

# 罗库溴铵和顺式阿曲库铵持续输注对机械通气 SD 大鼠膈肌功能的影响\*

韩光炜 江继宏 黄丽娜 李士通<sup>△</sup>

(上海交通大学附属第一人民医院麻醉科 上海 200080)

**摘要** 目的:比较罗库溴铵或顺式阿曲库铵 24 h 持续输注对机械通气 SD 大鼠膈肌功能的影响。方法:雄性 SD 大鼠随机分为四组:一组作为对照组,另外三组用来进行 24 h 的机械通气。其中一组为罗库溴铵组持续输注罗库溴铵,一组顺式阿曲库铵和一组生理盐水。结果:24 h 机械通气后,与生理盐水组相比,罗库溴铵组的膈肌最大强直张力下降 29%,膈肌 MuRF-1 的 mRNA 水平增加 30%,calpain 活性增加约 57%,而等效剂量的顺式阿曲库铵组则没有明显改变。结论:与顺式阿曲库铵相比,罗库溴铵可引起 Calpain 活性的增强和泛素-蛋白酶体系统的激活,对膈肌功能的损害和蛋白水解活性的增强作用更明显。

**关键词** 罗库溴铵;机械通气;膈肌;危重症肌病

**中图分类号** Q95-3 R614 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2012)22-4220-05

## Continuous Infusions of Rocuronium and Cisatracurium Exert Different Effects on SD Rat Diaphragm Function during Mechanical Ventilation\*

HAN Guang-wei, JIANG Ji-hong, HUANG Li-na, LI Shi-tong<sup>△</sup>

(Department of Anesthesiology, the First People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China)

**ABSTRACT Objective:** The aim of our study was to compare the effects of 24 h infusion of rocuronium or cisatracurium on the diaphragm in mechanically ventilated SD rats. **Methods:** Male SD rats were randomly divided into four groups: a control group(CON) and three groups submitted to controlled mechanical ventilation for 24h. Among them, MVR group received a continuous infusion of rocuronium, while MVC with cisatracurium and MVS with 0.9% NaCl. **Results:** After 24h mechanical ventilation, *in vitro* diaphragm tetanic force was decreased after rocuronium (-29 % vs. saline), while the force was more preserved after equivalent dose infusion of cisatracurium. Diaphragmatic MuRF-1 mRNA was increased after rocuronium (+30 % vs. saline), while unchanged in cisatracurium group. Calpain activity was increased after rocuronium (+57 % vs. saline) and unchanged in the cisatracurium groups. **Conclusion:** Cisatracurium infusion during controlled mechanical ventilation exerted less detrimental effects on diaphragm function and proteolytic activity than infusion of rocuronium. These data suggest that increased calpain activity and increased activation of the ubiquitin proteasome system play a role in the different effects of these agents.

**Key words:** Rocuronium; Mechanical ventilation; Diaphragm; Critical illness myopathy

**Chinese Library Classification(CLC):** Q95-3, R614 **Document code:** A

**Article ID:**1673-6273(2012)22-4220-05

### 前言

近期,机械通气诱发的膈肌功能障碍现象(VIDD)被证实临床上会出现<sup>[1]</sup>,在一些成熟的动物模型上也会出现<sup>[2]</sup>。这种膈肌功能障碍往往与呼吸机脱机困难相联系。虽然有许多因素可以导致脱机困难,但 VIDD 在其中所起到的作用是不容忽视的。

持续使用非去极化肌松弛药(NMBA),通常是为了减少呼吸做功、降低氧耗、便于机械通气。有调查显示,约 13%的机械通气患者会持续使用 NMBA,且机械通气的平均时间约为 2 天<sup>[3]</sup>。急性呼吸窘迫症的患者,使用 NMBA 的频率和持续时间相应会更高。NMBA 是公认的一种肌病的诱发因素<sup>[4]</sup>,可导致机械通气和住院时间的延长。

