

线粒体分裂蛋白 1 在大鼠心肌缺血 / 再灌注损伤中的作用

杨艳丽 马骏 林多茂

100029 首都医科大学附属北京安贞医院麻醉中心

通讯作者: 马骏, Email: majun7689@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.10.008

【摘要】 目的 探讨线粒体分裂蛋白 1(Drp1)在大鼠心肌缺血 / 再灌注损伤(IRI)中的作用。**方法** 健康雄性 Wistar 大鼠 24 只,按随机数字表法分为假手术组、IRI 模型组、Drp1 抑制剂组,每组 8 只。采用结扎冠状动脉左前降支制备心肌缺血 30 min、再灌注损伤模型;假手术组只穿线,不进行结扎。Drp1 抑制剂组于术前 15 min 静脉注射 1.2 mg/kg 线粒体分裂抑制剂 1(mdivi-1)。复灌 3 h 后,测定各组大鼠血流动力学、血清心肌酶、线粒体膜电位、过氧化氢(H_2O_2)、活性氧簇(ROS)、ATP 生成等。处死大鼠取心脏,测定梗死面积与缺血面积比值(AI/AAR),蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)测定心肌组织 Drp1 和细胞色素 C(Cyt C)表达。**结果** 与假手术组比较,IRI 模型组左室舒张期末压(LVEDP)、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、AI/AAR、 H_2O_2 、ROS、Drp1 蛋白、胞质 Cyt C 水平明显增加,左室收缩期末压(LVESp)、射血分数(EF)、短轴缩短率(FS)、线粒体膜电位、ATP 生成、线粒体 Cyt C 表达量均明显下降。与 IRI 模型组比较,Drp1 抑制剂组 LVEDP 明显下降[mmHg(1 mmHg=0.133 kPa): 8.83 ± 1.20 比 16.48 ± 1.80], LVESp、EF、FS 明显增加[LVESp(mmHg): 116.80 ± 9.78 比 87.80 ± 8.82 , EF: 0.78 ± 0.11 比 0.58 ± 0.07 , FS: $(48.6 \pm 4.1)\%$ 比 $(32.4 \pm 3.2)\%$]; 心肌酶、 H_2O_2 、ROS 均明显降低[cTnI(ng/L): 31.9 ± 8.8 比 49.2 ± 13.7 , CK-MB(U/L): 4.83 ± 1.30 比 7.48 ± 2.20 , LDH(U/L): $1\ 327.80 \pm 280.20$ 比 $1\ 858.80 \pm 324.80$, H_2O_2 : 6.40 ± 1.40 比 8.90 ± 1.50 , ROS: $41\ 916.3 \pm 6\ 295.3$ 比 $65\ 182.6 \pm 3\ 777.8$], AI/AAR 明显减小(0.38 ± 0.01 比 0.62 ± 0.01),线粒体膜电位和 ATP 生成量明显增加[线粒体膜电位: 0.78 ± 0.13 比 0.38 ± 0.07 , ATP(μ mol/g): 150.8 ± 12.3 比 103.7 ± 8.4], Drp1 表达明显降低(0.50 ± 0.02 比 0.79 ± 0.05),线粒体 Cyt C 表达明显增加(0.64 ± 0.04 比 0.21 ± 0.01),胞质 Cyt C 表达明显降低(0.48 ± 0.03 比 0.78 ± 0.04),差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** 大鼠心肌 IRI 时,线粒体分裂增加,线粒体功能明显下降;Drp1 抑制剂能抑制线粒体分裂,改善线粒体功能,进而改善心脏功能。

【关键词】 缺血 / 再灌注,心; 线粒体动力学; 线粒体分裂

基金项目: 北京市自然科学基金(7164251); 国家自然科学基金(81471902)

Effect of dynamin-related protein 1 in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury Yang Yanli, Ma Jun, Lin Duomao

Department of Anesthesiology Center, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China

