维普资讯 http://www.cqvip.com

245-247
R542.202
R363.27
(10)

大鼠心肌缺血再灌注时血浆一氧化氮水平的动态变化及其意义

临床学院心内科 赵明中* 陈运贞

提 要 本文分析大鼠心肌缺血再灌注期血中一氧化氮(NO)水平的动态变化及其意义。实验大鼠分为Ⅰ组(假手术组)、Ⅱ组(缺血再灌注组,缺血3小时,再灌注48小时)、Ⅲ组(精氨酸甲硝基酯(L－NAME)＋缺血再灌注组)及Ⅳ组(氨基胍(Aminoguanidine, AG)＋缺血再灌注组)。检测各组血浆NO水平的动态改变及L－NAME与AG对大鼠心肌缺血再灌注后心肌梗塞范围的影响。结果显示大鼠在缺血3小时期间NO水平显著增高,再灌注6小时内下降,而再灌注后期(6小时以后)又开始逐渐上升。L－NAME抑制缺血期血浆NO水平升高,缩小心肌梗塞范围;AG则降低再灌注后期血浆NO水平,其缩小心肌梗塞范围作用明显。结果提示大鼠心肌缺血期及再灌注后期血浆NO水平显著增高,对心肌具有损伤作用。一氧化氮合酶(NOS)抑制剂L－NAME及AG均能降低NO水平,对缺血再灌注的心肌一定的保护作用。

关键词 心肌缺血再灌注损伤;一氧化氮;精氨酸甲硝基酯;氨基胍;大鼠
中图分类号 R541.4

自1987年证实内皮细胞产生的松弛因子即一氧化氮(nitric oxide,NO)以来,对NO的生物调节,分子机制的认识进展迅速,NO在心血管系统中的作用也日益受到关注,然而NO与心肌缺血再灌注损伤间的关系尚待深入研究。本文旨在进一步观察NO在大鼠心肌缺血再灌注过程中的动态变化,并探讨此变化的意义。

1 材料与方法

1.1 大鼠心肌缺血再灌注模型 wistar大鼠,雌雄兼用,体重250－300克。以冠状动脉穿线结扎法制备模型:在乌拉坦腹腔注射麻醉(800mg/kg)下记录肢体导联心电图,气管插管,人工通气,开胸露出心脏,环绕左冠状动脉主干标志处穿线,相互交叉打结后引出体外备结扎冠状动脉时用;另于打结处引出两条丝线,作松扎时用。结扎左冠状动脉主干后见心电图ST段立即抬高,局部心肌紫绀(心肌缺血),一定时间后松扎以恢复冠脉再通造成再灌注。然后关胸,恢复动物自主呼吸。

1.2 实验分组 大鼠随机分成四组:Ⅰ组(假手术组,12只),开胸绕左冠状动脉主干穿线但未结扎;Ⅱ组(心肌缺血3小时,再灌注48小时,14只);Ⅲ组(12只),持续静脉推注一氧化氮合酶(NOS)抑制剂精氨酸甲硝基酯(L－NAME)(10mg/kg)10分钟,余同Ⅱ组;Ⅳ组(12只),腹腔注射NOS抑制剂氨基胍(Aminoguanidine,AG)(150mg/kg),余同Ⅱ组。

1.3 血浆NO水平测定 在Ⅱ、Ⅲ及Ⅳ组,分别于缺血前10min,缺血后1h、3h,再灌注后1h、6h、12h、24h及48h取右心房血0.3ml(经导管,抗凝),以5000r/min离心4min,取上清液于4℃冰箱中保存。Ⅰ组取血时点与之对应。血浆NO水平检测按亚硝酸盐测定法[1]于取血后6h内进行。

1.4 心肌梗塞范围的测定 于各组实验结束时杀死动物,取出心脏,予以冰冻1h后将其横断切成2mm厚的切片,以1%TTC染色液染色20min。心肌梗塞区呈灰白色,非梗塞区呈红色,剪下梗塞区以称其重量,梗塞范围的大小以梗塞区重量占左室总重量的百分比表示。

