

文章编号 1006-8147(2023)05-0481-06

论著

左西孟旦对脓毒症心肌损伤小鼠的保护作用及机制研究

柴鹏程¹, 韩海波¹, 胡振杰², 陈玉红²

(1.河北医科大学临床学院, 石家庄 050020; 2.河北医科大学第四医院重症医学科, 石家庄 050011)

摘要 目的:探讨左西孟旦(Levo)对脓毒症心肌损伤(SMI)小鼠心脏功能的保护作用及其作用机制。方法:清洁级雄性 C57 小鼠,体重 25~30 g,适应性饲养 1 周,腹腔注射脂多糖(LPS)复制 SMI 疾病模型。将小鼠随机分为正常对照(Control)组、SMI 组、SMI+Levo 组,共 3 组($n=6$)。心脏超声观察小鼠左室射血分数(LVEF)、左室缩短分数(LVFS)及心输出量(CO)变化,并留取小鼠静脉血和心脏组织,酶联免疫吸附法(ELISA)测定血浆肌钙蛋白 I (cTnI)、肌酸激酶(CK)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平,苏木精-伊红染色(HE)观察心脏形态学改变,电镜观察心肌组织线粒体形态及自噬小体。结果:与 Control 组相比,SMI 组的 LVEF、LVFS 及 CO 明显下降(分别为 65.96 ± 8.16 vs. 35.78 ± 4.87 , 35.87 ± 6.05 vs. 16.80 ± 2.58 , 18.19 ± 2.84 vs. 9.34 ± 1.23 , 均 $P<0.01$),血浆 cTnI (ng/mL)、CK (U/L)、TNF- α (μ g/L)、IL-1 β (μ g/L)水平明显升高(分别为 1.25 ± 0.36 vs. 6.99 ± 0.39 , 866.93 ± 378.51 vs. $5\,427.22\pm 875.23$, 58.33 ± 10.98 vs. 658.50 ± 91.87 , 32.83 ± 3.43 vs. 114.83 ± 5.98 , 均 $P<0.01$)。与 SMI 组比较,SMI+Levo 组的 LVEF、LVFS 及 CO 均明显升高(分别为 35.78 ± 4.87 vs. 45.88 ± 2.63 , 16.80 ± 2.58 vs. 24.01 ± 3.4 , 9.34 ± 1.23 vs. 14.80 ± 3.41 , 均 $P<0.01$),血浆 cTnI、CK、TNF- α 、IL-1 β 水平明显下降(分别为 6.99 ± 0.39 vs. 6.24 ± 0.46 , $5\,427.22\pm 875.23$ vs. $3\,587.67\pm 460.90$, 658.50 ± 91.87 vs. 431.00 ± 18.17 , 114.83 ± 5.98 vs. 74.70 ± 26.13 , 均 $P<0.01$)。光镜下 Control 组心肌形态学结构正常;SMI 组可见心肌纤维变性,炎细胞浸润等改变;SMI+Levo 组上述改变可见明显好转。电镜下可见 Control 组心肌细胞形态正常,心肌纤维排列整齐,线粒体形态规整;SMI 组心肌细胞可出现坏死改变,心肌纤维排列不整齐,线粒体排列紊乱,水肿,自噬小体增多;SMI+Levo 组上述病理改变有明显好转。结论:Levo 对 SMI 小鼠具有心脏保护作用,其机制可能是通过减轻炎症反应、改善线粒体功能发挥作用。

关键词 脓毒症;脓毒症心肌损伤;左西孟旦;心脏;线粒体

中图分类号 R961

文献标志码 A

Protective effect and mechanism of Levosimendan on sepsis induced myocardial injury in mice