Corresponding author: Ma Jun, Email: majun7689@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of dynamin-related protein 1 (Drp1) in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury (IRI). **Methods** Twenty-four healthy male Wistar rats were randomly divided into three groups ($n = 8$ each): sham group, IRI model group, and Drp1 inhibitor group. The left anterior descending branch of coronary artery was ligated to produce myocardial ischemia for 30 minutes and reperfusion injury model. Sham group was received only threading without ligation. The Drp1 inhibitor group was injected with 1.2 mg/kg mitochondrial division inhibitor 1 (mdivi-1) at 15 minutes before operation. At 3 hours after reperfusion, hemodynamics, serum myocardial enzymes, mitochondrial membrane potential (MMP), hydrogen peroxide (H_2O_2), reactive oxygen species (ROS) and ATP production were measured in rats. The myocardial tissues were harvested for the determination of the area at risk (AAR) and the infarct area (AI), and the ratio of AI/AAR was calculated. The expression of Drp1 and cytochrome C (Cyt C) was determined by Western Blot. **Results** Compared with the sham group, the left ventricular end diastolic pressure (LVEDP), cardiac troponin I (cTnI), MB isoenzyme of creatine kinase (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), AI/AAR, H_2O_2 , ROS, protein expression of Drp1 and Cyt C were significantly increased, left ventricular end systolic pressure (LVESp), ejection fraction (EF), fractional shortening (FS), MMP, ATP generation, expression of mitochondrial Cyt C were significantly decreased in IRI model group. Compared with IRI model group, LVEDP was significantly decreased in Drp1 inhibitor group [mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa): 8.83 ± 1.20 vs. 16.48 ± 1.80], LVESp, EF, FS were significantly increased [LVESp (mmHg): 116.80 ± 9.78 vs. 87.80 ± 8.82 , EF: 0.78 ± 0.11 vs. 0.58 ± 0.07 , FS: $(48.6 \pm 4.1)\%$ vs. $(32.4 \pm 3.2)\%$]; myocardial enzymes, H_2O_2 and ROS were significantly decreased in Drp1 inhibitor group [cTnI (ng/L): 31.9 ± 8.8 vs. 49.2 ± 13.7 , CK-MB (U/L): 4.83 ± 1.30 vs. 7.48 ± 2.20 , LDH (U/L): $1\ 327.80 \pm 280.20$ vs. $1\ 858.80 \pm 324.80$, H_2O_2 :

6.40 ± 1.40 vs. 8.90 ± 1.50 , ROS: $41\ 916.3 \pm 6\ 295.3$ vs. $65\ 182.6 \pm 3\ 777.8$], AI/AAR was significantly decreased (0.38 ± 0.01 vs. 0.62 ± 0.01), MMP and ATP were significantly increased [MMP: 0.78 ± 0.13 vs. 0.38 ± 0.07 , ATP ($\mu\text{mol/g}$): 150.8 ± 12.3 vs. 103.7 ± 8.4], the expression of Drp1 was significantly decreased (0.50 ± 0.02 vs. 0.79 ± 0.05), expression of mitochondria Cyt C was significantly increased (0.64 ± 0.04 vs. 0.21 ± 0.01), and expression of cytoplasmic Cyt C was significantly decreased (0.48 ± 0.03 vs. 0.78 ± 0.04), and the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusions** Mitochondrial fission was excessively high during IRI, and its function was significantly decreased. Drp1 inhibitor could inhibit the division of mitochondria, and improve its function and cardiac function.

【Key words】 Myocardial ischemia/reperfusion injury; Mitochondrial dynamics; Mitochondrial fission

Fund program: Beijing Municipal Natural Science Foundation of China (7164251); National Natural Science Foundation of China (81471902)

缺血性心脏病的发病率和病死率均较高,主要治疗手段是尽快实现心肌缺血/再灌注,但心肌组织重新获得血供时会受到不同程度的损害,导致缺血性心脏病更加严重甚至不可逆转,这种现象被称为缺血/再灌注损伤(IRI)^[1]。研究表明,细胞凋亡是 IRI 发生的重要机制,但 IRI 是一个综合性、多环节、多机制参与的复杂病理发展过程,防治 IRI 是缺血性心脏病再灌注治疗中的主要问题^[2-4]。因此,探讨心肌 IRI 的发生机制、选择合适的药物治疗是降低该类心血管疾病患者病死率的重要手段。

