

金属硫蛋白对败血症小鼠心功能不全及氧化应激作用的研究

赵鹏 张洁 褚熙 苑海涛 崔连群 朱兴雷

【摘要】 目的 探讨抗氧化剂金属硫蛋白(metallothionein, MT)对败血症小鼠心功能不全的保护作用及其抗氧化应激作用。方法 将年龄与体重配对的雄性 FVB 小鼠与心脏特异性过表达 MT 小鼠分为四组: FVB 小鼠对照组(FVB 组), FVB 小鼠脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)处理组(FVB-LPS 组), MT 转基因小鼠对照组(MT 组)和 MT 小鼠 LPS 处理组(MT-LPS 组)。LPS 处理组小鼠腹腔注射 LPS, 剂量为 4 mg/kg。6 h 后应用心脏超声及单心肌细胞机械功能测定技术测定小鼠心脏整体功能及单个细胞收缩舒张功能。M 型超声心动图测定心率、左心室舒张末期及左心室收缩末期内径(LVEDD、LVESD), 计算左室射血分数(EF)及左室短轴缩短率(FS), 细胞收缩和舒张通过收缩峰值、最大收缩和舒张速率积分(\pm dl/dt)、到达收缩峰值的时间、90%舒张时间进行评估。细胞内 Ca^{2+} 浓度的变化通过在 360/380 两个波长下 fura-2 荧光强度比来推断, 细胞内 Ca^{2+} 的清除率用荧光延迟时间来衡量, 如适合程序的单指数曲线或双指数曲线。通过对细胞内活性氧含量测定和谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽比率的测定来观察 MT 抗氧化应激作用。结果 心脏超声结果表明, 与自身对照相比, 腹腔注射 LPS 后小鼠心率增快及 LVESD 增加($P < 0.05$)。但 LVEDD、EF 及 FS 明显减小($P < 0.05$), MT-LPS 组小鼠心脏功能较 FVB-LPS 组有明显改善: 心率、LVEDD、EF、FS 比分别为(528 ± 72)次/min 与(557 ± 69)次/min、(2.7 ± 0.7)mm 与(2.3 ± 0.6)mm、(66 ± 14)% 与(42 ± 10)%、(46 ± 11)% 与(30 ± 10)%, $P < 0.05$ 。FVB-LPS 组小鼠单个心肌细胞收缩峰值及 \pm dl/dt 均较 MT-LPS 组降低[(5 ± 1.1)% 与(7.2 ± 0.8)%], (160 ± 15) μ m/s 与(212 ± 36) μ m/s, (175 ± 32) μ m/s 与(208 ± 29) μ m/s]并且 90%舒张时间延长[(0.24 ± 0.03)s 与(0.19 ± 0.02)s, $P < 0.05$]。细胞内 Ca^{2+} 浓度的变化及 Ca^{2+} 的清除率的变化规律也同上述, 心脏特异性过表达 MT 可改善由 LPS 诱导的单心肌细胞收缩、舒张功能不全与细胞内 Ca^{2+} 处理能力的减低。心脏特异性过表达 MT 减轻了细胞内活性氧的含量[(0.35 ± 0.08)A 值/ μ g 蛋白与(0.24 ± 0.03)A 值/ μ g 蛋白, $P < 0.05$], 提高了谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽的比率(2.1 ± 0.2 与 2.6 ± 0.4 , $P < 0.05$)。结论 研究表明, 心脏特异性过表达 MT 改善了 LPS 引起的心脏收缩、舒张功能障碍, 维持了胞内 Ca^{2+} 的稳态和减轻了氧化应激, 可以改善败血症引起的小鼠心功能不全。

【关键词】 心室功能, 左; 败血症; 金属硫蛋白; 氧化应激

Cardiac metallothionein overexpression improves cardiac contractile function and attenuates oxidative stress in lipopolysaccharide-treated mice ZHAO Peng*, ZHANG Jie, CHU Xi, YUAN Hai-tao, CUI Lian-qun, ZHU Xing-lei. Department of Cardiology, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China
Corresponding author: ZHAO Peng, Email: pengalfie@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective This study was designed to examine the impact of the antioxidant metallothionein (MT) on cardiac contractile, intracellular Ca^{2+} function and oxidative stress in lipopolysaccharide (LPS)-treated mice. Methods Weight and age matched adult male FVB and cardiac-specific MT-overexpressing transgenic mice were injected intraperitoneally with 4 mg/kg Escherichia Coli LPS dissolved in sterile saline or an equivalent volume of pathogen-free saline (control groups). Six hours

