

## ·药理·

## 吲哒帕胺、维拉帕米对兔心肌再灌注损伤保护机制的探讨

刘元生 孙慧宽 邱能庸 张艳萍

(内蒙古医学院 呼和浩特 010050)

**摘要** 应用离体兔心 Langendorff 灌注模型,探讨吲哒帕胺、维拉帕米对心肌缺血/再灌注损伤的保护机制。离体兔心肌缺血 40min 后,分别取再灌注 15、30、60、360min 洗脱液,测定超氧化物歧化酶(SOD)、脂质过氧化物丙二醛(MDA);测定冠脉流量和冠脉阻力及静脉血血小板聚集率。结果表明,吲哒帕胺、维拉帕米均具有清除氧自由基、扩张冠状动脉作用;吲哒帕胺还具有抗血小板聚集的作用。

**关键词** 吲哒帕胺;维拉帕米;再灌注损伤;心肌保护

### The protective effect of indapamide and verapamil in myocardial ischemia and reperfusion injury in rabbit Langendorff heart

Liu Yuansheng, Sun Huikuan, Qiu Nengyong, Zhang Yanping

(Department of Cardiovascular Medicine, First Affiliated

Hospital, Inner Mongolia Medical College, Huhhot 010050)

**ABSTRACT** Objective: The animal models of isolated myocardial postischemic reperfusion injury in rabbits using Langendorff apparatus were used to inquire into the protective effect of indapamide and verapamil. Methods: Twenty - one male rabbits were randomly divided into three groups (n = 7 in each): control group, verapamil group and indapamide group. Isolated hearts were reperfused after 40 min of global no - flow ischemia, Reperfusion outflow fluid were collected at 15 min, 30 min 60 min and 360 min after postischemic reperfusion in order to measure SOD and MDA. Coronary flow, coronary resistance and platelet aggregation rate were tested. Results and Conclusion: The protective effect of indapamide and verapamil may include: (1)antioxide and free - radical scavenging; (2) dilating coronary artery. In addition, indapamide can decrease platelet aggregation rate.

**KEY WORDS** reperfusion injury, cardioprotection, free radical, platelet aggregatom rate.

心肌缺血后再灌注时大量氧自由基产生和细胞内  $Ca^{2+}$  超载是心肌缺血/再灌注损伤的主要原因。氧自由基清除剂和钙离子拮抗剂具有明显心肌保护作用。近年来研究抗血小板制剂也具有心肌保护作用。吲哒帕胺作为一线抗高血压治疗药物已有多年,近年来国外有研究报道吲哒帕胺对心肌缺血/再灌注损伤有保护作用<sup>[1]</sup>。实验研究报道维拉帕

米具有明显的心肌保护作用<sup>[2-6]</sup>。

本文应用离体兔心 Langendorff 灌注实验模型,通过测定 SOD、MDA、冠脉流量、冠脉阻力和血小板聚集率,旨在进一步探讨吲哒帕胺、维拉帕米对再灌注心肌损伤保护机制,并为临床应用提供实验依据。

#### 一、材料和方法

##### (一)动物

内蒙古畜牧科学院提供的健康纯种雄性日本大耳白兔 21 只, 体重 2.00 ~ 2.50kg。

(二) 药品和试剂

吲哒帕胺(天津市力生制药厂生产); 维拉帕米(上海天丰药厂生产); 四乙氧基丙烷(Fluka 公司); 硫代巴比妥酸(Sigma 公司); SOD 测定试剂盒(南京建成生物工程研究所生产)。

