

人尿激肽释放酶(SK-827)对兔脑缺血/再灌注损伤的影响

夏春芳 杨立华^① 姜志胜 王晓红 苏加林 唐朝枢 刘乃奎

(北京医科大学心血管基础研究所, 北京 100083)

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

XIA Chun-Fang, YANG Li-Hua, JIANG Zhi-Sheng, WANG Xiao-Hong, SU Jia-Lin, TANG Chao-Shu and LIU Nai-Kui

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

ABSTRACT

Aim To investigate the protective effects of SK-827 on brain ischemia/reperfusion (I/R) injury in rabbits.

Methods Plasma lactate dehydrogenase (LDH) activity, malondialdehyde (MDA) content, lactate content and brain ATP, MDA level were assayed in I/R group and SK-827 treated group.

Results In SK-827 group, LDH activity, lactate content and MDA content in plasma and brain decreased, ATP level in brain increased and encephaledema improved significantly as compared with I/R group.

Conclusion SK-827 might have protective effect on brain I/R injury in rabbits.

KEY WORDS SK-827; Ischemia/reperfusion injury; Brain protective effect

摘要 为探讨人尿激肽释放酶(SK-827)对兔脑缺血/再灌注损伤的影响,测定了SK-827对缺血/再灌注损伤家兔的血浆乳酸脱氢酶活性、丙二醛和乳酸盐含量以及脑ATP、丙二醛水平和脑组织湿重/干重比值的影响。结果表明,SK-827组与缺血/再灌注组相比,其血浆乳酸脱氢酶的活性和乳酸盐水平显著降低,脑组织

ATP储备增加,丙二醛含量降低,脑组织湿重/干重比值降低,脑水肿显著减轻。结果提示:SK-827对脑缺血/再灌注损伤有明显的保护作用。

关键词 人尿激肽释放酶(SK-827); 缺血/再灌注损伤; 脑保护作用

人尿激肽释放酶(human urinary kallidinogenase, SK-827)是从人尿中提取的一种含238个氨基酸的酸性糖蛋白。在体内,SK-827作用于激肽原,使之水解成激肽,从而产生扩张血管,改善微循环的作用^[1~3]。有实验表明,激肽对心脏缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤有保护作用^[4,5]。SK-827对脑组织的I/R损伤是否具有保护作用目前尚未见报道。本实验在家兔脑I/R损伤模型上,观察了SK-827对脑I/R损伤的作用,以探讨其临床应用的可行性。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 日本大耳白家兔40只,雄性,体重 2 ± 0.2 kg,由中国兽药检查所提供。

1.1.2 试剂 人尿激肽释放酶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购于Sigma公司;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 家兔脑缺血/再灌注模型制备及分组

将家兔随机分为4组,每组10只:①I/R组:单纯给予溶媒;②SK-I组:给予SK-827 2.0×10^{-3} PNA U/kg (PNA U: p-nitroaniline Unit);③SK-II组:给予SK-827 10.0×10^{-3} PNA U/kg;④假手术组。术前所有家兔禁食不禁饮过夜。手术时,将家兔用3%氯烷、97% N₂和3%O₂混合气体麻醉,并用人工呼吸机维持其呼吸。经右股动脉插管入腹主动脉,通过三通针分别连接换能器、生理多导仪及贮血器,右股静脉插管以备给

① 山东省曲阜市人民医院药剂科

药,然后开启三通针向贮血器快速放血,同时夹闭双侧颈动脉,10 min 后松解,加压并将贮血器中血液回注入家兔体内,30 min 后结束实验。于缺血前 10 min 开始给药,假手术组除不夹闭双侧颈动脉和放血外,其它处理与实验组相同。

1.3 生物化学指标检测

实验结束时取静脉血,离心取血浆,测定血浆葡萄糖、乳酸盐含量。按 Wroblewski^[6]法测定乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)活性,硫代巴比妥酸法^[7]测定脂过氧化物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。取出脑组织,取其 1/4 用液氮冷冻研磨,6%三氯乙酸制成匀浆,按 ATP 测试合说明书测定 ATP 含量;取 1/4 脑组织用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)制成匀浆,测定丙二醛的含量;再取 1/4 脑组织称重,然后置 90℃下烘干,称重,计算湿重/干重的比值。

1.4 统计学处理

实验数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,用 one-way ANOVA 和组间 *q* 检验作统计学处理。

2 结果

2.1 缺血/再灌注组生物化学指标的改变

由表 1(Table 1)可知,I/R 组血浆葡萄糖、

乳酸盐水平、丙二醛含量及 LDH 活性比假手术组分别增加 46.46%、211.45%、60.80%和 397.13% (*P* 值均<0.001)。由表 2 (Table 2)可知,与假手术组比较,I/R 组脑组织湿重/干重比值增加 36.71%,脑组织 ATP 含量减少 74.71%,丙二醛生成增加 52.83% (*P* 值均<0.001)。上述结果表明 I/R 组脑组织发生明显的损伤。

