

· 论 著 ·

胸腺素 $\beta 4$ 联合水胶体敷料对深 II 度烧伤大鼠创面愈合及 p38 丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路的影响

李树松¹, 马 滢², 吴晓明³, 赵晓玉¹, 李 丽³

(1.承德医学院附属医院医疗美容科,河北承德 067000;2.承德医学院附属医院肾内科血液透析室,河北承德 067000;3.承德医学院附属医院烧伤整形科,河北承德 067000)

[摘要] 目的 探讨胸腺素 $\beta 4$ (thymosin $\beta 4$, T $\beta 4$) 联合水胶体敷料对深 II 度烧伤大鼠早期创面愈合及 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 信号转导通路的影响。方法 选取常规适应性喂养的健康 Wister 雄性大鼠 40 只作为研究对象,随机抽取 10 只作为对照组,其余 30 只按照随机数字表法分为烧伤组、T $\beta 4$ + 水胶体敷料组、p38MAPK 激动剂组,每组 10 只。除对照组外,其余大鼠均制作深 II 度烧伤模型,造模成功后进行后续试验,T $\beta 4$ + 水胶体敷料组给予外涂 6 μ g T $\beta 4$ + 安普贴贴敷,p38MAPK 激动剂组给予外涂 6 μ g T $\beta 4$ + 安普贴贴敷 + 外涂 p79350 (1 μ g/kg),烧伤组大鼠给予等量 0.9% 氯化钠溶液外涂。给药 3、7、10、14 d 对创面进行拍照,采用 MoticMed6 软件及 Photoshop 软件处理照片并计算各组大鼠早期创面愈合率;免疫组织化学法检测创面肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 10 (interleukin-10, IL-10) 等炎症因子水平;逆转录-聚合酶链反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测创面转化生长因子 $\beta 1$ 蛋白 (transforming growth factor $\beta 1$ protein, TGF- $\beta 1$) mRNA、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) mRNA 表达情况;蛋白免疫印迹法 (Western blotting, WB) 检测 p38MAPK 信号转导通路关键蛋白 p38MAPK、核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B)、半胱氨酸蛋白酶 3 (cysteine protease 3, caspase-3) 表达情况。结果 给药 3、7、10、14 d 后,T $\beta 4$ + 水胶体敷料组的创面愈合率均高于烧伤组和 p38MAPK 激动剂组 ($P < 0.05$)。与对照组比较,烧伤组、T $\beta 4$ + 水胶体敷料组、p38MAPK 激动剂组各时点 TNF- α 、IL-10 水平均较高 ($P < 0.05$);给药后 12、24、48 h,烧伤组、p38MAPK 激动剂组 TNF- α 水平高于 T $\beta 4$ + 水胶体敷料组 ($P < 0.05$),IL-10 水平低于 T $\beta 4$ + 水胶体敷料组 ($P < 0.05$);而烧伤组、p38MAPK 激动剂组各时点 TNF- α 、IL-10 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与对照组比较,烧伤组、T $\beta 4$ + 水胶体敷料组、p38MAPK 激动剂组各时间点 TGF- $\beta 1$ mRNA、VEGF mRNA 表达均上调 ($P < 0.05$);与烧伤组比较,T $\beta 4$ + 水胶体敷料组各时间点 TGF- $\beta 1$ mRNA 表达均下调 ($P < 0.05$)、VEGF mRNA 表达均上调 ($P < 0.05$);烧伤组、p38MAPK 激动剂组各时间点 TGF- $\beta 1$ mRNA、VEGF mRNA 表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与对照组比较,烧伤组、T $\beta 4$ + 水胶体敷料组、p38MAPK 激动剂组 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达量均较高 ($P < 0.05$);与烧伤组比较,T $\beta 4$ + 水胶体敷料组 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达量均较低 ($P < 0.05$);但烧伤组、p38MAPK 激动剂组 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 胸腺素 $\beta 4$ 联合水胶体敷料有助于促进深 II 度烧伤创面愈合,其机制可能与抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路、降低炎症因子表达有关。

[关键词] 烧伤;胸腺素 $\beta 4$;水胶体敷料 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.07.015

[中图分类号] R644 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2024)07-0832-07

Effects of thymosin $\beta 4$ combined with hydrocolloid dressing on wound healing and p38 mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway in rats with deep II degree burn

LI Shu-song¹, MA Ying², WU Xiao-ming³, ZHAO Xiao-yu¹, LI Li³

[收稿日期] 2023-04-23

[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划 (20220009)

