论著

DOI:10.16016/j.1000-5404.201410143

垂体中叶素对脓毒症大鼠心脏功能的影响

朱 娱,吴 跃,田昆仑,刘良明,李 涛 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所第二研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室)

[摘要] **目的** 探讨垂体中叶素(intermedin,IMD)对脓毒症大鼠心脏功能的影响。**方法** 采用盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture,CLP)复制大鼠脓毒症模型,分为5组,分别为假手术组、CLP组、CLP+常规治疗组(CLP+CT)、CLP+CT+E-IMD早期治疗组、CLP+CT+L-IMD晚期治疗组,观察早期(CLP结束时)或晚期(CLP 12 h)给予IMD后大鼠心脏功能、心输出量、心脏指数、每搏指数、氧供、氧耗、血气及动物存活时间、存活率的变化。**结果** 与假手术组比较,脓毒症后大鼠的心脏功能明显降低;采用常规治疗(包括输液、抗感染以及使用血管活性药物),尽管可以提高动脉血压和中心静脉压,但大鼠的心脏功能无明显改善;早期和晚期给予IMD可明显改善心脏功能;氧供和氧耗明显升高,其中早期给予IMD效果更好,与脓毒症大鼠相比,早期给予IMD后,氧供和氧耗分别升高了148.9%和172.2%;72 h内死亡大鼠的平均存活时间达到23.15 h,72 h存活率为31.2%(5/16)。**结论** IMD对脓毒症大鼠的心脏功能有较好的治疗作用。

[关键词] 垂体中叶素;脓毒症;大鼠;心脏功能

[中图法分类号] R331.31; R631.05; R977.6 [文献标志码] A

Effect of intermedin on cardiac function in sepsis rats

Zhu Yu, Wu Yue, Tian Kunlun , Liu Liangming, Li Tao (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 2, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of intermedin (IMD) on cardiac function in sepsis rats. **Methods** The rat sepsis model was established with cecal ligation and puncture (CLP). The rats were divided into 5 groups, namely, sham, CLP, CLP + conventional treatment (CT), CLP + CT + early injection of IMD (E-IMD) and CLP + CT + later injection of IMD (L-IMD). The effects of early or later administration of IMD on cardiac functions [cardiac output, cardiac index and stroke index, oxygen supply (DO_2), oxygen consumption (VO_2), blood gas], animal survival time, and survival rate were observed. **Results** As compared with the sham group, the cardiac function (cardiac output, cardiac index, stroke index) were significantly decreased after sepsis. Conventional treatment (including fluids, anti-infection and vasoactive drugs) increased arterial blood pressure and central venous pressure, while had no effects on cardiac functions. Early or later administration of IMD significantly improved cardiac functions, and significantly increased oxygen supply and oxygen consumption, especially the early administration. Compared with CLP group, oxygen supply and oxygen consumption were increased by 148.9% and 172.2% respectively. The administration also significantly improved survival time (23.15 h within 72 h) and survival rate (5/16, 31.2% within 72 h). **Conclusion** IMD exerts better therapeutic effect on cardiac functions in sepsis rats.

[**Key words**] intermedin; sepsis; rats; cardiac function

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81401588). Corresponding author: Li Tao, E-mail: LT200132@163.com

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(81401588)

[通信作者] 李 涛, E-mail: LT200132@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150309.0831.008.html(2015-03-09)

脓毒症是一种由感染引起的全身炎症反应综合征,如不及时治疗和控制,可导致脓毒性休克及多器官功能不全综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),甚至死亡,是目前重症监护室中患者死亡的主要原因之一[1-2]。脓毒症的发生率和死亡率较高,据统计全球每天约有1 400人死于脓毒症,其病死率超过50%[3-4]。尽管近年对脓毒症的认识和治疗有很大进展,但其死亡率始终居高不下[5]。研究显示约40%脓毒症患者出现不同程度的心脏功能障碍,是脓毒症致多器官功能衰竭和患者死亡的重要原因之一。据调查显示伴心血管功能障碍的脓毒症患者,其病死率明显高于单纯脓毒症患者,高达70% ~90%[6-8]。尽管国内外学者针对脓毒症心脏功能障碍的机制做了大量研究,也提出了许多治疗措施,但治疗效果仍不理想。因此寻找治疗脓毒性休克心脏功能障碍的药物措施,对降低脓毒症的发生率和死亡率具有重要意义。

