

• 论著-实验研究 •

神经调节蛋白-1对脓毒症大鼠心肌血管内皮和心脏功能的影响*

康文¹ 王龙¹ 王倩文¹ 沈成¹ 王晞²

[摘要] 目的:研究神经调节蛋白-1(NRG-1)对脓毒症大鼠心肌血管内皮细胞及心功能的影响。方法:将雄性SD大鼠(220~280 g)25只随机分为脓毒症组($n=10$)、NRG组($n=10$)、Sham组($n=5$)。采用腹腔注射脂多糖(LPS)10 mg/kg建立脓毒症模型,NRG组于术后4 h和24 h尾静脉注射重组人神经蛋白-1(rhNRG-1),0.01 $\mu\text{g/g}$ 。术后48 h检测各组大鼠血流动力学,心肌形态学及超微结构改变,检测血清一氧化氮(NO)含量和细胞间黏附分子-1(ICAM-1)水平,免疫荧光法检测心肌组织血管性血友病因子(vWF)表达情况。结果:与Sham组比较,脓毒症组大鼠光镜下可见心肌纤维排列紊乱和炎性细胞浸润,超微结构可见心肌细胞和线粒体肿胀,嵴断裂甚至消失,NRG组心肌纤维排列较整齐,少量炎性细胞浸润,心肌细胞和线粒体轻度肿胀;血流动力学参数Sham组为MAP(140.30 \pm 8.51)mmHg、LVSP(138.50 \pm 9.67) mmHg、LVEDP(9.37 \pm 0.65)mmHg、+dP/dt max(3418.21 \pm 226.10)mmHg/s、-dP/dt max(-3455.00 \pm 131.28)mmHg/s、HR(469.50 \pm 53.25)次,脓毒症组为MAP(46.97 \pm 4.06) mmHg、LVSP(97.17 \pm 5.38) mmHg、LVEDP(14.60 \pm 0.71)mmHg、+dP/dt max(2219.32 \pm 220.50)mmHg/s、-dP/dt max(-1345.05 \pm 170.20) mmHg/s、HR(444.50 \pm 86.67)次,NRG组为MAP(100.30 \pm 10.52) mmHg、LVSP(115.10 \pm 6.53) mmHg、LVEDP(4.41 \pm 1.25)mmHg、+dP/dt max(3009.49 \pm 106.41)mmHg/s、-dP/dt max(-2311.67 \pm 157.20) mmHg/s、HR(435.40 \pm 83.75)次,脓毒症组与Sham组相比,MAP、LVSP和 \pm dP/dt max降低($P<0.05$),LVEDP升高($P<0.05$),HR无明显改变($P>0.05$);NRG组与脓毒症组相比,MAP、LVSP和 \pm dP/dt max升高($P<0.05$),LVEDP降低($P<0.05$),HR无明显改变($P>0.05$);血清NO含量Sham组为(6.17 \pm 1.42)pg/ml,脓毒症组为(7.66 \pm 0.78)pg/ml,NRG组为(3.55 \pm 0.78)pg/ml,脓毒症组与Sham组间及NRG组与脓毒症组间差异均有统计学意义($P<0.05$);血清ICAM-1含量Sham组为(338.593 \pm 14.701)pg/ml,脓毒症组为(959.597 \pm 55.206)pg/ml,NRG组为(605.010 \pm 23.646)pg/ml,脓毒症组与Sham组间及NRG组与脓毒症组间差异均有统计学意义($P<0.05$);心肌血管周vWF表达百分率Sham组为(76.42 \pm 6.36)%,脓毒症组为(40.58 \pm 4.33)%,NRG组为(64.41 \pm 6.13)%,脓毒症组与Sham组间及NRG组与脓毒症组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论:NRG-1能保护心肌血管内皮细胞功能,减弱氧化应激,改善心脏血流动力学从而减轻脓毒症引起的心脏功能障碍。

[关键词] 脓毒症;神经调节蛋白-1;内皮细胞;心肌损伤

doi:10.13201/j.issn.1009-5981.2019.07.005

[中图分类号] R631 **[文献标志码]** A

Effect of neuregulin-1 on myocardial vascular endothelium and cardiac function in septic rats

KANG Wen¹ WANG Long¹ WANG Qianwen¹ SHEN Cheng¹ WANG Xi²

(¹Department of Anesthesiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, 430060, China; ²Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University)

