

· 研究简报 ·

人尿激肽释放酶(SK-827)对兔心肌
缺血/再灌注损伤的保护作用杨立华^① 姜志胜 欧和生 苏加林 王晓红 张灵芝 唐朝枢

(北京医科大学心血管基础研究所, 北京 100083)

The Protective Effects of Human Urinary Kallidinogenase (SK-827) on Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Rabbits

YANG Li-Hua, JIANG Zhi-Sheng, OU He-Sheng, SU Jia-Ling, WANG Xiao-Hong, ZHANG Ling-Zhi and TANG Chao-Shu

(Institute of Cardiovascular Research, Beijing Medical University, Beijing 100083, China)

ABSTRACT

Aim The protective effects of human urinary kallidinogenase (SK-827) on myocardial ischemia/reperfusion(I/R) injury were investigated in the isolated rabbit hearts.

Methods Coronary effluent myoglobin (Mg) and lactate dehydrogenase (LDH) content, myocardial malondialdehyde (MDA) and ATP level were assayed by biochemical technique.

Results In SK-827 group, coronary flow increased, cellular Mg and LDH leakage decreased, myocardial MDA content decreased and ATP content increased as compared with I/R group.

Conclusion SK-827 has an appliance in clinical myocardial I/R injury therapy.

KEY WORDS SK-827; Ischemia/reperfusion injury; Myoglobin; Dehydrogenase, lactate

摘要 为探讨人尿激肽释放酶 SK-827 对心肌缺血再灌注损伤是否具有保护作用,制备了离体家兔心脏

灌注模型,利用生物化学技术测定了流出液中肌红蛋白和乳酸脱氢酶含量及心肌组织丙二醛和 ATP 含量。结果发现,SK-827 对心肌缺血再灌注损伤具有明显的保护作用;它使冠状动脉流量增加($P < 0.01$);细胞内肌红蛋白和乳酸脱氢酶漏出减少($P < 0.01$);心肌丙二醛含量减少和心肌 ATP 储备增加。这些结果提示激肽释放酶 SK-827 对治疗心肌缺血/再灌注损伤具有潜在的应用价值。

关键词 激肽释放酶 SK-827; 缺血/再灌注损伤; 肌红蛋白; 乳酸脱氢酶

激肽释放酶 SK-827 是从人尿中提取的、含有 238 个氨基酸的酸性糖蛋白,在体内作用于激肽原,释放出激肽而发挥作用。实验证实激肽释放酶 SK-827 具有扩张血管,改善微循环等心血管效应^[1~3]。近年来的大量研究资料显示,激肽对心脏具有保护作用^[4,5]。然而激肽释放酶 SK-827 是否对心肌缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤有细胞保护作用尚不清楚。本工作在离体家兔心脏 I/R 模型上,观察激肽释放酶 SK-827 的保护效果,以期为临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

人尿激肽释放酶 SK-827 由广东天普生物化学制药有限公司提供,ATP 药盒及硫代巴比妥酸为 Sigma 公司产品,其余试剂均为国产分析纯。

1.2 离体心脏灌注模型的制备

40 只雄性日本大耳白家兔,由中国兽药检查所提供,体重 1.8~2.2 kg。术前禁食过夜,自由饮水。0.6% 戊巴比妥钠麻醉,摘取心脏迅速悬挂于 Langendorff 灌

^① 山东省曲阜市人民医院药剂科

注装置,用 37℃、95%O₂—5%CO₂ 持续平衡的 Krebs-Henseleit(K-H)液行主动脉逆向恒压灌注。动物随机分为:①对照组 8 只动物,持续灌注 90 min;②I/R 组 8 只,每只动物预灌注 15 min,停灌 45 min 后再灌注 30 min,造成缺血/再灌注损伤;③SK-827 治疗组:24 只动物,每只预灌、停灌和再灌注时间同 I/R 组,不同的是在再灌注的最初 5 min 内给 SK-827 治疗。根据药量不同 SK-827 治疗组又分为 3 组,每组 8 只动物:SK-I 组给予 2.5×10^{-3} PNA U (P-nitroaniline Unit) SK-827; SK-II 组给 5×10^{-3} PNA U SK-827; SK-III 组给 10×10^{-3} PNA U SK-827。