CHAI Peng-cheng¹, HAN Hai-bo¹, HU Zhen-jie², CHEN Yu-hong²

(1. Clinical College, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050020, China; 2. Department of critical care medicine, The Fourth Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract **Objective:** To investigate the protective effect of Levosimendan (Levo) on cardiac function in septic myocardial injury (SMI) mice and its mechanism. **Methods:** Clean grade male C57 mice, weighing 25–30 g, were fed adaptively for one week, and intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS) was used to make sepsis myocardial injury disease model. The mice were randomly divided into three groups ($n=6$): control group, SMI group, and SMI+Levo group. The changes of left ventricular ejection fractions (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS) and cardiac output (CO) in mice were observed by echocardiography, and venous blood and cardiac tissue were collected. Plasma cardiac troponin I (cTnI), creatine kinase (CK) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Hematoxylin eosin staining (HE) was used to observe the morphological changes of the heart, and electron microscopy was used to observe the morphology of myocardial mitochondria and autophagosomes. **Results:** Compared with the control group, LVEF, LVFS and CO in SMI group decreased significantly (65.96 ± 8.16 vs. 35.78 ± 4.87 , 35.87 ± 6.05 vs. 16.80 ± 2.58 , 18.19 ± 2.84 vs. 9.34 ± 1.23 , respectively, all $P<0.01$). Plasma cTnI (ng/mL), CK (U/L), TNF- α (μ g/L), IL-1 β (μ g/L) level increased significantly (1.25 ± 0.36 vs. 6.99 ± 0.39 , 866.93 ± 378.51 vs. $5\,427.22\pm 875.23$, 58.33 ± 10.98 vs. 658.50 ± 91.87 , 32.83 ± 3.43 vs. 114.83 ± 5.98 , respectively, all $P<0.01$). Compared with SMI group, LVEF, LVFS and CO in SMI+Levo group increased significantly (35.78 ± 4.87 vs. 45.88 ± 2.63 , 16.80 ± 2.58 vs. 24.01 ± 3.4 , 9.34 ± 1.23 vs. 14.80 ± 3.41 , respectively, all $P<0.01$), plasma level of cTnI, CK, TNF- α , IL-1 β were significantly decreased (6.99 ± 0.39 vs. 6.24 ± 0.46 , $5\,427.22\pm 875.23$ vs. $3\,587.67\pm 460.90$, 658.50 ± 91.87 vs. 431.00 ± 18.17 , 114.83 ± 5.98 vs. 74.70 ± 26.13 , respectively, all $P<0.01$). Myocardial morphology was normal in control group under light microscope. Myocardial fibrosis and inflammatory cell infiltration were observed in SMI group. In SMI+Levo group, the above changes were obviously

基金项目 河北省高等学校大学生创新创业训练项目(S202113415013)

作者简介 柴鹏程(2001–),男,学士在读,研究方向:脓毒症;韩海波(1999–),男,学士在读,研究方向:脓毒症;通信作者:陈玉红, E-mail: 272409990@qq.com。

improved. Under electron microscope, the morphology of myocardial cells in control group was normal, the myocardial fibers were arranged orderly, and the morphology of mitochondria was regular. Myocardial cells in SMI group showed necrosis, irregular arrangement of myocardial fibers, disordered arrangement of mitochondria, edema, and increased autophagosomes. In SMI+Levo group, the above pathological changes were obviously improved. **Conclusion:** Levosimendan has a cardioprotective effect on SMI mice, and its mechanism may be through reducing inflammatory reaction and improving mitochondrial function.

Key words sepsis; SMI; Levosimendan; heart; mitochondria

脓毒症是指机体对感染反应失调引起的器官功能障碍的一种疾病,常可危及生命,是重症医学常见的急危重症,病死率高达 30%^[1]。脓毒症心肌损伤(septic myocardial injury, SMI)是导致脓毒症患者死亡的主要原因之一。根据研究调查结果显示,脓毒症患者会出现不同程度的心肌损伤,其中 40%~50%的患者出现心肌抑制,7%左右的患者出现心力衰竭,未合并心脏损伤患者病死率约为 20%,合并心脏损伤患者死亡率大于 70%^[2]。

SMI 的发病机制目前并未完全阐明,大量动物实验研究证实,炎症、氧化应激以及心肌细胞线粒体能量代谢障碍是 SMI 进而影响心肌功能的主要原因^[3]。左西孟旦(levosimendan, Levo)是一种钙离子增敏剂,具有良好的正性肌力和扩血管功能。此外,Levo 还显示出其他重要的非正性肌力作用,包括抗氧化、抗炎和抗凋亡作用。临床研究证实,Levo 可通过改善心力衰竭患者线粒体氧化平衡,达到心脏保护作用^[4]。由此笔者提出假设,Levo 可能会通过影响 SMI 小鼠的心肌细胞线粒体功能进而发挥心脏保护作用,本实验进一步研究 Levo 对 SMI 的作用机制,以期对其临床应用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组及给药 清洁级雄性 C57 小鼠,体重 25~30 g,由北京维通利华公司提供。适应性饲养 1 周,随机分为 Control 组、SMI 组、SMI+Levo 组,每组 6 只。自由进食和饮水 1 周。SMI 组腹腔注射脂多糖(LPS)(10 mg/kg),SMI+Levo 组在给予 LPS 后 3 h 腹腔注射 Levo(24 μ g/kg),SMI 组在给予 LPS 后 3 h 腹腔注射同等剂量生理盐水,Control 组在 0、3 h 腹腔注射同等剂量生理盐水。腹腔注射 LPS 后,SMI 组与 SMI+Levo 组小鼠均出现毛发竖立、精神萎靡等脓毒症表现,而 Control 组无上述表现。所有实验均在河北医科大学第四医院动物实验中心完成,经过河北医科大学第四医院实验动物伦理委员会授予的项目许可(2020002)。

