

H-FABP 在内毒素致大鼠心肌损伤中的变化及意义

包龙棠¹,周丽华²,杨大刚²

(1. 内蒙古医科大学附属医院 日间病房, 内蒙古 呼和浩特 010050; 2. 内蒙古医科大学附属医院 重症医学科)

摘要:目的:研究心型脂肪酸结合蛋白在内毒素致大鼠心肌损伤中的动态变化及其规律,为临床脓毒症心肌损伤的诊断及心功能评估提供动物实验的依据。方法:将雄性 Wistar 大鼠随机分组:正常对照组、内毒素组。内毒素组:腹腔注射 LPS(10mg/kg,用 2mLNS 溶解)后,正常对照组:腹腔注射同等剂量生理盐水。于 3h、6h、12h、24h、48h 眼球后静脉丛取血,测量血清中心型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)、肌钙蛋白 T(cTnT)、心型肌酸激酶(CK-MB)、脑钠肽(BnP)含量。结果:(1)H-FABP:与正常对照组相比,内毒素各组的 H-FABP 含量明显升高,其中 H-FABP 含量在 3h 升高,6h 达到高峰,12h 出现快速下降,48h 下降幅度减少($P<0.01$);(2)cTnT:与正常对照组相比,cTnT 在 6h 明显升高,12h 达到高峰,24h 有所下降,48h 仍保持较高浓度($P<0.01$);(3)CK-MB:与正常对照组相比,CK-MB 在 6h 明显升高,12h 达到高峰,48h 保持在较高浓度($P<0.01$);(4)BnP:与正常对照组相比,内毒素各组 BnP 明显升高,并随时间推移,呈上升趋势($P<0.01$)。结论:血清 H-FABP 可作为诊断内毒素心肌损伤的早期生物标记物之一,并与 cTnT 和 CK-MB 相结合,能更好的发现内毒素的心肌损伤及严重程度。

关键词:内毒素;心肌损伤;心型脂肪酸结合蛋白;肌钙蛋白 T;心型肌酸激酶;脑钠肽

中图分类号: R54

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2020)05-0492-03

脓毒症(sepsis)是由感染引起的全身炎症反应,导致机体对感染的异常调节表达,造成危及生命的器官功能衰竭;是一种导致机体生理、病理异常变化的综合征;其强调的是机体对感染的反应失衡状态的重要性,潜在的致命性远大于简单的感染^[1]。因此在临床上对脓毒症进行早期诊断、早期治疗,筛查脓毒症心肌损伤,对脓毒症患者的预后有着极为重要的临床意义。目前反应心肌损伤的常规实验室诊断标记物主要有肌钙蛋白、心肌酶、肌红蛋白等,研究证明这些标记物在脓毒症患者中反应心肌损伤具有一定的意义^[2]。心型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)是一种相对较小的胞质蛋白,其分子量约为 14500,特异性的存在于心肌细胞内,在心肌细胞脂肪酸的摄入、运输和代谢中扮演的重要的角色^[3]。在生理情况下,心型脂肪酸结合蛋白很少存在于血浆中,但当心肌细胞受损时,其可早期就可穿过心肌细胞膜漏出到血浆中而被检测出^[4]。由此可见心型脂肪酸结合蛋白在对心肌损伤的早期诊断、评估复发或持续性损伤中具有一定的意义。脂多糖是脂质和多糖的复合物;为革兰氏阴性细菌外

壁层中特有的一种化学成分,当革兰氏阴性细菌崩裂时释出,具有抗原性,是很强的发热原;因此脂多糖是细内毒素诱导的脓毒症老鼠模型可以提供脓毒症发病的过程、变化及损伤机制等^[5]。本文章复制内毒素致大鼠心肌损伤动物模型,模拟临床脓毒症,研究心型脂肪酸结合蛋白在内毒素致大鼠心肌损伤中的动态变化及其规律,为临床脓毒症心肌损伤早期诊断及心功能评估提供动物实验的依据。

1 材料与方法

1.1 动物、试剂、仪器

实验动物 健康纯系清洁级雄性 wistar 大鼠,体重 200 ± 10 g,由内蒙古大学实验动物中心提供。许可证号:SCXK(蒙 2002-0001);脂多糖(LiPoPolysaccharides, LPS) L2880, (O55: B5)(美国 Sigma 公司);大鼠(Rat)H-FABP、cTn-T、CK-MB、BnP 的 ELISA 检测试剂盒检测 试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司);高速立式离心机 CF16RXii 2012 日本 Thermo;酶标仪 Multiskan Ascent 2009 美国;子天

收稿日期: 2020-05-18; 修回日期: 2020-09-01

基金项目: 内蒙古医科大学科技百万工程(联合)项目(YKD2016KJBW(LH)005)

作者简介: 包龙棠(1981-),女,医学博士,内蒙医科大学附属医院日间病房主治医师。

通讯作者: 周丽华,主任医师, E-mail: xiulika@163.com, 内蒙医科大学附属医院重症医学科, 010050

平数显 FA1004 2004 上海。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物及分组 将24只雄性Wistar大鼠随机分为正常对照组(12只),内毒素组(12只)。

