

[文章编号] 1000-4718(2006)11-2262-03

# 缓激肽和阿片受体在骨骼肌缺血 预适应对心脏保护中的作用\*

谢瑞芹, 崔炜<sup>△</sup>, 郝玉明, 李保华, 吴金凤, 都军, 刘凡, 杜国英, 张涛  
(河北医科大学第二医院心内科, 河北石家庄 050000)

**[摘要]** 目的: 研究骨骼肌缺血预适应对心肌的保护作用, 并探讨缓激肽(BK)和阿片受体在此机制中可能的作用。方法: 采用非开胸法建立猪心脏缺血再灌注(I/R)模型, 通过球囊堵塞左股动脉造成骨骼肌短暂缺血, 分别使用BK的B<sub>2</sub>受体拮抗剂烟酸己可碱(HOE-140)、阿片受体拮抗剂纳洛酮及神经节阻滞剂六羟己胺进行干预, 并于心脏I/R前左股动脉局部注射外源BK。以伊文思蓝和三硝基四氮唑红确定心肌缺血和梗死范围, 观察各组梗死范围的差异。结果: 远端预适应组(RP组)心肌梗死范围明显小于对照组(CONT组)(NZ/IZ: 24.1% ± 1.5% vs 51.1% ± 2.3%,  $P < 0.05$ ); 预处理前分别使用HOE-140(32.3% ± 1.4% vs 24.1% ± 1.5%)或纳洛酮(38.5% ± 1.5% vs 24.1% ± 1.5%)可部分阻断RP的心肌保护作用, 且HOE-140和纳洛酮联合使用, 更进一步阻断这种保护(NZ/IZ: 46.6% ± 2.9% vs 24.1% ± 1.5%)。I/R前局部给予外源BK注射, 可模拟RP的心肌保护作用(39.2% ± 1.7% vs 51.1% ± 2.3%); 而六羟己胺对RP心肌保护无影响。结论: 骨骼肌RP对心肌产生保护。BK和阿片受体同时参与此保护, 并且两者保护作用可以叠加; 且此过程不依赖神经反射。

**[关键词]** 缓激肽; 受体; 阿片样; 肌; 骨骼; 缺血预处理

**[KEY WORDS]** Bradykinin; Receptors, opioid; Muscle, skeletal; Ischemic preconditioning

**[中图分类号]** R363 **[文献标识码]** A

近年来, 人们发现远端预适应(remote preconditioning, RP)是机体内在保护机制。但远端器官中骨骼肌短暂缺血对心肌产生预适应及其机制目前尚不清楚。本研究旨在确定骨骼肌缺血预适应对心肌的保护作用, 并探讨缓激肽(bradykinin, BK)和阿片受体在这种RP中的可能作用。

## 材 料 和 方 法

### 1 下肢和心脏缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)模型的复制

48只小型猪, 体重(35.0 ± 5.1) kg。咪唑安定(1-2 mg/kg)肌注后, 3%戊巴比妥钠间断静脉推注(30 mg/kg), 使动物达到麻醉状态。采用Seldinger法穿刺右股动脉, 置入6F动脉鞘, 连接压力换能器持续记录心率、血压及心电图(ECG)变化, 以平均动脉压 × 心率/1000计算出的血压-心率指数反映心肌耗氧量<sup>[1]</sup>。用4.0 mm × 19 mm球囊堵塞左股动脉腹股沟处造成左下肢缺血, 6个大气压膨胀球囊使股动脉血流中断15 min, 球囊抽回使股动脉血流再通10 min, 通过造影证实股动脉堵塞和再通情况。心脏I/R参照Kharbanda等<sup>[2]</sup>方法, 采用2.0 mm × 25 mm球囊堵塞左前降支(left anterior descending artery, LAD)第一对角支远端2.5 cm处以远, 6个大气压膨胀球囊致血流中断40 min, 抽回球囊, 使

LAD再通120 min。通过重复造影及ECG变化证实LAD堵塞和再通情况。动物直肠温度维持在36.5-38.0℃。

### 2 心肌缺血范围和梗死范围的确定

心脏再灌注完毕, 重新在原位堵塞LAD, 从左心室注入1%伊文思蓝以确定缺血与非缺血区心肌。以1%三硝基四氮唑红(TTC)染色确定缺血区内梗死区(necrotic zone, NZ)心肌。以缺血区(ischemic zone, IZ)重量与左心室(left ventricular, LV)重量比(IZ/LV)代表缺血区范围, 以梗死区与缺血区重量比(NZ/IZ)代表梗死区范围<sup>[3]</sup>。