1.5 统计学分析 数据均以$\bar{x}\pm s$表示,组间比较用F检验,组内比较用t检验。

2 结果

2.1 各组大鼠血浆NO水平的动态变化(见附图)

Ⅰ组各时点NO值无明显动态改变。Ⅱ组于缺血1h,血浆NO值已明显上升,约为基础值(缺血前10min、10minBL)的3倍(12.5±2.7μmol/L vs4.2±1.6μmol/L,$P<0.01$),至缺血3h,血浆NO值仍较高,再灌注后开始下降,至再灌注6h时下降明显(5.3±2.1μmol/L)。以后渐回升,再灌注24h时NO值已达9.8±3.1μmol/L,再灌注48h时仍维持在较高的水平(9.5±3.4μmol/L)。该组除再灌注6h时点外,其余各时点NO值与Ⅰ组对应点的NO值有统计学差异。Ⅲ组在缺血期两个时点的NO值明显低于Ⅱ组($P<0.01$),其它时点与Ⅱ组无显著差别。

* 男,1963－03出生,主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com

说明L－NAME能明显抑制缺血期血浆NO水平的升高。Ⅳ组在再灌注6h及其后各时点的NO值明显低于Ⅱ组，但在缺血期与Ⅱ组无明显差别，说明AG对再灌注后期(再灌注6h以后)血浆NO水平有显著抑制效应。

2.2 各组大鼠心肌梗塞范围的变化

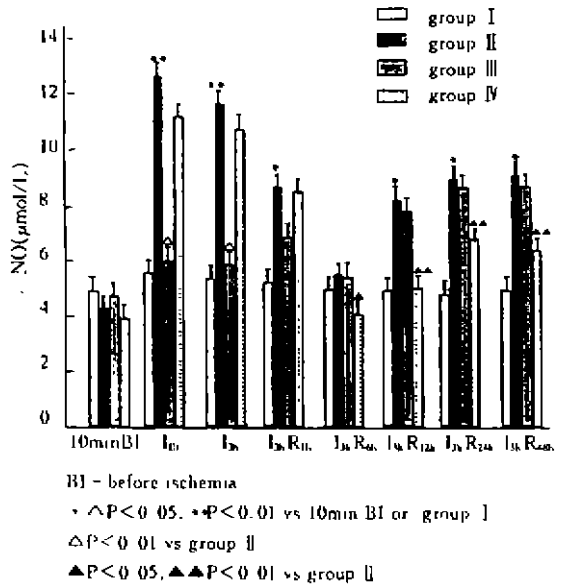
Ⅰ组未见心肌梗塞现象，其余各组心肌梗塞范围见附表。与Ⅱ组相比较，L－NAME及AG均能缩小心肌缺血3h和再灌注48h后的心肌梗塞范围，其中AG的作用更为明显。

附表 Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组心肌梗塞范围测定结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	心肌梗塞区重量/左室总重量(%)
Ⅱ组	14	44.5±9.3
Ⅲ组	12	36.7±8.4 *
Ⅳ组	12	29.3±7.8 * *Δ

注：与Ⅱ组比较，* $P<0.05$，* * $P0.01$

与Ⅲ组比较，Δ$P<0.05$



3 讨论

NO作为一种活性氧自由基，与心血管疾病的关系已引起人们的重视。有作者报道犬心肌缺血再灌注中血浆NO水平下降，并认为这与中性粒细胞浸润，血小板聚集致心肌损伤有关[2]。在心肌缺血预适应(ischemic preconditioning)机理研究中认为NO是内源性心肌保护物质之一，它通过提高细胞内cGMP水平，抑制细胞L－型钙通道等保护缺血心肌[3]。然而也有关于心肌缺血再灌注后血浆NO水平升高并导致心肌损伤的报道[4]。本实验观察大鼠心肌局部缺血及再灌注模型中血浆NO水平的动态变化，显示血浆NO值因时而变。心肌缺血3h内血浆NO值处于高峰水平，再灌注后开始下降，但随再灌注时间延长，其血浆NO值逐渐上升，于再灌注24h－48h期间已明显提高，其机制尚不十分清楚，是否与心肌缺血后局部心肌组织缓激肽释放增加从而激活血管内皮细胞结构型NOS(cNOS)而导致内皮源NO的大量生成有关尚待进一步研究。再灌注开始后由于血管内皮的再灌注损伤而致cNOS合成的NO减少，因而血浆NO水平降低[5]。再灌注后期血浆NO值逐渐升高，可能与该期心肌组织中大量中性粒细胞浸润导致白细胞诱导型NOS(iNOS)活性增强，从而引起诱导型NO生成增多有关[6]。