1.2.2 动物模型的制备 内毒素组:腹腔注射LPS(10mg/kg,用2mLNS溶解),正常对照组:腹腔注射同等剂量生理盐水;分别于3h、6h、12h、24h、48h眼球后静脉丛取血,离心、取血清,用大鼠ELISA试剂盒测定血清中H-FABP、cTn-T、CK-MB、BnP含量。

1.3 统计学处理

应用SPSS 19.0统计软件进行数据分析。数据用均值±标准差表示;检测数据方差齐性,组间分析采用方差分析,两变量间相关性分析采用Pearson相关性分析,两变量间数量关系分析采用线性回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

表1 处理后各时点H-FABP、CK-MB、cTn-T、BnP的含量变化($\bar{x}\pm s$)

时间 点	H-FABP正 常对照组	H-FABP内 毒素组	CK-MB正常 对照组	CK-MB内 毒素组	cTn-T正常 对照组	cTn-T内 毒素组	BnP正常 对照组	BnP内 毒素组
3	16.71 ± 0.72	21.54 ± 0.67 [•]	26.59 ± 0.96	27.13 ± 0.51	12.14 ± 0.83	12.84 ± 0.35	16.97 ± 1.26	22.13 ± 1.13 [•]
6	16.22 ± 0.41	26.24 ± 0.62 [•]	25.12 ± 0.33	30.04 ± 0.75 [•]	11.55 ± 0.74	20.51 ± 0.89 [•]	18.42 ± 0.51	23.81 ± 0.92 [•]
12	15.89 ± 0.57	22.35 ± 0.68 [•]	26.88 ± 0.79	30.55 ± 1.23 [•]	11.98 ± 0.54	22.43 ± 0.74 [•]	16.57 ± 0.96	25.61 ± 0.70 [•]
24	16.57 ± 0.64	20.55 ± 0.50 [•]	26.03 ± 0.82	30.60 ± 0.67 [•]	12.01 ± 0.93	20.80 ± 0.81 [•]	18.09 ± 1.33	27.79 ± 0.53 [•]
48	16.73 ± 0.55	19.54 ± 0.59 [•]	26.32 ± 0.57	30.26 ± 0.78 [•]	11.79 ± 0.35	19.95 ± 0.65 [•]	17.62 ± 1.05	30.55 ± 2.88 [•]

*与正常组相比, [•] $P<0.01$ 。

3 讨论

脓毒症是一种因感染引起的全身生理、病理、生化异常变化的综合征。目前脓毒症心肌损伤的机制主要认为是炎性细胞因子浸润导致环鸟苷酸和一氧化氮的增加,降低钙离子敏感性和造成线粒体功能损伤,从而导致心肌细胞的损伤^[6-11]。然而随着临床上抗炎性因子药物的大量应用,其死亡率未见明显改变。这提示脓毒症的损伤机制本质不仅仅是大量炎性细胞因子浸润造成的损伤,可能是一种持续性炎症与免疫抑制并存的高分解代谢综合征脓毒症是重症医学科内主要死亡原因之一,当合并脓毒症心肌损伤时,其死亡率会更高。脓毒症早期即可出现心肌损伤,但其临床症状不明显,如果不及早发现,往往会导致病情进一步恶化,错过其最佳治疗时间,影响预后。因此早期诊断对于脓毒症心肌损伤具有极为重要的意义。本实验通过复

H-FABP:正常组间无明显差异。与正常对照组相比,内毒素各组的H-FABP含量明显升高,其中H-FABP含量在3h升高,6h达到高峰,12h出现快速下降,48h下降幅度减少($P<0.01$)(见表1)。

cTnT:正常组间无明显差异。与正常对照组相比,cTnT在6h升高,12h达到高峰,24h有所下降,48h仍保持较高浓度($P<0.01$)(见表1)。

CK-MB:正常组间无明显差异。与正常对照组相比,CK-MB在6h升高,12h达到高峰,48h仍保持较高浓度($P<0.01$)(见表1)。

BnP:正常组间无明显差异。与正常对照组相比,内毒素各组BnP明显升高,并随时间推移,呈上升趋势($P<0.01$)。注射LPS后3~6h内H-FABP的升高可伴随BnP的升高,经线性回归分析,当H-FABP为自变量,BnP为应变量时,二者具有线性回归关系($R^2=0.825, P<0.05$)(见表1)。

制内毒素致大鼠心肌损伤动物模型,模拟临床脓毒症。

心肌是耗能最多的组织之一,正常心肌能量的70%来源于脂肪酸的氧化,在饥饿、运动时脂肪酸的动员更多,因此心肌细胞内含有大量的H-FABP。有研究显示,当心肌受损时参与心肌脂肪酸的摄入、运输和代谢的H-FABP会在心肌损伤时穿过细胞膜漏入血液中^[12]。H-FABP主要存在心肌细胞胞质中,血液和其他组织中含量极低,因此在诊断心肌损伤方面具有较高的特异性;由于其分子量小,在心肌受损情况下,可迅速穿过细胞膜漏入血管内,这在诊断心肌损伤方面具有较高的敏感性^[13]。