NMBA 包括氨基甾类和苄基异喹啉两类肌松药,都可用于机械通气的辅助治疗。使用 NMBA 治疗后,可出现肌肉组

织的麻痹延长和严重的肌无力现象,时间可长达几天甚至数月,发生率可高达 24%-70%<sup>[5]</sup>。由于氨基甾类肌松药拥有一个甾体的核,甾体类肌松药被认为可以像皮质甾类药物一样,或者是通过某些方式增强内源性甾体的糖皮质激素样作用。甾类药物总是与肌病的发展联系在一起,有研究显示氨基甾体类的罗库溴铵可以加重 VIDD 中膈肌的功能障碍<sup>[6]</sup>。

本研究中,我们拟比较两种非去极化肌松药甾体类的罗库溴铵和苄基异喹啉类的顺式阿曲库铵 24h 持续输注对膈肌的功能、形态学以及对肌萎缩相关蛋白产物、基因表达的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验设计与步骤

选择 11-13w 大小的 SD 雄性大鼠,随机分入 4 组,其中三组在戊巴比妥钠麻醉下进行 24h 的机械通气,分别持续输注罗

\* 基金项目:国家自然科学基金(30972859)

作者简介:韩光炜(1974-),男,博士研究生,研究方向:麻醉药理学。电话:13916036779 E-mail: davidhan330400@163.com

<sup>△</sup>通讯作者:李士通 E-mail: lishitongs@hotmail.com.cn

(收稿日期:2012-04-11 接受日期:2012-04-30)

库溴铵、顺式阿曲库铵、生理盐水,另外一组做空白对照,分别记为 MVR、MVC、MVS 和 CON 组。

动物模型建立的方法如下:戊巴比妥钠( $60\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )腹腔注射麻醉大鼠,然后在颈部正中切口做气管切开并插管,连接呼吸机(ALC-V8S,上海奥尔科特公司)行机械通气。右侧颈内动、静脉插管,分别连接动脉血压监测和戊巴比妥钠持续输注。尾静脉穿刺置管,以便输注罗库溴铵、顺式阿曲库铵或生理盐水。每隔 12h 测量血气一次。左侧大腿上端的坐骨神经部位放置一根电极线,固定左腿并与张力换能器相连。电流刺激坐骨神经时,可出现踝关节的跖屈反射。在输注罗库溴铵、顺式阿曲库铵前,输注后 1h 及以后每隔 3h 对跖屈反射的抽搐张力值进行测量,并据此来调整肌松药物的输注速度,以使得肌抽搐张力值维持在给药前基础值的 50%左右。机械通气采用容量控制模式,潮气量为  $8\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,呼吸频率为  $60\text{min}^{-1}$ 。

24h 机械通气后,大鼠腹腔注射戊巴比妥钠( $60\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),然后迅速取出附带肋骨和中心腱的膈肌片段(约 5mm 宽)。参照 Dekhuijzen<sup>[7]</sup>的方法,使用肌张力分析仪(ALC-MPA2000m,上海奥尔科特公司)对离体肌条进行收缩特性方面的测定。沿肌纤维方向取两块膈肌条,肌条两端穿扎丝线,肋骨端固定在 L 形张力测定杆上,中心腱端悬挂于张力换能器的感应杆上,放入灌有 kerbs 液的灌流槽内。kerbs 液的温度维持在  $30^{\circ}\text{C}$  左右,槽内用含 95%(体积分数)的  $\text{O}_2$  和 5%的  $\text{CO}_2$  的混和气体持续灌注。Kerbs 液的成份由  $\text{NaCl}$ 、 $\text{KCl}$ 、 $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{MgCl}$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 、Glucose 组成,其含量( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )分别为 137、4、2、1、1、12、6.5。肌条两侧平行放置一对覆盖肌条全长的银丝电极,以产生电场的场刺激。刺激为单向方波的电信号,0.2ms 宽,调整电压强度直至获得最大抽搐张力。然后电压值设定为此电压的 1.2 倍,用于后续肌张力的测定。通过微调螺旋调整肌条前负荷,以产生最大抽搐张力(Pt),并测量此时肌条长度,即最适初长度( $L_0$ )。在频率为 160Hz,时长为 250ms 的电刺激下测定最大强直张力( $P_0$ )。直接的定时刺激以测量肌条的张力-频率曲线关系,定时刺激的时间为 250ms,波宽为 0.2ms,频率为 10、20、40、60、80、100、120Hz。每两次电刺激之间都至少留 2min 的间隔时间。疲劳特性测定采用 330ms,40Hz 的串刺激,每秒发送一次,持续 5min。张力测定后,取下膈肌条,沾去多余水份称重。肌条的横截面积(CSA)由如下公式进行计算:  $\text{CSA}(\text{cm}^2) = \text{muscle mass}/(\text{fiber length} * 1.056)$ 。其中,1.056 代表肌条的密度,单位是  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ,肌条长度以肌条的最适初长度  $L_0$  来表示,单位是 cm。所测得的肌力须与肌条的 CSA 进行标化处理,再用于数据分析。余下膈肌经液氮处理后,放入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱,用于形态学分析和相应蛋白、mRNA 的测量。

