DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.12.009
第22卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 12
2000年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2000

文章编号:1000-5404(2000)12-1145-03

论著

培哚普利对心衰大鼠心肌肌浆网 Ca^{2+} 泵活性和 Ca^{2+} 释放通道密度的影响

耿召华,李隆贵,黄 坚,胡友勇,耿建萌 (第三军医大学附属新桥医院心血管内科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)培哚普利干预慢性心衰对心肌肌浆网(SR)Ca^{2+} 泵活性和 Ca^{2+} 释放通道(RyR_2)密度的影响及意义。方法 通过结扎大鼠左冠脉建立慢性心衰模型,以培哚普利进行干预,对照观察血流动力学、左室心肌SR Ca^{2+} 泵活性、[^{3}H]-ryanodine 与 RyR_2 最大结合量(B_{max})Kd 值。结果 与对照组(C组)相比,心衰组(F组)LVEDP 显著升高($P<0.01$),$+dp/dt_{max}$、$-dp/dt_{max}$ 显著降低($P<0.01$),培哚普利组(P组)LVEDP 显著低于 F 组($P<0.01$),$+dp/dt_{max}$、$-dp/dt_{max}$ 显著高于 F 组($P<0.01$)。F 组心肌SR Ca^{2+} 泵活性、[^{3}H]-ryanodine 与 RyR_2 最大结合量 B_{max} 显著低于 C 组($P<0.01$),P 组显著高于 F 组($P<0.01$),3 组 Kd 值差异不显著($P>0.05$)。心肌 SR Ca^{2+} 泵活性与 $+dp/dt_{max}$、$-dp/dt_{max}$ 显著正相关($r=0.5161$、$r=0.6172$,$P<0.01$)。结论 培哚普利长期干预慢性心衰,能够改善心肌 SR Ca^{2+} 泵活性,增加 RyR_2 密度,可能与其改善心肌舒缩功能及心肌保护作用有关。

关键词:培哚普利;心力衰竭;Ca^{2+} 泵;Ca^{2+} 释放通道
中图法分类号:R337;R971.1 文献标识码:A

Effect of perindopril on Ca^{2+} pump activity and density of Ca^{2+} release channels of myocardial sarcoplasmic reticulum in rats with chronic heart failure

GENG Zhao-hua, LI Long-gui, HUANG Jian, HU You-yong, GENG Jian-meng (Department of Cardiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) perindopril on Ca^{2+} pump activity and density of Ca^{2+} release channel ryanodine receptor (RyR_2) of myocardial sarcoplasmic reticulum (SR) for the prevention and treatment of chronic heart failure. **Methods** After the model of chronic heart failure was established by ligating left coronary artery of rats, the animals were divided into heart failure group (group F) and perindopril treated group (group P). Another 20 rats were employed as control with sham operation (group C). Hemodynamic parameters, activity of SR Ca^{2+} pump, B_{max} and Kd of [^{3}H]-ryanodine binding to RyR_2 were determined. **Results** Compared with the control group, left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) in group F was increased ($P<0.01$), while $+dP/dt_{max}$ and $-dp/dt_{max}$ were decreased significantly ($P<0.01$). The LVEDP was lower but $+dp/dt_{max}$ and $-dp/dt_{max}$ were significantly higher in group P than in group F ($P<0.01$). The activity of SR Ca^{2+} pump and B_{max} in group F were lower than those in group C ($P<0.01$), and those in group P were higher than those in group F ($P<0.01$). There was no significant difference in Kd among the 3 groups ($P>0.05$). The activity of SR Ca^{2+} pump was strongly correlated with $+dp/dt_{max}$ and $-dp/dt_{max}$ respectively ($r=0.5161$, $r=0.6172$, $P<0.01$). **Conclusion** Perindopril administration for a long time in case of chronic heart failure may improve the Ca^{2+} pump activity and increase the density of RyR_2 of myocardial SR and thus chronic heart failure, improve the myocardial function and result in myocardial protection.

