DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.06.012

钙增敏剂MCI-154对内毒素休克大鼠心肌钙反应性的影响*

梅建民** 胡德耀 陈惠孙 刘良明 肖 南 卢儒权 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第二研究室)重庆,400042

提 要 目的:研究钙增敏剂对内毒素休克大鼠心肌钙反应性的影响。方法:利用离体乳头肌灌流技术,测定大鼠离体左室乳头肌在含0.25～5.5 mmol/L的H-K液中的等长收缩张力T及张力的变化速率($\pm dT/dt_{max}$)的变化。结果:内毒素休克组T及$\pm dT/dt_{max}$在每个钙浓度点上的值均明显低于假休克组,Ca^{2+}-T、Ca^{2+}-$\pm dT/dt_{max}$曲线向下移位。内毒素休克大鼠乳头肌经含1×10^{-5}mol/L的MCI-154的H-K液灌流后,每个钙浓度点上的T和$\pm dT/dt_{max}$均明显增加,接近假休克组,明显高于内毒素休克组,Ca^{2+}-T、Ca^{2+}-$\pm dT/dt_{max}$曲线向上移位。MCI-154的上述作用明显优于甲腈吡酮,且其作用效果不被α、β受体阻断剂及钙通道阻断剂所抑制。结论:钙增敏剂可逆转内毒素休克所致的心肌收缩蛋白对钙反应性的降低,改善内毒素休克机体的心肌收缩性能。

关键词 内毒素休克;左室乳头肌;钙增敏剂;MCI-154

中图法分类号 R348.2;R631.4

我们先前的实验研究显示钙增敏剂MCI-154用于家兔内毒素休克治疗时,能明显改善心功能[1]。本实验利用大鼠乳头肌制备,研究了MCI-154对内毒素休克大鼠乳头肌钙反应性的影响,旨在探讨钙增敏剂改善内毒素休克机体心脏功能的机制。

1 材料和方法

1.1 大鼠内毒素休克模型

Wistar大鼠,雌雄不拘,体重150～200 g,实验前随机分组。采用本实验室常用方法复制内毒素休克模型:10 mg/kg大肠杆菌内毒素(Endotoxin,ET,O111:B4,Sigma)腹腔内注射,8 h后进行实验。假休克组注射用10 mg/kg ET等容量的生理盐水(NS)。

1.2 大鼠离体乳头肌的制备

参照余志斌等[2]的方法进行。断头活杀大鼠,迅速开胸取出心脏,置于氧合的Krebs-Henseleit(H-K)溶液中,游离左室乳头肌,肌端附有一定长度的心室肌(约2 mm),肌腱端用0～3丝线固定于等长张力传感器(TB-651,日本光电)的不锈钢钩上,肌端固定于离体器官实验仪拉钩上。用30℃恒温的H-K液进行非循环灌流。H-K液组成(mmol/L):NaCl 120, KCl 4.7, NaH_2PO_4 1.2, $MgSO_4$ 1.2, $CaCl_2$ 2.5, $NaHCO_3$ 20, Glucose 10,pH7.4。以95%O_2和5%CO_2的混合气体充分氧合。采用铂金丝电场刺激,输入波宽10 ms、频率0.2 Hz、刺激电压为130%阈上的方波脉冲。

1.3 乳头肌力学参数的测定

在静息张力为1.0 g条件下,平衡60 min,通过千分卡尺移动灌流装置底座,拉伸乳头肌至最适初长(L_{max}),平衡30 min。然后,依次用含不同钙浓度的H-K液,或用含有强心药物及不同钙深度的H-K液灌流乳头肌,每一灌流浓度下须有10次收缩的张力保持不变,方开始灌流下一浓度的液体。等长张力(T)信号经载波放大器输入四道记录仪(RM-6200,Nihon Kohden)进行描记记录,并通过微分器对T信号进行微分处理,记录乳头肌收缩和舒张的最大变化速率($\pm dT/dt_{max}$)。