2.2 SK-827 对脑组织缺血/再灌注损伤的作用

与 I/R 组相比,SK-II 组血浆乳酸盐水平和 LDH 活性下降 (*P*<0.01 和 *P*<0.05),血浆葡萄糖和丙二醛变化不大。脑组织湿重/干重比值降低 (*P*<0.05),脑组织 ATP 储备增加 (*P*<0.001),脑组织丙二醛含量减少 (*P*<0.01)。SK-I 组的上述指标均有不同程度的改善,但无统计学意义,见表 1 和表 2 (Table 1 和 Table 2)。上述结果表明,缺血前给予大剂量 SK-827 (10.0×10^{-3} PNA U/kg)可明显减轻脑组织 I/R 损伤。

Table 1. The effect of SK-827 on plasma glucose, lactate, MDA and LDH in brain I/R injury rabbits ($\bar{x}\pm s$, *n*=10).

Groups	Glucose (mmol/L)	Lactate (mmol/L)	MDA (nmol/L)	LDH (u/L)
Sham	7.06±0.13	1.31±0.19	12.27±1.82	52.3±8.2
I/R	10.34±0.60 ^a	4.08±0.62 ^a	19.73±3.32 ^a	260.0±38.4 ^a
SK-I	10.57±0.51	4.01±0.37	17.98±2.29	231.8±27.6
SK-II	9.55±1.26	3.28±0.33 ^c	18.25±2.46	215.9±36.9 ^b

a: *P*<0.001, compared with sham group, b: *P*<0.05, c: *P*<0.01, compared with I/R group.

Table 2. The effect of SK-827 on brain ATP, MDA and wet weight/dry weight in brain I/R injury rabbits ($\bar{x}\pm s$, *n*=10).

Groups	WW/DW	ATP (μmol/L)	MDA (nmol/L)
Sham	4.93±0.06	42.7±2.9	540.0±33.1
I/R	6.74±0.41 ^a	10.8±3.4 ^a	825.3±61.3 ^a
SK-I	6.41±0.49	11.0±6.1	814.3±55.3
SK-II	6.13±0.55 ^b	22.7±3.7 ^d	725.5±66.6 ^c

a: *P*<0.001, compared with sham group, b: *P*<0.05, c: *P*<0.01, d: *P*<0.001, compared with I/R group.

3 讨论

脑血栓形成及脑梗塞等缺血性脑血管病发生后,全脑或局部脑血流量中断或减少,脑细胞发生水肿、坏死,出现偏瘫、失语等神经系统定位体征或神经系统功能受损等临床症状。在溶栓、动脉搭桥术等恢复灌流的治疗后,可因再灌注损伤使部分病变加重。脑缺血/再灌注损伤的发生机制复杂,与氧自由基大量生成^[8]、兴奋性

氨基酸增多、细胞内钙超载^[9]及代谢障碍等多种因素有关,目前尚无有效的防治措施。本文在家兔脑缺血/再灌注损伤模型上观察到大剂量人尿激肽释放酶(SK-827)能使缺血/再灌注损伤家兔的血浆乳酸盐含量减少,乳酸脱氢酶活性降低,脑水肿程度减轻,脑组织 ATP 储备增加,脂过氧化物丙二醛生成减少。这些结果表明,大剂量人尿激肽释放酶(SK-827)对脑组织缺血/再灌注损伤具有保护作用。

人尿激肽释放酶(SK-827)对脑组织的保护作用机制可能与激肽介导的扩张血管、改善局部微循环等作用有关^[1~3]。有资料表明,人尿激肽释放酶(SK-827)有舒张脑底动脉血管平滑肌的作用^[12]。人尿激肽释放酶(SK-827)在体内作用于激肽原,使之水解成激肽,激肽具有舒血管活性,参与血压和局部组织血流的调节,是心脑血管功能调节的一个重要因素。Zhu 等^[13]实验证明,外源性缓激肽能明显减轻心肌缺血/再灌注损伤。杨立华^[4]等也报道人尿激肽释放酶(SK-827)对心肌缺血/再灌注损伤具有保护作用。

人尿激肽释放酶(SK-827)对脑组织的保护作用的结果提示,它对于临床脑缺血/再灌注损伤具有潜在的应用价值。但人尿激肽释放酶(SK-827)对脑组织的保护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): 367~373.
- 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 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.
- 5 杨立华, 姜志胜, 欧和生, 等. 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. *中国动脉硬化杂志*, 1998, **6**(1): 53~55.
- 6 Wroblewski F, La Due GS. Lactate dehydrogenase activity in blood. *Proc Soc Exp Med*, 1955, **90**: 210~215.
- 7 Asakawa T, Matsushita S. Thiobarbituric acid test for detecting lipid peroxides. *Lipids*, 1979, **14**: 401~404.
- 8 Traystman KT, Kirsh JH, Kochler RC, et al. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol*, 1991, **71**(4): 1485~1495.
- 9 Michaels RI, Rothman SM. Glutamate neurotoxicity in vitro: antagonist pharmacology and intracellular calcium concentration. *J Neurosci*, 1990, **10**: 283~292.

(1998-05-07 收到, 1998-08-10 修回。编辑: 文玉珊)