

缬沙坦对脓毒症大鼠的心肌保护作用 及其可能机制的研究

张琪 单亮 董海 山峰* 孙强

(青岛大学附属医院重症医学科, 青岛 266071)

摘要 该研究探讨了缬沙坦对脓毒症大鼠的心肌保护作用及其可能机制。采用盲肠结扎穿孔法建立脓毒症大鼠模型, 65只雄性SD大鼠随机分为对照组(control group, C)、假手术组(sham group, S)、脓毒症组(model group, M)、小剂量缬沙坦组(group A, A)和大剂量缬沙坦组(group B, B), 术后24 h取腹主动脉血, 检测肌钙蛋白I(troponin I, TnI)的含量; 左心室行石蜡包埋、HE及TUNEL染色; Western blot检测p38 MAPK、磷酸化p38 MAPK(p-p38 MAPK)的含量变化, ELISA法测定肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量。结果提示, M组与C组、S组相比, 病理损伤明显加重, 凋亡指数、心肌损伤的指标和p-p38 MAPK/p38 MAPK值明显升高($P < 0.05$); 而A组与M组相比, p-p38 MAPK/p38 MAPK值和MDA的含量并无统计学差异($P > 0.05$); B组心肌病理损伤较M组明显减轻, 凋亡指数、TnI、TNF- α 、MDA的含量和p-p38 MAPK/p38 MAPK值均较M组明显降低($P < 0.05$)。以上结果表明, 大剂量的缬沙坦能够通过抑制p38 MAPK信号通路的激活减轻脓毒症心肌损伤, 而小剂量缬沙坦的心肌保护作用并不明显。

关键词 血管紧张素II型受体拮抗剂; 脓毒症; p38 MAPK; 大鼠

The Cardioprotective Effects of Valsartan in Septic Rats and Its Possible Mechanism

Zhang Qi, Shan Liang, Dong Hai, Shan Feng*, Sun Qiang

(Intensive Care Unit, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266071, China)

Abstract The objection of this study was to investigate the effect of valsartan on myocardial protection of rats with sepsis and its mechanism. Sepsis in rats was induced via cecal ligation and puncture (CLP). Sixty-five rats were randomly divided into five groups, followed by control group (group C, C), sham group (group S, S), model group (group M, M), small dose of valsartan group (group A, A), large dose of valsartan group (group B, B). At 24 hours, blood was drawn from the abdominal aorta to detect changes in troponin I (TNI) levels. The left ventricle was stained with HE and TUNEL staining to measure pathologic changes and apoptosis index of myocardium. The remaining tissue was used to detect activation of p38 MAPK by Western blot. We measured variation in expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and malondialdehyde (MDA) via ELISA. The results showed that comparing with group C and S, the content of TnI, TNF- α , MDA and the specific value of p-p38 MAPK/p38 MAPK of group M increased significantly ($P < 0.05$), and the pathological damage and apoptosis index also exacerbated obviously. While there were no statistical differences ($P > 0.05$) of the specific value of p-p38 MAPK/p38 MAPK and the content of MDA of group A compared to group M. But the content of TnI, TNF- α , MDA and the specific value

收稿日期: 2017-12-11 接受日期: 2018-03-06

*通讯作者。Tel: 18661805599, E-mail: mountain1963@163.com

Received: December 11, 2017 Accepted: March 6, 2018

*Corresponding author. Tel: +86-18661805599, E-mail: mountain1963@163.com

网络出版时间: 2018-05-15 18:15:21 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180515.1815.026.html>

of p-p38 MAPK/p38 MAPK of group B all decreased significantly than group M ($P < 0.05$). We could conclude that large-dose valsartan reduced myocardial injury in septic rats through inhibit the p38 MAPK pathway. But the protective effect of small doses of valsartan was not significant.

Keywords angiotensin II type 1 receptor blockers; sepsis; p38 MAPK; rats

脓毒症是重症医学科(intensive care unit, ICU)最常见的疾病之一,已成为重症感染治疗的重点和难点,目前较公认的脓毒症定义为宿主对感染的反应失调而导致的器官功能损伤,其中心功能障碍是脓毒症器官功能障碍的重要表现之一,其发生率高达60%^[1]。肾素血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)的异常激活,特别是心肌组织局部的RAS激活^[2]可能是发生脓毒症心功能障碍的重要机制之一,缬沙坦作为其抑制剂在抗炎、抗凋亡方面的作用已逐渐得到学者们重视。

