

慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者的 膈肌适应和损伤改变

石磊¹ 田媛¹(综述) 朱晓萍^{2Δ}(审校)

(¹宁夏医科大学临床学院 2011 级硕士研究生 银川 750004; ²同济大学附属东方医院呼吸科 上海 200120)

【摘要】 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 由于气流受限和持续过度充气导致膈肌负荷过重,从而使膈肌结构、代谢和收缩功能发生改变,如肌卫星细胞活化,肌纤维向 I 类氧化纤维移行及有氧代谢增强等改变。但是由于慢性缺氧和细胞因子的影响,膈肌组织中乳酸和氧自由基生成增多,使参与膈肌能量代谢的蛋白酶功能受损,横桥循环动力不足。同时由于膈肌损伤和氧化应激激活蛋白水解途径,导致收缩蛋白的丢失,膈肌收缩力下降。最终, COPD 患者呼吸困难,活动耐力下降并向恶性病质发展。本文就 COPD 患者膈肌所发生的适应和损伤改变做一综述。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病(COPD); 膈肌损伤; 代谢; 收缩功能障碍

【中图分类号】 R 565 + .2 **【文献标志码】** B **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2014.02.023

Diaphragm adaptations and muscle fiber dysfunctions in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

SHI Lei¹, TIAN Yuan¹, ZHU Xiao-ping^{2Δ}

(¹ Graduate Student of 2011 Grade, Clinical College, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China; ² Department of Respiratory Medicine, East Hospital, Tongji University, Shanghai 200120, China)

【Abstract】 Long-term airflow limitation and continuing hyperinflation lead to overloaded diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease (COPD), so that diaphragm structure, metabolism and contractile function have altered, such as the activation of muscle satellite cell, muscle fiber shift towards fibers of oxidative type I, enhancement of aerobic metabolism. However, due to the impact of chronic hypoxia and cytokines, lactate and oxygen free radicals increased in diaphragm. Diaphragm metabolism protease dysfunction leads to underpowered cross-bridge circulation. In addition, the sarcometric injury and oxidative stress activate proteolysis result in the loss of contractile protein and diaphragmatic contractility. Ultimately, the disease causing dyspnea, endurance intolerance, and then develops to cachexia. We reviewed recent studies and researches on the diaphragmatic adaptations and muscle fiber dysfunctions in patients with COPD.

【Key words】 chronic obstructive pulmonary disease (COPD); diaphragm injury; metabolism; contractile dysfunction

* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81170074).

呼吸困难和活动耐力下降是慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)的突出临床表现,而呼吸肌收缩功能下降是其主要原因^[1]。膈肌是最主要的吸气肌,平静呼吸时膈肌收缩活动产生的潮气量占总潮气量的80%^[2];反映膈肌收缩强度的最大吸气压是决定COPD患者生存率的一项独立危险因素^[1]。因此,理解和明确COPD膈肌内在结构,代谢的变化以及与收缩功能的关系具有重要的临床意义。

膈肌损伤 数项研究显示,中、重度COPD患者膈肌存在明显的结构损伤。Orozco-Levi等^[3]发现中、重度COPD膈肌呈现肌节断裂,Z线消失,肌丝错位和连接蛋白丢失;膈肌中出现内核及小角纤维等征象,损伤程度与气道阻塞程度呈明显正相关。当吸气肌负荷增加后,COPD患者膈肌损伤的密度和程度高于正常人3倍。Scott等^[4]对重度COPD患者的尸检发现,光镜下膈肌呈现明显损伤,损伤纤维胶原蛋白沉积增多,并出现小纤维和异常形状的肌纤维。膈肌肋部比腰部有更多的胶原沉积和肌纤维损伤,这源于膈肌肋部在收缩及吸气负荷增加时需承受更高的张力和压力。另一方面,中、重度COPD患者膈肌纤维内出现巨大线粒体及大量嵴减少、絮状、髓样及空泡样变的线粒体^[3-5]。但是,轻度COPD患者并无明显的膈肌损伤^[6-7]。Levine等^[7]观察轻、中度COPD患者发现膈肌横截面无损伤征象,但肌节长度缩短,线粒体容量增大,此改变可能对COPD患者的膈肌收缩功能有益。

