DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.02.029

缺血-再灌注对冠脉内皮功能的影响及氧自由基的作用

黄 岚* 何作云 晋 军 向常清 (第三军医大学附属新桥医院心血管内科) 重庆, 400037

提 要 目的: 了解缺血-再灌注对冠脉内皮功能的影响及氧自由基的作用。方法: 制备大鼠 Langendorff灌注心脏,局部缺血 30 min后再灌注,观察内皮依赖舒张介质乙酰胆碱(Ach)及内皮非依整舒张介质硝酸甘油(NTG)对冠脉血管的作用,测定心肌超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)样物质,在缺血期至再灌注 10 min,用重组人 SOD灌注心脏,了解 Ach、NTG对冠脉血管作用的影响。结果: Ach舒血管作用被逆转为缩血管效应,NTG舒血管作用不受影响,SOD明显降低,而 MDA明显升高,用重组人 SOD灌注心脏,Ach舒血管作用可得以保护。结论: 缺血-再灌注可损伤离体大鼠心脏冠脉内皮合成和释放内皮舒张因子(EDRF)的功能且氧自由基参与了这种损伤过程。

关键词 内皮,血管;内皮舒张因子;冠脉循环;再灌注损伤;超氧化物歧化酶类
中图法分类号 R541.4

缺血-再灌注可引起心肌损伤,其中氧自由基起有重要的作用[1],但缺血-再灌注是否同样也损伤冠脉内皮,受损的冠脉内皮对冠脉循环有何影响以及氧自由基是否参与了这种损伤过程,尚不清楚。本研究通过 Langendorff灌注大鼠心脏缺血-再灌注模型,了解缺血-再灌注对冠脉内皮功能的影响及氧自由基的作用。

1 材料与方法

1.1 缺血-再灌注冠脉内皮损伤模型制备

实验用雄性 Sprague-Dawley大鼠,重 260~280 g 乙醚麻醉后行 Langendorff离体心脏灌注,灌注平衡 10 min后,左冠状动脉起始部结扎,30 min后剪开结扎线形成再灌注,正常灌注心脏仅绕左冠状动脉穿线不结扎。记录右房流出液代表冠脉流量(CF),恒压灌注情况下以 CF多少反映冠脉血管的舒缩。

1.2 实验步骤及分组

实验组 Langendorff灌注心脏经缺血 30 min后行再灌注,通过灌注系统 Y型管,弹丸式注入内皮依赖舒张介质乙酰胆碱(Ach,终浓度 2.8×10^{-3} mol/L)和内皮非依整舒张介质硝酸甘油(NTG,终浓度 2.2×10^{-2} mol/L),持续 2 min,观察再灌注即刻、10 min及以后每隔 10 min至 120 min,Ach和 NTG对 CF的影响。对照组为单纯离体灌注心脏,也观察 Ach和 NTG对相应时间点 CF的影响。

实验组部分心脏在 30 min缺血前、再灌注即刻、2.5、5、10、20、30 min,取材结扎区域心肌组织制备匀浆,分别测定超氧化物歧化酶(SOD,邻苯三酚氧化法[2])和丙二醛(MDA,硫代巴比妥酸法[3]),各点测定值与再灌注即刻时的值比较。为进一步证实超氧阴离子对冠脉内皮的作用,实验组另部分心脏在缺血期间至再灌注 10 min,由灌注系统 Y型管持续注入 SOD(hSOD,中科院上海生化所产品,每个心脏 5 mg),再观察再灌注 30 min时 Ach、NTG对 CF的影响。

1.3 统计方法

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用方差齐性检验和非配对 t 检验。

2 结果

2.1 Ach、NTG对灌注心脏 CF的影响

与单纯灌注心脏各相应时间的 CF比较,Ach、NTG均使正常灌注心脏 CF明显增加($P<0.05$),但缺血 30 min后再灌注,Ach却使各观察时间的 CF明显减少($P<0.05$~0.01),而 NTG增加 CF的作用皆未受到影响($P<0.05$~0.01)。

2.2 再灌注后 SOD、MDA的变化

再灌注 2.5 min起心肌 SOD含量明显降低,到 10 min恢复至再灌注即刻时水平;MDA在再灌注 2.5 min起明显升高,至 30 min也恢复到再灌注即刻时水平,见附表。

附表 再灌注后心肌 SOD、MDA的变化($\bar{x}\pm s$)

Table The changes of myocardeal SOD and MDA after reperfusion($\bar{x}\pm s$)

	Preischemia	Reperfused time(t/min)					
		0	2.5	5	10	20	30
SOD(u/ml)	0.9412±0.243	0.9232±0.214	0.6355**±0.191	0.4201**±0.280	0.8316±0.231	0.917±0.221	0.9318±0.272
MDA(C_B/μmol·L^{-1})	0.7208±0.413	0.7142±0.319	13.04**±3.19	13.86**±3.39	11.83**±2.13	5.321**±1.67	0.943±0.413