(三) 实验方法

动物随机分为对照组、维拉帕米组和吲哒帕胺组, 每组均为 7 只。实验前 2wk, 对照组喂服维生素 B<sub>1</sub>, 每日用 10mg/kg; 维拉帕米组喂服阿司匹林, 阿司匹林每日用 30mg/kg; 吲哒帕胺组喂服吲哒帕胺, 每日用 1.58mg/kg。实验中, 兔经 20% 乌拉坦(1g/kg) 麻醉后胸骨正中开胸暴露心脏, 抽取肺动脉血做血小板聚集率测定, 再经肝素化(1mg/kg) 后, 距主动脉根部 1cm 截断主动脉取下心脏, 在 20s 内固定于自制的 Langendorff 离体心脏灌注架上, 在恒温 37℃ 及灌注压为 8.82kPa 条件下灌注, 对照组仅用含氧的 Krebs - Henseleit 液持续灌注, 维拉帕米组用含氧的 Krebs - Henseleit 液加 0.001mmol/L 的维拉帕米持续灌注, 吲哒帕胺组用含氧的 Krebs - Henseleit 液加 0.15mmol/L 吲哒帕胺持续灌注。吲哒帕胺用 10% 乙醇和 30% 聚乙二醇溶解。灌注液均用含 95% 氧和 5% 二氧化碳的氧气在再灌注前预充 40min, 在再灌注过程中持续以 3L/min 的速度充氧。心脏缺血停跳 40min 后再灌注, 分别留取再灌注 15、30、60 和 360min 洗脱液作 MDA 和 SOD 测定, 并测定

冠脉流量和冠脉阻力。

(四) 指标测定

SOD 活力按 SOD 测定试剂盒说明书进行; 血小板聚集率采用江苏丹阳电子研究所研制的双道聚集仪进行血小板最大聚集率测定, 致聚剂为 ADP; 冠脉流量测定再灌注每一时段末 5min 冠脉洗脱液总量, 取平均值为冠脉流量; 冠脉阻力 = 灌注压力/冠脉流量。

MAD 测定, 取 0.50ml 洗脱液置具塞磨口对号刻度试管内, 边振荡边点滴加入 2.0ml 试剂 200g/L 三氯乙酸, 1.0ml 6.7g/L 硫代巴比妥酸, 混匀加塞后 100℃ 水浴 40min, 取出后经流水冷却后加入 5.0ml 正丁醇, 充分抽提 30s, 300r/min 离心 10min 取上清液比色, 波长为 500nm。标准管和对照管分别以四乙氧基丙烷释液和新鲜生理盐水各 0.50ml 代替洗脱液, 以下操作过程同测定管, 均测出消光度。用标准管消光度作为纵坐标, 浓度作为横坐标, 制成标准曲线, 测定管测值通过标准曲线求出。

(五) 统计处理

测定数据用两样本 t 检验, 进行组间比较。

二、结果

心脏再灌注洗脱液 SOD 活力, 在对照组明显下降; 维拉帕米组 SOD 活力明显增加, 在再灌注 30min 时最明显, 与对照组比较有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 吲哒帕胺组 SOD 活力也明显增加, 分别在再灌注 30 和 60min 时, 与对照组比较有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。详见表 1。

表 1 心脏再灌注洗脱液 SOD 活力变化(亚硝酸盐单位/ml)

药 物	再灌注时间(min)			
	15	30	60	360
对照	54.60 ± 36.06	18.70 ± 11.70	69.20 ± 25.74	75.27 ± 63.86
阿斯匹林 + 维拉帕米	89.80 ± 17.25	98.43 ± 52.07 <sup>△</sup>	102.00 ± 54.48	61.90 ± 46.39
吲哒帕胺	61.90 ± 25.74	74.78 ± 37.20 <sup>△</sup>	127.03 ± 26.74 <sup>△</sup>	38.83 ± 8.43

△  $P < 0.05$

心脏再灌注洗脱液 MDA 含量在对照组

明显增加; 维拉帕米组和吲哒帕胺组 MDA 含

量明显下降,分别与对照组比较有统计学意义( $P < 0.05$ ),详见表2。

表2 心脏再灌注洗脱液 MAD 含量变化( $\mu\text{mol/L}$ )

药 物	再灌注时间(min)			
	15	30	60	360
对照	25.73 ± 14.03	17.47 ± 7.15	15.78 ± 4.29	11.20 ± 1.41
阿斯匹林 + 维拉帕米	9.10 ± 5.86	8.00 ± 4.01	6.30 ± 4.11 <sup>△</sup>	6.20 ± 4.57
吲哚帕胺	7.40 ± 2.68 <sup>△</sup>	9.46 ± 5.75	6.98 ± 2.74 <sup>△</sup>	6.80 ± 3.60

△ $P < 0.05$

冠脉血流和冠脉阻力在对照组冠脉血流减少,而冠脉阻力增加;维拉帕米和吲哚帕胺明显增加冠脉流量,降低冠脉阻力,分别和对照组比较有统计学意义( $P < 0.05$ ),详见表3。