一般来说,肌损伤后会出现炎症反应和肌肉重建。肌肉重建的一个特点是肌卫星细胞活化,它能增殖和分化成新的肌纤维细胞。但COPD患者的膈肌肌卫星细胞分化到肌小管即停止^[8]。一项肺气肿动物模型研究发现,膈肌中生肌调节因子下降及分化蛋白2抑制物增高^[9],提示COPD患者存在肌卫星细胞分化异常,这可能是导致COPD患者膈肌重建不全的原因之一。

膈肌纤维类型的转化 膈肌纤维因表达不同的肌球蛋白重链(MHC)分为4种亚型,1种慢型(I)和3种快型(II a、II b、II x)。I型纤维收缩速度较慢,收缩力小,线粒体含量丰富,以有氧代谢获能,能耐受疲劳;II a型纤维线粒体含量较多,能以有氧氧化和糖酵解两种方式获能,具有耐疲劳特点;II b型和II x型纤维收缩速度快,收缩力大,线粒体含量少,主要以糖酵解方式获能,易疲劳^[2,10]。

正常人膈肌中I:II a:II b 3种纤维的比例约为48%:37%:15%^[2],此组织学特性与膈肌持续主动性的节律活动相匹配。

由于COPD患者肺过度充气,吸气负荷及膈肌活动增加,膈肌处于负荷训练状态。研究证实在中、重度COPD患者中,膈肌I型纤维比例增加而II型纤维比例下降,线粒体密度和功能有效性增加,而股外侧肌则由I类向II类肌纤维移行,与膈肌改变相反^[11-14]。Mercadier等^[11]对22例重度COPD患者的研究发现,肌球蛋白亚型重链和肌成纤维细胞调节蛋白(肌球蛋白轻链、肌钙蛋白亚基和原肌球蛋白)均由快收缩到慢收缩发生转变。研究发现轻、中度COPD患者的膈肌也有II型向I型纤维转化的趋势,但改变程度轻^[15]。总之,COPD患者膈肌肌纤维类型的转变出现早,并随气道阻塞程度的加重而明显。

膈肌代谢 膈肌收缩需要高能磷酸化合物ATP,在肌细胞内它浓度相对低,如果ATP不能快速再生将于短时间内耗竭。在膈肌中ATP生成通过有氧酶和厌氧酶途径。需氧酶如琥珀酸脱氢酶(SDH)、柠檬酸合酶(CS)和3-羟酰-辅酶A脱氢酶(HADH)主要存在于线粒体中,厌氧酶如磷酸化酶、乳酸脱氢酶主要存在于细胞质中。不同的膈肌纤维类型有不同的代谢特性,如I型和II a型肌纤维均具有较高的有氧酶活性。

研究显示,COPD患者的膈肌向更强的代谢能力和抗疲劳能力转变。随着COPD膈肌向I型纤维转化,I型纤维所占比例增加,膈肌线粒体的功能也随之增强。对仓鼠肺气肿模型研究发现膈肌I型和II型纤维中线粒体酶SDH浓度较对照组增加^[16],而代表糖原酵解能力(如磷酸果糖激酶活性)降低^[17]。同样,重度COPD患者的膈肌所有类型肌纤维的SDH活性是正常值的1倍多^[5]。Wijnhoven等^[18]也发现重度COPD患者氧化能力和线粒体酶HADH活性均增加,且线粒体密度比正常人增加50%。这表明重度COPD患者的各种肌纤维通过氧化通路产生ATP的能力增加。虽然COPD患者肌球蛋白ATP酶(mATPase)的活性减少,但膈肌抗疲劳的标志SDH/mATPase在COPD患者中增加^[19]。当COPD病情发展,患者缺氧进一步加重,ATP生成减少,糖酵解在一定程度上可补偿能量的不足。然而乳酸生成越来越多,当清除不足,可导致代谢性酸中毒^[20]。轻到中度COPD患者膈肌更多的依赖有氧代谢,氧化酶活

