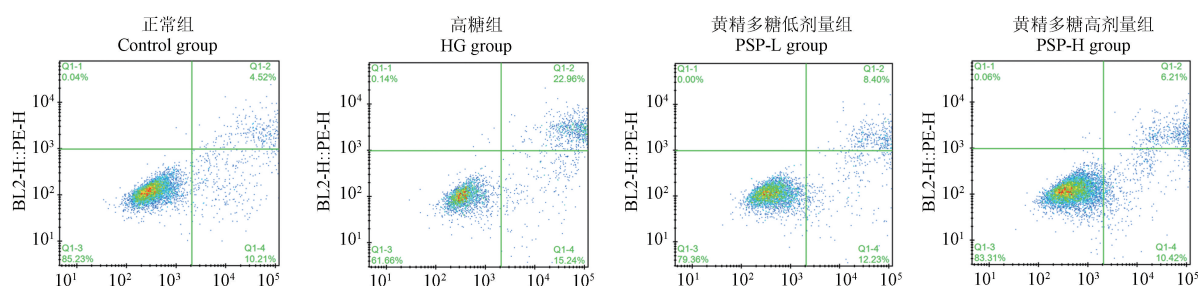
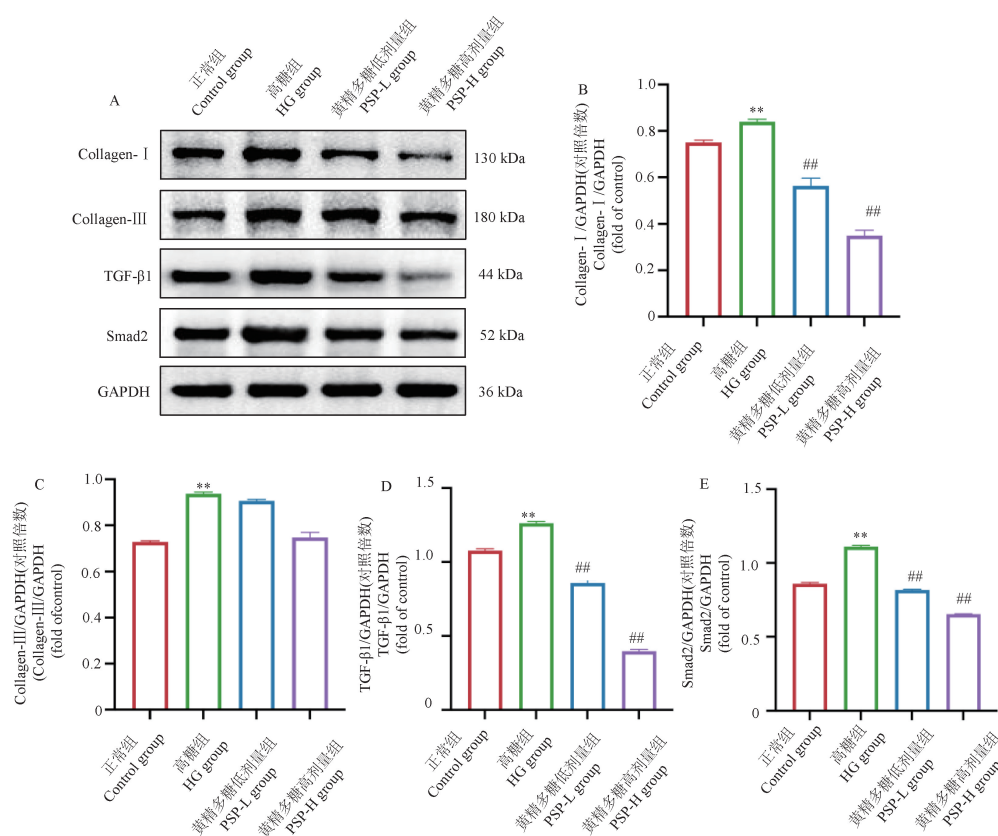


图 6 PSP 对高糖诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡的影响

Figure 6 Effect of polysaccharides from PSP on high glucose-induced apoptosis in H9c2 cardiomyocytes



注:A:Western blot 检测 H9c2 细胞中 Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1 和 Smad2 蛋白的表达;B~E:蛋白表达定量。与正常组相比,** $P < 0.01$;与高糖组相比,## $P < 0.01$ 。

图 7 PSP 对 H9c2 心肌细胞 Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1、Smad2 蛋白表达的影响

Note. A, Western blot was used to detect the expression of Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1 and Smad2 protein expression levels in H9c2 cell. B~E, Quantification of protein expression. Compared with Control group, ** $P < 0.01$. Compared with HG group, ## $P < 0.01$.