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2011.08.006

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(BS2010YY046); 2010 年度山东省留学人员科技活动择优资助项目(201014)

作者单位: 250021 济南, 山东大学附属省立医院心内科(赵鹏、褚熙、苑海涛、崔连群、朱兴雷), 营养科(张洁)

通信作者: 赵鹏, Email: pengalfie@yahoo.com.cn

following LPS or saline injection, cardiac geometry and function were evaluated in anesthetized mice using the 2-D guided M-mode echocardiography. Mechanical and intracellular Ca^{2+} properties were examined in hearts. Cell shortening and relengthening were assessed using the following indices: peak shortening (PS)-indicative of the amplitude a cell can shorten during contraction; maximal velocities of cell shortening and relengthening ($\pm dl/dt$)-indicative of peak ventricular contractility; time-to-PS (TPS)-indicative of systolic duration; time-to-90% relengthening (TR_{90})-indicative of diastolic duration (90% rather 100% relengthening was used to avoid noisy signal at baseline concentration). The 360 nm excitation scan was repeated at the end of the protocol and qualitative changes in intracellular Ca^{2+} concentration were inferred from the ratio of fura-2 fluorescence intensity (FFI) at two wavelengths (360/380). Fluorescence decay time was measured as an indicator of the intracellular Ca^{2+} clearing rate. Glutathione/glutathione disulfide ratio and ROS generation were detected as the markers of oxidative stress. **Results** Heart rate was increased while EF was reduced in LPS-FVB mice and heart rate was reduced and EF increased in MT-LPS transgenic mice [(528 \pm 72) beats/min vs (557 \pm 69) beats/min, (66 \pm 14)% vs (42 \pm 10)%, $P < 0.05$]. Cardiomyocytes from the LPS treated FVB mice displayed significantly reduced peak shortening (PS) and maximal velocity of shortening/relengthening ($\pm dl/dt$) associated with prolonged time-to-90% relengthening (TR_{90}), these effects were attenuated in cardiomyocytes from the MT-LPS mice [PS (5 \pm 1.1)% vs (7.2 \pm 0.8)%, dl/dt (160 \pm 15) $\mu m/s$ vs (212 \pm 36) $\mu m/s$, $-dl/dt$ (175 \pm 32) $\mu m/s$ vs (208 \pm 29) $\mu m/s$, TR_{90} (0.24 \pm 0.03) s vs (0.19 \pm 0.02) s, $P < 0.05$]. LPS treated mice showed significantly reduced peak intracellular Ca^{2+} and electrically-stimulated rise in intracellular Ca^{2+} as well as prolonged intracellular Ca^{2+} decay rate without affecting the basal intracellular Ca^{2+} levels, again, these effects were significantly attenuated in MT-LPS transgenic mice. Metallothionein overexpression also ablated oxidative stress [reduced ROS generation and increased glutathione/glutathione disulfide ratio, ROS (0.35 \pm 0.08) A/ μg protein vs (0.24 \pm 0.03) A/ μg protein]. GSH/GSSG 2.1 \pm 0.2 vs 2.6 \pm 0.4, $P < 0.05$. **Conclusion** MT overexpression improved cardiac function and ablated oxidative stress in LPS treated mice.

【Key words】 Ventricular function, left; Sepsis; Metallothionein; Oxidative stress