## 1.2 形态学分析

肌条纤维垂直于托塞放置,在  $-20^{\circ}\text{C}$  恒温冰冻切片机(Leica CM 1900)内用 OCT 固定,然后垂直于膈肌纤维的纵轴,切取系列  $10\mu\text{m}$  的冰冻切片。取两张做肌纤维的腺苷三磷酸酶染色(即 ATPase 染色),分别用 pH4.3、pH4.5 的酸性前孵育液孵育,这样肌纤维可分为慢反应的 I 型纤维以及快反应的 IIa 和 IIx/b 型纤维。保存 100 倍放大倍数下的膈肌横截面的图像,通过 IPP6 软件对图像进行分析。随机选择约 150 个肌纤维计算各型纤维的比例和 CSA。

## 1.3 RNA 提取和 real-time PCR

按照 Trizol(invitrogen)的使用说明,采用异硫氰酸胍-酚-氯仿一步法从膈肌中抽提总 RNA。选用 Takara 公司的逆转录试剂盒 DRR037A,进行逆转录反应。通过 primer 5 设计大鼠 IGF-1、MuRF-1、MAFbx 以及  $\beta$ -actin 的引物以进行 real-time PCR 反应,所用引物均由上海生工生物科技公司合成。Real-time PCR 反应融解曲线分析显示为单峰的,则纳入结果分析。测量结果通过扩增阈值比较法来表示。

## 1.4 Western-blotting

为评估膈肌 calpain 的活性,我们通过 western-blotting 的方法对 calpain 作用于  $\alpha$ II-spectrin 的特异性分解产物进行定量分析。使用含 KPO4 的裂解液裂解膈肌,通过 Bradford 法来测定裂解液中总蛋白的浓度。等量的蛋白上样缓冲液加入 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳跑胶,半干法进行转膜。膜上的蛋白印迹用含  $\alpha$ II-spectrin 的单克隆小鼠一抗(Enzo, x09025)孵育,  $4^{\circ}\text{C}$  过夜。洗膜后,用 HRP-偶联的抗小鼠的二抗孵育, ECL 显影。260kDa 蛋白条带代表完整的  $\alpha$ II-spectrin,而 150 和 145kDa 处的条带代表 calpain 特异性地分解  $\alpha$ II-spectrin 的产物。Calpain 的活性由其在  $\alpha$ II-spectrin 的特异性降解产物与完整蛋白的比值来表示。以生理盐水组分解产物条带与完整  $\alpha$ II-spectrin 条带的百分比为标准,其余各组与之相比较。类似地,膈肌 calpastatin 蛋白的表达由小鼠单克隆抗体(abcam ab3515)通过 western-blotting 的方法来进行比较。所得蛋白条带的灰度值通过 image J 软件来进行比较。

## 1.5 统计分析

所收集的资料经由 SPSS18.0 软件来进行统计分析。各组数据通过 ANOVA 进行单因素分析,组间比较采用 Turkey 方法。数据以均值  $\pm$  标准差来表示,  $P < 0.05$  视为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

机械通气三组 24h 的 CMV 后,所测动脉血 pH 值、 $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$  均在正常范围,组间差异不明显,平均动脉血压各组间也无明显不同(见表 1)。机械通气三组间的戊巴比妥钠用量相似,而血浆 IGF-1 的含量对照组明显高于机械通气三组( $P < 0.01$ )。

