

高位脊髓损伤对大鼠心肌功能的影响

徐振东 石学银 何星颖 刘刚 叶天文

【摘要】目的 探讨高位脊髓损伤(SCI)对大鼠心肌的影响以及内皮素-1(ET-1)在其中的作用。**方法** 采用 Allens 打击法制备中度高位 SCI 动物模型。大鼠随机分为假手术对照组以及 C7 损伤后 4、12、24、48 和 72 h 6 组($n=8$),记录各组平均动脉压(MAP)、心率(HR)、左室收缩峰压(LVSP)和左室内压变化最大速率($\pm dp/dt \max$);测定各组血清乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)和 ET-1 的含量变化;取心肌组织匀浆,测定心肌组织 ET-1 含量变化。另取心肌内壁组织作透射电镜扫描,观察心肌超微结构的变化。**结果** 各损伤组的 HR、MAP、LVSP 及 $\pm dp/dt \max$ 均显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$),尤以伤后 12 h 下降最显著(P 均 <0.01);而 3 种心肌酶均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。血浆和心肌 ET-1 在损伤后 4 h 即明显升高(P 均 <0.05),12 h 达高峰。高位 SCI 12 h 后,大鼠心肌肌丝轻度溶解,线粒体空泡变性。**结论** 高位 SCI 后大鼠心肌受到一定程度损害,全身和心肌局部 ET-1 产生过多可能是参与因素之一。

【关键词】 脊髓损伤; 心脏功能试验; 心肌酶; 内皮素

Effect of high level spinal cord injury on rat heart function XU Zhen-dong*, SHI Xue-yin, HE Xing-ying, LIU Gang, YE Tian-wen. * Department of Anesthesiology, Changzheng Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

【Abstract】Objective To study the effects of high level spinal cord injury (SCI) on rat heart, and investigate the role of endothelin-1 (ET-1) in the harmful effects on heart after SCI. **Methods** Forty-eight male SD rats were randomly divided into six groups of 8 animals each: control group; 4-hour group; 4th hour after injury to spinal cord at cervical 7 level; 12-hour group; 12th hour after injury to 7 spinal cord at C7 level; 24-hour group with same injury; 48-hour group and 72-hour group, all with same injury. Mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), left ventricular systolic pressure (LVSP), and left ventricular maximum velocities of contraction ($\pm dp/dt \max$) were recorded in each group. Lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK), MB isoenzyme of creatine kinase (CK-MB) and ET-1 contents in the myocardium, were also measured. Specimens of the myocardium were harvested for ultrastructure examination with transmission electron microscopy. **Results** Hemodynamics variables including HR, MAP, LVSP and $\pm dp/dt \max$ were significantly decreased in all the injury groups compared with that of control group ($P<0.05$ or $P<0.01$). These variables in 12-hour group showed lowest values among all the groups (all $P<0.01$). But the values of cardiac enzymes were much higher in five injury groups compared with that of control group ($P<0.05$ or $P<0.01$). ET-1 contents in serum and cardiac tissue raised markedly after the injury was inflicted to the animals ($P<0.05$), reaching peak at 12 hours ($P<0.01$). Ultrastructural examination of the myocardial tissue demonstrated that there were mild dissolution of myocardial fibriles and vacuolation of mitochondria at 12 hours after injury. **Conclusion** High level SCI could induce myocardial injuries and an excessive production of ET-1 in circulation and myocardial tissue might play a role in myocardial damage after injury of the spinal cord at a high level.

【Key words】 spinal cord injury; heart function test; myocardial enzyme; endothelin

有关高位脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后循环的变化已有很多研究和报道,但对高位 SCI 后心功能变化的研究还较少。本实验中研究高位 SCI 大鼠模型伤后心肌力学的动态变化和心肌损害情况,并探讨内皮素-1(ET-1)在心肌损害中的作用。

基金项目:上海市卫生局科技发展基金资助项目(024097)

作者单位:200003 上海,第二军医大学长征医院麻醉科(徐振东,石学银,何星颖,刘刚);200003 上海,第二军医大学长征医院全军骨科研究所(叶天文)

作者简介:徐振东(1976-),男(汉族),内蒙古包头市人,医学硕士,医师,主要研究方向为创伤外科麻醉。

1 材料与方 法

1.1 动物模型制备及分组:雄性 SD 大鼠 48 只(中科院上海分院动物中心提供),体重(280 ± 20)g。戊巴比妥 50 mg/kg 腹腔注射麻醉后,将心电图针状电极插入相应部位。分离右侧颈总动脉,在电脑屏幕上压力波形指导下将 PE50 管一端插入左心室,另一端接 MPA 2000 多道生理记录仪(上海奥特良生物器械公司);分离一侧股动脉,插入 PE50 管监测平均动脉压(MAP)。暴露大鼠颈椎,剪除 C7 椎板,暴露脊髓硬膜,用 Allens 打击法造成中度损伤。打击成功标志:撞击处脊髓立即变灰暗,动物尾巴痉挛