败血症是机体对感染的系统性反应,是威胁人类健康与生命的急重症,并发心肌损害时病死率更高。因此,寻找有效手段防止败血症的发生、发展从而降低病死率,已经日益成为一个亟待解决的重大公共卫生问题。清除内毒素的来源,减少内毒素的产生和吸收,改善败血症引起的微循环障碍,是治疗的主要原则。目前,在临床实践中针对败血症造成的心脏损伤的治疗还没有成熟和统一的方案。最近的研究报道认为,金属硫蛋白(metallothionein, MT)作为内源性的细胞抗氧化保护剂,对心脏缺血再灌注、心力衰竭、动脉粥样硬化等多种心血管系统疾病均有不同程度的保护作用。虽然,MT的功能逐渐被发现,但它在由内毒素诱导的心脏损害中的作用及其作用机制至今不十分清楚。基于目前国内外的研究进展,本研究拟以心脏特异性过表达 MT 转基因小鼠及其野生型为研究对象,腹腔注射内毒素:脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)制作败血症模型,应用心脏超声及单心肌细胞功能测定技术,探讨 MT 在小鼠败血症模型引起的心功能损害中是否有保护作用,并且通过对细胞内活性氧含量测定和谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽比率的测定来观察 MT 抗氧化应激作用,进一步阐明 MT 在败血症心肌损伤中的保护作用机制,为寻求理想治疗靶点和降低临床病死率提供理论依据。

材料与方法

1. 实验动物、LPS 处理及分组:鼠龄(16~20周)与体重(20~25g)配对的雄性 FVB 小鼠与心脏特异性过表达 MT 小鼠用于此实验。MT 转基因小鼠由美国怀俄明大学健康科学学院药理学系任骏博士惠赠,心脏特异性过表达 MT 小鼠来源于 FVB 鼠背景^[1]。本实验的动物处理经山东大学山东省立医院动物使用及伦理委员会同意。实验动物饲养在专门的动物房内并为它们提供标准实验室食物和水。实验分为四组:FVB 小鼠对照组(FVB 组),FVB 小鼠 LPS 处理组(FVB-LPS 组),MT 转基因小鼠对照组(MT 组)和 MT 转基因小鼠 LPS 处理组(MT-LPS 组)。LPS 处理组小鼠腹腔注射在消毒生理盐水中溶解的 Escherichia Coli LPS(美国 Sigma 公司),剂量为 4 mg/kg,处理时间为 6 h。对照组腹腔注射等量消毒生理盐水,剂量与时间的选择根据已发表的文献,可以诱发显著的心脏功能障碍而不引起明显病死率^[2]。在 LPS 注射 6 h 后处死小鼠,继续进行下列相关实验。

2. 心脏超声检查:腹腔内注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)全身麻醉小鼠,必要时小剂量追加戊巴比妥钠溶液,使小鼠保持适当的麻醉状态,没有自主运动和尾巴夹紧的反应,保持自主呼吸。麻醉后小鼠胸

部备皮,仰卧位固定在温度恒定的操作台上,使用 GEVivid7 型彩色超声诊断仪进行心脏超声检查,采用 13L 线阵探头,探头频率为 14.0 MHz,深度 1.5 ~ 2.0 cm 对小鼠进行超声检查。探头置于其左胸,在取得满意的胸骨旁左心室长轴和短轴二维图像后,在乳头肌水平将 M 型取样线垂直于室间隔和左心室后壁获得 M 型超声心动图,测定心率(HR)、左心室舒张末期及收缩末期径(LVEDD、LVESD);应用 Teichholtz 公式法计算左心室射血分数(EF)及左心室短轴缩短率(FS)。每组原始数据取连续 3 个心动周期的平均值,超声检查的操作及分析均由专科医生完成。

3. 分离小鼠单个心肌细胞:参照文献[3]中的方法,酶解分离心肌细胞。简述如下:小鼠用氯胺酮和二甲苯胺噻嗪 3:5 的比例,按每公斤体重 1.32 mg 进行麻醉。将心脏快速移出,主动脉弓接到 Langendorff 系统灌注氧合克-汉二氏重碳酸盐缓冲液[含有(单位 mmol/L)NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 1.25, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, HEOES 10, 葡萄糖 11.1]。然后将心脏灌注含有 Liberase Blendzyme 4 但不含有 Ca²⁺的克-汉二氏重碳酸盐缓冲液 20 min。灌注结束后,在不含有 Ca²⁺的克-汉二氏重碳酸盐缓冲液中分离左心室并将其减碎分离单个心肌细胞。最后在缓冲液中加入 CaCl₂ 1 mmol/L,细胞内的 Ca²⁺逐渐递增至 1.25 mmol/L。单个心肌细胞的存活率大约为 70% 左右。只有结构完整、边缘清楚的杆状单个心肌细胞被挑选出来,在 6 h 内进行单个细胞收缩、舒张及细胞内 Ca²⁺变化的研究。