p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)信号通路的激活能够调控细胞凋亡^[3]、影响炎症因子的产生^[4],诱导细胞增殖、分化,被认为是细胞信号的交汇点和共同通路。1993年, Han等^[5]使用细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导CD14转染的小鼠前B细胞系产生p38 MAPK酪氨酸磷酸化,证实了p38 MAPK的激活是介导LPS诱导的细胞活化的关键环节。LPS诱导的p38 MAPK信号通路的激活是中性粒细胞和巨噬细胞表达TNF- α 必要的信号通路机制^[6]。Dong等^[7]通过氢醌诱导的猪近曲小管上皮细胞发生氧化应激损伤,证实了过氧化氢能够通过激活p38 MAPK信号通路,影响热休克蛋白27及组蛋白3的活化,从而促进细胞凋亡的发生。本研究以脓毒症大鼠模型作为研究对象,检测多项观察指标,初步探讨缬沙坦对脓毒症心肌损伤、炎症及氧化应激损伤的作用及对p38 MAPK信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

雄性SD大鼠65只,体质量280~330 g,购自青岛大任富城畜牧有限公司(许可证号:SCXKL鲁20140007)。采用随机数字法将大鼠分为5组,依次为对照组(control group, C):不给予任何处理;假手术组(sham group, S):开腹找到盲肠立即还纳,不予结扎穿孔;脓毒症组(model group, M)、小剂量缬沙坦组(group A, A)、大剂量缬沙坦组(group B, B):按

照盲肠结扎穿刺(cecal ligation and puncture, CLP)法^[8]复制脓毒症模型。C组和S组各10只, M组、A组、B组各15只。该动物实验已通过青岛大学附属医院伦理委员会批准。

1.2 动物模型的建立

CLP术前禁食12 h,腹腔注射浓度为8%的水合氯醛(0.5 mL/100 g)麻醉后,沿腹前正中线切开皮肤约2~3 cm,沿腹肌白线打开腹腔,游离肠系膜和盲肠,用3-0号丝线结扎盲肠根部,同时保持肠道通路通畅,用18号针头在肠系膜相对的盲肠浆膜面做两处穿孔,轻轻挤压盲肠见2到3滴肠内容物溢出,还纳盲肠,逐层关腹,术后腹壁皮下注射生理盐水(3 mL/100 g)模拟液体复苏。

将缬沙坦(由北京诺华制药有限公司提供)稀释至5 mg/mL, A组大鼠术后给予缬沙坦1 mL/100 g灌胃, B组大鼠在术后给予缬沙坦的基础上, 6 h后再次追加给药, C、S、M组分别在术后给予等量生理盐水灌胃。

1.3 检测指标

1.3.1 术后大鼠自然死亡率 记录术后24 h内各组大鼠的生存情况,计算各组大鼠的自然死亡率。

1.3.2 腹主动脉血肌钙蛋白I(troponin I, TnI)测定 所有动物24 h后再次麻醉,取腹主动脉血2 mL,室温静置1 h后5 000 r/min离心15 min,取上清液,采用ELISA法检测TnI的含量,实验步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.3 石蜡包埋、HE染色、TUNEL染色观察心肌病理学及凋亡率的变化 分离大鼠心脏,4 °C生理盐水洗净血污,取左心室游离壁保存于4%多聚甲醛72 h以上,流水冲洗5~12 h洗净甲醛,经梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后制成蜡块,5 μ m连续切片,经摊片、烤片后一部分进行HE染色,封片后在光学显微镜下观察心肌形态学变化。另一部分切片经脱蜡脱水、蛋白酶K孵育、标记、复染细胞核等步骤进行TUNEL染色(试剂盒Alexa Fluor 488购自上海翊圣生物科技有限公司),观察和分析心肌组织凋亡情况。

1.3.4 Western blot检测p38 MAPK和p-p38 MAPK 电子天平称取0.07~0.09 g心肌组织,按1:10 000加入组织裂解液(细胞裂解液:蛋白酶抑制剂:磷酸酶抑制剂=98:1:1),使用超声匀浆机制备组织匀浆,经历BCA(bicinchoninic acid)法进行上清液蛋白浓度定量测定、配胶、蛋白电泳、转膜后,分别加入p-p38 MAPK、p38 MAPK一抗(购自美国Cell Signaling Technology公司)和 β -actin抗体(购自Santa Cruz公司),4 °C冰箱孵育过夜,孵二抗(购自北京中衫金桥生物技术有限公司)1 h后于显影仪曝光、显影,ImageJ分析各条带光密度值。

1.3.5 心肌TNF- α 、MDA测定 取心肌匀浆上清液,用ELISA法检测TNF- α 、MDA含量,实验步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学分析