垂体中叶素(intermedin,IMD)是降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide,CGRP)家族的新成员,由Roh 2003年于硬骨鱼体内发现。IMD由148个氨基酸组成,在体内可降解为IMD1-53,为其主要的活性片段[9]。研究提示,IMD可通过抗氧化应激、抑制细胞凋亡发挥对缺血再灌注心脏功能的保护作用[10]。但IMD对脓毒症心脏功能是否有保护作用,目前尚少见相关研究报道。本实验采用盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture,CLP)复制大鼠脓毒症模型,观察IMD对脓毒症大鼠心脏功能的影响。

1 材料与方法

1.1 脓毒症模型的建立

SD大鼠120只,雌雄不拘,12月龄,体质量220 g左右,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供,用CLP复制腹膜炎脓毒症模型。实验大鼠常规消毒腹部,暴露盲肠,将盲肠内的粪便向盲肠末端充实,在距末端0.7 cm处用无菌丝线结扎,采用无菌的7号针头在已结扎盲肠远端中央处贯通穿刺后,将盲肠按原位送回腹腔,缝合皮肤,放回笼中饲养。模型制作12 h后,用15 mg/kg戊巴比妥钠腹腔麻醉大鼠,股动脉插管监测平均动脉血压(mean arterial blood pressure, MAP),当MAP下降30%或以上,模型成功。本实验模型成功率为70%。股静脉插管用于输液,插管完成后稳定10 min,从插管中注入500 U/kg的肝素钠全身抗凝。假手术组大鼠除不结扎盲肠和穿孔外,其余操作同模型组。

1.2 IMD对脓毒症大鼠存活时间和存活率的影响

SD大鼠80只,按随机数字表法将动物分为假手术组、CLP组、CLP+CT组、CLP+CT+E-IMD组、CLP+CT+L-IMD组,每组16只。假手术组大鼠除不结扎盲肠和穿孔外,其余操作同模型组;常规治疗组在CLP 12 h后给予液体LR:HES(2:1)输注,同时给予抗生素头孢呋辛钠(100 mg/kg)和血管活性药物多巴胺(DA),使平均动脉压(MAP)>70 mmHg,中心静脉压维持在8 mmHg。IMD早期治疗和晚期治疗分别为在CLP手术结束时和CLP 12 h后给予IMD(5×10^{-7} g/kg)进行输注,输注3 h后结扎血管,缝合肌肉层和皮肤层,观察72 h内死亡大鼠的平均存活时间和存活率的变化。

1.3 IMD对脓毒症大鼠血气和心输出量(cardiac output,CO)、心脏指数(cardiac index,CI)、每搏指数(stroke index,SI)、氧供、氧耗的影响

SD大鼠40只,具体分组和各组处理同1.2。通过右颈总动脉将热稀释导管插入左心室连接心输血量测定仪测定CO和心率(HR),并通过公式计算心脏指数[$CI=CO\div S$[13],体表面积:$S=K\times W^{2/3}$(cm^2),其中K=9.1;W:体质量(g)[14]]和每搏指数($SI=CI\div HR$[15])。同时在输液3 h点采集股动脉血和股静脉血,用血氧分析仪测定动脉血气:氧分压$p(O_2)$、动脉血氧饱和度(SaO_2)、碳酸氢根(HCO_3^-)、碱剩余(BE),以及静脉血气[静脉血氧饱和度(SvO_2)和血红蛋白(Hb)],计算组织氧供($DO_2=CI\times13.4\times Hb\times SaO_2$)[13]和组织氧耗[$VO_2=CI\times13.4\times Hb\times(SaO_2-SvO_2)$][13]。

1.4 统计学处理

数据用$\bar{x}\pm s$表示,包括CO、CI、SI、氧供、氧耗、血气均用重复测量单因素或双因素方差分析,存活时间和存活率通过中位数和四分位数间距进行分析,用Kruskal - Wallis检验进行比较。