研究显示,线粒体功能不全是心脏 IRI 发生的重要机制之一^[5-7]。线粒体分裂在 ATP 生成、细胞凋亡、细胞自噬等过程中发挥了重要作用,是线粒体动力学的重要组成部分。线粒体分裂异常是线粒体功能不全的重要原因^[8-10]。因此我们推测,线粒体分裂异常导致的线粒体功能不全可能是 IRI 的重要发生机制。本研究中通过观察大鼠心肌 IRI 时线粒体功能的改变及线粒体分裂蛋白 1(Drp1)的表达情况,探讨 IRI 的线粒体动力学机制,为临床治疗提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组: 清洁级健康成年雄性 SD 大鼠 24 只,7~9 周龄,体重 200~300 g,由北京维通利华公司提供,动物许可证号:SCXK(京)2012-001。按随机数字表法将大鼠分为假手术组、IRI 模型组、Drp1 抑制剂组 3 组,每组 8 只。

1.2 心肌 IRI 模型制备及分组处理: 麻醉大鼠并仰卧位固定于手术台上,气管插管并连接呼吸机行机械通气,设置呼吸频率 80 次/min,潮气量 6~8 mL/kg,呼吸比为 2:1,根据呼吸频率及深度适当调整呼吸参数。开胸,暴露心脏及大血管根部;结扎冠状动脉(冠脉)左前降支造成缺血,30 min 后恢复血液流通。假手术组开胸后分离左冠脉并穿线,但不进行结扎,30 min 后关胸。Drp1 抑制剂组于术前 15 min 静脉注射 1.2 mg/kg 线粒体分裂抑制剂 1

(mdivi-1,美国 ENZO 公司),其余操作同 IRI 模型组。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 血流动力学监测: 复灌 3 h 后,用飞利浦 IE33 超声系统采集血流动力学数据,包括左室收缩期末压(LVESP)、左室舒张期末压(LVEDP)、射血分数(EF)及短轴缩短率(FS)。

1.3.2 心肌酶测定: 复灌 3 h 后经尾静脉取血,离心取血清,-20℃保存备用。采用紫外分光光度法检测心肌肌钙蛋白 I(cTnI)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)及乳酸脱氢酶(LDH)水平。

1.3.3 心肌梗死面积测定: 复灌 3 h 后,经颈静脉注射 2% 伊文思蓝 2.3 mL 以确定未缺血区和缺血区。取出冷冻心脏制备切片,用 2, 3, 5- 氯化三苯基四氮唑(TTC)溶液染色,拍照并用图像分析系统分析,以梗死面积与缺血面积比值(AI/AAR)反映心肌梗死面积。

1.3.4 线粒体膜电位测定: 分离沉淀的线粒体,用 100 μL 磷酸盐缓冲液(PBS)重悬线粒体,取 20 μL 至酶标孔中,再加入 180 μL 的 JC-1 工作液;荧光酶标仪检测,激发光为 485 nm,发射光为 525 nm;激发波长为 525 nm,发射波长为 590 nm,测定二者比值。

1.3.5 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)测定 心肌组织 Drp1、细胞色素 C(Cyt C)表达:提前将裂解液置于室温融化。以标准蛋白浓度及对应吸光度(A)值绘制标准曲线,并通过回归方程计算样本蛋白浓度,并乘以稀释倍数,即为样本的蛋白浓度。

1.4 统计学处理: 使用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用 Bonferroni 检验; $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血流动力学(表 1): 与假手术组相比,IRI 模型组 LVEDP 明显增加,LVESP、EF、FS 明显降低

(均 $P < 0.05$), 提示 IRI 后心功能明显下降。与 IRI 模型组相比, Drp1 抑制剂组 LVEDP 明显降低, LVESP、EF、FS 明显增加(均 $P < 0.05$), 提示给予 Drp1 抑制剂可明显改善 IRI 后心功能。

2.2 心肌酶表达和心肌梗死(表 2): 与假手术组相比, IRI 模型组 cTnI、CK-MB、LDH、AI/AAR 比值均明显升高(均 $P < 0.05$), 提示 IRI 时心肌受损, 梗死面积增加。与 IRI 模型组相比, Drp1 抑制剂组 cTnI、CK-MB、LDH、AI/AAR 比值均显著下降(均 $P < 0.05$), 提示给予 Drp1 抑制剂可明显改善心肌损伤, 减小心肌梗死面积。