性增强并与肌纤维移行一致,糖原储备无明显改变^[15]。与 COPD 病程相对应的膈肌氧化能力增强和肌纤维类型改变在其他呼吸肌未发现^[5],提示膈肌在 COPD 患者呼吸泵功能中所发挥的主要作用。

膈肌萎缩 膈肌萎缩指膈肌体积或正常形态的肌纤维减少 5%~15%,表现为肌块减小、肌纤维萎缩、肌肉横截面积减少及肌球蛋白重链表达降低。

对肺气肿动物模型研究发现,第 20 周小鼠膈肌肌块减小、肌节数量和长度减小^[21];到第 34 周膈肌重量减轻,肌球蛋白含量减少 67%^[17]。对重度 COPD 患者观察发现膈肌 I 型和 II 型肌纤维横截面积减少 40%~60%^[6]。另一项对重度 COPD 患者研究发现^[7],膈肌 I 型肌纤维横截面积较 II 型纤维减少近一半。但观察轻、中度 COPD 患者的膈肌横截面积与对照相比无差异^[3],近期几项对轻度 COPD 患者研究发现每半肌节的肌球蛋白含量的减少随着每段横截面积最大收缩力降低。在这些患者中膈肌横截面积均正常^[13-14]。这些研究表明 COPD 患者存在膈肌萎缩,并随着疾病严重程度而加重,依次出现肌球蛋白重链表达降低、肌纤维横截面积减少、肌块减小和重量下降。

通过泛素蛋白酶体途径(UPP)导致肌球蛋白丢失,是 COPD 患者膈肌萎缩无力机制的关键一步。Ottenheijm 等^[22]对轻、中度 COPD 患者研究发现:膈肌肌球蛋白减少 30%,UPP 系统中的 E3 连接酶如 MuRF1 和 MAFbx 蛋白表达及 mRNA 水平增加。肌球蛋白的丢失可能先于膈肌纤维横截面积减少,因为肌球蛋白丢失,会增加肌球蛋白和肌动蛋白的平均距离,这会减少肌纤维尺寸来恢复单肌纤维适合收缩功能的理想间距^[23]。但是,UPP 系统不能单独降解肌球蛋白和肌动蛋白,在 UPP 发挥作用之前,需要钙蛋白酶先期降解骨架蛋白。有研究显示轻、中度 COPD 患者的钙蛋白酶活性和 caspase-3 活性增加^[22]。膈肌萎缩会明显影响 COPD 患者膈肌收缩力,但也是一种有益的代偿,因为肌纤维横截面积缩小使氧弥散距离缩小,这利于氧气输送和满足 COPD 患者膈肌高代谢的需求。

氧化应激 氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时,体内高活性分子如活性氧自由基(ROS)和活性氮自由基(RNS)产生过多,氧化程度超出氧化物的清除,氧化和抗氧化系统失衡导致组织损伤。

由于膈肌不断收缩的特性和所处的高氧化环境,产生了大量的氧化因子,因此易受到氧化应激的

伤害。碳酰基的形成是组织氧化的标示物。Barreiro 等^[25]首次发现重度 COPD 患者膈肌中蛋白质羰基化和脂质过氧化物 4-羟基壬烯醛(HNE)水平增加。对仓鼠肺气肿模型的研究发现膈肌代谢过程中的关键蛋白:如 ATP 中的肌酸激酶、碳酸酐酶和收缩功能的肌动蛋白和 MyHC 均存在蛋白羰基化,使膈肌肌酸激酶活性下降,肌动蛋白细丝断裂和 MyHC 蛋白碎裂造成膈肌收缩功能异常^[21]。另外,超氧负离子是人膈肌中最起始的促使一系列反应生成更强 ROS 的物质,在重度 COPD 患者膈肌中发现线粒体和细胞膜上生成的超氧负离子明显增加^[24]。但对轻、中度 COPD 患者的研究并未发现膈肌中存在明显的氧化应激状态^[25]。