所有数据采用SPSS 22.0统计软件处理,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,进行单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠生存情况比较

本实验共有大鼠65只,其中死亡10只,总体存活率为84.5%。C组大鼠无死亡,S组死亡1只,存活率为90%;M组死亡6只,存活率为60%;A组死亡4只,存活率为73.3%;B组死亡5只,存活率为66.7%。M组、A组、B组之间大鼠存活率并无显著性差异($P>0.05$) (图1)。

2.2 行为学变化

CLP术后2 h,M组、A组和B组大鼠均出现竖毛,活动减少,精神变差,术后6 h大鼠出现食欲下降、

对外界刺激反应差、嗜睡等表现。随着时间的延长,M组、A组大鼠出现明显的少动、毛发竖立,部分可见寒战,对刺激反应越来越差,B组大鼠与M组、A组相比,其感染性休克症状及中毒反应较轻。

2.3 心肌组织病理学及凋亡指数的变化

C组和S组心肌组织结构正常,心肌纤维排列紧密,无水肿、充血及炎症细胞浸润。M组与C组、S组相比,心肌纤维明显水肿、空泡化改变、排列疏松,大量细胞核肿胀,核周间隙增宽,部分心肌纤维断裂,间质渗出明显、炎性细胞浸润。A组与M组相比心肌纤维、细胞核形态改善不明显。B组与A组、M组相比心肌纤维水肿、渗出减轻,结构排列较紧密,但细胞核仍有肿胀。通过TUNEL染色观察到M组凋亡指数明显高于C组和S组($P<0.05$),而B组凋亡指数较M组、A组明显降低($P<0.05$),A组与M组相比凋亡指数未见明显下降($P>0.05$) (图2,表1)。

2.4 缬沙坦对TnI的影响

M组大鼠血清TnI含量明显高于C组和S组($P<0.05$),差异有统计学意义,A组较M组TnI含量降低($P<0.05$),而B组较A组、M组TnI含量明显降低($P<0.05$),差异均有统计学意义(图3)。

2.5 心肌组织p-p38 MAPK/p38 MAPK值的表达变化

光密度分析结果显示,M组p-p38 MAPK占总p38 MAPK值为 0.81 ± 0.13 ,显著高于C组(0.56 ± 0.07)和S组(0.63 ± 0.09) ($P<0.05$),提示脓毒症时p38 MAPK信号通路被激活,而A组(0.89 ± 0.09)与M组相比,比值并未降低,差异无统计学意义($P=0.075>0.05$),表明小剂量缬沙坦对p38 MAPK信号通路的抑制作