2.3 线粒体功能(表 3): 与假手术组相比, IRI 模型组线粒体膜电位、ATP 生成明显降低, 过氧化氢(H_2O_2)和活性氧簇(ROS)显著增加(均 $P < 0.05$)。与 IRI 模型组相比, Drp1 抑制剂组线粒体膜电位、ATP 生成显著增加, H_2O_2 和 ROS 显著下降(均 $P < 0.05$)。

2.4 心肌组织 Drp1、Cyt C 蛋白表达(表 4; 图 1): 与假手术组相比, IRI 模型组 Drp1 蛋白表达明显增加($P < 0.05$), 提示线粒体分裂明显增加。与 IRI 模型组相比, Drp1 抑制剂组 Drp1 蛋白表达明显降低($P < 0.05$), 提示给予 Drp1 抑制剂可明显减少线粒体分裂。与假手术组相比, IRI 模型组胞质 Cyt C 表达明显增加, 而线粒体 Cyt C 表达明显降低(均 $P < 0.05$)。与 IRI 模型组相比, Drp1 抑制剂组胞质 Cyt C 表达明显降低, 线粒体 Cyt C 表达明显增加(均 $P < 0.05$), 提示给予 Drp1 抑制剂可抑制 Cyt C 从线粒体释放到胞质。

3 讨论

线粒体是一个能够进行结构和功能重组的动态网络, 这种动态重组参与细胞对外界刺激的反应, 常常能够在病理状态下决定细胞的存活。线粒体分裂是线粒体动力学的重要组成部分, 也是线粒体质量控制系统的核心环节。Drp1 蛋白是线粒体分裂的主要控制蛋白, Drp1 表达降低, 线粒体分裂减少, 融合增加, 线粒体形态上表现为肿胀、多度延长, 线粒体功降低。Drp1 表达增加时, 线粒体过度分裂, 呈

表 1 Drp1 抑制剂对心肌 IRI 大鼠血流动力学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	LVEDP (mmHg)	LVESP (mmHg)	EF	FS (%)
假手术组	8	7.20 ± 0.80	138.30 ± 11.52	0.82 ± 0.17	55.3 ± 4.7
IRI 模型组	8	16.48 ± 1.80 ^a	87.80 ± 8.82 ^a	0.58 ± 0.07 ^a	32.4 ± 3.2 ^a
Drp1 抑制剂组	8	8.83 ± 1.20 ^b	116.80 ± 9.78 ^b	0.78 ± 0.11 ^b	48.6 ± 4.1 ^b

注: Drp1 为线粒体分裂蛋白 1, IRI 为缺血 / 再灌注损伤, LVESP 为左室收缩期末压, LVEDP 为左室舒张期末压, EF 为射血分数, FS 为短轴缩短率; 1 mmHg = 0.133 kPa; 与假手术组比较, ^a $P < 0.05$; 与 IRI 模型组比较, ^b $P < 0.05$

表 2 Drp1 抑制剂对心肌 IRI 大鼠心肌酶及心肌梗死面积的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	cTnI (ng/L)	CK-MB (U/L)	LDH (U/L)	AI/AAR 比值
假手术组	8	26.5 ± 5.7	1.68 ± 0.50	837.32 ± 185.30	0
IRI 模型组	8	49.2 ± 13.7 ^a	7.48 ± 2.20 ^a	1 858.80 ± 324.80 ^a	0.62 ± 0.01 ^a
Drp1 抑制剂组	8	31.9 ± 8.8 ^b	4.83 ± 1.30 ^b	1 327.80 ± 280.20 ^b	0.38 ± 0.01 ^b

注: Drp1 为线粒体分裂蛋白 1, IRI 为缺血 / 再灌注损伤, cTnI 为心肌肌钙蛋白 I, CK-MB 为肌酸激酶同工酶, LDH 为乳酸脱氢酶, AI/AAR 为梗死面积与缺血面积比值; 与假手术组比较, ^a $P < 0.05$; 与 IRI 模型组比较, ^b $P < 0.05$

表 3 Drp1 抑制剂对心肌 IRI 大鼠线粒体功能特征及功能变化的影响($\bar{x} \pm s$)