1.2 心脏超声测定 6 h 测定小鼠心脏功能,腹腔注射 10%水合氯醛(350 mg/kg)麻醉,胸前区脱毛,使用 VEVO2100 超声设备(VisualSonics 公司)获取

经胸二维 M 型超声心动图,反复测量 3 次,选取 3 个连续心动周期,测量计算得出左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)、缩短分数(left ventricular fractional shortening, LVFS)及心输出量(cardiac output, CO)。

1.3 血及组织标本的采集与处理 超声测量完毕后摘眼球取血处死小鼠,留取的标本中加入抑肽酶 20 μ L、10%EDTA-Na 15 μ L,4℃ 3 000 r/min,离心 15 min,取上清液-80℃保存;快速留取小鼠心脏,生理盐水冲洗干净后放入 4%甲醛固定液中保存,待 HE 染色后于光镜下观察心肌组织形态学改变。留取部分左心室放入 4%戊二醛固定,待电镜观察。

1.4 检查指标及方法

1.4.1 血浆肌钙蛋白 I (cTnI)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)水平测定 酶联免疫吸附法(enzyme linked immune sorbent assay, ELISA)测定血浆中 cTn I、CK、TNF- α 、IL-1 β 水平,药盒购自北京欣博盛生物科技有限公司,具体操作步骤按照说明书进行。

1.4.2 苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)观察心脏组织形态学改变 心肌组织在 4%多聚甲醛中室温固定 48 h,石蜡包埋,切片,HE 染色,在光学显微镜下观察(DM3000 LED, Wetzlar, 德国)。根据 Kishimoto 方法^[5]对每组小鼠心肌病理变化进行评分,即每张切片选取 5 个高倍视野,从炎性细胞浸润和心肌变性坏死两方面观察病变情况,计算每个视野中炎性浸润和坏死区域面积与整个视野的面积之比,无病变计 0 分,<25%计 1 分,25%~50%计 2 分,50%~75%计 3 分,>75%计 4 分。

1.4.3 透射电子显微镜观察心脏组织线粒体改变 取出经 4%戊二醛固定的心脏组织,经脱水、包埋、切片及染色后,在电镜下(HT7800/HT7700, 东京,日本)观察,采集不同倍数下心肌组织中线粒体形态及自噬小体图像并留存。

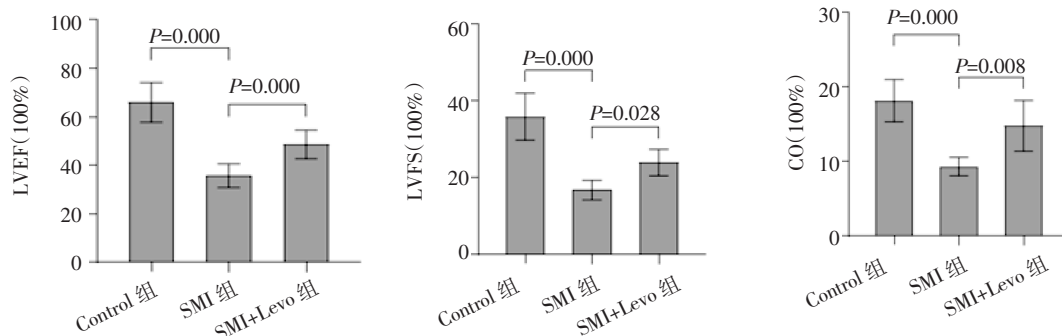
1.5 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件包,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多个样本均数间比较采用单因素方差(ANOVA)分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠心脏功能指标变化 与 Control 组相比, SMI 组小鼠心脏功能指标 LVEF、LVFS 及 CO 均明显降低(分别为 65.96 ± 8.16 vs. 35.78 ± 4.87 , 35.87 ± 6.05 vs. 16.80 ± 2.58 , 18.19 ± 2.84 vs. 9.34 ± 1.23 , 均 $P < 0.05$);

与 SMI 组相比, SMI+Levo 组 LVEF、LVFS 及 CO 差异有统计学意义,三者均明显升高(分别为 35.78 ± 4.87 vs. 45.88 ± 2.63 , 16.80 ± 2.58 vs. 24.01 ± 3.4 , 9.34 ± 1.23 vs. 14.80 ± 3.41 , 均 $P < 0.05$), 见图 1。