ROS 是膈肌收缩和代谢等多种生理病理活动的重要调节因子。膈肌组织中的 ROS 能使参与膈肌能量代谢的蛋白酶功能受损,肌球蛋白 ATP 酶活性降低,导致横桥循环动力不足。同时,肌肉中收缩蛋白的巯基也会被 ROS 氧化,这些均影响到膈肌收缩功能^[26]。重度 COPD 患者膈肌肌小节蛋白氧化也可使膈肌损伤的易感性增加并使肌纤维结构完整性受到损伤^[27]。ROS 也是肌萎缩中细胞信号传导通路的重要调节因子,它可直接激活膈肌钙蛋白酶系统和 UPP 蛋白酶水解通路导致肌萎缩^[28]。

膈肌收缩功能 研究明确证实 COPD 患者膈肌收缩功能下降。Ottenheijm 等^[29]利用特殊松弛液及力传感器系统直接测量 COPD 患者膈肌单肌纤维收缩力,发现轻、中度 COPD 患者膈肌纤维收缩功能降低。Moore 等^[30]应用相似的方法,测得 COPD 患者膈肌 I 型和 II 型肌纤维收缩力远低于对照组。另外,对活体的兔肺气肿模型利用开胸后连接肌张力传感器的方法,发现膈肌颤搐收缩张力,强直颤搐收缩张力均减低。Similowski 等^[31]测量 COPD 组跨膈压较正常人降低;轻度和重度 COPD 组颤搐性跨膈压显著减小。此外,Terzano 等^[32]观察 COPD 患者最大吸气压(MIP)变化发现不同程度的 COPD 患者 MIP 均低于正常人。Jolley 等^[33]利用经食道电极采集膈肌电信号获得膈肌电图的方法,也证实 COPD 膈肌收缩功能较正常人低。

COPD 患者膈肌收缩力降低由多种因素所致。肌球蛋白降解加剧导致膈肌萎缩,以及膈肌由快肌向慢肌纤维的转变;COPD 患者膈肌中与单肌纤维收缩相关的肌动蛋白 ATP 酶活性降低为正常值的 50%^[13]。此外,正常膈肌纤维结构中,短片断的

titin 蛋白能维持膈肌纤维的完整性,防止膈肌纤维肌节错位,维持快速收缩过程中膈肌张力,而 COPD 患者膈肌纤维短片断 titin 蛋白减少,被更长片段低张力的 titin 蛋白所取代导致膈肌收缩张力降低^[34]。另外,COPD 患者慢性过度充气导致了膈肌长度缩短,吸气过程中膈肌纤维缩短程度减小导致肌张力降低,可能都是膈肌收缩力下降的原因^[13]。

结语 COPD 患者由于增加的肺阻力及通气需要导致膈肌吸气负荷增加,造成肌细胞结构和收缩力学的适应性改变;更有效的代谢特征,肌纤维向 I 类氧化纤维移行,膈肌肌小节减小使总长度缩短以保持最佳长度张力关系等。但膈肌肌球蛋白降解加剧,膈肌处于机械不利位置均造成膈肌收缩力降低。同时,氧化应激直接影响肌纤维收缩力,并加重肌损伤和肌萎缩。在重度 COPD 患者急性发作期上述适应性改变代偿不及加上病理生理紊乱,最终导致呼吸泵衰竭。