### 2.2 膈肌的收缩特性

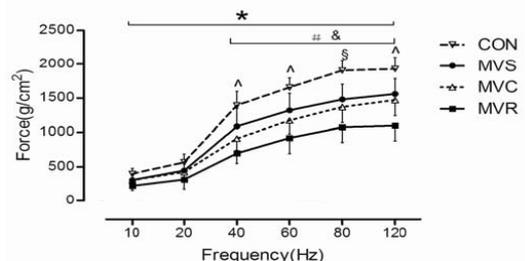


图 1 以绝对值表示的离体张力-频率关系

Fig. 1 *In vitro* force frequency relationship of the diaphragm expressed in absolute values

注 \*  $P < 0.01$  罗库溴铵组 vs 对照组, #  $P < 0.01$  罗库溴铵组 vs 生理盐水组, &  $P < 0.01$  对照组 vs 顺式阿曲库铵组, ^  $P < 0.05$  对照组 vs 生理盐水组, §  $P < 0.01$  对照组 vs 生理盐水组

Note: \*  $P < 0.01$  rocuronium vs. control, #  $P < 0.01$  rocuronium vs. normal saline, &  $P < 0.01$  control vs. cisatracurium, ^  $P < 0.05$  control vs. normal saline, §  $P < 0.01$  control vs. normal saline

Table 1 General condition

	CON(n=7)	MVS(n=7)	MVC(n=8)	MVR(n=8)
pH	--	7.35± 0.13	7.42± 0.11	7.26± 0.08
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	--	128± 36	142± 32	122± 31
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	--	34± 16	33± 12	37± 13
ABP(mmHg)	--	102.75± 13.82	91.86± 7.43	90.03± 12.27
Pentobarbital(mg)	--	196.25± 35.43	210.02± 36.51	192.50± 33.71
Weight(g)	329.28± 36.59	318.50± 40.97	303.57± 28.31	340.38± 33.93
Serum IGF-1(ng/ml)	711± 109*	345± 87	382± 83	351± 84

Note: \* P<0.01 pre-represents CON vs all other groups. Values are mean± SD expressed.

各组膈肌的张力 - 频率曲线关系如图 1 所示。与对照组相比,生理盐水组 24h 机械通气后,张力 - 频率曲线有明显下移,在刺激频率为 40-120Hz 时其下降幅度约为 20% P<0.05。罗库溴铵组经过 24h 机械通气和罗库溴铵持续输注后,其张力 - 频率曲线在各刺激频率都低于生理盐水组,降幅约为 25% P<0.01。同顺式阿曲库铵组相比,罗库溴铵组在各频率的刺激下,肌力都低于相应的顺式阿曲库铵组。

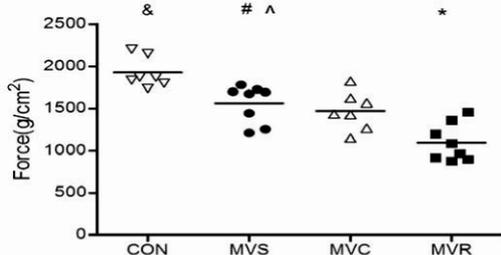


图 2 四组离体膈肌强直张力的比较

Fig.2 *In vitro* diaphragm tetanic force in all four groups. Each point represents an individual animal. The horizontal line represents the mean value of the group

注: 图中每点代表一只动物。水平线代表此组的平均值 \*P<0.01 罗库溴铵组 vs 对照组 #P<0.01 罗库溴铵组 vs 生理盐水组 &P<0.01 对照组 vs 顺式阿曲库铵组 ^P<0.05 对照组 vs 生理盐水组

Note: \*P<0.01 rocuronium vs. control, #P<0.01 rocuronium vs normal saline, &P<0.01 control vs cisatracurium, ^P<0.05 control vs normal saline.

