

腺苷预处理的心肌保护效果

周必强¹, 叶世铎¹, 李刚²

(1. 深圳市保健委员会办公室专家门诊部, 2. 深圳市孙逸仙心血管医院外科, 广东 深圳 518020)

摘要:【目的】研究心肌腺苷预处理和缺血预处理对离体大鼠心脏缺血/再灌注后心肌功能的影响。【方法】以离体大白鼠工作心脏模型, 比较经腺苷预处理和缺血预处理, 心肌缺血再灌前后左室压、左室舒张末期压、左心室内压上升及下降最大速率、主动脉压、冠脉流量、主动脉流量和测定冠脉流出液乳酸脱氢酶(LDH), 心肌 ATP 含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、脂质过氧化物含量及自灌注停搏液至完全停搏的时间。【结果】腺苷预处理和缺血预处理产生相似的心肌保护作用, 明显促进心肌缺血再灌后心肌功能的恢复, 增进心脏的收缩功能、心肌 ATP 含量和 SOD 活性的恢复, 减少 LDH 的漏出。【结论】腺苷预处理对心脏模拟体外循环的缺血再灌损伤具有保护作用, 该方法有临床应用价值。

关键词: 腺苷; 缺血预处理; 心肌保存; 心肌再灌注

中图分类号: R654.2; R617

文献标识码: A

文章编号: 1000-257X(2002)05-0366-03

Myocardial Protection with Adenosine Pretreatment ZHOU Bi-qiang¹, YE Shi-duo¹, LI Gang². (1. The Out-Patient Department of Specialist of Shenzhen Health Care Committee, 2. Department of Surgery, Shenzhen Cardiovascular Hospital, Shenzhen 518020, China)

Abstract 【Objective】To investigate the protective effects of Adenosine Pretreatment (APT) and Ischemic Preconditioning (IPC) in isolated rat hearts suffering from ischemia/reperfusion injury. 【Methods】The model of isolated Langendorff perfused rat heart was used to study the effects of ATP on left ventricular pressure, left ventricular end-diastolic pressure, the maximal rate of rise and fall in left ventricular pressure, aortic pressure, coronary flow, aortic flow, activities of lactate dehydrogenase (LDH), superoxide dismutase (SOD) and lipid peroxidation, concentrations of ATP level pre- and post- ischemia/reperfusion. 【Results】Compared with ischemia/reperfusion treated group, APT and IPC improved cardiac hemodynamics and contractile function, increased ATP level and SOD activity, and decreased leakage of intracellular lactic dehydrogenase. 【Conclusion】APT and IPC have similar protective effects on ischemia and reperfusion injury, and may play an important role in the future cardiac surgery.

Key words: adenosine; ischemic preconditioning; myocardial preservation; myocardial reperfusion

心肌缺血预处理 (ischemic preconditioning, IPC) 具有心肌保护作用^[1]。ATP 在 IPC 中起着重要的作用已被许多实验证实^[2]。在短暂心肌缺血后, ATP 由心肌细胞及血管内皮细胞大量释放, 通过作用于 ATP 受体调节, 产生心肌保护作用。但以心脏短暂缺血及再灌注作为预处理手段, 难以实际应用于临床。近期有静脉给以外源 ATP 预处理 (adenosine pretreatment, APT) 直接应用于心外科手术的报道^[3], 但相应的离体心脏 APT 实验依据较少。本实验通过观察离体大鼠心脏缺血/再灌注期间心功能及心肌 ATP、酶学等的变化, 评价用 APT 取代 IPC 的作用, 解决临床难以接受直接阻断心脏主动脉进行缺血预处理的困难, 为外源腺苷预处理的临床应用提供有力的实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康 Wistar 大白鼠 24 只, 雌雄不限, 体质量 350~400 g。

