DOI:10.16016/j.1000-5404.1998.04.023

缺血预处理对大鼠心肌离子泵、离子及氧自由基的影响

冉擘力* 司良毅 王国超 吴 庆** (第三军医大学附属西南医院心血管内科)重庆,400038

提 要 **目的**:探讨心肌缺血预处理(Ischemic preconditioning,IPC)的心肌保护作用机制。**方法**:通过大鼠在体心肌缺血预处理模型,观察预处理(PC)对缺血再灌注心肌钠泵(Na^+-K^+-ATP酶)、钙泵(Ca^{2+}-ATP酶)活性、Na^+、Ca^{2+}浓度及超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的影响。**结果**:与单纯缺血再灌注组相比,PC组缺血再灌注心肌钠泵、钙泵的活性降低幅度小($P<0.01$),心肌钠钙离子浓度降幅较大($P<0.01$),且SOD活性升高,MDA含量下降。**结论**:心肌缺血预处理通过提高缺血再灌注区心肌钠泵、钙泵的活性,减少心肌钠钙超载及氧自由基的产生而达到保护心肌的作用。

关键词 缺血预适应;Na^+-K^+-ATP酶;超氧化物歧化酶;钙超载

中图法分类号 R542.22

缺血预处理(Ischemic preconditioning,IPC)具有心肌保护作用,不但可使心肌梗塞范围缩小,且可减轻再灌注对心肌的损伤[1,2],然而,预处理(PC)的保护机制仍不清楚,本研究通过大鼠心肌缺血再灌注模型,观察缺血预处理后心肌钠泵(Na^+-K^+-ATP酶)、钙泵(Ca^{2+}-ATP酶)活性、Na^+、Ca^{2+}浓度及SOD、MDA含量的变化,以探讨缺血预处理的心肌保护作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物模型及实验分组

成年Wistar大鼠22只,雌雄不限,体重均在(250±30)g(本校动物中心供应),用5%戊巴比妥钠30 mg/kg腹腔注射,麻醉后,气管切开插管,呼吸机控制呼吸,沿胸骨左缘2~5肋开胸暴露左冠状动脉,于主干下1/3处穿线备结扎用,在结扎线的两端分别套入丝线环作为再灌注拉线,收紧结扎线以造成心肌缺血,牵拉再灌注线使结扎线放松后即行再灌注。以收紧结松结扎线后抬高的S-T段下降1/2以上为模型成功(术中及术后死亡4只,死亡率为18%,存活18只)。随机分为:①假手术对照组(Control),完成全部操作,只穿线不结扎,观察180 min;②单纯缺血再灌注组(I/R),缺血60 min,再灌注120 min;③预处理组(PC),先重复2次短暂缺血5 min,再灌注10 min,然后重复I/R组操作。

1.2 观察指标及检测方法

1.2.1 心肌组织Na^+-K^+-ATP酶、Ca^{2+}-ATP酶的测定 参照Simpson方法[3]用北京生化仪器厂制造的4010生化分析仪测定心肌组织Na^+-K^+-ATP酶、Ca^{2+}-ATP酶的活性。

1.2.2 心肌组织Na^+、Ca^{2+}的测定 采用日本岛津AA-646原子吸收分光光度仪测定心肌Na^+、Ca^{2+}的浓度。

1.2.3 心肌SOD和MDA的测定 用邻苯三酚自氧化法测SOD;硫代巴比妥酸法测MDA。所用仪器为北京生化仪器厂制造的4010生化分析仪;检测试剂药盒由南京建成生物制品公司提供。

1.3 统计学处理

所有数据以$\bar{x}\pm s$表示,使用单因素方差分析进行统计学处理。

2 结果

2.1 心肌Na^+-K^+-ATP酶、Ca^{2+}-ATP酶活性的变化

缺血再灌注组钠泵、钙泵活性与对照组及预处理组比较均有明显降低($P<0.01$),而预处理组钠泵、钙泵活性与对照组比较虽有降低,但差异不显著($P>0.05$),见表1。

