

严重烫伤合并铜绿假单胞菌脓毒症家兔外周血淋巴细胞蛋白质组学的研究

曾纪章 张丕红 李莉莉 任利成 梁鹏飞 黄晓元

【摘要】 目的 研究烫伤脓毒症时外周血淋巴细胞蛋白质组的变化特点。方法 24 只雄性成年家兔被随机分为对照组、烫伤组、烫伤脓毒症 2 h 和 6 h 组, 每组 6 只。采用 30% 总体表面积(TBSA) III 度烫伤模型, 烫伤后 24 h 经耳缘静脉注射铜绿假单胞菌悬液(ATCC 27853, 浓度 6×10^{12} cfu/L) 1 ml/kg 制备烫伤脓毒症模型; 对照组用 37 °C 温水进行假烫伤。烫伤组于伤后 24 h、烫伤脓毒症组于注射菌液后 2 h 和 6 h 取颈动脉血分离淋巴细胞, 裂解细胞, 提取总蛋白, 用双向凝胶电泳分离蛋白质, 考马斯亮蓝染色, 扫描、分析图像并筛选差异蛋白质点(判断差异的标准为平均表达量相差超过 3 倍, 由本课题组设定)。应用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱分析方法得到肽质量指纹图谱, 利用 Mascot 软件搜索数据库鉴定蛋白质。结果 对照组、烫伤组、烫伤脓毒症 2 h 和 6 h 组平均蛋白质点数分别为 $1\ 051 \pm 21$ 、 $1\ 026 \pm 30$ 、 $1\ 078 \pm 36$ 、 $1\ 065 \pm 31$, 平均匹配率分别为 91%、89%、92%、94%。烫伤脓毒症 2 h 与 6 h 组间各蛋白质点表达量无差异; 与对照组比较, 烫伤组、烫伤脓毒症 2 h 和 6 h 组共筛选出 19 个差异蛋白质点, 得到鉴定的有 12 个, 包括 11 种蛋白质, 即 Cofilin、肽酰-脯氨酸-顺反式异构酶溶质蛋白 A、泛素、核苷二磷酸激酶、谷氨酸脱氢酶、硒结合蛋白 I、 β -肌动蛋白、过氧化物氧化还原酶 6、膜联蛋白 I、肌动蛋白-3、细胞视黄酸结合蛋白。结论 严重烫伤并脓毒症时外周血淋巴细胞蛋白质组发生变化, 表达改变并经鉴定的 11 种蛋白质功能涉及蛋白质折叠、装配、运输、降解, 以及胞内信号传递、炎症、免疫、能量代谢、细胞增殖、分化、凋亡等, 这些蛋白质与烧伤后脓毒症的发生有关。

【关键词】 兔; 烧伤; 脓毒症; 铜绿假单胞菌; 淋巴细胞; 蛋白质组

Proteomic study of peripheral blood lymphocytes of rabbits with severe burn and Pseudomonas aeruginosa sepsis ZENG Ji-zhang, ZHANG Pi-hong, LI Li-li, REN Li-cheng, LIANG Peng-fei, HUANG Xiao-yuan. Department of Plastic Surgery and Burns, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan, China