性摆动,双下肢回缩性扑动,随后呈弛缓性瘫痪。将制模成功大鼠随机分为假手术对照组(仅暴露不打击)及损伤 4、12、24、48 和 72 h 组,每组 8 只。

1.2 指标检测

1.2.1 心肌力学:各组均于插管后且血流动力学平稳 20 min 记录 MAP、心率(HR)、左室收缩峰压(LVSP)、左室内压变化最大速率($\pm dp/dt \max$)。

1.2.2 ET-1:取动脉血 2 ml,置于含乙二胺四乙酸二钠(EDTA·Na₂)30 μ l、抑肽酶 40 μ l 试管中,4 $^{\circ}$ C,4 500 r/min 离心 10 min,取上清,-40 $^{\circ}$ C 保存。开胸取心脏,4 $^{\circ}$ C 生理盐水漂洗,取湿重 200 mg 左心室同一部位组织,滤纸吸干水分,加入 2 ml 4 $^{\circ}$ C 生理盐水,置玻璃匀浆器中,加 1 mol/L 预冷醋酸,沸水浴 10 min 后充分匀浆,低温离心取上清,测定心肌组织 ET-1 含量。采用放射免疫顺序饱和分析法测定血浆及心肌组织中 ET-1 含量,试剂采用本校神经生物教研室提供的¹²⁵I-ET-1 药盒。

1.2.3 心肌酶:取动脉血 3 ml,以 3 500 r/min 低温离心 6 min,分离血清,置-40 $^{\circ}$ C 冰箱保存,采用全自动生化检测仪测定乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)含量。

1.2.4 心肌超微结构:每组 4 只大鼠取同一部位的心肌内壁组织,在激光共聚焦透射电镜下观察心肌组织超微结构变化。

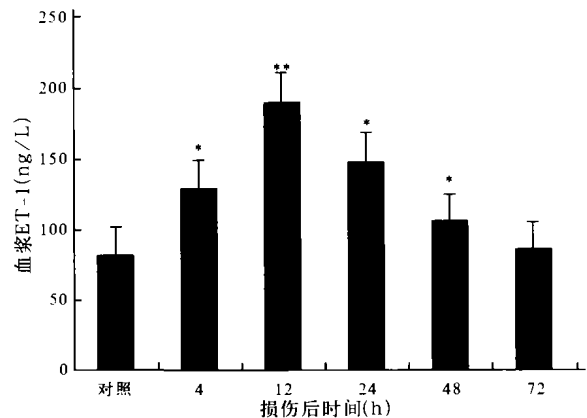
1.3 统计学处理:所有资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 *F* 检验和 *q* 检验,方差不齐者采用 Kruskal-Wallis *H* 检验。使用 SPSS10.0 软件进行统计分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 心肌力学的变化(表 1):高位 SCI 发生后,大鼠的 HR、MAP、LVSP 和 $\pm dp/dt \max$ 均显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$),尤其在损伤后 12 h,MAP、LVSP 和 $\pm dp/dt \max$ 均达最低值(P 均 <0.01),随后略有回升,但仍低于对照组。

2.2 ET-1 的变化(图 1,图 2):血浆和心肌组织的 ET-1 在损伤后 4 h 即明显升高(P 均 <0.05),均

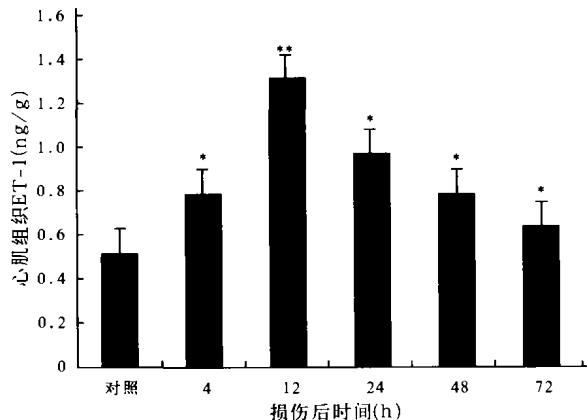
于 12 h 达高峰。血浆 ET-1 于 72 h 即恢复到对照组水平($P>0.05$),而心肌组织 ET-1 在 72 h 仍高于对照组($P<0.05$)。



