

纳络酮对缺血再灌注心肌脂质过氧化物和钙含量的影响

杨天德 刘桥义 王舟琪 (第三军医大学新桥医院麻醉科, 重庆 630037)

摘 要 利用犬心肌缺血、再灌注模型, 观察了纳络酮对缺血再灌注心肌脂质过氧化物(LPO)、超氧化物歧化酶(SOD)和钙含量的影响。结果表明: 缺血、再灌注心肌 LPO 和钙含量明显增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 再灌注心肌 LPO 含量和钙含量明显高于缺血心肌 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 而缺血、再灌注心肌 SOD 明显降低 ($P < 0.01$); 纳络酮明显降低缺血、再灌注心肌 LPO 和钙含量 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 但对 SOD 的影响不明显 ($P > 0.05$)。提示: 纳络酮抑制心肌缺血、再灌注时的脂质过氧化物反应, 部份阻止细胞外钙跨膜内流, 对心肌具有保护作用。

关键词 脂质过氧化物 超氧化物歧化酶 钙心肌缺血再灌注 纳络酮 犬

纳络酮(Naloxone, NAL)是一种特异性的阿片受体拮抗剂, 近年来的研究发现, 阿片受体拮抗剂明显降低缺血再灌注性心律失常的发生率, 改善缺血、再灌注心肌的收缩、舒张性能, 对心肌具有保护作用, 但其机制尚未完全阐明^[1,2]。为此, 本文利用犬心肌缺血再灌注模型, 观察了纳络酮对缺血再灌注心肌脂质过氧化物(LPO)、超氧化物歧化酶(SOD)和钙含量的影响, 以探讨 NAL 在心肌缺血再灌注中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物 重庆地区健康成年杂种家犬36只, 体重 9—15 kg, 雌雄不拘。

1.2 药品、试剂 盐酸纳络酮(0.4 mg/ml, 军事医学科学院毒物药物研究所研制, 北京四环制药厂产品, 批号910222); 碳酸钙标准品、黄嘌呤氧化酶和次黄嘌呤为 Sigma 产品; 鲁米诺、四乙氧基丙烷和十二烷基硫酸钠等为国产分析纯级或进口分装。

1.3 实验分组和动物模型 将动物随机分为模拟

手术组、单纯缺血组和缺血再灌注组, 每组又分为生理盐水组和纳络酮组, 各小组均为 6 只犬。动物经静脉麻醉(3%戊巴比妥钠, 30 mg/kg)后, 气管插管, 控制呼吸。经胸骨正中线开胸, 暴露心脏, 在冠状动脉左前降支中段穿线, 模拟手术组穿线后不结扎, 在相应时间观察70 min, 单纯缺血组仅结扎40 min, 缺血再灌注组先结扎40 min, 然后松开结扎线, 恢复灌注30 min。各组分别于结扎前10 min 分别静注生理盐水2.5 ml/kg 或纳络酮 1 mg/kg, 术中监测心电图, 平均动脉压和用氦气清除技术测心肌局部血流量。实验毕迅速取下心脏, 于冰浴中洗净血液, 参照 Jugdutt 的标准取结扎线下心肌待测^[3]。

1.4 指标测定 心肌 LPO 按 Ohkawa 的方法^[4], 用岛津 RF-520 型荧光分光光度计测其分解产物—丙二醛(MDA); 心肌 SOD 按李益新的方法, 用 FG-300 型发光光度计(上海植物生物研究所)测定^[5]; 心肌钙测定参照高钰琪的方法处理标本用原

子吸收分光光度计(火焰法)测定^[6]。LPO按nmol/mg蛋白表示;SOD按U/mg蛋白表示;钙按μmol/g心肌D.W表示,蛋白定量用Lowry氏法测定。

1.5 统计处理 各组计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 表示有显著差别。

2 结果

心肌缺血、再灌注时,缺血心肌和再灌注心肌LPO含量明显增加($P < 0.05$, $P < 0.01$);纳络酮明显降低缺血再灌注心肌LPO($P < 0.05$, $P < 0.01$)(详见表1);缺血再灌注心肌SOD明显降低($P < 0.01$),但纳络酮无明显影响($P > 0.05$)(详见表2);缺血、再灌注心肌钙含量明显增加($P < 0.01$),纳络酮明显降低缺血、再灌注心肌钙含量($P < 0.05$, $P < 0.01$)(详见表3)。

表1 心肌LPO含量变化
(nmol/mg.Pro)($n = 6$)

	生理盐水治疗	纳络酮治疗	P值
模拟手术组	1.38 ± 0.25	1.26 ± 0.15	>0.05
单纯缺血组	$1.74 \pm 0.38^*$	1.41 ± 0.21	<0.05
缺血再灌注组	$2.01 \pm 0.41^{**}$	1.44 ± 0.18	<0.01