[作者简介] 李树松 (1979-), 男, 满族, 河北承德人, 承德医学院

附属医院主治医师, 医学学士, 从事烧伤整形与医疗美容研究。

(1. Department of Medical Cosmetology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Hebei Province, Chengde 067000, China; 2. Hemodialysis Room, Department of Nephrology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Hebei Province, Chengde 067000, China; 3. Department of Burn and Plastic Surgery, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Hebei Province, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of thymosin β_4 (T β_4) combined with hydrocolloid dressing on early wound healing and p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) signal transduction pathway in rats with deep II degree burn. **Methods** Forty healthy Wister male rats with conventional adaptive feeding were selected as the research subjects. Ten rats were randomly selected as the control group, and the remaining 30 animals were divided into burn group ($n=10$), T β_4 +hydrocolloid dressing group ($n=10$) and p38MAPK agonist group ($n=10$) according to the random number table method. Except the control group, the remaining rats were made into deep II degree burn models for subsequent experiments. The T β_4 +hydrocolloid dressing group was given external application of 6 μg T β_4 +Ampu patch, the p38MAPK agonist group was given external application of 6 μg T β_4 +AMP patch+external application of p79350 (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$), and the burn group was given an equal amount of 0.9% sodium chloride solution for external application. The wounds were photographed on the 3rd, 7th, 10th, and 14th days of administration, and the pictures were processed by MoticMed6 software and Photoshop software; the early wound healing rates of the rats in each group were calculated. The levels of inflammatory factors tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10) in the wound were detected by immunohistochemistry, and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the expression of transforming growth factor β_1 protein (TGF- β_1) mRNA and vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA expression in wounds. Western blot (WB) was used to detect the expression of key proteins of p38MAPK signaling pathway p38MAPK, nuclear factor kappa B (NF- κB), cysteine protease 3 (caspase-3). **Results** At 3, 7, 10 and 14 d after administration, the wound healing rate of T β_4 +hydrocolloid dressing group was higher than that of burn group and p38MAPK agonist group ($P<0.05$). Compared with the control group, the levels of TNF- α and IL-10 at each time point in the burn group, T β_4 +hydrocolloid dressing group and p38MAPK agonist group were higher ($P<0.05$). At 12, 24, and 48 h after administration, the levels of TNF- α in the burn group and p38MAPK agonist group were higher than those in the T β_4 +hydrocolloid dressing group ($P<0.05$), while the IL-10 level was lower than that in the T β_4 +hydrocolloid dressing group ($P<0.05$). However, there was no significant difference in the levels of TNF- α and IL-10 between the burn group and the p38MAPK agonist group at each time point ($P>0.05$). Compared with the control group, the expressions of TGF- β_1 mRNA and VEGF mRNA were all up-regulated at each time point in the burn group, T β_4 +hydrocolloid dressing group and p38MAPK agonist group ($P<0.05$). Compared with the burn group, the expression of TGF- β_1 mRNA was down-regulated at each time point in the T β_4 +hydrocolloid dressing group ($P<0.05$), while the expression of VEGF mRNA was up-regulated ($P<0.05$). There was no significant difference in the expressions of TGF- β_1 mRNA and VEGF mRNA at each time point between the burn group and the p38MAPK agonist group ($P>0.05$). Compared with the control group, the expression levels of p38MAPK, NF- κB and caspase-3 in the burn group, T β_4 +hydrocolloid dressing group and p38MAPK agonist group were all higher ($P<0.05$); Compared with the burn group, the expression levels of

p38MAPK, NF- κ B and caspase-3 in the T β 4+hydrocolloid dressing group were all lower ($P < 0.05$). However, there was no significant difference in the expression of p38MAPK, NF- κ B and caspase-3 between the burn group and the p38MAPK agonist group ($P > 0.05$). **Conclusion** Adrenaline β 4 combined with hydrocolloid dressing helps to promote the healing of deep II degree burn wounds, and the mechanism may be related to the inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway and the reduction of inflammatory factor expression.