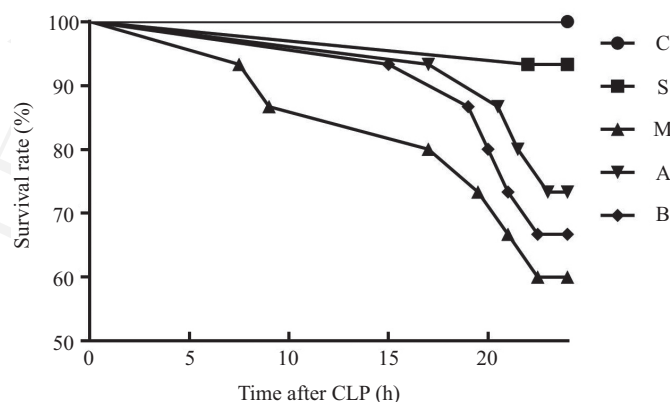


图1 CLP术后各组大鼠的生存情况

Fig.1 The survival of rats in each group after CLP

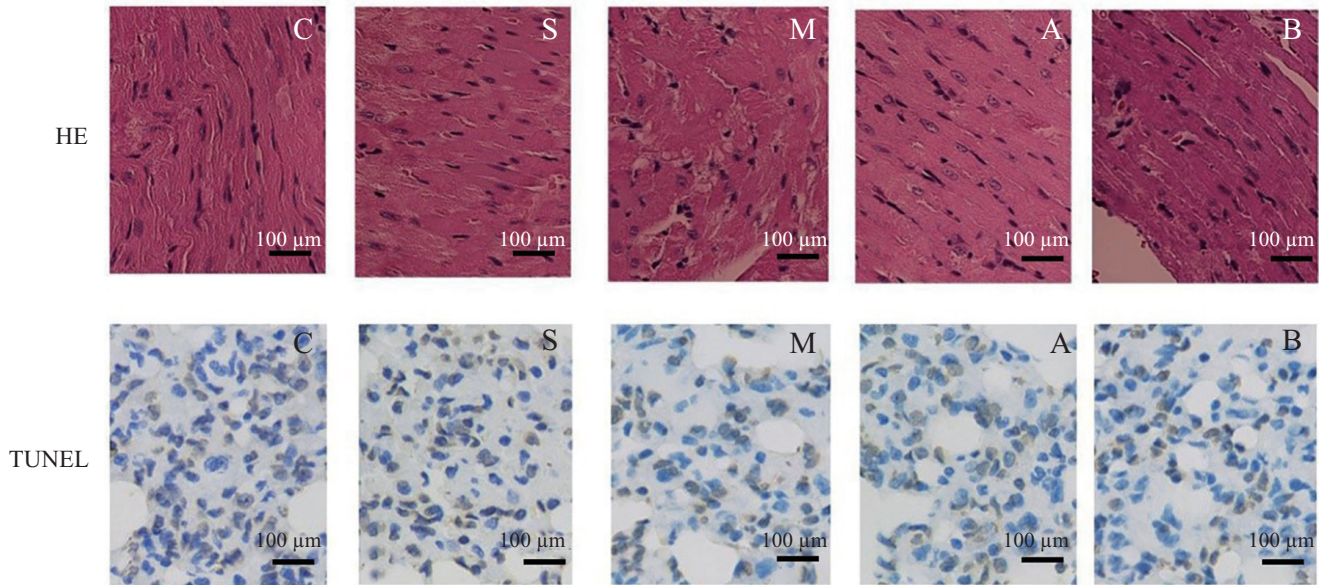


图2 HE和TUNEL染色分析缬沙坦对大鼠心肌组织病理及凋亡情况的影响

Fig.2 Effect of valsartan on myocardial histopathology and apoptosis in rats by HE and TUNEL staining

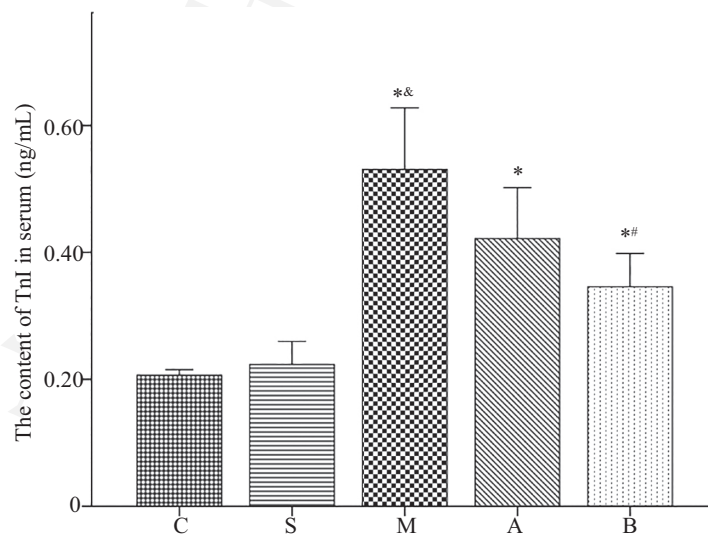
表1 TUNEL法检测各组大鼠心肌组织灰度值及凋亡指数

Table 1 TUNEL method to detect the gray value of myocardial tissue and apoptosis index

组别 Group	灰度值 Gray value	凋亡指数(%) Apoptosis index (%)
C	10 337.29±553.27	4.58±0.67
S	12 639.42±1 196.23	6.29±1.04
M	35 903.57±1 402.32* ^{&}	15.18±1.55* ^{&}
A	29 527.43±878.29	11.67±1.29
B	20 938.1429±1 338.61 [#]	7.74±1.10 [#]

* $P < 0.05$, 与C组比较; [&] $P < 0.05$, 与S组比较; [#] $P < 0.05$, 与M组比较。

* $P < 0.05$ vs C group; [&] $P < 0.05$ vs S group; [#] $P < 0.05$ vs M group.