表1 大鼠心肌Na^+-K^+-ATP酶,Ca^{2+}-ATP酶活性变化[$n=6,\bar{x}\pm s$,($\mu mol\cdot Pi\cdot mg^{-1}pro\cdot h^{-1}$)]

Tab 1 Changes of Na^+-K^+-ATPase,Ca^{2+}-ATPase activity of rat myocardium[$n=6,\bar{x}\pm s$,($\mu mol\cdot Pi\cdot mg^{-1}pro\cdot h^{-1}$)]

Group	Na^+-K^+-ATPase	Ca^{2+}-ATPase
Control	17.87±1.28	6.80±0.42
I/R	10.28±0.99**	3.99±0.36**
PC	16.19±1.32##	6.23±0.38##

**: $P<0.01$ *vs* control; ##: $P<0.01$ *vs* I/R

2.2 心肌Na^+、Ca^{2+}浓度变化

与对照组相比,单纯缺血再灌注组及预处理组Na^+、Ca^{2+}均有不同程度的增高($P<0.05\sim0.01$);但预处理组增高幅度明显降低,与单纯缺血再灌注组比较差异显著($P<0.01$),见表2。

* 冉擘力,男,29岁,住院医师,硕士研究生
** 重庆市沙坪坝区人民医院 重庆,400030

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

表2 大鼠心肌 Na^+、Ca^{2+} 浓度变化($n=6, \bar{x}\pm s$)

Tab 2 Changes of Na^+, Ca^{2+} concentrations of rat myocardium ($n=6, \bar{x}\pm s$)

Group	Na^+ (m_B/μmol·g^{-1}dw)	Ca^{2+} (m_B/μmol·g^{-1}dw)
Control	362±12	7.05±0.79
I/R	787±26^{++}	35.86±4.42^{++}
PC	493±18^{**++}	18.93±1.85^{**++}

+: $P<0.05$, ++: $P<0.01$ *vs* control; **: $P<0.01$ *vs* I/R

2.3 心肌 SOD 及 MDA 含量变化

与对照组相比，缺血再灌注组和预处理组 SOD 均有明显降低，而 MDA 含量则显著升高($P<0.05\sim0.01$)；但预处理组 SOD 降低幅度及 MDA 含量升高幅度与单纯缺血再灌注组比较明显减轻($P<0.01$)，见表3。

表3 大鼠心肌 SOD 和 MDA 含量变化($n=6, \bar{x}\pm s$)

Tab 3 Changes of SOD and MDA content of rat myocardium ($n=6, \bar{x}\pm s$)

Group	SOD (m_B/nmol·mg^{-1} pro)	MDA (m_B/nmol·mg^{-1} pro)
Control	5.02±0.15	2.55±0.02
I/R	1.55±0.22**	8.52±0.07**
PC	3.86±0.02^{*++}	4.71±0.06^{*++}

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control; ++: $P<0.01$ *vs* I/R

