

· 综述 ·

脓毒症和心肌线粒体损伤

陈昌勤(综述) 张召才 严静(审校)

【关键词】 线粒体; 脓毒症; 心肌损害

脓毒症为全身性的炎症反应,是重症加强治疗病房(ICU)患者的主要死亡原因。大约有 40%~50%的脓毒症患者会合并心脏功能不全,其中出现严重心功能衰竭(心衰)者约 7%^[1]。迄今为止,其发生机制尚无定论。细菌毒素、细胞因子等通过不同途径造成心肌灌注不足、心肌能量代谢障碍以及心肌细胞凋亡等被认为是脓毒症导致心脏损伤的重要机制,心肌能量代谢障碍是其中的关键机制^[2]。心肌线粒体是心肌能量代谢的主要场所,脓毒症时心肌线粒体也发生了一系列变化,主要从以下几个方面导致心肌损伤。

1 线粒体膜脂类改变

线粒体是心肌能量代谢的主要场所,其密度约占心肌细胞体积的 30%左右。线粒体内膜是合成 ATP 的关键场所,主要由磷脂和多种功能蛋白构成,磷脂是主要的结构成分,参与钠钾泵、钙镁泵、腺苷酸环化酶、葡萄糖-6-磷酸酶等酶类的激活,其中的心磷脂是多种酶活性所需的脂类物质,对维持线粒体的氧化磷酸化功能起重要作用。呼吸链存在于线粒体的内膜上,线粒体内膜的完整是氧化磷酸化和电子传递的前提,对合成 ATP 所需的质子电化学梯度的建立和维持至关重要。线粒体膜系统的损伤可导致线粒体氧化磷酸化功能的丧失;线粒体膜上的多种功能蛋白质参与心肌细胞内外信号传递、Ca²⁺浓度调节等生

理过程,心肌线粒体内膜上的磷脂和功能蛋白的变化可以造成心肌细胞内外信号转导异常、心肌能量代谢障碍、心肌兴奋收缩耦联障碍。

脓毒症时,大量中性粒细胞和巨噬细胞激活,产生“呼吸爆发”,造成细胞内钙调节系统紊乱、钙依赖性蛋白激酶激活、黄嘌呤氧化酶形成、诱生型一氧化氮合酶(iNOS)产生增多,促使循环和心肌局部的氧自由基和一氧化氮(NO)增多,形成所谓氧化应激和氮化应激。氧化应激和氮化应激均可以引起心肌线粒体膜脂类发生改变,造成心肌线粒体功能发生障碍。氧自由基可以直接攻击心肌线粒体膜脂,引起心肌线粒体膜的脂质过氧化损伤,使线粒体膜心磷脂显著减少,线粒体细胞色素氧化酶活性下降^[2-3];氧自由基和脂质过氧化物的增多又可使膜磷脂分解代谢增强,后者促进氧自由基和脂质过氧化物进一步增多,使心肌线粒体膜结构不断发生病理改变,形成恶性循环,导致心肌线粒体内膜完整性受到破坏,引起线粒体功能失调和能量代谢障碍^[4]。

2 线粒体内钙超载

Ca²⁺是体内重要的第二信使,参与心肌兴奋-收缩耦联,心肌细胞膜内外 Ca²⁺浓度的稳定是维持正常心肌细胞功能的基础。线粒体膜上存在多种钙转运系统,它是维持细胞内外 Ca²⁺浓度的重要功能蛋白复合体。脓毒症时,氧自由基除了攻击心肌线粒体、破坏膜的完整性以外,还可以损害线粒体膜上存在的钙转运系统。

在内毒素诱导感染性休克的豚鼠模型中,心肌细胞内钙水平在早期明显上升,这种变化在一定程度上可以增强心肌细胞收缩力;但是随着病程的进展,线粒体内积聚或摄取过量的 Ca²⁺超出线粒体的承受能力,形成“钙超载”,可以导致线粒体发生不可逆性损害,甚至引起整个细胞死亡^[5],心肌细胞内钙水平的过度上升被认为是心脏功能失调的重要

因素。“钙超载”致心肌线粒体损害的机制主要包括:使心肌线粒体通透性转换孔(MPTP)呈高通透状态,MPTP 广泛而持久的开放导致线粒体肿胀破坏^[6];同时大量的 Ca²⁺从线粒体内释放引起胞浆 Ca²⁺过高,激活了钙依赖性磷脂酶、钙依赖性蛋白酶和钙依赖性核酸内切酶,引起心肌细胞膜通透性增大、细胞骨架降解、DNA 水解,最终引起心肌收缩力下降以及心脏功能失调;钙超载可以导致自由基产生增多、一氧化氮合酶(NOS)激活,NOS 能促使 NO 大量形成,并能升高环磷酸鸟苷(cGMP)水平,引起 Ca²⁺内流减少,从而使心肌长时间处于抑制状态^[7]。

