STAT3 介导缺血后处理心肌保护作用的研究

沈 诚,陈建明,胡义杰,宋 毅,袁 晔,钟前进 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所心血管外科,重庆 400042)

[摘 要] **目的** 研究大鼠心肌经历缺血再灌注损伤后心功能指标的变化,探讨缺血后处理是否具有保护作用,并探寻 STAT3 在其中的作用机制。**方法** SD 大鼠 32 只,随机分为 4 组:对照组、缺血再灌注组、缺血后处理组、缺血后处理组 + NSC-74859 (STAT3 抑制剂)组。建立大鼠离体心脏工作模型,观察心脏在各组条件下心率、LVSP、+dp/dtmax、-dp/dtmax、冠脉流量的变化及心肌酶谱的改变。**结果** 缺血后处理组与缺血再灌注组相比,复灌期心率,冠脉流出液中 CK 及 LDH 的含量明显降低,左室收缩压、左心室压力变化率、冠状动脉流出量明显升高。而抑制 STAT3 表达后,此保护效应明显减弱。**结论** 缺血后处理有助于减轻缺血再灌注所致心肌损伤,这一作用由 STAT3 转录因子介导。

[关键词] 缺血后处理;心肌再灌注损伤;STAT3 转录因子;大鼠
[中图分类号] R654.1 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2013)06-0631-02

Role of STAT3 mediates cardioprotection of ischemic postconditioning

SHEN Cheng, CHEN Jian-ming, HU Yi-jie, SONG Yi, YUAN Ye, ZHONG Qian-jin (Department of Cardiovascular Surgery, Daping Hospital and Research Institute of Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To research ischemic postconditioning on heart function after myocardial ischemia-reperfusion (I/R), and the protective mechanisms. **Methods** Thirty-two rats were divided into four groups: I/R group (n = 8), ischemic postconditioning group (n = 8), myocardial ischemic postconditioning + NSC-74859 (STAT3 inhibitor) group(n = 8), and control group(n = 8). Establish a model of rat to observe changes of the heart rate, LVSP, +dp/dtmax, -dp/dtmax, coronary flow and myocardial enzyme spectrum in each group under different conditions. **Results** Compared with ischemia-reperfusion group, heart rate of the reperfusion period, CK and LDH of coronary effluent in the ischemic postconditioning group were obviously lower, while left ventricular systolic pressure, change of intraventricular pressure, and coronary effluent volume increased obviously. And after inhibition of STAT3 expression, this protective effect decreased significantly. **Conclusion** Ischemic postconditioning can provide potent cardioprotective effect in which STAT3 mediates the cardioprotective effects.

Keywords: ischemic postconditioning; myocardial reperfusion injury; STAT3 transcription factor; rats

随着体外循环技术的发展和对心肌保护的关注,心脏手术对患者的创伤越来越小,然而缺血再灌注对心肌的损伤却一直未被攻克。近年来发现,心肌发生缺血事件后,立即予以数次"再灌注 - 缺血"循环(即缺血后处理)能显著减轻再灌注损伤。STAT3 是 JAK/STAT 通路家族中的一员,既往研究证实与心肌缺血再灌注损伤的发生关系密切,但是否参与缺血后处理的心肌保护作用尚未见报道。本研究初步探讨缺血后处理是否能真正发挥心肌保护作用,以及 JAK/STAT 通路家族在其中发挥何种作用,以期为将来临床提供新方向。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

NSC-74859(STAT3抑制剂),购自selleck公司(美国);离体心脏灌注系统,购自埃德公司(澳大利亚);数据记录系统 Powerlab,购自埃德公司(澳大利亚)。

1.2 实验动物及分组

32 只雄性清洁级 SD 大鼠,由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供。体质量(213 ±24) g,随机分为 4 组(n = 8)。A 组,即正常对照组,取心脏建立离体灌注模型;K-H 缓冲液预灌注 100 min。B 组,即 I/R 组,建立离体灌注模型;K-H 缓冲液 37 ℃持续灌注 10 min,停灌 30 min ,复灌 37 ℃含氧 K-H 液 60 min。C 组,即缺血后处理组,取心脏建立离体灌注模型;K-H 缓冲液 37 ℃持续灌注 10 min,停灌 30 min ,再灌注 10 s,缺血 10 s,反复 6 次,然后持续复灌 37 ℃含氧 K-H 液 58 min。D 组,即缺血后处理 + NSC-74859 组,取心脏建立离体灌注模型;K-H 缓冲液 37 ℃持续灌注 10 min,停灌 30 min ,再灌注 10 s,缺血 10 s,反复 6 次,含 NSC-74859 (100 μmol/L) 的 K-H 液持续灌注 5 min,然后持续复灌 37 ℃含氧 K-H 液 53 min。