注:与对照组比较;* $P<0.05$,** $P<0.01$

图 1 高位 SCI 大鼠血浆 ET-1 的改变

Figure 1 Change of ET-1 in serum after high level SCI in rats



注:与对照组比较;* $P<0.05$,** $P<0.01$

图 2 高位 SCI 大鼠心肌组织 ET-1 含量的改变

Figure 2 Change of ET-1 in cardiac tissue after high level SCI in rats

2.3 心肌超微结构改变:损伤后 12、24、48 和 72 h 大鼠心肌肌原纤维排列紊乱,肌丝有部分的灶性溶解,线粒体呈空泡变性,肌浆网肿胀。

2.4 心肌酶谱的变化(表 2):高位 SCI 后,大鼠的 3 种心肌酶均呈升高趋势,LDH 在 4 h 时无显著变化,12 h 开始增高,48 h 达高峰($P<0.01$)。CK 与 CK-MB 在损伤 4 h 后即开始升高(P 均 <0.05),

表 1 高位 SCI 大鼠心肌力学变化($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Changes of hemodynamic variables after high level SCI in rats($\bar{x}\pm s, n=8$)

| 组别 | HR(次/min) | MAP(mm Hg) | LVSP(mm Hg) | dp/dt max($\times 10^3$, mm Hg/s) | -dp/dt max($\times 10^3$, mm Hg/s) |
|----------|----------------|--------------------|---------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 对照组 | 397 \pm 12 | 102.79 \pm 6.78 | 136.04 \pm 6.26 | 5.78 \pm 0.73 | 4.44 \pm 0.39 |
| 损伤 4 h 组 | 331 \pm 11* | 88.61 \pm 4.03* | 117.78 \pm 9.77* | 3.74 \pm 0.36* | 3.02 \pm 0.63** |
| 12 h 组 | 309 \pm 10** | 80.43 \pm 5.30** | 106.57 \pm 8.05** | 3.33 \pm 0.24** | 2.82 \pm 0.22** |
| 24 h 组 | 306 \pm 16** | 82.61 \pm 6.60** | 120.16 \pm 7.87* | 3.64 \pm 0.20* | 3.20 \pm 0.16* |
| 48 h 组 | 311 \pm 11** | 84.81 \pm 4.72* | 118.48 \pm 8.64* | 3.81 \pm 0.11* | 3.25 \pm 0.28* |
| 72 h 组 | 307 \pm 15** | 86.12 \pm 4.53* | 123.55 \pm 8.61* | 3.66 \pm 0.21* | 3.16 \pm 0.12* |

注:与对照组比较;* $P<0.05$,** $P<0.01$;1 mm Hg=0.133 kPa

前者在 24 h 达高峰,后者在 12 h 达高峰,二者均于 72 h 恢复正常(P 均 >0.05)。

表 2 高位 SCI 大鼠心肌酶谱的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Changes of cardiac enzymes after

high level SCI in rats($\bar{x} \pm s, n=8$) kU/L

| 组别 | LDH | CK | CK-MB |
|----------|---------------|----------------|---------------|
| 对照组 | 2.967±0.183 | 2.029±0.098 | 1.539±0.113 |
| 损伤 4 h 组 | 2.869±0.289 | 8.125±1.888* | 2.308±0.567* |
| 12 h 组 | 4.548±0.657* | 14.714±3.413** | 4.893±0.342** |
| 24 h 组 | 6.119±0.951** | 15.949±3.629** | 3.280±0.433* |
| 48 h 组 | 9.143±1.612** | 8.330±0.987* | 1.948±0.104* |
| 72 h 组 | 4.815±1.092* | 2.687±0.690 | 1.550±0.134 |

注:与对照组比较:* $P<0.05$,** $P<0.01$

3 讨论

支配心血管系统的交感神经发源于脊髓 T1~T5 节段,颈髓损伤后,心血管失去上位交感中枢的控制,会发生许多异常变化,且威胁患者生命。T5 以上节段的脊髓损伤后心功能尤其是左心功能的变化还缺乏研究。陈辉等^[1]发现 61 例颈髓外伤患者伤后 72 h 的心肌酶谱显著增高,认为患者在颈髓损伤急性期存在不同程度的心肌缺血性损害。但仅凭心肌酶谱的改变还不能完全断定心肌损伤。本实验中从心肌力学、心肌酶谱和心肌组织超微结构变化等角度,试图较全面地研究高位 SCI 对心肌的影响。