### 3 实验分组和处理

48只小型猪被随机分为10组: (1)缺血对照(CONT)组: 仅经导引导管行左股动脉造影, 10 min后, 堵塞LAD 40 min, 再灌注120 min, 以确定心肌缺血和梗死范围( $n=5$ )。 (2)远端预适应(RP)组: 左股动脉堵塞(FAO)15 min, 再灌注10 min; 后行(1)组程序, 以确定RP对I/R心肌有无保护( $n=5$ )。 (3)烟酸己可碱+远端预适应(HOE-140+RP)组: 从FAO前30 min静点BK B<sub>2</sub>受体拮抗剂烟酸己可碱(HOE-140)(0.01 μg · kg<sup>-1</sup> · min<sup>-1</sup>), 至再灌注末<sup>[4]</sup>; 余程序同RP组, 以观察BK在RP对心脏保护中的作用( $n=4$ )。 (4)烟酸己可碱+缺血对照(HOE-140+CONT)组: 以上面方式给予HOE-140, 余程序同CONT组, 观察HOE-140本身是否有此心脏保护作用( $n=4$ )。 (5)外源缓激肽(BK)组: 经导

[收稿日期] 2005-02-28 [修回日期] 2005-06-21

\* [基金项目] 河北省科技攻关基金资助项目(No. 0527610ID-55)

<sup>△</sup>通讯作者 E-mail: cuiwei21c@hotmail.com

引导管向左股动脉内注射外源 BK 溶液 (17 μg/min)<sup>[3,4]</sup>, 连续 5 min, 间隔 5 min, 后行 CONT 组程序, 观察外源局部给予 BK 能否模拟 RP 作用 (n = 4)。(6) 纳洛酮 + 远端预适应 (NAL + RP) 组: 从耳缘静脉静推阿片受体拮抗剂纳洛酮 (3 mg/kg), 并静点至再灌注末<sup>[5]</sup>, 静推后 10 min 行 RP 组程序, 以观察阿片受体是否参与 RP 的心肌保护作用 (n = 4)。(7) 纳洛酮 + 缺血对照 (NAL + CONT) 组: 以上面方式给予纳洛酮, 并行 CONT 组程序, 以观察纳洛酮本身是否有此保护作用 (n = 4)。(8) 纳洛酮 + 烟酸己可碱 + 远端预适应 (NAL + HOE - 140 + RP) 组: 以上面方式同时给予纳洛酮和 HOE - 140, 余程序同 RP 组, 以观察 BK 和阿片是否同时在其中起作用 (n = 4)。(9) 六羟己胺 + 远端预适应 (HEX + RP) 组: 经导管快速向左股动脉内推注神经节阻滞剂六羟己胺 (20 mg/kg)<sup>[5]</sup>, 推注完毕后 10 min, 行 RP 组程序, 以观察 RP 的心脏保护作用是否经过神经反射 (n = 4)。(10) 外源缓激肽 + 六羟己胺 (BK + HEX) 组: 以上面方式给予六羟己胺后 10 min, 给予 BK 溶液, 后行 CONT 组程序, 以观察外源 BK 的作用是否通过神经反射 (n = 4)。图 1 为各组操作程序模式图。

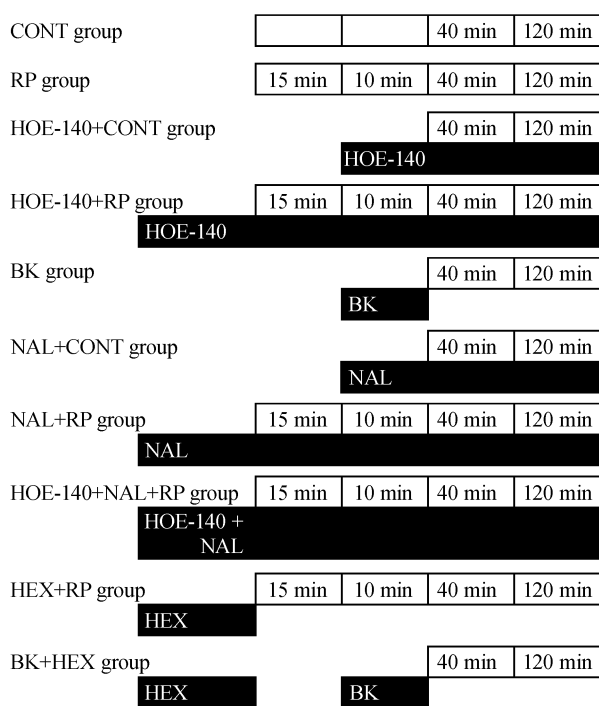


Fig 1 Experimental protocols.