NO生成过多易致心肌损伤，这主要是因为NO与心肌缺血再灌注期产生的O_2^-反应，生成过氧亚硝基阴离子($ONOO^-$)，并进而分解成更具毒性的羟自由基(OH)[7]所致；此外NO与含铁－硫中心的酶结合并使之失活，以抑制细胞呼吸[8]。L－NAME主要抑制cNOS活性[9]，因而本文中它能抑制心肌缺血期血浆NO水平的升高，并缩小心肌梗塞的范围，这与Patel等[10]报道的L－NAME能产生类似"缺血预适应"效应，减少心肌梗塞面积的作用一致。氨基胍(AG)系iNOS特异性抑制剂[11]，本研究显示它明显降低再灌注后期血浆NO水平，且缩小心肌梗塞范围的作用较L－NAME更强。结果提示减少诱导型NO的过量生成较减少结构型NO的过量生成对缺血再灌注心肌更为有利。

文献报道NO参与了心肌缺血再灌注损伤过程，并可能具有双重效应。但本文中大鼠心肌缺血期及再灌注后期血浆NO水平明显提高，NOS抑制剂，尤其是iNOS抑制剂显著降低血中NO水平，对缺血再灌注心肌具有一定保护作用，提示NO生成过多在大鼠心肌缺血再灌注过程中具有损伤效应。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

1.Shecter H,et al. Anal Chen Acta 1972;60:93
2.Pearson PJ,et al. Circ Res 1990;67:385
3.Parratte JR. TIPS 1994;15:19
4.Matheis G,et al. Am J Physiol 1992;262:H616
5.Ma Xi,et al. Circ Res 1993;72:403
6.Matha JL,et al. Am J Phsiol 1991;261:H327
7.Beckman JS,et al. Proc Natl Acad Sci (USA) 1990;87;1620
8.Geng Y－J,et al. Circ Res 1992;71:1268
9.Kostic MM,et al. Circ Res 1992;70:208
10.Patel VC,et al. Biochem Biophys Res Comun 1993;194(1):234
11.Griffiths MJD,et al. Br J Pharmacol 1993;110:963

(收稿日期 1997－12—09)

Dynamic changes and implication of plasma nitric oxide in rats with myocardial ischemia and reperfusion

Zhao Mingzhong,et al
Department of Cardiology, College of Clinical Medicine

The dynamic changes and implication of plasma nitric oxide(NO) in rats with myocardial ischemia and reperfusion(I/R) were analysed. Rats were divided into four groups: group I (sham). group II[I/R group with 3 h of ischemia followed by 48h of reperfusion($I_{3h}R_{48h}$)],group III(L－NAME+I/R) and group IV [Aminoguanidine(AG)+I/R]. The dynamic changes of plasma NO content and the effects of L－NAME and AG on myocardial infarction sizes were determined. The results showed that plasma NO level increased during significantly 3h of ischemia, but decreased within 6h of reperfusion following ischemia. At the late phase of reperfusion(after 6h of reperfusion), there was a gradual increase in NO content. L－NAME inhibited the elevation of NO level during the period of ischemia and reduced the myocardial infarction sizes in rats with $I_{3h}R_{48h}$,but AG decreasecf significantly NO level at late phase of reperfusion and more effectively reduced the myocardial infarction sizes in rats with $I_{3h}R_{48h}$ than L－NAME. The results suggest that the significant increases in plasma NO content occurring in rats at period of ischemia and late phase of reperfusion play a harmful action in myocardium. NO synthase inhibitors, L－NAME and AG,could decrease the plasma NO level and protect myocardium against ischemia and reperfusion injury.

KEY WORDS Myocardial ischemia－reperfusion injury; Nitric oxide; L－MANE; Aminoguanidine; Rats