1.4 实验内容

1.4.1 MCI-154对内毒素休克大鼠乳头肌钙反应性的影响

实验共用大鼠28只,分成4组,每组7只,分别为:Ⅰ.假休克组;Ⅱ.内毒素休克组;Ⅲ.甲腈吡酮组,动物处理同Ⅱ组,灌流乳头肌的H-K液中含有5×10^{-5} mol/L的甲腈吡酮;Ⅳ.MCI-154组,动物处理同Ⅱ组,灌流乳头肌的H-K液中含1×10^{-5}mol/L的MCI-154(预实验结果:MCI-154增加正常大鼠乳头肌收缩力的效价约为甲腈吡酮的5倍)。按各组情况,分别测定$CaCl_2$为0.25、0.5、1.5、2.5、3.5、4.5、5.5 mmol/L,含或不含MCI-154、甲腈吡酮的H-K液灌流时乳头肌T、$\pm dT/dt_{max}$。实验结束后,用滤纸吸干乳头肌表面的水份并称重,按乳头肌比重1.0[3],求出乳头肌横截面积(CSA),T及$\pm dT/dt_{max}$均用CSA作归一化处理。以钙浓度为横座标,T(g/mm^2)及$\pm dT/dt_{max}$($g\cdot mm^{-2}\cdot s^{-1}$)为纵座标,作出$Ca^{2+}$-T、$Ca^{2+}$-$\pm dT/dt_{max}$曲线。

1.4.2 α、β受体阻断剂及钙通道阻断剂对MCI-154作用效果的影响

实验分为4组,每组$n=7$,分别为:a.MCI-154(同1.4.1中的Ⅳ组);b.酚妥拉明组,灌流液中含1×10^{-5} mol/L的MCI-154和1×10^{-5} mol/L的酚妥拉明;c.普萘洛尔组,灌流液中含1×10^{-5} mol/L的MCI-154和1×10^{-5} mol/L的普萘洛尔;d.维拉帕米组,灌流液中含1×10^{-5} mol/L的MCI-154和1×10^{-5} mol/L的维拉帕米。实验操作及数据处理同1.4.1。

1.5 数据处理及统计学分析

所有实验数据均以$\bar{x}\pm s$表示,采用方差分析及t检验进行组间比较。

2 结果

2.1 乳头肌钙反应性的变化

4组大鼠乳头肌重量、长度、CSA差别均不显著($P>0.05$)。各组T、$\pm dT/dt_{max}$的变化见图1、2(Ca^{2+}-T、Ca^{2+}-±

* 全军"九五"攻关项目,No. 96L041

** 梅建民,男,33岁,主治医师,博士,现在北京军区总医院外科,北京;100700

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

dT/dt_{max}曲线)。

Ⅱ组各钙浓度点的 T 及$\pm dT/dt_{max}$均明显低于 I 组($P<0.05$,$P<0.01$),Ca^{2+}-T、Ca^{2+}-$\pm dT/dt_{max}$曲线向下移位。Ⅲ组 1.5～5.5 mmol/L 钙浓度点的 T 值及 0.5～5.5 mmol/L 钙浓度点的$\pm dT/dt_{max}$值高于Ⅱ组($P<0.05$),但 0.5～3.5 mmol/L钙浓度点的 T 值、0.5～5.5 mmol/L 钙浓度点的$+dT/dt_{max}$及 1.5～5.5 mmol/L 钙浓度点的$-dT/dt_{max}$均明显低于 I 组($P<0.05$,$P<0.01$)。Ⅳ组各钙浓度点的 T 值接近 I 组,显著高于Ⅱ组($P<0.05$,$P<0.01$),$\pm dT/dt_{max}$在低钙灌流液中的值亦接近 I 组,但 4.5～5.5 mmol/L 钙浓度点的$\pm dT/dt_{max}$低于 I 组($P<0.05$);0.5～3.5 mmol/L 钙浓度点的 T 值、1.5～2.5 mmol/L 钙浓度点的$\pm dT/dt_{max}$明显高于Ⅲ组($P<0.05$);Ca^{2+}-T、Ca^{2+}-$\pm dT/dt_{max}$曲线向上移位,移位度明显大于Ⅲ组。

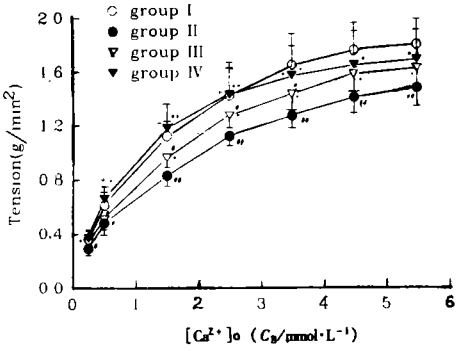


图 1　大鼠左室乳头肌 T 的变化(g/mm²)

Fig 1　Changes of isometric tension of left ventricular papillary muscles isolated from rats(g/mm²)

The muscles were dealt with 0.25～5.5 mmol/L $CaCl_2$ H-K solutions with or without MCI-154 or milrinone. I : sham shock group, Ⅱ : endtoxic shock group, Ⅲ : milrinone group, Ⅳ : MCI-154 group. #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* I ; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Ⅱ ; +: $P<0.05$ *vs* Ⅲ