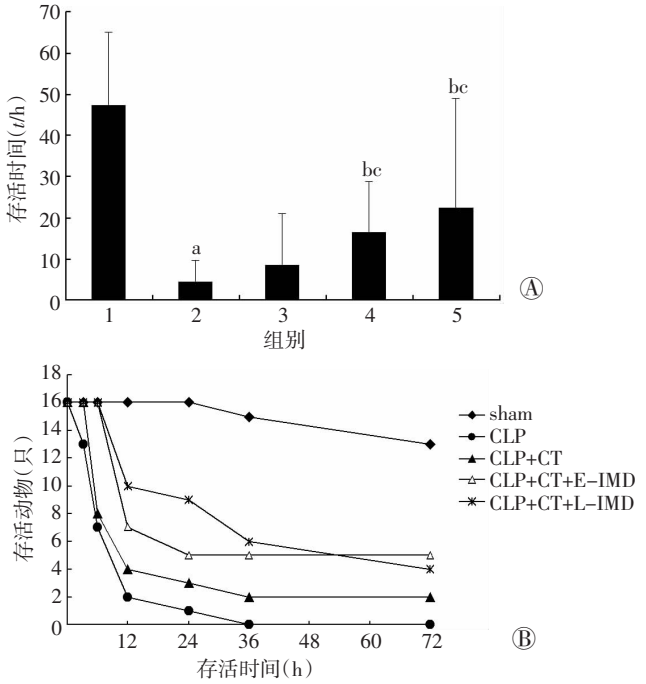
2 结果

2.1 IMD对脓毒症大鼠72 h内死亡动物的平均存活时间及存活率的影响

CLP后超过一半的动物在6 h内死亡,无动物存活时间超过72 h,72 h内死亡大鼠的平均存活时间约4.83 h。常规治疗后(CLP+CT),动物的存活率无显著提高,其72 h内死亡大鼠的平均存活时间为8.55 h。早期(CLP+CT+E-IMD)给予IMD比晚期给予IMD效果更好,其中72 h内死亡大鼠的平均存活时间为23.15 h,72 h存活率为31.2%(5/16);晚期(CLP+CT+L-IMD)给予IMD在72 h内死亡大鼠的平均存活时间为16.67 h,72 h存活率为25.0%(4/16)。见图1。

2.2 IMD对脓毒症大鼠心功能(CO、CI、SI)的影响

CLP后,大鼠的心功能指标包括CO、CI和SI均明显降低,常规治疗(CLP+CT)可以部分改善脓毒症大鼠的心功能;CLP+CT+E-IMD和CLP+CT+L-IMD组CO、CI、SI均可明显升高,CLP+CT+E-IMD组可以明显拮抗由脓毒症所致的心功能降低。见图2。



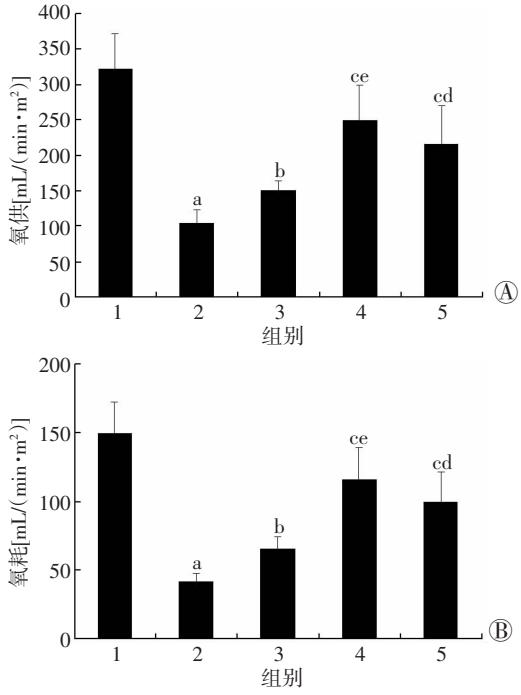
1:假手术组;2:CLP 组;3:CLP + CT 组;4:CLP + CT + E-IMD;5:CLP + CT + L-IMD

A:死亡大鼠的平均存活时间比较;B:存活率比较 a:$P<0.01$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与 CLP 比较; c:$P<0.05$,与常规治疗组比较

图1 各组脓毒症大鼠72 h内的存活时间和存活率变化

2.3 IMD对脓毒症大鼠氧供、氧耗的影响

与假手术组比较,CLP大鼠的氧供和氧耗明显降低,降低率分别为68.2%和71.8%;CLP + CT组可以部分升高脓毒症大鼠的氧供和氧耗,但与CLP组相比无明显增加;IMD早期(CLP + CT + E-IMD)和晚期(CLP + CT + L-IMD)治疗后,氧供和氧耗明显升高,早期给予IMD治疗效果更好,与CLP大鼠相比,早期给予IMD后,氧供和氧耗分别升高了148.9%和172.2%。见图3。



