

碱性纤维母细胞生长因子对实验性家兔急性心肌梗塞的影响

姜志胜 李夏^① 陈魁^② 刘初峰^② 陈献华^② 杨永宗 唐朝枢^①

(衡阳医学院心血管病研究所, 衡阳 421001)

The Effect of Basic Fibroblast Growth Factor on Acute Myocardial Infarction in Rabbits

JIANG Zhi-Sheng, LI Xia^①, CHEN Kui, LIU Chu-Feng, CHEN Xian-Hua, YANG Yong-Zong and TANG Chao-Shu^①

(Institute of Cardiovascular Disease, Hengyang Medical College, Hengyang 421001. ^①Institute of Cardiovascular Research, Beijing Medical University, China)

ABSTRACT

Aim To investigate the effect of basic fibroblast growth factor (bFGF) on acute myocardial infarction (AMI) in rabbits.

Methods The hearts of healthy male Japan big-ear white rabbits were exposed through a left thoracotomy, and the left anterior descending coronary artery was ligated with a silk. Animals were divided into control group, intravenously infused normal saline (2 ml/kg) nitroglycerin (0.2 g/kg), bFGF 1.4 μg/kg and 7.0 μg/kg, respectively, on operation day and on the 2nd, 4th, 6th, 8th, and 10th day after operation. We measured the areas of infarct myocardium with tetrazolium chloride and cardiac function by using physiological polygraphy, and determined ATP contents in myocardium.

Results Intravenous infusion of bFGF (1.4 μg/kg and 7.0 μg/kg) decreased the infarct size significantly (8.1%±2.7% and 8.2%±2.1% vs control 16.5%±3.2%, P<0.05). Treatment with bFGF also

increased the ATP content in infarct myocardium (2.9±0.4 and 3.2±0.3 vs control 2.3±0.3 μmol/g, P<0.01) and improved the left ventricular. All the effect of bFGF were better than those of nitroglycerin (P<0.05).

Conclusion bFGF may play a role both in stimulating recovery of ischemic myocardium and in improving cardiac function in AMI rabbits.

KEY WORDS Basic fibroblast growth factor; Myocardial infarction; Rabbit

摘要 为探讨碱性纤维母细胞生长因子对急性心肌梗塞的影响及临床应用前景,用冠状动脉结扎法制备了家兔急性心肌梗塞模型。在此模型上静脉注射碱性纤维母细胞生长因子 1.4 μg/kg,共 6 次。结果发现能明显缩小心肌梗塞范围,梗塞心肌重量占心脏重量百分比分别为 8.1%±2.7%和 8.2%±2.1%,对照组为 16.5%±3.2% (P<0.05);增加心输出量和心肌收缩力(±LV dq/dt max 显著增加);增加梗塞区心肌 ATP 贮备(2.9±0.4 和 3.2±0.3 μmol/g,对照组为 2.3±0.3 μmol/g, P<0.01)。结果提示,碱性纤维母细胞生长因子具有促进梗塞心肌愈合和改善心功能的作用,且这一作用明显优于临床上常用的扩血管药硝酸甘油。

关键词 碱性纤维母细胞生长因子; 心肌梗塞; 兔

急性心肌梗塞(acute myocardial infarction, AMI)发作后治疗的主要目的是促进梗塞组织的修复与愈合以恢复心脏的正常功能,碱性纤维母细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是广泛分布于心血管组织中的生长因子,具有刺激血管内皮细胞和血管平滑肌细胞增殖、促进血管新生和心肌细胞生长的作用^[1,2]。组织缺血坏死时,内源性

①北京医科大学心血管研究所

②北京白鹭园生物技术有限公司

bFGF的合成与释放,具有促进血管再生、修复组织损伤的代偿意义^[3]。设想AMI后早期应用bFGF,可以促进侧支循环建立,加速组织修复和功能恢复。本工作在家兔AMI模型上,静脉注射重组bFGF,观察它对梗塞心肌修复和心功能恢复的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

