文章编号:1000-5404(2010)13-1403-05

论著

低频复合生理频率电刺激对慢性低压缺氧兔颏舌肌肌球蛋白重链表达的影响

张 妮,刘 熙,刘 刚 (400038 重庆,第三军医大学西南医院呼吸内科)

[摘要] **目的** 研究低频复合生理频率慢性电刺激对低压缺氧兔颏舌肌肌球蛋白重链(myosin heavy chain,MHC)亚型表达的影响。**方法** 成年日本大白兔24只,雌雄不拘,体质量(2.3±0.1)kg,按随机数字表法分为4组(n=6)。A:正常对照组,B:慢性低压缺氧组,C:10 Hz电刺激组,D:10+40 Hz电刺激组。B、C、D组兔置于慢性低压缺氧环境中饲养后,分别给予C组兔颏舌肌低频(10 Hz)电刺激,D组兔颏舌肌低频复合生理频率(10+40 Hz)电刺激,B组兔不予电刺激。采用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳及半定量反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)法,分析4组颏舌肌MHC各亚型表达变化。**结果** ①与正常对照组比较,慢性低压缺氧组颏舌肌MHC Ⅰ亚型比例减少[(0.69±0.07)% *vs*(17.48±4.00)%,P<0.05],MHC Ⅱa亚型比例增加[(79.89±5.09)% *vs*(73.33±4.17)%,P<0.05];MHC Ⅰ亚型mRNA表达量下降[(0.69±0.07) *vs*(1.05±0.06),P<0.05]。②与慢性低压缺氧组比较,10 Hz电刺激组颏舌肌MHC Ⅰ亚型比例[(18.78±3.49)% *vs*(11.37±4.27)%,P<0.05]及10+40 Hz电刺激组颏舌肌MHC Ⅰ亚型比例[(23.40±4.65)% *vs*(11.37±4.27)%,P<0.05]均增加,而10+40 Hz电刺激组颏舌肌MHC Ⅱa亚型比例[(67.90±5.66)% *vs*(79.89±5.09)%,P<0.05]减少;与慢性低压缺氧组比较,10 Hz电刺激组颏舌肌MHC Ⅰ亚型mRNA表达量[(0.79±0.07) *vs* (0.69±0.07),P<0.05]及10+40 Hz电刺激组颏舌肌MHC Ⅰ亚型mRNA表达量[(0.97±0.08) *vs* (0.69±0.07),P<0.05]均增高,而MHC Ⅱa亚型mRNA表达量差异不显著。**结论** 慢性电刺激后低压缺氧兔颏舌肌MHC呈现Ⅱa向Ⅰ型转变,即"由快向慢"转变。其中低频复合生理频率电刺激组变化的趋势更加明显。

[关键词] 慢性电刺激;颏舌肌;MHC亚型
[中图法分类号] R322.41;R363.124;R394.2 **[文献标志码]** A

Effect of electrical stimulus at a low physiological frequency on expression of myosin heavy chain in genioglossus of rabbits with chronic hypoxia

Zhang Ni, Liu Xi, Liu Gang (Department of Respiratory Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of chronic electrical stimulus at a low physiological frequency on the expression of myosin heavy chain (MHC) in genioglossus of rabbits with chronic hypoxia. **Methods** Twenty-four adult rabbits, weighing 2.3±0.1kg, were randomized into control group (A), chronic hypoxia group (B), 10 Hz electrical stimulus group (C), and 10+40 Hz electrical stimulus group (D). Rabbits in groups C and D received electrical stimulus of genioglossus at a frequency of 10 Hz and 10+40 Hz, respectively, while those in group B received no electrical stimulus, after they were placed in a hypobaric hypoxia cabin, 8 h a day for 5 weeks, with free access to food and water. Expression of MHC in genioglossus of rabbits in the 4 groups was detected by SDS-PAGE and semi-quantitative inverse transcription RT-PCR, respectively. **Results** The expression level of MHCⅠand MHCⅠmRNA was significantly lower while that of MHC Ⅱa was significantly higher in group B than in group A [(0.69±0.07)% *vs* (17.48±4.00)%, (0.69±0.07)% *vs* (1.05±0.06)%, and (79.89±5.09)% *vs* (73.33±4.17)%, P<0.05]. The expression level of MHC Ⅰ was significantly higher in groups C and D than in group B [(18.78±3.49)% *vs* (11.37±4.27)%, and (79.89±5.09)% *vs* (73.33±4.17)%, P<0.05], while that of MHC Ⅱa was significantly lower in groups C and D than in group B [(67.90±5.66)% *vs* (79.89±5.09)%, (79.89±5.09)% *vs* (73.33±4.17)%, P<