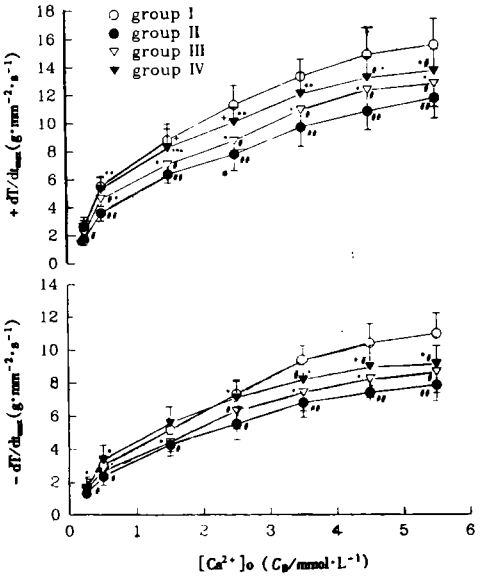


图 2　大鼠左室乳头肌$\pm dT/dt_{max}$的变化($g \cdot mm^{-2} \cdot s^{-1}$)

Fig 2　Changes of $\pm dT/dt_{max}$ of left ventricular papillary muscels isolated from rats ($g \cdot mm^{-2} \cdot s^{-1}$)

The muscles were dealt with 0.25～5.5 mmol/L $CaCl_2$ H-K solutions with or without MCI-154 or milrinone. I : sham shock group, Ⅱ : endtoxic shock group, Ⅲ : milrinone group, Ⅳ : MCI-154 group. #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ *vs* I ; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Ⅱ ; +: $P<0.05$ *vs* Ⅲ

2.2　酚妥拉明、普萘洛尔、维拉帕米对 MCI-154 作用效果的影响

4 组动物乳头肌重量、长度、CSA 均无显著差别($P>0.05$)。虽然加入酚妥拉明、普萘洛尔、维拉帕米后,乳头肌 T 值有所降低,但各组间差别不显著($P>0.05$),见表 1。

表 1　MCI-154 加 α、β 受体或钙通道阻断剂作用后内毒素休克大鼠左室乳头肌 T 的变化(g/mm²)

Tab 1　Changes of isometric tension of left papillary muscles isolated from endotoxic shock rats following administration of MCI-154+α、β receptor blocker or Ca^{2+} channel blocker (g/mm²)

Group	Calcium concentration (mmol/L)						
	0.25	0.5	1.5	2.5	3.5	4.5	5.5
a	0.37±0.05	0.66±0.09	1.18±0.18	1.43±0.24	1.57±0.22	1.65±0.25	1.69±0.23
b	0.35±0.09	0.59±0.10	1.07±0.16	1.37±0.20	1.45±0.24	1.53±0.23	1.63±0.19
c	0.34±0.08	0.57±0.12	1.12±0.19	1.34±0.21	1.55±0.21	1.62±0.22	1.65±0.18
d	0.32±0.06	0.61±0.09	1.05±0.12	1.36±0.11	1.48±0.12	1.64±0.13	1.68±0.14

a: MCI-154; b: MCI-154+phentolamine; c: MCI-154+propranolol; d: MCI-154+verapamil

3　讨论

本实验研究显示,取自内毒素休克大鼠的离体左室乳头肌,在 0.25～5.5 mmol/L 的 H-K 液中,T 及$\pm dT/dt_{max}$均明显低于假休克组,表明内毒素休克后出现了心肌收缩功能障碍。这一结果与其它的离体实

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

验结果一致[4,5]。内毒素休克时心肌内在收缩性能降低的机理尚不清楚，可能原因如下：①心肌收缩蛋白受损[6]；②心肌肌浆网(SR)功能受损[7]；③心肌收缩蛋白对钙反应性降低[5]；④肌球蛋白ATP酶活性降低[8]。本研究发现，内毒素休克大鼠乳头肌Ca^{2+}-T、Ca^{2+}-$\pm dT/dt_{max}$曲线向下移位，表明内毒素休克后心肌收缩蛋白对钙的反应性降低。因此，通过增加外钙浓度及心肌细胞内钙浓度等方法不能逆转内毒素休克时内在心肌收缩性能的降低。本实验结果表明，当灌流液中Ca^{2+}浓度升高时，内毒素休克乳头肌的T及$\pm dT/dt_{max}$上升的幅度明显低于假休克组；给予甲腈吡酮后，T在0.25～3.5 mmol/L $CaCl_2$的H-K液中的值仍未达假休克组，且$\pm dT/dt_{max}$在所有钙浓度点上的值均明显低于假休克组。