Key words: perindopril; heart failure; Ca^{2+} pump; Ca^{2+} release channel

作者简介:耿召华(1968-),男,云南省澄江县人,硕士,主治医师,讲师,主要从事充血性心力衰竭方面的研究。电话:(023)68755539
收稿日期:2000-06-25;修回日期:2000-08-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

血管紧张素转换酶抑制剂(Angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI)可通过抑制神经内分泌过度激活,减轻心脏负荷,预防和逆转心肌重塑等机制,有效地预防和治疗心力衰竭[1]。近年研究证实,心肌肌浆网(Sarcoplasmic reticulum, SR)Ca^{2+}泵和Ca^{2+}释放通道(Ryanodine receptor, RyR_2)异常导致Ca^{2+}转运功能障碍,在慢性心衰病理过程中发挥重要作用[2]。ACEI长期干预慢性心衰是否影响心肌SR Ca^{2+}泵活性和RyR_2密度,从而影响心肌舒缩功能?尚未见报道。本实验通过结扎大鼠左冠脉复制慢性心衰模型,观察培哚普利干预对心肌SR Ca^{2+}泵活性及RyR_2密度的影响,从细胞内Ca^{2+}调节角度探讨ACEI改善心肌舒缩功能及细胞保护作用的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性Wistar大鼠,体重150~250 g(第三军医大学实验动物中心提供)。

1.1.2 主要试剂 ATP-2Na、EGTA、Ryanodine、HEPES(Sigma,美国),[^{3}H]-ryanodine(2.53×10^{12} Bq/mmol, Dupont New England Nuclear,美国),其他试剂均为进口或国产分析纯级产品。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型复制 大鼠80只随机分为3组:心衰组(30只,F组),参照文献[3]方法开胸结扎左冠脉主干;培哚普利组(30只,P组),手术方法同前,术后2周管饲法给药(培哚普利,3 mg·kg^{-1}·d^{-1});对照组(20只,C组),行假手术,不结扎冠脉。各组大鼠于术后10周进行指标检测。

1.2.2 检测指标及方法 ①血流动力学指标:经颈动脉插管,用八导生理记录仪(RM-600型)记录左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室压力上升和下降最大速度(+dp/dt_{max}、−dp/dt_{max})、主动脉收缩压及舒张压(SAP、DAP)、心率(HR)。②SR Ca^{2+}泵活性检测:参照Afzal等[4]方法提取左室心肌SR,Lowry法蛋白定量。定磷法检测心肌SR Ca^{2+}泵活性。③[^{3}H]-ryanodine饱和结合反应:参照Hisamatsu等[5]方法略加修改,反应介质含:120 mmol/L KCl、1 mmol/L $CaCl_2$、0.5 mmol/L EGTA、20 mmol/L HEPES、SR蛋白0.05 mg/ml,不同浓度[^{3}H]-ryanodine(0、1.5、2.5、5.0、7.5、10、20、30、40 nmol/L),非特异结合管另加10 μmol/L Ryanodine,反应总体积0.2 ml。37 ℃水浴孵育60 min后,终止反应,经双层玻璃纤维滤膜(69型,孔径0.45 μm)负压抽滤,洗膜并烘干后,行液体闪烁计数。特异结合量=总结合量−非特异结合量。Scatchard作图求最大结合量(B_{max})和平衡解离常数(Kd)。

1.3 统计学处理

实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用Excel统计软件进行t检验和相关分析。

2 结果

2.1 实验大鼠一般情况

C组大鼠死亡4只,F组死亡12只,P组死亡14只,主要死于术中及术后并发气胸和出血等。术后10周,F组和P组大鼠有不同程度紫绀,活动及进食减少,F组部分大鼠出现肢端水肿。3组左室重量指数(LVMI)、术前平均体重差异不显著($P>0.05$);术后10周,F组和P组平均体重显著低于C组($P<0.05$),F组和P组差异不显著($P>0.05$)。

2.2 血流动力学指标的变化见表1

表1 血流动力学指标的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of hemodynamic parameters($\bar{x}\pm s$)