[Key words] burns; thymosin β 4; hydrocolloid dressing

烧伤的严重程度取决于受伤组织的范围和深度,临床将损伤到真皮层但仍有真皮层残留的烧伤创面定义为深II度烧伤,其愈合过程复杂,包括局部凝血、细胞增殖、炎症反应、细胞外基础合成及重塑等,清除坏死组织后及早封闭创面是治疗深II度烧伤的基本准则^[1-2]。临床治疗深II度烧伤常采用非手术治疗,但大面积深II度烧伤治疗过程中易引发感染,甚至危及生命安全,深II度烧伤创面的处理一直是临床较为棘手的问题^[3]。近年来,胸腺素 β 4(thymosin β 4, T β 4)促进创面愈合的作用受到关注,T β 4具有促进血管及组织再生、抑制炎症细胞的游动和黏附、促进细胞迁移、刺激毛囊发育等多种功能,同时可调节表皮、真皮连接及整合生理过程中起关键作用的细胞外基质蛋白^[4-5]。有报道显示,纤维细胞在低氧环境下生长速度最快,有利于上皮增殖分化,从而提高创面愈合速度,其中水胶体、水凝胶等湿性功能敷料可为创面提供一定湿度、低氧环境而广泛应用于临床各类创面治疗^[6]。研究表明T β 4、水胶体敷料均可用于深II度烧伤的治疗^[7-8],但关于两者联合应用的疗效鲜见报道。本研究旨在探讨T β 4联合水胶体敷料对深II度烧伤大鼠创面愈合及p38MAPK信号转导通路的影响,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物 6周龄健康Wister雄性大鼠40只,体重210~260 g,平均(235.00 \pm 10.00)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号SCXK(京)2020-0022。常规饲养:室内温度20~22 $^{\circ}$ C,相对湿度50%~55%。

本研究经承德医学院附属医院实验动物伦理委员会批准实施。

1.1.2 主要试剂及仪器 T β 4(北京诺思兰德生物技术有限公司,批号:20190215)、水胶体敷料(商品名:安普贴,法国优格医疗用品公司,批号:20160506)、p79350(美国Calbiochem公司,批号:

Ca21570)、0.9%氯化钠溶液(浙江吉诺生物医药技术有限公司,批号:20191207)、戊巴比妥钠、硫化钠(Na₂S)、氯仿(上海新亚药业有限公司,批号:20201013、20201007、20201027)、磷酸缓冲液(北京万佳首化生物科技有限公司,批号:20191224)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)单抗、白细胞介素10(interleukin-10, IL-10)单抗(英国Abcam公司,批号:Ab6745、Ab5480、羊标志一抗、鼠标志二抗(碧云天生物技术有限公司,批号:A4015、A4120)、p38MAPK、NF- κ B、caspase-3单抗(美国Abcam公司,批号:Ab25140、Ab32715、Ab45128)。反转录试剂盒、聚氰基丙烯酸正丁酯试剂盒(美国Santa Cruz公司,批号:79403、79150)。RT-PCR检测仪(美国ABI公司)、凝胶成像系统(英国UVItec公司)、冷冻离心机(美国Thermo公司)、恒温水浴箱(上海一恒科技有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 动物模型制备 将40只雄性大鼠常规饲养7 d后,随机抽取10只大鼠作为对照组,其余30只大鼠按照随机数字表法分为烧伤组、T β 4+水胶体敷料组、p38MAPK激动剂组,每组10只。除对照组外,其余组大鼠均进行深II度烧伤模型制备:烧伤前12 h禁食,自由饮水,按照30 mg/kg标准腹腔注射3%戊巴比妥钠,麻醉起效后采用10% Na₂S溶液进行背部脱毛,而后将大鼠固定于专用砧板上,将直径5 cm铁棒于90 $^{\circ}$ C热水中静置15 min,取出铁棒后采用滤纸吸干表面水分,紧贴大鼠脱毛部位10 s,建立深II度烧伤模型(深度经病理学切皮证实)。

1.2.2 给药方法 对照组不作处理;烧伤组:于创面外涂0.1 mL 0.9%氯化钠溶液;T β 4+水胶体敷料组:将T β 4溶于0.9%生理盐水中,配置浓度为60 mg/L,将含有6 μ g的T β 4混合液于创面外涂,而后将安普贴覆盖在创面上,以超出创面周边1~2 cm为准;p38MAPK激动剂组:在沿用T β 4+水胶体敷料组给药方法的基础上,将p79350溶于0.9%氯化钠溶液中,配置浓度为60 mg/L,按p79350

1 μg 的标准于创面外涂,早晚各换一次药,每只大鼠分笼饲养,自由饮食,连续给药 14 d。

1.3 指标检测

1.3.1 早期创面愈合情况 分别于给药后 3、7、10、14 d 相机拍照,采用 MoticMed6 软件及 Photoshop 软件处理照片,计算早期创面愈合率。早期创面愈合率=(原始创面面积-未愈合创面面积)/原始创面面积 $\times 100\%$,以 2 个软件所得平均值为最终结果。