4. 单个细胞收缩与舒张功能:使用 SoftEdge MyoCam 系统软件进行单心肌细胞机械收缩、舒张性能的评估。将左心室心肌单个细胞放在倒置的显微镜上的容器内,并加入含有(单位 mmol/L)NaCl 131, KCl 4, CaCl₂ 1, MgCl₂ 1, 葡萄糖 10, 置于 25 °C、pH 为 7.4 的溶液。用一对铂金丝分别固定在容器的两端并与电刺激装置相连,用 0.5 Hz 快速电流刺激细胞持续 3 ms。被研究锁定的单个心肌细胞将通过 IonOptix MyoCam 相机装置呈现到电脑上进行研究。IonOptix SoftEdge 软件适用于捕获心肌细胞在收缩和舒张时长度的变化。细胞收缩和舒张通过下列指标进行评估:收缩峰值(peak shortening, PS)代表细胞收缩时缩短的幅度,最大收缩和舒张速率积分($\pm dl/dt$)代表细胞收缩和舒张的最大速率,到达 PS 的时间代表细胞收缩时程,

90% 舒张时间(time to 90% relengthening, TR₉₀)代表细胞舒张到 90% 的时程(选择 90% 而非 100% 是为了避免收缩时杂乱信号的干扰)。

5. 胞内 Ca²⁺ 荧光测定法:用 fura-2/AM (0.5 μmol/L) 将心肌细胞固定 10 min, 然后用双激发荧光光电系统(Ionoptix)进行荧光标记。然后将心肌细胞放到奥林巴斯 IX-70 倒置显微镜,在 40 倍油镜下观察图像。细胞内 Ca²⁺ 浓度的变化通过在 360/380 两个波长下 fura-2 荧光强度比来推断;荧光延迟时间用细胞内 Ca²⁺ 的清除率来衡量,如适合程序的单指数曲线或双指数曲线。

6. 氧化应激指标的测定:(1)细胞内活性氧含量测定:细胞内活性氧的生产是通过分析细胞内 5-甲基-2',7-二氢荧光素双乙酸钠的氧化所造成荧光素强度的变化来推断。从每一组分离出来的心肌细胞在含有 25 μmol/L 的 5-甲基-2',7-二氢荧光素双乙酸钠的 KRH 缓冲液放在 37 °C 的暗处培养 30 min,然后在温的 KRH 缓冲液洗 3 次。荧光强度是用荧光显微平板阅读器在 480 nm 的激发波长和 530 nm 的发射波长下测定。未经处理的细胞表现为无荧光被用于背景荧光。最后结果用荧光强度与蛋白含量的比来表示。(2)谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽(Glutathione/glutathione disulfide, GSH/GSSG)比率测定:GSH/GSSG 比率可以做为氧化应激的指标。心肌细胞在 1% 三氯乙酸溶液中匀浆。采用荧光法测定匀浆液中 GSH 和 GSSG 含量。

7. 统计学分析:实验数据以均数 ± 标准误差表示,采用 GraphPad Prism 统计软件 4.0 进行单因素方差分析(ANOVA),以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. MT 对败血症小鼠整体心脏功能的影响:经胸壁超声心动图检查用来评价四组小鼠的心功能。腹腔注射 LPS 6 h 后,FVB-LPS 组及 MT-LPS 组小鼠心率较其自身对照明显增快(P < 0.05),并且 FVB-LPS 组增快较 MT-LPS 组差异有统计学意义。尽管 FVB-LPS 组及 MT-LPS 组小鼠的 LVESD 差异并无统计学意义,但较其自身对照增大(P < 0.05)。败血症显著减小了小鼠 LVEDD 并降低 EF 及 FS,MT-LPS 组较 FVB-LPS 组以上三个指标有明显改善(P < 0.05)。这提示,自败血症发生时,心脏结构和收缩功能均出现了损害性改变。而 MT 可显著减轻败血症导致的心脏收缩功能不全和左心室重构的发

生(表 1)。

表 1 四组小鼠(每组 8 只)超声左心室功能指标($\bar{x} \pm s$)