【Abstract】 Objective To study the effect of severe burn and Pseudomonas aeruginosa sepsis on the proteomics of lymphocytes (LCs) of rabbits. **Methods** Twenty-four rabbits were divided into four groups, i.e. control, severe scald, severe sepsis and 2-hour sepsis, severe scald and 6-hour sepsis (6 rabbits in each group). The scald in rabbits was third degree in depth involving 30% of total body surface area (TBSA). The sepsis model was reproduced by intravenous injection of a suspension of Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853, 6×10^{12} cfu/L) 1 ml/kg 24 hours after scald. The rabbits in control group were treated with warm water of 37 °C. Peripheral blood was obtained from the carotid artery 24 hours after scald, or 2 hours after sepsis, or 6 hours after sepsis. The LCs in each blood sample were separated, disrupted and the total proteins of LCs were extracted. The proteins were separated by two dimensional gel electrophoresis. The gels were stained with Coomassie brilliant blue and then were scanned. The images were analyzed by PD quest software. The protein spots of discrepant expression were sieved and then analyzed by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). The peptide mass fingerprintings (PMFs) were obtained and were inputted into the data bank of proteins for identification of the proteins. **Results** The average spots of 6 gels were $1\ 051 \pm 21$ (control), $1\ 026 \pm 30$ (severe scald), $1\ 078 \pm 36$ (2-hour sepsis) and $1\ 065 \pm 31$ (6-hour sepsis), and the average matching rate were 91% (control), 89% (severe scald), 92% (2-hour sepsis) and 94% (6-hour sepsis), respectively. No difference was found in the protein expression of LCs between 2-hour sepsis group and 6-hour sepsis group, but the protein expression of LCs in severe scald group, 2-hour sepsis group and 6-hour sepsis group differed when compared with control group. Nineteen protein spots expressed discrepantly were sieved and their PMFs were obtained. Twelve protein spots (including 11 proteins) were identified, including Cofilin, peptidyl-prolyl cis-trans isomerase cyclophilin A, ubiquitin, nucleoside diphosphate kinase, glutamate dehydrogenase, selenium binding protein I, β -actin, peroxiredoxin-6, annexin I, actin-3, cellular retinoic-acid binding protein. **Conclusion** The proteomics of peripheral blood LCs alters in rabbits with severe burn and Pseudomonas aeruginosa sepsis. The proteins with discrepant expression included 11 proteins, which are related with the folding, assembling, transportation and degradation of proteins, signal transmission, inflammation, immunization, energy metabolism, the proliferation, differentiation and apoptosis of cells. These proteins might be associated with the pathogenesis of severe burn and Pseudomonas aeruginosa sepsis.

【Key words】 rabbit; burn; sepsis; Pseudomonas aeruginosa; lymphocyte; proteome

严重烧伤后脓毒症的发生机制未完全明了。研究发现脓毒症时中性粒细胞和淋巴细胞功能发生改变^[1-2]。蛋白质是生命活动的执行者,与细胞功能有关。研究发现,严重烧伤并脓毒症时中性粒细胞蛋白质组发生了改变^[3],由此推测,烧伤脓毒症时淋巴细胞蛋白质组也可能发生变化。本研究旨在通过建立家兔严重烫伤并铜绿假单胞菌脓毒症模型,观察外周血淋巴细胞蛋白质组的变化。

1 材料与方

本实验在卫生部肿瘤蛋白质组学重点实验室完成。

1.1 严重烫伤并脓毒症模型制备及淋巴细胞分离: 清洁级雄性成年家兔 24 只(由本校实验动物学部提供),体重 1.8~2.4 kg,按照随机数字表法分为对照组、烫伤组、烫伤脓毒症 2 h 和 6 h 组,每组 6 只。参照文献^[4-5]方法制备严重烫伤[30%总体表面积(TBSA)Ⅱ度烫伤]和严重烫伤合并铜绿假单胞菌脓毒症模型。铜绿假单胞菌悬液(ATCC 27853,本院医院感染科提供,浓度为 6×10^{12} cfu/L, 1 ml/kg)于制模当日经家兔耳缘静脉注入;补液按 Parkland 公式进行。对照组用 37℃ 温水进行假烫伤。对照组和烫伤组于伤后 24 h、烫伤脓毒症组于注射菌液后 2 h 和 6 h 经颈动脉采血,参照文献^[6]方法分离淋巴细胞,经锥虫蓝染色显示淋巴细胞成活率 > 93%;瑞氏染色显示纯度 > 95%,细胞数 > 5×10^7 个。

1.2 实验方法: 蛋白质制备参照文献^[7]第一章方法。蛋白定量按试剂盒所述方法进行,所测得样品蛋白质浓度为 4.42~5.76 g/L。双向凝胶电泳(2-DE)参照文献^[7]第二章方法,上样量为 800 μg。图像扫描与分析参照文献^[7]第二章方法。本实验中判断各蛋白质点组间表达差异的标准为平均表达量相差超过 3 倍,且同组的 6 块凝胶上各蛋白质点的表达变化趋势相同(由本课题组设定)。质谱分析参照文献^[7]第四章方法。应用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱分析,得到肽质量指纹图谱。

1.3 数据库搜索: 使用 Mascot 软件分析,设定条件:①肽片段相对分子质量为 800~4 000;②物种为兔;③胰酶;④允许漏切位点数为 1 个;⑤肽片段质量允许误差为 $\pm 200 \times 10^{-6}$;⑥表观等电点误差范围无限制;⑦表观分子质量误差范围无限制;⑧离子种