1.3.2 免疫组织化学法检测创面组织炎症因子水平 给药后 12、24、48 h 切取创面组织并进行研磨,加入细胞裂解液后在离心半径 12.5 cm、3 000 r/min 条件下离心 15 min,加入 TNF- α 单抗、IL-10 单抗,采用磷酸缓冲液洗涤 5 min,加入 5 mL 羊标志的一抗(1:500),于 4 $^{\circ}\text{C}$ 放置过夜,采用磷酸缓冲液洗涤 3 次(5 min/次)后加入 2 mL 鼠标志的二抗(1:1 000),于室温放置 2 h 后加入显色底物,加入终止液,于 450 nm 处测吸光度。

1.3.3 RT-PCR 法检测创面 TGF- β 1、VEGF mRNA 表达情况 给药后 3、7、10、14 d 切取创面组织(避免同一创面多次切取),将创面组织剪成碎块后加入 0.2 mL 氯仿,并于 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 冰冻离心机中离心(12 000 g)15 min,而后采用 Trizol 试剂提取总 RNA,按照反转录试剂盒操作步骤将 RNA 转录成 cDNA,加入 TGF- β 1、VEGF 引物及荧光标记的碱基,以 β -actin 为内参,应用 RT-PCR 检测仪扩增、检测 TGF- β 1 mRNA、VEGF mRNA 表达。引物序列: TGF- β 1, 上游: 5'-GTGGCTAACCAAGGAGAC-3', 下游: 5'-CGGTTGCCCTTACCAGGT-3'; VEGF: 上游: 5'-GAGGGCAAATACACGTAA-3', 下游: 5'-

AACGCGTCCACTTTAAAT-3'(引物设计和合成在上海生工生物工程有限公司完成)。用 BIO-RAD 公司 Real-Time PCR Detection System 软件进行定量分析,结果数据采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法进行分析。

1.3.4 Western Blotting 法检测 p38MAPK 信号传导通路关键蛋白表达情况 连续给药 14 d 后,于次日清晨处死大鼠,切取创面组织研磨,经裂解液裂解后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下以离心半径 12.5 cm、12 000 r/min 离心 10 min,采用聚氰基丙烯酸正丁酯试剂盒进行总蛋白定量,配置 5% 分离胶 5%,依次上样、电泳、转膜,于室温下摇动封闭后依次加入一抗(p38MAPK、NF- κ B、caspase-3, 1:400),于室温下免疫沉淀 2 h,用 Tris-HCl 缓冲盐溶液洗涤两次,每次 10 min,完成上述操作后将样品放入二抗稀释液(1:500)中,后续操作一致,并进行 ECL 化学发光,根据信号实际情况调整曝光时间,显影、定影后扫描胶片,与对应的 β -actin 条带光密度比值为 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白相对表达水平,重复 3 次,取平均值。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 26.0 统计学软件分析数据。计量资料比较采用单因素方差分析和 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠早期创面愈合情况比较 给药后各时点,T β 4+水胶体敷料组创面愈合率均高于烧伤组、p38MAPK 激动剂组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。给药 3、7 d 时,p38MAPK 激动剂组创面愈合率均高于烧伤组,差异有统计学意义($P < 0.05$),但给药 10、14 d 时,烧伤组、p38MAPK 激动剂组创面愈合率差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠早期创面愈合情况比较

Table 1 Comparison of early wound healing of rats in each group

($n=10, \bar{x} \pm s, \%$)

组别	给药后时间			
	3 d	7 d	10 d	14 d
烧伤组	3.34 \pm 0.84	14.15 \pm 2.27	23.27 \pm 3.05	44.92 \pm 5.16
T β 4+水胶体敷料组	7.64 \pm 1.42*	30.19 \pm 3.85*	48.61 \pm 4.51*	82.61 \pm 5.70*
p38MAPK 激动剂组	4.15 \pm 0.91*#	16.24 \pm 2.61*#	24.16 \pm 3.10#	46.18 \pm 5.30#
F 值	87.458	168.300	309.115	306.021
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

* P 值 <0.05 与烧伤组比较 # P 值 <0.05 与 T β 4+水胶体敷料组比较(SNK- q 检验)

2.2 各组大鼠创面炎症因子水平比较 与对照组比较,烧伤组、T β 4+水胶体敷料组、p38MAPK 激动剂组各时点 TNF- α 、IL-10 水平均较高,差异有统计学意义($P < 0.05$);给药后 12、24、48 h,烧伤组、

p38MAPK 激动剂组 TNF- α 水平高于 T β 4+水胶体敷料组 IL-10 水平低于 T β 4+水胶体敷料组,差异有统计学意义($P < 0.05$),烧伤组、p38MAPK 激动剂组各时点 TNF- α 、IL-10 水平差异无统计学意