图 1 实验程序模式图

4 主要试剂和药品

六羟己胺、HOE - 140、纳洛酮、TTC、BK、伊文思蓝均购于 Sigma 公司, 余试剂为国产分析纯。

5 统计学处理

以 SPSS 10.0 统计软件行统计学分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。多组间比较采用方差分析及多组均数的两两比较。

结 果

48 只小型猪有 6 只未能完成实验而从实验中排除。

1 各组动物心率、血压和心肌耗氧量变化

各组动物在实验过程中, 心率、血压及心肌耗氧量在各组之间无显著差异。

2 BK 在 RP 中的作用

缺血区范围 (IZ/LV) 在各组之间无明显差别。但各组缺血区的梗死范围 (NZ/IZ) 却存在明显差异。和 CONT 组相比, RP 组心肌坏死范围明显减小 (24.1% ± 1.5%; CONT 组: 51.1% ± 2.3%,  $P < 0.05$ )。使用 BK 的 B<sub>2</sub> 受体拮抗剂 HOE - 140 后可部分阻断这种保护作用 (32.3% ± 1.4%, 而 RP 组: 24.1% ± 1.5%,  $P < 0.05$ )。且 HOE - 140 对于 CONT 组的心肌坏死范围无明显影响 (50.9% ± 3.2% 和 51.1% ± 2.3%,  $P > 0.05$ )。在缺血对照程序之前局部注射外源 BK, 心肌坏死范围明显缩小 (39.2% ± 1.7% 和 51.1% ± 2.3%,  $P < 0.05$ ) (图 2)。

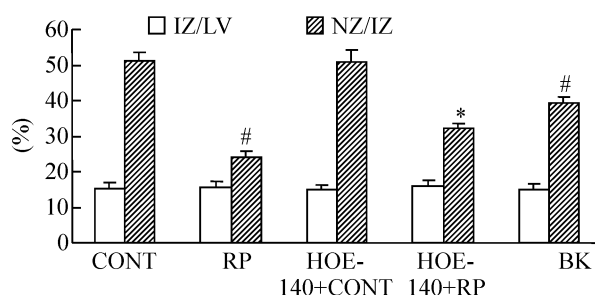


Fig 2 Effect of RP on myocardial infarct size and the role of BK. # $P < 0.05$  vs CONT group; \* $P < 0.05$  vs RP group.  $\bar{x} \pm s$ . n = 4 - 5.

图 2 下肢预缺血对心肌梗死范围的影响及 BK 在其中的作用

3 阿片在 RP 中的作用

阿片受体拮抗剂纳洛酮可部分阻断 RP 的心肌保护作用 (NZ/IZ: 38.5% ± 1.5%; 而 RP 组: 24.1% ± 1.5%;  $P < 0.05$ ), 但却对 CONT 组心肌坏死范围无影响 (50.6% ± 3.2% 和 51.1% ± 2.3%,  $P > 0.05$ )。HOE - 140 和纳洛酮同时应用于 RP 前可更加阻断 RP 的这种心脏保护作用 (46.6% ± 2.9% 和 24.1% ± 1.5%,  $P < 0.01$ ), 与 RP 前单独使用纳洛酮 (38.5% ± 1.5%) 或 HOE - 140 (32.3% ± 1.4%) 相比, 阻断程度进一步增加 (均  $P < 0.05$ ) (图 3)。

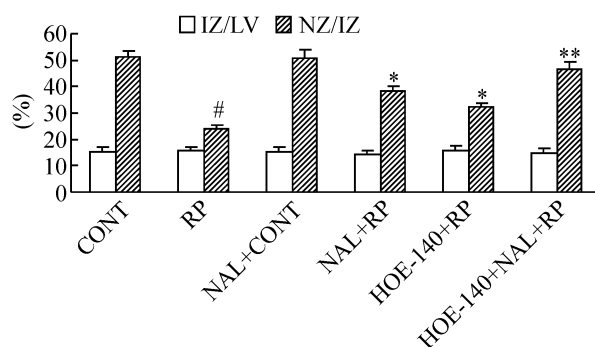


Fig 3 Effect of RP on myocardial infarct size and the role of opioid receptors. # $P < 0.05$  vs CONT group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs RP group.  $\bar{x} \pm s$ . n = 4 - 5.