如图 2 所示,在频率为 160Hz 时,对照组、生理盐水组、顺式阿曲库铵组和罗库溴铵组最大强直张力的平均值分别为 1926± 179, 1560± 224, 1470± 226, 1096± 222g/cm<sup>2</sup>。24h 的机械通气造成生理盐水组的最大强直张力(F<sub>0</sub>)明显低于对照组,下降 19%。罗库溴铵的持续输注则可引起 F<sub>0</sub> 的进一步下降,明显低于生理盐水组,降幅为 29%。顺式阿曲库铵组 F<sub>0</sub> 的平均值高于罗库溴铵组,与生理盐水组相似。

图 3 为四组膈肌疲劳试验的时间 - 张力趋势图。如图所示,在 60s 和 90s 处,罗库溴铵组膈肌张力的降幅明显大于对照组。其余各时间点,各组间差异不明显。

### 2.3 膈肌的形态学

膈肌的 H&E 染色,各组标本均未见有炎症感染的迹象。如图 4 所示,四组膈肌各种肌纤维的比例没有明显不同, I 型和

IIa 型肌纤维的横截面积(CSA)亦无明显变化。机械通气三组与对照组相比, IIb/x 型膈肌肌纤维的 CSA 都有显著性降低,平均减少约 25%。机械通气三组之间 IIb/x 型膈肌纤维的 CSA 无明显不同,罗库溴铵组略低。

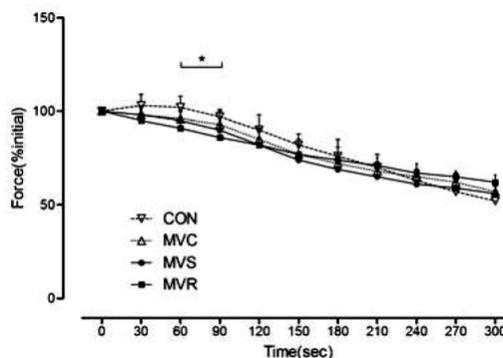


图 3 膈肌的疲劳特性

Fig.3 The fatigue properties of the diaphragm

注: \*P<0.05 罗库溴铵组 vs 对照组。

Note: \*P<0.05 rocuronium vs control.

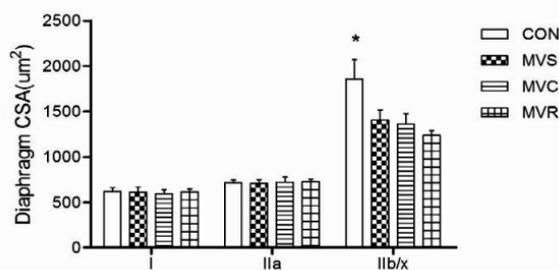


图 4 四组相应肌纤维的比较

Fig.4 Comparison of corresponding muscle fibers CSA of four groups

注: \*P<0.05 对照组 vs 其余各组

Note: \*P<0.05 control vs all other groups.

### 2.4 膈肌 IGF-1、MuRF-1 和 MAFbx 的 mRNA 表达

机械通气三组与对照组相比,肌萎缩相关基因 MuRF-1 和 MAFbx 的 mRNA 均有显著性的升高(P<0.05),而与蛋白合成相关的 IGF-1 的 mRNA 水平则有明显降低(P<0.05)。罗库溴铵组 MuRF-1 的表达量较生理盐水组增加约 30% 顺式阿曲库铵组 MuRF-1 与生理盐水组相似,机械通气三组膈肌 MAFbx 信使 RNA 的表达量相似。

### 2.5 膈肌的 calpain 和 calpastatin 活性

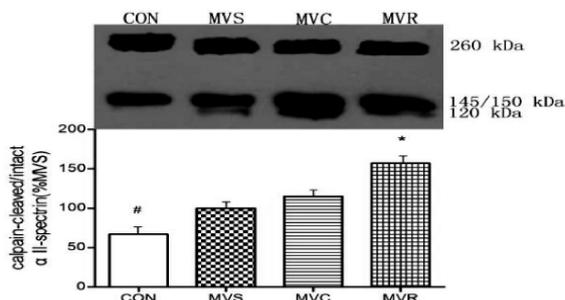


图 5 四组膈肌中 calpain 分解 α II-spectrin 的产物与完整 α II-spectrin 蛋白比值的比较

Fig.5 Ratio of calpain-cleaved to total α II-spectrin present in the diaphragm of animals in all four groups

注 数值(均数± 标准差)以与生理盐水的百分比来表示, \* P<0.05 罗库溴铵组 vs 对照组或生理盐水组 # P<0.05 对照组 vs 顺式阿曲库铵组。  
Note: Values (means and SE) are expressed as a percentage of the normal saline group, \* P < 0.05 rocuronium vs. the control or normal saline, # P < 0.05 control vs cisatracurium group.