义($P>0.05$),见表2。

表2 各组大鼠创面炎症因子水平比较

Table 2 Comparison of the levels of inflammatory factors on wound of rats in each group

($n=10, \bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

炎症因子	TNF- α			IL-10		
	给药后 12 h	给药后 24 h	给药后 48 h	给药后 12 h	给药后 24 h	给药后 48 h
对照组	10.20 \pm 2.15	10.23 \pm 2.17	10.22 \pm 2.10	6.37 \pm 1.52	6.40 \pm 1.60	6.39 \pm 1.57
烧伤组	62.20 \pm 6.12*	69.15 \pm 4.61*	62.20 \pm 5.27*	59.20 \pm 7.60*	63.35 \pm 6.24*	55.01 \pm 5.18*
T β 4+水胶体敷料组	35.16 \pm 5.38*#	22.19 \pm 6.27*#	14.80 \pm 3.06*#	65.05 \pm 8.10*#	75.16 \pm 7.29*#	72.16 \pm 6.82*#
p38MAPK 激动剂组	51.07 \pm 6.07* Δ	70.29 \pm 4.53* Δ	61.91 \pm 5.16* Δ	59.06 \pm 7.46* Δ	63.05 \pm 6.19* Δ	55.27 \pm 5.20* Δ
F 值	188.676	456.203	482.160	166.926	287.477	313.024
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与烧伤组比较 Δ P 值<0.05 与 T β 4+水胶体敷料组比较(SNK-q 检验)

2.3 各组大鼠创面 TGF- β 1 mRNA、VEGF mRNA 表达情况比较 与对照组比较,烧伤组、T β 4+水胶体敷料组、p38MAPK 激动剂组各时点 TGF- β 1 mRNA、VEGF mRNA 表达均上调,差异有统计学意义($P<0.05$);与烧伤组比较,T β 4+水胶体敷料

组各时点 TGF- β 1 mRNA 表达均下调($P<0.05$)、VEGF mRNA 表达均上调,差异有统计学意义($P<0.05$);烧伤组、p38MAPK 激动剂组各时点 TGF- β 1 mRNA、VEGF mRNA 表达差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。

表3 各组大鼠创面 TGF- β 1 mRNA、VEGF mRNA 表达情况比较

Table 3 Comparison of TGF- β 1 mRNA and VEGF mRNA expression on wound of rats in each group

($n=10, \bar{x} \pm s$)

炎症因子	TGF- β 1 mRNA			
	给药后 3 d	给药后 7 d	给药后 10 d	给药后 14 d
对照组	0.20 \pm 0.04	0.19 \pm 0.03	0.21 \pm 0.05	0.22 \pm 0.04
烧伤组	0.29 \pm 0.07*	0.46 \pm 0.08*	0.77 \pm 0.06*	0.90 \pm 0.09*
T β 4+水胶体敷料组	0.35 \pm 0.04*#	0.37 \pm 0.05*#	0.50 \pm 0.06*#	0.46 \pm 0.04*#
p38MAPK 激动剂组	0.30 \pm 0.06* Δ	0.46 \pm 0.04* Δ	0.75 \pm 0.05* Δ	0.92 \pm 0.07* Δ
F 值	13.333	56.842	225.437	291.276
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

炎症因子	VEGF mRNA			
	给药后 3 d	给药后 7 d	给药后 10 d	给药后 14 d
对照组	5.60 \pm 1.02	5.66 \pm 1.10	5.64 \pm 1.05	5.67 \pm 1.09
烧伤组	7.60 \pm 1.15*	8.33 \pm 1.20*	8.54 \pm 1.32*	9.30 \pm 1.40*
T β 4+水胶体敷料组	9.34 \pm 0.98*#	11.28 \pm 1.19*#	14.05 \pm 1.07*#	16.80 \pm 1.12*#
p38MAPK 激动剂组	7.62 \pm 1.17* Δ	8.30 \pm 1.14* Δ	8.60 \pm 1.35* Δ	9.34 \pm 1.42* Δ
F 值	19.930	39.303	84.858	136.278
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与烧伤组比较 Δ P 值<0.05 与 T β 4+水胶体敷料组比较(SNK-q 检验)

2.4 各组大鼠 p38MAPK 信号传导通路关键蛋白表达情况比较 与对照组比较,烧伤组、T β 4+水胶体敷料组、p38MAPK 激动剂组 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达量均较高,差异有统计学意义($P<0.05$);与烧伤组比较,T β 4+水胶体敷料组 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达量均较低,差异有统计学意义($P<0.05$);烧伤组、p38MAPK 激动剂组 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达量差异无统计学意义($P>0.05$),见表4、图1。