脓毒症/感染性休克后心肌收缩蛋白对钙反应性降低，以及同时存在的心肌细胞内钙超载[9]，意味着目前临床上使用的强心药在其治疗中的应用受限，因这些药物如儿茶酚胺、强心甙类以及磷酸二酯酶(PDE)抑制剂类均是通过增加心肌细胞内钙浓度而达到强心目的，因而都有增加心肌细胞内钙超载，加重心肌损害的可能性，且都不具备增加心肌收缩蛋白对钙反应性的功能。因此，寻找一种既能增加心肌收缩蛋白对钙的反应性又不加重心肌细胞钙超载的强心药物，对脓毒症/感染性休克心功能障碍的治疗将会是很有意义的。钙增敏剂MCI-154是近年来发现的一种新型强心药，研究显示其主要作用机制是增加心肌肌钙蛋白C(TnC)对钙的反应性而增强心功能，强心过程中不伴心肌细胞内钙浓度的明显升高[10,11]。但其对脓毒症/感染性休克心肌作用效果如何的报道却鲜见。

本研究利用离体乳头肌灌流技术，初步研究了MCI-154对内毒素休克大鼠乳头肌钙反应性的影响。结果显示：灌流液中加入MCI-154后，内毒素休克乳头肌的T及$\pm dT/dt_{max}$明显增加，各钙浓度点上的值接近假休克组，显著高于未加药物的内毒素休克组；Ca^{2+}-T、Ca^{2+}-$\pm dT/dt_{max}$曲线向上移位，移位幅度明显大于甲腈吡酮组。这些结果说明MCI-154作用于内毒素休克大鼠后，可以明显增加心肌收缩蛋白对钙的反应性，改善心肌的内在收缩性能。心肌收缩蛋白对钙反应性的增加反映了TnC对钙敏感性的增加，因此，尽管内毒素休克后存在着由诸多因素所致的心肌内在收缩性能障碍，钙增敏剂MCI-154仍能通过增加TnC对钙的敏感性而增加心肌收缩力。这可能是MCI-154用于内毒素休克治疗时，能明显改善休克机体心脏功能的主要原因[1]，也可解释为什么在正常心肌上等效剂量的MCI-154和甲腈吡酮，用于内毒素休克心肌后作用效果不同的原因。本实验结果还显示，MCI-154增加内毒素休克大鼠左室乳头肌收缩力的作用不被α、β受体阻断剂及钙通道阻断剂所抑制，进一步表明其强心作用不同于传统强心药。

由于导致内毒素休克时心肌内在收缩性能障碍的原因较多，因此，钙增敏剂尚不能完全恢复心肌的收缩功能。如在高钙灌流液中，MCI-154不能完全纠正$\pm dT/dt_{max}$的降低。分析其原因，可能与心肌SR仍存在快速摄取和释放Ca^{2+}功能障碍有关。这提示在脓毒症/感染性休克的治疗过程中，纠正心肌对钙的反应性降低是改善心功能的重要一环，但也不能忽视增加心肌的供血供氧，改善心肌细胞和亚细胞的功能。

总之，本实验显示内毒素休克后心肌收缩蛋白对钙反应性明显降低，钙增敏剂MCI-154可增加内毒素休克机体心肌收缩蛋白对钙的反应性，进而改善心肌内在收缩性能，其作用方式完全不同于传统强心药。因此，对存在有心肌收缩蛋白对钙的反应性降低和心肌细胞内钙超载的脓毒症/感染性休克心功能障碍而言，钙增敏剂的应用可能更符合治疗要求。

参考文献

1 梅建民，胡德耀，陈惠孙，等. 钙增敏剂MCI-154对内毒素休克家兔心功能的影响. 第三军医大学学报，1998，20(2)：194

2 余志斌，张立藩，陈 杰. 模拟失重大鼠左心室乳头肌收缩性能及钙反应性的变化. 中国应用生理杂志，1994，10(2)：97

3 黄 焰，贺振翮，李云霞. 大鼠皂素蜕膜心肌肌钙蛋白Ca^{2+}敏感性的实验研究. 中国应用生理杂志，1996，12(1)：1

4 Parker J L, Adams H R. Development of myocardial dysfunction in endotoxin shock. Am J Physiol, 1985, 248(6 Pt2): H818

5 Hung J, Lew W Y. Cellular mechanisms of endotoxin-induced myocardial depression in rabbits. Circ Res, 1993, 73(1): 125

6 Hauptman S, Klosterhalfen B, Weis J, *et al*. Morphology of cardiac muscle in septic shock: Observation with a porcine model. Virchows Arch, 1995, 426(5): 467