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 与模拟手术组比

表2 心肌SOD含量变化
(U/mg.pro)($n = 6$)

	生理盐水对照	纳络酮治疗
模拟手术组	56.18 ± 9.86	57.38 ± 10.65
单纯缺血组	$41.56 \pm 3.90^{\Delta}$	$44.32 \pm 4.71^{\Delta}$
缺血再灌注组	$39.56 \pm 2.61^{\Delta}$	$40.42 \pm 2.95^{\Delta}$

$\Delta P < 0.01$ 与模拟手术组比较

表3 心肌组织钙含量变化(μ
mol/g心肌D.W)($n = 6$)

	生理盐水对照	纳络酮治疗	P值
模拟手术组	3.228 ± 0.292	3.445 ± 0.379	>0.05
单纯缺血组	$6.567 \pm 0.601^{**}$	$4.128 \pm 0.204^*$	<0.01
缺血再灌注组	$9.140 \pm 0.548^{***}$	$5.211 \pm 0.436^{***}$	<0.01

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 与模拟手术组比较

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 与单纯缺血组比较

3 讨论

心肌缺血再灌注时,细胞内钙反常(Calcium Paradox)、氧自由基爆发性释放及其引发的脂质过氧化反应(Lipid Peroxidation)是导致心肌缺血再灌注损伤的重要原因^[7,8]。体外实验表明,阿片受体拮抗剂纳络酮可以抑制中性粒细胞释放超氧阴离子和脂质体铁催化的脂质过氧化反应^[8,10],但在体内对缺血、再灌注心肌氧自由基和脂质过氧化反应有无影响,尚未见文献报道。我们的观察发现,纳络酮明显降低缺血、再灌注心肌脂质过氧化产物,说明纳络酮可以抑制心肌缺血再灌注时的脂质过氧化反应。纳络酮还能降低缺血、再灌注心肌钙含量,可能抑制细胞外钙跨膜内流,其机制尚不清楚。是否因纳络酮抑制脂质过氧化反应而具有膜稳定作用,有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Caldwell RW, Nagarajan R, Chryssanthos A, et al. Action of the opioid antagonist, Nalmefene and congeners on reperfusion cardiac arrhythmias and regional left coronary blood flow. *Pharmacology*, 1990; 41 (3):161—
- 2 赵丹丹, 吴吉茂. 纳络酮对急性冠脉闭塞家兔心功能和超微结构变化的影响及机制的研究. *中国病理生理杂志*, 1991; 7(2):177—
- 3 Jugdutt BI. Early changes in collateral blood flow during myocardial infarction in conscious dogs. *Am J Physiol*. 1979; 237:H371—
- 4 Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thio-barbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979; 95:351—
- 5 李益兴, 方允中. 超氧化物歧化酶活力测定的新方法—化学发光法. *生物化学与生物物理学进展*. 1983; 2:59—
- 6 高钰琪, 孙秉庸, 杨仲强. 缺氧对大鼠肺动脉平滑肌细胞 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 跨膜内流及细胞内钙含量的影响. *中国病理生理杂志*. 1989; 5(7):425—
- 7 Becker LC, Ambrosio G. Myocardial consequences of reperfusion. *Prog Cardiovasc Dis*. 1987; 30:23—
- 8 Simpson PJ, Lucchesi BR. Free radicals

- and myocardial ischemia and reperfusion injury. J Lab Clin Med. 1987, 110, 13—
- 9 Simpkins CO. Naloxone inhibits superoxide release from human neutrophils. Life Sci. 1985, 37:1381—
- 10 Korch K. Effect of naloxone on iron-catalyzed peroxidation inhibition in liposomes. Biochem Biophys Res Commun. 1981, 102:1317—
- 收稿日期, 1995—11—10

Effects of Naloxone on Lipid Peroxide and Calcium
Content of Canine Myocardium During Ischemia and Reperfusion

Yang Tian-de, Liu Qiao-yi, Wang Zhou-qi

(Dept. of Anesthesiology, Xin Qiao Hospital, The Third Military Medical
University, Chongqing 630037)

Abstract: The effects of naloxone on lipid peroxide (LPO), superoxide dismutase (SOD) and calcium content were examined in canine ischemic and reperfused myocardium. Results showed that, in ischemic and reperfused myocardium, LPO and calcium content were obviously increased ($p < 0.05$, $p < 0.01$); SOD was remarkably decreased ($p < 0.01$); Naloxone decreased LPO and calcium significantly ($p < 0.05$, $p < 0.01$) and had no effect on SOD ($p > 0.05$). It suggested that naloxone may inhibit lipid peroxidation and prevent influx of calcium to some extent in ischemic and reperfused myocardium.

Key words: lipid peroxide, superoxide dismutase, calcium, myocardial ischemia and reperfusion, naloxone

(on page 3)