DOI:10.16016/j.1000-5404.1998.04.013

丝裂素活化蛋白激酶在心肌细胞肥大中的作用

曾春雨* 刘光耀 王旭升 杨成明 王宝文 (第三军医大学附属大坪医院心血管内科) 重庆,400042

提 要 **目的**:研究神经肽Y(NPY)在高血压心肌细胞肥大中的作用。**方法**:复制腹主动脉狭窄和高盐摄入性高血压大鼠模型。测定对照组和高血压组血浆、心肌NPY水平和心肌丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)活性。**结果**:高血压大鼠心重、NPY水平和心肌MAPK活性均较显著高于对照组($P<0.05$或$P<0.01$)。心肌MAPK活性与左心室肥大程度呈正相关($r=0.809$, $P<0.01$)。**结论**:MAPK系统可能在NPY致心肌细胞肥大的信息传导途径中发挥重要的作用。

关键词 高血压;神经肽Y;心肌肥大;丝裂素活化蛋白激酶

中图法分类号 R544.1

心肌细胞肥大是高血压病致死的重要因素之一。但目前关于心肌细胞肥大的机制尚未完全明了,近年来发现丝裂素活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)是多种细胞外信号引起细胞增生和肥大反应的共同通路[1]。以往的研究已证实神经肽Y(Neuropeptide Y, NPY)是高血压发病的重要因素之一[2],它广泛分布于心肌组织中,并在促进心肌细胞的增殖中发挥一定的作用[3]。本实验旨在大鼠腹主动脉狭窄的模型上,观察NPY与心肌细胞肥大、MAPK活性之间的关系,以探讨NPY在高血压心肌细胞肥大中的作用。

1 材料与方法

1.1 大鼠高血压模型的复制

选用100 g~120 g雄性Wistar大鼠,参照Anderson等[4]方法复制高血压模型。以0.6%戊巴比妥钠(40~60 mg/kg.bw)麻醉,行腹正中切口,于左肾动脉上方0.5 cm处用丝线将腹主动脉和8号注射针头共同结扎,抽去针头,造成该部位狭窄,逐层缝合腹部切口。喂饲常规饲料,饮用1%氯化钠溶液,饲养30 d。动物随机分成2组($n=10$):①高血压组(HG):按上述方法复制高血压模型;②对照组(CG):除不结扎腹主动脉及常规喂养外,余均同高血压组。

1.2 检测指标

术后30 d动物禁食12 h,自由饮水,腹腔注射0.6%戊巴比妥钠(40~60 mg/kg.bw)及1%肝素(每只0.25 ml~0.5 ml)后,行颈总动脉插管,经换能器连接多导生理记录仪,动物稳定30 min后,描记动脉血压,动脉放血处死。于动脉放血处收集动脉血,分离血浆,行血浆NPY放免分析,速取心脏,以滤纸吸干后称重,取少量左室心尖组织作病理检查,心肌分2份,分别行NPY含量测定和MAPK活性测定。

1.2.1 NPY放免分析 按我科高血压实验室建立的方法行血浆、心肌NPY含量测定[2]。

1.2.2 MAPK活性测定 采用免疫沉淀法[5]。即心肌组织加入提取液,匀浆后离心,取上清液,经特异MAPK抗体免疫沉淀,取其免疫复合物与激酶缓冲液(mmol/L:HEPES 20.0, pH7.2, $MgCl_2$ 10.0, $MnCl_2$ 2.0, DTT 2.0, Na_3No_4 0.5, PKC抑制剂2.0, ATP0.05;以及BSA 0.1 mg/kg.bw, 髓磷脂蛋白1 mg/ml, r-^{32}P-ATP7.4×10^4Bq)25℃孵育25 min,定样于^{81}P phosphocellulose滤纸上,磷酸缓冲液冲洗后,加入闪烁液(PPO/POPOP/二甲苯/无水乙醇),静置过液,在β液闪测定仪上测定髓磷脂蛋白中掺入^{32}P的放射活性(表示MAPK活性)实验用考马斯亮蓝法行蛋白定量。

1.3 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示,组间配对t检验,并进行相关分析。

2 结果

腹动脉狭窄动脉的血压明显高于对照组($P<0.01$);心重/体重和左心室重/心重比值均增加(P均<0.01),心肌蛋白含量增加($P<0.05$),病理所见高血压组心肌细胞明显肥大,见表1。

高血压动物血浆和心肌NPY含量明显大于对照组($P<0.01$),而且心肌MAPK活性亦高于对照组($P<0.01$)。心肌NPY含量与血压和左室肥厚程度正相关(r值分别为0.612和0.763, P分别<0.05和0.01),心肌MAPK的活性亦与左心室心肌肥大程度呈正相关($r=0.809$, $P<0.01$),见表2。

---

* 曾春雨,男,28岁,住院医师,硕士

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

表1 两组大鼠一般状况比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Comparison of general characteristics between two groups of rat($\bar{x}\pm s$)

Group	n	BP(ρ_B/kPa)	Body weight (g)	HW/BW (mg/g)	LW/HW (mg/mg)	Cardiac protein(mg/gw. w)
CG	10	10.4±2.1	252±25	2.78±0.43	0.35±0.04	89.76±15.24
HG	10	22.7±3.4**	259±36	3.52±0.55**	0.62±0.08**	116.45±11.80**