大耳白兔由军事医科学院实验动物中心提供。重组bFGF系北京白鹭圆生物技术有限公司产品,批号960205,纯度>98%,比活性>1×10⁹U/g。硝酸甘油注射液为北京益民制药厂产品。ATP药盒为Sigma公司产品。其它试剂为市售分析纯商品。

1.2 心肌梗塞模型制作^[4]

雄性大耳白兔,2.2~2.8 kg。术前禁食过夜,自由饮水。背位固定于兔台上,1%普鲁卡因局部浸润麻醉,近胸骨左缘依次切开胸壁,切断第三四肋软骨,打开胸腔,纵形剪开心包,注意勿伤左右胸膜。自冠状动脉前降支起始1 cm处0号丝线双结扎,关闭胸腔,分层缝合切口,术后单独饲养。青霉素20万单位,庆大霉素2万单位,肌注,一次/日,连续4天。

实验动物随机分为四组,每组16只,分别于术后当天和第2、4、6、8和10天耳缘静脉给药:(1)对照组动物生理盐水2 ml/kg;(2)硝酸甘油(nitroglycerin, NG)组动物用硝酸甘油0.2 g/kg溶于20 ml生理盐水静脉滴注(3滴/min);(3)组和(4)组分别为bFGF-I组和bFGF-II组,将剂量为1.4 μg/kg和7.0 μg/kg-bFGF,按2 ml/kg体重溶于生理盐水中,静脉注射。术后2周各取半数分别进行心肌梗塞范围和心功能测定。

1.3 心肌梗塞范围测定^[5]

1%普鲁卡因局部麻醉下颈动脉插管,快速放血处死动物,开胸摘取心脏,冰冻后作连续心脏切片,每片6~8 mm厚,每个心脏切6片,置1%氯代三苯基四氮唑(tetrazolium chloride, TTC)液(磷酸缓冲液配制, pH7.4)中,37℃温育15 min,染色,再置10%甲醛液中固定10 min。切片按序排列拍照,照片上白色为梗死区,红色为非梗死区,IBAS-2000图象分析系统(IBAS系统软件,德国Kontron公司)进行图象分析,计算梗塞面积占心肌面积百分比(area of infarct myocardium/area of myocardium, A_i/A %)。心脏各片称重,仔细剪下梗塞组织并称重,计算梗死心肌重量占全心肌

量百分比(weight of infarct myocardium/weight of myocardium, W_i/W %)

1.4 心功能测定

动物术前禁食过夜,自由饮水。20%乌拉坦(5 ml/kg)耳缘静脉注射麻醉,气管插管连人工呼吸机(江湾1型,上海第二军医大学)吸入室内空气,20次/min。沿旧切口开胸,剪开左侧胸膜,近升主动脉根部置电磁流量计(MFV-3100型,日本光电)探头(Model FB-040T),记录血流量反映心输出量(cardiac output, CO)。耳缘静脉注射0.5%肝素盐水(2 ml/kg)抗凝。从左颈总动脉插管抵达左心室,经换能器(MP-25)连接生理四导仪(EQ-601G,日本),记录心率、左心室舒张末期压(left ventricular end dilatation pressure, LVEDP)和左室内压最大变化速率(±LV dp/dt max)。术后平衡30 min,记录上述各指标后,退出导管,在颈总动脉稳定5 min后记录平均动脉血压(mean arterial blood pressure, MABP)。最后快速放血处死动物,摘出心脏,分别取非梗塞区(后室壁)和梗塞区(前室间隔)组织,置液氮冻存,用ATP药盒测定组织ATP含量。

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差分析,组间 q 检验。

2 结果

2.1 碱性纤维母细胞生长因子对心肌梗塞范围的影响

各组动物心肌梗塞范围见表1(Table 1)。与对照组比较,bFGF-I组和II组分别缩小心肌梗塞面积50.9%($P < 0.05$)和50.3%($P < 0.05$);减少梗塞心肌重量38.4%($P < 0.05$)和37.4%($P < 0.05$)。bFGF对急性心肌梗塞的效果明显优于硝酸甘油处理组($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。但bFGF-I组和bFGF-II组间效果差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 碱性纤维母细胞生长因子对心肌梗塞兔心功能的影响

实验各组动物血压和心率数值相近,差异均无统计学意义。其他心功能测定结果见表2(Table 2)。从表2(Table 2)可见,硝酸甘油处理组与对照组比较,LVEDP值降低14.9%($P < 0.05$),CO和LVdp/dt max值分别增加10.0%和16.4%($P < 0.05$),说明硝酸甘油治疗AMI,对心功能有一定改善作用。

Table 1. Acute myocardial infarct size in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$).

