

低剂量氢化可的松对脓毒性休克早期心肌的保护作用

廖如意¹ 张剑锋¹ 赵会民¹ 张宗祥² 杨康¹

¹广西医科大学第二附属医院急诊科, 南宁 530007; ²广西医科大学第二附属医院心血管内科, 南宁 530007

通信作者: 赵会民, Email: hmzhao2006@163.com

【摘要】 目的 探讨低剂量氢化可的松对脓毒性休克早期大鼠心肌损伤的作用及机制。**方法** 健康雄性SD大鼠72只,按随机数字表法分为假手术组(Sham组)、脂多糖(LPS)致脓毒性休克模型组(LPS组)、低剂量氢化可的松干预组(LD组)3组,每组24只。经股静脉注射LPS 20 mg/kg制备脓毒性休克大鼠模型;Sham组注射等量生理盐水。LD组于制模成功后经右股静脉注射氢化可的松5 mg/kg;Sham组和LPS组注射等量生理盐水。连续监测各组大鼠血压和心率(HR);分别于制模后0、3、6 h各取8只大鼠进行动脉血气分析,用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血浆N末端B型脑钠肽前体(NT-proBNP)水平,用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测活化天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(caspase-3)及核转录因子- κ B p65(NF- κ B p65)表达;制模后6 h时取心肌组织,经苏木素-伊红(HE)染色后观察组织病理学改变,用原位末端缺刻标记试验(TUNEL)检测细胞凋亡率。**结果** 注射LPS后1 h大鼠平均动脉压(MAP)明显下降,之后逐渐升高,6 h时显著高于Sham组;而HR无明显改变,与Sham组比较差异无统计学意义;血乳酸(Lac)、剩余碱(BE)、血浆NT-proBNP水平及心肌组织caspase-3和NF- κ B p65表达随时间延长逐渐升高,均于6 h达峰值,且明显高于Sham组。脓毒性休克早期予以低剂量氢化可的松干预后,大鼠MAP呈上升趋势,Lac、BE则缓慢下降,6 h时MAP、Lac、BE均显著低于LPS组[MAP(mmHg, 1 mmHg=0.133 kPa): 98.6 ± 7.5 比 106.1 ± 8.5 , Lac (mmol/L): 1.29 ± 0.08 比 2.42 ± 0.37 , BE (mmol/L): 4.45 ± 0.57 比 8.18 ± 1.03 , 均 $P < 0.05$]。低剂量氢化可的松干预后3 h和6 h血浆NT-proBNP水平及心肌组织caspase-3、NF- κ B p65表达均明显低于LPS组[血浆NT-proBNP(ng/L): 3 h为 2740.56 ± 97.31 比 4425.60 ± 743.32 , 6 h为 2638.81 ± 205.12 比 4993.01 ± 373.78 ;心肌caspase-3/GAPDH: 3 h为 0.567 ± 0.045 比 0.841 ± 0.162 , 6 h为 0.496 ± 0.071 比 1.116 ± 0.172 ;心肌NF- κ B p65/GAPDH: 3 h为 0.852 ± 0.734 比 1.232 ± 0.115 , 6 h为 0.783 ± 0.047 比 1.383 ± 0.215 , 均 $P < 0.05$]。HE染色显示,LPS组心肌细胞发生断裂,炎性细胞浸润;而LD组心肌组织病理学改变较LPS组明显减轻。TUNEL染色显示,LPS组心肌细胞凋亡增加,细胞凋亡率明显高于Sham组[(82.41 ± 1.57)% 比 (5.77 ± 0.69)%, $P < 0.05$];而LD组心肌细胞凋亡率明显低于LPS组[(27.82 ± 1.77)% 比 (82.41 ± 1.57)%, $P < 0.05$]。**结论** 低剂量氢化可的松对脓毒性休克早期心肌组织具有保护作用,其机制可能与抑制心肌组织caspase-3及NF- κ B p65的表达、减少细胞凋亡、减轻心肌抑制有关。

【关键词】 脓毒性休克; 氢化可的松; 心肌损伤; 凋亡; 核转录因子- κ B

基金项目: 国家自然科学基金(81960343); 广西自然科学基金(2015GXNSFAA139195)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20191024-00039

