

挤压伤大鼠血浆内皮素含量与心脏损伤的关系

刘水平, 陈玉川, 郭 薇, 王江峰, 成建定

(中山医科大学法医病理学教研室, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】观察挤压伤大鼠血浆内皮素-1(ET-1)、血清心肌肌钙蛋白I(cTnI)含量的动态改变,研究挤压伤早期是否有心脏损伤及其与ET-1的关系。【方法】建立挤压伤大鼠动物模型,全自动生化分析仪检测血清心肌酶改变,放射免疫法检测血浆ET-1含量,化学发光法检测血浆cTnI含量。【结果】挤压伤后12h血浆ET-1显著下降,血清心肌酶、cTnI显著升高,并持续48h以上。【结论】肢体挤压伤早期有心肌细胞的损伤,ET-1可能在心肌细胞损伤中起重要作用。

关键词: 挤压综合征; 心脏损伤; 内皮缩血管肽1; 肌钙蛋白I

中图分类号: R644 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-257X(2002)01-0027-02

The Relation Between the Contents of Plasma Endothelin and Heart Injury in Crush Injury Rats LIU Shui-ping, CHEN Yu-chuan, GUO Wei, WANG Jiang-feng, CHENG Jian-ding. (Department of Forensic Pathology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

Abstract 【Objective】To investigate the cardiac injury and its relation to endothelin-1(ET-1) at the early stage of crush injury in rats by observing the changes of plasma endothelin(ET-1) and serum cardiac troponin I(cTnI) levels. 【Methods】Crush injury was produced in SD rats, the serum levels of cardiac enzyme and cardiac troponin I, plasma levels of ET-1 were studied by automated biochemical analyzer, automated chemiluminescence assay and radioimmunoassay. 【Results】After 12 h of crush injury, the plasma ET-1 level was much lower, the levels of serum cardiac enzyme and cTnI were much higher, these changes lasted 48 h. 【Conclusion】Cardiomyocyte injury was induced and ET-1 may play an important role in the early stage of crush injury.

Key words: crush syndrome; endothelin-1; heart injuries; troponin I

严重的肢体挤压伤如得不到及时处理,晚期可引起肾功能衰竭,甚至死亡^[1],在肾功能衰竭发展过程中,机体产生了复杂的病理生理变化^[2]。挤压伤早期机体的病理生理改变,目前还不明确。肢体挤压伤早期心肌是否有损伤,损伤的严重程度及机制如何,确实存在疑问。内皮素在心血管疾病的发生发展过程中起着非常重要的作用^[3],为此,作者以挤压伤大鼠为动物模型,检测大鼠血清某些酶、cTnI、血浆内皮素-1(ET-1)含量的动态变化,研究挤压伤早期心肌损伤的存在及其与内皮素的可能关系。

1 材料和方法

1.1 大鼠挤压伤动物模型制备

清洁级250~300g SD大鼠雌雄32只,分4组,每组8只,雌雄各4只。用自制的挤压器械,使挤压力同时作用于双后肢和臀部,压力15kg,连续挤压4h,然后正常饲养。于挤压前、挤压后12h、24h、48h分别测定有关指标。

1.2 血清生化指标测定

眼眶取血,每只3mL于洁净试管中,常规分离血清,取0.6mL立即送检,采用全自动生化检测仪,测血清尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、K⁺、Ca²⁺、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶心肌同工酶(CK-MB)含量,剩余血清-20℃冷冻备用。

1.3 血浆内皮素-1(ET-1)测定

眼眶取血,每只2mL于洁净的含100g/L EDTA二钠40μL、抑肽酶30μL试管中常规分离出血浆,-20℃冰箱保存。所有样本于2个月内统一测试,ET-1放免药盒由解放军总医院科技开发中心提供,采用放射免疫分析法,可测范围每管为20~1000ng/L。

1.4 血清心肌肌钙蛋白I(cTnI)测定

用ACS:180全自动化学发光检测系统,统一检测备用血清中cTnI含量,cTnI药盒由Chiron Diagnostics公司提供,可测范围每管为0.15~49.89μg/L。

1.5 统计学处理

收稿日期:2001-08-05

基金项目:中山医科大学211重点学科建设基金资助项目(1999)

作者简介:刘水平(1968-),男,江西南丰人,博士生,讲师。

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 10.0 版统计软件对数据进行处理。各实验组与对照组比较用方差分析(最小显著差法, LSD), 相关性检验用相关性分析。

2 结果

血清生化检测结果见表 1, 挤压伤后 12 h, 24 h 血清 BUN、Cr、 K^+ 比挤压前显著升高, Ca^{2+} 则明显下降。BUN、Cr 显著升高说明挤压伤后有明显的

肾功能障碍, 其中 BUN、 K^+ 升高持续至 48 h 以后。

血清 CK、CK-MB、cTnI 及血浆 ET-1 检测结果见表 2, 挤压伤 12 h 后血清 CK、CK-MB、cTnI 含量比对照组显著升高, ET-1 水平则明显下降, 这些变化都持续至 48 h。血清 CK-MB 和 cTnI 显著升高, 说明存在心肌细胞损伤。对 ET-1 和 cTnI 的变化进行相关性分析, 在挤压伤后 24 h 内存在明显的相关($r = -0.60$)。