Group	A _i /A %	W _i /W %
Control	16.5±3.2	15.5±3.5
NG	11.2±2.8 ^a	11.7±2.8 ^a
bFGF I	8.1±2.7 ^{ac}	7.2±1.9 ^{bd}
bFGF II	8.2±2.1 ^{ac}	7.4±2.8 ^{bd}

NG: nitroglycerin. bFGFI and bFGF II: dose of bFGF is 1.4 μg/kg and 7.0 μg/kg, respectively. a: P<0.05, b: P<0.01; compared with control group. c: P<0.05, d: P<0.01; compared with NG group.

bFGF 组无论高、低剂量,与对照组比较,都明显降低了 LVEDP 值,增加了 CO 和 ±LV dq/dt max 值(P<0.05 或 P<0.01),bFGF-I 组 LVEDP、CO 和 ±LV dq/dt max 值都明显优于硝酸甘油组(P<0.05)。bFGF-I 组各项观察指标值均与 bFGF-II 组相近,差异无统计学意义(P>0.05)。

2.3 碱性纤维母细胞生长因子对缺血心肌组织 ATP 含量的影响

从附图(Figure)可见,bFGF 处理组非缺

Table 2. Cardiac function changes in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$).

Groups	CO(ml/min)	LVEDP(kPa)	+LV dp/dt max	-LV dp/dt max
Control	185 ± 24	2.51±0.40	1 615±230	1 119±151
NG	207 ± 16 ^a	2.13±0.25 ^a	1 748±271	1 338±21 ^a
b FGF I	220 ± 24 ^a	1.87±0.35 ^a	1 932±243 ^a	1 518±247 ^b
b FGF II	237 ± 11 ^{bc}	1.77±0.28 ^{bc}	2 115±179 ^{bc}	1 680±209 ^{bc}

a: P<0.05, b: P<0.01; compared with control group. c: P<0.05; compared with NG group.

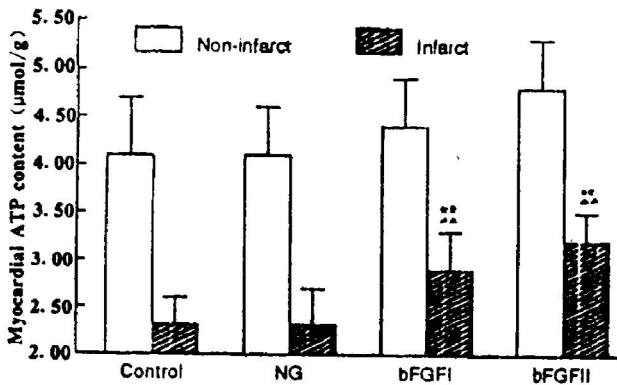


Figure. Myocardial ATP contents ($\bar{x} \pm s, n=8$).

血区心肌组织 ATP 含量较对照组高 7.4% (bFGF-I 组)或 13.9% (bFGF-II 组),但差异无统计学意义(P>0.05)。有意义的是,梗塞区心肌组织 ATP 含量在 bFGF 处理组较对照组增加 22.9% (bFGF-I 组, P<0.01)或 29.8% (bFGF-II 组, P<0.01)。而硝酸甘油并不明显增加缺血心肌组织 ATP 含量(P>0.05)。

3 讨论

急性心肌梗塞是危害人类生命的严重疾病,探寻促进梗塞心肌修复和恢复心功能的有效措施,具有重要的临床意义。血管内皮细胞、平滑肌细胞、心肌细胞和纤维母细胞都富含 bFGF 受体。bFGF 具有促进损伤血管修复和再生、促进心肌细胞生长及损伤心肌修复和扩张冠状动脉等广泛生物学效应^[1,2]。近年试用于动物心脏缺血再灌注损伤^[6]、球囊导管血管损伤^[7]等实验均取得了较好的效果。