BP:arterial blood pressure; HW: heart weight; BW: body weight; LW: weight of left ventricle; ** : $P<0.01$ *vs* CG

表2 两组大鼠血浆、心肌NPY含量及心肌MAPK活性比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Comparison of NPY levels of plasma and myocardial tissue and cardiac MAPK activity in two groups of rat($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Plasma NPY (fmol/ml)	Cardiac NPY (fmol/g)	Cardiac MAPK (count/min. mg pr)
CG	10	658±107	3980±874	1240±346
HG	10	1452±324**	5616±723**	3500±899**

** : $P<0.01$ *vs* CG

3 讨论

高血压引起心肌细胞肥大是多因素共同作用的结果[6],目前已知多种神经体液因子参与,NPY即为其中关键因子之一。NPY是一种含有36个氨基酸的多肽,它广泛地分布于心血管系统中,目前已发现心肌上有数种NPY受体亚型存在[7],NPY可通过以上亚型影响心肌细胞的离子转运和收缩特性[3],均为短暂的快速作用。Millar等[3]将NPY作用于培养条件下的心肌细胞,发现NPY是一种强烈的促有丝分裂素,能促进心肌细胞增生、肥大,但其作用机制目前尚不明了。

最近研究发现MAPK是心肌细胞增生的有关刺激信号的细胞内信息传导的共同途径[1],认为无论是酪氨酸激酶或是G蛋白偶联激酶第二信号系统均可导致MAPK磷酸化而激活MAPK,后者又可磷酸化而激活多种转录因子,启动初级和次级应答基因转录和翻译,从而导致外界刺激的细胞增生肥大效应。

本实验在高血压模型中发现血压增高的同时,血浆、心肌NPY水平亦明显增高,心肌MAPK活性亦相应增加,心肌MAPK活性与左心室心肌肥大程度呈正相关,说明高血压时NPY在促心肌细胞肥大的作用中占有重要的地位,它可能通过激活MAPK系统,引起细胞核反应,促进心肌肥大的发生,推测MAPK系统激活可能是NPY致心肌细胞肥大的重要信号传递系统。

参考文献

1 李田昌,胡大一,唐朝枢. 丝裂素活化蛋白激酶与细胞内信息传递. 生理科学进展,1996;27(3):258

2 曾春雨,刘光耀,王旭升等. 神经肽Y放射免疫分析法的建立及其临床应用. 中华核医学杂志,1997;17(3):181

3 Millar B C, Schluter K D, Zhou S J *et al*. Neuropeptide Y stimulates hypertrophy of adult ventricular cardiomyocytes. Am J Physiol,1994;266(35): C1271

4 Anderson P G, Allard M F, Thomas G D *et al*. Increased ischemic injury in hypertrophied rat hearts. Circ Res, 1990;67(8):946

5 李田昌,庞永政,苏静怡等. 丝裂素活化蛋白激酶活性测定. 基础医学与临床,1996;16(2):158

6 Morgen H E, Baker K M. Cardiac hypertrophy: mechanical, neural and endocrine dependence. Circulation, 1991;83 (1):13

7 Millar B C, Weis T, Piper H M *et al*. Positive and negative contractive effects of neuropeptide Y on ventricular cardiomyocytes. Am J Physiol,1991;261(6pt2):H1727

(收稿:1997-12-20;修回:1998-04-11)

(编辑 冷怀明)

Role of MAPK in hypertensive myocardial hypertrophy

Zeng Chunyu, Liu Guanyao, Wang Xukai, Yang Chengming, Wang Baowen (Department of Cardiology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing,400042)

Abstract **Objective**: To investigate the role of neuropeptide Y (NPY) in the pathogenesis of hypertensive myocardial hypertrophy. **Methods**: The study was carried out in rats in 2 groups, the hypertensive group induced with constriction of the abdominal aorta and taking high salt diet and the control. The NPY level in plasma and cardiac tissue and the activity of cardiac mitogen-activated protein kinase (MAPK) were measured. **Results**: Heart weight, NPY levels and MAPK activity were significantly elevated in the hypertensive

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

rats ($P<0.05$ to 0.01). There was a positive correlation of myocardial MAPK activity to left ventricular hypertrophy ($r=0.809$, $P<0.01$). **Conclusion**: MAPK system is possible involved in the pathophysiology of hypertensive myocardial hypertrophy induced by NPY.