Calpain 作用于 αII-spectrin 的特异性分解产物 145kDa 和 150kDa 的蛋白量与 260kDa 完整 αII-spectrin 蛋白量的比值, 可以用来代表 calpain 的活性<sup>[8]</sup>。作为 calpain 活性的标志物, αII-spectrin 分解产物与其完整蛋白的比值在罗库溴铵组明显高于其它组, 说明罗库溴铵组 calpain 的活性比较高, 蛋白水解作用更明显。如图 5 所示生理盐水组 calpain 的活性设为 1, 则罗库溴铵组的比值较生理盐水组高 57%(P<0.05), 较顺式阿曲库铵组高 36%。

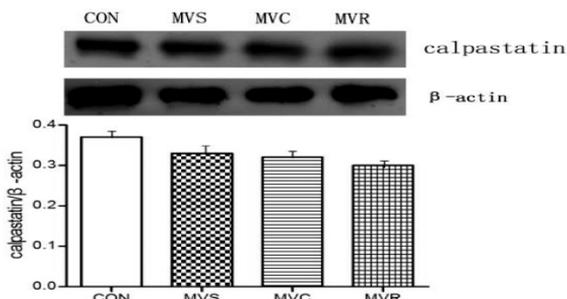


图 6 四组膈肌中 calpastatin 蛋白的比较

Fig.6 Comparison of calpastatin present in the diaphragm of all four groups

如图 6 所示, 膈肌 calpain 的内源性抑制剂 calpastatin 在四组间无明显差异, 对照组略高于机械通气的三组。

### 3 讨论

本研究主要观察了甾体类肌松药罗库溴铵和苄基异喹啉类肌松药顺式阿曲库铵持续输注对机械通气 SD 大鼠膈肌功能的影响, 结果显示 24h 的机械通气并持续输注罗库溴铵对膈肌肌力负性的影响更明显, 可导致张力-频率曲线较生理盐水组有明显的下移。而等效剂量的顺式阿曲库铵对膈肌的影响则不明显。

### 3.1 VIDD 模型的构建

控制性机械通气(CMV)可诱发膈肌的 VIDD。与在 CMV 期间同样处于失活动状态的四肢肌肉相比, 膈肌的萎缩出现的更早更明显, 可以在 CMV 后的 12h 即出现<sup>[9]</sup>。本研究中与对照组相比, 24h 的 CMV 可以引起 IIB/x 型肌纤维横截面积显著性的减少, 出现以 IIB/x 型纤维为主的肌萎缩。本研究结果还显示, 在 40Hz 以上的高频电刺激下, 生理盐水组大鼠膈肌的肌力明显低于对照组(P<0.05), 说明 24h 的机械通气对大鼠膈肌功能造成了明显的负面影响。24h 的机械通气后, 生理盐水组的 IGF-1 水平较之对照组有明显的下降, 同时 MuRF-1 和 MAFbx 水平有显著性升高。与众多关于 VIDD 模型的研究结果<sup>[1, 2, 9]</sup>相一致。

临床上要获取 VIDD 的标本受到各种条件的限制, 所以探索机械通气对膈肌功能影响的研究多数需要构建相应的动物模型来进行。而 SD 大鼠的膈肌在解剖结构, 肌纤维组成和功能上都与人类很相似<sup>[10]</sup>。