2.2 小鼠心肌损伤指标变化 与 Control 组相比,



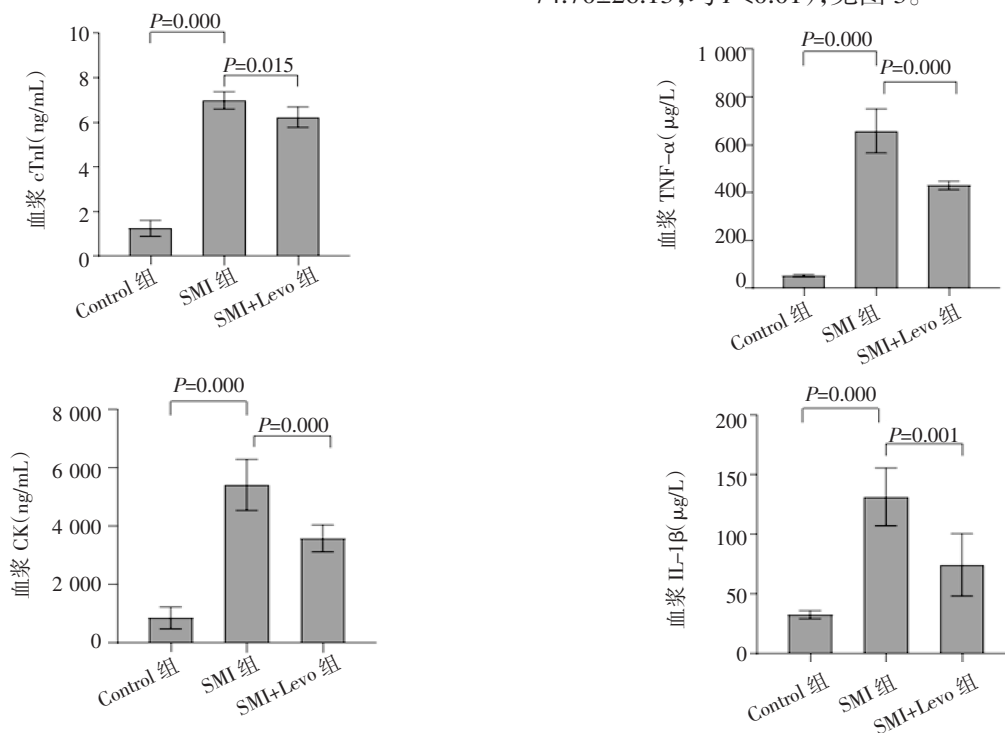
注: LVEF: 左室射血分数; LVFS: 左室缩短分数; CO: 心输出量; Control: 空白对照组; SMI: 脓毒症心肌损伤组; SMI+Levo: 左西孟旦治疗组

图 1 入组后 6 h 各组小鼠 LVEF、LVFS、CO 水平变化

Fig 1 Changes in LVEF, LVFS, and CO levels of mice in each group 6 hours after grouping

SMI 组小鼠心肌损伤指标 cTnI、CK 均明显升高 (1.25 ± 0.36 vs. 6.99 ± 0.39 , 866.93 ± 378.51 vs. 5427.22 ± 875.23 , 均 $P < 0.05$); 与 SMI 组相比, SMI+Levo 组小鼠 cTnI、CK 均明显降低(分别为 6.99 ± 0.39 vs. 6.24 ± 0.46 , 5427.22 ± 875.23 vs. 3587.67 ± 460.90 , 均 $P < 0.05$), 见图 2。

2.3 小鼠血浆炎症因子水平变化 与 Control 组相比, SMI 组小鼠的血浆 TNF- α ($\mu\text{g/L}$)、IL-1 β ($\mu\text{g/L}$) 水平均显著升高 (58.33 ± 10.98 vs. 658.50 ± 91.87 , 32.83 ± 3.43 vs. 114.83 ± 5.98 , 均 $P < 0.01$); 与 SMI 组比较, SMI+Levo 组小鼠 TNF- α 、IL-1 β 水平均明显降低 (658.50 ± 91.87 vs. 431.00 ± 18.17 , 114.83 ± 5.98 vs. 74.70 ± 26.13 , 均 $P < 0.01$), 见图 3。



注: cTnI: 血浆肌钙蛋白 I; 血浆 CK: 血浆肌酸激酶; Control: 空白对照组; SMI: 脓毒症心肌损伤组; SMI+Levo: 左西孟旦治疗组

