

spasmolytic agent, cinnamedrine, on action potentials of mammalian ventricular tissue. *Pharmacology* 1987; 34 : 286

11 Harrison DC. Antiarrhythmic drug classification: new science and practical applications. *Am J Cardiol* 1985; 56 : 185

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jul; 11 (4) : 321-323

尼可地尔对兔心肌缺血再灌注脂质过氧化的保护作用

张英民、赵德化、盛宝恒 (第四军医大学药理教研室, 西安 710032, 中国)

Protective effects of nicorandil on lipid peroxidation in ischemic and reperfused myocardium of rabbits

ZHANG Ying-Min, ZHAO De-Hua, SHENG Bao-Heng (*Department of Pharmacology, Fourth Military Medical University, Xi-an 710032, China*)

ABSTRACT The experiments of recirculating blood perfusion device showed that nicorandil (Nic) 0.15 mmol/L significantly decreased the content of malondialdehyde (MDA), inhibited the release of creatine kinase (CK), counteracted the increase of coronary vascular resistance (CR), and abolished the reperfusion-induced arrhythmias in isolated rabbit hearts during ischemia and reperfusion. The results indicate that Nic has protective effects on myocardial ischemic and reperfused damage, which may relate to the prevention of lipid peroxidation.

KEY WORDS nicorandil; myocardial reperfusion injury; lipid peroxidation; malondialdehyde; creatine kinase; vascular resistance; arrhythmia

摘要 循环式血液灌注装置实验表明, 尼可地尔 (Nic) 0.15 mmol/L 能明显降低离体兔心缺血再灌注期间丙二醛 (MDA) 的含量; 抑制肌酸激酶 (CK) 释放; 对抗再灌注损伤所致的冠脉阻力 (CR) 增加; 并具有抗再灌注心律失常作用。提示 Nic 对心肌缺血再灌注损伤有保护作用, 其作用机理可能与抗脂质过氧化有关。

关键词 尼可地尔; 心肌再灌注损伤; 脂质过氧化; 丙二醛; 肌酸激酶; 血管阻力; 心律失常

尼可地尔 (nicorandil, Nic) 是临床治疗心

绞痛的新药, 1977 年日本首先合成。我们发现其还具有抗实验性心律失常效应⁽¹⁾, 这可能与钙拮抗作用有关⁽²⁾。近年来, 许多资料表明, 心肌缺血再灌注损伤与氧自由基有关; 而后的主要细胞毒性反应是膜的脂质过氧化⁽³⁾, Nic 对心肌缺血再灌注损伤有保护作用⁽⁴⁾, 其机理是否通过影响氧自由基代谢及抗脂质过氧化, 尚未见文献报道, 本文用循环式血液灌注离体兔心模型, 观察 Nic 对心肌缺血再灌注损伤的影响, 并探讨其作用机理。

MATERIALS AND METHODS

药品 Nic 系陕西省医药工业研究所合成, 用生理盐水配成 0.5% 溶液备用。

灌注装置 实验应用的循环式血液灌注装置, 仿文献⁽⁵⁾以国产 RDB-III 型恒速灌流泵为动力系统, 内径 3 mm 的硅胶管为动脉泵管, 人工肺为自制的小型鼓泡式氧合器, 它具有氧合、去泡、变温、贮血及过滤功能。辅助装置有重庆产 WC/09-05 超级恒温器, 苏州产气体流量计和自制的玻璃恒温罩, NIHON KOHDEN 四导生理记录仪。

动物模型的制备及分组 ♂兔 14 只, 体重 2.0 ± SD 0.2 kg, 3% 戊巴比妥钠 20mg/kg 和氯胺酮 10 mg/kg iv 麻醉, 肝素 5 mg/kg iv 抗凝, 1 min 后纵劈胸骨, 迅速剪取心脏, 放入 4℃ Ringer 液中停跳, 将主动脉连接于循环式血液灌注装置上。用 Ringer 液 30ml 和自体兔血 50ml 预充并逆灌注。通入

95% O₂ 和 5% CO₂. 灌注压保持在 5.3~8.0 kPa (40~60 mmHg), 血气指标调整在: pH=7.41±0.08; PO₂=49±17 kPa; PCO₂=5.3±1.2 kPa; 红细胞压积>20%; 灌注体温 36.5±0.5℃. 在心尖部和主动脉根部的心外膜下分别放置两个电极, 持续心电图监测. 实验完毕后心脏称重.