类选择[M+H]⁺和单同位素峰;⑨固定修饰为半胱氨酸碘乙酰胺化;⑩与目的蛋白吻合的肽片段数至少为 4 个。数据库为 MSDB(质谱数据库)和 NCBI(美国国立生物技术信息中心)。由于兔的蛋白质数据库很不完善,故将物种改为所有物种,鉴定标准为:①蛋白质匹配分数(probability based mowse score, PBM 积分) > 77 分;②与多个物种的同名蛋白质匹配。

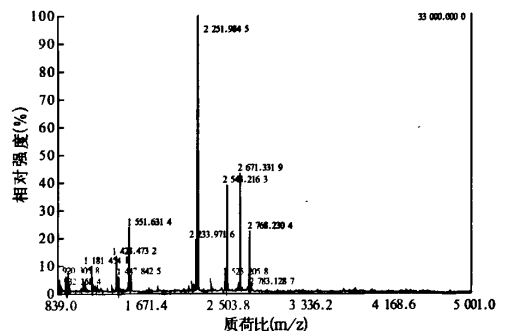
2 结果

2.1 2-DE 图谱及差异蛋白质点(表 1~2;彩色插页图 1): 各组平均蛋白质点数均在 1 000 以上,平均匹配率在 90%左右,说明各组凝胶图像间的蛋白质点具有较高的可比性。与对照组比较,烫伤组筛选出差异蛋白质点有 13 个,其中 L9、L10、L11、L13、L14、L18 表达上调,L3、L4、L8、L12、L16 表达下调,L6、L7 无表达。烫伤脓毒症 2 h、6 h 组筛选出差异蛋白质点 17 个,其中 L9、L10、L11、L13、L18 表达上调,L1、L2、L5、L12、L15、L19 表达下调,L3、L4、L6、L7、L16、L17 无表达。烫伤脓毒症 2 h、6 h 组间各蛋白质点表达量无差异。

表 1 各组家兔外周血淋巴细胞中蛋白质点数及匹配率比较

组别	动物数	蛋白质点数($\bar{x} \pm s$)	匹配率(%)
对照组	6	1 051 ± 21	91
烫伤组	6	1 026 ± 30	89
烫伤脓毒症 2 h 组	6	1 078 ± 36	92
烫伤脓毒症 6 h 组	6	1 065 ± 31	94

2.2 肽质量指纹图谱: 19 个差异蛋白质得到 19 张肽质量指纹图谱。图 2 示差异蛋白质 L19 的肽质量指纹图谱。



注:峰旁数字代表肽片断的单同位素峰[M+H]⁺的质量数

图 2 家兔外周血淋巴细胞中差异蛋白质 L19 的肽质量指纹图谱

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.08.003

基金项目:国家自然科学基金项目(30571920)

作者单位:410008 湖南长沙,中南大学湘雅医院烧伤整形外科

Email:zengjizhang6666@sina.com

表 2 鉴定的家兔外周血淋巴细胞差异蛋白质在各组中的表达情况

组别	差异蛋白质点											
	L1	L2	L5	L6	L7	L9	L10	L13	L15	L16	L18	L19
对照组	对照	对照	对照	对照	对照	对照	对照	对照	对照	对照	对照	对照
烫伤组	无变化	无变化	无变化	无表达	无表达	上调	上调	上调	无变化	下调	上调	无变化
烫伤脓毒症 2 h 组	下调	下调	下调	无表达	无表达	上调	上调	上调	下调	无表达	上调	下调
烫伤脓毒症 6 h 组	下调	下调	下调	无表达	无表达	上调	上调	上调	下调	无表达	上调	下调