1.2 实验模型及程序

大白鼠腹腔注射 1.0 g/kg 乌拉坦和股静脉注射 500 U 肝素。开胸, 剪开肺动脉及主动脉前壁, 迅速于主动脉根部插入灌注管, 即行 Langendorff 灌流, 灌注压为 7.5 kPa。结扎肺静脉, 剪开左心耳将内径 2 mm 左房灌注管插入左房, 内径 1 mm 测压管插入左心室。灌注 15 min 后转为工作心模型 10 min, 左房灌注压为 1.5 kPa, 左心后负荷为 7.5 kPa。HEPES-KH 缓冲液成分为: NaCl 118.5 mmol/L, KCl 4.70 mmol/L, CaCl₂ 1.80 mmol/L, MgSO₄ 1.20 mmol/L, HEPES 20 mmol/L, KH₂PO₄ 1.20 mmol/L, Glucose 11.10 mmol/L。pH 为 7.4, 使用时新鲜配制, 经 0.45 μm 滤器过滤, 灌流液体

收稿日期: 2001-09-19

作者简介: 周必强(1964-), 男, 河南南阳人, 硕士, 主治医师。

©1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

积分数为 95%O₂ 及 5%CO₂ 持续平衡, 维持 37 °C。

1.3 分组及预处理程序

随机分为三组, ①缺血/灌注对照组(Control 组): Langendorff 逆行灌注 15 min, 阻断左房及主动脉管, 经主动脉根部, 以 3.5 kPa 压力注入 4 °C St. Thomas' II 停搏液 (pH 7.6) 停搏心脏, 首剂 20 mL/kg, 同时心脏表面以冷生理盐水降温并维持心肌温度为 15 °C 直至复跳。停搏期间, 每隔 30 min 复灌 4 °C 停搏液, 剂量为 15 mL/kg。停搏 2 h 后开放主动脉灌注管, 恢复 Langendorff 逆行灌注 15 min 后, 转入左心工作状态, 观察 30 min; ②缺血预处理组(IPC 组): 阻断左房及主动脉 5 min, 再 Langendorff 逆行灌注 10 min, 随后处理同 Control 组; ③腺苷预处理组(APT 组): Langendorff 逆行灌注 15 min, 后 10 min 经主动脉根部以 7.5 kPa 压力匀速加灌 0.1 mmol/L 腺苷 (Sigma 公司产品), 剂量为 1.4 mg/kg。随后处理同 Control 组。

1.4 各项指标观察

由生理多导连续观察血流动力学指标左室压 (p_{LV})、左室舒张末期压 (p_{LVDE})、左室压力上升及下降最大速率 ($\pm dp/dt_{max}$)、主动脉压 (p_A)、心电图 (EKG), 同时观察冠脉流量 (v_{CF}) 及主动脉流量 (v_{AF}), 以持续停灌前工作心基础水平为 100%, 比较复灌末心功能恢复的百分率。记录自灌注停搏液至完全停搏的时间 (t_A), 测定工作心 30 min 冠脉流出液乳酸脱氢酶 (LDH)、心肌组织分别测定三磷酸腺苷 (ATP) 含量、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、脂质过氧化物 (LPO) 含量。

1.5 统计学处理

所有数据均以均数 ± 标准差表示, 采用方差分析方法, 以 $P < 0.05$ 具有统计学显著性差异, $P < 0.01$ 具有统计学极显著性差异。

2 结果

2.1 诱导心脏停搏时间 (t_A) 及复跳情况

阻断主动脉灌注心脏停搏液及心脏表面降温后, 均能顺利停搏, 但 t_A 存在差异, Control 组 t_A 为 (36 ± 5.4) s, IPC 组和 APT 组均较接近, 为 (20 ± 3.4) s 和 (21 ± 3.6) s, Control 组明显长于其它两组 ($P < 0.05$)。整个停搏期间心脏无电机械活动产生。复灌 K-H 液后, 所有心脏均自动复跳。Control 组复跳较 IPC 组和 APT 晚 2 ~ 3 s ($P < 0.05$), 且搏动较缓弱, 偶发心律失常; IPC 和 APT 组搏动有力, 无心律失常。