本工作在结扎冠状动脉造成的家兔 AMI 模型上应用 bFGF,使 AMI 范围(梗塞组织面积和重量)几乎缩小一半,而且心功能明显改善,表现为 CO 增加和 LVEDP 降低(泵功能改善),±LV dp/dt max 增加约 20%~30%(P<0.05)。bFGF 对 AMI 的修复,无论在缩小心肌梗塞范围、还是改善心功能和增加心肌能量贮备方面都优于临床常用扩血管剂硝酸甘油的效

果。但 bFGF 1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5 倍剂量 7.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的效果相似,组间差异无统计学意义。前者剂量与文献报道的效果相近^[8]。Yanagisawa-Miwa 等^[9]曾报道给 AMI 的犬冠状动脉内注射 bFGF 10 μg ,发现 1 周后心肌梗塞范围较未用药的对照组缩小了 3 倍,心肌组织切片上梗塞区小动脉与毛细血管数显著增加。

在冠状动脉结扎后,其所支配区域的心肌发生缺血,bFGF 可作用于缺血区周围的心肌,刺激这些区域的小血管向缺血区生长,促进缺血心肌内新生血管的形成及侧支循环的建立,改善该区域的血液供应。文献和本实验结果都表明 bFGF 能缩小梗塞范围,恢复心功能,提示 bFGF 对 AMI 的修复作用可能具有临床应用前景。该因子应用于临床尚需解决的问题是,外源性大剂量生长因子的使用是否会恶化动脉粥样硬化,此问题的研究正在进行中。

参考文献

- 1 Klagsbrun M, Edelman ER. Biological and biochemical properties of fibroblast growth factor: Implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Arteriosclerosis*, 1989, 9: 269~278.
- 2 Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science*, 1987, 235: 442.
- 3 Crowley ST, Ray CT, Nawaz D, et al. Multiple growth factors are released from mechanically injured vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol*, 1995, 269: H1 641~647.
- 4 Ytrehus K, Liu Y, Tsuchida A, et al. Rat and rabbit heart infarction effects of anesthesia, perfusate, risk zone, and method of infarct sizing. *Am J Physiol*, 1994, 267(Heart circ physio 36): H2 383~390.
- 5 Zhav L, Kirsch CC, Hungan SR, et al. Preservation of global cardiac function in the rabbit following protracted ischemia/reperfusion using menophosphoryl lipid A (MLA). *J Mol Cell Cardiol*, 1996, 28: 197~208.
- 6 Padua RR, Sethi R, Dhalla NS, et al. Basic fibroblast growth factor is cardioprotective in ischemia-reperfusion injury. *Mol Cell Biochem*, 1995, 143: 129~135.
- 7 Meurice T, Bauters C, Auffray JL, et al. Basic fibroblast growth factor restores endothelium-dependent responses after balloon injury of rabbit arteries. *Circulation*, 1996, 93: 18~22.
- 8 Harada K, Grossman W, Griedman M, et al. Basic fibroblast growth factor improves myocardial function in chronically ischemic porcine hearts. *J Clin Invest*, 1994, 94: 623~630.
- 9 Yanagisawa-Miwa A, Uchida Y, Nakamura F, et al. Salvage of infarcted myocardium by angiogenic action of basic fibroblast growth factor. *Science*, 1992, 257: 1 401~403.

(1996-12-17 收到,1997-05-24 修回)

名词术语的汉英对照及缩写(Ⅲ)

主动脉扩张	dilatation of aorta
主动脉粥样硬化	atherosclerosis of aorta
纤溶酶原	plasminogen, profibrinolysin
纤溶酶原激活因子	profibrinolytic activating factor, PAF
纤维白蛋白	albuminofibrin
纤维蛋白多聚体	fibrin polymer, FP
纤维蛋白激活因子	fibrin activating factor, FAF
纤维蛋白溶解	fibrinolysis
纤维蛋白血栓	fibrinous thrombus