图 2 入组后 6 h 各组小鼠血浆 cTnI、CK 水平变化

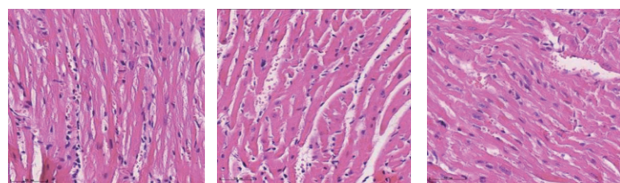
Fig 2 Changes in plasma cTnI and CK levels of mice in each group 6 hours after grouping

注: TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-1 β : 白细胞介素-1 β ; Control: 空白对照组; SMI: 脓毒症心肌损伤组; SMI+Levo: 左西孟旦治疗组

图 3 入组后 6 h 各组小鼠血浆 TNF- α 、IL-1 β 水平

Fig 3 Plasma TNF- α and IL-1 β levels of mice in each group 6 hours after grouping

2.4 小鼠心肌组织形态学变化 Control 组小鼠心肌组织形态结构正常;SMI 组小鼠出现心肌纤维排列不规整,部分心肌纤维断裂,横纹模糊甚至消失,间质出血水肿,炎性细胞浸润等改变;与 SMI 组相比,SMI+Levo 组小鼠心肌损伤有所好转,见图 4。与 Control 组相比,SMI 组小鼠心肌组织病理评分明显升高($P<0.05$);SMI +Levo 组与 SMI 组相比,病理学评分虽无统计学差异,但有下降趋势,见图 5。

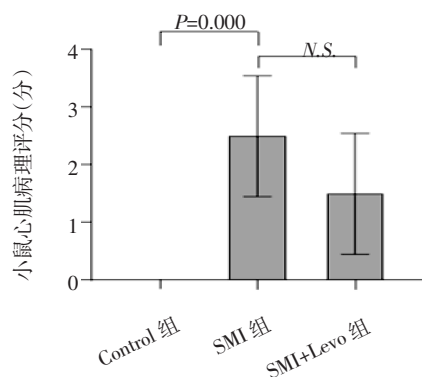


Control 组 SMI 组 SMI+Levo 组

注:Control:空白对照组;SMI:脓毒症心肌损伤组;SMI+Levo:左西孟旦治疗组

图 4 入组后 6 h 各组小鼠心肌组织形态学改变(HE,40×)

Fig 4 Morphological changes in myocardial tissue of mice in each group 6 hours after grouping (HE,40×)

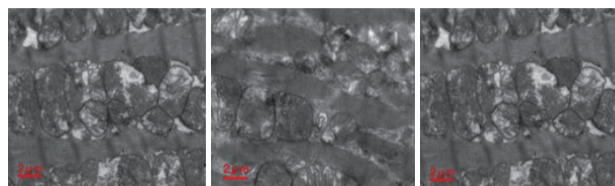


注:Control:空白对照组;SMI:脓毒症心肌损伤组;SMI+Levo:左西孟旦治疗组

图 5 入组后 6 h 各组小鼠心肌病理变化评分

Fig 5 Score of myocardial pathological changes of mice in each group 6 hours after grouping

2.5 小鼠心肌组织线粒体形态改变 Control 组小鼠心肌细胞线粒体形态规整;SMI 组小鼠心肌细胞线粒体排列紊乱、水肿、线粒体嵴减少,偶见空泡变性,排列不整齐,肌丝束分离,Z 线扭曲,间距缩短,自噬小体增多;SMI+Levo 组与 SMI 组相比,心肌组织线粒体损伤有所好转,见图 6。



Control 组 SMI 组 SMI+Levo 组

注:Control:空白对照组;SMI:脓毒症心肌损伤组;SMI+Levo:左西孟旦治疗组

图 6 入组后 6 h 各组小鼠心肌组织线粒体形态改变

Fig 6 Morphological changes of mitochondria in myocardial tissue of mice in each group 6 hours after grouping

3 讨论

脓毒症是临床上最为常见的急危重症,近年来其发病率逐年升高,已成为重症患者死亡的主要原因。据研究调查显示,每年约有脓毒症患者 3 000 万例,死亡人数高达 600 多万^[6]。SMI 是脓毒症最严重和致命的并发症之一。

SMI 的作用机制目前尚在研究当中,据已有的研究证实,SMI 的作用机制包括:(1)促炎/抗炎反应失调^[7]。(2)细胞凋亡^[8]。(3)氧化应激^[9]。(4)线粒体功能障碍^[10]等。但确切机制尚未完全阐明。