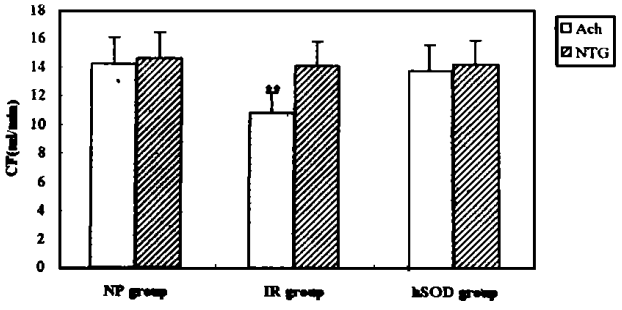
$n=10$, **: $P<0.01$ *vs* reperfused 0 min

* 黄岚,38岁,副教授,博士

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

2.3 重组人 SOD对 Ach的内皮依赖血管舒张的保护作用

正常心脏灌注 60 min时，CF为 (12.9± 0.96) ml· min^{-1}，Ach和 NTG均使 CF明显增加 ($P < 0.05$)。缺血 30 min经再灌注 30 min，Ach使 CF明显减少 ($P < 0.01$)，NTG增加 CF作用未受影响。经 hSOD处理的心脏，缺血-再灌注后 Ach和 NTG均使 CF增加，见附图。



附图 hSOD对 Ach的内皮依赖血管舒张的保护作用

Fig The protective role of hSOD on the endothelial dependent relaxation of Ach in ischemic-reperfused rat hearts

** : $P < 0.01$ *vs* normal-perfused group

NP: normal-perfused IR: ischemia-reperfused

3 讨论

3.1 Ach对正常及再灌注后冠脉循环作用的变化

Ach可使血管内皮释放 EDRF引起血管舒张，已被作为验证内皮功能正常与否的经典手段；而 NTG则不依赖内皮直接作用血管平滑肌产生血管舒张[4]。Ach和 NTG均使正常灌注心脏 CF增加，表现为舒血管效应，提示冠脉内皮分泌 EDRF和平滑肌反应性良好；Ach的内皮依赖冠状血管舒张作用，未受到离体去神经、体液等因素影响。然而，缺血 30 min经再灌注后，Ach的舒张冠状血管作用被逆转为收缩效应；NTG则仍为持续扩张冠状血管作用。这种选择性的改变很难用冠状血管平滑肌舒缩失调来解释，Kelm等[5]认为是冠脉内皮分泌 EDRF功能减弱或丧失的结果，提示再灌注后冠脉内皮功能受损。如何维持冠脉内皮合成和分泌 EDRF功能，对降低冠状动脉张力、防止其痉挛和再灌注过程中“无再流”现象形成有着重要意义。

3.2 氧自由基在再灌注冠脉内皮损伤中的作用

本实验再灌注后出现冠脉内皮功能不全，再灌注早期心肌组织中 SOD明显降低，MDA明显升高。为进一步证实再灌注过程中超氧阴离子对冠脉内皮的损伤，缺血期间至再灌注 10 min，在灌注液中加入超氧阴离子清除剂 hSOD，发现 hSOD可以保护再灌注后 Ach的内皮依赖血管舒张效应，提示再灌注产生的超氧阴离子能破击冠脉内皮，影响 Ach的内皮依赖舒张功能。Mehta[6]认为超氧离子可以加速 EDRF失活而致 Ach的血管舒张作用丧失。本实验发现，再灌注后 SOD和 MDA仅呈一过性变化，而冠脉内皮功能不全持续存在，单用超氧阴离子加速 EDRF失活难以解释此现象，提示存在再灌注中冠脉内皮的损伤过程。

参考文献

1 Opie L H. Reperfusion injury and its pharmacologic modification. Circulation, 1989; 80: 1049

2 徐叔去，卞如濂，陈 修 主编. 药理实验方法学. 第 2版. 北京：人民卫生出版社，1991：502~504

3 Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbiuric acid reaction. Anal Biochem, 1979; 95: 351

4 Griendling K K, Alexander R W. Endothelial control of the cardiovascular system: recent advance. FASEB, 1996; 10: 283

5 Kelm M, Preir M, Hafner D J*et al*. Evidence for a multifactorial process involved in impaired flow response to nitric oxide in hypertensive patients with endothelial dysfunction. Hypertension, 1996; 27: 246

6 Mehta J, Lawson D L, Nichols W W. Attenuated coronary relaxation after reperfusion: Effects of superoxide dismutase and TXA_2 inhibitor u63557A. Am J Physiol, 1989 (Heart Circ Physiol 26): H1240

(收稿：1997-05-14；修回：1997-12-26)

(编辑 张大春)

Effects of ischemia-reperfusion on coronary endothelial function and role of oxygen free radicals in this process in rats

Huang Lan, He Zuoyun, Jin Jun, Xiang Changqing (Department of Cardiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037)

