DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.10.038
第24卷第10期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 10
2002年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2002

文章编号:1000-5404(2002)11-1211-03

论著

兔心肌挫伤心功能障碍与心肌细胞内 Ca^{2+} 和线粒体 ATP 酶的变化

闵家新[1],朱佩芳[2],王正国[2] (第三军医大学:[1]附属新桥医院胸外科,重庆 400037;[2]附属大坪医院野战外科研究所第四研究室,重庆 400042)

提 要:目的 探讨心肌细胞内游离钙([Ca^{2+}]i)和心肌 ATP 酶变化在心肌挫伤(MC)后心功能障碍发生机制中的意义。方法 随机选取兔 36 只,分为 6 组:正常对照、伤后 2、4、8、12、24 h,每组 6 只。经右颈总动脉插管至左心室测左室压力。采用 BIM-Ⅱ型生物撞击机致成 MC 模型。在上述时相点测定左室压力,并测定心肌细胞内[Ca^{2+}]i 和心肌匀浆组织及线粒体 ATP 酶活力。结果 心脏收缩/舒张功能受到损害,心肌细胞内[Ca^{2+}]i 升高,心肌匀浆组织及线粒体 ATP 酶下降,相关分析表明心功能障碍与心肌细胞内[Ca^{2+}]i 含量升高呈明显负相关,与 ATP 酶活性降低呈明显正相关。结论 MC 后心脏功能下降,心肌细胞内[Ca^{2+}]i 含量升高和 ATP 酶活性下降可能是其原因之一。

关键词:创伤;心肌挫伤;心脏功能;游离钙;ATP 酶
中图法分类号:R322.11;R642;R654.2 文献标识码:A

Mechanism of cardiac dysfunction after myocardial contusion in rabbits

MIN Jia-xin, ZHU Pei-fang, WANG Zheng-guo (Department of Thoracic Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract **Objective** To explore the roles of intramyocardial calcium and myocardial ATPase in the mechanism of the cardiac dysfunction after myocardial contusion(MC) in rabbits. **Methods** The models of MC were established with BIM-Ⅱ Bio-impactor on 36 rabbits. Cardiac functions, free calcium content and the ATPase activity in myocardial tissues and cardiomyocytic mitochondria before and 0.5, 2, 4, 6, 8, 12 and 24 h after injury. **Results** The cardiac functions were impaired. The free calcium in myocardial cells was higher; The activities of the Ca^{2+}-ATPase and Na^{+}-K^{+}-ATPase in the homogenate of myocardial tissue and the cardiomyocytic mitochondria were decreased markedly after MC. There was a negative correlation between the cardiac functions with the free calcium and positive correlation between the cardiac functions with the activity of the ATPase in myocardial cells. **Conclusion** The cardiac functions are changed obviously after MC. The increase of the free calcium and the decrease of the activity of the ATPase in myocardial tissues and cardiomyocytic mitochondria might contribute to cardiac dysfunction after MC.

Key words: trauma; myocardial contusion; cardiac function; free calcium; ATPase

钝性心脏损伤以心肌挫伤(Myocardial contusion, MC)最为常见,发生率为 9%~76%,常出现程度不等的心脏并发症,如严重心律失常、充血性心力衰竭及心源性休克等,发生率约 5%[1,2]。MC 后心功能障碍除与创伤本身有关外,是否还有其它原因目前研究较少。临床医师对 MC 后心功能障碍往往认识不足而被漏诊或误诊。本研究旨在观察 MC 后心脏收缩/舒张功能的变化及其恢复时间的异同,同时观察心肌细胞内游离钙含量及 ATP 酶活性的变化及其与心功能障碍之间的关系,为临床诊治 MC 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及致伤方法

随机选取兔 36 只,雌雄不限,体重 1.8~2.7 kg。经耳缘静脉注射 3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,然后将兔固定于兔架上,剪去胸部兔毛。经右颈总动脉插管至左心室测左室压力。采用大坪医院野战外科研究所第四研究室自行研制的 BIM-Ⅱ型生物撞击机撞击兔胸部,致成兔中至重度 MC 模型[3]。