Corresponding author: WANG Long, E-mail: wanglongwhu@163.com

Abstract Objective: To study the effect of neuregulin-1(NRG-1) on myocardial vascular endothelial cells and cardiac function in septic rats. **Method:** Twenty-five male SD rats (220-280 g) were randomly divided into sepsis group ($n=10$), NRG group ($n=10$) and Sham group ($n=5$). A sepsis model was established by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS) 10 mg/kg. Recombinant human neuroprotein-1 (rhNRG-1) 0.01 $\mu\text{g/g}$ was injected into the NRG group at 4 h and 24 h after surgery. The hemodynamics, myocardial morphology and ultra-structural changes of the rats in each group were detected 48 h after operation. Serum nitric oxide (NO) content

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(No:81772044)

¹武汉大学人民医院麻醉科(武汉,430060)

²武汉大学心血管病研究所

通信作者:王龙,E-mail:wanglongwhu@163.com

and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) levels were detected. Myocardium was detected by immunofluorescence. Tissue von Willebrand Factor (vWF) expression. **Result:** Compared with the Sham group, the myocardial fiber arrangement disorder and inflammatory cell infiltration were observed under the light microscope in the sepsis group. The ultrastructure showed that the myocardial cells and mitochondria were swollen, the tendon was broken or even disappeared, and the myocardial fibers in the NRG group were arranged neatly. Inflammatory cell infiltration, mild swelling of cardiomyocytes and mitochondria; hemodynamic parameters in the Sham group were MAP (140.30±8.51) mmHg, LVSP (138.50±9.67) mmHg, LVEDP (9.37±0.65) mmHg, +dP/dt max (3418.21±226.10) mmHg/s, -dP/dt max (-3455.00±131.28) mmHg/s, HR (469.50±53.25) times, MAP (46.97±4.06) mmHg, LVSP (97.17±5.38) mmHg, LVEDP (14.60±0.71) mmHg, +dP/dt max (2219.32±220.50) mmHg/s, -dP/dt max (-1345.05±170.20) mmHg/s, HR (444.50±86.67) times, NRG group MAP (100.30±10.52) mmHg, LVSP (115.10±6.53) mmHg, LVEDP (4.41±1.25) mmHg, +dP/dt max (3009.49±106.41) mmHg/s, -dP/dt max (-2311.67±157.20) mmHg/s, HR (435.40±83.75) times, MAP, LVSP and ±dP/dt max decreased ($P<0.05$), LVEDP increased ($P<0.05$), HR in the sepsis group compared with the Sham group. There was no significant change ($P>0.05$); MAP, LVSP and ±dP/dt max were increased in the NRG group compared with the sepsis group ($P<0.05$), LVEDP was decreased ($P<0.05$), and HR was absent. Significant changes ($P>0.05$); serum NO levels were (6.17±1.42) pg/ml in the Sham group, (7.66±0.78) pg/ml in the sepsis group, (3.55±0.78) pg/ml in the NRG group. There were significant differences between the sepsis group and the Sham group, and between the NRG group and the sepsis group ($P<0.05$). The serum ICAM-1 content in the Sham group was (338.593±14.701) pg/ml, sepsis group was (959.597±55.206) pg/ml, and the NRG group was (605.010±23.646) pg/ml. There were significant differences between the sepsis group and the Sham group, and between the NRG group and the sepsis group ($P<0.05$). The percentage of vWF expression in myocardial pericardial tube was (76.42±6.36) % in the Sham group, (40.58±4.33) % in the sepsis group, and (64.41±6.13) % in the NRG group, between the sepsis group and the Sham group. There were significant differences between the NRG group and the sepsis group ($P<0.05$). **Conclusion:** NRG-1 can protect myocardial vascular endothelial cells, attenuate oxidative stress, improve cardiac hemodynamics and alleviate cardiac dysfunction caused by sepsis.