Protective effect of low-dose hydrocortisone on myocardium in early septic shock

Liao Ruyi¹, Zhang Jianfeng¹, Zhao Huimin¹, Zhang Zongxiang², Yang Kang¹

¹Department of Emergency, the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530007, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; ²Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530007, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: Zhao Huimin, Email: hmzhao2006@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects and mechanisms of low-dose hydrocortisone on myocardial injury in early septic shock rats. **Methods** Seventy-two healthy male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into Sham group, lipopolysaccharide (LPS) model group (LPS group) and low dose hydrocortisone intervention group (LD group) according to the random number table method, with 24 rats in each group. The rat model of septic shock was produced by intravenous injection of LPS at 20 mg/kg. Sham group was injected with an equal amount of physiological saline. The LD group was injected 5 mg/kg of hydrocortisone via right femoral vein after model establishment. Sham group and LPS group were injected with an equal amount of physiological saline. Blood pressure and heart rate (HR) of rats in each group were continuously monitored. In each group, 8 rats were sacrificed for arterial blood gas analysis at 0, 3 and 6 hours after model establishment, and the level of plasma N-terminal B-type brain natriuretic peptide precursor (NT-proBNP) was detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The expressions of cleaved-

caspase-3 and nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B p65) were detected by Western Blot. Myocardial tissue was harvested 6 hours after model establishment, the histopathological changes were observed by hematoxylin eosin (HE) staining, and the apoptosis rate of myocardial cells was detected by terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling (TUNEL). **Results** After LPS injection, mean arterial pressure (MAP) decreased significantly at 1 hour, then gradually increased, and was significantly higher than Sham group at 6 hours. There was no significant change in HR, and the difference was not statistically significant compared with Sham group. Blood lactic acid (Lac), base excess (BE), plasma NT-proBNP level, myocardial tissue caspase-3 and NF- κ B p65 expression increased with the extension of time, all reach the peak in 6 hours, and significantly higher than Sham group. After early treatment with low-dose hydrocortisone in septic shock, MAP showed an increasing trend and Lac, BE decreased slowly. At 6 hours, MAP, Lac and BE were significantly lower than those in the LPS group [MAP (mmHg, 1 mmHg = 0.133 kPa): 98.6 ± 7.5 vs. 106.1 ± 8.5 , Lac (mmol/L): 1.29 ± 0.08 vs. 2.42 ± 0.37 , BE (mmol/L): 4.45 ± 0.57 vs. 8.18 ± 1.03 , all $P < 0.05$]. The level of plasma NT-proBNP, and the expressions of caspase-3 and NF- κ B p65 in myocardial tissue were significantly lower than those in LPS group at 3 hours and 6 hours after low-dose hydrocortisol treatment [NT-proBNP (ng/L): 2740.56 ± 97.31 vs. 4425.60 ± 743.32 at 3 hours, 2638.81 ± 205.12 vs. 4993.01 ± 373.78 at 6 hours; caspase-3/GAPDH: 0.567 ± 0.045 vs. 0.841 ± 0.162 at 3 hours, 0.496 ± 0.071 vs. 1.116 ± 0.172 at 6 hours; NF- κ B p65/GAPDH: 0.852 ± 0.734 vs. 1.232 ± 0.115 at 3 hours, 0.783 ± 0.047 vs. 1.383 ± 0.215 at 6 hours, all $P < 0.05$]. HE staining results showed that myocardial cells in the LPS group were broken and inflammatory cells infiltrated. The myocardial histopathological changes in LD group were significantly less than those in LPS group. TUNEL staining showed that the apoptosis of myocardial cells in LPS group increased, and the apoptosis rate was significantly higher than that in Sham group [$(82.41 \pm 1.57)\%$ vs. $(5.77 \pm 0.69)\%$, $P < 0.05$]. The apoptosis rate in LD group was significantly lower than that in LPS group [$(27.82 \pm 1.77)\%$ vs. $(82.41 \pm 1.57)\%$, $P < 0.05$]. **Conclusion** Low-dose hydrocortisone plays a protective role in the myocardial injury of early septic shock, and its mechanism may be related to the inhibition of caspase-3 and NF- κ B p65 expression, the reduction of apoptosis rate and myocardial inhibition.