本研究结果发现,大鼠高位 SCI 后 4 h,MAP、LVSP 和 $\pm dp/dt \max$ 均显著下降,尤以 12 h 时最低,说明 C7 损伤后,大鼠心肌收缩与舒张功能受到明显的负性影响,同时血压也低于正常。HR 在各个时段都处于低水平,提示在高位 SCI 后,迷走神经功能一直占优势,尤其体现在对窦房结的支配上。LDH、CK 及 CK-MB 是反映心肌损伤较为特异的酶,其中 CK-MB 更为特异。本实验中发现大鼠的心肌酶谱在高位 SCI 后明显升高,高峰及回落时间与其他心肌缺血性损伤相符,说明在高位 SCI 早期可能就存在着心肌缺血性损害。透射电镜照片也显示,在损伤后 12 h 心肌细胞的超微结构就有异常改变,进一步证实了心肌损伤的存在。

SCI 后心肌损伤可能受多种体内因素影响,如神经因素和体液因素。高位 SCI 后,交感通路被完全或不完全阻断,迷走神经对心脏的支配作用占优势,既通过支配窦房结和房室结减慢 HR 及房室传导,又通过兴奋 M 受体,促进一氧化氮(NO)合成,对心肌产生负性肌力作用^[2]。机体也可能在损伤瞬间因强烈应激而大量分泌儿茶酚胺^[3],导致冠状动脉(冠脉)急剧收缩,随后损伤平面以下血管扩张,血压下降,HR 减慢,心排血量减少^[4],冠脉供血不足,

又致心肌缺血。但其具体损伤机制尚不完全清楚。

ET 是目前已知作用最强的缩血管因子,我们推测 ET 可能也参与了 SCI 后心肌缺血的过程。研究发现,SCI 后脊髓局部和血浆中 ET 增高;ET 可明显降低脊髓血流量,破坏血-脊髓屏障,加重脊髓的继发性损伤^[5,6]。但 ET 主要通过自分泌/旁分泌形式发挥效应,因此,单凭血浆 ET 含量变化难以准确反映 ET 对心肌血供的影响。ET 分 3 种异形肽,其中 ET-1 对心血管系统的生理活动有重要作用。为此,本实验中检测了血浆和心肌组织 ET-1 含量,结果证实,高位 SCI 后血浆和心肌组织中 ET-1 含量均较对照组高,且心肌组织 ET-1 含量 24 h 后仍维持在较高水平。夏照帆等^[7]认为,ET-1 对心脏既有正性变力作用,又通过收缩冠脉和减少冠脉血流量而对心肌产生间接的负性肌力作用,在病理水平 ET-1 对心肌的作用则以后者为主。而且高循环水平的 ET-1 对心肌细胞能量代谢有抑制作用,表现为细胞对能量的利用增加和合成不足、高能磷酸键储备减少。本实验中也发现,伤后 12 h 血浆与心肌组织 ET-1 水平均达高峰,而此时心肌的舒缩能力处于最低水平。

综上所述,高位 SCI 后大鼠心肌受损,表现为心肌收缩和舒张功能减退,心肌酶谱升高,心肌超微结构有异常改变。其机制可能与损伤瞬间的强烈应激及副交感神经占优势有关,也可能是 SCI 后全身和心肌局部 ET-1 产生过多所致。临床处理 SCI,尤其是高位损伤患者时,应注意维护心功能,麻醉时需避免使用对心肌抑制作用较强的麻醉药物。

参考文献:

- 1 陈辉,林建东,林才朱,等. 颈髓损伤截瘫急性期血清心肌酶的变化及麻醉处理[J]. 福建医科大学学报,2000,34:63-64.
- 2 Bravo G, Rogas-Martinez R, Larios F. Mechanisms involved in the cardiovascular alterations immediately after spinal cord injury[J]. Life Sci, 2001, 68:1527-1534.
- 3 Faden A I, Jacobs T P. Dopamine partially mediates the cardiovascular effects of naloxone after spinal injury[J]. Brain Res, 1981, 213:415-421.
- 4 Baldrige B R, Burgess D E, Zimmerman E E. Heart rate - arterial blood pressure relationship in conscious rat before vs. after spinal cord transection [J]. AJP Regul Integr Comp Physiol, 2002, 283:R748-756.
- 5 鲁凯伍,张震,侯铁胜,等. 急性脊髓损伤后内皮素 1 含量变化及其机制的实验研究[J]. 创伤外科杂志,2002,4:222-224.
- 6 彭新生,李佛保,潘滔. 内皮素参与脊髓损伤后缺血[J]. 中国危重病急救医学,2002,14:418-420.
- 7 夏照帆,石胜军, Malloy C R, 等. 内皮素对心脏功能和细胞能量代谢影响的实验研究[J]. 第二军医大学学报,1998,19(增刊):34-36.

(收稿日期:2004-09-29 修回日期:2004-12-18)

(本文编辑:李银平)