348-349
维普资讯 http://www.cqvip.com
(5)

文章编号：0253-3626(2000)04-0348-02

非心肌组织短暂缺血对心肌保护作用的机制探讨

王悦喜、陈运贞，董　莉，刘元生
（重庆医科大学临床学院心血管内科　重庆　400016）

R542.2

摘　要：　**目的**　观察远处其它器官短暂缺血是否能保护心肌及机制的探讨。**方　法**　Wistar大鼠48只，随机分为6组。采用免疫组化方法检测PKCα、PKCδ亚型在心肌细胞内转移及转位。**结　果**　心肌缺血预处理组（IPC），肠系膜动脉阻塞（MAO）15min组，股动脉阻塞（FAO）15min组，对心肌都有保护作用。灯盏花素乙(Bre.)不能消除FAO、MAO对心肌的保护作用。免疫组化检测结果除IPC组外，MAO组、FAO组、Bre.干预组心肌细胞内均未见PKCα、PKCδ亚型转位。**结　论**　短暂的肠系膜动脉、股动脉阻塞和心肌缺血预处理一样能有效保护心肌组织被长时间缺血-再灌注损伤，但其机制与IPC不同，它们并不是经激活PKC信息通道而发挥作用的。

心肌缺血．缺血预处理

关键词：　缺血；系膜动脉；动脉；白激酶C；肌梗塞
中国图书分类法分类号：　R541.2+2　　**文献标识码：**　A　　**收稿日期：**　1999-06-07

IPC　心肌保护

The mechanism of myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue

WANG Yue-xi, et al
（Department of Cardiology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University, 400016）

Abstract:　**Objective**　To explore the cardioprotective role and mechanism of brief ischemia in remote organs. **Methods**　48 Wistar rats were randomly divided into 6 groups. PKCα and PKCδ were measured by immunohistochemistry method. **Results**　15 minutes occlusion of the mesensteric artery (MAO) and femotall artery (FAO) can protect against myocardial infarction as effectively as coronary artery occlusion (CAO). PKCα and PKCδ did not translocate. **Conclusion**　Brief occlusion of MAO and FAO can protect against myocardial infarction .Their protective mechanism did not pass through the PKC signal passway, which was different from that of myocardiac ischemic preconditioning. The present study may have important clinical implication, because it suggests that ischemia in remote organs can result in cardioprotection when it procedes a coronary thrombotic event.

Key Words:　Ischemia; Noncardiac; Myocardium infarction; Protein Kinase C

IPC不仅保护心肌组织、也保护肾脏、脑等组织。有报道肾动脉、肠系膜动脉缺血对心肌有保护作用[1]，那么股动脉短暂缺血对心肌也有保护作用[2]，它们的保护机制是否与IPC相同？

1　材料与方法

1.1　材料　Wistar大鼠48只，体重150g～250g，3～4月龄，雌雄不拘。

1.2　方法　动物模型及实验设计已报道[2]，灯盏花素乙干预组是在MAO、FAO前5min静脉注射Bre.4mg/100g。心肌再灌注180min后将鼠杀死，将心肌放入含1%TTC的PBS液内衡温37℃染色15min，计算出坏死心肌占左室心肌的百分比。

1.3　PKCα、PKCδ亚型激活、转移的检测　从以上实验组中各取2只、在冠状动脉血流阻断90min前杀死大鼠、取出心脏作免疫组化检测[3]。主要步骤如下：取左室前壁心肌组织100mg、OCT(ornithine carbamyl transferase)包埋后，迅速液氮冷冻、然后储存于-70℃冰箱待用。用冰冻切片机切5μm厚度的5块切片，置于带多聚赖氨酸的玻片上。所有切片在70%丙酮/30%甲醇溶液内于-20℃下固定10min，用PBS液冲洗。在含10%正常羊血清的PBS液内孵化30min以阻断非特异性结合，再用PBS液冲洗2次，每次3min。用含0.1%BSA的PBS稀释兔多克隆抗PKCα、PKCδ抗体(Promega公司)室温下孵化1h，再用PBS液冲洗3次，每次3min。再用含荧光素的羊抗兔IgG(北方公司)孵化切片45min，随后用含0.1% Triton X-100的PBS液冲洗2次、每次3min。用含10μg/ml Bis-benzimide的PBS染细胞核30s，再用PBS液冲洗3次，每次2min。切片用抗熄灭剂O-Phenylene diamine-dHCl覆盖后，4