1.3 试验方法

建立离体工作心脏灌注模型在大鼠麻醉后进行,开腹经下腔静脉按 3 mg/kg 注射肝素生理盐水,立即开胸剪取心脏,将主动脉固定在灌注管,开始灌注。于右室流出道剪开小口,使冠脉液流出。剪除部分左心耳,将带有乳胶水囊的测压管插入,

doi:10.11659/jjssx.1672-5042.201306021
[基金项目] 第三军医大学青年基金资助项目(基金号 2010XQN34)
[通讯作者] 钟前进,Email:zhongqianjin@qq.com
[收稿日期] 2013-09-18 [修回日期] 2013-10-10

经二尖瓣口送入左心室,连接 Powerlab 生物机能试验压力换能器系统,调节水囊压力使左室舒张末压为 4 ~ 8 mmHg。调节灌注流量,维持心跳。记录心脏缺血前、后的各项功能指标,检测冠脉流出液。

1.4 检测指标

1.4.1 心功能测定指标 利用数据记录系统观察各组缺血前及再灌注后离体心脏的心率、LVSP 、LVEDP 、± dp/dtmax 及冠脉流出量(CF) 等指标的变化。

1.4.2 心肌酶谱 用全自动生化分析仪测定缺血前及再灌注后各组的冠脉流出液中乳酸脱氢酶(LDH) 及磷酸肌酸激酶(CK) 的含量。

1.5 统计学分析

使用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析,各项结果以($\bar{x} \pm s$)表示,比较两组间差异采用 LSD 法检验,$P < 0.05$ 表明差异有显著性。

2 结果

各组缺血前各项指标无明显差异。缺血再灌注损伤后,与对照组相比心率减慢,LVSP、 + dp/dtmax 、 - dp/dtmax、冠脉流量明显下降,LVEDP 及冠脉流出液中 LDH、CK 含量明显增高($P < 0.05$),与缺血再灌注组比较差异明显($P < 0.05$)。抑制 STAT3 组出现心率减慢,LVSP、 + dp/dtmax 、 - dp/dtmax、冠脉流量明显下降,LVEDP 及冠脉流出液中 LDH、CK 含量明显增高,与对照组及缺血后处理组比较差异显著($P < 0.05$)。见表 1、表 2、表 3。

3 讨论

目前研究证实缺血预处理可有效预防再灌注损伤,这种预防保护作用范围相当广泛,它在动物实验及临床研究中都能发挥作用,并且在肝、肾、脑及心脏等不同器官都能观测到其效果[1]。然而目前的医疗水平还不能在急性缺血事件发生前发出预警信号,因此实施缺血预处理的时机很难把握。2003 年,Zhao 等[2]在实验中证实心肌缺血发生后,在再灌注前实施数次“再灌注 - 缺血”循环,对尔后发生的再灌注损伤能起到一定预防作用,从而提出了缺血后处理(IPO) 的概念。这种保护作用与缺血预处理的效果相似,是机体另一种内源性抗再灌注损伤的保护措施[3]。因再灌注时机较缺血而言具有相对可控制性,所以缺血后处理在临床工作中具有很强的使用价值。研究发现,心肌细胞经历缺血后处理可导致多条信号通路激活,与心肌细胞凋亡相关基因表达受到抑制,再灌注损伤后细胞凋亡减少,心肌损伤减轻。本实验证实,与缺血再灌注组比较,缺血后处理能明显提高离体大鼠心脏心功能各项指标,并维持心肌细胞膜的稳定性,证实了缺血后处理具有很强的心肌保护作用。

JAK/STAT 通路与众多疾病的发生、发展相关,近年来发现与心功能障碍的关系尤为密切[4]。STAT 家族成员众多,其中 STAT1 和 STAT3 与心肌细胞内信号传导关系最为紧密。研究表明,STAT1 和 STAT3 激活

(下转第 634 页)