3 线粒体呼吸功能障碍

线粒体呼吸功能本质上是在线粒体中进行的一系列由酶系所催化的氧化还原反应,是细胞内提供生物能源的主要途径。电子经呼吸链传递的同时,可将质子从线粒体内膜内侧泵到内膜外侧,形成膜内外电化学梯度,当质子顺梯度回流时驱动 ADP 与磷酸结合合成 ATP。脓毒症时,氧自由基攻击线粒体膜上的功能蛋白质和生物酶,损害心肌线粒体复合体 I 和复合体 II,导致氧分子供给显著减少,线粒体的电子漏出增加,超氧自由基生成增多,形成恶性循环。在脓毒症,尤其是合并脓毒性休克时,心肌处于低灌注状态,心肌微循环障碍、微血栓形成,引起氧摄取不足^[8],可以导致线粒体呼吸功能障碍。当持续缺血时间>5~7 min时,呼吸链就会发生不可逆改变,其中以细胞色素 C 氧化酶(呼吸链的标志酶)活性受到的影响最大,由于该酶连接线粒体呼吸代谢与氧的供给,其发病必将直接影响线粒体氧化磷酸化过程。其次,呼吸链中的辅酶 Q 细胞色素氧化酶也受到抑制,在缺血条件下线粒体内 NOS 类似物增多,NO 产生增加,过量的 NO 抑制了线粒体复合体 I 和复合体 II、影响了电子转运,最终抑制线粒体的呼吸功能和能量代谢^[9]。此外,线粒体呼吸功能障碍还可以促进或加重心脏

基金项目:卫生部科研基金-浙江省医药卫生重大科研项目(WKJ2005-2-035)

作者单位:310053 杭州,浙江中医药大学第一临床医学系

通讯作者:严静,硕士生导师,主任医师,中华医学会重症医学分会常务委员,中国病理生理学会危重病专业委员会委员,浙江省医学会危重病分会主任委员(Email:zjicu@vip.163.com)

作者简介:陈昌勤(1982-),女(汉族),湖北省人,硕士研究生,主要从事心血管病、危重病学研究。

微循环障碍,加剧心肌低灌注和心肌细胞损害。

4 心肌线粒体凋亡

线粒体处于细胞凋亡信号转导的“交叉点”和细胞凋亡发展中的“决定”性阶段。MPTP 具有调节心肌细胞凋亡的作用是指位于线粒体内外膜间的多蛋白孔道,包括己糖激酶、外周苯二噁受体、外膜上的电压依赖型阴离子通道、肌酸激酶、腺嘌呤核苷酸转位蛋白、亲环蛋白等。生理条件下,MPTP 处于关闭或亚通透状态,只允许分子质量 $<3 \times 10^5$ ku 的物质自由进出,不导致线粒体肿胀。在某些病理条件下,MPTP 开放转变为高通透状态,允许某些大分子物质从线粒体漏出。

脓毒症时,Fas/Apo-1、肿瘤坏死因子(TNF)受体、转化生长因子受体激活均可启动心肌线粒体凋亡信号^[10-13],凋亡启动后,MPTP 呈高通透状态并广泛而持久的开放, H^+ 从线粒体外流入线粒体,导致线粒体的膜电位缺失和线粒体基质膨胀^[14],基质的膨胀将引起外膜破裂,内膜内容物释放。线粒体凋亡主要步骤如下:细胞色素 C 移至胞浆^[15];在 ATP 的参与下与凋亡蛋白水解酶活化因子结合;与天冬氨酸半胱氨酸蛋白酶(caspase-2, caspase-9)形成“凋亡小体”(apoptosome);激活下游的效应酶^[16];进入细胞核,激活内源性核酸内切酶并促使磷脂酰丝氨酸残基暴露于胞膜外表面^[17]。心肌线粒体凋亡是导致心肌细胞凋亡的重要内容,心肌细胞凋亡将导致心肌细胞缺失;心肌细胞作为一种终末分化细胞,如果出现大量缺失,则将引起心脏功能减退。

5 线粒体 DNA(mtDNA)损伤

mtDNA 是惟一的核外遗传物质,哺乳动物 mtDNA 长度约 1 615 kb 左右,由一条重链和一条轻链组成,为双链环状闭环结构。两条链都能转录,各有一复制起点。线粒体内的氧化磷酸化体系中有 13 个亚单位由 mtDNA 编码。mtDNA 包含了复制与翻译过程中的重要遗传信息,mtDNA 和核糖体构成了相对独立的遗传系统,维持线粒体的基本功能。mtDNA 缺少组蛋白的保护和完善的自我修复系统,因而对发生突变有高度的易向性。