参 考 文 献

- [1] Klimathianaki M, Vaporidi K, Georgopoulos D. Respiratory muscle dysfunction in COPD: from muscles to cell [J]. *Curr Drug Targets*, 2011, 12(4): 478 - 488.
- [2] Wilson TA, Legrand A. Respiratory effects of the external and internal inter-costal muscles in humans [J]. *J Physiol*, 2001, 530 (2): 319 - 330.
- [3] Orozco-Levi M, Lloreta J, Minguella J, et al. Injury of the human diaphragm associated with exertion and chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164(9): 1734 - 1739.
- [4] Scott A, Wang X, Road JD, et al. Increased injury and intramuscular collagen of the diaphragm in COPD: autopsy observations [J]. *Eur Respir J*, 2006, 27(1): 51 - 59.
- [5] Levine S, Gregory C, Nguyen T, et al. Bioenergetic adaptation of individual human diaphragmatic myofibers to severe COPD [J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92 (3): 1205 - 1213.
- [6] Levine S, Kaiser L, Lefterovich J, et al. Cellular adaptations in the diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *N Engl J Med*, 1997, 337(25): 1799 - 1806.
- [7] Stubbings1 AK, Moore AJ, Dusmet M, et al. Physiological properties of human diaphragm muscle fibres and the effect of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Physiol*, 2008, 586(10): 2637 - 2650.
- [8] Nguyen T, Shrager J, Kaiser L, et al. Developmental myosin heavy chains in the adult human diaphragm: coexpression patterns and effect of COPD [J]. *J Appl Physiol*, 2000, 88(4): 1446 - 1456.
- [9] Degens H, Swisher AK, Heijdra YF, et al. Apoptosis and Id2 expression in diaphragm and soleus muscle from the emphysematous hamster [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 293(1): 135 - 144.
- [10] Geiger PC, Cody MJ, Macken RL, et al. Maximum specific force depends on myosin heavy chain content in rat diaphragm muscle fibers [J]. *J Appl Physiol*, 2000, 89 (2): 695 - 703.
- [11] Mercadier JJ, Schwartz K, Schiaffino S, et al. Myosin heavy chain gene expression changes in the diaphragm of patients with chronic lung hyperinflation [J]. *Am J Physiol*, 1998, 274(4): 527 - 534.
- [12] Ramirez-Sarmiento A, Orozco-Levi M, Guell R, et al. Inspiratory muscle training in patients with chronic obstructive pulmonary disease: structural adaptation and physiologic outcomes [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166(11): 1491 - 1497.
- [13] Ottenheim CA, Heunks LM, Sieck GC, et al. Diaphragm dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172(2): 200 - 205.
- [14] Orozco-Levi M. Structure and function of the respiratory muscles in patients with COPD: impairment or adaptation? [J]. *Eur Respir J*, 2003, 22(46): 41s - 51s.
- [15] Doucet M, Debigaré R, Joannisse DR, et al. Adaptation of the diaphragm and the vastus lateralis in mild-to-moderate COPD [J]. *Eur Respir J*, 2004, 24(6): 971 - 979.
- [16] Lewis MI, Zhan WZ, Sieck GC. Adaptations of the diaphragm in emphysema [J]. *J Appl Physiol*, 1992, 72 (3): 934 - 943.
- [17] Farkas GA, Roussos C. Histochemical and biochemical correlates of ventilatory muscle fatigue in emphysematous hamsters [J]. *J Clin Invest*, 1984, 74(4): 1214 - 1220.
- [18] Wijnhoven JH, Janssen AJM, van Kuppevelt TH, et al. Metabolic capacity of the diaphragm in patients with COPD [J]. *Respir Med*, 2006, 100(6): 1064 - 1071.
- [19] Ribera F, N' Guessan B, Zoll J, et al. Mitochondrial electron transport chain function is enhanced in inspiratory muscles of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(6): 873 - 879.
- [20] Clanton TL, Levine S. Respiratory muscle fiber remodeling in chronic hyperinflation: dysfunction or adaptation? [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 107 (1): 324 - 335.
- [21] Femosellea C, Sancheza F, Barreiro E. Reduction of muscle mass mediated by myostatin in an experimental model of pulmonary emphysema [J]. *Arch Bronconeumol*, 2011, 47(12): 590 - 598.
- [22] Ottenheim CAC, Heunks LMA, Li YP, et al. Activation of ubiquitin-proteasome pathway in the diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174(9): 997 - 1002.
- [23] Aaron P Russell. Molecular regulation of skeletal muscle mass [J]. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2010, 37(3): 378 - 384.
- [24] Marin-Corral J, Minguella J, Ramirez-Sarmiento AL, et al. Oxidised proteins and superoxide anion production in the