研究表明,脓毒症或脓毒症休克患者可以发生左心室收缩功能障碍^[11]。LVEF、LVFS 及 CO 是反映心脏收缩功能较好的指标。在脓毒症发展过程中,多种原因会导致微循环毛细血管通透性改变,使血管容量减少^[12]。SMI 时,心脏超声显示 LVEF、LVFS 及 CO 显著下降。本实验研究结果也证明,SMI 组 LVEF、LVFS 及 CO 明显低于 Control 组,提示腹腔注射 LPS 后,脓毒症小鼠存在左室收缩功能障碍。SMI+Levo 组与 LPS 组相比,LVEF、LVFS 及 CO 的升高具有统计学意义,提示 Levo 可显著改善小鼠左室收缩功能。

cTnI、CK 是观察心肌损伤的重要生物标志物。cTnI 大部分以结合蛋白的形式固定在肌原纤维上,当心肌细胞受到损害时,游离状态的 cTnI 会首先进入到细胞外液的血液循环中,浓度越高,反映心肌损伤越严重^[13]。CK 主要存在于心肌细胞线粒体和胞质中,参与细胞能量转运、肌肉收缩及 ATP 的再生^[14]。近年来认为心肌线粒体膜肿胀、通透性增加、线粒体释放相关凋亡蛋白等是导致脓毒症心力衰竭的主要机制^[15],因此在 SMI 小鼠中 cTnI、CK 的水平明显升高。本实验结果进一步证实,在腹腔注射 LPS 6 h 后,SMI 组小鼠 cTnI、CK 水平明显升高,SMI+Levo 组相较于 SMI 组,cTnI 与 CK 水平明显下降。由此可见,Levo 可减轻 SMI 小鼠的心肌损伤,机制可能为 Levo 直接与 cTnI 的氨基末端结合,增强 cTnI 与钙离子复合物的构象稳定性和维持线粒体的稳定性^[16-17]。

促炎/抗炎反应失调在脓毒症发展过程中也发挥了非常重要的作用。TNF- α 是首先被证实脓毒症炎症瀑布中起重要作用的细胞因子^[18]。TNF- α 与心肌细胞上的受体结合,影响心肌收缩时钙离子流动,出现心肌收缩功能障碍。IL-1 β 在脓毒症感染模型中也常见升高,产生心肌抑制因子。此外,TNF- α 与 IL-1 β 间存在正反馈,也可促进多种促炎细胞因子的产生^[19]。本实验可见,SMI 组小鼠血浆 TNF- α 、IL-1 β 水平显著升高,提示 SMI 小鼠存在炎症反应失

调。SMI+Levo 组与 SMI 组相比,血浆 TNF- α 、IL-1 β 水平显著下降,证实 Levo 有抗炎作用,可能通过抑制 SMI 小鼠炎症级联反应进而减轻心肌损伤。从心肌组织形态学来看,SMI 组小鼠出现心肌纤维排列不规整,部分心肌纤维断裂,横纹模糊甚至消失,间质出血水肿,炎性细胞浸润等改变。SMI+Levo 组小鼠心肌组织病理评分有好转趋势,但无明显的统计学差异,可能与样本量较小有关。

脓毒症还可以引起线粒体损伤与功能障碍^[20]。脓毒症会导致体液大量丢失,组织严重缺氧,刺激体内一氧化氮(NO)、活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)过量生成,导致线粒体氧化应激水平升高,ATP 生成减少^[21],线粒体能量代谢障碍,功能异常。此外,LPS 也可诱导 NO 合酶生成,使 NO 过量产生。脓毒症患者外周血中的白细胞在抗炎过程中损伤线粒体内膜,线粒体氧化应激与内膜损伤互为正反馈,加速线粒体损伤^[22]。在 TNF- α 等细胞因子和氧化应激的共同作用下,线粒体内外钙离子稳态失衡,大量钙离子流入线粒体内,形成“钙超载”。钙超载使线粒体通透性转换孔(permeability transition pore, PTP)呈高通透、持续开放状态,线粒体肿胀、结构破坏^[23],加速线粒体氧化应激和能量代谢障碍^[24]。此外,脓毒症导致线粒体损伤的机制还包括:(1)线粒体呼吸链及内膜损伤^[25]。(2)线粒体 DNA 损伤与突变^[26]。(3)线粒体解耦联^[27]。(4)线粒体分裂、融合及生物发生异常^[28]。(5)线粒体自噬^[29]等。本实验通过电镜观察心肌细胞线粒体形态发现:SMI 组小鼠线粒体排列紊乱,大量线粒体嵴减少、空泡变性,这是线粒体损伤的标志。SMI+Levo 组线粒体损伤明显减轻,证明 Levo 可改善 SMI 小鼠心肌细胞的线粒体损伤进而达到保护心脏功能的目的。