脓毒症时,细菌产生的大量内毒素可直接作用于心肌细胞,使圆形细胞增

多且黏附功能消失、亮氨酸总降低、细胞色素 P450 水平降低等,其毒性与内毒素剂量成正比^[18]。Crouser 等^[19]的研究表明,内毒素的类脂 A 被转运到线粒体内膜,并与特异性受体结合,使线粒体氧化磷酸化体系中几种重要的蛋白组分合成障碍,导致 ATP 合成减少,氧自由基产生增多,最终直接或间接损伤心肌细胞内的 mtDNA。mtDNA 损伤可引起 mtDNA 转录和表达受损,不仅使核编码区蛋白合成减少,也可使线粒体编码区呼吸链复合体 I、IV 蛋白的合成减少,使得心肌线粒体呼吸链完整性受到破坏^[20-21]。最终使心肌线粒体呼吸功能受损、能量生成障碍,心肌细胞能量供应不足,继续发展终至心肌细胞坏死,心脏功能发生障碍。

综上所述,心肌线粒体损伤是脓毒症导致心肌损伤的重要环节,其病理生理机制包括线粒体膜改变、钙超载、线粒体凋亡、mtDNA 损伤、线粒体呼吸功能受损等诸多方面。

参考文献:

- Angus D C, Linde-Zwirble W T, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care[J]. Crit Care Med, 2001, 29(7): 1303-1310.
- Court O, Kumar A, Parrillo J E, et al. Clinical review: myocardial depression in sepsis and septic shock [J]. Crit Care, 2002, 6(6): 500-508.
- Paradies G, Petrosillo G, Pistolesi M, et al. Lipid peroxidation and alterations to oxidative metabolism in mitochondria isolated from rat heart subjected to ischemia and reperfusion [J]. Free Radic Biol Med, 1999, 27(1-2): 42-50.
- Zang Q, Maass D L, Tsai S J, et al. Cardiac mitochondrial damage and inflammation responses in sepsis [J]. Surg Infect (Larchmt), 2007, 8(1): 41-54.
- Parratt J R. Nitric oxide in sepsis and endotoxaemia [J]. J Antimicrob Chemother, 1998, 41(Suppl A): 31-39.
- Thompson M, Kliewer A, Maass D, et al. Increased cardiomyocyte intracellular calcium during endotoxin-induced cardiac dysfunction in guinea pig [J]. Pediatr Res, 2000, 47(5): 669-676.
- Boya P, Roques B, Kroemer G. New EMBO members' review: viral and bacterial proteins regulating apoptosis at the mitochondrial level [J]. EMBO J, 2001, 20(16): 4325-4331.
- 明自强, 俞林明, 吕银祥, 等. 脓毒症患者氧利用率的变化与预后关系 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(4): 247-249.
- Brigold U, Ghafourifar P, Richter C. Peroxynitrite formed by mitochondrial NO synthase promotes mitochondrial Ca^{2+} release [J]. Free Radic Biol Med, 2000, 29(3-4): 343-348.
- 隰建成, 周宝桐. 脓毒症过程中的炎症介质与细胞凋亡关系的研究进展 [J]. 中国危重病急救医学, 2000, 12(6): 378-380.
- Tirosh O, Aronis A, Melendez J A. Mitochondrial state 3 to 4 respiration transition during Fas-mediated apoptosis controls cellular redox balance and rate of cell death [J]. Biochem Pharmacol, 2003, 66(8): 1331-1334.
- Garcia-Ruiz C, Colell A, Mari M, et al. Defective TNF-alpha mediated hepatocellular apoptosis and liver damage in acidic sphingomyelinase knockout mice [J]. J Clin Invest, 2003, 111(2): 197-208.
- 王国兴, 沈潞华, 谢苗荣, 等. 地塞米松对脓毒症大鼠心肌保护作用的研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(4): 206-209.
- Chagnon F, Metz C N, Bucala R, et al. Endotoxin-induced myocardial dysfunction: effects of macrophage migration inhibitory factor neutralization [J]. Circ Res, 2005, 96(10): 1095-1102.
- Morin D, Pires F, Plin C, et al. Role of the permeability transition pore in cytochrome C release from mitochondria during ischemia-reperfusion in rat liver [J]. Biochem Pharmacol, 2004, 68(10): 2065-2073.
- Varga E, Nagy N, Lazar J, et al. Inhibition of ischemia/reperfusion-induced damage by dexamethasone in isolated working rat hearts: the role of cytochrome C release [J]. Life Sci, 2004, 75(20): 2411-2423.
- Chen Q, Chai Y, Mazuder S, et al. The late increase of free radicals during genotoxic-stress induced apoptosis is associated with cytochrome C release from mitochondria induced by caspase-2 mediated feedback loop amplification [J]. Scientific World J, 2001, 1(Suppl 3): 142.
- Kuwana T, Newmeyer D D. Bcl-2 family proteins and the role of mitochondria in apoptosis [J]. Curr Opin Cell Biol, 2003, 15(6): 691-699.
- Crouser E D, Julian M W, Blaho D V, et al. Endotoxin-induced mitochondrial damage correlates with impaired respiratory activity [J]. Crit Care Med, 2002, 30(2): 276-284.