3 讨论

心肌缺血再灌注时，细胞内高能化合物急剧减少，致使依赖能量的钠泵活性降低，细胞内排钠障碍，同时加之细胞内酸中毒使 Na^+-H^+ 交换增加，引起细胞内钠超载，导致 Na^+-Ca^{2+} 交换增加，Ca^{2+} 大量进入细胞内导致钙超载；同时，钙泵活力被抑制，胞浆游离钙排出障碍，也加剧了钙超载，造成心肌损伤[4]；心肌缺血后再灌注时，因复氧导致氧自由基大量产生；同时细胞内钙超载也可促进氧自由基的产生[5]，引起脂质过氧化，损害膜脂质双分子层并导致能量代谢障碍，心肌 ATP 生成下降，也是导致钠泵、钙泵的活性下降的重要因素之一。近年研究揭示缺血预处理有心肌保护作用，但其机制不清，本研究发现经预处理后的大鼠缺血再灌注心肌，钠泵、钙泵的活性得到明显保护；且心肌 Na^+、Ca^{2+} 超载程度也明显改善，说明预处理可明显减轻细胞内钠钙超载，从而减轻心肌损伤。近来研究显示，预处理可增强无氧状态下的糖酵解功能，而避免 ATP 的过分减少，同时使 ATP 敏感性钾通道开放，导致膜对钾通透性增加，从而缩短心肌动物电位时程，限制了钙内流和减少 ATP 裂解[6]；另外，预处理使心肌超氧歧化酶的产生明显增加及丙二醛生成明显减少，从而降低氧自由基损伤心肌细胞膜所引起的膜通透性增加，同时，SOD 对缺血时细胞内钠泵和钙泵活性有一定保护作用，减少细胞内钠负荷及钙负荷，减少细胞损伤[7,8,9]；这些观点均支持本实验研究结果。目前认为缺血预处理的心肌保护作用是多机制的，但提高缺血再灌注心肌钠泵、钙泵活性，减少钠、钙超载及氧自由基的产生可能是缺血预处理保护缺血再灌注心肌的重要机制之一。

参考文献

1 Cohen M V, Liu G S, Downey J M. Preconditioning causes improved wall motion as well as smaller infarcts after transient coronary occlusion in rabbits. Circulation, 1991; 84 (1):341

2 Cave A C, Collis G S, Downey J M *et al*. Improved functional recovery by ischemic preconditioning is not mediated by adenosine in the globally ischemic isolated rat heart. Cardiovasc Res, 1993; 27(4):663

3 Simpson P J, Fantone J C, Mickelson *et al*. Identification of a time window for therapy to reduce experimental canine myocardial injury. Suppression of neutrophil activation during 72 hours of reperfusion. Circ Res, 1988; 63(6):1070

4 Tani M, Neely J R. Role of intracellular Na^+ in Ca^{2+} overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat heart. Circ Res, 1989; 65(4):1045

5 司良毅，张远慧. 心肌再灌注损伤与钙超载、自由基及中性粒细胞. 中国循环杂志，1996; 11(6):382

6 Liu Y, Gao W D, O'Rourke B *et al*. Synergistic modulation of ATP-sensitive K^+ currents by protein kinase C and adenosine. Implications for ischemic preconditioning. Circ Res, 1996; 78(3):443

7 Yamashita N, Nishida M, Hoshida S *et al*. Induction of manganese superoxide dismutase in rat cardiac myocytes increases tolerance to hypoxia 24 hour after preconditioning. J Clin Invest, 1994; 94(6):2193

8 Xiaobo Zhou, Xiaolin Zhai, Muhammad Ashraf. Direct evidence that initial oxidative stress triggered by preconditioning contributes to second window of protection by endogenous antioxidant enzyme in myocyte. Circulation, 1996; 93 (6):1177

9 李继峰，顾玉东，袁 伟. 超氧化物歧化酶对大鼠缺血骨骼肌钠泵、钙泵和细胞形态的影响. 上海医科大学学报，1997; 24 (2):103

(收稿：1997-10-06；修回：1998-03-12)

(编辑 冯崇英)

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

Effects of ischemic preconditioning on myocardial ion pumps, ions and oxygen free radicals in rats

Ran Boli, Si Liangyi, Wang Guochao, Wu Qing (Department of Cardiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To explore the mechanism of the protective effects of ischemic preconditioning (IPC) on the myocardium. Methods: After the model of myocardial IPC was established in rats, the effects of IPC on the activity of Na^+-pump, Ca^{2+}-pump and SOD and the contents of Na^+, Ca^{2+} and MDA were investigated. Results: Compared with the control, the activity of SOD was increased while that of Na^+-pump and Ca^{2+}-pump and the content of MDA decreased in PC group. Conclusion: IPC exerts protective effects on the myocardium through increasing the activity of Na^+-pump, Ca^{2+}-pump and SOD and decreasing the overload of Na+ and Ca^{2+} and the content of MDA.