【Key words】 Septic shock; Hydrocortisone; Myocardial injury; Apoptosis; Nuclear factor- κ B

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81960343); Guangxi Natural Science Foundation of China (2015GXNSFAA139195)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20191024-00039

脓毒性休克为脓毒症的一种严重类型,病死率高,预后差^[1]。研究表明,脓毒性休克患者存在心肌损伤,且是影响脓毒性休克患者预后的主要因素之一^[2]。脓毒性休克是常见的急危重症,早期是否使用糖皮质激素,目前国内外学者意见不一致,为临床治疗带来困扰^[3]。本研究旨在探讨低剂量氢化可的松对脓毒性休克早期(6 h)大鼠心肌损伤的改善作用及机制,以期对脓毒性休克早期应用低剂量氢化可的松提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂: 72 只健康雄性 SD 大鼠,体重 190 ~ 220 g,由广西医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:SYXK(桂)2014-0003。脂多糖(LPS,美国 Sigma 公司),氢化可的松(河南弘润制药股份有限公司),活化的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)及核转录因子- κ B p65(NF- κ B p65,美国 Cell Signaling Technology 公司),原位末端缺刻标记试验(TUNEL)试剂盒(美国罗氏公司)。

1.2 动物分组及模型制备: 按随机数字表法将大鼠分为假手术组(Sham 组)、LPS 致脓毒性休克模型组(LPS 组)和低剂量氢化可的松干预组(LD 组),每组 24 只。通过股静脉注射 LPS 20 mg/kg 建立脓毒

性休克大鼠模型;Sham 组注射等量生理盐水。各组大鼠以 20% 乌拉坦溶液 5 mL/kg 腹腔注射麻醉,分离右股动静脉,经右股动脉置入预充肝素钠的 PE-50 管,通过压力换能器连接 BL-420F 生物机能实验系统监测血压、心率(HR);经右股静脉置管用于注射药物和取血。置管成功后稳定 20 min,记录大鼠基础血压、HR 值。LD 组于制模成功后经右股静脉注射氢化可的松 5 mg/kg;Sham 组和 LPS 组注射等量生理盐水。

脓毒性休克模型制备成功标准:大鼠平均动脉压(MAP)较基础值下降 20% ~ 30% 并持续 15 ~ 30 min^[4]。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准,并经广西医科大学实验动物伦理委员会审批(审批号:201811035)。

1.3 检测指标及方法: 各组分别于制模后 0、3、6 h 取 8 只大鼠,取股动脉血、静脉血和心肌组织备检。

1.3.1 血压、HR 监测及血气分析: 通过 BL-420F 生物机能实验系统监测大鼠血压、HR,每小时记录 1 次。取股动脉血,测定 pH 值、动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)、动脉血氧分压(PaO₂)、血乳酸(Lac)、剩余碱(BE)。

1.3.2 血浆 N 末端 B 型脑钠肽前体(NT-proBNP)

水平测定:严格按照 ELISA 试剂盒步骤测定血浆中 NT-proBNP 含量。

1.3.3 蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 测定心肌组织 caspase-3、NF- κ B p65 蛋白表达:取心尖组织进行组织匀浆,离心取上清液,测定蛋白浓度,取蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,封闭,加一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,加二抗避光孵育 1 h,红外荧光扫描,Odyssey 软件分析各条带灰度值,以目的条带与内参 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 的灰度值比值表示蛋白表达量。

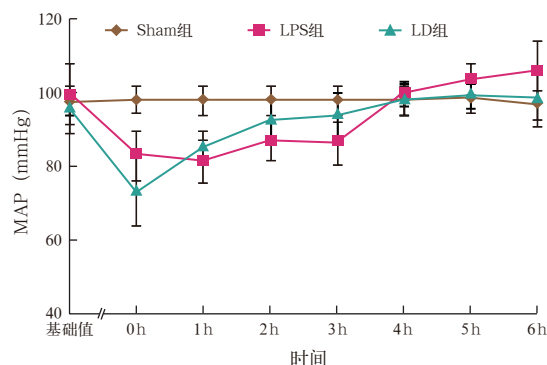
1.3.4 病理学分析:取 10% 甲醛溶液固定好的心尖组织,脱水、石蜡包埋、切片,苏木素-伊红 (HE) 染色后光镜下观察心肌组织病理学改变,用 TUNEL 染色测定心肌细胞凋亡率。