指标	FVB 组	FVB-LPS 组	MT 组	MT-LPS 组
HR(次/min)	490 ± 84	557 ± 69 ^a	498 ± 80	528 ± 72 ^{ab}
LVESD(mm)	1.3 ± 0.3	1.8 ± 0.4 ^a	1.3 ± 0.6	1.7 ± 0.5 ^a
LVEDD(mm)	2.9 ± 0.4	2.3 ± 0.6 ^a	2.9 ± 0.2	2.7 ± 0.7 ^b
EF(%)	84 ± 16	42 ± 10 ^a	81 ± 10	66 ± 14 ^{ab}
FS(%)	55 ± 7	30 ± 10 ^a	56 ± 8	46 ± 11 ^{ab}

注:HR:心率,LVESD:左心室收缩末期内径,LVEDD:左心室舒张末期内径,EF:左心室射血分数,FS:左心室短轴缩短率。与自身对照组比较,^a $P < 0.05$;与 FVB-LPS 组比较,^b $P < 0.05$

2. MT 对败血症小鼠单个心肌细胞机械收缩、舒张功能的影响:从四组小鼠单个心肌细胞的机械收缩、舒张功能记录数值比较,相对于静息细胞长度四组之间的数值无可比性,差异无统计学意义。然而,相对于对照组的 FVB 小鼠,接受 LPS 处理的 FVB 小鼠的心肌细胞 PS 与 $\pm dl/dt$ 明显减少并且 TR₉₀ 延长,有趣的是 MT-LPS 组小鼠以上指标较 FVB-LPS 组有明显改善($P < 0.05$)。说明,尽管 MT 转基因对自身心肌细胞的收缩、舒张功能没有

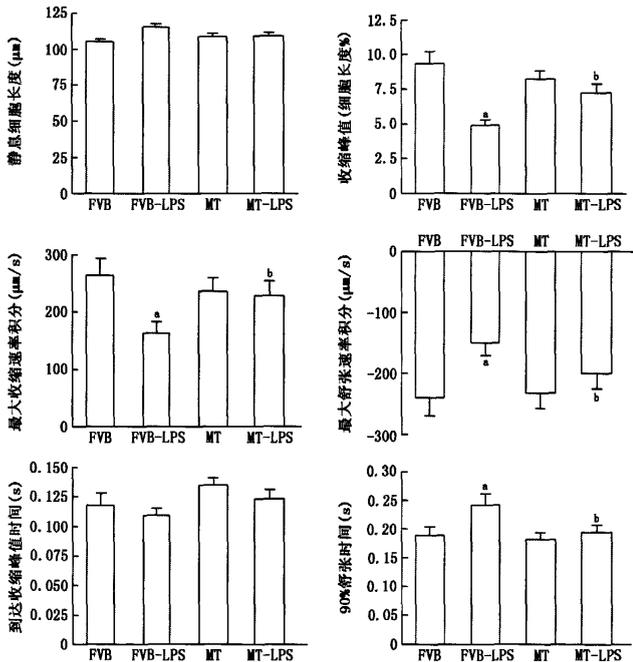
产生明显影响效果,但是 MT 的表达能明显减轻 LPS 诱导的单个心肌细胞收缩、舒张功能障碍(图 1)。

3. 单个心肌细胞内 Ca²⁺ 离子的改变:为了探索 MT 所产生的减轻 LPS 诱导的心肌细胞收缩、舒张功能障碍的机制,用 fura-2 荧光染料来评价胞内 Ca²⁺ 稳态的变化。我们的结果显示,LPS-FVB 小鼠的心肌细胞内 Ca²⁺ 的清除时间较 MT-LPS 组明显延长,无论单向或双向曲线($P < 0.05$)。但静息细胞内 Ca²⁺ 水平四组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。MT 可改善败血症小鼠电刺激导致胞内瞬时升高的 Ca²⁺ 水平($P < 0.05$)。接受 LPS 处理的 FVB 小鼠的心肌细胞内 Ca²⁺ 的清除率降低即清除时间延长这一作用可以被 MT 特异性表达所改善,但 MT 本身对胞内 Ca²⁺ 的性能无明显影响(图 2)。