2.2 血流动力学指标

停搏前, 各组 p_A 、 p_{LV} 、 p_{LVDE} 、 $\pm dp/dt_{max}$ 及 v_{AF} 、 v_{CF} 、心输出量 (V_{CO})、每搏输出量 (V_{SV}) 等差异无显著性意义。复跳后 10 min、20 min, Control 组除 p_A 和 p_{LV} 外, 各项心功能指标均明显下降, 差异有显著性。复跳 30 min 后, Control 组各项心功能指标均低于 ATP 组和 IPC 组, 差异有显著性。从表 1 中可以看出, p_{LVDE} 是反映心功能最敏感的指标, 复跳后各组 p_{LVDE} 均明显比停跳前增高 ($P < 0.01$)。复跳后 v_{CF} 在 APT 组和 IPC 两组明显高于对照组 ($P < 0.01$)。APT 与 IPC 两组比较差异无显著性。

表 1 复跳 30 min 后各组心功能恢复百分率比较

Table 1 Hemodynamic recovery percent in the different groups 30 min after rebeaed (%)

Group	n	p_A	p_{LVDE}/kPa	p_{LV}	$+ dp/dt_{max}$	$- dp/dt_{max}$	v_{CF}	V_{CO}	V_{SV}
Control	8	88 ± 2	0.36 ± 0.08	86 ± 3	78 ± 5	75 ± 8	73 ± 8	74 ± 9	72 ± 6
IPC	8	96 ± 3 ¹⁾	0.15 ± 0.13 ²⁾	96 ± 3 ¹⁾	97 ± 5 ¹⁾	95 ± 8 ¹⁾	95 ± 8 ¹⁾	94 ± 8 ¹⁾	90 ± 7 ¹⁾
APT	8	99 ± 3 ¹⁾	0.12 ± 0.08 ²⁾	99 ± 2 ¹⁾	99 ± 5 ¹⁾	95 ± 8 ¹⁾	95 ± 8 ¹⁾	95 ± 9 ¹⁾	88 ± 7 ¹⁾

Data of p_A , p_{LV} , $+ dp/dt_{max}$, $- dp/dt_{max}$, v_{CF} , V_{CO} , V_{SV} are based on the pretreatment items which were taken for 100%. IPC: ischemic preconditioning, APT: adenosine pretreatment; p_A : aortic pressure; p_{LV} : left ventricular pressure; $+ dp/dt_{max}$: maximal rising rate of left ventricular pressure; $- dp/dt_{max}$: maximal falling rate of left ventricular pressure; v_{CF} : velocity of coronary flow; V_{CO} : volume of cardiac output; V_{SV} : stroke volume; Compared with the control group, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$

2.3 冠脉流出液 LDH 和心肌 ATP、SOD、LPO 含量变化

停搏前, 各组 LDH 无明显差异。复灌工作心 30 min 后, 各组均有提高, Control 组释放量明显高

于另外二组, 见表 2。各组 ATP、SOD 均有所下降, APT、IPC 二组明显高于 Control 组, 差异有显著性, 而 LPO 明显低于 Control 组, 差异有显著性, 见表 2。APT 与 IPC 两组比较差异无显著性。

表2 复跳 30 min 后冠脉流出液 LDH 及心肌 ATP、SOD、LPO 对比

Table 2 LDH of coronary flow and ATP, SOD, LPO of myocardial tissue 30 min after re-beated

Group	$\rho_{ATP}/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	$z/m(\text{SOD})/(\text{IU}\cdot\text{mg}^{-1})$	$\rho_{LPO}/(\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1})$	$z(\text{LDH})/(\text{IU}\cdot\text{L}^{-1})$
Control	1.64±0.19	5.8±0.7	14.6±1.5	19.0±2.6
IPC	2.45±0.21	9.9±1.2	8.9±1.7	8.2±1.3
APT	2.66±0.24	9.7±1.1	8.2±1.3	9.2±1.8