### 3.2 NMBA 与膈肌功能

美国食品和药品管理局(FDA)的一项调查认为, 持续数天大剂量甾体类肌松药给患者的输注, 尤其是同时并用皮质甾类药物或者氨基糖苷类抗生素的患者, 可以增加患者对肌病或肌无力的易感性<sup>[11]</sup>。ICU 机械通气的危重患者中, 由于营养不良, 败血症, 以及使用皮质甾类药物等各种影响因素的并存, 很难客观地评价甾体类肌松药对膈肌功能的影响, 这样也需要构建相应的动物模型来研究肌松药长期输注对膈肌功能的影响。

NMBA 的使用可以导致两类不同的肌无力: 一类是与肌松药残余作用相伴随的麻痹期延长, 主要是由于 NMBA 及其代谢产物的蓄积作用; 另一类就是危重症肌病(CIM), 表现为骨骼肌, 尤其是四肢的骨骼肌对电刺激的无反应性<sup>[4]</sup>。大于 48h 的 NMBA 持续输注是一个已知的 CIM 诱发因素, 可造成呼吸机的脱机困难<sup>[12]</sup>。本研究中, 24h 机械通气可引起膈肌肌力在高刺激频率时下降约 25%, 加用罗库溴铵持续输注则会出现约 40% 的下降。而等效剂量的顺式阿曲库铵对膈肌的影响却不明显。

因为膈肌间力量的比较必须先与肌条的横截面积进行标化处理, 所以膈肌肌力的下降不能简单归结为肌萎缩。膈肌肌力的测量通常是在肌条的最适初长度下进行的, 以便排除不同初长度对肌力测量的影响。这样所测得的肌力才能反映膈肌肌纤维本身在 VIDD 病理生理状态中的变化。机械通气三组使用戊巴妥钠的量相似, 可以排除麻醉药物一些可能的影响, 三组之间的血气结果和动脉血压也无明显差异。因此, 本研究中机械通气三组膈肌内在特性的不同应该主要与所输注的罗库溴铵或顺式阿曲库铵有关。

### 3.3 肌肉的组化

与对照组相比, 机械通气三组的 IIB/x 肌纤维横截面积都有明显的减少, 罗库溴铵组略显更低。三组之间膈肌的各型肌纤维横截面积无明显改变, 这可能与本研究的时间相对较短有关。

### 3.4 膈肌的蛋白水解

因为 IGF-1 可以刺激蛋白合成, 减少蛋白降解, 其表达量的减少将导致肌肉蛋白分解增强。本研究结果显示, 机械通气

后膈肌 IGF-1 的 mRNA 的水平均有所降低,提示我们可能有肌萎缩现象的存在。

骨骼肌萎缩的蛋白水解酶有三类:一类是泛素-蛋白酶系统;另一类是钙依赖性的 calpain 体系;以及溶酶体蛋白系统。机械通气期间,呼吸机引起的膈肌失负荷可以激活上述三类的蛋白水解酶体系<sup>[13]</sup>。泛素结合酶 E3 是负责连接泛素到蛋白底物上的一组关键酶,MAFbx 和 MuRF-1 都属于 E3 结合酶,是两个在泛素化过程中关键的底物特异性酶<sup>[14]</sup>。这两个酶的改变可作为不同病理条件下肌萎缩的标志物<sup>[1,15]</sup>。本研究中,生理盐水组和顺式阿曲库铵组 MuRF-1 的 mRNA 水平比对照组有明显升高,但两组间差异不明显,而罗库溴铵组的 MuRF-1 相对于生理盐水组则有约 30% 的增加。

虽然泛素-蛋白酶系统(UPS)被认为是骨骼肌中主要的蛋白水解方式,但由于 UPS 不能降解完整的肌纤维蛋白,完整的肌纤维必须先被其它的蛋白水解机制(如 calpain 和 caspase 系统)降解后,才能被 UPS 分解<sup>[16]</sup>。相应地,在本研究中罗库溴铵组膈肌 calpain 的活性有明显增加。