1.2 指标检测

分别在伤前、伤后 2、4、8、12、24 h 测定血液动力学变化,并采用 Fluo-3 标记,流式细胞仪(Beckman counlter ESP)测定心肌细胞内游离钙平均通道荧光。同时测定心肌匀浆组织和线粒体 ATP 酶活力(试剂盒由南京建成生物工程研究所提供,操作方法按药盒说明书进行)。

1.3 统计学处理

数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,分别采用 t 检验、方差分析和直线相关分析进行统计学处理。

2 结果

2.1 左心室功能变化

左心室收缩/舒张功能下降,代表左心室收缩功能的主要指标[左室收缩末压(LVESP)、左室内压最大上升速率(+dp/dt_{max})、等容收缩压(IP)、实测心肌最大收缩速度(Vpm)]在伤后 4~12 h 内恢复至伤前水平($P>0.05$);代表左心室舒张功能的主要指标[等容舒张期左室内压下降时间常数(T)、左室舒张末压(LVEDP)、左室内压最大下降速率(-dp/dt_{max})]在伤后 24 h 仍然与伤前有明显差别($P<0.05$, $P<0.01$)。见表 1。

基金项目:国家自然科学基金资助重点项目(39630330)
作者简介:闵家新(1962-),男,四川省泸州市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事胸部撞击伤发生机制方面的研究,发表论文 30 余篇。电话:(023)68755616
收稿日期:2002-03-27;修回日期:2002-05-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 MC 后左心室功能变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of the functions of the left ventricle in rabbits after MC($\bar{x}\pm s$)

	LVESP(kPa)	$+dp/dt_{max}$ (kPa/s)	IP(kPa)	Vpm(1/s)	T(msec)	LVEDP(kPa)	$-dp/dt_{max}$ (kPa/s)
Pre-trauma	16.9±2.4	863±289	14.6±3.9	8.0±1.9	18.4±4.7	−0.8±0.97	−710±190
Post-trauma(h)							
2	14.2±2.6 *	607±251 **	9.0±3.0 **	6.3±2.5 *	29.3±4.5 **	0.43±1.31 **	−494±156 **
4	15.1±1.9 *	644±263 *	9.2±3.2 **	7.6±2.3	25.6±6.2 **	0.44±0.56 **	−527±153 *
8	17.7±3.1	820±214	11.0±2.5 *	9.1±2.9	24.8±5.7 **	0.48±0.88 **	−571±139 *
12	15.6±2.9	855±252	14.1±2.1	9.0±2.6	24.1±2.8 **	0.42±0.59 **	−558±156 *
24	17.5±2.3	875±175	13.6±1.9	8.9±1.4	23.9±5.1 *	0.2±0.52 **	−594±119 *

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Pre-trauma

2.2 心肌细胞内游离钙变化

伤后 2 h 开始升高,为 2.63±0.47($P>0.05$),伤后 8 h 达最高峰($P<0.01$),此后开始下降,但伤后 24 h 仍然显著高于伤前($P<0.05$)。见表 2。

表 2 MC 后心肌细胞内[Ca^{2+}]i(平均通道荧光)变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Changes of the [Ca^{2+}] i in the myocardial cells in rabbits after MC($\bar{x}\pm s$)

	Pre-trauma	Post-trauma(h)				
		2	4	8	12	24
[Ca^{2+}]i	2.26±0.16	2.63±0.47	2.75±0.31 *	3.56±0.33 **	2.96±0.49 *	2.75±0.31 *