图 3 下肢预缺血对心肌梗死范围的影响及阿片受体在其中的作用

#### 4 神经节在 RP 中的作用

在 RP 前使用神经节阻滞剂六羟己胺,对坏死范围无明显影响( $24.3\% \pm 2.1\%$  和  $24.1\% \pm 1.5\%$ ,  $P > 0.05$ );另外,在应用外源 BK 前使用六羟己胺,也不影响外源 BK 的心脏保护作用( $38.3\% \pm 1.2\%$  和  $39.2\% \pm 1.7\%$ ,  $P > 0.05$ )。

### 讨 论

RP 是指局部或器官缺血保护临近组织甚至远端器官的现象。可因动物种属或器官的不同而有不同的触发因子,但骨骼肌 RP 通过何种因子及途径触发目前尚不清楚。

已证实骨骼肌短暂 I/R 可对全身骨骼肌产生预适应<sup>[5]</sup>。从本研究可看出骨骼肌 I/R 也可对心肌产生保护。心脏、血管以及自主神经的神经节内均存在 BK 的 B<sub>2</sub> 受体, BK 可激活神经节的 B<sub>2</sub> 受体引起神经传导,激活心脏 BK 的 B<sub>2</sub> 受体触发经典预适应。但 BK 是否参与骨骼肌对心肌的预适应却至今未见报道。HOE-140 是 BK 的 B<sub>2</sub> 受体拮抗剂,可以完全阻断 BK 对 B<sub>2</sub> 受体的作用<sup>[3]</sup>。本研究发现,HOE-140 对 CONT 组的心肌坏死范围无影响,但可部分阻断骨骼肌对心肌的预适应,提示 HOE-140 本身不影响心肌坏死范围,而是 BK 参与了这种 RP 的心肌保护;使用外源 BK 局部注射可部分模拟 RP 的心肌保护作用,也支持这一观点。

使用神经节阻滞剂六羟己胺可完全阻断局部神经的传导<sup>[5]</sup>,但在本研究中未能影响骨骼肌对心肌的 RP,提示骨骼肌 RP 不通过神经反射。

阿片受体在体内分布广泛,心脏释放的阿片类药物可激活心脏的阿片受体尤其是  $\delta$  受体而产生心脏保护作用,是经典和延迟预适应的触发和中介之一。但阿片受体是否参与骨骼肌对心肌的 RP 尚不知晓。

纳洛酮是非特异性阿片受体拮抗剂,可完全阻断阿片受体的作用<sup>[5]</sup>,本研究表明,纳洛酮部分阻断了骨骼肌对心肌的预适应作用,但对 CONT 组的心肌坏死范围无影响,提示纳

洛酮本身不影响心肌坏死范围,而是阿片受体参与了这种 RP 的心肌保护作用。HOE-140 和纳洛酮联合应用于骨骼肌的 RP 前,对 RP 心肌保护作用的阻断程度进一步增强,且 RP 过程不受神经节阻滞剂六羟己胺的影响,提示 BK 和阿片受体同时参与骨骼肌对心肌的 RP 过程,且不通过神经反射。推测骨骼肌短暂缺血可释放某些活性物质如激肽原或 BK 或激肽释放酶以及阿片类药物,经血液循环到达心脏激活 BK 的 B<sub>2</sub> 受体及阿片受体,从而触发心脏的预适应过程,但其具体的机制尚待进一步研究。

### [参 考 文 献]

- [1] 赵国安,丁延峰,牛新清,等. 心脏和肾脏短暂缺血对心肌保护作用的比较研究[J]. 中华心血管病杂志, 2002, 30(7): 424-427.
- [2] Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning *in vivo*[J]. *Circulation*, 2002, 106(23): 2881-2883.
- [3] Schoemaker RG, van Heijningen CL. Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance[J]. *Am J Physiol*, 2000, 278(5): H1571-H1576.
- [4] Rainer S, Heiner P, Christian V, et al. Ischemic preconditioning in pigs: A graded phenomenon[J]. *Circulation*, 1998, 98(10): 1022-1029.
- [5] Patrick D, Addison P, Homa A, et al. Noninvasive remote ischemic preconditioning for global protection of skeletal muscle against infarction[J]. *Am J Physiol*, 2003, 285(5): H1435-H1443.
- [6] McClanahan TB, Nao BS, Wolke IJ, et al. Brief renal occlusion and reperfusion induces myocardial infarct size in rabbits[J]. *FASEB J*, 1993, 7(1): A118-A126.