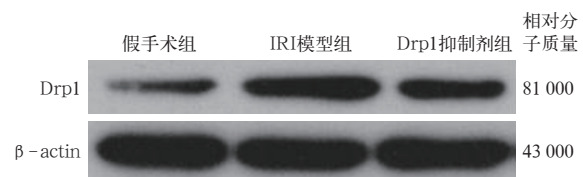
组别	动物数 (只)	膜电位	H_2O_2 (μ mol/L)	ROS	ATP (μ mol/g)
假手术组	8	1.00 ± 0.15	3.09 ± 0.50	35 139.0 ± 3 682.6	234.3 ± 30.2
IRI 模型组	8	0.38 ± 0.07 ^a	8.90 ± 1.50 ^a	65 182.6 ± 3 777.8 ^a	103.7 ± 8.4 ^a
Drp1 抑制剂组	8	0.78 ± 0.13 ^b	6.40 ± 1.40 ^b	41 916.3 ± 6 295.3 ^b	150.8 ± 12.3 ^b

注: Drp1 为线粒体分裂蛋白 1, IRI 为缺血 / 再灌注损伤, H_2O_2 为过氧化氢, ROS 为活性氧簇; 与假手术组比较, ^a $P < 0.05$; 与 IRI 模型组比较, ^b $P < 0.05$

表 4 Drp1 抑制剂对心肌 IRI 大鼠 Drp1、Cyt C 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	Drp1 表达	Cyt C 表达	
			胞质	线粒体
假手术组	8	0.32 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.79 ± 0.04
IRI 模型组	8	0.79 ± 0.05 ^a	0.78 ± 0.04 ^a	0.21 ± 0.01 ^a
Drp1 抑制剂组	8	0.50 ± 0.02 ^b	0.48 ± 0.03 ^b	0.64 ± 0.04 ^b

注: Drp1 为线粒体分裂蛋白 1, IRI 为缺血 / 再灌注损伤, Cyt C 为细胞色素 C; 与假手术组比较, ^a $P < 0.05$; 与 IRI 模型组比较, ^b $P < 0.05$



IRI 为缺血 / 再灌注损伤, Drp1 为线粒体分裂蛋白 1, β -actin 为 β -肌动蛋白

图 1 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测各组大鼠心肌 IRI 后 Drp1 表达

现片段化, 线粒体功能也下降。研究显示, IRI 时心肌细胞线粒体功能受到严重损伤, 线粒体肿胀, 膜电位降低, 能量生成较少^[11]。Kageyama 等^[12]用 Drp1 负性功能突变体转染急性粒细胞白血病细胞 -1 (HL-1) 发现, 长形线粒体的细胞数量增加, 而线粒体通透性转换孔的敏感性下降, HL-1 细胞缺血损伤后的死亡也显著减少。

本研究显示,在线粒体动力学方面,Drp1 抑制剂能够使心肌 IRI 动物 LVEDP 降低 50%,LVESP 限制增加,EF 和 FS 显著增加,说明整体心脏功能明显改善;在心肌酶学方面,Drp1 抑制剂能够使心肌酶明显降低,心肌梗死面积减小 24%,说明心肌损伤减轻;在线粒体功能方面,Drp1 抑制剂能够使 H_2O_2 和 ROS 释放明显减少,Cyt C 释放也明显减少,明显逆转 IRI 导致的线粒体膜电位降低,使 ATP 的能量生成增加 50%。这些结果提示 Drp1 抑制剂通过抑制氧化物质的释放,减少 Cyt C 的释放而增加 ATP 的生成,与相关研究报道结果一致^[13-14]。在蛋白表达方面,心肌 IRI 可导致 Drp1 表达明显增加,Drp1 抑制剂可使 Drp1 蛋白表达明显减少。

本研究从心脏功能、心肌酶学、线粒体功能和 Drp1 蛋白表达方面验证了,Drp1 在心肌 IRI 中的作用。Drp1 抑制剂通过调整 IRI 后线粒体分裂维持线粒体正常形态来减轻心肌 IRI^[15]。Drp1 抑制剂发挥这种保护作用的可能机制主要包括两方面:一方面,IRI 时线粒体分裂增加,引起线粒体膜电位降低,Cyt C 释放,触发凋亡程序,细胞凋亡增加,最终引起心脏功能改变^[16-17];另一方面,Drp1 抑制剂通过抑制线粒体的过度分裂,参与细胞自噬,发挥抗心肌 IRI 的作用。线粒体分裂后产生两个子代线粒体,其中一个子线粒体膜电位呈上升趋势,可通过融合重新循环利用;另一个膜电位下降的线粒体则被自噬所清除,线粒体分裂是线粒体发生自噬的必要前提条件。胞质泛素 E3 连接酶 Parkin 是介导线粒体自噬的重要信号^[18-19]。有研究显示 Parkin 通过磷酸化 Drp1 引起线粒体自噬^[20]。抑制线粒体分裂发挥心肌 IRI 作用的具体机制还有待于进一步研究。