Abstract Objective: To study the effects of ischemia-reperfusion on coronary endothelial function and role of oxygen free radicals in this process. Methods: The rat hearts were perfused with Langendorff method. After regional ischemia for 30 min, they were reperfused to the effects of acetylcholine (Ach), one of the endothelium-dependent vasodilators, and nitroglycerin (NTG), one of the endothelium-independent

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

vasodilators, on the coronary vessels and determine the contents of myocardial superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA). Following ischemia for another 30 min and reperfusion for 10min, the hearts were perfused with human recombinant SOD to observe its influence on the effects of Ach and NTG. **Results:** The vasodilation by Ach was reversed to the vasoconstriction while that by NTG was not influenced by ischemia-reperfusion. The level of SOD was significantly reduced but that of MDA increased after reperfusion. Human recombinant SOD exerted protective effects on vasodilation by Ach when it was used at the beginning of ischemia. **Conclusion:** Coronary endothelial dysfunction can be caused by ischemia-reperfusion and might be related to reduction or loss of the ability of endothelium-derived relaxing factor produced and released by coronary endothelium. Oxygen free radicals take part in endothelial damage during reperfusion and superoxide anionss is thought to play an important role in this process.

Key words endothelim, vasculature; endothelium-derived relaxing factor; coronary circulation; reperfusion injury; superoxide dismutase; rat

硫酸镁治疗银屑病疗效观察

The effect of magnesium sulphate treated on psoriasis

李文维* 郭 强** (第三军医大学附属大坪医院皮肤科) 重庆, 400042

银屑病是一种常见易复发慢性炎症性皮肤病,病因学说很多,其中有无机盐代谢障碍,酶的改变和环磷腺苷缺乏等学说,我们采用硫酸镁治疗 24例寻常型银屑病,发现该方法治疗银屑病有效且副作用少,现总结如下。

1 对象与方法

寻常型银屑病 24例,男 18例,女 6例,年龄 22~ 60岁,平均 37.4岁。23例治疗前查血清镁含量,为 0.76~ 1.5 mmol/L,平均 1.01 mmol/L。

治疗组:以 25% 硫酸镁注射液加入 5% ~ 10% 葡萄糖液 500 ml中静滴,从 10 ml开始,根据治疗反应及耐受程度逐渐增加到 20 ml,每日 1次,20 d为 1疗程。

对照组:以奴佛卡因加入 5% ~ 10% 葡萄糖液 500 ml中静滴,从 200 mg逐渐增量到 400 mg,每日 1次,20 d为 1疗程。

2 结果

治疗组总有效率明显高于对照组,见附表。

附表 治疗组与对照组疗效比较

分组	总例数	总有效数(率)			无效数例(%)
		痊愈(%)	显效(%)	有效(%)	
治疗组	24	13(54.2)*	8(33.3)	2(8.3)	1(4.2)*
对照组	13	0	4(30.8)	4(30.8)	5(38.4)

*: $P < 0.01$ 与对照组比较

3 讨论

镁是人体内重要的无机盐之一,参与体内约 200余种酶的代谢,对人体的生理功能有重要影响,国内徐氏报告硫酸镁治疗关节病型银屑病取得了满意疗效。

镁作为机体新陈代谢过程中不可缺少的重要元素,治疗银屑病,可能是通过参与调节和/或增强了某些酶系统活性以达到调整机体新陈代谢来实现的,镁能通过激活腺苷酸环化酶使三磷酸腺苷生成环磷酸腺苷—— cAMP增加,使过快的表皮细胞有丝分裂得到控制,从我们测定的 23例银屑病患者血清镁含量结果看,周围血中镁的含量并不低,甚至有个别略高于正常值,但这并不能排除细胞内缺镁的可能性,细胞内镁主要在线粒体内,对维持细胞膜的稳定,细胞内酶的活性以细胞内外各种离子分布的平衡起着十分重要的作用,当细胞在缺血缺氧时,细胞内镁含量将减少,镁进入细胞使细胞内一些激酶磷酸化而被激活,影响组织内能量代谢,使细胞膜通透性发生改变,阻止过敏介质释放,同时,镁也可以直接或通过抑制迷走神经兴奋性而使因缺氧而痉挛的毛细血管和小动脉扩张,起到疏通微循环的作用,镁的镇静作用,能减少不良刺激的传导,使机体恢复正常的防御和调节功能。

我们认为,硫酸镁治疗寻常型银屑病安全、有效,至于其确切机制,还有待于进一步探讨。

关键词 硫酸镁;银屑病
中图法分类号 R758.63

参考文献

1 刘承煌,方 栩,苏 炜.银屑病患者甲皱微循环及其与血液流变学变化关系的研究.中国皮肤性病学杂志,1992; 6(3): 144
2 赵 辨 主编.临床皮肤病学.第 2版.南京:江苏科学技术出版社,1988 663~ 667

(收稿: 1997-03-10;修回: 1997-11-14)
(编辑 冷怀明)

* 李文维,男,58岁,教授,学士
** 现在 184陆军医院皮肤科 鹰潭, 335000

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