Key words sepsis; neuregulin-1; endothelial cells; myocardial injury

脓毒症是一种涉及多器官功能障碍的严重疾病,心功能障碍和心肌损伤是引起脓毒症患者死亡的主要原因。脓毒症发生时血管内皮细胞受损、过度氧化应激等导致心肌缺血和损伤,是脓毒症心肌损伤发生发展的重要机制^[1]。神经调节蛋白-1(neuregulin-1, NRG-1)是表皮生长因子家族成员,近来有研究表明, NRG-1具有多种心血管方面的生物学效应^[2],包括抗炎,促进心肌细胞增殖,抑制凋亡^[3]等,但对脓毒症心肌血管内皮细胞作用的相关报道仍然较少。故本研究旨在探讨 NRG-1通过影响脓毒症大鼠心肌血管内皮细胞功能、氧化应激等从而从多靶点对心脏功能产生影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

主要试剂:LPS(L2880, sigma)、重组人神经调节蛋白(10658-H08H, Sino Biological Inc.)、NO试剂盒(A012, 南京建成生物)、ICAM-1试剂盒(CSB-E04576r, 武汉华美生物)、EDTA(PH8.0)抗原修复液(G1206, 武汉谷歌生物)、一抗 vWF(GB11020, 1:500, 武汉谷歌生物)、荧光二抗(GB21303, 1:300, 武汉谷歌生物)。

主要仪器:电脑小动物呼吸机(TKR 400H, 特力)、Powerlab 多通道生理信号采集记录仪(ADInstruments)、台式高速冷冻离心机(Neofuge 15R, Heal Force)、超低温冰箱(DW-86L626, Haier)、全自动研磨仪(武汉赛维尔生物)、酶标检测仪(EPOCH, BioTeK)、全自动生化分析仪(CHEMRAY 240, 深圳雷杜生命科技)、正置荧光显微镜(Eclipse C1, 日本 NIKON)、显微镜成像系统(DS-U3, 日本 NIKON)。

1.2 分组及模型

SPF级健康成年雄性SD大鼠25只,体重250~280 g[购于北京斯贝福生物技术有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2016-0002]。室温20~23℃, 12 h昼夜循环,适应性喂养1周后,实验前禁食6 h,自由饮水。随机分为脓毒症组($n=10$)、NRG组($n=10$)、Sham组($n=5$); NRG组于造模后4 h和24 h尾静脉注射重组人神经蛋白-1(recombinant human neuregulin-1, rhNRG-1), Sham组和脓毒症组于相同时间尾静脉注射等量生理盐水。脓毒症组大鼠腹腔注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)10 mg/kg建立脓毒症模型^[4-5], Sham组在同一时间腹腔注射等体积生理盐水。

1.3 心功能检测

术后48 h,腹腔注射1.5%戊巴比妥钠注射液0.2 ml/100 g麻醉大鼠,将其固定在手术台上,开放气道,进行气管内插管,通过小动物呼吸机调节呼吸参数(呼吸频率70次/min,呼吸比1.0:1.5)以维持呼吸。插管前,在导管和压力传感器中注入0.3%肝素盐水注射液以除去气泡。将右颈总动脉分离约2 cm,结扎远端,近端用动脉夹夹住。用1 ml注射器针头在远端的动脉壁上形成小开口。将制备的颈总动脉导管插入近端约2 cm。结扎颈动脉和导管的近端,将导管继续深入约2 cm,稳定约5 min,记录颈总动脉的血压波形。然后继续将导管缓慢送至心脏,当导管通过颈总动脉和主动脉弓到达主动脉瓣口时,能够清楚地感受到心脏的跳动,此时将导管送入左心室并记录左心室压力和左心室压力变化率的波形,稍微调整导管的位置以达到最适波形。用Labchart系统进行监测,测量平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)后,将导管插入左心室监测左心室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左心室舒张末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、左室内压变化速率(max rate of pressure rise and max rate of pressure decay, \pm dP/dt max)、心率(heart rate, HR)。血流动力学指标检测结束后,立即采血,取心室组织,左心室组织 -80°C 冻存,用于Western blot试验,右心室组织4%多聚甲醛中固定用于病理切片和免疫荧光试验。

1.4 心肌组织病理学及超微结构观察

右心室组织于4%多聚甲醛中固定至少24 h,蒸馏水冲净标本残留甲醛后,依次脱水、石蜡包埋、切片、HE染色并采集图像。另取1 mm³体积组织在2.5%戊二醛固定液中固定至少24 h,依次进行脱水、包埋、切片后,透射电子显微镜观察大鼠心肌细胞及线粒体超微结构。

1.5 氧化应激指标检测

心功能测量完毕后采血,取1 ml静脉血置于含枸橼酸钠的抗凝管中,以3000 r/min(离心半径8 cm)离心15 min分离血浆,然后置于 -80°C 超低温冰箱内保存,用于NO的检测。利用硝酸还原酶法测定血浆NO浓度,试验使用的NO试剂盒由南京建成生物工程研究所供给,严格按照说明书进行操作。