综上,本研究通过建立大鼠心肌 IRI 模型,应用 Drp1 特异性抑制剂,从心脏功能、心肌酶学、线粒体功能和 Drp1 蛋白表达方面,逐层验证了 Drp1 在心肌 IRI 中的作用,为治疗心肌 IRI 提供了一定的理论基础。

参考文献

- [1] Hausenloy DJ, Boston-Griffiths E, Yellon DM. Cardioprotection during cardiac surgery [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94 (2): 253-265. DOI: 10.1093/cvr/cvs131.
- [2] 张晶,王庆胜,杨红梅,等.急性心肌梗死合并多支病变患者急诊经皮冠状动脉介入治疗后不同血运重建策略的疗效和经济学评估[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 26 (3): 169-174. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.03.003.

- Zhang J, Wang QS, Yang HM, et al. Evaluation of different revascularization strategies for patients with acute myocardial infarction with lesions of multiple coronary arteries after primary percutaneous coronary intervention and its economic evaluation [J]. *Chin Crit Care Med*, 2015, 26 (3): 169-174. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.03.003.
- [3] 张伟杰,陈知水,魏来,等.心脏死亡器官捐献移植 13 例报告[J/CD]. *实用器官移植电子杂志*, 2013, 2 (1): 17-21. Zhang WJ, Chen ZS, Wei L, et al. Report of 13 cases of organ transplantation using donation after cardiac death donors [J/CD]. *Prac J Organ Transplant (Electronic Version)*, 2013, 2 (1): 17-21.
- [4] 范利斌,康剑锋,张战波,等.野黄芩苷通过抑制线粒体凋亡通路对抗心肌细胞急性缺血损伤[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2016, 23 (3): 273-277. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.03.013.
- Fan LB, Kang JF, Zhang ZB, et al. Antagonizing effect of scutellarin on acute ischemia injury in cardiomyocytes via inhibition of mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2016, 23 (3): 273-277. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.03.013.
- [5] 符显昭,许靖,李春燕,等.活血解毒降糖方对糖尿病急性冠脉综合征非血运重建患者促炎/抗炎因子平衡的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2016, 23 (1): 6-10. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.01.003.
- Fu XZ, Xu J, Li CY, et al. Effects of Huoxue Jiedu Jiangtang formulation on the balance between pro- and anti-inflammatory cytokines in non-revascularization patients with diabetic acute coronary syndrome [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2016, 23 (1): 6-10. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.01.003.
- [6] 孙洁芸,张鹏,杨欣颖,等.胆绿素通过抗凋亡发挥对离体肺缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29 (1): 25-29. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.01.005.
- Sun JY, Zhang P, Yang XY, et al. Biliverdin protects the isolated lungs from ischemia/reperfusion injury via anti-apoptosis [J]. *Chin Crit Care Med*, 2017, 29 (1): 25-29. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.01.005.
- [7] 薛艳艳,林多茂,王兆麒,等.盐酸戊二奎醚对大鼠心肌缺血/再灌注损伤保护作用的研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (12): 955-958. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.12.003.
- Xue YY, Lin DM, Wang ZQ, et al. The research on protective effect of penicillamine hydrochloride in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Chin Crit Care Med*, 2015, 27 (12): 955-958. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.12.003.
- [8] Liesa M, Palacin M, Zorzano A. Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease [J]. *Physiol Rev*, 2009, 89 (3): 799-845. DOI: 10.1152/physrev.00030.2008.
- [9] 辛增莲,徐菲莉.急性冠脉综合征的临床诊断进展[J]. *实用检验医师杂志*, 2014, 6 (4): 248-250. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2014.04.016.
- Xin ZL, Xu FL. Progress in clinical diagnosis of acute coronary syndrome [J]. *Chin J Clin Pathol*, 2014, 6 (4): 248-250. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2014.04.016.
- [10] Sharp WW, Fang YH, Han M, et al. Dynamin-related protein 1 (Drp1)-mediated diastolic dysfunction in myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutic benefits of Drp1 inhibition to reduce mitochondrial fission [J]. *FASEB J*, 2014, 28 (1): 316-326. DOI: 10.1096/fj.12-226225.
- [11] Zhang Q, Itagaki K, Hauser CJ. Mitochondrial DNA is released by shock and activates neutrophils via p38 map kinase [J]. *Shock*, 2010, 34 (1): 55-59. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181cd8c08.
- [12] Kageyama Y, Hoshijima M, Seo K, et al. Parkin-independent mitophagy requires Drp1 and maintains the integrity of mammalian heart and brain [J]. *EMBO J*, 2014, 33 (23): 2798-2813. DOI: 10.15252/embj.201488658.
- [13] Ikeda Y, Shirakabe A, Brady C, et al. Molecular mechanisms mediating mitochondrial dynamics and mitophagy and their functional roles in the cardiovascular system [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 78: 116-122. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2014.09.019.
- [14] 陈景瑞,魏静,施洋,等.心肌缺血再灌注与线粒体功能障碍研究进展[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31 (18): 1886-1888. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2015.18.027.
- Chen JR, Wei J, Shi Y, et al. Effects on mitochondrial dysfunction in myocardial ischemia reperfusion [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2015, 31 (18): 1886-1888. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2015.18.027.
- [15] 张宁,李会,曹玺,等.线粒体钙单向转运体在大鼠肺缺血再灌注损伤中的作用[J]. *中华麻醉学杂志*, 2015, 35 (7): 866-867. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2015.07.025.