Parameter	C(n=16)	F(n=18)	P(n=16)
SAP(p/kPa)	16.77±2.08	15.16±1.94 #	12.79±1.58 #*
DAP(p/kPa)	13.65±1.81	12.87±1.91	10.54±1.54 #**
MAP(p/kPa)	14.84±1.39	13.45±1.27 #	11.26±1.11 #**
LVSP(p/kPa)	18.61±2.56	16.34±2.31 #	13.12±1.51 #**
LVEDP(p/kPa)	0.90±0.18	2.87±0.49 ##	1.36±0.29 #**
+dp/dt_{max}(kPa/s)	794.20±56.32	556.39±55.31 ##	737.75±58.04 #**#
−dp/dt_{max}(kPa/s)	616.48±51.52	438.63±45.56 ##	573.15±46.77 #**
HR(min^{-1})	406.1±56.1	403.3±61.7	394.6±54.4

SAP: Systolic arterial pressure; DAP: Diastolic arterial pressure; MAP: Mean arterial pressure; LVSP: Left ventricular systolic pressure; LVEDP: Left ventricular end-diastolic pressure; HR: Heart rate; dp/dt: The first derivative of ventricular pressure; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ vs C; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$ vs F

2.3 左室心肌SR Ca^{2+}泵活性的变化

F组左室心肌SR Ca^{2+}泵活性(μmol·mg^{-1}·h^{-1})显著低于C组[(4.64±0.21) vs (9.73±0.36), $P<0.01$],P组显著高于F组[(7.90±0.29) vs (4.64±0.21), $P<0.01$]但仍低于C组[(7.90±0.29) vs (9.73±0.29), $P<0.01$]。

2.4 [^{3}H]-ryanodine饱和结合反应结果见表2

表2 各组B_{max}和Kd比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Comparision of B_{max} and Kd($\bar{x}\pm s$)

Parameter	C(n=10)	F(n=10)	P(n=10)
B_{max}(m_B/pmol·mg^{-1})	0.726±0.039	0.378±0.026 ##	0.546±0.037 #**
Kd(C_B/nmol·L^{-1})	2.498±0.47	2.532±0.39	2.56±0.27

##: $P<0.01$ vs C; **: $P<0.01$ vs F

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.5 心肌 SR Ca^{2+} 泵活性与血流动力学的关系

心肌 SR Ca^{2+} 泵活性与 $+dp/dt_{max}$、$-dp/dt_{max}$ 值显著正相关 ($Y=0.0142X+0.0065$, $Y=0.0150X+0.0053$; $r=0.5161$、$r=0.6172$, $P<0.01$)。

3 讨论

本实验结果显示, 冠脉结扎术后 10 周, 大鼠出现心衰表现和显著血流动力学变化; 培哚普利长期干预慢性心衰, 可显著改善血流动力学, 增强心肌收缩力, 改善心肌舒张功能; 而 3 组左室重量指数和心率无显著差异, 与其他作者报道一致[6~8]。