表4 各组大鼠 p38MAPK 信号传导通路关键蛋白表达情况比较

Table 4 Comparison of the expression of key proteins of p38MAPK signaling pathway in rats in each group

($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	p38MAPK 蛋白	NF- κ B 蛋白	caspase-3 蛋白
对照组	0.95 \pm 0.27	3.15 \pm 0.50	6.20 \pm 0.67
烧伤组	4.88 \pm 1.40*	5.72 \pm 0.64*	12.25 \pm 1.42*
T β 4+水胶体敷料组	1.30 \pm 0.29*#	4.21 \pm 0.44*#	9.01 \pm 0.94*#
p38MAPK 激动剂组	4.77 \pm 1.42* Δ	5.69 \pm 0.60* Δ	12.20 \pm 1.19* Δ
F 值	44.378	51.246	70.776
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与烧伤组比较 Δ P 值<0.05 与 T β 4+水胶体敷料组比较(SNK-q 检验)

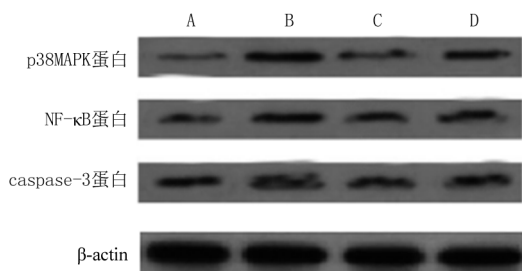


图1 各组大鼠 p38MAPK 信号传导通路关键蛋白表达情况比较

A. 对照组; B. 烧伤组; C. T β 4 + 水胶体敷料组; D. p38MAPK 激动剂组

Figure 1 Comparison of the expression of key proteins of p38MAPK signaling pathway in rats in each group

3 讨 论

深Ⅱ度烧伤发生后,局部创面持续性开放易增加脓毒血症发生风险,手术植皮治疗在深Ⅱ度烧伤治疗过程中至关重要,但药物辅助性治疗仍存在不可替代的作用,其通过促进基底膜组织再生、纤维蛋白的形成等恢复局部皮肤生理性屏障^[9-10]。T β 4 近年来已被证实可通过调节机体多种生长因子表达、趋化新生细胞迁移而形成血管,从而促进创面愈合;安普贴是典型的水胶体敷料,与创伤口渗出物接触后于体表形成一层湿润凝胶,避免水、细菌侵入,为烧伤、烫伤愈合过程提供有利条件^[11-12]。考虑到 T β 4、水胶体敷料在烧伤创面愈合中均具有促进作用,本研究通过动物建模发现,在应用 T β 4 的基础上给予水胶体敷料,给药后各时点 T β 4 + 水胶体敷料组创面愈合率均高于烧伤组、p38MAPK 激动剂组,二者联合应用可加速深Ⅱ度烧伤创面愈合,由此可见 T β 4、水胶体敷料在烧伤创面愈合进程中具有协同作用。

深Ⅱ度烧伤的烧伤深度伤及皮肤真皮层,严重烧伤会引发机体产生促炎或抗炎细胞因子,其中 TNF- α 可直接反映体内炎症因子变化程度,水平异常升高后负反馈调节巨噬细胞或单核细胞产生 IL-10,IL-10 又可抑制炎症介质生成^[13-14]。本研究结果显示,给药后 12、24、48 h,烧伤组、p38MAPK 激动剂组 TNF- α 水平高于 T β 4 + 水胶体敷料组,IL-10 水平低于 T β 4 + 水胶体敷料组,从炎症因子随给药时间的变化可以看出,深Ⅱ度烧伤后引发的炎症反应过度不仅在于 TNF- α 等促炎细胞因子的过度分泌,同时在于 IL-10 等抗炎细胞因子分泌不足,而 T β 4 + 水胶体敷料治疗可抑制巨噬细胞或单核细胞分泌促炎因子,同时促进其分泌抗炎因子,通过调

