维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2001)01-0032-02

热休克、心肌缺血预处理对I/R心肌的第二窗保护作用

王悦喜，陈运贞，刘元生

（重庆医科大学临床学院心血管内科　重庆　400016）

【摘　要】目的：观察IP(ischemic preconditioning，缺血预处理)、HS(heat shock，热休克)对I/R(ischemic/reperfusion，缺血/再灌注)损伤的保护作用。方法：建立Wistar大鼠I/R动物模型，缺血90min后再灌注3h，分为对照组、HS组和IP组3组，用免疫组化方法检测第二窗保护(second window of protection，SWOP)过程中蛋白激酶C α、δ（PKCα、PKCδ）的活性，并用TTC染色测定心肌坏死范围。结果：HS组和IP组心肌坏死范围较对照组明显缩小(P<0.01)，3组PKCα、PKCδ均未见从胞浆向细胞膜转位。结论：HS和IP均有心肌保护作用，PKCα、PKCδ在SWOP中可能不起作用，其确切机制有待进一步研究。

【关键词】预处理；心肌保护；心肌缺血再灌注损伤；蛋白激酶C

【中国图书分类法分类号】R541.2+2　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2000-04-29

The role of heat shock、ischemic preconditioning in the delayed protection of ischemic preconditioning

WANG Yue-Xi, et al

（Department of Cardiology，College of Clinical Medicine，Chongqing Medical University，400016）

【Abstract】 *Objective*: To observe the protective role of IP and HS on I/Rinjury. *Methods:* Wistar rats treated with prior whole-body hyperthermia(heat shock) and 24 hours recovery (n =11); or 3 episodes of 5 minutes of IP (ischemic preconditioning) and 24 hours of recovery(n =11);The control rats (n =11)were sutured under coronary artery but not occluded. After 90 minutes of coronary artery occlusion and 3 hours of reperfusion ,the rats were killed and PKCα and PKCβ were tested with immunohistochemical analysis.*Results:* Infarct size was significantly reduced in HS and IP group compared with control group(P<0.01).Ventricular samples from all three groups showed no translocation of PKCα and PKCβ from cytoplasm to membranes.*Conclusion*:In this model of I/R (ischemia/reperfusion),prior HS and IP were associated with significantly improved myocardial salvage after 90 minutes and 3 hours reperfusion.The PKCα and PKCβ may not play an important role in conferring myocardial protection from I/R injury in this animal model.Further study for the mechanism of SWOP associated with IP was needed.

【Key words】 Preconditioning; Myocardial protection; Ischemia/reperfusion injury; Protein kinase C

IP对心肌的第一窗保护作用一般持续1～2h,4h后作用消失。IP后24h这种保护作用又增强，即IP对心肌的第二窗保护作用[1,2]，且这种保护作用可持续到IP后72h。从临床角度考虑SWOP更具有意义，因为它的保护时间长，可有计划地用在如经皮冠状动脉腔内成型(percutaneous transluminal coronary angioplasty，PTCA)、冠状动脉搭桥术(coronary artery bypass graft，CABG)等缺血事件之前。所以，近年来有关SWOP保护心肌机制的探讨等引起心血管病学者的极大兴趣。作者从HS、IP着手开始探讨它们对心肌IP的SWOP及部分机制，目的是想为临床提供一定的理论指导。

I　材料与方法

1.1　材料

Wistar大鼠33只，体重150～250g，3～4个月龄，雌雄不拘，由重庆医科大学实验动物中心提供。

1.2　实验设计

Wistar大鼠33只，随机分为3组，每组11只，即(1)对照组：左冠状动脉前降支穿线但不阻断血流，24h后使心肌I.90min/R.180min；(2)IP组：每次5min、3次IP、24h后心肌I.90min/R.180min；(3)HS组：使鼠肛门内温度升高到42℃、持续15min后，室温下自然恢复到正常体温，24h后心肌I.90min/R.180min。再灌注结束时将鼠杀死，取材测量心肌坏死范