表 3 鉴定的家兔外周血淋巴细胞表达差异蛋白质列表

编号	检索入路	差异蛋白质	积分 (分)	相对分 子质量	等电点 (pH 值)	搜索片断 (个)	匹配片断 (个)	符合率 (%)
L1	A29240	Cofilin	85	18 792	8.16	52	8	44
L2	PPIA RABIT AAF22215	肽酰-脯氨酰-顺反式异构酶胞溶质蛋白 A(CypA) 胞溶质蛋白 18	104	17 923	7.10	40	9	79
L5	Q8T6A1 APLCA	泛素	89	14 331	9.94	23	7	43
L6	1NUEA	核甘二磷酸激酶(NDPK)	138	17 270	8.55	47	12	84
L7	Q64H33 9PRIM	谷氨酸脱氢酶	77	56 288	6.71	91	16	36
L9	Q96GX7	硒结合蛋白 I	85	52 928	5.93	55	9	35
L10	CAA27396	β -肌动蛋白	79	39 446	5.78	47	9	41
L13	PRDX6	过氧化物氧化还原素 6	90	25 002	6.02	29	8	39
L15	AAC78495	膜联蛋白 I	193	38 996	6.28	57	19	60
L16	PPIA RABIT AAF22215	CypA 胞溶质蛋白 18	84	17 923	7.10	30	7	73
L18	A03000	肌动蛋白-3	80	34 238	5.44	25	7	36
L19	RJBOA	细胞视黄酸结合蛋白(CRABP)	224	15 753	5.30	38	15	82

2.3 数据库搜索:19 张肽质量指纹图谱经数据库搜索后得到 19 个 PBM 积分分布图(图 3),PBM 积分为 224 分,远远超出阴影区,表示得到鉴定。有 12 个蛋白质点得到鉴定,包括 11 种蛋白质,其中差异蛋白质点 L2 和 L16 经鉴定属于同一种蛋白质,均为 CypA。其余未得到鉴定的蛋白质点可能与数据库不完善、误差及肽质量指纹图谱数据质量有关。表 2~3 分别为鉴定的差异蛋白质列表及其在各组中的表达情况。

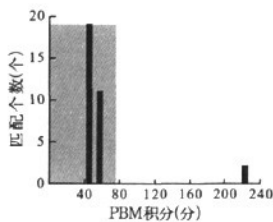


图 3 家兔外周血淋巴细胞中差异蛋白质 L19 的 PBM 积分图

3 讨论

脓毒症发生与白细胞功能障碍有关,脓毒症时中性粒细胞变形、趋化迁移及吞噬杀菌等能力均降低^[1,8],淋巴细胞数量减少、促炎/抗炎因子表达失衡、白细胞抗原表达降低、细胞凋亡增加^[9-13]。铜绿假单胞菌是烧伤脓毒症的主要致病菌之一。研究发

现,中性粒细胞内蛋白质二硫键异构酶、 β -肌动蛋白、膜联蛋白 I 及巯基特异性抗氧化蛋白等与烧伤后铜绿假单胞菌脓毒症有关^[3]。推测淋巴细胞内也有与烧伤后铜绿假单胞菌脓毒症相关的蛋白质。

本研究中通过建立家兔外周血淋巴细胞蛋白质 2-DE 图谱,筛选出组间差异蛋白质点 19 个,其中 12 个得到鉴定。结果显示,烫伤脓毒症 2 h 和 6 h 组间各蛋白质点表达量无显著差异,原因可能为 2 h、6 h 均属脓毒症早期,而蛋白质表达短期内变化不大。共鉴定出了 11 种蛋白质,选择 CypA、泛素、NDPK、膜联蛋白 I 和 CRABP 进行检索,分析它们对淋巴细胞功能的影响。

CypA 是一种胞质蛋白,催化肽酰-脯氨酰键发生顺反式异构^[14]。CypA 在蛋白质折叠、装配、运输及胞内信号传递等过程中起重要作用^[15]。本实验中烫伤组 CypA 表达较对照组无显著差异,而烫伤脓毒症组 CypA 表达较对照组降低。由此推测,脓毒症时 CypA 表达降低影响了淋巴细胞蛋白质折叠、装配、运输及胞内信号传递,从而影响淋巴细胞合成抗体的能力,使其免疫功能受损,机体抵抗力降低。

泛素由 76 个氨基酸残基组成,存在于真核细胞中,高度保守,参与构成调节蛋白质降解的泛素-蛋白酶体系统(UPS),作用于细胞内半衰期短的调节

蛋白以及结构异常、错构或受损伤的蛋白质^[16],参与细胞周期循环、信号转导、转录调控、核酸密码翻译、DNA 损伤修复、异常蛋白代谢、抗原呈递、细胞受体功能及细胞凋亡等^[17-18]。本实验中烫伤组泛素表达与对照组无显著差异,而烫伤脓毒症组泛素表达显著降低。表明脓毒症时泛素表达降低将影响淋巴细胞的蛋白质降解功能,使淋巴细胞内相关功能的蛋白质含量发生变化,进而影响其抗原呈递、细胞受体及合成有效抗体的能力,并触发其凋亡。