1.6 内皮细胞相关因子检测

取血清标本,采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测各组大鼠血清中的细胞间黏附分子-1(inter-cellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)水平,

试验操作严格按照试剂盒说明书进行,根据标准品的浓度和OD值做标准曲线,然后根据标准曲线方程计算出样本浓度。

1.7 内皮细胞结构检测

对大鼠心脏石蜡切片进行脱水和水合处理,取抗原后,在脱色摇瓶上用PBS(pH7.4)洗涤3次,每次5 min。加入自体荧光猝灭剂5 min,用清水冲洗10 min,血清30 min,加入血管假性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)一抗到湿纸箱,并在 4°C 孵育过夜,在PBS(pH 7.4)中洗涤3次,5 min/次。二级抗体覆盖组织并在室温下孵育50 min。细胞在PBS中洗涤3次,5 min/次,滴加DAPI染色液,室温下避光培养10 min。细胞洗涤后,用抗荧光猝灭片封闭,荧光显微镜下立即观察,并采集相应的图像(紫外激发下DAPI染色核呈蓝色,vWF阳性表达呈红色)。随机选取5个视野,计算vWF标记的内皮细胞所占血管管周的比例。

1.8 统计学方法

使用SPSS 24.0进行数据统计,Graph Pad Prism7.0进行绘图,各组间两两比较使用单因素方差(one-way ANOVA)分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 描述,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型一般情况观察

脓毒症组大鼠在注射LPS 2 h后逐渐出现竖毛、呼吸频率加快、精神状态欠佳、活动减少;6 h后出现腹泻、大小便失禁、进食水减少、蜷缩成一团、眼球开始出现少量的血性分泌物等内毒素血症症状;12 h后不易受外界刺激影响,呼吸急促,四肢肌张力降低,皮温低,眼神呆滞,眼球血性分泌物增加。

2.2 各组心肌组织病理改变

Sham组心肌纤维排列整齐,形态完整,心肌横纹排列清晰;细胞结构清晰、染色均匀,心肌间质未见异常。脓毒症组心肌纤维排列紊乱,少数心肌纤维变性坏死,横纹模糊不清甚至消失;细胞水肿且局部有炎性细胞浸润,心肌间质水肿。NRG组心肌纤维排列较为整齐,细胞结构较为清晰,未见明显炎性细胞浸润,间质水肿减轻,心肌损伤程度较脓毒症组降低。见图1。

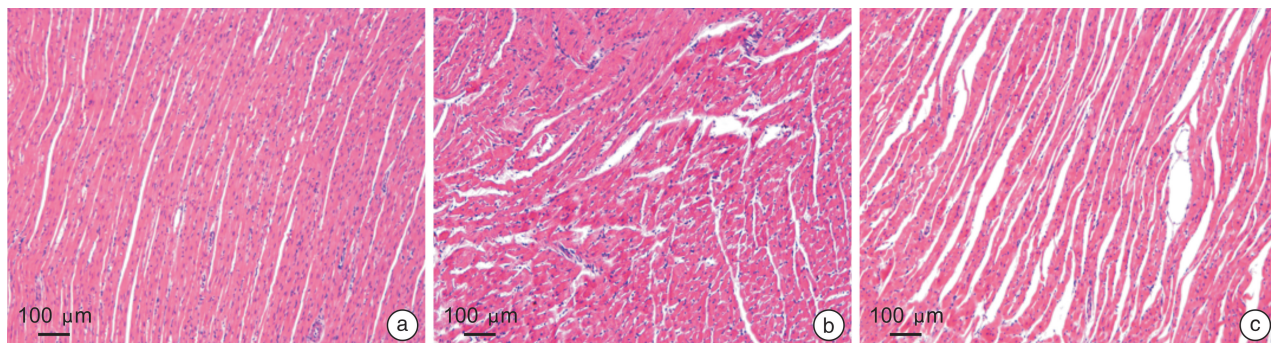
2.3 各组心肌细胞及线粒体超微结构观察

Sham组心肌细胞形态完整,线粒体无肿胀,嵴突结构正常,肌原纤维间距离无增宽。脓毒症组心肌细胞肿胀,线粒体肿大,嵴突结构断裂甚至消失,肌原纤维间距离增宽。NRG组心肌细胞形态较完整,线粒体轻微肿胀,嵴突结构少见断裂,肌原纤维距离稍增宽。见图2。