7 吉 勇，吴立玲，苏静怡. 败血症休克时心肌钙释放功能的变化. 北京医科大学学报，1996，28(2)：103

8 Hess M L, Krause S M, Kornwatana P. Myocardial failure and excitation-contraction uncoupling in canine endotoxin shock: role of histamine and the sarcoplasmic veliculum. Circ Shock, 1980, 7(3): 277

9 董林旺，佟利家，张 力，等. 败血症休克时心肌和线粒体钙转运的变化. 生理学报，1993，45(2)：158

10 Teramurs S, Yamakado T, Maeda M, *et al*. Effects of

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

MCI-154, a calcium sensitizer, on left ventricular systolic and diastolic function in pacing-inducing heart failure in the dog. Circulation, 1997, 95(3): 732

11 Mori M, Takeuchi M, Takaoka H, *et al*. Oxygen-saving effect of a new cardiotonic agent, MCI-154, in diseased human hearts. J Am Cell Cardiol, 1997, 29(3): 613

(收稿: 1998-09-05; 修回: 1999-03-03)
(编辑 冷怀明)

Effects of MCI-154, a calcium sensitizer, on calcium responsiveness of myocardium after endotoxic shock in rats*

Mei Jianmin, Hu Deyao, Chen Huisun, Liu Liangming, Xiao Nan, Lu Ruquan (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

Abstract **Objective**: To investigate the effects of calcium sensitizer on calcium responsiveness of myocardium after endotoxic shock. **Methods**: Using the technique of isolated papillary muscle, the isometric tension (T) and the maximal rate tension changes ($\pm dT/dt_{max}$) were measured in Krebs－Henseleit solutions (H-K) containing 0.25～5.5 mmol/L $CaCl_2$. **Results**: The values of T and $\pm dT/dt_{max}$ at each Ca^{2+} concentration tested were significantly lower in the endotoxic group than in the sham shock group. The Ca^{2+}-T and Ca^{2+}-$\pm dT/dt_{max}$ curves of endotoxic group were shifted down as compared to those of the sham shock group. After the perfusion of H-K containing 0.25～5.5 mmol/L $CaCl_2$ and 1×10^{-5} mol/L MCI-154, the above parameters were restored to normal. The effects of MCI-154 were stronger than those of milrinone and the effects could not be offset by receptors α and β and Ca^{2+} channel blockers. **Conclusion**: Calcium sensitizer can reverse the reduced responsiveness of myocardium to Ca^{2+} and improve myocardial contractility after endotoxic shock.

Key words endotoxic shock; left ventricular papillary muscle; calcium sensitizer; MCI-154

* This project was supported by the "Ninth five" obligatory budget of PLA, No. 96L041

应用自体软骨瓣矫正鼻尖过低

Correction of nasal tip with autografting

李刚玉* 冯 玫 (第三军医大学附属新桥医院美容科) 重庆, 400037

我们应用自体耳廓三角区软骨或鼻中隔筛骨植入矫正鼻尖过低，鼻孔外露效果满意，本组 18 例，男 5 例，女 13 例，平均年龄 20～38 岁。18 例术后效果均满意，随访半年，外鼻形态良好。现报告如下。

1 手术方法

取自体耳廓三角区软骨或鼻中隔筛骨修成矩形或圆形[1]。

跨过小柱基部以鼻翼缘切口，翻转皮瓣分开两侧大翼软骨内角之间结缔组织，植入矩形或圆形软骨，其下端达颌棘突，上端高度视需要而定，单层和双层，用 6/0 号丝线贯穿缝合使双侧大翼软骨和植入体紧密结合构成坚固的鼻尖支架，缝合切口，如小柱皮肤长度不足可行 V-Y 缝合延长[2]。

* 李刚玉，女，43 岁，主管技师

2 讨论

过去有介绍利用鼻柱 V 型推进皮瓣或延长大翼软骨的方法来增设鼻尖，但常因缺乏坚固的骨柱支架而难以获得理想效果，采用耳廓或鼻中隔筛骨植入不仅能获得比较满意的支架作用，并且克服了目前人工骨不能填鼻尖或"L"型硅胶鼻架解决不了的鼻尖过低的缺点。自体骨具有融合性好，无排斥反应等优点。

关键词 鼻/外科手术；鼻矫形
中图法分类号 R765.9

参考文献

1 姜真成，白世长 主编. 韩国最新成形外科. 第 2 版. 汉城：济明医科大学，1995. 1851～1853

2 丁芷林，方彰林. 美容整形手术并发症. 北京：北京出版社，1994. 58～59

(收稿: 1999-04-05; 修回: 1999-06-02)
(编辑 张大春)

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