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Pre-trauma

2.3 心肌细胞内 ATP 酶活性变化

2.3.1 心肌匀浆组织 ATPase 活性变化 伤后 2 h 心肌匀浆组织 ATPase 活性均有不同程度的下降,其中伤后 4 h Ca^{2+}-ATPase 活性下降明显($P<0.05$),伤后 8 h Ca^{2+}-ATPase 和 Na^{+}-K^{+}-ATPase 活性降至最低($P<0.05$, $P<0.01$),伤后 12 h 上升与伤前无差别($P>0.05$);伤后 Mg^{2+}-ATPase 活性较伤前也有所下降,但与伤前比较无明显差别($P>0.05$),见表 3。

表 3 MC 后心肌组织 ATP 酶活性变化(μmol/L Pi/mgprot/h, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Changes of ATPase activity in cardiac tissues in rabbits after MC(μmol/L Pi/mgprot/h, $\bar{x}\pm s$)

	Pre-MC	2 h Post-MC	4 h	8 h	12 h	24 h
Ca^{2+}-ATPase	5.53±0.89	4.74±0.68	4.19±1.02 *	3.45±1.03 *	5.76±0.43	4.92±1.98
Na^{+}-K^{+}-ATPase	5.11±1.0	4.91±0.97	4.45±0.23	2.21±0.34 **	5.34±0.34	4.99±1.23
Mg^{2+}-ATPase	4.58±0.59	4.51±0.85	3.96±0.12	4.89±0.95	5.40±0.38	5.91±1.36

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Pre-trauma

2.3.2 心肌细胞线粒体 ATPase 活性变化 伤后 4 h 心肌细胞线粒体 ATPase 活性均明显下降($P<0.05$),此后上升,至伤后 24 h 与伤前无明显差别($P>0.05$),见表 4。

表 4 MC 后心肌细胞线粒体 ATP 酶活性变化(μmol/L Pi/mgprot/h, $\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Changes of ATPase activity in cardiomyocytic mitochondria in rabbits after MC(μmol/L Pi/mgprot/h, $\bar{x}\pm s$)

	Pre-MC	2 h Post-MC	4 h	8 h	12 h	24 h
Ca^{2+}-ATPase	4.43±0.88	4.61±1.14	3.82±0.11 *	4.18±0.59 *	4.83±0.38	4.31±2.77
Na^{+}-K^{+}-ATPase	4.80±0.60	4.74±1.24	3.57±0.21 **	4.04±0.45 *	5.22±0.25	4.60±2.09
Mg^{2+}-ATPase	4.28±0.79	4.08±0.49	3.54±0.18 *	4.87±0.62	4.80±0.16	4.58±1.89

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Pre-trauma

2.4 相关分析

LVEDP 和 $-dp/dt_{max}$ 与心肌细胞内游离钙含量变化呈明显正相关(分别 $r=0.792$, $r=0.753$, $P<0.01$ 和 $P<0.05$),与心肌组织 Na^{+}-K^{+}-ATPase 活力改变呈明显负相关(分别 $r=-0.674$, $r=-0.691$, $P<0.05$),与心肌组织 Ca^{2+}-ATPase 活力改变呈明显负相关(分别 $r=-0.613$, $r=-0.642$, $P<0.05$),与心肌细胞线粒体 Na^{+}-K^{+}-ATPase 与活力改变呈明显负相关(分别 $r=-0.622$, $r=-0.616$, $P<0.05$)。

3 讨论

MC 后心肌细胞内钙稳态有何改变及其与心功能障碍之间的关系如何目前报道较少。本实验结果显示,MC 后心功能发生明显变化,左心室以舒张功能障碍为主,持续时间较长,对收缩功能的影响较小,且恢复也较快。同时还发现,心肌细胞内[Ca^{2+}]i 含量增高,且在伤后 8 h 表现最为明显,相关分析表明心肌细胞内[Ca^{2+}]i 含量与左室舒张功能变化呈明显负相关。