表3 心肌缺血后再灌注冠脉血流和冠脉阻力变化

药 物	冠脉血流(ml/min)				冠脉阻力(cmHP/ml.min)			
	15	30	60	360	15	30	60	360
对照	4.87 ± 1.50	7.56 ± 2.14	8.88 ± 3.38	5.77 ± 3.89	19.55 ± 5.12	12.48 ± 3.11	11.73 ± 5.75	31.80 ± 21.40
阿斯匹林 + 维拉帕米	9.00 ± 1.73 <sup>△</sup>	16.66 ± 10.65	12.80 ± 10.35	10.20 ± 4.82	10.29 ± 2.24 <sup>△</sup>	6.76 ± 2.79	12.19 ± 10.56	10.45 ± 4.78
吲哚帕胺	13.93 ± 1.37 <sup>△</sup>	19.93 ± 2.57 <sup>△</sup>	15.80 ± 11.41	12.15 ± 10.98	6.50 ± 0.60 <sup>△</sup>	4.58 ± 0.61	7.39 ± 3.14	12.49 ± 8.52

△ $P < 0.05$

吲哚帕胺具有明显降低血小板聚集率作用,血小板聚集率 48.69%和对照组 65%比较具有统计学意义( $P < 0.01$ );阿斯匹林可轻度降低血小板聚集率 52.13%和对照组比较无统计学意义(图1)。

不能有效地清除氧自由基,结果 MDA 大量生成<sup>[8]</sup>,损伤进一步加重。实验结果显示,吲哚帕胺和维拉帕米有明显增加 SOD 活力和降低 MDA 含量作用,表明吲哚帕胺和维拉帕米均有清除氧自由基作用,这和文献报道的结果相符<sup>[9,10]</sup>。清除氧自由基作用可能是吲哚帕胺和维拉帕米的心肌保护机制之一。

扩张冠状动脉,降低冠脉阻力,增加冠脉血流,可改善心肌缺血、缺氧状态,有利于心肌损伤的减轻而保护心肌。吲哚帕胺和维拉帕米均可扩张冠状动脉,降低冠脉阻力,这和文献报道的结果相一致<sup>[1,2,4,6]</sup>。

冠状动脉微血管系统血小板聚集已被认为是全心缺血停搏后再灌注损伤的病因。这种血小板功能失衡增加了冠状动脉阻力,导致心肌进一步缺血<sup>[11]</sup>。本实验结果表明,吲哚帕胺有明显降低血小板聚集率作用。研究报道维拉帕米也有抑制血小板聚集性作用<sup>[2]</sup>。

吲哚帕胺还可降低细胞对  $\text{Ca}^{2+}$  的摄取,对高血压和动脉粥样硬化具有抑制作用<sup>[2,12]</sup>。维拉帕米还可抑制  $\text{Ca}^{2+}$  超载、抑制心肌收缩、减慢心率、降低低氧后 ATP 分解

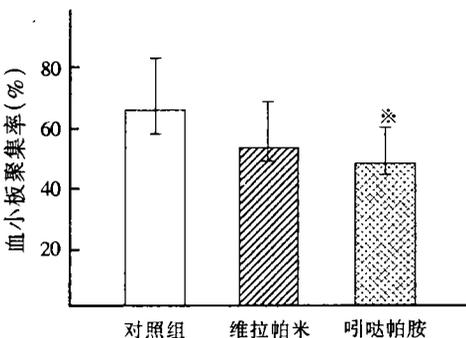


图1 血小板聚集率

\*\* $P < 0.01$

### 三、讨论

目前普遍认为氧自由基和  $\text{Ca}^{2+}$  超载是心肌缺血/再灌注损伤的主要原因。心肌缺血后再灌注产生大量氧自由基,氧自由基和心肌细胞膜不饱和脂肪酸发生反应,生成脂质过氧化物(MDA),导致细胞损伤<sup>[7]</sup>;心脏本身存在 SOD 保护机制,SOD 主要消除超氧离子,心肌缺血/再灌注损伤时 SOD 活力下降,