[基金项目] 重庆市科技攻关资助项目(CSTC2005AC5060);第三军医大学第一附属医院临床研究专项基金(SW2004009)
[通信作者] 刘 刚,电话:(023)68754115,E-mail:liugang6399@sohu.com

0.05]. The expression level of MHC I mRNA was significantly higher in groups C and D than in group B [(0.79 ± 0.07)% *vs* (0.69 ± 0.07)%, (0.97 ± 0.08)% *vs* (0.69 ± 0.07)%, $P < 0.05$]. No significant difference was found in expression of MHC Ⅱa mRNA between groups C, D and B. **Conclusion** MHC Ⅱa in genioglossus of rabbits with chronic hypoxia is transformed to MHC I, namely from rapid to slow transformation, after chronic electrical stimulus, especially at a low physiological frequency.

[Key words] chronic electrical stimulus; genioglossus; subtypes of myosin heavy chain

Scientific and technological project in Chongqing, China (CSTC2005AC5060). Corresponding author: Liugang Tel: 86-23-68754115; E-mail: liugang6399@sohu.com

阻塞型睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome, OSAHS)是指在睡眠期间反复发生上气阻塞并引起呼吸暂停的疾病。OSAHS患者症状为白天嗜睡、疲劳以及因睡眠片段化而导致的睡眠质量差,存在慢性高碳酸和低氧血症[1],严重危害身体健康及生活质量。舌根松弛、舌体或舌根肥厚导致舌后坠是引起OSAHS的常见病因之一。颏舌肌是最主要的上气道扩张肌,正常收缩时舌体前移,可以阻止咽腔的缩小并对抗气流的阻力,维持气道开放。颏舌肌功能的丧失是引起大多数OSAHS患者气道闭塞加重的主要因素之一[2]。因此,如何改善颏舌肌收缩功能成为目前治疗OSAHS的研究热点。本实验根据OSAHS患者慢性间断性低氧的特点建立慢性低压缺氧兔模型,模拟OSAHS疾病状态。根据骨骼肌对电刺激的适应性改变规律,我们采用慢性低频(10 Hz)及低频复合生理频率(10 +40 Hz)电刺激慢性低压缺氧兔的颏舌肌。观察低频复合生理频率慢性电刺激(low and physiological frequency chronic electrical stimulation, LPCES)对颏舌肌肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)亚型的表达的变化情况,为LPCES作为最佳频率模式治疗OSAHS提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物和材料

1.1.1 实验动物与分组 实验选用普通级成年日本大白兔24只,雌雄不拘,体质量(2.3 ± 0.1)kg,由第三军医大学实验动物中心提供。随机数字表随机分为4组(n = 6):A,正常对照组;B,慢性低压缺氧组;C,10 Hz电刺激组;D,10 +40 Hz电刺激组。A组动物不做实验处理。B、C、D组在建立慢性低压缺氧兔模型4周后,同时安装颏舌肌组织刺激电极。10 Hz电刺激组及10 +40 Hz电刺激组分别给予相应模式颏舌肌组织慢性电刺激14 d,慢性低压缺氧组不予电刺激。电刺激结束后,一并处死各组动物,颏舌肌组织取材并液氮保存。

1.1.2 实验器材 动物低压低氧舱(中国贵航集团风雷军械厂),自制变频便携式体外电刺激仪,高速冷冻台式离心机(型号:5810R eppendorf 德国),多功能酶标仪(型号:SYEMLGY HT BIO-TEK 美国),基因扩增仪(型号:GeneAmp PCR System 9700 美国),电泳仪(型号:DYY-8C 北京六一仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 慢性低压缺氧兔模型的制备 参照文献[3]方法,将慢性低压缺氧组、10Hz电刺激组及10 +40 Hz电刺激组家兔间断置入低压低氧舱内饲养。舱内模拟海拔高度5 000 m(压力54.047 kPa,氧浓度10% ~11%),上升时间约15 min,缺氧10 h后,以减压相同的速度下降达海平面高度。动物在间断低压低氧环境下持续饲养4周。舱内食物、饮水及活动范围与舱外相同。正常对照组动物舱外对照饲养。