20 Suliman H B, Carraway M S, Welty-Wolf K E, et al. Lipopolysaccharide stimulates mitochondrial biogenesis via activation of nuclear respiratory factor - 1 [J]. J Biol Chem, 2003, 278(42): 41510 - 41518.

21 Suliman H B, Carraway M S, Piantadosi C A. Postlipopolysaccharide oxidative damage of mitochondrial DNA [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 167

(4): 570 - 579.

(收稿日期: 2007 - 05 - 27

修回日期: 2007 - 09 - 06)

(本文编辑: 李银平)

• 病例报告 •

重症敏感肺炎克雷伯杆菌感染致多器官功能衰竭 4 例死亡病例报告

高文军 卫敏 冯健华 魏媛 高齐明 郭炜 黎清波

【关键词】肺炎克雷伯杆菌； 全身炎症反应综合征； 多器官功能障碍综合征； 多器官功能衰竭； 感染

2004 年 10 月—2006 年 4 月，我院收治了 4 例社区获得性重症克雷伯杆菌肺炎患者，均因出现呼吸衰竭、休克及多器官功能衰竭(MOF)或放弃治疗自动出院而死亡，报告如下。

例 1: 患者男性, 43 岁。因发热、腹泻、咳嗽 3 d, 气促 2 d 入院。患者既往体健, 厨师, 有大量饮酒史 10 年。以发热起病, 体温(T) 39~40 °C, 畏寒, 咯少量白色黏痰, 发病 2 d 出现呼吸困难。查体: 皮肤、黏膜轻度黄染, 有肝掌、蜘蛛痣, 右肺呼吸音减弱, 可闻及湿啰音, 心率(HR) 130 次/min, 四肢温暖。实验室检查: 血白细胞计数(WBC) $1.1 \times 10^9/L$, 血小板计数(PLT) $9 \times 10^9/L$, 乙型肝炎表面抗原(HBsAg) 阳性, 乙型肝炎 e 抗体(HBeAb) 阳性, 天冬氨酸转氨酶(AST) 225 U/L, 丙氨酸转氨酶(ALT) 131 U/L, 总胆红素(TBil) 95.4 $\mu\text{mol/L}$, 直接胆红素(DBil) 60.5 $\mu\text{mol/L}$, 白蛋白(Alb) 30.1 g/L, 血尿素氮(BUN) 13.7 $\mu\text{mol/L}$, 血肌酐(SCr) 414 $\mu\text{mol/L}$, 凝血酶原时间(PT) 20.30 s, 3P 试验阳性, D-二聚体 5 475.62 $\mu\text{g/L}$ 。动脉血氧分压(PaO₂) 46 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa)。尿中红细胞(+++), 尿蛋白(++)。痰、血细菌培养: 肺炎克雷伯杆菌生长, 对药敏所试抗生素均敏感。X 线胸片示: 右肺炎症。胸、腹部 CT 示: 右肺团块状实变, 肝脏脂肪变。入院后给予机械通气、抗感染、应用糖皮质激素、补液及对症支持等综合治疗, 患者病情迅速加重, 出现休克, 进行抗休克治疗无效, 入

作者单位: 528400 广东中山, 中山大学附属中山医院, 中山市人民医院感染科

作者简介: 高文军(1967-), 男(汉族), 河南省人, 硕士, 副主任医师, 研究方向为感染性疾病 (Email: gaowenjun888@163.com)。