1.4 统计学处理:使用 SPSS 22.0 统计软件分析数据。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血压及 HR (图 1; 表 1):各组大鼠基础 MAP 及 HR 比较差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。静脉注射 LPS 后 1 h,大鼠 MAP 较基础值下降了 20% ~ 30%,达到休克点之后逐渐上升,6 h 时显著高于 Sham 组。与 Sham 组相比,LPS 组 0、3、6 h MAP 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。LD 组 3 h、6 h MAP

与 LPS 组比较差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。LPS 组各时间点 HR 与 Sham 组比较差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$);LD 组 3 h、6 h 时 HR 明显高于 LPS 组 (均 $P < 0.05$)。



注:Sham 组为假手术组,LPS 组为脂多糖致脓毒性休克模型组,LD 组为低剂量氢化可的松干预组;MAP 为平均动脉压;1 mmHg=0.133 kPa

图 1 各组大鼠制模前后 MAP 变化

2.2 血气分析 (表 2):与 Sham 组相比,LPS 组 pH 值明显下降,PaO₂、Lac 及 BE 明显增高 (均 $P < 0.05$)。与 LPS 组相比,LD 组 6 h 时 pH 值、PaO₂ 明显升高,Lac、BE 明显降低 (均 $P < 0.05$)。各组间 PaCO₂ 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 血浆 NT-proBNP 水平 (表 2):LPS 组各时间点血浆 NT-proBNP 水平明显高于 Sham 组 (均 $P < 0.05$),6 h 达峰值。LD 组 3 h、6 h 时血浆 NT-proBNP 水平明显低于 LPS 组 (均 $P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠制模前后不同时间点 MAP 及 HR 的变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	MAP (mmHg)				HR (次/min)			
		基础值	0 h	3 h	6 h	基础值	0 h	3 h	6 h
Sham 组	8	97.8 $\pm$ 3.3	98.5 $\pm$ 3.4	98.4 $\pm$ 3.9	97.0 $\pm$ 3.9	403.9 $\pm$ 17.8	403.9 $\pm$ 17.8	404.8 $\pm$ 13.0	406.6 $\pm$ 14.3
LPS 组	8	100.0 $\pm$ 8.1	83.3 $\pm$ 6.6 ^a	86.5 $\pm$ 5.9 ^a	106.1 $\pm$ 8.5 ^a	413.3 $\pm$ 37.4	396.3 $\pm$ 23.7	407.3 $\pm$ 66.1	408.5 $\pm$ 54.3
LD 组	8	95.9 $\pm$ 6.4	73.4 $\pm$ 9.2 ^a	93.9 $\pm$ 6.3 ^b	98.6 $\pm$ 7.5 ^b	422.9 $\pm$ 10.7	408.5 $\pm$ 18.5	457.3 $\pm$ 29.6 ^{ab}	465.8 $\pm$ 44.7 ^b

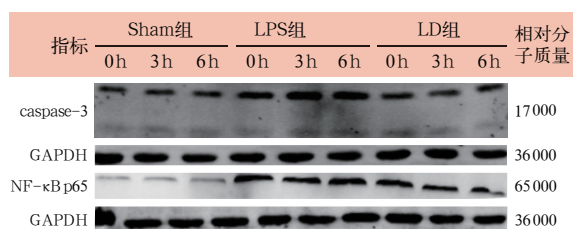
注:Sham 组为假手术组,LPS 组为脂多糖致脓毒性休克模型组,LD 组为低剂量氢化可的松干预组;MAP 为平均动脉压,HR 为心率;1 mmHg=0.133 kPa;与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 LPS 组比较,^b $P < 0.05$