1.2.2 兔颏舌肌慢性电刺激

1.2.2.1 兔颏舌肌组织刺激电极安装的手术方法 电极的安装方法参照文献[4]方法改进。动物用3%戊巴比妥钠30 mg/kg沿耳缘静脉注入麻醉,动物角膜反射减弱后仰卧固定。常规消毒下颌区,沿中线做纵行切口,暴露下颌骨。下颌骨中缝距唇缘约2 cm处为电极植入处。在12号注射针头引导穿刺下,将铜质刺激电极(电极呈钩状,直径约0.5 mm,)经下颌骨植入约2 cm,达双侧颏舌肌下颌骨起点处。皮下缝合固定电极。电极的绝缘部分在下颌区及颈部皮下潜行后,在耳后引出、固定。电极外接端连接自制变频便携式体外电刺激仪,输出电刺激后,动物有伸舌运动且居中,表明电极植入位置正确。术中注意止血及无菌操作,术后青霉素80×10^4 U肌肉注射,1/d,共3 d。

1.2.2.2 兔颏舌肌慢性电刺激及取材 术后采用自行研制的变频便携式体外电刺激仪进行慢性电刺激。10 Hz及10 +40 Hz电刺激组选择相应的刺激频率,45/min,波宽0.3 ms,输出电压3 V。刺激时间为:10 h/d,共14 d。同时进行正常对照组、慢性低压缺氧组、10 Hz电刺激组及10 +40 Hz电刺激组颏舌肌组织取材、称量、液氮中保存。

1.2.3 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析兔颏舌肌MHC亚型蛋白比例 配胶及电泳参照文献[5,6]方法,配制8%分离胶和5%浓缩胶。肌原纤维(myofibril)提取参照Solaro法[7],取颏舌肌组织约40 mg,溶液体积为0.2 ml,调整浓度1 mg/ml,-20 ℃存放。上样前加入等量加样缓冲液混匀,100 ℃变性3 ~5 min,按每泳道加入蛋白含量10 μg上样。电泳:恒压80 V,持续20 h,冰上进行。电泳结束后,marker 220×10^3附近取凝胶,考马斯亮蓝R250染色,生物电泳图像分析系统(复日FR-980)照相。用Quantity One软件分析电泳条带光密度分布

曲线下面积测定,其值表示 MHC 各亚型的相对含量。

1.2.4 RT-PCR 测定兔颏舌肌 MHC 4 个亚型 mRNA 表达 ①总 RNA 提取。②反转录:Rever Tre Ace-a-逆转录试剂盒购自 TOYOBO 公司。cDNA 第 1 链的合成,按试剂盒说明书,然后进入 PCR 反应。③聚合酶链反应:引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,见表 1。构建 20 μl 反应体系,反应管置于聚合酶链反应扩增仪,设定反应条件:94 ℃—5 min→(94 ℃—30 s→61 ℃—30 s→72 ℃—30 s) × 29→72 ℃—10 min。④电泳:PCR 反应完成后,取 5 μl 反应液在 1.0% 琼脂糖凝胶电泳,电泳电压 60 V,30 min。胶块在生物电泳图像分析系统(复日 FR-980)中摄片保存,用 Quantity One 软件分析电泳条带,比较吸光度比值(目的基因条带净吸光度/内参基因条带净吸光度)。