节促炎、抗炎间平衡发挥治疗作用。李相国等^[15] 研究发现,TGF- β 1 可促进细胞外基质表达及成纤维细胞生长,诱导细胞因子的分泌有助于创伤面愈合,而在深Ⅱ度烧伤中后期,随着上皮细胞再生、创面胶原基质沉积,机体反馈调节机制通过下调 TGF- β 1 表达而抑制相关信号传导通路,从而促进创面愈合。本研究结果显示,与烧伤组比较,T β 4 + 水胶体敷料组各时点 TGF- β 1 mRNA 表达均下调、VEGF mRNA 表达均上调,提示 T β 4 + 水胶体敷料治疗深Ⅱ度烧伤在抑制 TGF- β 1 表达的同时,还可通过提升创面 VEGF 表达量而缩短愈合进程;有研究通过动物实验证实,VEGF 作为缺氧细胞用来刺激血管生长的关键信号,在深度烧伤愈合过程中,VEGF 与表面受体络氨酸激酶结合后可增加胶原蛋白沉积,促进血管生成,同时刺激生长因子分泌增加,从而促进创面愈合^[16]。上述观点提示 T β 4 + 水胶体敷料治疗深Ⅱ度烧伤的作用机制可能是通过调节机体免疫功能而平衡促炎、抗炎过程,继而促进痊愈。

p38MAPK 是信号由细胞表面传递至细胞核的重要介质,在受到紫外线、低氧等刺激后发生磷酸化,可通过调节细胞因子合成及转录因子活性调控炎症反应,在创面愈合中起着关键作用^[17-18]。既往报道显示,p38MAPK 在烧伤后明显活化,介导的炎症反应促使 TGF- β 1、VEGF 等炎症细胞因子大量分泌,即 p38MAPK 信号通路在烧伤后引发的肺损伤、肝损伤中占据重要位置^[19]。本研究结果显示,与对照组比较,烧伤组、T β 4 + 水胶体敷料组、p38MAPK 激动剂组 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达量均较高,表明大鼠烧伤后 p38MAPK 信号传导通路被迅速激活;而在给药后,与烧伤组比较,T β 4 + 水胶体敷料组 p38MAPK、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达量均较低,提示 T β 4 + 水胶体敷料组可能是通过抑制 p38MAPK 信号传导通路而发挥治疗作用。p38MAPK 信号传导通路调节细胞生长、增殖、分化等生理进程,而 NF- κ B 可调控 VEGF 等多种细胞生长、增殖、分化,当机体受到烧伤刺激后,活化后的 NF- κ B 移位至细胞核内而发挥转录活性,参与细胞对外界刺激的响应,在细胞炎症反应、免疫应答等过程中发挥重要作用;caspase-3 与表皮基底层角质细胞凋亡有关,在皮肤烧伤愈合早期中有关键作用,给药 14 d 后 caspase-3 下调可能在于 T β 4 + 水胶体敷料加速烧伤病灶处坏死组织细胞凋亡,维持皮肤稳态,继而加速创面愈合^[20-21]。而 Bai 等^[22] 在急性肺损伤大鼠模型中发现,许多抗炎药物通过靶向调控 p38MAPK 信号传导通路发

挥抗炎作用,阻断 p38 可下调上皮细胞或内皮细胞凋亡。临床可将抗炎药物辅助治疗深 II 度烧伤的应用效果作为新研究方向。

综上所述,T $\beta 4$ 联合水胶体敷料可加速深 II 度烧伤创面愈合,作用机制可能与降低炎症因子水平、抑制 p38MAPK 信号传导通路有关。本研究结果为深 II 度烧伤临床治疗提供了参考依据,但 T $\beta 4$ 联合水胶体敷料对深 II 度烧伤是否存在其他相关机制有待深入探索。

[参考文献]