表 2 各组大鼠制模后不同时间点动脉血气分析指标及血浆 NT-proBNP 水平变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物数 (只)	pH 值	PaCO ₂ (mmHg)	PaO ₂ (mmHg)	Lac (mmol/L)	BE (mmol/L)	NT-proBNP (ng/L)
Sham 组	0 h	8	7.40 $\pm$ 0.03	36.35 $\pm$ 1.15	103.31 $\pm$ 3.95	1.02 $\pm$ 0.14	2.60 $\pm$ 0.42	101.61 $\pm$ 13.07
	3 h	8	7.40 $\pm$ 0.03	36.15 $\pm$ 1.31	104.38 $\pm$ 3.46	1.06 $\pm$ 0.09	2.75 $\pm$ 0.21	111.67 $\pm$ 12.56
	6 h	8	7.40 $\pm$ 0.03	36.26 $\pm$ 0.95	104.75 $\pm$ 3.20	0.97 $\pm$ 0.05	2.71 $\pm$ 0.21	88.39 $\pm$ 15.77
LPS 组	0 h	8	7.35 $\pm$ 0.05 ^a	35.69 $\pm$ 3.28	177.00 $\pm$ 12.85 ^a	1.34 $\pm$ 0.23 ^a	6.69 $\pm$ 1.06 ^a	396.43 $\pm$ 131.68 ^a
	3 h	8	7.32 $\pm$ 0.04 ^a	31.05 $\pm$ 2.83	170.88 $\pm$ 9.72 ^a	1.72 $\pm$ 0.29 ^a	7.46 $\pm$ 1.86 ^a	4425.60 $\pm$ 743.32 ^a
	6 h	8	7.23 $\pm$ 0.05 ^a	32.51 $\pm$ 3.47	151.88 $\pm$ 10.40	2.42 $\pm$ 0.37 ^a	8.18 $\pm$ 1.03 ^a	4993.01 $\pm$ 373.78 ^a
LD 组	0 h	8	7.35 $\pm$ 0.03 ^a	34.53 $\pm$ 1.52	155.00 $\pm$ 7.86 ^{ab}	1.31 $\pm$ 0.18 ^a	6.48 $\pm$ 0.69 ^a	442.38 $\pm$ 129.01 ^a
	3 h	8	7.35 $\pm$ 0.03 ^a	35.39 $\pm$ 4.23	152.13 $\pm$ 9.22 ^{ab}	1.22 $\pm$ 0.17 ^b	4.78 $\pm$ 0.93 ^{ab}	2740.56 $\pm$ 97.31 ^{ab}
	6 h	8	7.38 $\pm$ 0.04 ^b	33.31 $\pm$ 2.77	160.63 $\pm$ 6.19 ^{ab}	1.29 $\pm$ 0.08 ^{ab}	4.45 $\pm$ 0.57 ^{ab}	2638.81 $\pm$ 205.12 ^{ab}

注:Sham 组为假手术组,LPS 组为脂多糖致脓毒性休克模型组,LD 组为低剂量氢化可的松干预组;PaCO₂ 为动脉血二氧化碳分压,PaO₂ 为动脉血氧分压,Lac 为血乳酸,BE 为剩余碱,NT-proBNP 为 N 末端 B 型脑钠肽前体;1 mmHg=0.133 kPa;与 Sham 组同期比较,^a $P < 0.05$;与 LPS 组同期比较,^b $P < 0.05$

2.4 心肌组织 caspase-3、NF-κB p65 表达(图2;表3):与 Sham 组相比, LPS 组各时间点心肌组织 caspase-3、NF-κB p65 表达量明显增高(均 $P<0.05$)。与 LPS 组相比, LD 组 3 h、6 h 时心肌组织 caspase-3、NF-κB p65 表达量明显下降(均 $P<0.05$)。



Sham 组为假手术组, LPS 组为脂多糖致脓毒性休克模型组, LD 组为低剂量氢化可的松干预组; caspase-3 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3, NF-κB p65 为核转录因子-κB p65, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶

图2 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测各组大鼠制模后不同时间点心肌组织中 caspase-3、NF-κB p65 蛋白表达

表3 各组大鼠制模后不同时间点心肌组织 caspase-3、NF-κB p65 蛋白表达变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	caspase-3/GAPDH		
		0 h	3 h	6 h
Sham 组	8	0.432 ± 0.072	0.421 ± 0.853	0.442 ± 0.090
LPS 组	8	0.598 ± 0.063 ^a	0.841 ± 0.162 ^a	1.116 ± 0.172 ^a
LD 组	8	0.615 ± 0.063	0.567 ± 0.045 ^{ab}	0.496 ± 0.071 ^{ab}

组别	动物数 (只)	NF-κB p65/GAPDH		
		0 h	3 h	6 h
Sham 组	8	0.432 ± 0.070	0.400 ± 0.132	0.418 ± 0.010
LPS 组	8	1.110 ± 0.110 ^a	1.232 ± 0.115 ^a	1.383 ± 0.215 ^a
LD 组	8	1.167 ± 0.132	0.852 ± 0.734 ^{ab}	0.783 ± 0.047 ^{ab}