4. MT 对 LPS 引起氧化应激的影响:图 3 显示,接受 LPS 处理的 FVB 小鼠的心肌细胞活性氧的生成较其自身对照明显增加($P < 0.05$),但 MT-LPS 组小鼠心肌细胞活性氧的生成较 FVB-LPS 组有明显降低($P < 0.05$)。GSH/GSSG 比率在 FVB-LPS 组小鼠中减低,而 MT-LPS 组小鼠提高了其比率($P < 0.05$)。以上结果说明,抗氧化剂 MT 减轻了败血症引起的心肌细胞的氧化应激。

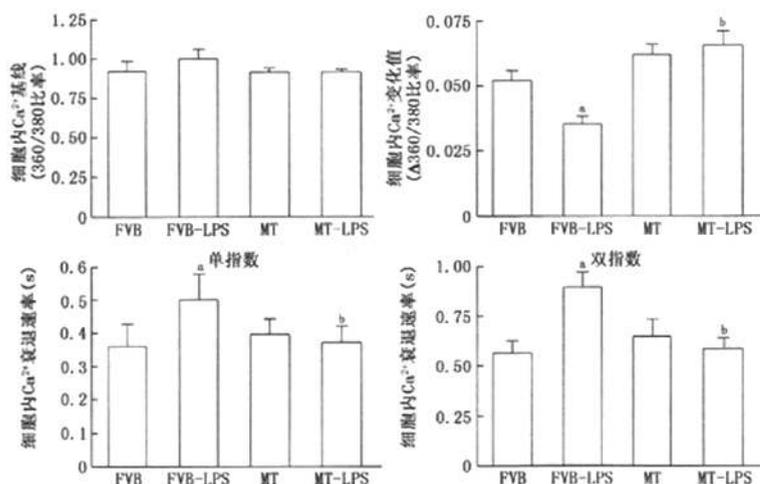
讨论

败血症是机体对感染的系统性反应,主要是因一种或多种微生物体的入侵影响,包括一种内毒素(如来自革兰阴性杆菌结构组成成分 LPS)^[4,5]。败血症患者的临床症状常表现为心肌收缩功能障碍,表现为可逆的双心室肥大、EF 减少,并且使系统性血管舒张功能下降^[6-8]。败血症休克具有特征性的血流动力学变化,在早期呈高动力期变化,此时心输出量、组织灌流量以及氧气的运输均增加;在晚期则表现为低动力期变化,此时心输出量、组织灌流量以及氧气的运输降低,最终引起全身持续性的低血压状态。这些变化是败血症休克不可逆性和向死亡发展的主要标志和原因。针对败血症相关联的心肌功能障碍和心力



FVB: FVB 小鼠对照组, FVB-LPS: FVB 小鼠脂多糖处理组, MT: 金属硫蛋白转基因小鼠对照组, MT-LPS: 金属硫蛋白转基因小鼠脂多糖处理组; 图 2、3 同此。与自身对照组比较,^a $P < 0.05$;与 FVB-LPS 组比较,^b $P < 0.05$

图 1 各组小鼠(每组 8 只)单个心肌细胞收缩、舒张机械功能的比较



与自身对照组比较, * $P < 0.05$; 与 FVB-LPS 组比较, ^b $P < 0.05$

图2 各组小鼠(每组8只)单个心肌细胞内Ca²⁺的改变

衰竭,目前还没有一个统一有效的治疗方案,这是败血症患者病死率无明显下降的主要因素。

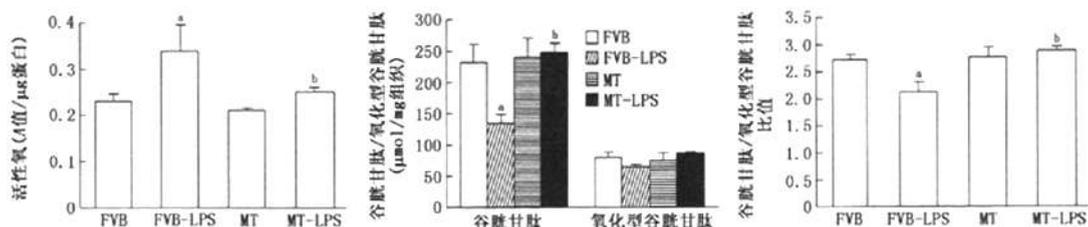
LPS 是革兰阴性杆菌外膜组成成分之一,它与多种细胞特别是巨噬细胞通过 Toll 样受体 4 结合,促使促炎症因子的分泌。应用 LPS 制作急性败血症模型,可在短时间内使模型动物到达败血症晚期,而且方法简单有效。LPS 模型对于研究败血症休克晚期的机体功能改变及其机制至今仍然是一个有效的手段。