Figure 7 Effects of PSP on Collagen-I、Collagen-III、TGF- β 1 and Smad2 protein expression levels in H9c2 cardiomyocytes

3 讨论

根据国际糖尿病联盟 (IDF) 最新发布的统计数据,2021 年全球范围内 20~79 岁年龄段人群的糖尿病患病率估算达到了 10.5%。预计至 2045 年,这一比例将攀升至 12.2%^[17]。随着糖尿病患者人数逐年攀升,DCM 发病率呈上升趋势,是糖尿病患者发生心力衰竭死亡的主要原因^[18]。其致病机制复杂,目前尚未研发出针对 DCM 的治疗用药,因而仍需探索更有效的治疗手段延缓 DCM 发展。

DCM 的临床表现归属于中医学“消渴”并发“胸痹”“心痛”等范畴^[19]。中医学认为,气阴两虚、血气不和是 DCM 的重要病机。脏腑气血阴阳失调,导致气滞、血瘀、痰浊闭阻心脉,久而久之,损及心阳,可成心衰^[20-21]。长期高血糖可在心肌细胞中引发炎症刺激,诱导胶原蛋白释放到心肌中,加剧心肌纤维化。晚期 DCM 可导致心肌结构和功能紊乱,进而导致重度心力衰竭^[22]。研究表明,中药在治疗糖尿病方面具有独特的优势。不仅能降低血糖,还可以调节人体功能,预防和治疗并发症^[23]。在本研究中,PSP 通过改善 DCM 大鼠糖脂代谢及心功能、减轻心肌纤维化和炎症

反应展现出治疗潜力。高糖环境诱导心肌细胞释放炎症介质,进而激发炎症因子生成,这一过程加速了心脏纤维化的进程,并损害了心功能^[24],PSP 干预有效地逆转了这些病理变化。同时,PSP 还能改善 DCM 大鼠的舒张功能和收缩功能,显著提升 EF% 和 FS%。此外,PSP 降低了心肌损伤标志物 CK-MB 和 LDH 水平。Western blot 的进一步分析从分子层面验证了 PSP 在减轻心肌纤维化方面的积极作用。细胞焦亡是一种新型的程序性细胞死亡方式,与炎症反应之间存在着紧密的关联性^[25]。NLRP3 蛋白、胱天蛋白酶-1 前体 (pro-Caspase-1) 以及 ASC 构成了 NLRP3 炎症小体,三者通过彼此间的相互作用与紧密协作,共同调节机体的免疫反应。焦亡主要由 NLRP3 炎症小体促进 Caspase-1 激活,诱导 IL-1 β 、IL-18 炎症因子释放,导致心肌细胞穿孔、细胞膜破裂、细胞内容物释放和细胞死亡,从而引起胶原纤维沉积,心肌纤维化发生 (图 8),进一步导致心室重构及心功能障碍^[26-27]。先前的研究已揭示,在 DCM 动物模型中焦亡相关蛋白的表达量显著上调^[28-29],本研究进一步验证,DCM 心脏组织中 NLRP3、ASC 及 Caspase-1 蛋白的表达水平均有明显升高,而 PSP 的治疗则有效遏制了这