注: Sham 组为假手术组, LPS 组为脂多糖致脓毒性休克模型组, LD 组为低剂量氢化可的松干预组; caspase-3 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3, NF-κB p65 为核转录因子-κB p65, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶; 与 Sham 组比较, ^a $P<0.05$; 与 LPS 组比较, ^b $P<0.05$

2.5 心肌组织病理学改变(图3):Sham 组心肌细胞排列整齐,无细胞坏死、出血现象。LPS 组心肌细胞排列紊乱,部分心肌细胞发生断裂,中度炎性细胞浸润,部分心肌间有红细胞出现,少量细胞坏死。LD 组心肌细胞排列稍显紊乱,个别心肌细胞断裂。

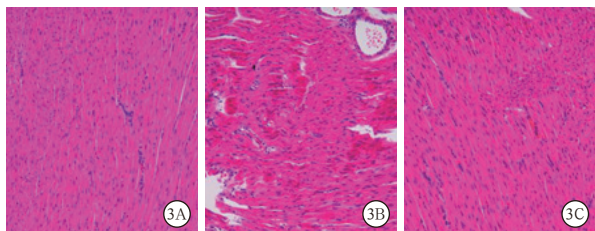


图3 光镜下观察各组大鼠制模后 6 h 心肌组织病理学改变假手术组(Sham 组, A)未见明显改变;脂多糖致脓毒性休克模型组(LPS 组, B)心肌细胞发生断裂,炎性细胞浸润,心肌间有红细胞;低剂量氢化可的松干预组(LD 组, C)心肌细胞排列稍显紊乱,个别心肌细胞断裂 HE 染色 中倍放大

2.6 细胞凋亡(图4):Sham 组偶见心肌细胞凋亡,凋亡率为 $(5.77 \pm 0.69)\%$ 。与 Sham 组比较, LPS 组心肌细胞凋亡明显增加,凋亡率明显高于 Sham 组 $[(82.41 \pm 1.57)\% \text{ 比 } (5.77 \pm 0.69)\%, P<0.05]$ 。LD 组心肌细胞凋亡率较 LPS 组明显下降 $[(27.82 \pm 1.77)\% \text{ 比 } (82.41 \pm 1.57)\%, P<0.05]$ 。

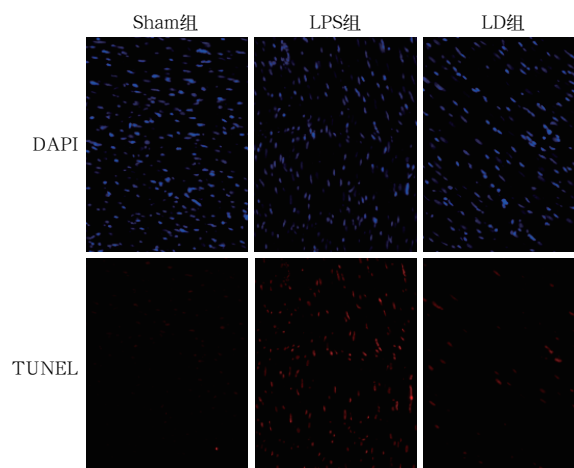


图4 荧光显微镜下观察各组大鼠制模后 6 h 心肌细胞凋亡情况正常心肌细胞呈蓝色,凋亡心肌细胞呈红色。假手术组(Sham 组)偶见凋亡细胞;脂多糖致脓毒性休克模型组(LPS 组)可见大量凋亡细胞;低剂量氢化可的松干预组(LD 组)凋亡细胞明显减少 TUNEL 染色 + DAPI 复染 中倍放大

3 讨论

脓毒性休克患者早期死亡原因多归于循环系统衰竭;合并心肌损伤的发生率约为 40%,此类患者的病死率高达 70%~90%^[5]。实验研究显示,给小鼠腹腔注射 LPS 12 mg/kg 后 8 h 即出现心肌损伤,但具体机制不明^[6]。本研究表明,低剂量氢化可的松对脓毒性休克早期心肌损伤有保护作用,其机制可能是抑制 NF-κB 活化及 caspase-3 信号通路,减轻炎症反应,减少细胞凋亡,从而改善心功能,减轻心肌损伤。