NDPK 是由 152 个氨基酸组成的管理酶^[19],其催化二磷酸核苷(NDP)和三磷酸核苷(NTP)间的磷酸基转移反应,参与核苷三磷酸合成、胞内和胞间信号传递及细胞骨架微管和纺锤体的形成,并调节细胞增殖、分化、发育和凋亡^[20-21]。本实验中 NDPK 仅在对照组表达,烫伤和烫伤脓毒症组均无表达。推测烫伤或脓毒症时淋巴细胞 NDPK 表达障碍可影响淋巴细胞的能量代谢、信号转导及增殖、分化、发育和凋亡,从而影响淋巴细胞功能。

膜联蛋白 I 为钙依赖磷脂结合蛋白,与炎症、分化和信号转导有关^[22]。膜联蛋白 I 是糖皮质激素介导抗炎反应的介质,可以抑制炎症酶、促进炎症细胞凋亡,并作为“eat-me”信号被吞噬细胞识别,促进凋亡细胞、凋亡小体的清除^[23]。本实验中显示,烫伤组膜联蛋白 I 表达与对照组无显著差异,而烫伤脓毒症组则较对照组表达显著降低。结合分析膜联蛋白 I 抑制炎症反应的功能,可以认为脓毒症时膜联蛋白 I 表达降低与炎症反应失控有关。

CRABP 是视黄酸在细胞内的结合蛋白。视黄酸具有调节细胞增殖、分化及凋亡的功能。CRABP 将视黄酸携带到靶器官和组织,在视黄酸的转运和代谢中起重要作用^[24]。本实验中烫伤组 CRABP 表达与对照组比较无显著差异,而烫伤脓毒症组表达则低于对照组。因此,可以认为脓毒症时淋巴细胞 CRABP 表达降低影响了视黄酸的转运和代谢,从而影响淋巴细胞增殖、分化及凋亡,使其功能受损。

综上所述,通过研究严重烫伤合并铜绿假单胞菌脓毒症家兔外周血淋巴细胞蛋白质组的变化,得到鉴定的有 11 种差异蛋白质,功能涉及蛋白质折叠、装配、运输、降解,以及细胞内信号传递、炎症、免疫、能量代谢、细胞增殖、分化、凋亡等,这些蛋白质与烫伤后铜绿假单胞菌脓毒症的发生有关。

参考文献

[1] Dong YL, Abdullah K, Yan TZ, et al. Effect of thermal injury and sepsis on neutrophil function. *J Trauma*, 1993, 34(3): 417-