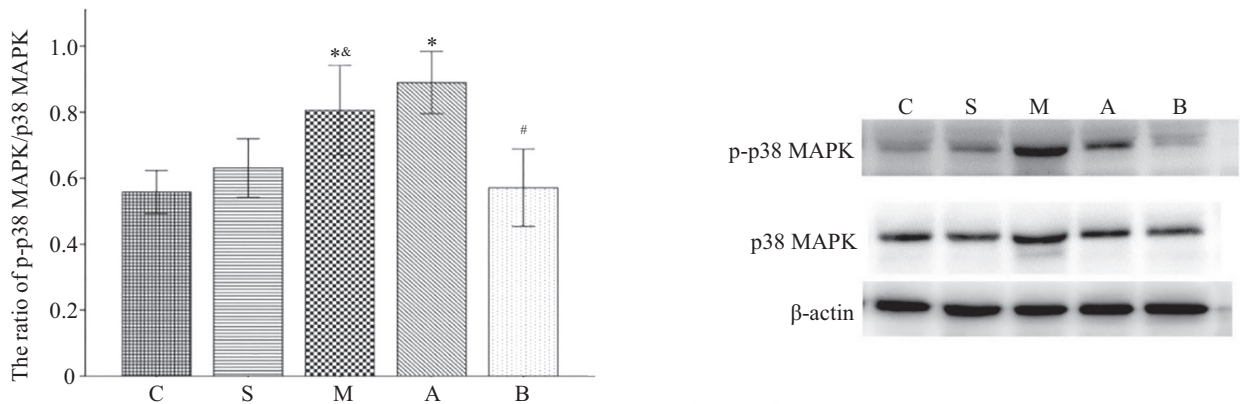


* $P < 0.05$, 与C组比较; [&] $P < 0.05$, 与S组比较; [#] $P < 0.05$, 与M组比较。

* $P < 0.05$ vs C group; [&] $P < 0.05$ vs S group; [#] $P < 0.05$ vs M group.

图3 缬沙坦对脓毒症大鼠血清TnI的影响

Fig.3 The effect of valsartan on the content of TnI in serum



* $P < 0.05$, 与C组比较; * $P < 0.05$, 与S组比较; # $P < 0.05$, 与M组比较。

* $P < 0.05$ vs C group; * $P < 0.05$ vs S group; # $P < 0.05$ vs M group.

图4 缬沙坦对脓毒症大鼠心肌组织p-p38 MAPK/p38 MAPK值的影响

Fig.4 The effect of valsartan on the ratio of p-p38 MAPK/p38 MAPK in myocardial tissue of septic rats

表2 缬沙坦对脓毒症大鼠心肌细胞TNF- α 和MDA表达的影响

Table 2 The effect of valsartan on the content of TNF- α and MDA in myocardial cells of septic rats

组别	肿瘤坏死因子- α (ng/mL)	丙二醛(ng/mL)
Group	TNF- α (ng/mL)	MDA (ng/mL)
C	0.28 \pm 0.24	599.09 \pm 66.24
S	0.27 \pm 0.22	651.59 \pm 29.34
M	0.42 \pm 0.42* $\&$	1011.58 \pm 154.86* $\&$
A	0.34 \pm 0.44* $\&$	1039.21 \pm 113.69* $\&$
B	0.29 \pm 0.26 $\#$	791.44 \pm 134.26 $\#$

* $P < 0.05$, 与C组比较; * $P < 0.05$, 与S组比较; # $P < 0.05$, 与M组比较。

* $P < 0.05$ vs C group; * $P < 0.05$ vs S group; # $P < 0.05$ vs M group.

用并不显著; 而B组(0.54 \pm 0.08)与M组和A组相比, p-p38 MAPK所占的比例明显降低($P < 0.05$), 证实了大剂量的缬沙坦能够明显抑制p38 MAPK信号通路的激活(图3和图4)。

2.6 缬沙坦对心肌TNF- α 、MDA的影响

M组与C组、S组相比, TNF- α 的含量明显升高($P < 0.05$), A组、B组与M组相比, TNF- α 的含量明显降低($P < 0.05$), 其中B组与A组相比TNF- α 的含量明显下降($P < 0.05$), 差异均有统计学意义。M组、A组与C组、S组相比, MDA含量明显升高($P < 0.05$), 其中A组与M组相比, MDA含量无显著性差异($P > 0.05$), 而B组与M组相比, MDA含量明显降低($P < 0.05$), 差异具有统计学意义(表2)。