然而,糖皮质激素对脓毒性休克的疗效尚存在争议。有学者认为,低剂量的皮质类固醇激素可降低脓毒性休克患者的病死率,改善预后^[7];也有学者认为,低剂量氢化可的松并不能降低脓毒性休克患者的病死率,且与院内病死率无关^[8]。但针对脓毒性休克早期是否使用糖皮质激素的研究少见。

一般认为,糖皮质激素通过与肾脏内的糖皮质激素受体结合,促进水钠潴留,恢复全身血容量^[9]。当脓毒性休克时,肾上腺功能不全,产生的糖皮质激素不足以满足机体的需求,全身的血流动力学发生改变^[10]。本研究中,注射 LPS 后大鼠 MAP 下降,数分钟后缓慢上升,之后又持续下降,达休克血压,

持续一段时间后出现上升趋势,最终 MAP 高于基础值,呈现高动力状态;Lac、BE 持续上升。LPS 组大鼠 PaO₂ 持续增加,可能是由于休克代偿期摄氧量增加,但此时机体的组织灌注不足,微循环障碍。Lac 作为反映机体微循环的特异性指标,其水平对于机体的微循环至关重要^[11]。近年来脓毒性休克患者治疗目标之一即降低 Lac 水平,Lac 也作为急诊危重患者院内病死率的独立预测因子^[12-13]。随着低剂量氢化可的松干预时间的延长,Lac 较 LPS 组明显下降,血压回升到基础水平;可能是因为氢化可的松增加了全身血管张力,恢复组织灌注压,减少血液滞留,加快机体代谢,改善微循环,平衡机体的酸碱失衡状态。最新的国际脓毒症和脓毒性休克治疗指南推荐,早期液体复苏和血管升压药未能达到复苏目的,则使用低剂量氢化可的松^[14],为本实验低剂量氢化可的松的应用能够改善微循环、利于组织灌注、减少乳酸堆积提供了直接证据。

本实验中病理结果显示,与 LPS 组比较,低剂量氢化可的松抑制了心肌炎症反应及细胞凋亡。通过检测心肌 caspase-3 蛋白表达显示,LD 组 caspase-3 表达较 LPS 组明显下降,且呈进行性减少,提示低剂量氢化可的松抑制了心肌细胞凋亡。研究表明这可能与线粒体膜破坏损伤心肌细胞,从而激活细胞凋亡途径,进而引起心肌损伤有关^[15]。Su 等^[16]也表明,抑制心肌细胞凋亡可减少心肌损伤,改善心功能。

本研究中 LD 组心肌组织 NF- κ B p65 表达明显低于 LPS 组,心肌细胞凋亡减少,表明低剂量氢化可的松抑制心肌细胞凋亡可能与 NF- κ B p65 表达下降有关;与文献报道 LPS 作为一种内毒素,可激活 Toll 样受体 4 信号通路,导致 NF- κ B 移位和炎症因子产生,且 NF- κ B 参与调控细胞凋亡基因表达相符^[17-18]。NT-proBNP 作为心功能不全的诊断标志物,与脓毒性休克病死率密切相关^[19]。本实验中 LPS 组血浆 NT-proBNP 含量逐渐升高;给予低剂量氢化可的松干预后 3 h、6 h NT-proBNP 水平明显降低,提示低剂量氢化可的松抑制了心肌损伤,改善了心功能。