2.4 各组间血流动力学指标比较

脓毒症组与 Sham 组相比,MAP、LVSP 和 $\pm dP/dt_{max}$ 降低 ($P < 0.05$),LVEDP 升高 ($P < 0.05$),HR 无明显改变 ($P > 0.05$)。NRG 组

MAP、LVSP 和 $\pm dP/dt_{max}$ 明显回升 ($P < 0.05$),LVEDP 有明显的回落 ($P < 0.05$),HR 无明显改变 ($P > 0.05$)。见图 3。



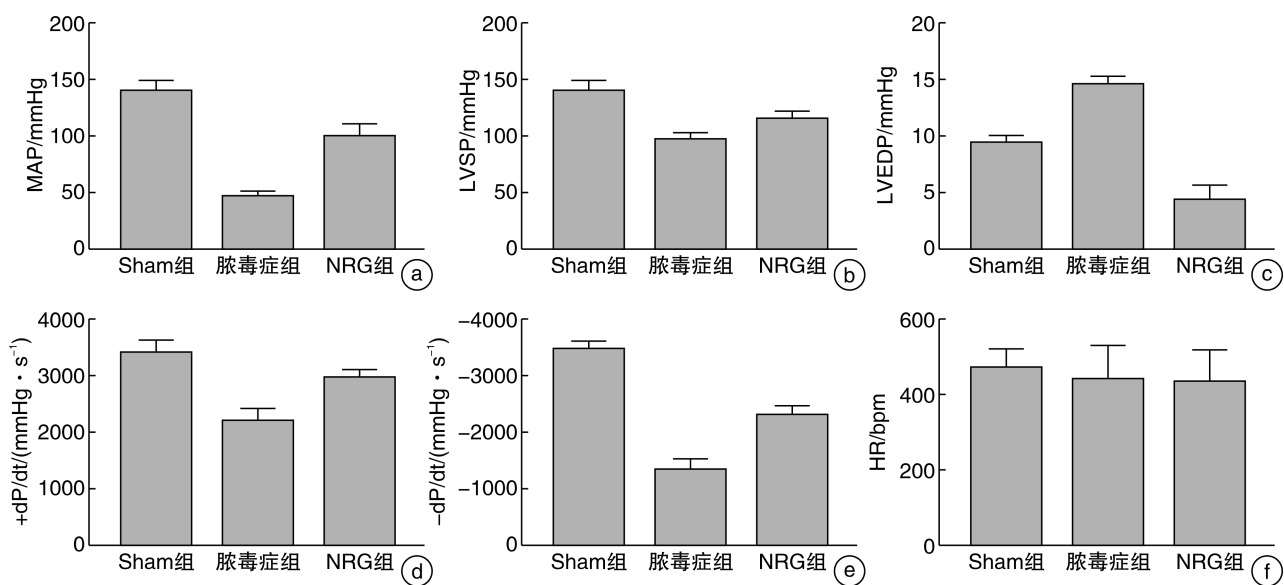
a:Sham 组;b:脓毒症组;c:NRG 组;标尺=100 μm 。

图 1 各组大鼠心肌组织(苏木精伊红染色, $\times 10$)



a:Sham 组;b:脓毒症组;c:NRG 组。

图 2 各组大鼠心肌细胞和线粒体透射电镜下超微结构 ($\times 6000$)



MAP,外周动脉压;LVSP,左心室收缩压;LVEDP,左心室舒张末压; $\pm dP/dt_{max}$,左室内压变化速率;HR,心率;1 mmHg=0.133 kPa。

图 3 各组大鼠血流动力学参数 ($n \geq 5$)

2.5 各组间管周内皮细胞 vWF 表达水平比较

与 Sham 组相比,脓毒症组心肌血管壁周围由 vWF 标记的血管内皮细胞百分比明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),与脓毒症组相比,尾静脉注射 rhNRG-1 后,脓毒症 NRG 组心肌血管壁周

围由 vWF 标记的血管内皮细胞百分比明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 NRG-1 治疗明显改善脓毒症引起的心肌血管内皮细胞通透性增高,有利于保持心肌血管的完整性。见图 4、图 5。