421.
 [2] Heidecke CD, Hensler T, Weighardt H, et al. Selective defects of T lymphocyte function in patients with lethal intraabdominal infection. *Am J Surg*, 1999, 178(4): 288-292.
 [3] 曾纪章, 张丕红, 李莉莉, 等. 严重烫伤合并铜绿假单胞菌脓毒症影响家兔外周血中性粒细胞的蛋白质组学研究. *中华急诊医学杂志*, 2008, 17(2): 123-127.
 [4] 陈劲松, 肖光夏, 袁建成. 大鼠烧伤休克延迟复苏肠道微血流量的改变及其与细胞移位的关系. *中华烧伤杂志*, 2000, 16(2): 82-84.
 [5] 李红云, 姚咏明, 施志国, 等. 烫伤后金黄色葡萄球菌感染致严重脓毒症大鼠模型的建立. *中国危重病急救医学*, 2001, 13(5): 275-279.
 [6] 王鸿利, 洪秀华. 医学实验技术的理论与应用. 上海: 上海科技教育出版社, 2004: 177-184.
 [7] 陈主初, 梁宋平. 肿瘤蛋白质组学. 长沙: 湖南科技出版社, 2002: 8-67.
 [8] Nishino M, Tanaka H, Ogura H, et al. Serial changes in leukocyte deformability and whole blood rheology in patients with sepsis or trauma. *J Trauma*, 2005, 59(6): 1425-1431.
 [9] 于勇, 施志国, 姚咏明, 等. 烫伤后肠壁组织 T 淋巴细胞和浆细胞数量的变化. *中国危重病急救医学*, 1998, 10(3): 131-134.
 [10] Giamarellos-Bourboulis EJ, Tsaganos T, Spyridaki E, et al. Early changes of CD4-positive lymphocytes and NK cells in patients with severe Gram-negative sepsis. *Crit Care*, 2006, 10(6): R166-187.
 [11] 赵立, 陈立军, 尉承泽, 等. 促炎及抗炎细胞因子在脓毒症小鼠肠道相关淋巴组织的表达. *军事医学科学院院刊*, 2005, 29(1): 41-44.
 [12] Ditschkowski M, Kreuzfelder E, Rebmann V, et al. HLA-DR expression and soluble HLA-DR levels in septic patients after trauma. *Ann Surg*, 1999, 229(2): 246-254.
 [13] Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol*, 2001, 166(11): 6952-6963.
 [14] Fischer G, Tradler T, Zarnt T. The mode of action of peptidyl prolyl cis/trans isomerases in vivo, binding vs. catalysis. *FEBS Lett*, 1998, 426(1): 17-20.
 [15] Agarwal PK. Enzymes; an integrated view of structure, dynamics and function. *Microb Cell Fact*, 2006, 5: 2.
 [16] Pickart CM, Eddins MJ. Ubiquitin; structures, functions, mechanisms. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1695(1-3): 55-72.
 [17] Nandi D, Tahiliani P, Kumar A, et al. The ubiquitin-proteasome system. *J Biosci*, 2006, 31(1): 137-155.
 [18] Reinstein E. Immunologic aspects of protein degradation by the ubiquitin-proteasome system. *Isr Med Assoc J*, 2004, 6(7): 420-424.
 [19] Gilles AM, Presecan E, Vonica A, et al. Nucleoside diphosphate kinase from human erythrocytes, structural characterization of the two polypeptide chains responsible for heterogeneity of the hexameric enzyme. *J Biol Chem*, 1991, 266(14): 8784-8789.
 [20] Leone A, Flatow U, King CR, et al. Reduced tumor incidence, metastatic potential, and cytokine responsiveness of nm3-transfected melanoma cells. *Cell*, 1991, 65(1): 25-35.
 [21] Narayanan R, Ramaswami M. Regulation of dynamin by nucleoside diphosphate kinase. *J Bioenerg Biomembr*, 2003, 35(1):

49-55.
 [22] Gerke V, Moss SE. Annexins: from structure to function. *Physiol Rev*, 2002, 82(10):331-371.
 [23] Parente L, Solito E. Annexin 1; more than an anti-phospholipase protein. *Inflamm Res*, 2004, 53(2):125-132.

[24] Bailey JS, Siu CH. Unique tissue distribution of two distinct cellular retinoic acid binding proteins in neonatal and adult rat. *Biochim Biophys Acta*, 1990, 1033(3):267-272.
 (收稿日期:2009-01-10 修回日期:2009-07-09)
 (本文编辑:李银平)

• 经验交流 •

原发性高血压患者 B 型脑钠素水平的检测及临床意义

高波 赵菁 陈东河

【关键词】 高血压,原发性; B 型脑钠素; 心功能不全

血浆 B 型脑钠素(BNP)是评价心功能不全、心力衰竭患者预后及疗效的重要标记物,本研究中探讨其与原发性高血压的关系及临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料:2007 年 5 月—2008 年 5 月本院住院原发性高血压患者 71 例,服用抗高血压药物治疗,且心功能 ≤ I 级。以左室重量指数(LVMI)男性 > 125 g/m²、女性 > 120 g/m² 为标准,分为合并左室肥厚(LVH)组和无左室肥厚(NLVH)组。以同期 34 例性别、年龄接近的健康体检者为对照。除肾功能不全、继发性高血压、瓣膜病、急性冠脉综合征、心房颤动及脑血管疾病者。3 组性别、年龄、心率比较, LVH 组与 NLVH 组抗高血压药物使用情况及收缩压(SBP)、舒张压(DBP)比较差异均无统计学意义(表 1),有可比性。