3 讨论

脓毒症目前仍然是ICU中发病率较高的危重症, 其死亡率为20%~30%^[9-10]。其中, 心功能损伤是最常见的脓毒症导致的器官功能损伤之一, 主要表

现为心肌抑制, 即左心室扩大、左心射血分数减低(<45%)以及心脏指数降低等^[11-12], 这可能与炎症因子的释放^[13]、缺血再灌注损伤^[14]、RAS的异常激活等机制有关, 但具体的病理机制尚不明确。正常情况下, RAS的激活是低血容量时维持血流动力学稳定的重要生理学过程, 除了其经典的维持动脉血压的功能, 血管紧张素II(angiotensin II, Ang2)还是众多生理过程的关键环节, 如细胞的生长、凋亡、炎症反应^[15]以及线粒体功能^[16]等。大量的动物实验及临床研究^[17-18]证实, 脓毒症时RAS由于机体应激、有效血容量减少、组织灌注不足而过度激活, 过量产生的Ang2与血管紧张素1型受体(angiotensin type 1 receptor, AT1 receptor)结合能够增加促炎因子的释放, 诱导白细胞的滚动、黏附和迁移, 增加毛细血管渗透性, 进而加重氧化应激损伤、炎症反应、有效血容量不足和内皮细胞功能障碍^[19]的发生, 最终产生严重的器官功能障碍。缬沙坦是一种血管紧张素受体阻断剂(angiotensin receptor blocker, ARB), 能够

特异性阻断Ang2与AT1受体结合。Mortensen等^[20]对3 180名脓毒症患者使用ARB类药物, 结果发现, 患者30天死亡率明显降低。此外, ARB类药物的器官保护作用已在小肠^[218]、肝脏^[22]、肺脏^[23]等脏器得到证实。

本研究采用CLP法^[8]复制脓毒症大鼠模型, 通过盲肠结扎穿孔导致腹腔感染, 模拟急性腹膜炎诱导脓毒症的发生, 是最符合脓毒症病理过程的方法之一。根据文献报道, CLP术后24 h心肌损伤最明显, 是观察脓毒症心肌抑制最合适的时间点^[24]。观察发现, 术后24 h, 大鼠出现腹肌紧、腹部张力明显增大, 开腹可闻及恶臭, 腹腔大量渗出性液体, 结扎的盲肠末端充血坏死, 表明脓毒症造模成功。

心肌病理学检查可见M组、A组较C组心肌纤维明显水肿、空泡化, 细胞核肿胀, 间质渗出增多, B组较M组心肌水肿明显减轻, 间质渗出减少, 表明大剂量缬沙坦能够减轻脓毒症心肌病理损伤。此外, B组大鼠心肌组织的凋亡指数较M组明显降低, 而A组较M组凋亡指数未见明显差异, 通过对心肌组织凋亡细胞的半定量分析, 证实了大剂量缬沙坦对脓毒症大鼠心肌的保护作用。

肌钙蛋白I(TnI)是目前检测心肌损伤敏感性、特异性最高的分子^[25], 通过检测大鼠血清TnI含量的变化, 可以评估心肌损伤的程度。结果发现, 与C组、S组相比, M组血清TnI含量明显升高($P<0.05$), 提示脓毒症心肌损伤造模成功; A组较M组TnI含量降低($P<0.05$), 而B组TnI含量较M组、A组均明显降低($P<0.05$), 表明虽然小剂量缬沙坦能够减轻心肌损伤, 但是大剂量缬沙坦减轻心肌损伤的作用更显著。

脓毒症时, LPS能够促进大量促炎细胞因子的产生, 尤其是TNF- α ^[26]。Grandel等^[27]使用LPS对离体大鼠心脏灌注90 min后出现心脏收缩功能下降的现象, 在心肌抑制的同时TNF- α 逐渐升高。Meng等^[28]使用糖皮质激素抑制TNF- α 的表达、肿瘤坏死因子结合蛋白抑制TNF- α 的活性, 均可减轻内毒素大鼠心肌抑制的程度。MDA是脂质过氧化的产物, 常被用作检测细胞氧化应激损伤的标记物^[29], 本实验选用TNF- α 观察缬沙坦在脓毒症炎症反应及心肌抑制方面的作用, MDA监测缬沙坦能否减轻心肌细胞氧化应激损伤。本研究结果显示, M组TNF- α 和MDA的含量均较C组、S组明显升高($P<0.05$), 表明脓毒症心肌损伤与炎症介质的释放、氧化应激损伤等病

理过程有关。而A组与M组相比, MDA的表达量并无统计学差异($P>0.05$), 这表明小剂量缬沙坦减轻心肌损伤的作用并不显著。B组TNF- α 和MDA的含量均较M组、A组明显降低($P<0.05$), 表明大剂量的缬沙坦能够通过减少炎症介质的释放、减轻心肌抑制、减轻氧化应激损伤来发挥心肌保护作用。