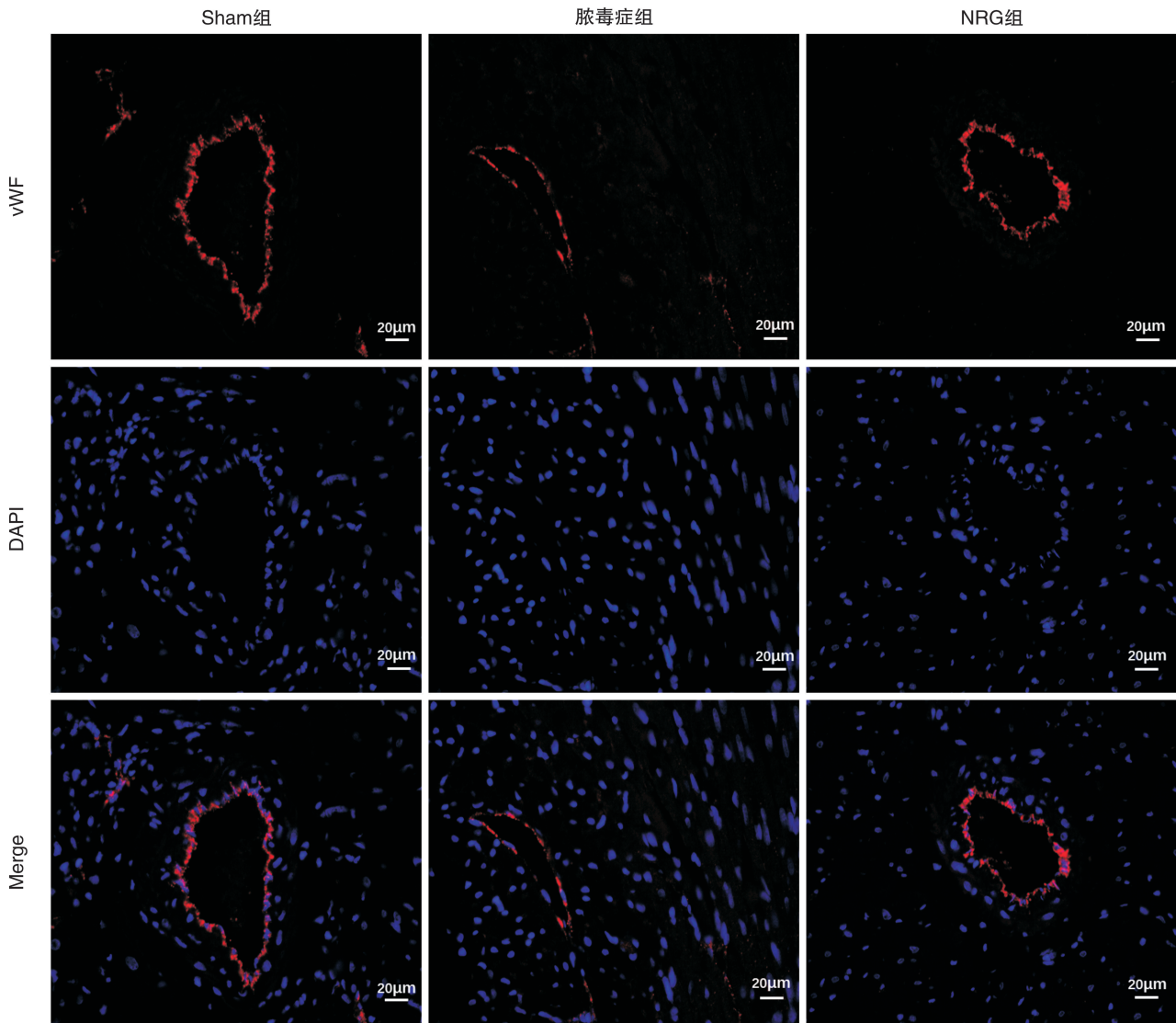


图 4 vWF 免疫荧光染色标记心肌血管周围内皮细胞数量(标尺 = 20 μm)

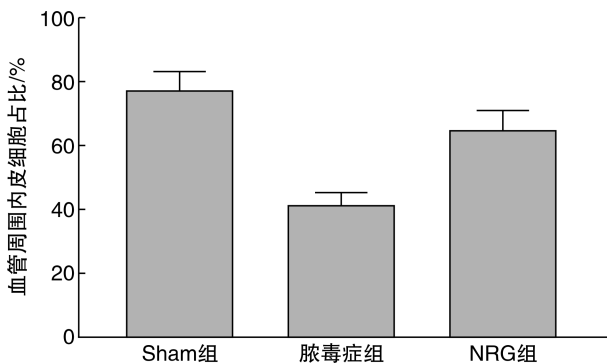


图 5 各组心肌血管周围内皮细胞所占管周比例比较($n = 5$)