- Zhang N, Li H, Cao X, et al. Role of mitochondrial calcium uniporter in lung ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Chin J Anesthesiol, 2015, 35 (7): 866-867. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2015.07.025.
- [16] Zorzano A, Hernández-Alvarez MI, Sebastián D, et al. Mitofusin 2 as a driver that controls energy metabolism and insulin signaling [J]. Antioxid Redox Signal, 2015, 22 (12): 1020-1031. DOI: 10.1089/ars.2014.6208.
- [17] 王敏, 李瑜, 王士雷, 等. 线粒体分裂抑制剂改善大鼠海马神经元缺血再灌注损伤时的能量代谢障碍 [J]. 中华神经医学杂志, 2014, 13 (6): 562-567. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2014.06.006.
- Wang M, Li Y, Wang SL, et al. Effect of mitochondrial division inhibitor on metabolic disorder of energy in hippocampus neurons of rats after cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Chin J Neuromed, 2014, 13 (6): 562-567. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2014.06.006.
- [18] Lazarou M, Sliter DA, Kane LA, et al. The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy [J]. Nature, 2015, 524 (7565): 309-314. DOI: 10.1038/nature14893.
- [19] 王菲, 贾莉莉, 翁亦齐, 等. 线粒体自噬在缺血再灌注损伤中作用的研究进展 [J]. 中华器官移植杂志, 2015, 36 (8): 503-505. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2015.08.013.
- Wang F, Jia LL, Weng YQ, et al. Progress in the role of mitochondrial autophagy in ischemia-reperfusion injury [J]. Chin J Organ Transplant, 2015, 36 (8): 503-505. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2015.08.013.
- [20] Buhlman L, Damiano M, Bertolin G, et al. Functional interplay between Parkin and Drp1 in mitochondrial fission and clearance [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843 (9): 2012-2026. DOI: 10.1016/j.bbamer.2014.05.012.

(收稿日期: 2017-03-28)

• 科研新闻速递 •

院外心搏骤停幸存者的目标温度管理: 持续 24 h 还是 48 h?