表 1 各组心功能指标变化($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	心率(次/分)		LVSP(mmHg)		LVEDP(mmHg)		冠脉流量(mL/min)	
	缺血前	复灌后	缺血前	复灌后	缺血前	复灌后	缺血前	复灌后
A 组	215.17 ± 21.33	208.31 ± 19.92	97.34 ± 9.63	91.26 ± 6.75	8.46 ± 0.75	10.15 ± 1.98	16.15 ± 4.82	13.35 ± 3.74
B 组	209.74 ± 18.42	166.53 ± 13.82 *	93.17 ± 6.25	59.81 ± 7.48 *	9.21 ± 1.07	19.75 ± 3.48 *	14.84 ± 5.19	5.23 ± 0.78 *
C 组	217.38 ± 24.61	191.62 ± 18.71 #	95.03 ± 7.55	86.92 ± 8.15 #	8.12 ± 0.93	12.57 ± 2.46 #	15.25 ± 3.90	12.15 ± 2.09 #
D 组	221.16 ± 16.38	170.38 ± 14.90 *△	91.72 ± 5.03	65.37 ± 9.47 *△	8.93 ± 0.32	17.66 ± 2.91 *△	15.26 ± 4.37	7.57 ± 1.24 *△

*:与 A 组相比,$P < 0.05$; #:与 B 组相比,$P < 0.05$; △:与 C 组相比,$P < 0.05$

表 2 各组 ± dp/dtmax 的变化($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	+ dp/dtmax(mmHg/s)		- dp/dtmax(mmHg/s)	
	缺血前	复灌后	缺血前	复灌后
A 组	1 911.65 ± 201.64	1 473.72 ± 157.26	1 532.01 ± 198.24	1 124.15 ± 215.26
B 组	1 948.38 ± 198.42	799.37 ± 108.43 *	1 557.23 ± 152.76	614.71 ± 103.68 *
C 组	1 890.52 ± 138.41	1 256.71 ± 151.32 #	1 614.45 ± 136.78	995.36 ± 115.32 #
D 组	1 835.05 ± 176.30	852.61 ± 132.66 *△	1 521.90 ± 112.63	736.19 ± 92.36 *△

*:与 A 组相比,$P < 0.05$; #:与 B 组相比,$P < 0.05$; △:与 C 组相比,$P < 0.05$

表 3 各组冠脉流出液 LDH、CK 的变化($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	LDH(iu/L)		CK(iu/L)	
	缺血前	复灌后	缺血前	复灌后
A 组	12.67 ± 3.46	43.74 ± 7.36	11.43 ± 2.46	55.82 ± 6.15
B 组	11.46 ± 3.95	131.43 ± 21.22 *	12.35 ± 1.67	331.15 ± 43.12 *
C 组	10.23 ± 2.67	75.26 ± 9.18 *#	10.93 ± 2.43	143.67 ± 20.31 *#
D 组	11.35 ± 4.12	116.476 ± 15.74 *△	12.46 ± 3.10	289.13 ± 31.11 *△

*:与 A 组相比,$P < 0.05$; #:与 B 组相比,$P < 0.05$; △:与 C 组相比,$P < 0.05$

表1 2组患者的用药效果比较分析($\bar{x} \pm s$)

组别	睫毛反射消失时间(s)	清醒时间(min)	镇痛效果		丙泊酚总量(mg)	呼吸抑制(例)
			Ⅰ级	Ⅱ级		
对照组	38±9	5.30±1.10	42	3	115±15	6
观察组	34±13	5.79±1.60	43	2	114±13*	1*

*:与对照组比较,$P<0.05$

3 结论

在临床上一般使用胃镜来检查和诊断消化系统的疾病,但是由于镜体对人体的刺激,使患者在胃镜检查中忍受着极大的痛苦。无痛胃镜检查缓解了患者术前的紧张感,极大减轻了手术的痛苦而且使手术更加方便、仔细和准确[7]。目前在临床上胃镜检查常用丙泊酚,起到麻醉的效果。丙泊酚是一种全身麻醉药,持续时间比较短,阵痛效果比较弱,效果不是很明显[8],在检查中需要根据患者的具体情况增加剂量。布托啡诺是一种新型的混合性阿片受体激动-拮抗药,在胃镜检查术中,镇痛效果比较明显,而且患者发生呼吸抑制比较少[9]。因阿片受体激动-拮抗药是激动κ受体,受体具有特异性,减少了胃肠道不适感,麻醉持续时间比较长,镇痛效果也比较明显[10]。

本文通过观察布托啡诺联合丙泊酚在无痛胃镜检查中的麻醉效果,对照组有6例患者呼吸抑制,观察组1例患者呼吸抑制,可见观察组发生呼吸抑制率低于对照组。且布托啡诺联合丙泊酚在胃镜检查中能起到好的镇痛效果,一定程度上降低了丙泊酚的使用量,减少了患者胃镜术中的不良反应,值得临床上推广[11]。

[参考文献]

[1] 徐启明,郭由练,姚尚龙,等. 临床麻醉学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:87.