本课题组长期以来对内毒素致心肌损伤模型进行了大量研究。在以内毒素心肌损伤模型中CK-MB、cTn-T动态变化规律为背景,本研究从脓毒症大鼠模型3h即开始检测,一直持续检测后第48h,以期发现血清H-FABP升高、持续时间,并与

CK-MB、cTn-T对比,为临床提供新的脓毒症心肌损伤标记物。

在本研究中发现内毒素组3h H-FABP就可明显升高,6h达到高值,12h开始快速下降,48h下降减慢。与cTnT和CK-MB相比,H-FABP可以在早期反应内毒素致大鼠心肌损伤;但是H-FABP在12h后出现明显的下降趋势,而cTnT和CK-MB仍保持在较高水平,所以在该时间段中心型脂肪酸结合蛋白的诊断价值要低于cTnT和CK-MB。H-FABP与cTnT和CK-MB相互补充,可以更好的发现脓毒症的心肌损伤。脓毒症患者由于心室的前后负荷过重或心室壁扩张,导致BnP大量释放到血液中^[14]。根据本研究结果,内毒素各组中BnP高于正常对照组,并随着时间的推移逐渐增加。这可能是由于内毒素导致大鼠心肌损伤,直接造成大鼠的心功能障碍。在注射LPS后3~6h内H-FABP升高同时伴随BnP升高。表明内毒素致大鼠心肌损伤早期随着H-FABP升高,已经有心脏功能障碍的发生,且功能障碍的严重程度与H-FABP的升高程度有一定的相关性。

结果表明,血清H-FABP可以作为内毒素致大鼠心肌损伤的生物标记物,与cTnT和CK-MB相结合,能更好的发现内毒素心肌损伤及严重程度。

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016; 315(8):801-810
- [2] Chu M, Gao Y, Zhang Y, et al. The role of speckle tracking echocardiography in assessment of lipopolysaccharide-induced myocardial dysfunction in mice[J]. J Thorac Dis. 2015; 7(12): 2253-2261
- [3] Xu H, Diolintzi A, Storch J. Fatty acid-binding proteins: functional understanding and diagnostic implications[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2019; 22(6):407-412
- [4] Gururajan P, Gurumurthy P, Nayar P, et al. Heart fatty acid binding protein (H-FABP) as a diagnostic biomarker in patients with a acute coronary syndrome [J]. Heart Lung Circ, 2010; 19(11): 660-664
- [5] Zanotti-Cavazzoni SL, Goldfarb RD. Animal models of sepsis[J]. Crit Care Clin, 2009; 25(4):703-719
- [6] Tuttle K, McDonald M, Anderson E. Re-evaluating biological pharmacotherapies that target the host response during sepsis[J]. Int J Mol Sci. 2019; 20:23
- [7] Panaro MA, Gagliardi n, SaPonaro C, et al. Toll-like receptor 4 mediates LPS-induced release of nitric oxide and tumor necrosis factor- α by embryonal cardiomyocytes: biological significance and clinical implications in human pathology[J]. Curr Pharm Des. 2010; 16(7):766-74
- [8] Sharma A, Steven S, Bosmann M. The pituitary gland prevents shock-associated death by controlling multiple inflammatory mediators. [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019; 509(1): 188-193
- [9] Pascual-Ramirez J, Koutrouvelis A. The nitric oxide pathway antagonists in septic shock: meta-analysis of controlled clinical trials[J]. J Crit Care, 2019; 51:34-38
- [10] Levy RJ, Piel DA, Acton PD. Evidence of myocardial hibernation in the septic heart[J]. Crit Care Med, 2005; 33(12): 752-2756
- [11] HaizliP KM, Milani-nejad n, Brunello L, et al. Dissociation of calcium transients and force development following a change in stimulation frequency in isolated rabbit myocardium[J]. Biomed Res Int, 2015; 2015:468548
- [12] Gibb AA, Epstein Pn, Uchida S, et al. Exercise-induced changes in glucose metabolism promote physiological cardiac growth[J]. Circulation, 2017; 136(22):2144-2157
- [13] Xiao T, Lu Y, Fan JS, et al. Ligand entry into fatty acid binding protein via local unfolding instead of gap widening[J]. Biophys J. 2020; 118(2):396-402
- [14] Lin X, Jiang X, Cheng Q, et al. Changes of left ventricular systolic and diastolic function and the diagnostic value of B-type natriuretic peptide in patients with sepsis[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2014; 94(11):816-820
- [13] 刘国瑞, 麻洁心, 毛健, 等. 极低及超低出生体重儿支气管肺发育不良的影响因素[J]. 国际儿科学杂志, 2018; 45(10):794-798
- [14] 莫艳, 陈玉君, 韦秋芬, 等. 极低出生体重早产儿支气管肺发育不良高危因素分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2019; 15(3):320-327
- [15] Rabindran Chandran, Hemant Parakh, Ramesh J K, Prashant Reddy. Association of postnatal growth with birth weight, gestational age, sex and intrauterine growth in very low birth weight infants[J]. IJMRR, 2015; 3(2):2321-127X

(上接第487页)