表 1 兔颏舌肌 MHC 4 个亚型及内参引物序列

基因名称	引物序列	产物长度(bp)
MHC Ⅰ	上游:5′-GCGGCGCATCAAGGAGC-3′ 下游:5′-CTCGGCCTGGCGCTTGT-3′	118 bp
MHC Ⅱa	上游:5′-CGAGGAGAGGGCTGACATTGC-3′ 下游:5′-CAGGACTTGGCTCACTCTTCACT-3′	102 bp
MHC Ⅱb	上游:5′-CGGGTGAAGAGCAGAGACGT-3′ 下游:5′-TGCATTTCTTTGGTCACCTTTTA-3′	84 bp
MHC Ⅱx	上游:5′-GCGTGAAGAGCCGGGAAG-3′ 下游:5′-CCCAAAATCGATAAGTACAAAACAGA-3′	132 bp
GAPDH	上游:5′-GGGCATCCTGGGCTACACTGAG-3′ 下游:5′-GGGTCTCTCTCTTCCTCTTGTGCT-3′	247 bp

1.3 统计学方法

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 方式表示,用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 动物一般特征的变化

实验前及实验后动物体质量差异无显著性意义($P > 0.05$),颏舌肌重量差异亦无显著性意义($P > 0.05$),见表 2。实验处理方法对动物体质量及颏舌肌重量无显著影响。

表 2 实验前后家兔体质量及颏舌肌质量的比较($n = 6$, g, $\bar{x} \pm s$)

组别	实验前体质量	实验后体质量	颏舌肌质量
正常对照组	2 311.50 ± 118.86	2 285.50 ± 107.83	0.402 ± 0.012
慢性低压缺氧组	2 320.00 ± 170.16	2 290.83 ± 147.57	0.373 ± 0.050
10Hz 电刺激组	2 242.67 ± 144.86	2 172.33 ± 158.42	0.391 ± 0.049
10 + 40 Hz 电刺激组	2 312.50 ± 152.40	2 277.83 ± 168.18	0.392 ± 0.048

2.2 SDS-PAGE 凝胶电泳分析 LPCES 对慢性低压缺氧兔颏舌肌 MHC 亚型比例的变化

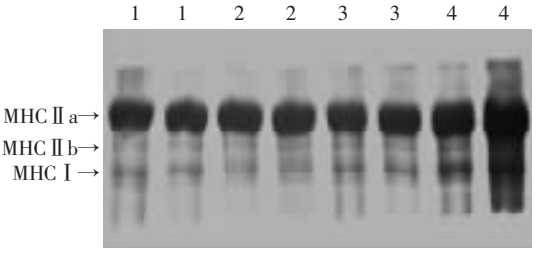
兔颏舌肌 MHC 主要由Ⅱa、Ⅰ两种异构体组成,其中 MHC Ⅱa 亚型的比例最高。正常对照组颏舌肌 MHC Ⅱa 亚型比例约占 73%,MHC Ⅰ亚型比例约占 17%。与正常对照组比较,慢性低压缺氧组颏舌肌 MHC Ⅱa 亚型比例显著增加($P < 0.05$),而 MHC Ⅰ亚型比例显著减少($P < 0.05$);与慢性低压缺氧组比较,10 Hz 电刺激组 MHC Ⅱa 亚型比例稍减少但无统计学意义,而 MHC Ⅰ亚型比例显著增加($P < 0.05$);与慢性低压缺氧组比较,10 + 40 Hz 电刺激组 MHC Ⅱa 亚型比例显著减少($P < 0.05$),而 MHC Ⅰ亚型比例显著增加($P < 0.05$)。10 + 40 Hz 电刺激组与 10Hz 电刺激组 MHC 亚型变化趋势相同,呈现Ⅱa 向Ⅰ型转变,Ⅱa 型比例减少且Ⅰ型比例增加。但 10 + 40 Hz 电刺激组变化的趋势更加显著,与慢性低压缺氧组比较其 MHC Ⅰ亚型的比例增加多达约 12%。4 组间 MHC Ⅱb 亚型的比例无统计学差异($P > 0.05$)。见表 3,图 1。

表 3 LPCES 后低压缺氧兔颏舌肌 MHC 亚型比例的变化

[$n = 6$, ($\bar{x} \pm s$)%]