1:假手术组;2:CLP 组;3:CLP + CT 组;4:CLP + CT + E-IMD;5:CLP + CT + L-IMD

A:各组氧供的变化;B:各组氧耗的变化 a:$P<0.01$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与 CLP 比较;c:$P<0.01$,与 CLP 比较;d:$P<0.05$,与常规治疗组比较;e:$P<0.01$,与常规治疗组比较

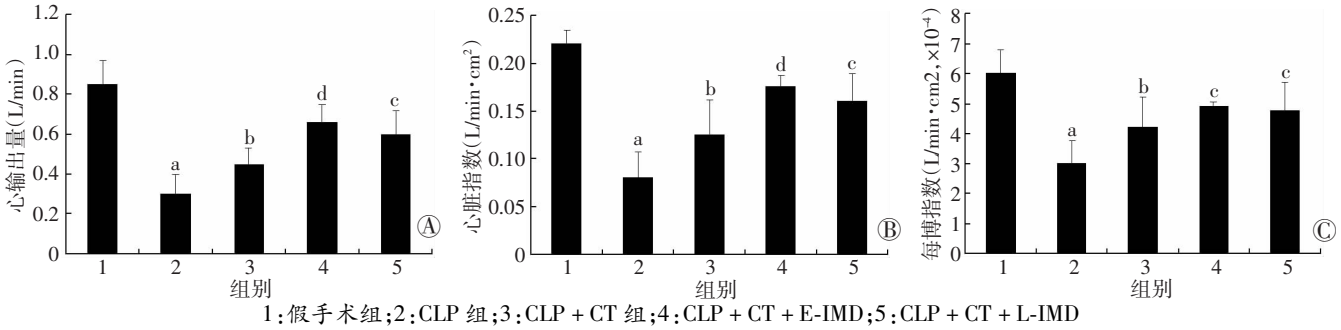
图3 各组脓毒症大鼠氧供和氧耗的比较

2.4 IMD对脓毒症大鼠血气的影响

脓毒症后,大鼠的血气指标包括$p(O_2)$、SaO_2、BE和HCO_3^-均有变化,但不显著(表1)。与脓毒症比较,IMD复苏后,$p(O_2)$和SaO_2有所升高,IMD对脓毒症大鼠的氧分压和氧饱和度有改善作用。

3 讨论

脓毒症的发生率和死亡率均很高,心功能障碍是脓毒症患者的死亡原因之一,目前尚无有效的治疗措



1:假手术组;2:CLP 组;3:CLP + CT 组;4:CLP + CT + E-IMD;5:CLP + CT + L-IMD

A:各组心输出量的比较;B:各组心脏指数的变化;C:各组每博指数的比较 a:$P<0.01$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与 CLP 比较;c:$P<0.01$,与 CLP 比较;d:$P<0.05$,与常规治疗组比较

图2 各组脓毒症大鼠心功能指标的比较

表1 各组脓毒症大鼠血气指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	CLP模型前	CLP末	治疗3 h
PaO_2(mmHg)	99.7±9.5		
假手术组		98.3±8.6	97.5±8.1
CLP		89.3±9.5[a]	86.3±8.3
CLP+CT		90.2±10.3[a]	92.1±4.4
CLP+CT+E-IMD		95.9±10.2	101.3±9.7[bd]
CLP+CT+L-IMD		92.9±9.8[a]	98.8±6.5[bd]
SaO_2(%)			
假手术组	95.5±1.3	94.6±2.4	96.5±4.7
CLP		93.7±3.3	98.4±7.9
CLP+CT		88.4±3.1[a]	91.0±4.8
CLP+CT+E-IMD		90.6±2.1[a]	93.9±8.3[b]
CLP+CT+L-IMD		95.5±1.0	99.0±6.5[bd]
BE(mmol/L)			
假手术组	-1.0±2.8	-1.9±1.6	0.9±3.6
CLP		-1.7±2.2	0.3±3.3
CLP+CT		-1.9±2.1	0.4±4.4
CLP+CT+E-IMD		-0.9±2.5	-0.6±5.4
CLP+CT+L-IMD		-0.8±2.4	2.7±3.1
HCO_3^-(mmol/L)			
假手术组	20.3±4.5	17.9±2.1	23.5±3.6
CLP		18.2±1.5	22.6±4.0
CLP+CT		16.5±2.2	23.5±4.0
CLP+CT+E-IMD		17.5±1.1	22.6±4.6
CLP+CT+L-IMD		17.1±1.5	25.8±3.4

a:$P<0.01$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与CLP比较;c:$P<0.05$,与常规治疗组比较