实验结果还显示,MC 后心肌匀浆组织和线粒体 Ca^{2+}-ATPase、Na^{+}-K^{+}-ATPase 和 Mg^{2+}-ATPase 活性降低。当 Ca^{2+}-ATPase 活性降低时,会直接影响心肌细胞对 Ca^{2+} 的摄取、储存与释放[4],使心肌细胞 Ca^{2+} 内流增加和 Ca^{2+} 从肌浆网的释出增加而最终形成细胞内 Ca^{2+} 超载,致使细胞内 Ca^{2+} 重新分布,进而形成线粒体 Ca^{2+} 超载,造成细胞能量代谢障碍和超微结构损伤甚至引起细胞死亡[5]。另一方面,钙泵活性的降低还会直接影响肌动蛋白和肌凝蛋白在横桥处的滑动,降低心肌纤维的缩短速率,从而导致心肌收缩力的下降[6]。当心肌的 Na^{+}-K^{+}-ATPase 活性下降时,可导致 Na^{+}、K^{+} 等离子跨膜浓度梯度下降,细胞内排 Na^{+} 障碍,引起细胞内 Na^{+} 超载,K^{+} 降低,并导致 Na^{+}-Ca^{2+} 交换增加并发生逆向转运,Ca^{2+} 大量进入细胞内导致钙超载[7]。我们的实验结果显示,MC 后 4~8 h 心肌细胞内 ATPase 活性降低与心脏左室舒张功能改变呈显著正相关。

实验结果显示,MC 后 2~4 h 内的心脏的收缩/舒张功能障碍与心脏本身受到的损伤有关,而其后的心脏功能障碍,特别是舒张功能障碍与心肌细胞内[Ca^{2+}]i 含量的升高呈显著负相关,[Ca^{2+}]i 含量升高

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

在心脏舒张功能恢复之前，表明 MC 后心肌细胞内钙超载是心脏收缩/舒张功能失调的原因之一。

实验结果说明，MC 后心功能障碍除与心脏本身受到机械作用造成心肌细胞受损外，还与心肌细胞钙超载有关，至少钙超载是 MC 后心功能障碍的原因之一。究其原因考虑可能与：能量代谢障碍，细胞内酸中毒，心肌炎性细胞浸润、水肿，Ca^{2+}-ATPase 和 Na^{+}-K^{+}-ATPase 活性降低以及激素和细胞因子改变等因素有关。临床上治疗 MC 时应考虑钙通道激动剂的谨慎使用。对钙通道阻滞剂的干预效果，尚待进一步的研究。

参考文献：

[1] Olsovsky M R, Wechsler A S, Topaz O. Cardiac trauma: diagnosis, management, and current therapy[J]. Angiology, 1997, 48(5): 423－432.
[2] Biffl W L, Moore F A, Moore E E, *et al*. Cardiac enzymes are irrelevant in the patient with suspected myocardial contusion[J]. Am J Surg, 1994, 168(3): 523－527.
[3] 闵家新，朱佩芳，王正国，等. 不同致伤条件撞击对兔心肌挫伤伤情影响的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2000, 22(6): 509－511.
[4] Tani M, Neely J R. Role of intracellular Na+ in Ca^{2+} overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat heart[J]. Circ Res, 1989, 65(4): 1 045－1 056.
[5] Maixent J M, Lelievre L G. Differential inactivation of inotropic and toxic digitalis receptors in ischemia dog heart. Molecular basis of the deleteriors effects of digitalis[J]. J Biol Chem, 1987, 262(26): 12 458－12 462.
[6] Bagrow A Y. Edogenous plasma Na-K-ATPase inhibitory activity and digoxin-like immunoreactivity after acute myocardial infarction[J]. Cardiovasc Res, 1991, 25(5): 371－377.
[7] Kiedrowski L, Brooker G, Costa E, *et al*. Glutamate impairs neuronal calcium extrusion while reducing sodium gradient[J]. Neuron, 1994, 12(2): 295－300.