组别	Ⅱa	Ⅱb	Ⅰ
正常对照组	73.33 ± 4.17	8.11 ± 3.33	17.48 ± 4.00
慢性低压缺氧组	79.89 ± 5.09[a]	8.75 ± 2.20	11.37 ± 4.27[a]
10 Hz 电刺激组	74.40 ± 4.64	6.83 ± 1.96	18.78 ± 3.49[b]
10 + 40 Hz 电刺激组	67.90 ± 5.66[bc]	8.76 ± 2.09	23.40 ± 4.65[ab]

a:$P < 0.05$,与正常对照组比较;b:$P < 0.05$,与慢性低压缺氧组比较;c:$P < 0.05$,与 10 Hz 电刺激组比较



1:正常对照组;2:慢性低压缺氧组;3:10Hz 电刺激组;4:10 + 40 Hz 电刺激组

图 1 SDS-PAGE 分离兔颏舌肌 MHC 亚型结果

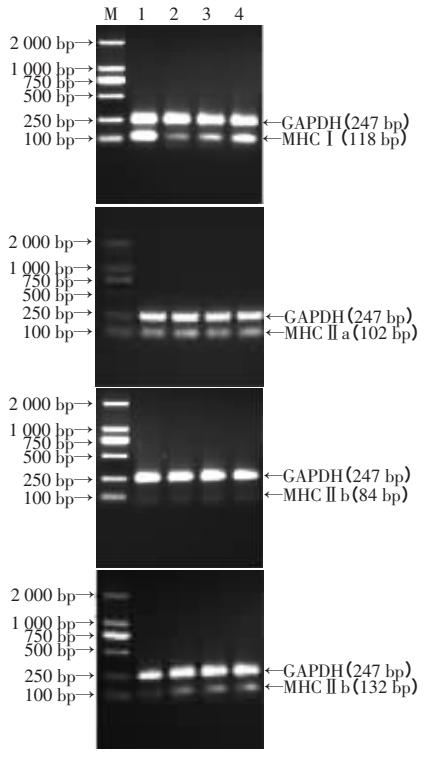
2.3 RT-PCR 分析 LPCES 对慢性低压缺氧兔颏舌肌 MHC 亚型 mRNA 表达的变化

由表 4、图 2 可见,与正常对照组比较,慢性低压缺氧组颏舌肌 MHC Ⅰ亚型 mRNA 表达量显著下降($P < 0.05$);与慢性低压缺氧组比较,10Hz 电刺激组 MHC Ⅰ亚型 mRNA 表达量稍有上升,但差异不显著($P > 0.05$);与慢性低压缺氧组比较,10 + 40 Hz 电刺激组 MHC Ⅰ亚型 mRNA 表达量显著上升($P < 0.05$);与 10 Hz 电刺激组比较,10 + 40 Hz 电刺激组 MHC Ⅰ亚型 mRNA 表达量上升明显($P < 0.05$)。结果显示慢性低频电刺激可能引起 MHC Ⅰ亚型 mRNA 表达上调,LPCES 后这种变化趋势更显著。MHC Ⅱa,MHC Ⅱb 及 MHC Ⅱx 三种亚型 mRNA 表达量结果分析在 4 个实验组组间差异不明显($P > 0.05$)。

表 4 LPCES 后低压缺氧兔颏舌肌 MHCl 亚型 mRNA 表达量(MHC/GAPDH 内参)的变化($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	MHC Ⅰ	MHC Ⅱa	MHC Ⅱb	MHC Ⅱx
正常对照组	1.05 ± 0.06	0.61 ± 0.03	0.27 ± 0.04	0.60 ± 0.05
慢性低压缺氧组	0.69 ± 0.07[a]	0.65 ± 0.05	0.30 ± 0.05	0.57 ± 0.09
10 Hz 电刺激组	0.79 ± 0.07[ab]	0.64 ± 0.05	0.30 ± 0.03	0.62 ± 0.06
10 + 40 Hz 电刺激组	0.97 ± 0.08[bc]	0.66 ± 0.05	0.29 ± 0.05	0.63 ± 0.05