1.3 检测指标

1.3.1 收集预灌注末 5 min(实验组)或相应时间(对照组)的冠状动脉流出液(A)和再灌注末 5 min(实验组)或相应时间(对照组)的冠状动脉流出液(B)计算再灌注后冠状动脉流量与预灌注末冠状动脉流量之比($B/A \times 100\%$)。

1.3.2 取再灌注末 5 min 流出液,按 Elz 等^[6]方法测定肌红蛋白(myoglobin Mg)含量;再按照 Wroblewski 等^[7]方法测定乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)活性。

1.3.3 灌注结束后用冷磷酸盐缓冲溶液(PBS)行主动脉逆行冲灌心脏后,取 200 mg 心室肌,分别用硫代巴

比妥酸法^[8]测定脂质过氧化产物丙二醛(malondialdehyde)含量和 ATP Kit 测定 ATP 含量。

1.4 统计学处理

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 one way ANOVA 和组间 q 检验来区分差异的显著性意义。

2 结果

缺血/再灌注(I/R)心脏发生明显的心肌损伤,表现为再灌注后冠状动脉流量明显降低,其 B/A 值较对照组降低了 31.2%($P < 0.01$);心肌细胞内肌红蛋白和 LDH 大量漏出,其含量和活性分别较对照组增加 1.04 倍和 1.13 倍,心肌组织丙二醛含量增加 102.9%,ATP 储备减少 41.5%。

再灌注后最初 5 min 给予激肽释放酶 SK-827 可明显减轻心肌 I/R 损伤。与单纯 I/R 组相比,其冠状动脉流量增加($P < 0.01$);心肌细胞内 LDH 和肌红蛋白漏出减少,且呈剂量依赖性($P < 0.01$);心肌组织丙二醛减少,心肌 ATP 增加($P < 0.01$)(附表,Table)。

Table. The protective effects of SK-827 on myocardial I/R injury in rabbits($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Groups	Coronary flow (%)	Coronary effluent		Myocardium	
		Mg (mg/L)	LDH (IU/L)	MDA (nmol/g)	ATP (μ mol/g)
Control	96.8 $\pm$ 2.7	54.8 $\pm$ 9.6	232.5 $\pm$ 31.2	68.4 $\pm$ 8.9	4.1 $\pm$ 0.5
I/R	66.6 $\pm$ 8.1 ^a	112.2 $\pm$ 14.5 ^a	495.7 $\pm$ 71.1 ^a	138.8 $\pm$ 24.3 ^a	2.4 $\pm$ 0.5 ^a
SK-I	82.6 $\pm$ 6.8 ^c	100.8 $\pm$ 12.9	421.9 $\pm$ 58.2 ^b	119.2 $\pm$ 17.3 ^b	2.7 $\pm$ 0.5
SK-II	82.7 $\pm$ 9.3 ^c	85.4 $\pm$ 11.3 ^c	329.1 $\pm$ 48.4 ^c	115.5 $\pm$ 12.6 ^b	2.7 $\pm$ 0.6
SK-III	83.5 $\pm$ 10.5 ^c	74.2 $\pm$ 15.3 ^c	290.2 $\pm$ 35.1 ^c	112.1 $\pm$ 10.4 ^b	3.3 $\pm$ 0.4 ^b

a: $P < 0.01$, compared with control group; b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$; compared with I/R group.