- diaphragm of severe COPD patients [J]. *Eur Respir J*, 2009,33(6):1309-1319.
- [25] Barreiro E, de la Puente B, Minguella J. Oxidative stress and respiratory muscle dysfunction in severe chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005,171(10):1116-1124.
- [26] Ottenheijm CA, Heunks LMA, Dekhuijzen RP. Diaphragm adaptations in patients with COPD [J]. *Respir Res*, 2008, 9(12):1-14.
- [27] Musaro A, Fulle S, Fano G. Oxidative stress and muscle homeostasis [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2010, 13(3):236-242.
- [28] Powers SK, Kavazis AN, McClung JM. Oxidative stress and disuse muscle atrophy [J]. *J Appl Physiol*, 2007, 102(6):2389-2397.
- [29] Ottenheijm CA, Heunks LM, Dekhuijzen PN. Diaphragm muscle fiber dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease toward a pathophysiological concept [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007,175(12):1233-1240.
- [30] Moore AJ, Stubbings A, Swallow EB, et al. Passive properties of the diaphragm in COPD [J]. *J Appl Physiol*, 2006,101(5):1400-1405.
- [31] Similowski T, Yan S, Gauthier AP. Contractile properties of the human diaphragm during chronic hyperinflation [J]. *N Engl J Med*, 1991,325(13):917-923.
- [32] Terzano C, Ceccarelli D, Conti V, et al. Maximal respiratory static pressures in patients with different stages of COPD severity [J]. *Respir Res*, 2008, 9(1):1-8.
- [33] Jolley CJ, Luo YM, Steier J, et al. Neural respiratory drive in healthy subjects and in COPD [J]. *Eur Respir J*, 2009,33(2):289-297.
- [34] Ottenheijm CA, Heunks LMA, Hafmans T. Titin and diaphragm dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173(5):527-534.

(收稿日期:2013-03-05;编辑:王蔚)

(上接第 209 页)

- [9] Yang Z, Li W, Tu X, et al. Validation and psychometric properties of Chinese version of SF-36 in patients with hypertension, coronary heart diseases, chronic gastritis and peptic ulcer [J]. *Int J Clin Pract*, 2012, 66(10):991-998.
- [10] 徐明, 钱云, 张敬平, 等. 原发性高血压患者生命质量影响因素[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2007, 15(6):533-535.
- [11] Gusmão JL, Mion D Jr, Pierin AM. Health-related quality of life and blood pressure control in hypertensive patients with and without complications [J]. *Clinics*, 2009, 64(7):619-628.
- [12] Fogari R, Zoppi A. Effect of antihypertensive agents on quality of life in the elderly [J]. *Drugs Aging*, 2004, 21(6):377-393.
- [13] Mena-Martin FJ, Martin-Escudero JC, Simal-Blanco F, et al. Health-related quality of life of subjects with known and unknown hypertension: Results from the population-based Hortegea study [J]. *J Hypertens*, 2003, 21(7):1283-1289.
- [14] Erickson SR, Williams BC, Gruppen LD. Relationship between symptoms and health-related quality of life in patients treated for hypertension [J]. *Pharmacotherapy*, 2004, 24(3):344-350.

(收稿日期:2013-06-09;编辑:王蔚)