表 1 挤压伤大鼠血清生化指标变化

Table 1 Changes of serum biochemical markers in crush injury rats

($\bar{x} \pm s$)

Group	n	$[K^+]/(mmol \cdot L^{-1})$	$[Ca^{2+}]/(mmol \cdot L^{-1})$	$c_{BUN}/(mmol \cdot L^{-1})$	$c_{Cr}/(\mu mol \cdot L^{-1})$
Control	8	5.63±0.23	2.56±0.36	7.92±0.86	59.67±8.8
12 h	8	10.13±1.39 ¹⁾	1.96±0.15 ¹⁾	26.12±8.51 ¹⁾	187.20±22.6 ¹⁾
24 h	8	8.67±1.35 ¹⁾	1.87±0.24 ¹⁾	20.63±7.55 ¹⁾	88.17±17.4 ¹⁾
48 h	8	8.50±1.35 ¹⁾	2.20±0.23	15.58±2.95 ¹⁾	61.30±8.5
F		54.914	24.977	12.576	18.547
P		0.000	0.000	0.000	0.000

1) Compared with control, $P < 0.05$

表 2 挤压伤大鼠血清 CK、CK-MB、cTnI 及血浆 ET-1 检测结果

Table 2 Results of serum CK, CK-MB, cTnI and plasma ET-1 levels in crush injury rats

($\bar{x} \pm s$)

Group	n	$z(CK)/(U \cdot L^{-1})$	$z(CK-MB)/(U \cdot L^{-1})$	$\rho(cTnI)/(\mu g \cdot L^{-1})$	$\rho(ET-1)/(ng \cdot L^{-1})$
Control	8	2 000.5±575.1	2 338.3±613.7	0.45±0.19	423.83±38.70
12 h	8	14 564.5±2 935.5 ¹⁾	14 033.7±1 706.8 ¹⁾	32.63±11.64 ¹⁾	170.91±51.36 ¹⁾
24 h	8	5 995.7±895.6 ¹⁾	6 578.5±980.4 ¹⁾	6.84±2.64 ¹⁾	152.32±23.84 ¹⁾
48 h	8	2 618.8±638.1	3 201.3±514.7	1.73±0.55	210.47±46.31
F		66.887	141.895	80.54	255.70
P		0.000	0.000	0.000	0.000

1) Compared with control, $P < 0.05$

3 讨论

肢体严重挤压伤后, 引起骨骼肌细胞缺血再灌注损伤, 胞膜通透性显著增加, 胞内容物释放入血。大面积横纹肌溶解可产生高 K^+ 血症, 肌红蛋白性肾衰, 表现为 BUN、Cr、 K^+ 明显升高^[4]。骨骼肌细胞损伤, 胞膜通透性增加, 大量 Na^+ 内流, 通过 Na^+-Ca^{2+} 交换, 使胞内 Ca^{2+} 浓度明显上升, 引起胞内 Ca^{2+} 超载, 使细胞进一步损伤, 而血清 Ca^{2+} 浓度则明显下降^[5]。CK 在肌细胞中含量丰富, 而 CK-MB 以心肌细胞含量多^[9]。本实验结果显示, CK-MB 升高与 CK 升高具有同步性, 提示有心肌酶释放。cTnI 为心肌肌钙蛋白的组成成分之一, 含 31

个氨基酸序列, 只在心肌中表达, 具有高度的组织特异性^[7]。研究表明, 心肌细胞损伤后, cTnI 释放入血, 使血清浓度增加, 血清 cTnI 升高幅度与心肌损伤程度具有明显的一致性, 可作为心肌损伤的特异指标^[8]。本研究结果表明, 血清 cTnI 水平在挤压伤后 12 h 达高峰, 并持续升高至 48 h, 说明在挤压伤早期, 就有心肌损伤的存在。

ET-1 主要由血管内皮细胞合成和分泌, 具有强烈的缩血管作用; 在生理状态下, ET-1 能够维持正常的血管张力和心肌收缩力, 对心脏具有正性变力和正性变时效应^[3]。本实验研究表明, 挤压伤后血浆 ET-1 水平显著下降, ET-1 降低可能与内皮细

(下转第 43 页 to page 43)

- cer, 1995, 62(3): 345.
- [2] Collins S J, Rusoetti F W, Gallagher R E, *et al.* Normal functional characteristics of cultured human promyelocytic leukemia cells (HL-60) after induction of differentiation by dimethyl sulfoxide [J]. *J Exp Med*, 1979, 149(4): 969.
- [3] 黄 炜, 陈 涛, 廖兆全 等. 维甲酸对人体肝癌细胞几种酶活性的影响 [J]. *广州医学院学报*, 2000, 27(3): 5.
- [4] 朱文渊, 黄 炜, 黄济群. 丁酸钠对 BEL-7402 人肝癌细胞几种酶活性的影响 [J]. *实用癌症杂志*, 1998, 13(3): 187.
- [5] 彭 安, 黄 炜, 黄济群. 维甲酸对 BEL-7402 人肝癌细胞的诱导分化作用 [J]. *中国现代医学杂志*, 2000, 10(2): 15.
- [6] Kumagai H, Tajima M, Ueno Y. Effect of cyclic RGD peptide on