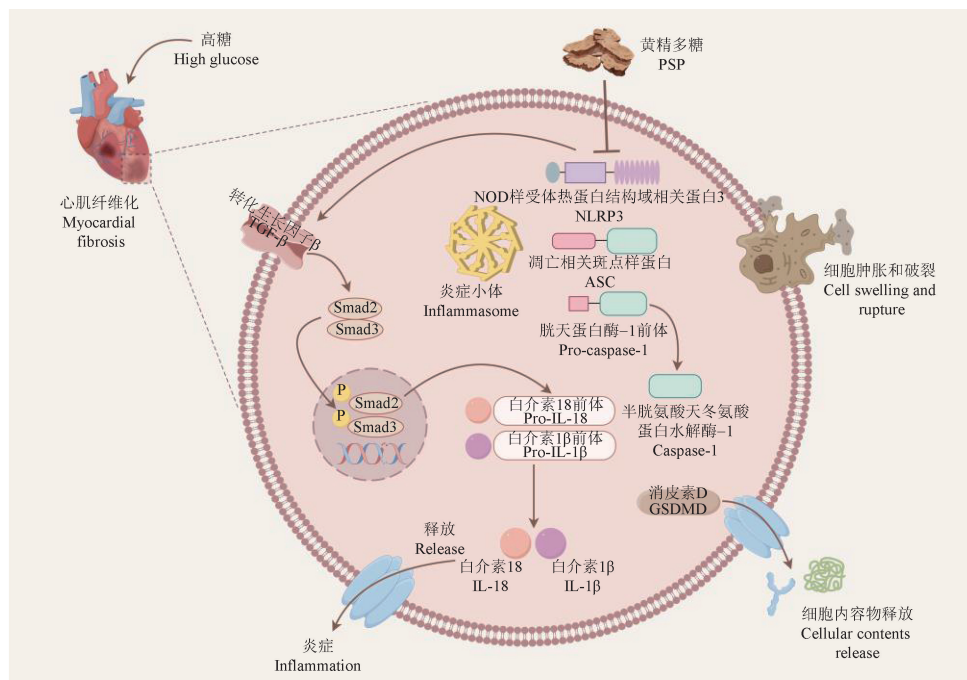


图 8 PSP 减轻 DCM 机制图 (由 Figdraw 绘制)

Figure 8 Mechanism by which PSP attenuates DCM (by Figdraw)

些蛋白的过度表达。通过高糖诱导 H9c2 细胞模拟体外 DCM 模型,发现高糖处理组的细胞活力显著降低、细胞凋亡比例大幅上升,PSP 处理后则有效改善上述变化,同时 Western blot 结果显示, Collagen- I、Collagen-III、TGF- β 1、Smad2 蛋白表达下降,表明 PSP 抑制 TGF- β /Smad 信号通路,减少了细胞死亡,进而减轻心肌纤维化。据此,本研究认为抑制细胞焦亡是针对 DCM 治疗的一个关键策略。

本研究认为,PSP 对 DCM 具备潜在的治疗效应,其可能的作用机制在于通过抑制 NLRP3 炎症小体触发的细胞焦亡过程,从而实现对心脏的保护作用,这为 DCM 的临床预防与治疗提供了新的理论依据和策略方向。然而,关于 PSP 在治疗 DCM 过程中是否涉及其他信号通路的协同作用,目前尚属未知,需更为深入的探索与研究。

参考文献:

- [1] GIRARD D, VANDIEDONCK C. How dysregulation of the immune system promotes diabetes mellitus and cardiovascular risk complications [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 991716.
- [2] TAYANLOO-BEIK A, ROUDSARI P P, REZAEI-TAVIRANI M, et al. Diabetes and heart failure: multi-omics approaches [J]. Front Physiol, 2021, 12: 705424.
- [3] AHMAD E, LIM S, LAMPTEY R, et al. Type 2 diabetes [J]. Lancet, 2022, 400(10365): 1803–1820.
- [4] RITCHIE R H, DALE ABEL E. Basic mechanisms of diabetic heart disease [J]. Circ Res, 2020, 126(11): 1501–1525.
- [5] LINDMAN B R. The diabetic heart failure with preserved ejection fraction phenotype: is it real and is it worth targeting therapeutically? [J]. Circulation, 2017, 135(8): 736–740.
- [6] BEDOUI S, HEROLD M J, STRASSER A. Emerging connectivity of programmed cell death pathways and its physiological implications [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(11): 678–695.
- [7] 张楠,贾云柱,田纪祥,等. 中医药调控糖尿病心脏病中细胞焦亡的研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(9): 813–820, 828.
ZHANG N, JIA Y Z, TIAN J X, et al. The research progress of Traditional Chinese Medicine regulating pyroptosis in diabetes cardiomyopathy [J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(9): 813–820, 828.
- [8] SALVATORE T, PAFUNDI P C, GALIERO R, et al. The diabetic cardiomyopathy: the contributing pathophysiological mechanisms [J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8: 695792.
- [9] WEI Y, YANG L, PANDEYA A, et al. Pyroptosis-induced inflammation and tissue damage [J]. J Mol Biol, 2022, 434(4): 167301.
- [10] ZHANG L, AI C, BAI M, et al. NLRP3 inflammasome/pyroptosis: a key driving force in diabetic cardiomyopathy [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(18): 10632.
- [11] 陈宇,周芸涓,李丹,等. 黄精的现代药理作用研究进展 [J]. 中药材, 2021, 44(1): 240–244.
CHEN Y, ZHOU Y M, LI D, et al. Research progress on modern pharmacological effects of *Polygonatum sibiricum* [J]. J Chin Med Mater, 2021, 44(1): 240–244.
- [12] 张美珍,史丽伟,杨亚男,等. 糖尿病中医治疗思路新探 [J]. 世界中医药, 2022, 17(14): 2071–2074.
ZHANG M Z, SHI L W, YANG Y N, et al. New approaches to TCM treatment of diabetes mellitus [J]. World Chin Med, 2022, 17(14): 2071–2074.
- [13] LIU D, TANG W, HAN C, et al. Advances in *Polygonatum sibiricum* polysaccharides: extraction, purification, structure, biosynthesis, and bioactivity [J]. Front Nutr, 2022, 9: 1074671.
- [14] WANG W, LI S, SONG M. *Polygonatum sibiricum* polysaccharide inhibits high glucose-induced oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis in RPE cells [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2022, 42(2): 189–196.
- [15] XIAO L, QI L, ZHANG G, et al. *Polygonatum sibiricum* polysaccharides attenuate lipopoly-saccharide-induced septic liver injury by suppression of pyroptosis via NLRP3/GSDMD signals [J]. Molecules, 2022, 27(18): 5999.
- [16] 刘雨培,张瑛毓,范蓓,等. 黄精多糖对模拟航天狭小空间诱导认知功能损伤的改善作用及机制研究 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(4): 494–503.
LIU Y P, ZHANG Y Y, FAN B, et al. Protective effect and mechanism of action of *Polygonati rhizoma* polysaccharide on the cognitive impairment induced by simulating an enclosed space in mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(4): 494–503.
- [17] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2022, 183: 109119.
- [18] MATSUSHITA K, HARADA K, KOHNO T, et al. Prevalence and clinical characteristics of diabetic cardiomyopathy in patients with acute heart failure [J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2024, 34(5): 1325–1333.
- [19] 刘峰兆,赵丽娟,李纪新,等. 中药调控自噬干预糖尿病