脓毒症时, p38 MAPK的磷酸化参与炎症介质的释放、氧化应激损伤、细胞凋亡等病理过程, 检测p38 MAPK的活化程度能够进一步了解缬沙坦发挥心脏保护作用的分子机制。实验结果发现, M组p-p38 MAPK/p38 MAPK值较C组、S组明显升高($P<0.05$), 表明p38 MAPK的过度激活参与脓毒症时器官功能损伤的发生。而A组与M组相比, p-p38 MAPK/p38 MAPK值无统计学差异($P>0.05$), 表明小剂量缬沙坦抑制p38 MAPK信号通路的作用并不显著。B组p-p38 MAPK/p38 MAPK值较M组、A组均明显降低($P<0.05$), 表明大剂量的缬沙坦能够明显抑制p38 MAPK信号通路的激活, 从而发挥抗炎、抑制凋亡和减轻氧化应激损伤等器官保护作用, 减轻心肌损伤和心肌抑制。

但通过统计各组大鼠在CLP术后不同时间点的生存情况发现, 加用缬沙坦并没有改善脓毒症大鼠的存活率, 这可能是因为脓毒症早期加用缬沙坦后, 抑制了RAS的激活, 从而促进了脓毒症早期低血压的发生。通过绘制生存曲线发现, M组、A组、B组大鼠生存情况虽无统计学差异, 但A组、B组较M组相比死亡率有下降趋势。不能仅凭死亡率来评估缬沙坦的心肌保护作用, 也需要结合心肌形态学改变、凋亡指数、炎症因子、氧化应激以及p38 MAPK的抑制等方面的研究结果进行综合评估。在今后的研究中, 使用缬沙坦时加用血管活性药物以维持血压和组织灌注, 或许能够获得更好的器官保护效果。

综上所述, 缬沙坦能够减轻脓毒症大鼠的心肌抑制和心肌损伤, 这可能是通过抑制p38 MAPK信号通路的激活实现的, 但小剂量的缬沙坦减轻心肌损伤的作用并不显著。因此, 缬沙坦在脓毒症器官保护方面的用法、剂量还需大量实验研究证实。抑制p38 MAPK信号通路可能也不是缬沙坦发挥器官保护作用的唯一途径, 其分子机制仍需继续探索, 未来抑制RAS系统的活性或将成为脓毒症治疗的新靶点。

参考文献 (References)