综上所述,SMI 的病理发展过程是损害心肌细胞与线粒体结构,进而影响心脏收缩功能。之前研究证实 Levo 对心力衰竭患者的心功能有着明显的保护作用^[30]。本结果再次证实,Levo 可以有效改善 SMI 小鼠的心功能,可能与通过抑制炎症减轻线粒体损伤有关。这将为改善 SMI 患者治疗方案,延长患者的生存时间和生活质量提供有效依据。但是,本实验仍具有一定局限性,动物实验不能完全代替临床,需要更多随机对照实验或真实世界研究的证据支持。

参考文献:

- [1] 徐静媛,邱海波.脓毒症治疗的现状与展望[J].国际流行病学传染病学杂志,2021,48(4):259-262.
- [2] 周淑清,沈涛.高敏肌钙蛋白水平与脓毒症心肌损伤严重程度及脓毒症预后的关系[J].临床急诊杂志,2018,19(9):46-49.
- [3] 王凤新,张博,白秀萍.脓毒症心肌损伤机制研究进展[J].内科急

危重症杂志,2018,24(5):437-440.

- [4] GROSSINI E,FARRUGGIO S,PIERELLI D,et al. Levosimendan improves oxidative balance in cardiogenic shock/low cardiac output patients[J]. J Clin Med,2020,9(2):373.
- [5] KISHIMOTO C,KAWAMATA H,SAKAI S,et al. Enhanced production of macrophage inflammatory protein 2 (MIP-2) by *in vitro* and *in vivo* infections with encephalo-mycarditis virus and modulation of myocarditis with an antibody against MIP-2[J]. Virol,2001,75(3):1294-1300.
- [6] 王颖骅,何奔.脓毒症型心肌病的研究进展[J].心血管病学进展,2019,40(8):1150-1153.
- [7] 张何为,崔晓旭,方涛,等.人脐带间充质干细胞对脓毒症大鼠的免疫干预研究[J].中华危重病急救医学,2017,29(8):705-710.
- [8] KIM S,LEE J D,KIM B K,et al. Association between left ventricular systolic dysfunction and mortality in patients with septic shock[J].J Korean Med Sci,2020,35(4):e24.
- [9] 彭帅,周丽华.氧化应激在脓毒性心脏病中作用机制的研究进展[J].中华危重病急救医学,2022,34(12):1337-1341.
- [10] 赵志伶,樊巧鹰,汪宗昱,等.脓毒症心肌抑制的临床表现及发病机制研究进展[J].中华危重病急救医学,2014,26(7):525-528.
- [11] PALMIERI V,INNOCENTI F,GUZZO A,et al. Left ventricular systolic longitudinal function as predictor of outcome in patients with sepsis[J].Circ Cardiovasc Imaging,2015,8(11):e003865.
- [12] HAWIGER J,VEACH R A,ZIENKIEWICZ J,et al. New paradigms in sepsis: from prevention to protection of failing microcirculation[J]. J Thromb Haemost,2015,13(10):1743-1756.
- [13] 李霞.肌钙蛋白 I、CK-MB 和 C 反应蛋白和降钙素原对判断脓毒症患者心肌损伤的价值[J].医药前沿,2017,21(7):184-185.
- [14] 吴红丹,胡益蓉.心肌钙蛋白、肌酸激酶、总胆固醇及同型半胱氨酸的检测在心血管疾病诊断中的应用价值[J].标记免疫分析与临床,2019,26(4):671-674.
- [15] 思飞,张玲,李盼,等.脓毒症心肌细胞凋亡的线粒体机制研究进展[J].中国医药导报,2020,17(2):44-47.
- [16] 姜亦瑶,李新亚,陈洪磊.左西孟旦治疗脓毒症休克合并心力衰竭患者的疗效分析[J].哈尔滨医科大学学报,2018,52(3):267-269.
- [17] 兰蕴平,于佳,刘蓉安.左西孟旦在脓毒症诱导急性心力衰竭患者中的应用研究[J].实用药物与临床,2018,21(12):49-52.
- [18] 董智曼,童朝阳,姚晨玲,等.脓毒症患者细胞因子动态变化和免疫状态分型[J].中华急诊医学杂志,2017,26(2):149-154.
- [19] LEWIS D H,CHAN D L,PINHEIRO D,et al. The immunopathology of sepsis: pathogen recognition systemic inflammation the compensatory anti-inflammatory response, and regulatory T cells[J].J Vet Intern Med,2012,26(3):457-482.
- [20] ARULKUMARAN N,POLLEN S,GRECO E,et al. Renal tubular cell mitochondrial dysfunction occurs despite preserved renal oxygen delivery in experimental septic acute kidney injury[J].Crit Care Med,2018,46(4):e318-e325.
- [21] Galley H F. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis[J]. Br J Anaesth,2011,107(1):57-64.
- [22] 李宁,张琪.脓毒症线粒体损伤研究进展[J].中国临床医师杂志,2014,8(19):3525-3530.
- [23] KANT M,KL M,QALAN M,et al. Elevated urinary levels of 8-oxo-2,deoxyguanosine, (5'R)-and(5's)-8,5-cyclo-2'-deoxyadenosines,