- 心肌病的研究进展 [J/OL]. 中国中药杂志, 2024; 1-12. (2024-04-10). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZGZY20240407006&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- LIU F Z, ZHAO L J, LI J X, et al. Research progress of traditional Chinese medicine regulating autophagy in diabetic cardiomyopathy [J/OL]. China Ind Econ, 2024; 1-12. (2024-04-10). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZGZY20240407006&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [20] 王红芹, 徐凤芹, 周庆兵, 等. 从“血气不和”理论探讨“代谢灵活性”失衡在糖尿病心脏病的作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(1): 194-201.
- WANG H Q, XU F Q, ZHOU Q B, et al. Role of imbalance of “metabolic flexibility” in diabetic cardiomyopathy: based on theory of “blood-qi disharmony” [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2023, 29(1): 194-201.
- [21] 漆仲文, 赵俊男, 张艳虹, 等. 从细胞衰老视角论中医药防治糖尿病心脏病 [J]. 中国中西医结合杂志, 2024, 44(2): 222-227.
- QI Z W, ZHAO J N, ZHANG Y H, et al. Prevention and treatment of diabetic cardiomyopathy by Chinese medicine from the cellular senescence perspective [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2024, 44(2): 222-227.
- [22] GUO Z, TUO H, TANG N, et al. Neuraminidase 1 deficiency attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, fibrosis, inflammatory *via* AMPK-SIRT3 pathway in diabetic cardiomyopathy mice [J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(2): 826-840.
- [23] LIU X Y, ZHENG H W, WANG F Z, et al. Developments in the study of Chinese herbal medicine's assessment index and action mechanism for diabetes mellitus [J]. Anim Model Exp Med, 2024, 7(4): 433-443.
- [24] LIU C, YAO Q, HU T, et al. Cathepsin B deteriorates diabetic cardiomyopathy induced by streptozotocin *via* promoting NLRP3-mediated pyroptosis [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2022, 30: 198-207.
- [25] CAI Z, YUAN S, LUAN X, et al. Pyroptosis-related inflammasome pathway: a new therapeutic target for diabetic cardiomyopathy [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 842313.
- [26] ZHAN X, LI Q, XU G, et al. The mechanism of NLRP3 inflammasome activation and its pharmacological inhibitors [J]. Front Immunol, 2023, 13: 1109938.
- [27] ZHANG X, QU H, YANG T, et al. Astragaloside IV attenuate MI-induced myocardial fibrosis and cardiac remodeling by inhibiting ROS/caspase-1/GSDMD signaling pathway [J]. Cell Cycle, 2022, 21(21): 2309-2322.
- [28] 尤越, 李玲美, 李磊, 等. 细胞焦亡与心血管疾病的关系及中医药干预研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(9): 97-108.
- YOU Y, LI L M, LI L, et al. Relationship and Traditional Chinese Medicine intervention of pyroptosis and cardiovascular diseases [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(9): 97-108.
- [29] ZHANG W, KANG P, ZHOU J, et al. Curcumin improves diabetic cardiomyopathy by inhibiting pyroptosis through AKT/Nrf2/ARE pathway [J]. Mediators Inflamm, 2023, 2023: 3906043.

[收稿日期]2024-10-24