Calpain 能特异性地分解胞膜骨架蛋白  $\alpha$ II-spectrin, 产生两个独特且高度稳定的降解产物,大小分别为 145、150 kDa<sup>[17]</sup>。正常情况下,肌纤维 calpain 活性是由其内源性的抑制剂 calpastatin 和胞质钙离子水平决定的<sup>[18]</sup>。本研究中机械通气的三组的 calpastatin 水平相似,所以罗库溴铵组 calpain 活性的增强可能是由于肌细胞内的钙稳态环境有所改变而引发的。并且有间接的证据也表明,胞内钙离子的水平在机械通气后的膈肌中是增高的<sup>[19]</sup>。

总之,24 小时控制性机械通气的大鼠持续输注罗库溴铵或顺式阿曲库铵,以维持外周的肌力下降 50%。罗库溴铵可引起 calpain 活性的显著性增高, MuRF-1 表达的增多,以及膈肌肌力的明显下降,而等效剂量顺式阿曲库铵的作用则不明显。

#### 参考文献(References)

- [1] Levine, S. Rapid Disuse Atrophy of Diaphragm Fibers in Mechanically Ventilated Humans[J]. N Engl J Med, 2008, 358: 1327-1335
- [2] Gayan-Ramirez, G. Detrimental effects of short-term mechanical ventilation on diaphragm function and IGF-I mRNA in rats[J]. Intensive Care Med, 2003, 29(5): 825-833
- [3] Arroliga, A. Use of sedatives and neuromuscular blockers in a cohort of patients receiving mechanical ventilation [J]. Chest, 2005, 128(2): 496-506
- [4] Murray, M. J. Clinical practice guidelines for sustained neuromuscular blockade in the adult critically ill patient [J]. Crit Care Med, 2002, 30

- (1): 142-156
- [5] Latronico, N. Critical illness myopathy and neuropathy [J]. Lancet, 1996, 347(9015): 1579-1582
- [6] Testelmans, D.I. Infusions of rocuronium and cisatracurium exert different effects on rat diaphragm function[J]. Intensive Care Medicine, 2007, 33(5): 872-879
- [7] Dekhuijzen, P.N.R. Triamcinolone and prednisolone affect contractile properties and histopathology of rat diaphragm differently [J]. J. Clin. Invest, 1993, 92(3): 1534-1542
- [8] Goll, D.E. The calpain system[J]. Physiol Rev, 2003, 83(3): 731-801
- [9] Powers, S.K.I. Mechanical ventilation results in progressive contractile dysfunction in the diaphragm[J]. J Appl Physiol, 2002, 92(5): 1851-1858
- [10] Powers, S.K. Myosin phenotype and bioenergetic characteristics of rat respiratory muscles[J]. Med Sci Sports Exerc, 1997, 29(12): 1573-1579
- [11] Yasukawa, T. Steroidal nondepolarizing muscle relaxants do not simulate the effects of glucocorticoids on glucocorticoid receptor-mediated transcription in cultured skeletal muscle cells [J]. Anesthesiology, 2004, 100(6): 1615-1659
- [12] De Jonghe, B. Paresis acquired in the intensive care unit: a prospective multicenter study[J]. JAMA, 2002, 288(22): 2859-2867
- [13] Petrof, B.J. S. Jaber, and S. Matecki, Ventilator-induced diaphragmatic dysfunction[J]. Curr Opin Crit Care, 2010, 16(1): 19-25
- [14] Sandri, M. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy [J]. Cell, 2004, 117(3): 399-412
- [15] Maes, K. High dose methylprednisolone counteracts the negative effects of rocuronium on diaphragm function [J]. Intensive Care Medicine, 2011, 37(11): 1865-1872
- [16] Maes, K. Leupeptin inhibits ventilator-induced diaphragm dysfunction in rats[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007 175(11): 1134-1138
- [17] Warren, M.W. calpain and caspase proteolytic markers colocalize with rat cortical neurons after exposure to MDMA[J]. Acta Neuropathol, 2007, (114): 277-286
- [18] Czogalla, A. and A.F. Sikorski, Spectrin and calpain: a 'target' and a 'sniper' in the pathology of neuronal cells[J]. Cell Mol Life Sci, 2005, 62(17): 1913-1924
- [19] DeRuisseau, K.C. Diaphragm unloading via controlled mechanical ventilation alters the gene expression profile [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 172(10): 1267-1275