(下转第 513 页)

- 散的影响[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2018, 28(12): 683–688.
- [9] JAKUBOVICS N S, GOODMAN S D, MASHBURN-WARREN L, et al. The dental plaque biofilm matrix[J]. *Periodontol*, 2000, 2021, 86(1): 32–56.
- [10] WANG Y, DENG J, ZHANG T, et al. A study on the use of phase transition lysozyme-loaded minocycline hydrochloride in the local treatment of chronic periodontitis[J]. *Acs Appl Bio Mater*, 2022, 5(7): 3146–3157.
- [11] CHOO S W, MOHAMMED W K, MUTHA N, et al. Transcriptomic responses to coaggregation between streptococcus gordonii and streptococcus oralis[J]. *Appl Environ Microb*, 2021, 87(22): e155821.
- [12] BRENNAN C A, GARRETT W S. *Fusobacterium nucleatum*—sym-biont, opportunist and oncobacterium[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(3): 156–166.
- [13] BREGAINT S, BOYER E, FONG S B, et al. *Porphyromonas gingivalis* outside the oral cavity[J]. *Odontology*, 2022, 110(1): 1–19.
- [14] BROWN A C, BOESZE-BATTAGLIA K, BALASHOVA N V, et al. Membrane localization of the repeats-in-toxin(Rtx) leukotoxin(Ltxa) produced by *aggregatibacter actinomycetemcomitans*[J]. *PloS One*, 2018, 13(10): e205871.
- [15] CHEN Q, YAN W, GENG N. The efficacy of minocycline hydrochloride combined with multiple antibiotic paste in elderly patients with chronic periodontitis and concomitant pulp lesions[J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2022, 2022: 7604741.
- [16] 杨世缘, 胡月, 周宇宁, 等. 褪黑素在牙周炎诊治中的研究进展[J]. *口腔医学*, 2021, 41(3): 259–264.
- [17] TEK BAS O F, OGUR R, KORKMAZ A, et al. Melatonin as an antibiotic: new insights into the actions of this ubiquitous molecule[J]. *J Pineal Res*, 2008, 44(2): 222–226.
- [18] KARATAN E, WATNICK P. Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms[J]. *Microbiol Mol Biol*, 2009, 73(2): 310–347.
- [19] HE F, WU X Y, ZHANG Q Z, et al. Bacteriostatic potential of melatonin: therapeutic standing and mechanistic insights[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 683879.

(2023-02-20 收稿)

(上接第 485 页)

- and 8-iso-prostaglandin F₂alpha as potential biomarkers of oxidative stress in patients with prediabetes[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2016, 48(1): 7.
- [24] PROVOST C, CHOUFANI F, AVEDANIAN L, et al. Nitric oxide and reactive oxygen species in the nucleus revisited[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2010, 88(3): 296–304.
- [25] GHANTA S, TSOYI K, LIU X, et al. Mesenchymal stromal cells deficient in autophagy proteins are susceptible to oxidative injury and mitochondrial dysfunction[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 56(3): 300–309.
- [26] NAKAHIRA K, HISATA S, CHOI A M. The roles of mitochondrial damage associated molecular patterns in diseases[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 23: 1329–1350.
- [27] DANDO I, FIORINI C, POZZA E D, et al. UCP2 inhibition triggers ROS-dependent nuclear translocation of GAPDH and autophagic cell death in pancreatic adenocarcinoma cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(3): 672–679.
- [28] 肖雅文, 王毅, 潘鹏飞, 等. 脓毒症线粒体损伤的研究进展[J]. *新疆医学*, 2019, 49(3): 225–229.
- [29] LV M, WANG C, LI F, et al. Structural insights into the recognition of phosphorylated FUNDC1 by LC3B in mitophagy[J]. *Protein Cell*, 2017, 8(1): 25–38.
- [30] 曹洪兵. 左西孟旦治疗心力衰竭的疗效评价[J]. *中国现代药物应用*, 2022, 16(13): 107–109.

(2023-02-28 收稿)