（编辑 张大春）

文章编号：1000-5404(2002)10-1213-01

个案与短篇

高亲和力 IgE 受体膜外区 α 链抗原表位预测

Prediction of extracellular alpha chain antigen epitopes of high affinity IgE receptors

孙仁山，刘荣卿，宋建勋，郝 飞，刁庆春 （第三军医大学附属西南医院皮肤科，重庆 400038）

人高亲和力 IgE 受体(FcεR1)由 1 条α链、1 条β链和两条γ链构成。我们建立的编码膜外区α链的膜外区α链(αt cDNA)与文献对比[1,2]，有两处发生碱基置换，该置换是否会导致αt 蛋白的抗原表位改变，是否会影响与 IgE 的结合，为此我们进行了抗原表位预测。

1 方法

人 FcεR1 膜外区α链氨基酸序列见图 1，αtk 代表 Kochan 分离克隆的 cDNA 推导出的氨基酸序列[2]；αts 表示由我们克隆的 cDNA 序列推导出的氨基酸序列[1]。划横线代表两处由碱基置换所致的氨基酸替换，分别为 134 位的组氨酸→精氨酸(H→R)和第 160 位的酪氨酸→组氨酸(Y→H)替换。

可及性方案和可塑性方案的预测方法，采用互联网上下开载的 ExPASY 软件，把两种氨基酸序列分别输入第一个工作区，用 7 个氨基酸为一组的分析参数。高于阈值的峰为可及性和可塑性位点。

Garnier 氏方法预测二级结构，寻找转角(turn)易形成区域。

2 结果

可及性方案和可塑性方案的预测：结果显示 N 末端氨基酸残基第 3～9，10～12，14～19，43～53，60～67，71～78，119～125，135～138，141～151，161～168，170～175 为可及性区域，以 5、46、64、75、122 和 137 位附近可及性程度为高，可能位于α肽链表面。134 位和 160 位均为非可及性位点，αtk 和αts 两条链可及性预测结果完全一样。N-末端氨基酸残基 3～9，13～27，30～42，40～67，71～79，88～93，95～97，118～132，135～156，157～159，161～167，169～179 为可塑性区域，以 5、46、62、124、143 及 155 残基附近可塑性程度为高，可能具有一定柔韧性。αtk 和αts 两条肽链可塑性预测基本一样，αtk134 和 160 位的可塑性预测值分别为 5.2 和 5.4；而αts134 和 160 位分别 4.9 和 5.6，可见该两处氨基酸替换所致的可塑性改变不大，并且均非处于可塑性区域。

二级结构方案的预测结果：αtk 和αts 两条肽链的主要结构为无规则卷曲、β-片层和α-螺旋，未预测出转角易形成区域。

FcεR1α 膜外区α链表位可能位于 N-末端氨基酸残基 3～9，43～67，71～79，119～125，141～151 和 161～168 区域或附近。αtk 和αts 两条肽链的表位分布一致。发生于αts 肽链的 134 和 160 位的氨基酸替换，对抗原表位分布没有影响，见图 1。

αtk

VPQKPKVSLNPPWNRIFKGENVTLTCNGNNFFEVSSTKWFHNGSLSEETNSSLNIVNAKF
EDSGEYKCQHQQVNESEPVYLEVFSDWLLLQASAEVVMEGQPLFLRCHGWRNWDVYKVIY
YKDGEALKYWYENHNISITNATVEDSGTYYCTGKVWQLDYESEPLNITVIKAPREKYWL

αts

VPQKPKVSLNPPWNRIFKGENVTLTCNGNNFFEVSSTKWFHNGSLSEETNSSLNIVNAKF
EDSGEYKCQHQQVNESEPVYLEVFSDWLLLQASAEVVMEGQPLFLRCHGWRNWDVYKVIY
YKDGEALKYWYENRNISITNATVEDSGTYYCTGKVWQLDHESEPLNITVIKAPREKYWL

图 1 FcεR1 膜外区α链所基酸序列

作者简介：孙仁山(1964－)，男，河南省焦作市人，副主任医师，副教授，主要从事皮肤炎症介质和 FcεR1 相关疾病方面的研究，发表论文 10 篇。电话：(023)65459861

收稿日期：2001-11-10；修回日期：2002-05-09

（下转 1221 页）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net