- 1 Vieillard-Baron A, Caille V, Charron C, Belliard G, Page B, Jardin F. Actual incidence of global left ventricular hypokinesia in adult septic shock. *Crit Care Med* 2008; 36(6): 1701-6.
- 2 庄海舟, 沈潞华, 段美丽, 李 昂, 张淑文. 缬沙坦对脓毒症大鼠心肌损伤保护的实验研究. *中华老年多器官疾病杂志*(Zhuang Haizhou, Shen Luhua, Duan Meili, Li Ang, Zhang Shuwen. Protective effects of valsartan against myocardial injury in rats with sepsis. *Chin J Mult Organ Dis Elderly*) 2007; 6(5): 342-6.
- 3 Tikoo K, Lau SS, Monks TJ. Histone H3 phosphorylation is coupled to poly-(ADP-ribosylation) during reactive oxygen species-induced cell death in renal proximal tubular epithelial cells. *Mol Pharmacol* 2001; 60(2): 394-402.
- 4 Marie C, Roman-Roman S, Rawadi G. Involvement of mitogen-activated protein kinase pathways in interleukin-8 production by human monocytes and polymorphonuclear cells stimulated with lipopolysaccharide or *Mycoplasma fermentans* membrane lipoproteins. *Infect Immun* 1999; 67(2): 688-93.
- 5 Han J, Lee JD, Tobias PS, Ulevitch RJ. Endotoxin induces rapid protein tyrosine phosphorylation in 70Z/3 cells expressing CD14. *J Biol Chem* 1993; 268(33): 25009-14.
- 6 Nick JA, Avdi NJ, Young SK, Lehman LA, McDonald PP, Frasch SC, *et al.* Selective activation and functional significance of p38alpha mitogen-activated protein kinase in lipopolysaccharide-stimulated neutrophils. *J Clin Invest* 1999; 103(6): 851-8.
- 7 Dong J, Ramachandiran S, Tikoo K, Jia Z, Lau SS, Monks TJ. EGFR-independent activation of p38 MAPK and EGFR-dependent activation of ERK1/2 are required for ROS-induced renal cell death. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287(5): F1049-58.
- 8 Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock—a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* 1980; 29(2): 189-201.
- 9 Centers for Disease C. Increase in national hospital discharge survey rates for septicemia—United States, 1979-1987. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1990; 39(2): 31-4.
- 10 Angus DC, Wax RS. Epidemiology of sepsis: an update. *Crit Care Med* 2001; 29(7 Suppl): S109-16.
- 11 Ellrodt AG, Riedinger MS, Kimchi A, Berman DS, Maddahi J, Swan HJ, *et al.* Left ventricular performance in septic shock: reversible segmental and global abnormalities. *Am Heart J* 1985; 110(2): 402-9.
- 12 Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, Green MV, Natanson C, Frederick TM, *et al.* Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med* 1984; 100(4): 483-90.
- 13 Kumar A, Thota V, Dee L, Olson J, Uretz E, Parrillo JE. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum. *J Exp Med* 1996; 183(3): 949-58.
- 14 Wu AHB, Ford L. Release of cardiac troponin in acute coronary syndromes: ischemia or necrosis? *Clin Chim Acta* 1999; 284(2): 161-74.
- 15 Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Egido J. Inflammation and angiotensin II. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35(6): 881-900.
- 16 Correa TD, Jeger V, Pereira AJ, Takala J, Djafarzadeh S, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock: effects on tissue perfusion, organ function, and mitochondrial respiration in a porcine model of fecal peritonitis. *Crit Care Med* 2014; 42(8): e550-9.
- 17 Schaller MD, Waeber B, Nussberger J, Brunner HR. Angiotensin II, vasopressin, and sympathetic activity in conscious rats with endotoxemia. *Am J Physiol* 1985; 249(6 Pt 2): H1086-92.
- 18 Doerschug KC, Delsing AS, Schmidt GA, Ashare A. Renin-angiotensin system activation correlates with microvascular dysfunction in a prospective cohort study of clinical sepsis. *Crit Care* 2010; 14(1): R24.
- 19 Lund DD, Brooks RM, Faraci FM, Heistad DD. Role of angiotensin II in endothelial dysfunction induced by lipopolysaccharide in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293(6): H3726-31.
- 20 Mortensen EM, Restrepo MI, Copeland LA, Pugh JA, Anzueto A, Cornell JE, *et al.* Impact of previous statin and angiotensin II receptor blocker use on mortality in patients hospitalized with sepsis. *Pharmacotherapy* 2007; 27(12): 1619-26.
- 21 Laesser M, Oi Y, Ewert S, Fandriks L, Aneman A. The angiotensin II receptor blocker candesartan improves survival and mesenteric perfusion in an acute porcine endotoxin model. *Acta Anaesthesiol Scand* 2004; 48(2): 198-204.
- 22 Tadros T, Traber DL, Herndon DN. Trauma- and sepsis-induced hepatic ischemia and reperfusion injury: role of angiotensin II. *Arch Surg* 2000; 135(7): 766-72.
- 23 Hagiwara S, Iwasaka H, Hidaka S, Hasegawa A, Koga H, Noguchi T. Antagonist of the Type-1 ANG II receptor prevents against LPS-induced septic shock in rats. *Intensive Care Med* 2009; 35(8): 1471-8.
- 24 Macedo R, Javadi SM, Higuchi T, Carvalho MD, Medeiros Vde F, Azevedo IM, *et al.* Heart and systemic effects of statin pretreatment in a rat model of abdominal sepsis. Assessment by Tc99m-sestamibi biodistribution. *Acta Cir Bras* 2015; 30(6): 388-93.
- 25 Mehta NJ, Khan IA, Gupta V, Jani K, Gowda RM, Smith PR. Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *Int J Cardiol* 2004; 95(1): 13-7.
- 26 Natanson C, Eichenholz PW, Danner RL, Eichacker PQ, Hoffman WD, Kuo GC, *et al.* Endotoxin and tumor necrosis factor challenges in dogs simulate the cardiovascular profile of human septic shock. *J Exp Med* 1989; 169(3): 823-32.
- 27 Grandel U, Fink L, Blum A, Heep M, Buerke M, Kraemer HJ, *et al.* Endotoxin-induced myocardial tumor necrosis factor-alpha synthesis depresses contractility of isolated rat hearts: evidence for a role of sphingosine and cyclooxygenase-2-derived thromboxane production. *Circulation* 2000; 102(22): 2758-64.
- 28 Meng X, Ao L, Meldrum DR, Cain BS, Shames BD, Selzman CH, *et al.* TNF-alpha and myocardial depression in endotoxemic rats: temporal discordance of an obligatory relationship. *Am J Physiol* 1998; 275(2 Pt 2): R502-8.
- 29 Czarska M, Mikolajewska K, Zielinski M, Gromadzinska J, Wasowicz W. Today's oxidative stress markers. *Med Pr* 2015; 66(3): 393-405.