施。本研究旨在通过CLP模型来观察IMD对脓毒症大鼠心脏功能的保护作用。结果发现:脓毒症后大鼠的心脏功能、组织氧供和氧耗以及动物的存活时间、存活率明显降低;常规治疗(包括液体复苏、抗感染以及使用血管活性药物)后,尽管可以提高大鼠的动脉血压和中心静脉压,但大鼠的心脏功能、组织氧供、氧耗以及动物的存活时间和存活率增加不明显;IMD治疗后可以显著提高大鼠的存活时间和存活率,改善心脏功能,增加组织氧供和氧耗;早期给予IMD对大鼠的心脏功能、氧供、氧耗、血气的效果均比晚期给予IMD治疗效果好。

IMD作为降钙素基因相关肽家族的成员之一,以往研究证实,其对缺血再灌注心脏功能具有保护作用。Zhao等[10]研究发现IMD作用可改善缺血再灌注引起的脂质过氧化损伤,提高心肌细胞存活和抑制心肌细胞凋亡。又有研究证实IMD预处理能降低缺血再灌注损伤大鼠心肌组织的乳酸脱氢酶(LDH)和丙二醛(MDA)水平,升高cAMP,发挥对缺血再灌注心肌的保护作用[11]。进一步研究显示IMD对心肌缺血再灌注的保护作用主要通过减少炎症和氧化应激,增加抗凋亡蛋白表达,减少线粒体释放细胞色素C到胞浆,抑制线粒体途径介导的心肌细胞凋亡。本研究发现IMD能提高脓毒症大鼠的存活,改善大鼠的心脏功能,增加组织氧的供应和利用,可能与IMD通过抗氧化应激和抑制细胞凋亡发挥对心肌的保护作用有关,至于其具体机制有待进一步研究。

本研究虽然发现IMD对脓毒症大鼠心脏功能有改善作用,但是仍存在不足。第一、因为大鼠个体的差异性,或者麻醉的问题,导致在CLP模型成功后,大鼠的状态有所差异;第二、本研究仅仅观察了IMD对脓毒症大鼠心脏功能的影响,未涉及相关机制研究。

参考文献:

[1] Dellinger R P, Levy M M, Rhodes A, *et al*. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012[J]. Intensive Care Med, 2013, 39(2): 165-228.

[2] 高戈, 冯喆, 常志刚, 等. 2012国际严重脓毒症及脓毒性休克诊疗指南[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(8): 501-505.

[3] Moore L J, McKinley B A, Turner K L, *et al*. The epidemiology of sepsis in general surgery patients[J]. J Trauma, 2011, 70(3): 672-680.

[4] Klein-Klouwenberg P M, Ong D S, Bonten M J, *et al*. Classification of sepsis, severe sepsis and septic shock: the impact of minor variations in data capture and definition of SIRS criteria[J]. Intensive Care Med, 2012, 38(5): 811-819.

[5] Barochia A, Solomon S, Cui X, *et al*. Eritoran tetrasodium (E5564) treatment for sepsis: review of preclinical and clinical studies[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2011, 7(4): 479-494.

[6] Rudiger A, Singer M. The heart in sepsis: from basic mechanisms to clinical management[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2013, 11(2): 187-195.

[7] Zanotti-Cavazzoni S L, Hollenberg S M. Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock[J]. Curr Opin Crit Care, 2009, 15(5): 392-397.

[8] Omar A A, El-Shahat N, Ramadan M M. Cardiac functions in patients with sepsis and septic shock[J]. The Egyptian Heart Journal, 2012, 64(4): 191-196.

[9] Pan C S, Yang J H, Cai D Y, *et al*. Cardiovascular effects of newly discovered peptide intermedin/adrenomedullin 2[J]. Peptides, 2005, 26(9): 1640-1646.

[10] Zhao L, Peng D Q, Zhang J, *et al*. Extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation is involved in intermedin1 53 attenuating myocardial oxidative stress injury induced by ischemia/reperfusion[J]. Peptides, 2012, 33(2): 329-335.

[11] Li H, Bian Y, Zhang N, *et al*. Intermedin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats[J]. Cardiovas Diabetol, 2013, 12: 91.

(**收稿**:2014-10-23;**修回**:2014-12-03)

(编辑 龙 亮)