保护线粒体功能<sup>[3,4]</sup>。

#### 四、小结

吲哒帕胺和维拉帕米均具有复杂的心肌保护机制,有待进一步研究。清除氧自由基作用是它们的主要心肌保护机制之一。

#### 参考文献

- [1] Campbell D B. Cardio vascular protective properties of indapamide. *Am J Cardiol*, 1990;65: 11H~27H
- [2] Campbell C A. Effect of verapamil on infarct size in dogs subjected to coronary artery occlusion with transient reperfusion. *Journal Am Coll cardiol*, 1986;8(5):1169~74
- [3] Robert L K. Effects of intracoronary verapamil administration in a sheep model of acute myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation Res*, 1988;62: 1138~46
- [4] Wolfe C L, Donnelly T J, Sievers R, et al. Myocardial protection with verapamil during ischemia and reperfusion: dissociation between myocardial salvage and the degree of ATP depletion during ischemia. *Cardiovascular Res*, 1991;25(2): 101~9
- [5] 王一镗,张寄南,刘中民等. 钙通道阻滞剂异搏停对心肌保护作用的实验研究. *中华胸心外科杂志*, 1987;3(2):111
- [6] 刘季春,陈朋. 维拉帕米、辅酶 Q10 对离体大鼠心脏的保护作用. *中国循环*, 1991;6(5):394
- [7] Foman M B, Vimani R, Puett D W. Mechanisms and therapy of myocardial reperfusion injury. *Circulation*, 1990;81(3)(suppl IV):69~78
- [8] Ferrari R. Myocardial damage during ischemia and reperfusion. *Eur Heart J*, 1993;14(suppl G):25~30
- [9] Mouhieddine S, Tresallet N, Boucher F, et al. Ultrastructural basis of the free radical scavenging effect of indapamide in experimental myocardial ischemia and reperfusion. *J Cardiovascular Pharmacol*, 1993;22(suppl 6):S47~S52
- [10] Ambrosio G, Villari B, Chiariello M. Calcium antagonists and experimental myocardial ischemia reperfusion injury. *J Cardiovascular pharmacol*, 1992;20(suppl 7):S26~S29
- [11] Yes ES, Price DC, Aherne T, et al. Intracoronary platelet aggregation: pattern of deposition after ischemia. cardioplegia and reperfusion. *J Surg Res*, 1986;40(5):499~503
- [12] Lebrillant E, Roulet M J, Robert R, et al. Study of antiatherogenic properties of Indapamide in a pharmacologic model. *J Cardiovascular Pharmacol*, 1993;22(suppl 6):S53~S56

## 急性缺血性卒中的药物治疗进展

孙 鹏

(第二军医大学药理学本科九五级 200433)

急性缺血性卒中已成为人类的第三死因,因而对其防治受到国内外普遍重视。近年来对局部脑缺血损伤的病理生理进行了深入探讨,对缺血性卒中的研究取得了显著的进展。目前已形成了三个治疗目标,包括动脉再通、抑制炎症过程、以及神经保护药物治疗。本文在综合考虑药物作用的基础上,对近年来有关急性缺血性卒中的药物治疗进展作一综述。

### 一、溶栓、抗凝血及抗血小板药

已有证据表明<sup>[1]</sup>局部脑缺血病人,症状发作的 8~24h,大约 80~90%是由于血栓栓塞的形成,因而对急性缺血性卒中应用溶栓、抗凝血以及抗血小板药是合理的。

### (一)溶栓药

溶栓药是内源性或外源性纤溶酶原激活剂(PAs)。PAs 已经用于急性缺血性卒中的治疗, Kummer 和 Hacke<sup>[2]</sup>在用 100mg 重组纤溶酶原激活剂(rt-PA)做急性栓塞性卒中的实验证实, PAs 能恢复缺血阻塞区的脑血流循环。纤维溶解可用 PAs、尿激酶(u-PA)、单链尿激酶(scu-PA)和其它外源性纤溶酶,包括链激酶(SK)、茴香酰化溶酶原链激酶复合物(APSAC)、葡激酶(STK)和蝙蝠唾液纤溶酶原激活剂(Bat-PA)等。根据 NINDS rt-PA 卒中研究组报道<sup>[3]</sup>,把脑缺血病人随机分为 rt-PA 及安慰剂两组,若均在症状发生的 3h 内进入医院, rt-PA 组神经功能明显改