Comparing IPC and APT with the control group, all items $P < 0.05$

3 讨论

短暂心肌缺血后,腺苷由心肌细胞及血管内皮细胞大量释放,腺苷 A1 受体通过 G 蛋白与其他蛋白偶联而产生作用,包括 K_{ATP} 开放,缩短了心肌动作电位时程,钙通道关闭, Ca^{2+} 内流降低,延缓和减轻了缺血期间心肌细胞的钙离子超载,减轻了心肌缺血性挛缩;同时,通过腺苷 A_2 受体介导可以阻止缺血再灌注诱发大鼠心肌细胞产生肿瘤坏死因子 α (TNF α),减少心肌细胞损伤^[4,5],减轻心功能损伤。给予外源性腺苷(APT),模拟短暂心肌缺血预处理(IPC)后腺苷大量释放,心肌同样产生对随后缺血再灌注损伤的保护作用。本试验中,IPC 和 ATP 两组 V_{SV} 、 V_{CO} 、 p_{LVDE} 、 $\pm dp/dt_{max}$ 等心功能指标均优于对照组,结果与同类研究相近^[6,7]。

腺苷预处理可减少心肌正性肌力活动、心肌消耗和 ATP 降解,增加糖的运输和能量贮备^[8];抑制自由基产生,减轻心肌损伤^[9];减少了心肌细胞的糖酵解,减轻了细胞内酸中毒的程度;通过负性变时、变导,有效降低心律失常的发生率^[10]。

在低温、停搏 120 min 的离体大鼠心模型中,APT 可代替 IPC 产生相似的心肌保护作用。临床医务人员难以接受直接阻断心脏主动脉进行缺血预处理,IPC 难以普遍直接应用于临床。而使用外源的腺苷预处理(APT)的心肌保护作用,为今后心外临床心肌保护提供一个新的方法。APT 的心肌保护作用同其他不同的停搏液和灌注方法合用,可能会显著提高心外手术病人的心功能恢复能力。本实验仅在离体心模型上进行,下一步还需完成在

更接近生理环境的大型动物整体模型实验和临床应用。

参考文献:

- [1] 陈筱潮,张旭明,伍卫,等.双嘧达莫对兔心肌缺血预处理心电生理效应的影响[J].中山医科大学学报,1999,20(2):118.
- [2] Auchampach J A, Gross G J. Adenosine A1 receptors, K_{ATP} channels, and ischemic preconditioning in dogs[J]. Am J Physiol, 1993, 264(5 pt 2): H1327.
- [3] 尹晓清,伍硕允,吴炎豪,等.腺苷预处理对心脏直视手术心肌保护作用的临床研究[J].中华实验外科杂志,2000,17(3):227.
- [4] Wagner D R, Combes A, McTiernan C, et al. Adenosine inhibits lipopolysaccharide-induced cardiac expression of tumor necrosis factor-alpha[J]. Circ Res, 1998, 82(1):47.
- [5] Wagner D R, McTiernan C, Sanders V J, et al. Adenosine inhibits lipopolysaccharide-induced secretion of tumor necrosis factor-alpha in the failing human heart[J]. Circulation, 1998, 97(6):521.
- [6] Liu Y, Gao W D, O'Rourke B, et al. Synergistic modulation of ATP-sensitive K^+ currents by protein kinase C and adenosine, implication for ischemic preconditioning[J]. Circ Res, 1996, 78(3):443.
- [7] Li G C, Vasquez J A, Gallagher K P, et al. Myocardial protection with preconditioning[J]. Circulation, 1990, 82(2):609.
- [8] Ely S W, Berne R M. Protective effects of adenosine in myocardial ischemia[J]. Circulation, 1992, 85(3):893.
- [9] Takashima S, Hori M, Kitakaze M, et al. Superoxide dismutase restores contractile and metabolic dysfunction through augmentation of adenosine release in coronary microembolization[J]. Circulation, 1993, 87(3):982.
- [10] Schrieck J, Richardt G. Endogenous adenosine reduces the occurrence of ischemia induced ventricular fibrillation in rat heart[J]. J Mol Cell Cardiol, 1999, 31(1):123.

(编辑 刘清海)