国际心肺复苏 (CPR) 指南推荐, 对无意识心搏骤停 (CA) 患者进行 33 ~ 36 °C 目标温度管理 (TTM) 至少 24 h, 但 TTM 的最佳持续时间尚不确定。那么, 与目前推荐的标准 24 h TTM 相比, 在 33 °C 下 TTM 48 h 能否为患者带来更好的神经预后结局? 为此, 相关研究人员进行了一项多中心临床试验。研究对象为 2013 年 2 月 16 日至 2016 年 6 月 1 日 6 个欧洲国家的 10 家大学附属医院共 10 个重症加强治疗病房 (ICU) 收治的 355 例院外心搏骤停 (OHCA) 且无意识的患者。受试对象被随机分配至 TTM 48 h 组 ($n=176$) 或 TTM 24 h 组 ($n=179$), TTM 控制在 $(33 \pm 1) ^\circ\text{C}$, 随后以 $0.5 ^\circ\text{C/h}$ 逐渐复温至 $37 ^\circ\text{C}$ 。研究主要评价指标为患者 6 个月神经功能情况, 以格拉斯哥-匹兹堡脑功能评分 (CPC) 1 ~ 2 分定义为神经功能预后良好; 其他次要评价指标包括 6 个月病死率、死亡时间、不良事件发生情况和 ICU 资源使用情况。结果显示: 355 例患者中 (中位年龄为 60 岁, 男性 295 例), 有 351 例 (99%) 完成了该试验。TTM 48 h 组 69% 的患者 (120/175) 6 个月神经功能预后良好, 而 TTM 24 h 组 64% 的患者 (112/176) 神经功能预后良好 [相差 4.9%, 95% 可信区间 (95%CI) = 5% ~ 14.8%; 相对危险度 (RR) = 1.08, 95%CI = 0.93 ~ 1.25, $P=0.33$]。TTM 48 h 组 6 个月病死率为 27% (48/175), 而 TTM 24 h 组为 34% (60/176), (相差 -6.5%, 95%CI = -16.1% ~ 3.1%; $RR=0.81$, 95%CI = 0.59 ~ 1.11, $P=0.19$), 两组间病死率差异无统计学意义 [风险比 (HR) = 0.79, 95%CI = 0.54 ~ 1.15, $P=0.22$]。TTM 48 h 组不良事件较 TTM 24 h 组常见 (97% 比 91%; 相差 5.6%, 95%CI = 0.6% ~ 10.6%; $RR=1.06$, 95%CI = 1.01 ~ 1.12, $P=0.04$), ICU 住院时间较 TTM 24 h 组长 (h: 151 比 117, $P<0.001$), 但两组总住院时间差异无统计学意义 (d: 11 比 12, $P=0.50$)。研究人员据此得出结论: 与 33 °C、24 h 的 TTM 相比, 33 °C、48 h 的 TTM 并不能显著改善 OHCA 无意识幸存者的 6 个月神经功能预后, 并建议开展进一步的研究。

罗红敏, 编译自《JAMA》, 2017, 318 (4): 341-350

不同的目标温度管理对心搏骤停患者血糖稳态和预后的影响

糖代谢紊乱和血糖波动与危重病患者预后较差有关, 目标温度管理 (TTM) 可以改变血糖稳态。近期, 有研究人员对一项多中心的 TTM 临床试验进行了事后分析, 旨在分析心搏骤停 (CA) 后 TTM 33 °C 组或 36 °C 组患者血糖浓度和血糖波动情况与神经功能预后的关系。研究对象为欧洲和澳大利亚 36 个地区的 939 例院外心搏骤停 (OHCA) 患者。主要评价指标是 6 个月后的神经系统预后, 以格拉斯哥-匹兹堡脑功能评分 (CPC) 评价。研究人员采用非参数检验及多因素 Logistic 回归和混合效应 Logistic 回归模型进行分析。结果显示: 神经功能预后良好组与不良组患者入院时血糖浓度差异有统计学意义 ($P<0.0001$)。高血糖和低血糖与神经功能预后不良 (CPC 3 ~ 5 分) 相关 ($P=0.001$ 和 $P=0.054$)。在多因素回归模型中, 平均血糖水平是患者神经功能预后不良的独立预测因子; 在校正后的模型中, 平均血糖水平的优势比 (OR) = 1.13 [95% 可信区间 (95%CI) = 1.03 ~ 1.24, $P=0.008$]。与 TTM 控制在 36 °C 的患者相比, TTM 控制在 33 °C 的患者高血糖比例更高。研究人员据此得出结论: 入院时和入院后首个 36 h 较高的血糖水平以及较大的血糖波动与 OHCA 患者神经功能较差预后及死亡相关; 并且 TTM 控制在 33 °C 的患者出现高血糖的比例更高。

罗红敏, 编译自《Crit Care Med》, 2017, 45 (8): 1337-1343