作者介绍：王悦喜（1963-　），主治医师，博士

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 六组实验测得心肌坏死范围

组 别	坏死心肌重量(g)	左室心肌重量(g)	心肌坏死范围(%)
对照组	0.2447±0.0085	0.5712±0.0107	42.73±5.8
心肌预处理组	0.0827±0.0076	0.4472±0.0094	18.75±7.2*
肠系膜动脉缺血组	0.1076±0.0089	0.4512±0.0064	23.17±4.5*
股动脉缺血组	0.147±0.0045	0.6124±0.0087	24.05±3.1*
Bre.+MAO	0.1105±0.0057	0.4843±0.0072	19.22±4.16*
Bre.+FAO	0.1568±0.0064	0.5408±0.0079	29.1±2.2*

注：*与对照组相比 $P<0.01$

℃储存或在荧光显微下观察、摄影等。

1.4 统计学分析 实验所得结果用均数±标准差表示，用方差分析。$P<0.05$为有显著性差异、$P<0.01$有非常显著性差异、$P>0.05$无显著性差异。

2 结 果

2.1 心率和平均动脉血压 六组大鼠在实验中所测得心率与鼠尾平均动脉压在各时段内无显著性差异（$P>0.05$）。

2.2 心肌坏死范围 各组心肌坏死面积详见表。五组实验观察组与对照组相比，心肌坏死范围明显缩小，$P<0.01$；而五组预处理组间心肌坏死范围则无显著性差异，$P>0.05$。

2.3 PKCα、PKCδ亚型的激活、转位 经免疫组化方法检测，未见PKCα、PKCδ被激活、也未见由心肌细胞浆转位到胞膜的征象。

3 讨 论

有关非心肌组织缺血对心肌的保护作用机制目前仍不十分清楚。起初作者认为不能排除非心肌组织缺血后PKC参与了心肌保护作用，因目前公认为PKC及其亚型的激活、转移是心肌缺血预处理保护心肌作用中必经信息通路的共同通道[3-4]，但经免疫组化方法检测，未见PKCα、PKCδ被激活，也未见其由心肌细胞浆转位到胞膜的征象；而心肌缺血预处理组则可见PKCα、PKCδ被激活，并见其由心肌细胞浆转位到胞膜的征象。说明心肌组织缺血预处理与非心肌组织缺血预处理的心肌保护机制是不同的，前者经细胞内信号传导通道的共同通路PKC而发挥作用的，后者则否。

在肠系膜动脉缺血组中，Gho等用神经节阻制剂六甲胺则消除了肠系膜动脉阻塞对心肌的保护作用[1]，他们认为神经传导系统参与了肠系膜动脉缺血对心肌的保护作用。氧自由基、细胞因子等[5]是否也参与了心肌保护作用有待进一步研究。

尽管非心肌组织缺血对心肌的保护作用确切机制到目前为止尚不完全清楚，但作者认为本实验具有非常重要的临床意义。相信随着非心肌组织缺血保护心肌机制的不断探明，它最终将替代临床上不适用的心肌缺血预处理，为人类自身应用预处理保护心肌作用提供广阔的前景[6-7]。

参 考 文 献

[1] Gho BCG, Schoemaker RG, Doel MA,et al.Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue[J]. Circulation, 1996; 94: 2193-2200.

[2] 王悦卓、陈运贞. Ca^{2+}预处理对心肌的保护作用[J]. 重庆医科大学学报，1999; 24(1): 10-14.

[3] Duncker DJ,Klassen CL,Herrlimger SH, et al.Effect of temperature on myocardial infarction in swine[J]. Am J Physiol, 1996; 270: H1189-H1199.

[4] Downey JM, Cohen MV,Ytrehus K,et al.Cellular mechanisms in ischemic preconditioning:the role of adenosine and protein kinase C[J]. Ann N Y Acad Sci, 1994; 723: 82-98.

[5] Chien GI,Wolff RA,Davis RF, et al. 'Normothermic range' temperature affects myocardial infarct size[J]. Cardiolvasc Res, 1994; 28: 1014-1017.

[6] Kloner RA,Yellon D.Does ischemic preconditioning occur in patients[J]? J Am Coll Cardiol, 1994; 24: 1133-1142.

[7] Verdouw PD,Gho Beg,Duncker DJ.Ischemic preconditioning: is it clinically relevant[J]? Eur Heart J, 1995; 16: 1169-1176.