充分的研究证据表明,败血症可以影响心脏功能^[9-11]。我们的研究结果从整体心脏到单个心肌细胞两方面探讨了败血症对心功能的影响及 MT 对其保护作用。心脏超声的结果表明,腹腔注射 LPS 可引起小鼠心率增快、收缩与舒张功能的障碍;心脏特异性过表达 MT 小鼠自身没有因 MT 的过表达与其野生型 FVB 小鼠有差异,有趣的是 MT-LPS 组小鼠心脏功能较 FVB-LPS 组有明显改善。分离单个心肌细胞后的实验结果也显示,在败血症的 FVB 小鼠的心肌细胞,其 PS 和 $\pm dl/dt$ 均缩短且 TR₉₀ 延长,结果和体内的发现相一致。本实验结果表明,

MT 能明显改善 LPS 引起的心脏收缩障碍,减轻胞内 Ca²⁺ 清除率的改变,说明 MT 转基因可能对促进胞内 Ca²⁺ 的排出有积极作用。对于没有接受 LPS 处理的 MT 过表达小鼠的心脏,没有影响其心肌细胞收缩和胞内 Ca²⁺ 性能,说明心脏特异性过表达 MT 增多不会对心脏功能有害。另外,在我们的实验中,一个比较有意思的发现是,LPS 能显著减弱心肌细胞收缩能力而不影响代表细胞收缩时程的到达 PS 的时间。这样的差异发现,支持内毒素血症导致肌原纤维的组成成分肌丝对 Ca²⁺ 敏感性降低,这与以前报道的

在败血症休克反应心肌细胞中肌丝对 Ca²⁺ 的敏感性降低相一致^[12-14]。

细胞内活性氧化物是一类性质十分活泼的化学基团,正常细胞内主要通过以下途径产生少量活性氧:有氧化代谢时呼吸链产生的副产物、细胞色素 P450 系统在发挥解毒作用时产生活性氧、呼吸爆发产物、脂肪及其他大分子降解时的副产物。机体内存在着抗氧化防御系统维持氧化(活性氧产生)与抗氧化(活性氧清除)平衡。该系统主要由内源性抗氧化酶与抗氧化物组成,包括过氧化物歧化酶、过氧化氢酶、还原型 GSH 等。MT 含有丰富的巯基,能螯合大量的金属离子,是 Margoshes 和 Vallee 在研究金属生物学作用时从动物器官分离出的一种新的蛋白质。人体内、动物、植物以及微生物均含 MT,而且其理化特性基本一致。由于 MT 分子中含有 20 个游离的巯基基因以及由它们组成的多个巯基簇,从而使它生物体中同时具有清除体内自由基、防止基体衰老、解除重金属的毒性、参与体内微量元素的代谢、增强机体对各种不良状态的适应能力、防止细胞癌变等功能。有基础及临床的研究表明,在败血



与自身对照组比较, * $P < 0.05$; 与 FVB-LPS 组比较, ^b $P < 0.05$

图3 各组小鼠(每组8只)心肌细胞活性氧含量和谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽比率的比较

症中有大量的自由基产生,存在氧化及抗氧化的失衡,当损伤因素破坏了这一动态平衡,就会导致氧化应激,从而引起心肌细胞损伤。我们的实验结果表明,在 LPS 诱导的败血症反应时,活性氧产生增加, GSH/GSSG 比率减小,而 MT 的过表达减轻了以上的改变,说明抗氧化剂 MT 减轻了败血症引起心肌细胞的氧化应激。

总之,我们的研究显示,心脏特异性过表达 MT 改善了败血症引起的心脏收缩、舒张功能障碍,维持了胞内 Ca²⁺ 的稳态和减轻了氧化应激。表明 MT 在败血症引起的心功能损害有潜在保护作用,其机制一部分是因其抗氧化应激的结果,其他分子生物学机制值得进一步研究探讨。