a:$P < 0.05$,与正常对照组比较;b:$P < 0.05$,与慢性低压缺氧组比较;c:$P < 0.05$,与 10Hz 电刺激组比较



M:DNA 标准(DL 2000)1:正常对照组;2:慢性低压缺氧组;3:10Hz 电刺激组;4:10 +40Hz 电刺激组

图2 RT-PCR 分析兔颏舌肌 MHC 亚型 mRNA 表达电泳结果

3 讨论

3.1 骨骼肌 MHC 各亚型的特点及电刺激对 MHC 亚型转变的影响

肌球蛋白(Myosin)是构成骨骼肌纤维内粗肌丝的主要成分,是骨骼肌细胞中表达最多的蛋白,占总蛋白的25%。肌球蛋白由两条重链(myosin heavy chain, MHC)和两对不同的轻链(myosin light chain, MLC)组成,肌球蛋白重链相对分子质量约为 200×10^3,肌球蛋白轻链相对分子质量为$(17\sim23)\times10^3$。由于 MHC 是整个肌球蛋白分子 ATP 酶活性的主要决定者,且 MHC 与肌纤维的收缩力密切相关[8]。因此,分析 MHC 在不同条件下表型变化显得尤为重要。

肌球蛋白重链在成年骨骼肌有Ⅰ、Ⅱa、Ⅱb 和Ⅱx 4种蛋白异构体类型,其电泳迁移率的大小顺序为Ⅱa < Ⅱx < Ⅱb < Ⅰ。由于普通的6% SDS-聚丙烯酰胺电泳无法将Ⅱx 从Ⅱa 中分离出,通常将Ⅱx 归于Ⅱa。因此本实验采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法,检测出3条肌球蛋白条带。Ⅰ型纤维称慢性收缩氧化型纤维,具有耐疲劳的特点[9],但肌力较弱;Ⅱa 型纤维称快收缩氧化糖酵解型纤维,收缩速度较快,不易疲劳,但耐疲劳能力较Ⅰ型纤维弱;Ⅱb 型称快收缩糖酵解纤维,主要影响肌肉收缩力,但易疲劳。

在肌肉发育中,慢肌纤维的出现总是依赖于慢运动神经元的支配。根据慢和快运动神经元发出冲动的特征,模仿通常用来支配慢肌的神经冲动方式形成了慢性低频率电刺激模式(chronical low frequency electromyostimulation, CLFS)[10]。

3.2 慢性低压缺氧对兔颏舌肌 MHC 亚型的影响

本实验结果显示与正常对照组比较,慢性低压缺氧兔颏舌肌 MHC Ⅰ亚型比例显著减少,MHC Ⅱa 亚型比例显著增加;并且慢性低压缺氧组颏舌肌 MHC Ⅰ亚型 mRNA 表达量亦显著下降。研究[11]报道将 Wistar 鼠置于模拟 5500 m 海拔环境中 4 周后,比目鱼肌 MHC Ⅰ型显著下降, MHC Ⅱa 亚型增加,肌纤维转换方向与我们实验结果一致。在缺氧环境中多数骨骼肌 MHC 亚型转换都是 MHC Ⅰ型下降, MHC Ⅱa 增加,低氧因素可能引发骨骼肌 MHC 亚型的转换。

Friberg 等[12]研究显示,OSAHS 大部分患者的咽部扩张肌肉肌球蛋白Ⅰ型肌纤维明显减少,而Ⅱ型肌纤维却相对增多。肌纤维转换方向与我们动物实验结果是一致的,可能与 OSAHS 患者慢性缺氧有关。Ⅰ型肌纤维具有张力和姿势维持功能,Ⅰ型肌纤维的减少和萎缩可导致咽部扩张肌抗疲劳能力减低,上气道更容易发生阻塞塌陷,上气道的阻塞正是 OSAHS 患者上气道最基本的结构改变[13]。

3.3 低频复合生理频率电刺激对兔颏舌肌 MHC 亚型的影响

骨骼肌对电刺激适应性变化的规律是,慢性低频率电刺激后 MHC Ⅰ亚型增加,生理频率慢性电刺激后 MHC 各亚型比例相对维持正常,但各类型功能增强。颏舌肌属于骨骼肌,电刺激可使颏舌肌产生与其他骨骼肌类似的适应性改变。以往我们的研究证实了不同频率慢性电刺激可诱导膈肌 MHC 亚型发生相应的适应性转变[14]。