1.2 检测指标及方法

1.2.1 BNP 测定:取受试者晨空腹静脉血 2 ml,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,采用美国雅培公司生产的 AXSYM 全

自动免疫荧光分析仪及 BNP 试剂检测定 BNP 含量。

1.2.2 超声检测:采用美国 HP5500 型超声诊断仪检测室间隔厚度(IVS)、左室后壁厚度(LVPW)、左室舒张期末内径(LVEDD),并计算 LVMI。

1.3 统计学处理:计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析、SNK-q 检验、 χ^2 检验及相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组心功能及 BNP 比较(表 1): NLVH 组 LVEDD 与健康对照组比较无差异, LVPW 和 IVS 明显大于健康对照组 (P 均 < 0.01)。LVH 组 LVEDD、IVS 和 LVPW 较 NLVH 组与健康对照组显著增大 (P 均 < 0.01)。原发性高血压组 BNP 水平高于健康对照组,且 LVH 组高于 NLVH 组 (P 均 < 0.01)。

2.2 心脏超声指标与 BNP 的相关性分析:BNP 与 LVPW 和 IVS 呈正相关 ($r_1 = 0.85, r_2 = 0.84, P$ 均 < 0.01); 与 LVEDD 无相关性 ($r = 0.32, P > 0.05$)。

3 讨论

LVH 是原发性高血压最常见的并发症,也是发生心血管事件的独立危险因素,是心脏性猝死的独立危险因子。本研究发现,原发性高血压患者 BNP 水平显著高于健康对照者, LVH 组显著高于 NLVH 组,且 BNP 水平与 LVPW、IVS 呈正相关。

高血压使患者心脏压力负荷增加,长期严重的压力负荷可导致 LVH。肥厚的心脏较无肥厚的心脏分泌更多的 BNP,因而原发性高血压并发 LVH 时具有更高的 BNP 水平^[1]。BNP 水平升高反映了心脏压力负荷增高导致的分泌增加,因此,血浆 BNP 水平的变化可作为识别原发性高血压患者发生 LVH 的一个重要指标。

参考文献

[1] Ogino K, Ogura K, Kinugawa T, et al. Neurohumoral profiles in patients with hypertrophic cardiomyopathy: differences to hypertensive left ventricular hypertrophy. *Circ J*, 2004, 68(5):444-450.

表 1 各组患者临床参数、超声指标及 BNP 比较

组别	例数	性别		年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	用药率 [% (例)]				心率 ($\bar{x} \pm s$, 次/min)
		男	女		ACEI/ARB	β -受体阻滞剂	利尿剂	钙拮抗剂	
健康对照组	34	18	16	66.62 ± 7.85					78.2 ± 6.2
NLVH 组	35	17	18	68.11 ± 9.33	51.43(18)	48.57(17)	37.14(13)	31.43(11)	78.0 ± 6.4
LVH 组	36	19	17	68.53 ± 8.31	58.33(21)	63.89(23)	50.00(18)	25.00(9)	81.4 ± 7.3

组别	例数	血压 ($\bar{x} \pm s$, mm Hg)			LVEDD ($\bar{x} \pm s$, mm)	LVPW ($\bar{x} \pm s$, mm)	IVS ($\bar{x} \pm s$, mm)	BNP ($\bar{x} \pm s$, ng/L)
		SBP	DBP	脉压差				
健康对照组	34	122.4 ± 10.7	74.2 ± 8.8	48.2 ± 9.8	48.9 ± 4.1	8.7 ± 0.6	8.4 ± 0.6	58.5 ± 12.7
NLVH 组	35	139.8 ± 16.1 ^a	80.2 ± 10.0 ^a	59.6 ± 13.6 ^a	50.5 ± 4.4	9.8 ± 0.7 ^a	9.7 ± 0.8 ^a	99.5 ± 17.6 ^a
LVH 组	36	145.0 ± 10.0 ^a	81.8 ± 9.6 ^a	63.5 ± 12.2 ^a	54.8 ± 5.0 ^{ab}	11.2 ± 1.1 ^{ab}	11.1 ± 1.3 ^{ab}	191.6 ± 66.3 ^{ab}

注:与健康对照组比较, ^a $P < 0.01$; 与 NLVH 组比较, ^b $P < 0.01$; ACEI 为血管紧张素转换酶抑制剂, ARB 为血管紧张素 II 受体阻滞剂; 1 mm Hg = 0.133 kPa; 空白为无此项

严重烫伤合并铜绿假单胞菌脓毒症家兔 外周血淋巴细胞蛋白质组学的研究

(正文见455页)