大量研究表明, SR Ca^{2+} 泵和 RyR2 通过调节 SR Ca^{2+} 摄取和释放, 在介导心肌舒张和收缩及维持细胞内 Ca^{2+} 稳态过程中发挥关键作用; 心肌 SR Ca^{2+} 泵活性及 RyR_2 密度降低, 引起 Ca^{2+} 摄取和释放功能异常是导致慢性心衰心肌舒缩功能障碍的重要原因, 也是导致细胞内 Ca^{2+} 超载及引起心肌损伤的重要原因之一[2,9]。ACEI 能够有效地预防和治疗慢性心衰, 增强心肌收缩力, 改善心肌舒张功能, 并具有一定心肌保护作用[1,6,7]。ACEI 的上述作用是否与其改善 SR Ca^{2+} 泵活性及增加 RyR_2 密度有关至今未见报道。为此本实验观察了培哚普利长期干预慢性心衰对心肌 SR Ca^{2+} 泵活性及 RyR_2 密度的影响。结果表明, 心梗后慢性心衰心肌 SR Ca^{2+} 泵活性和 RyR_2 密度显著降低; 培哚普利长期干预慢性心衰, 可增加 RyR_2 密度, 改善 SR Ca^{2+} 泵活性。结果提示, 心肌 SR Ca^{2+} 泵活性和 RyR_2 密度降低是引起左室舒缩功能减退的重要原因; ACEI 改善左室心肌舒缩功能可能与其改善 SR Ca^{2+} 泵活性及增加 RyR_2 密度有关。ACEI 通过改善 SR Ca^{2+} 泵活性及增加 RyR_2 密度, 从而改善肌浆网 Ca^{2+} 转运功能, 一方面有利于心肌快速舒张; 另一方面增强 SR Ca^{2+} 释放功能, 从而增强心肌收缩力; 此外, 还有利于维持细胞内 Ca^{2+} 稳态, 从而发挥心肌保护作用。慢性心衰心肌 SR Ca^{2+} 泵活性和 RyR_2 密度降低的机制尚未阐明, 研究表明, 上述变化始于心肌肥厚向心力衰竭转化的早期, 而肾素-血管紧张素-醛固酮参与心肌重塑的病理过程[5,7]。Spinale 等[7,10] 研究发现, ACEI 和 AT1 受体阻滞剂单用及联用干预心衰, 均可改善左室心肌舒缩功能, 并能增加心肌 SR Ca^{2+} 泵密度。提示肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活可能参与 SR Ca^{2+} 泵密度下调。本实验结果还提示, ACEI 可能通过影响 RyR_2 基因表达水平, 从而增加 RyR_2 密度, 其机制有待进一步研究。

参考文献:

[1] Macfden R J. Role of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in the development of heart failure: implications for therapy[J]. Cardiology, 1993, 83(1): 38—48.

[2] Hasenfuss G. Alterations of calcium-regulatory proteins in heart failure[J]. Cardiovasc Res, 1998, 37(2): 279—289.

[3] Drexler H, Depenbusch J W, Truog A G, *et al*. Effects of diltiazem on cardiac function and regional blood at rest and during exercise in a conscious rat preparation of chronic heart failure (myocardial infarction)[J]. Circulation, 1985, 71(6): 1 260—1 270.

[4] Afzal N, Dhalla N S. Different changes in left and right ventricular SR calcium transport in congestive heart failure[J]. Am J Physiol, 1992, 262(4): H868—H874.

[5] Hisamatsu Y, Ohkusa T, Kihara Y, *et al*. Early changes in the functions of cardiac sarcoplasmic reticulum in volume-overloaded cardiac hypertrophy in rats[J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29(9): 1 097—1 109.

[6] Spinale F G, Holzgrefe H H, Mukherjee R, *et al*. Angiotensin-converting enzyme inhibition and the progression of congestive cardiomyopathy: effects on left ventricular and myocyte structure and function[J]. Circulation, 1995, 92(3): 562—578.

[7] Spinale F G, Gasparo M D, Whitebread S, *et al*. Modulation of the renin-angiotensin pathway through enzyme inhibition and specific receptor blockade in pacing-induced heart failure: 1. Effects on left ventricular performance and neurohormonal system[J]. Circulation, 1997, 96(7): 2 385—2 396.

[8] Yoshiyama N, Takeuchi K, Hanatani A, *et al*. Differences in expression of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase and Na^{+}-Ca^{2+} exchanger genes between adjacent and remote noninfarcted myocardium after myocardial infarction[J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29(2), 255—264.

[9] Barry W H, Bridge J H B. Intracellular calcium homeostasis in cardiac myocytes[J]. Circulation, 1993, 87(6): 1 806—1 815.

[10] Spinale F G, Mukherjee R, Iannini J P, *et al*. Modulation of the renin-angiotensin pathway through enzyme inhibition and specific receptor blockade in pacing-induced heart failure: Ⅱ. Effects on myocyte contractile processes[J]. Circulation, 1997, 96(7): 2 397—2 406.

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net