- cell adhesion and tumor metastasis [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 1991, 177(1): 74.
- [7] Kantor J O, McCormick B, Steeg P S, *et al.* Inhibition of cell motility after nm23 transfection of human and murine tumor cells [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(9): 1971.
- [8] Albini A, Iwamoto Y, Kleinman H K, *et al.* A rapid in vitro assay for quantitating the invasion potential of tumor cells [J]. *Cancer Res*, 1987, 47(5): 3239.
- [9] Stetler-Stevenson W G, Liotta L A. Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis [J]. *Cancer*, 1993, 71(4): 1368.

(编辑 黄小延)

(上接第 28 页 from page 28)

胞损伤有关。从 ET-1 下降 cTnI 升高的关系推测, ET-1 可能在心脏损伤过程中起一定的作用。

参考文献:

- [1] Better O S. History of the crush syndrome: from the earthquakes of Messina Sicily 1909 to Spitak, Armenia 1988 [J]. *Am J Nephrol*, 1997, 17(3-4): 392.
- [2] Michaelson M. Crush injury and crush syndrome [J]. *World J Surg*, 1992, 16(5): 899.
- [3] Miyauchi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system [J]. *Annu Rev Physiol*, 1999, 61(1): 391.
- [4] Odeh M. The role of reperfusion-induced injury in the pathogenesis of the crush syndrome [J]. *N Eng J Med*, 1991, 324(20):

- 1417.
- [5] Abassi Z A, Hoffman A, Better O S, *et al.* Acute renal failure complicating muscle crush injury [J]. *Semin Nephrol*, 1998, 18(5): 558.
- [6] Huang Y S, Yang Z C, Yan B G, *et al.* Pathogenesis of early cardiac myocyte damage after severe burns [J]. *J Trauma*, 1999, 46(3): 428.
- [7] Apple F S. Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase MB [J]. *Clin Chim Acta*, 1999, 284(2): 151.
- [8] Murphy J T, Horton J W, Purdue G F, *et al.* Evaluation of troponin I as an cardiac dysfunction after thermal injury [J]. *J Trauma*, 1998, 45(4): 700.

(编辑 黄小延, 张敏瑞)

(上接第 39 页 from page 39)

- 互作用 [J]. *国外医学生理学病理科学与临床分册*, 1998, 18(2): 125.
- [2] 陈 修, 陈维洲, 曾贵云. *心血管药理学* [M]. 第 2 版 北京: 人民卫生出版社, 1998. 67~68.
- [3] Dorje F, Levey A I, Bram M R, *et al.* Immunological detection of muscarinic receptor subtype protein(m1-m5) in rabbit peripheral tissues [J]. *Mol Pharmacol*, 1991, 40(4): 459.
- [4] Bram M R, Collins R M, Spiegel A. Localization of mRNAs encoding the α -subunits of signal-transducing G proteins with brain and among peripheral tissues [J]. *FEBS Lett*, 1987, 222(1): 181.
- [5] Wall S J, Yasuda R B, Li M, *et al.* Development of antisera selective for m4 and m5 muscarinic cholinergic receptors; distribution of m4 and m5 receptors in rat brain [J]. *Mol Pharmacol*, 1991, 40(5): 783.
- [6] Blake A D, Anthony N M, Chen H H, *et al.* Drosophila nervous system muscarinic acetylcholine receptor: transient functional expression and localization by immunocytochemistry [J]. *Mol Pharmacol*, 1993, 44(4): 716.
- [7] Magnusson Y, Marullo S, Hoyer S, *et al.* Mapping of a func-

- tional autoimmune epitope on the beta-1 adrenergic receptor in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. *J Clin Invest*, 1990, 86(5): 1658.
- [8] Magnusson Y, Hoyer S, Lengagne R, *et al.* Antigenic analysis of the second extra-cellular loop of the human beta-adrenergic receptors [J]. *Clin Exp Immunol*, 1989, 78(1): 42.
- [9] Fu L X, Magnusson Y, Bergh C H, *et al.* Localization of a functional autoimmune epitope on the muscarinic acetylcholine receptor 1 in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. *J Clin Invest*, 1993, 91(5): 1964.
- [10] Merrifield R B. Solid phase peptide synthesis [J]. *J Am Chem Soc*, 1963, 85(2): 2149.
- [11] Green N H, Alexander H, Olson A, *et al.* Immunogenic structure of the influenza virus hemagglutinin [J]. *Cell*, 1982, 28(3): 477.
- [12] 巴德年. *当代免疫学技术与应用* [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998. 158~167.
- [13] 孙瑞元. *定量药理学* [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 393~452.

(编辑 黄小延)