3 讨论

经过一定时间缺血损伤的心肌恢复灌注后往往发生严重的心律紊乱、心功能低下,甚至出现心肌细胞不可逆性损伤的表现,即 I/R 损伤。这种损伤常见于溶栓、冠状动脉成形术和搭桥术后的病人,其发生机制复杂,与氧自由基大量产生、细胞内钙超载和代谢障碍等多种因素

有关。迄今尚无有效的防治措施。本工作在离体家兔心脏 I/R 损伤模型上发现,SK-827 能有效地减轻心肌 I/R 损伤,表现为增加冠状动脉流量($P < 0.01$);减少心肌细胞内 LDH 和肌红蛋白漏出,且呈剂量依赖性($P < 0.01$),还能减少心肌组织脂过氧化物形成,增加心肌 ATP 储备量($P < 0.01$)。这些结果表明激肽释放酶

SK-827 对心肌 I/R 损伤具有保护作用。

激肽释放酶 SK-827 保护心脏的机制尚不清楚,可能与激肽介导的扩张血管、改善微循环等功能有关。激肽释放酶 SK-827 是一种具有扩张血管作用的激肽类物质。它可作用于激肽原,产生激肽而发挥效应^[1~3]。激肽具有扩张血管的作用,可参与血压和局部组织血流调节,被认为是参与心血管功能调节的一种体液因素。目前认为血管紧张素转化酶抑制剂的心脏保护作用与其增加内源性缓激肽有关^[9];缺血预处理的心脏保护作用(抗心律失常与缩小心肌梗塞面积)机制之一是激活内源性缓激肽生成^[10];冠状动脉滴注外源性缓激肽可以模拟缺血预处理的心脏保护作用,而抑制激肽效应能消除预处理的保护作用^[11];外源性缓激肽可明显减轻大鼠心脏缺血/再灌注损伤^[12]。

激肽释放酶 SK-827 的心脏保护作用对于临床心肌 I/R 损伤具有潜在的应用价值。有关激肽释放酶 SK-827 保护心脏的机制还有待于进一步研究。

参考文献

- 1 Suzuki T, Hirooka K, Nakamura S, et al. Pharmacological studies of human urinary kallidinogenase (SK-827). (1) Effects on arterial and regional blood flow. *Appl Pharmacol*, 1993, **45** (4): 367~374.
- 2 Suzuki T, Hayashi M, Tomogur T. Pharmacological studies of human urinary kallidinogenase (SK-827). (2) Mode of action on blood vessels. *Appl Pharmacol*, 1993, **45** (4): 375~382.
- 3 Suzuki T, Hagano H, Hayashi M. Pharmacological studies of human urinary kallidinogenase (SK-827). (3) Effects on peripheral disorder. *Appl Pharmacol*, 1993, **45** (4): 383~393.
- 4 Wiemer G, Scholkens BA, Lina W. Endothelial protection by converting enzyme inhibitors. *Cardiovas Res*, 1994, **28**: 166~172.
- 5 Scich AG. Increase in cardiac kinins as a new mechanism to protect the heart. *Hypertension*, 1994, **23**: 419~420.
- 6 Elz JS, Nayler WG. Quantification of calcium paxadox in neonatal rat heart. *Am J Physiol*, 1987, **253**: H1 358~364.
- 7 Wroblewski F, La Due GS. Lactate dehydrogenase activity in blood. *Proc Soc Exp Med*, 1955, **90**: 210~215.
- 8 Asakawa T, Matsushita S. Thiobarbituric acid test for detecting lipid peroxides. *Lipids*, 1979, **14**: 401~404.
- 9 Linz W, Wiemer G, Gohlke P, et al. Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacol Rev*, 1995, **47**: 25~44.
- 10 Wall TM, Sheehy R, Hartman JC, et al. Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995, **270**: 681~685.
- 11 Goto M, Liu Y, Yang X, et al. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res*, 1995, **77**: 611~621.
- 12 Zhu P, Zaugg CE, Simper D, et al. Bradykinin improves postischemic recovery in the rat heart; Role of high energy phosphates, nitric oxide and prostacyclin. *Cardiovasc Res*, 1995, **29**: 658~663.

(1997-11-04 收到)