- [1] Blome-Eberwein SA, Amani H, Lozano DD, et al. A bio-degradable synthetic membrane to treat superficial and deep second degree burn wounds in adults and children-4 year experience[J]. *Burns*,2021,47(4):838—846.
- [2] Li J, Liu W, Zhang G, et al. Effectiveness of recombinant human granulocyte macrophage colony-stimulating factor for treating deep second-degree burns: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMJ Mil Health*,2020,166(5):352—357.
- [3] Rivas-Nicolls D, Aguilera-Sáez J, Gallardo-Calero I, et al. Does enzymatic debridement allow us to perform conservative treatment on clinically deep hand burns? a retrospective review[J]. *Ann Burns Fire Disasters*,2020,33(3):239—244.
- [4] 李树松,马滢,吴晓明,等.胸腺素 $\beta 4$ 联合外源性 bFGF 对深 II 度烫伤大鼠创面愈合的影响及机制研究[J]. *西部医学*,2020,32(2):203—209.
- [5] Carion TW, Ebrahim AS, Alluri S, et al. Antimicrobial effects of thymosin beta-4 and ciprofloxacin adjunctive therapy in pseudomonas aeruginosa induced keratitis[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(18):6840.
- [6] 董云青,李琳琳,朱宣儒,等.含银黏性水凝胶的制备及其在小鼠细菌定植全层皮肤缺损创面愈合中的作用[J]. *中华烧伤杂志*,2021,37(11):1036—1047.
- [7] Ying Y, Lin C, Tao N, et al. Thymosin $\beta 4$ and actin: binding modes, biological functions and clinical applications[J]. *Curr Protein Pept Sci*,2023,24(1):78—88.
- [8] 尚念胜,崔炳环,王成,等.水凝胶敷料在深 II 度烧伤创面磨削痂术后应用效果的前瞻性随机对照研究[J]. *中华烧伤杂志*,2021,37(11):1085—1089.
- [9] Yan Y, Wu R, Bo Y, et al. Induced pluripotent stem cells-derived microvesicles accelerate deep second-degree burn wound healing in mice through miR-16-5p-mediated promotion of keratinocytes migration[J]. *Theranostics*,2020,10(22):9970—9983.
- [10] Karimi H, Latifi NA, Mehrjerdi AZ, et al. Histopathological changes of organs (lungs, liver, kidney, and brain) after using two types of agicoat and acticoat nanosilver dressings on deep second-degree burn in rat[J]. *J Burn Care Res*,2020,41(1):141—150.
- [11] Padmanabhan K, Grobe H, Cohen J, et al. Thymosin $\beta 4$ is

essential for adherens junction stability and epidermal planar cell polarity[J]. *Development*,2020,147(23):193425.

- [12] Collado-Boira E, Boldo-Roda P, Bernat-Adell MD, et al. Effectiveness of semioclusive sodium carboxymethyl cellulose fibers and hydrocolloid dressings for irritant peristomal dermatitis: a case series[J]. *Adv Skin Wound Care*,2021,34(9):493—497.
- [13] Megahed MA, Kashty SME, Nassar AT, et al. Exposure of skin homografts from related living donors to radiotherapy and its effects on acute rejection and wound healing in children with deep burns: a randomized controlled trial[J]. *Indian J Plast Surg*,2022,55(1):81—86.
- [14] Li S, Liu Y, Huang Z, et al. Efficacy and safety of nano-silver dressings combined with recombinant human epidermal growth factor for deep second-degree burns: a meta-analysis [J]. *Burns*,2021,47(3):643—653.
- [15] 李相国,杜万雪,徐娅丽,等.基于 ILK 信号通路探究马桑水提取物影响大鼠烧伤创面愈合和瘢痕增生的机制[J]. *中国病理生理杂志*,2020,36(2):336—345.
- [16] Laidding SR, Josh F, Battung S, et al. Combination of platelet rich plasma and stromal vascular fraction on the level of vascular endothelial growth factor in rat subjects experiencing deep dermal burn injury[J]. *Ann Med Surg (Lond)*,2021,64:102254.
- [17] Yang J, Yao L, Li Y, et al. Interleukin-35 regulates angiogenesis through p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway in interleukin-1 β -stimulated SW1353 cells and cartilage bioinformatics analysis[J]. *J Interferon Cytokine Res*,2021,41(5):164—171.
- [18] Xu Q, Chen Z, Zhu B, et al. A-type cinnamoyl procyanidin oligomers protect against 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity in mice through inhibiting the p38 mitogen-activated protein kinase/p53/bcl-2 associated X protein signaling pathway[J]. *J Nutr*,2020,150(7):1731—1737.
- [19] 刘永利,谢芳,戴斌玉,等.治伤巴布剂对大鼠急性软组织损伤模型 P38MAPK、AKT 信号通路的影响[J]. *世界科学技术—中医药现代化*,2022,24(2):694—704.
- [20] George B, Suchithra TV, Bhatia N. Burn injury induces elevated inflammatory traffic: the role of NF- κ B[J]. *Inflamm Res*,2021,70(1):51—65.
- [21] Khan A, Shal B, Naveed M, et al. Matrine alleviates neurobehavioral alterations via modulation of JNK-mediated caspase-3 and BDNF/VEGF signaling in a mouse model of burn injury[J]. *Psychopharmacology (Berl)*,2020,237(8):2327—2343.
- [22] Bai J, Bai Y, Wang XP, et al. Carbon monoxide-releasing molecule-3 ameliorates acute lung injury in a model of hemorrhagic shock and resuscitation: roles of p38MAPK signaling pathway[J]. *Shock*,2021,55(6):816—826.

(本文编辑:赵丽洁)