作者介绍：王悦喜（1963-　），男，博士

维普资讯 http://www.cqvip.com

用、PKCα和PKCδ。

1.3 心肌坏死范围

3组大鼠R.180min后，每组取6只立即杀死取材TTC染色，测量心肌坏死范围[3]。

1.4 PKCα、PKCδ在SWOP中的作用

用免疫组化检测PKCα、PKCδ在SWOP中被激活、转位的情况[4]。

1.5 统计学处理

所得资料用均数±标准差表示，用方差分析非配对资料t检验，$P<0.05$时认为两组间有显著性差异。

2 结 果

2.1 左心室心肌坏死范围

IP组心肌坏死范围为12.5%±2.42%；HS组为29.81%±4.72%；分别与对照组42.6%±4.64%相比均有非常显著性差异（$P<0.01$）（见表1）。

表1 HS、IP和对照组心肌坏死范围

组别	坏死心肌	左室重量	坏死范围(%)
Control	0.255±0.031	0.599±0.042	42.6±4.64
IP	0.0656±0.018	0.5245±0.037	12.5±2.42*
HS	0.1888±0.046	0.6334±0.067	29.81±4.72*

注：*与对照组相比 $P<0.01$

2.2 PKCa、PKCδ在SWOP中的作用

每组取2只做免疫组化检测，各组大鼠心肌细胞内未见PKCα、PKCδ被激活、转位到心肌细胞膜上。

3 讨 论

本实验显示IP后24h，与HS 24h后一样能减小长达I.90/R.180min对心肌的损伤作用。

经IP或HS后24h，心肌坏死范围均比对照组明显减小（$P<0.01$），提示IP 24h后对心肌抵抗再灌注损伤确有保护作用，与Marber等报道相近[1,2,5]。IP 24h后对心肌的远期保护作用与IP后1～2h对心肌的保护作用一样都赋予心肌对其后长达I.90min/R.180min损伤的保护作用，说明IP不仅对心肌有第一窗保护作用[3]，而且还有第二窗心肌保护作用。

IP的心肌保护作用在再灌注1～2h后减弱，24h后又增强，提示第一、二窗心肌保护机制不同。本文三组实验大鼠均未发现PKCα、PKCδ被激活、转位到心肌细胞膜的征象，因此认为它们在IP的SWOP中并不起重要作用，即IP的SWOP与第一窗心肌保护机制不同，可能不是经过PKC信息通路而发挥作用的。至于热休克蛋白，它是一群由几个家族组成的蛋白质，依分子量大小不同被分为HSP20、HSP60、HSP70、HSP90等家族。它们的功能是在非应激状态下阻止细胞内新生肽的折叠或聚集，允许多肽经过生物膜促进适当的折叠和新生蛋白的寡肽记忆[6-9]；在应激状态下与具有不同功能的蛋白质在细胞内形成复合体，允许折叠的蛋白质回到活性状态，以调节蛋白的活性和功能。有关热休克、HSP70保护心肌的机制，作者将进一步探讨。

总之，HS、IP对心肌都有延期保护作用，但其机制比较复杂，尚需进一步研究。

参 考 文 献

[1] Yellon Dm, Baxter Gf. A second window of protection or delayed preconditioning phenomenon;future horizons for myocardial protection[J]? J Mol Cell Cardiol,1991;260:H796-H804.

[2] Marber MS,Latchman DS,Walker JM,et al.Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction[J].Circulation, 1993;88:1264-1272.

[3] 王悦卓，陈运贞．Ca^{2+}缺血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.

[4] 王悦卓、陈运贞，董 莉、非心肌组织缺血预处理对心肌的保护作用[J]．重庆医科大学学报，1999;24(1):113-116.

[5] Currie RW, Tanguay RM, Kingma JG Jr. Heat shock response and limitation of tissue necrosis during occlusion/reperfution in rabbit hearts[J]. Circulation, 1993;87:963-971.

[6] Ang D, Liberek K, Skowyra D, et al. Biological role and regulation of the universally conserved heat shock protein[J]. J Biol Chem. 1991:266:22433-24236.

[7] Beckmann RP, Mizzen LA, Welch WJ. Interation of HSP70 with newly synthesized proteins:Implications for protein folding and assembly[J]. Science, 1990;248:850-854.

[8] Smith CW, Anderson DC, Taylor AA, et al. Leukocyte adhesion molecules and myocardial ischemia trends[J]. Cardiovasc Med, 1991;1:167-170.

[9] Yamashita N,Hoshida S, Taniguchi N, et al. A second window of protection occurs 24h after ischemic preconditioning in the rat heart[J]. J Mol Cell Cardiol, 1998;30:1181-1189.