Key words ischemic preconditioning; Na^+-K^+-ATPase; SOD; calcium overload; rat

囊肿-腹腔分流治愈透明隔囊肿一例报告

Report of a case of cyst of septum pellucidum cured by cyst-peritonel shunting

潘林奇* 林江凯 王宪荣 (第三军医大学附属西南医院神经外科) 重庆,400038

患者男性,9岁,因头昏、极度嗜睡、行走即摔倒40 d入院。查体:精神差,颅神经未见异常,四肢肌力肌张力正常,步态蹒跚,闭目难立试验(+)。全身感觉对称存在。多次脑电图检查(-),颅脑MRI提示透明隔明显分离,呈双凸透镜样改变,胼胝体受压上抬,两侧侧脑室略扩大。诊断:透明隔囊肿。

入院后在全麻下经胼胝体入路透明隔囊肿部分切除术。术中见囊壁菲薄,电凝切开囊肿后见其内为无色透明脑脊液,吸净囊液后右侧室间孔清晰可见。术后症状渐好转,5 d后即下床正常活动,但1周后症状复发,易摔倒。头颅CT复查示透明隔囊肿仍存在,形态大小无改变。首次术后3周行右额部穿刺透明隔囊肿腹腔分流术。术后8 d复查CT示分流管上端位于囊腔内,囊肿显著缩小,病人症状减轻而出院。2月后CT示透明隔囊肿消失,头皮下结扎分流管观察1周,病人无异常反应,再次复查CT未见透明隔囊肿复发,逐拔除分流管,痊愈出院。随访10月无异常。

讨论

本病常见于小儿,病因尚不清楚,有人认为是一种透明隔先天性异常,亦有人认为是脑积水所致[1],通常无症状,当出现临床症状时,多表现为颅内压增高。本例虽有两侧侧脑室略扩大,但表现为头昏、嗜睡和行走不稳,可能与透明隔囊肿压迫胼周动脉有关。借助CT和MRI确诊本病不难,表现为透明隔分离,呈双凸镜样改变。第1次手术中见囊肿壁菲薄,内为无色透明脑脊液,诊断为透明隔囊肿无疑。小的或无症状透明隔囊肿不需处理。Jackowski[2]报告巨大透明隔囊肿经内窥镜下激光破坏囊壁使之与侧脑室相通,效果满意。Wester[3]报告3例中2例经立体定向行侧脑室-囊腔内分流术,1例成功,1例失败改为囊腔-侧脑室-腹腔分流术,颅内压增高症状消失,囊腔好转。本例首先行胼胝体入路囊肿部分切除,术后症状一度消失,但很快复发,考虑为胼胝体及囊肿重新闭合所致。第2次手术则采取了囊肿腹腔分流术,对透明隔囊肿予持续引流,效果良好,认为透明隔囊肿腹腔分流术创伤小,简便易行,是治疗透明隔囊肿的一个较好的方法。

关键词 透明隔;囊肿;分流术
中图法分类号 R655.5

参考文献

1 Silbert P L, Gubbay S S, Vaugham RG. Cavum septum pellucidum and obstructive hydrocephalus. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1993;56:820
2 Jackowski A, Kulshresta M, Sgouros S. Laser assisted flexible endoscopic fenestration of giant cyst of the septum pellucidum. Br J Neurosurg, 1995;9(4):527
3 Wester K, Krakenes J, Moen G. Expanding cava septi pellucidi and cava vergae in children: report of three cases. Neurosurg, 1995;37(1):134

(收稿:1997-08-05;修回:1998-01-07)
(编辑 王 红)

* 潘林奇,男,31岁,主治医师,现在187医院 海口,571159

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