2.6 各组间血清 NO 水平比较

与 Sham 组相比,脓毒症组大鼠血清 NO 含量升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与脓毒症组相比,NRG 组血清 NO 含量下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.7 各组间血清 ICAM-1 水平比较

与 Sham 相比,脓毒症组大鼠血清 ICAM-1 含量升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与脓毒症组相比,NRG 组大鼠血清 ICAM-1 含量下降,差异

有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠血清 NO 与 ICAM-1 含量比较

组别	$\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$	
	NO 含量	ICAM-1 含量
Sham 组	6.17±1.42	338.593±14.701
脓毒症组	7.66±0.78 ¹⁾	959.597±55.206 ¹⁾
NRG 组	3.55±0.78 ²⁾	605.010±23.646 ²⁾

与 Sham 组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与脓毒症组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

本研究结果表明,建立脓毒症大鼠 LPS 48h 模型,血流动力学显示脓毒症大鼠心功能下降,血浆 NO 和 ICAM-1 水平升高,心肌血管内皮细胞脱落增多。而进行 rhNRG-1 尾静脉注射后,大鼠心功能出现明显改善,心肌血管屏障功能增强,内皮因子水平和氧化应激程度也明显降低。

脓毒症是急危重症患者的常见疾病,其主要的病理生理变化包括血管内皮功能障碍,血管屏障的缺失,过度氧化应激和失控的炎症反应等,都不可避免地影响心脏功能^[6-7],血管通透性增加进而炎症因子渗漏过多,扩散到组织脏器加重其炎症反应,加重脓毒症心功能障碍,甚至发展成为多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。若能有效控制心肌血管内皮细胞的损伤,则可大大减轻脓毒症心肌损伤,提高存活率。

脓毒症发生时,损伤的内皮细胞分泌大量内皮细胞粘附分子 ICAM-1 直接导致心肌细胞损伤和功能障碍,其血浆水平与内皮细胞损伤程度呈正相关。有研究表明,预先注射 NRG-1 能降低脓毒症大鼠血浆炎症因子水平,调节心肌细胞的代谢活性并维持心脏的稳态^[8]。实验结果显示 NRG-1 能有效减少血液中 ICAM-1 产生,对血管内皮功能起到一定的抗炎保护作用。

对保持正常血管张力和微循环至关重要的另外一种物质是 NO,其血浆水平高低可反映血管内皮细胞的功能状态^[9]。在正常生理状态时,NO 具有抑制白细胞与血管内皮细胞粘附、维持心脏正常血液灌注等重要功能^[10-11];脓毒症发生时,内皮细胞受损导致 NO 生物利用的减少^[12],大量堆积产生的毒性作用造成心肌缺血缺氧损伤^[13]。NRG-1 给药已被证实能够恢复线粒体功能并减少氧化应激^[14]。结果显示 NRG-1 注射能明显逆转脓毒症中升高的血清 NO 水平,提示 NRG-1 在脓毒症心

肌损伤中能起到抑制氧化应激,保护血管内皮功能的作用。

血管通透性增加和屏障功能丧失是脓毒症期间内皮细胞功能障碍的核心特征^[15],vWF 染色程度可反映血管内皮细胞的完整性^[16-17],其循环水平已被用作全身炎症反应综合征(SIRS)、高血压等疾病中内皮损伤的生物标志物^[18]。Osun 等^[19]的实验研究表明,与从急性心力衰竭中恢复的患者相比,患者的血管内皮层 vWF 免疫荧光染色较弱。实验证实 NRG 组血管内皮内衬周围的 vWF 水平明显升高,提示 NRG-1 的注射能明显改善脓毒症血管通透性的增高,增强血管屏障功能。

NRG-1 是由位于心脏微血管系统中的内皮细胞合成和释放的蛋白质,在心肌细胞结构中起到促进心肌细胞增殖,抑制细胞凋亡,调节线粒体功能和细胞内钙循环,促进血管生成,调节心脏自主神经功能的平衡等作用^[20-21],但在脓毒症心肌血管内皮细胞保护方面的研究较少,故设想 NRG-1 在脓毒症心肌损伤心功能不全中,是否也能起到保护血管内皮细胞和心脏功能的作用,进而进行实验研究。