本实验结果显示与慢性低压缺氧组比较,10 Hz 电刺激组及 10 +40 Hz 电刺激组兔颏舌肌 MHC Ⅰ亚型比例增加,MHC Ⅱa 亚型减少,并且 MHC Ⅰ亚型 mRNA 表达明显上升。可见,LPCES 后慢性低压缺氧兔颏舌肌呈现Ⅱa 向Ⅰ型转变。比较两个频率电刺激模式,10 +40 Hz 电刺激组变化的趋势更加明显,与慢性低压缺氧组比较其 MHCⅠ型的比例增加多达约 12%。而 MHCⅠ亚型比例的增加可改善颏舌肌的抗疲劳能力,减少颏舌肌疲劳引起的舌后坠及上气道的塌陷。LPCES 综合了低频和生理频率两种电刺激的优势,提示 LPCES 是增强颏舌肌抗疲劳能力的较佳的频率模式。

目前对于 OSAHS 治疗的方法主要有减肥、改变生活习惯、口腔矫正器、手术和持续正压通气呼吸机治疗。对于中重度 OSAHS 患者,手术和持续正压通气呼吸机治疗(continuous positive airway pressure, CPAP)是目前较为有效的治疗手段,但都存在不同的并发症。CPAP 由于治疗成本、舒适性、心理认同等因素,其依

从性差别甚大,从而造成其确切疗效的不稳定性[15]。LPCES 颏舌肌作为一种新的治疗方式,可以实现对颏舌肌肌纤维亚型有益的重构,进而改善颏舌肌的抗疲劳能力,减少舌后坠,起到治疗 OSAHS 的目的,但其在临床使用的具体方法有待进一步的研究。

参考文献:

[1] 邴宇红, 邵宏伟, 洪丽梅. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征发生慢性高碳酸血症的相关因素探讨[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2008, 25(3): 294 - 295.
[2] Berger A J. Determinants of respiratory motoneuron output[J]. Respir Physiol, 2000, 122(2 - 3): 259 - 269.
[3] 赵黎明, 李兵, 修清玉, 等. 持续气道正压通气对阻塞性睡眠呼吸暂停综合征小型猪血浆 NO、ET 浓度及心肌结构的影响[J]. 第二军医大学学报, 2009, 30(6): 680 - 683.
[4] Pae E K, Hyatt J P, Wu J, *et al*. Short-term electrical stimulation alters tongue muscle fibre type composition[J]. Arch Oral Biol, 2007, 52(6): 544 - 551.
[5] Talmadge R J, Roy R R. Electrophoretic separation of rat skeletal muscle myosin heavy-chain isoforms[J]. J Appl Physiol, 1993, 75(5): 2337 - 2340.
[6] Warren C M, Greaser M L. Method for cardiac myosin heavy chain separation by sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis[J]. Anal Biochem, 2003, 320(1): 149 - 151.
[7] Solaro R J, Pang D C, Briggs F N. The purification of cardiac myofibrils with Triton X-100[J]. Biochim Biophys Acta, 1971, 245(1): 259 - 262.
[8] Andruchov O, Andruchova O, Wang Y, *et al*. Kinetic properties of myosin heavy chain isoforms in mouse skeletal muscle: comparison with rat, rabbit, and human and correlation with amino acid sequence[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2004, 287(6): C1725 - C1732.
[9] 李东颖, 任文君. 肌球蛋白结构和功能变化与运动的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(32): 6458 - 6464.
[10] 李江华, 刘承宜. 骨骼肌纤维类型在不同的条件下的转化研究[J]. 首都体育学院学报, 2008, 20(2): 50 - 54.
[11] Bigard A X, Sanchez H, Birot O, *et al*. Myosin heavy chain composition of skeletal muscles in young rats growing under hypobaric hypoxia conditions[J]. J Appl Physiol, 2000, 88(2): 479 - 486.
[12] Friberg D, Ansved T, Borg K, *et al*. Histological indications of a progressive snorers disease in an upper airway muscle[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 157 (2): 586 - 593.
[13] Martins A B, Tufik S, Moura S M. Physiopathology of obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome[J]. J Bras Pneumol, 2007, 33(1): 93 - 100.
[14] 邓永红, 李军梅, 刘刚. 低频复合生理频率慢性电刺激对肺气肿兔膈肌力学特性的影响[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(6): 510 - 513.
[15] Rosenberg R, Doghramji P. Optimal treatment of obstructive sleep apnea and excessive sleepiness[J]. Adv Ther, 2009, 26(3): 295 - 312.