Key words hypertension; neuropeptide Y; myocardial hypertrophy; mitogen-activated protein kinase; rat

一例脐部联体儿的术前检查与处理

Pre-operative examination and management of omphalopagus twins

赵聪敏* 李为明 温恩懿 奚 敏 李 琼 （第三军医大学附属新桥医院小儿科）重庆，400037

1 病例介绍

患儿联甲和联乙，为胎龄31周的男性脐部联胎早产联体儿，母孕期健康，系第1胎，在当地乡医院自然分娩，初生均有过窒息，奶粉喂养，吃奶较差，喂养困难。生后第5天入院，查体：联甲：心率155次/min，呼吸50次/min，体温35.6℃，身长42.5 cm，心前区可闻及Ⅲ级收缩期吹风样杂音；联乙：心率120次/min，呼吸38次/min，体温36.5℃，身长43 cm。两婴体重4125 g，伴有霉菌性、细菌性、尿布性皮炎，化脓性结合膜炎，鹅口疮，脐炎，脐周皮肤撕裂伤，血常规提示贫血（联甲 HB127 g/L、联乙 HB128 g/L），血培养证实为丙型链球菌败血症。两婴面面相对，自胸骨下端至脐相联形成"体桥"，其周长25.5 cm，剑突呈"V"形连结，挤压体桥可感到肠管滑动。X线腹部平片及0.5%泛影葡胺全消化道胃肠道造影，提示两婴胃肠无交通，无共同的末端回肠、结肠及肛门畸形。CT平扫及增强扫描提示心脏及肺无相连征象，但有肝脏相连可能。心脏B超检查亦提示心脏无连接，联甲左房扩大，右室壁肥厚，室间隔缺损，二尖瓣增厚，右室流出道和肺动脉狭窄。经过22 d术前治疗及护理，并发症痊愈，两婴体重达5300 g，在日龄28 d时进行了联体儿分离术。

2 讨论

2.1 解剖特点与检查

本例脐部联胎（Omphalopagus）又称剑突联胎（Xiphopagus）[1]，为面对面从胸骨剑突至单一脐部的联接，且需与胸部联胎鉴别[2]。我们采用CT平扫与增强扫描和心脏B超，判断该联体各自有完整的胸骨、心脏及心包；挤压体桥感肠管滑动判断有腹膜交通；X线腹部平片及全消化道造影，判断无共同的胃肠交通及锁肛；CT增强扫描，判断肝脏相连，这些检查结果均得到手术的证实。联体儿解剖关系可能复杂，手术前应尽可能准确检查。我们的体会是全消化道胃肠道造影、CT平扫及增强扫描和心脏腹部B超检查应作为脐部联体儿术前的常规检查；粪和尿的检查亦能为诊断提供一定的线索。

2.2 并发症处理

本联体儿系早产儿，各脏器发育不够成熟，免疫功能亦存在缺陷，极易发生感染。入院时即患有霉菌性、细菌性皮炎，化脓性结合膜炎，鹅口疮，脐炎及败血症。针对病因我们采取了支持、免疫疗法与适合该联体儿的护理相结合，取得了较好的效果。

2.2.1 用药个体化 虽本联体儿的体桥和肝桥有循环交通使血液部分参加对方的循环，但差异是存在的，尤其是联甲患有严重的心脏畸形。我们曾等量速静脉输入相同的液体，联甲出现烦躁，呼吸困难、心率加快，而联乙则无明显变化，因此应根据体重个体化用药。我们采用电子婴儿称测量床（自制），测量各自的体重，方法是先将一个侧放在有电子称的无弹性平板床上，将另一个放在另一平板上（两平板上下距离约2 mm～3 mm），分别将各自的四肢稍加约束，以不接触对方和平板即可，待安静入睡后记录其体重，然后再交换位置并记录体重，使分别称取的体重相加约等于总体重，且误差≤30 g时，即将该次体重作为该儿的实际体重。此法简便准确，既方便了用药，静脉补液及热量的计算，也便于观察体重的动态变化。

2.2.2 治疗具体化 该联体儿系早产，极其脆弱，应保护隔离。病室内温度以25℃，相对湿度50%～60%为宜，注意水、电解质及酸碱平衡。支持治疗应包括血浆、全血、白蛋白和免疫球蛋白。皮肤感染主要是加强护理，另交替外用百多邦软膏与达克宁霜。败血症采用头孢噻肟钠静脉注射（0.05·kg^{-1}·d^{-1}），连用14 d，同时给以微生态治疗以防止肠道菌群失调。

2.2.3 护理的特殊化 本联体儿系男性联体，面面相对，排尿对射，常抓伤对方，极易发生皮炎和皮肤损伤，加之哺乳、翻身、洗澡不便，对护理要求较高，应组建特护组并岗前培训。我们的体会是更换尿布及保持皮肤清洁应经常，联体儿双手应戴布套，滴管或鼻饲喂养可能是联体儿新生儿期必要的方法，翻身与洗澡应有助手协助，且动作要轻柔，以防止脐周撕裂伤。我们在治疗中充分注意了这些问题，取得了较满意的效果。

关键词 联体儿；早产儿
中图法分类号 R714.53

参考文献

1 Spitz L, Capps S, Kiely E. Conjoined twins. Br J Surg, 1996;83(10):1028
2 Hoyle R M. Surgical separation of conjoined twins. Surg Gynecol Obstet, 1990;170(6):549
3 Birmole B, Kulkarni B, Shah R *et al*. Xipho-omphalagous twins-separation in the newborn. J Postgrad Med, 1993;39(2):99

（收稿：1997-11-26；修回：1998-06-15）
（编辑 王 红）

* 赵聪敏，男，44岁，副主任医师，副教授，硕士

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