研究初步表明,NRG-1 可通过抑制相关内皮因子的分泌和氧化应激,减轻内皮细胞的损伤,保护内皮细胞的完整性,增强血管组织的屏障功能,从而通过多个靶点改善心脏功能。脓毒症心肌细胞和内皮细胞损伤的机制更值得继续探究。

参考文献

- [1] Zaky A, Deem S, Bendjelid K, et al. Characterization of cardiac dysfunction in sepsis: an ongoing challenge [J]. Shock, 2014, 41(1): 12-24.
- [2] Salvany S, Casanovas A, Tarabal O, et al. Localization and dynamic changes of neuregulin-1 at C-type synaptic boutons in association with motor neuron injury and repair [J]. FASEB J, 2019, 26: fj201802329R.
- [3] 魏雅念, 王龙, 王鑫, 等. 神经调节蛋白-1 对脓毒症大鼠心肌组织炎症和心肌细胞凋亡的影响 [J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(8): 763-768.
- [4] Fodor RS, Georgescu AM, Cioc AD, et al. Time- and dose-dependent severity of lung injury in a rat model of sepsis [J]. Rom J Morphol Embryol, 2015, 56(4): 1329-1337.
- [5] Huajie Z. Effect of resveratrol on myocardial energy metabolism in sepsis rats [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27(12): 980-983.
- [6] Kuang L, Zhu Y, Zhang J, et al. A novel cross-linked haemoglobin-based oxygen carrier is beneficial to sepsis in rats [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 1496-1504.

- [7] Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al. The endothelium in sepsis[J]. *Shock*, 2016, 45 (3): 259–270.
- [8] Qin Z, Xia P, Long W, Xi W, et al. The protective role of neuregulin-1; a potential therapy for sepsis-induced cardiomyopathy[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 788: 234–240.
- [9] Hatem M, Shahenda SA, Asad Z, et al. Endoplasmic Reticulum Stress; A Critical Molecular Driver of Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disturbances Associated with Diabetes[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (7): 1658.
- [10] Higashi Y, Kihara Y, Noma K. Endothelial dysfunction and hypertension in aging[J]. *Hypertension Res*, 2012, 35(11): 1039–1047.
- [11] 郑海崇, 曾勉. 核因子 κ B 与 NO 在脓毒症 ARDS 的关系及 Ghrelin 干预机制的研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37(10): 784–787.
- [12] Cohen J, Vincent JL, Adhikari NK, et al. Sepsis; a roadmap for future research[J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15(5): 581–614.
- [13] Andreas D, Ning X, Sebastian S, et al. New Therapeutic Implications of Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Function/Dysfunction in Cardiovascular Disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(1): 187.
- [14] Guo LW, Gao L, Rothschild J, et al. Control of protein kinase C activity, phorbol ester-induced cytoskeletal remodeling, and cell survival signals by the scaffolding protein SSeCKS/GRAVIN/AKAP12 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(44): 38356–38366.
- [15] Opal SM, van der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock[J]. *J Intern Med*, 2015, 277(3): 277–293.
- [16] Irina P, Kimberly M, Linda D, et al. von Willebrand factor deficiency does not influence angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation in mice [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 16645.
- [17] Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells[J]. *J Am Soc Hypertens*, 2012, 6(2): 85–99.
- [18] Buchtele N, Schwameis M, Gilbert JC, et al. Targeting von Willebrand Factor in Ischaemic Stroke: Focus on Clinical Evidence [J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118 (6): 959–978.
- [19] Osun K, Seok-Min H, Timothy AS, et al. Preservation of peritubular capillary endothelial integrity and increasing pericytes may be critical to recovery from postischemic acute kidney injury [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295: 351–359.
- [20] Wang X, Liu Z, Duan HN, et al. Therapeutic potential of Neuregulin in cardiovascular system: can we ignore the effects of Neuregulin on electrophysiology [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2016, 16(11): 867–871.
- [21] Fang SJ, Li PY, Wang CM, et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress by neuregulin-1 protects against myocardial ischemia reperfusion injury [J]. *Peptides*, 2017, 88: 196–207.

(收稿日期: 2019-05-07)