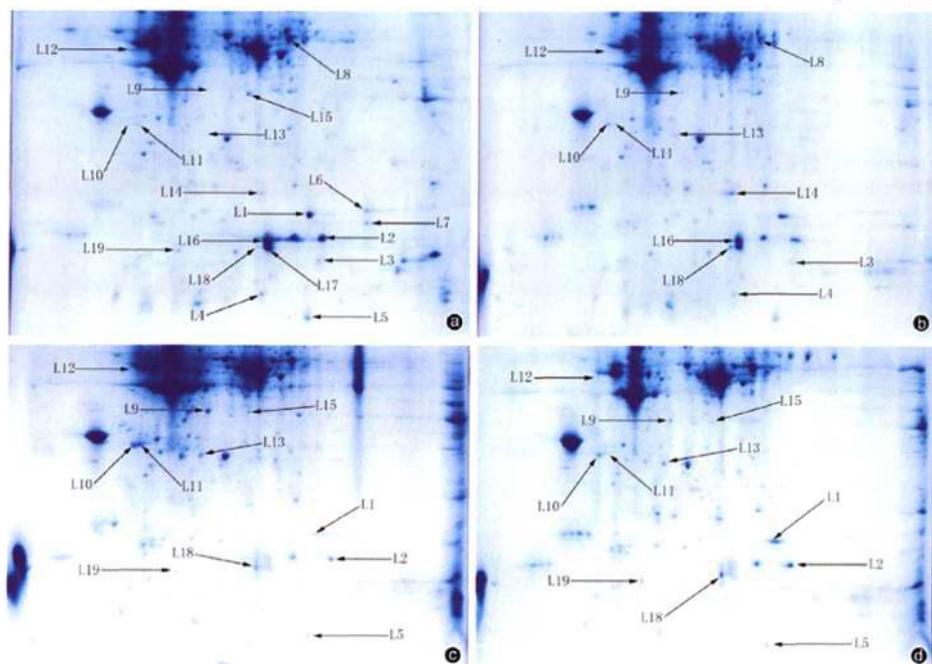


图1 各组家兔外周血淋巴细胞中蛋白质点的2-DE图谱 对照组(a)箭头指向为差异蛋白质点, 烫伤组(b)、烫伤脓毒症2h组(c)、烫伤脓毒症6h组(d)箭头指向均为与对照组比较表达有差异的蛋白质点

丙酮酸乙酯对脓毒症小鼠器官损伤的影响

(正文见460页)

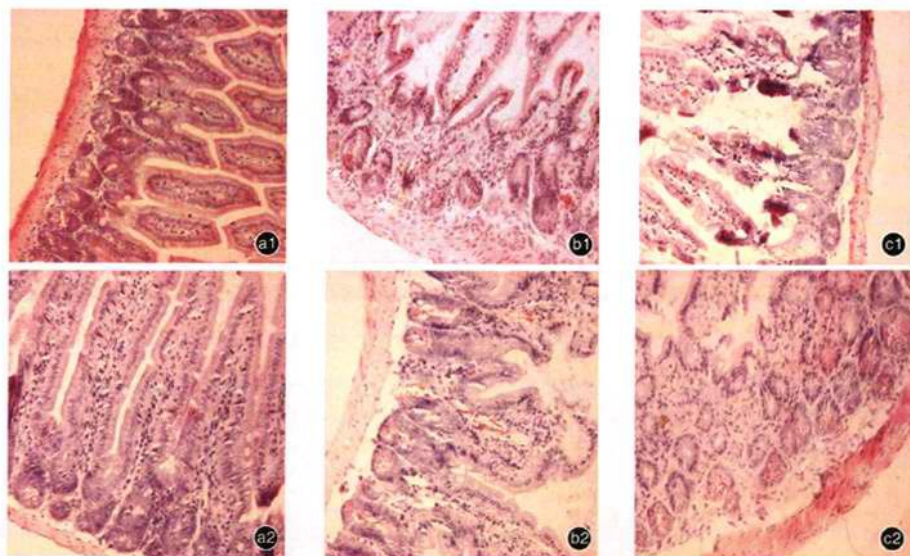


图1 光镜下观察各组小鼠小肠组织病理学改变 假手术组(a1,a2)可见正常黏膜, 无炎症变化, 无充血、出血, 模型组3h(b1)、6h(b2)可见黏膜破损严重, 大量炎性细胞浸润, 固有层破坏, EP组3h(c1)、6h(c2)可见绒毛破损减轻, 炎性细胞在固有层聚集, 固有层同上皮层的间隙增大 HE ×200