院后 16 h 死亡。

例 2: 患者男性, 42 岁。因发热、咳嗽、咯痰 2 d, 气促 1 d 入院。患者既往体健, 建筑工人, 有大量饮酒史 20 年。以发热起病, T 未测不详, 咯少量白色黏痰, 发病 2 d 出现呼吸困难。查体: T 38 °C, 呼吸频率(RR) 30 次/min, 脉搏(P) 110 次/min, 血压(BP) 80/60 mm Hg, 皮肤、黏膜发绀, 双肺可闻及湿啰音, HR 110 次/min, 四肢湿冷。实验室检查: 血 WBC $0.9 \times 10^9/L$, PLT $25 \times 10^9/L$, PaO₂ 37 mm Hg, ALT 156 U/L, AST 209 U/L, TBil 63.5 $\mu\text{mol/L}$, DBil 47.3 $\mu\text{mol/L}$, 血 BUN 14.6 $\mu\text{mol/L}$, SCr 211 $\mu\text{mol/L}$, PT 27.95 s, 3P 试验阴性, D-二聚体 3 635.03 $\mu\text{g/L}$; 痰、血细菌培养: 肺炎克雷伯杆菌生长, 对药敏所试抗生素均敏感。骨髓像示: ①WBC 总数减少, 形态正常; ②成熟红细胞正常; ③PLT 减少, 形态正常。骨髓病理示: 未见明显造血组织。X 线胸片示: 右肺及左中肺炎。入院后给予抗休克、机械通气、抗感染、应用糖皮质激素及对症支持等综合治疗, 休克及低氧血症不能纠正, 入院后 18 h 死亡。

例 3: 患者男性, 41 岁。因咳嗽、咯痰、胸痛 1 周, 发热、气促 2 d 入院。患者既往体健, 建筑工人, 有大量抽烟、饮酒史 15 余年。1 周前患者醉酒后开始出现咳嗽, 咯少量黄色黏痰及血丝痰, 伴胸痛, 以左胸痛隐痛为主, 无发热。发病后 5 d 开始出现发热, T 38 °C, 伴呼吸困难。查体: 皮肤、黏膜发绀, 双肺可闻及湿啰音, HR 148 次/min。实验室检查: 血 WBC $0.8 \times 10^9/L$, PLT $3 \times 10^9/L$, PaO₂ 51 mm Hg, AST 312 U/L, ALT 156 U/L, TBil 12.4 $\mu\text{mol/L}$, DBil 8.5 $\mu\text{mol/L}$, 血 BUN 16.3 $\mu\text{mol/L}$, SCr

312 $\mu\text{mol/L}$, PT 19.7 s, 3P 试验阴性, D-二聚体 2 230.68 $\mu\text{g/L}$; 血细菌培养阴性, 痰细菌培养: 肺炎克雷伯杆菌生长, 对药敏所试抗生素均敏感。骨髓像示: ①WBC 总数减少, 粒细胞核左移且中毒颗粒增多、增粗; ②成熟红细胞正常; ③PLT 减少, 形态正常。X 线胸片示: 左肺炎症, 治疗 1 d 后进展为双肺炎症。胸部 CT 示: 双肺感染性病变。入院后给予机械通气、抗感染、应用糖皮质激素、补液及对症支持等综合治疗, 患者病情迅速加重, 出现休克, 抗休克治疗无效, 入院后 34 h 死亡。

例 4: 患者男性, 39 岁。因发热、咳嗽、咯痰 5 d, 气促 3 d 入院。患者既往体健, 民工, 有大量饮酒史 15 年。以发热起病, 伴咳嗽, 咯少量白色黏痰。发病后 2 d 开始出现呼吸困难。查体: T 38.7 °C, RR 39 次/min, P 136 次/min, BP 86/60 mm Hg, 意识清, 皮肤、黏膜发绀, 双肺可闻及湿啰音, HR 136 次/min。实验室检查: 血 WBC $1.2 \times 10^9/L$, PLT $8 \times 10^9/L$, PaO₂ 41 mm Hg, AST 210 U/L, ALT 89 U/L, TBil 34.4 $\mu\text{mol/L}$, DBil 12.5 $\mu\text{mol/L}$, BUN 14.3 $\mu\text{mol/L}$, SCr 278 $\mu\text{mol/L}$, PT 20.5 s, 3P 试验阴性, D-二聚体 1 024.36 $\mu\text{g/L}$; 痰、血细菌培养: 肺炎克雷伯杆菌生长, 对药敏所试抗生素均敏感。X 线胸片示: 双肺炎症。胸部 CT 示: 双肺感染性病变。入院后给予机械通气、抗感染、应用糖皮质激素、补液及对症支持等综合治疗, 患者病情未见好转, 休克不能纠正, 入院 8 h 后放弃治疗, 自动出院, 出院后死亡。

(收稿日期: 2007 - 04 - 06)

(本文编辑: 李银平)