参 考 文 献

[1] Kang YJ, Chen Y, Yu A, et al. Overexpression of metallothionein in the heart of transgenic mice suppresses doxorubicin cardiotoxicity. *J Clin Invest*, 1997, 100:1501-1506.
 [2] Peng T, Lu X, Feng Q. Pivotal role of gp91phox-containing NADH oxidase in lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha expression and myocardial depression. *Circulation*, 2005, 111:1637-1644.
 [3] Zhao P, Turdi S, Dong F, et al. Cardiac-specific overexpression of insulin-like growth factor I (IGF-1) rescues lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction and activation of stress signaling in murine cardiomyocytes. *Shock*, 2009, 32:100-107.
 [4] Moniotte S, Belge C, Sekkali B, et al. Sepsis is associated with an upregulation of functional beta3 adrenoceptors in the myocardium. *Eur J Heart Fail*, 2007, 9:1163-1171.
 [5] Neviere RR, Cepinskas G, Madorin WS, et al. LPS pretreatment

ameliorates peritonitis-induced myocardial inflammation and dysfunction: role of myocytes. *Am J Physiol*, 1999, 27: H885-H892.
 [6] Bradford SD, Hunter K, Wu Y, et al. Modulation of the inflammatory response in the cardiomyocyte and macrophage. *J Extra Corpor Technol*, 2001, 33:167-174.
 [7] Niederbichler AD, Westfall MV, Su GL, et al. Cardiomyocyte function after burn injury and lipopolysaccharide exposure: single-cell contraction analysis and cytokine secretion profile. *Shock*, 2006, 25:176-183.
 [8] Patten M, Kramer E, Bunemann J, et al. Endotoxin and cytokines alter contractile protein expression in cardiac myocytes in vivo. *Pflugers Arch*, 2001, 442:920-927.
 [9] 包义勇, 景亮. 谷氨酰胺对脂多糖休克大鼠心脏功能的保护作用. *临床麻醉学杂志*, 2009, 10:884-886.
 [10] Niederbichler AD, Westfall MV, Su GL, et al. Cardiomyocyte function after burn injury and lipopolysaccharide exposure: single-cell contraction analysis and cytokine secretion profile. *Shock*, 2006, 25:176-183.
 [11] Ren J, Wu S. A burning issue: do sepsis and systemic inflammatory response syndrome (SIRS) directly contribute to cardiac dysfunction? *Front Biosci*, 2006, 11:15-22.
 [12] Jozefowicz E, Brisson H, Rozenberg S, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha by fenofibrate prevents myocardial dysfunction during endotoxemia in rats. *Crit Care Med*, 2007, 35:856-863.
 [13] Yasuda S, Lew WY. Lipopolysaccharide depresses cardiac contractility and beta-adrenergic contractile response by decreasing myofilament response to Ca²⁺ in cardiac myocytes. *Circ Res*, 1997, 81:1011-1020.
 [14] Tavernier B, Mebazaa A, Mateo P, et al. Phosphorylation-dependent alteration in myofilament Ca²⁺ sensitivity but normal mitochondrial function in septic heart. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163:362-367.

(收稿日期:2011-03-23)

(本文编辑:郭林妮)

中华医学会心血管病学分会第八届委员会青年委员会委员名单

主任委员	胡大一						
副主任委员	钱菊英	吴永健	傅国胜	李建平			
委 员	(以姓氏笔画为序)						
	马康华	孔祥清	木胡牙提	王 圣	王洪巨	王效增	王敬萍
	付乃宽	刘 健	刘 斌	刘铭雅	孙艺红	孙超峰	余再新
	吴 强	吴永健	张 立	张 宏	张卫泽	张建成	李 悦
	李 浪	李建平	李拥军	杜 昕	杨振文	杨毅宁	汪 芳
	沈珠军	邱春光	陈 茂	陈凤英	金元哲	侯静波	洪 葵
	荆志成	宾建平	晋 军	袁祖贻	贾辛未	钱菊英	梁 春
	黄 鹤	傅国胜	蒋 峻	蒋学俊	蒋雄京	廉哲勋	谭 宁
	樊世明	薛 莉					