[2] 庄心良,曾因明,陈伯銮. 现代麻醉学[M]. 人民卫生出版社,2003:486.

[3] 王卫军,戴建军,杨小磊. 无痛消化内镜诊疗术的临床应用[J]. 临床消化病杂志,2007,20(1):24-25.

[4] 黄晓波,陈江山,姚文建,等. 丙泊酚和芬太尼复合麻醉应用于无痛胃镜检查[J]. 临床麻醉学杂志,2004,20(9):538-540.

[5] Commiskey S,Fan LW,Ho IK,et al. Butorphanol:effects of a prototypical agonist-antagonist analgesic on kappa-opioid receptors[J]. J Pharmacol Sci,2005,98(2):109-116.

[6] 叶 飞,佘守章,邬子林. 不同剂量布托啡诺静注对病人呼吸功能和镇静程度的影响[J]. 临床麻醉学杂志,2007,23(7):563-565.

[7] Agarwal A,Raza M,Dhiraaj S,et al. Pain during injection of propofol:the effect of prior administration of butorphanol[J]. Anesth Analg,2004,99(1):117-119.

[8] 庄心良,曾因明,陈伯銮. 现代麻醉学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社,2003:514-529.

[9] 王 兰,盛传洪,唐 丽. 布托啡诺复合丙泊酚在无痛胃镜检查中的临床应用[J]. 黑龙江医学,2011,35(11):832-833.

[10] 羊丽丽,章玲宾. 布托啡诺复合丙泊酚在无痛胃镜检查中的应用[J]. 海峡药学,2011,23(6):204-205.

[11] 察广雄. 丙泊酚复合小剂量芬太尼经脉麻醉用于无痛胃镜检查术的临床观察[J]. 哈尔滨医药,2012,32(5):365-368.

(编辑:左艳芳)

(上接第632页)

对心肌细胞具有相反的作用,STAT1激活可促进心肌细胞的凋亡,导致心肌损伤。而STAT3激活可抑制心肌细胞凋亡,发挥心肌保护作用[5]。Goodman等[6]研究证实,缺血预处理通过激活STAT3在心肌保护作用中发挥重要作用。然而,缺血后处理是否通过激活STAT3发挥与预处理类似的心肌保护作用尚不确定。本研究结果显示再灌注前予以STAT3抑制剂NSC-74859处理后,离体心脏的心功能大幅下降,冠脉流出液中LDH、CK显著升高,心肌细胞损伤严重,证实了STAT3激活在缺血后处理心肌保护作用中发挥必不可少的作用。

再灌注前予以干预措施,无论是缺血预处理或是后处理都能抑制损伤因素的启动,发挥一定心肌保护作用,并且该保护作用与JAK/STAT通路激活密切相关。然而,缺血后处理对STAT1的影响如何,STAT1和STAT3是否同时激活,二者之间是否有相关性,有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 祁夫魁,刘 芳,王曙光,等. 高原地区缺血预处理对大鼠肝脏缺血再灌注的影响[J]. 局解手术学杂志,2011,20(4):357-360.

[2] Zhao ZQ,Corvera JS,Halkos ME,et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion:comparison with ischemic preconditioning[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2003,285(2):579-588.

[3] Zhang L,Ma J,Liu H. Protective effect of ischemic postconditioning against ischemia reperfusion-induced myocardium oxidative injury in IR rats[J]. Molecules,2012,17(4):3805-3817.

[4] Heusch G,Musiolik J,Gedik N,et al. Mitochondrial STAT3 activation and cardioprotection by ischemic postconditioning in pigs with regional myocardial ischemia/reperfusion[J]. Circ Res,2011,109(11):1302-1308.

[5] Bhattacharya S,Ray RM,Johnson LR,et al. STAT3-mediated transcription of Bcl-2,Mcl-1 and c-IAP2 prevents apoptosis in polyamine-depleted cells[J]. Biochem J,2005,392(2):335-344.

[6] Goodman MD,Koch SE,Afzal MR,et al. STAT subtype specificity and ischemic preconditioning in mice:is STAT-3 enough[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2011,300(2):522-526.

(编辑:魏 源)