(**收稿**:2010-04-01;**修回**:2010-05-05)
(编辑 栾 嘉)

(上接 1402 页)

与术前相比,两组术后 2 h 和 6 h VT、VC 及 SpO_2 均有不同程度的降低($P<0.05$),PV 组在术后 24 h 恢复,CV 组仍低于术前水平($P<0.05$),术后 48 h 恢复。PV 组术后 2、6 h VT 及 VC 均高于 CV 组($P<0.05$)。与术前相比,两组术后 2、6 h RR 增加($P<0.05$),PV 组在术后 24 h 恢复,CV 组仍高于术前($P<0.05$),至术后 48 h 恢复。

3 讨论

研究证实适当的高碳酸血症对肺有保护作用,可能与肺组织抗氧化能力增强,脂质过氧化物损伤减轻等因素有关[5]。但也有研究认为高碳酸血症抵消了保护性肺通气对肺脏的保护作用,引发并发症,使病死率增加,在肺保护性通气过程中若强求小潮气量和 $PaCO_2$ 升高,可能产生较多副作用[6]。本研究采用 VT 6 ml/kg,PEEP 3 ~ 5 mmH_2O,RR 16/min 的通气策略。结果显示随着手术时间延长,PV 组 $PaCO_2$ 升高,pH 值降低的程度增加,在气管插管后 120 min 时尤为明显,但血气分析显示为轻度高碳酸血症或未产生高碳酸血症,反映了适当增加通气频率有助于减少或避免高碳酸血症发生且恢复迅速,PV 组在术后 24 h 即恢复正常。所有患者在手术中各时点 OI 值及 SpO_2 均正常,在术后 2 h OI 值降低,CV 组低于 PV 组,但这种变化在正常范围内,说明术中应用这种小潮气量,低 PEEP 的通气策略未引起患者机体氧供不足及 CO_2 蓄积。

两组患者术后 6 h 内 VT、VC 及 SpO_2 都有不同程度的下降,CV 组较 PV 组下降更明显,术后逐渐回升,PV 组在术后 24 h 基本恢复至术前水平,CV 组在术后 48 h 恢复。可能是 PV 组采用小潮气量与产生的低气道压避免了肺泡过度充气与损伤的发生,使患者术后潮气量和肺活量迅速恢复。同时,相应时点 RR 增加,可能与补偿分钟通气量不足有关,术后所有时点的 SpO_2 均 >95%。表明本通气策略在保证患者机体氧合及氧供的同时,对于呼吸功能的保护作用优于传统的机械通气,对术后患者呼吸功能的早期恢复有积极作用。虽然与 CV 组比,PV 组术后肺部并发症的发生率并无变化,但呈下降趋势,需要更多样本的临床设计来证实肺保护性通气策略在减少术后肺部并发症方面的优越性。

参考文献:

[1] 陈纪伟, 覃稚华, 贺银成, 等. 腹部手术后院内肺炎的危险因素分析[J]. 临床外科杂志, 2001, 9(2): 94 - 95.
[2] Fernandez-Perez E R, Keegan M T, Brown D R, *et al*. Intraoperative tidal volume as a risk factor for respiratory failure after pneumonectomy [J]. Anesthesiology, 2006, 105(1): 14 - 18.
[3] Brooks-Brunn J A. Predictors of postoperative pulmonary complications following abdominal surgery[J]. Chest, 1997, 111(3): 564 - 571.
[4] The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome[J]. N Engl J Med, 2000, 342(18): 1301 - 1308.
[5] Singleton K D, Serkova N, Beckey V E, *et al*. Glutamine attenuates lung injury and improves survival after sepsis: role of enhanced heat shock protein expression[J]. Crit Care Med, 2005, 33(6): 1206 - 1213.
[6] Brower R G, Rubenfeld G D. Lung-protective ventilation strategies in acute lung injury[J]. Crit Care Med, 2003, 31(4 Suppl): S312 - S316.

(**收稿**:2009-12-14;**修回**:2010-03-16)
(编辑 邓强庭)