综上,早期使用低剂量氢化可的松对脓毒性休克早期心脏有一定的保护作用。其机制可能是抑制 NF- κ B 活化及 caspase-3 信号通路,减轻炎症反应,减少细胞凋亡,改善心功能,进而减轻心肌损伤,也为脓毒性休克早期应用糖皮质激素提供了依据。但是本实验着重研究脓毒性休克早期(6 h 以内)的结果,而后期(12 h 之后)结果如何尚待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 775-787. DOI: 10.1001/jama.2016.0289.
- [2] 廖如意,赵会民.糖皮质激素对脓毒性休克的影响及机制[J].实用休克杂志(中英文),2019,3(2):109-111,119.
- [3] Liao RY, Zhao HM. The effect and mechanism of glucocorticoid on septic shock [J]. J Pract Shock, 2019, 3 (2): 109-111, 119.
- [4] Salluh JJ, Póvoa P. Corticosteroids in severe sepsis and septic shock: a concise review [J]. Shock, 2017, 47 (1S Suppl 1): 47-51. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000704.
- [5] Sennoun N, Montemont C, Gibot S, et al. Comparative effects of early versus delayed use of norepinephrine in resuscitated endotoxic shock [J]. Crit Care Med, 2007, 35 (7): 1736-1740. DOI: 10.1097/01.CCM.0000269028.28521.08.
- [6] Merx MW, Weber C. Sepsis and the heart [J]. Circulation, 2007, 116 (7): 793-802. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.678359.
- [7] 胡立亚,李培军,常超,等.脓毒症心肌损伤小鼠模型的建立和评价[J].中华危重病急救医学,2018,30(4):342-345. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.04.011.
- [8] Hu LY, Li PJ, Chang C, et al. Establishment and evaluation of mouse models of septic myocardial injury [J]. Chin Crit Care Med, 2018, 30 (4): 342-345. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.04.011.
- [9] Tagami T, Matsui H, Fushimi K, et al. Low-dose corticosteroid treatment and mortality in refractory abdominal septic shock after emergency laparotomy [J]. Ann Intensive Care, 2015, 5 (1): 32. DOI: 10.1186/s13613-015-0074-8.
- [10] Wang C, Sun J, Zheng J, et al. Low-dose hydrocortisone therapy attenuates septic shock in adult patients but does not reduce 28-day mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Anesth Analg, 2014, 118 (2): 346-357. DOI: 10.1213/ANE.0000000000000050.
- [11] Annane D. The role of ACTH and corticosteroids for sepsis and septic shock: an update [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2016, 7: 70. DOI: 10.3389/fendo.2016.00070.
- [12] Marik PE. Mechanisms and clinical consequences of critical illness associated adrenal insufficiency [J]. Curr Opin Crit Care, 2007, 13 (4): 363-369. DOI: 10.1097/MCC.0b013e32818a6d74.
- [13] Shapiro NI, Howell MD, Talmor D, et al. Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infection [J]. Ann Emerg Med, 2005, 45 (5): 524-528. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2004.12.006.
- [14] Houwink AP, Rijkenberg S, Bosman RJ, et al. The association between lactate, mean arterial pressure, central venous oxygen saturation and peripheral temperature and mortality in severe sepsis: a retrospective cohort analysis [J]. Crit Care, 2016, 20: 56. DOI: 10.1186/s13054-016-1243-3.
- [15] 王涛,夏永富,郝东,等.乳酸在脓毒性休克早期诊断及目标导向治疗中的意义[J].中华危重病急救医学,2014,26(1):51-55. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.01.000.
- [16] Wang T, Xia YF, Hao D, et al. The significance of lactic acid in early diagnosis and goal-directed therapy of septic shock patients [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (1): 51-55. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.01.000.
- [17] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 [J]. Intensive Care Med, 2017, 43 (3): 304-377. DOI: 10.1007/s00134-017-4683-6.
- [18] Lancel S, Joulin O, Favory R, et al. Ventricular myocyte caspases are directly responsible for endotoxin-induced cardiac dysfunction [J]. Circulation, 2005, 111 (20): 2596-2604. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.490979.
- [19] Su Q, Li L, Liu YC, et al. Effect of metoprolol on myocardial apoptosis after coronary microembolization in rats [J]. World J Emerg Med, 2013, 4 (2): 138-143. DOI: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2013.02.010.
- [20] Gao M, Ha T, Zhang X, et al. Toll-like receptor 3 plays a central role in cardiac dysfunction during polymicrobial sepsis [J]. Crit Care Med, 2012, 40 (8): 2390-2399. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182535aeb.
- [21] Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology [J]. Cell, 2017, 168 (1-2): 37-57. DOI: 10.1016/j.cell.2016.12.012.
- [22] 熊琼,王龙,王晞.脑钠肽及氨基末端 B 型脑钠肽前体在脓毒症中的作用[J/CD].中华危重病急救医学杂志(电子版),2017,10(2):130-135. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2017.02.014.
- [23] Xiong Q, Wang L, Wang X. The role of brain natriuretic peptide and amino-terminal B-type natriuretic peptide precursor in sepsis [J/CD]. Chin J Crit Care Med (Electronic Edition), 2017, 10 (2): 130-135. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2017.02.014.

(收稿日期:2019-10-24)