实验分溶剂对照组和 Nic 组. 离体心脏灌注 12 min 后, 分别在灌注血中加 Nic 至 0.15 mmol/L 和等容量生理盐水. 3min 后, 减少灌流量至原来 1/8, 全心肌缺血 15 min, 然后使灌流量恢复到缺血前水平, 再灌注 1h.

脂质过氧化物和肌酸激酶测定 分别在缺血前, 缺血 15min, 再灌注 5, 30 和 60 min 收集冠状静脉窦回流的血液 2 ml, 150×g 离心 10 min, 取 0.1 ml 血浆, 用硫代巴比妥酸法(荧光法)测定丙二醛(MDA)含量. 用比色法测定肌酸激酶(CK)活性⁽⁶⁾.

冠脉流量(CF)和冠脉阻力(CR)测定 分别在缺血前, 再灌注 5, 30 和 60 min, 根据恒流泵转速读出灌流量, 然后由 Poiseuille's law 计算⁽⁵⁾: CF[ml/(100g·min)]=灌流量(ml/min)/心重(g)×100 CR [kPa/(ml·100g·min)]=平均灌注压(kPa)/CF [ml/(100g·min)]

RESULTS

Nic 对 MDA 含量的影响 溶剂对照组在心肌缺血 15 min 时, MDA 含量无明显变化; 再灌注 5min 时增加; 再灌注 30 和 60min 时明显增加, Nic 组在缺血再灌注期间, MDA 含量均无明显变化, 与对照组比较, 再灌注 30 和 60 min 时的 MDA 含量显著下降(Tab1). 说明 Nic 能对抗缺血再灌注心肌的脂质过氧化作用.

Nic 对 CK 释放量的影响 溶剂对照组和 Nic 组在再灌注期间, 心肌 CK 释放量均较缺血前显著增加, 但两组比较, Nic 组的 CK 释放量显著降低(Tab 1). 说明 Nic 能部分抑制缺血再灌注心肌 CK 的释放.

MDA 含量和 CK 释放量变化的相关性 缺血再灌注过程中, MDA 含量和 CK 释放量均较缺血前显著增加, 两者的变化呈正相关 (r=0.999, P<0.01). Nic 抑制 CK 释放与 MDA 含量下降也相关(r=0.926, P<0.01). 提示缺血再灌注心肌 CK 释放量的多少与脂质过氧化程度有关.

Nic 对冠脉流量(CF)和冠脉阻力(CR)的影响 再灌注期间, 溶剂对照组的 CF 明显减少, CR 明显增加, 而 Nic 组的 CF 显著增加, CR

Tab 1. Effects of nicorandil (Nic, 0.15 mmol/L) on the content of malondialdehyde (MDA), the activity of creatine kinase (CK), coronary vascular resistance (CR) and coronary flow (CF) in isolated rabbit hearts during ischemia and reperfusion. n=6, $\bar{x} \pm SD$. *P>0.05, **P<0.05 ***P<0.01 vs solvent control; †P>0.05, ††P<0.05, †††P<0.01 vs before ischemia.

		Before ischemia	Ischemia 15 min	Reperfusion (min)		
				5	30	60
Control	MDA	1.43±0.18	1.58±0.17 [†]	1.68±0.13 ^{††}	1.94±0.16 ^{†††}	2.37±0.37 ^{†††}
	CK	208±29	238±22 [†]	258±30 ^{††}	322±29 ^{†††}	407±46 ^{†††}
	CF	213±12		168±37 [†]	132±42 ^{††}	101±29 ^{†††}
	CR	0.032±0.002		0.042±0.011 ^{††}	0.057±0.025 ^{†††}	0.072±0.028 ^{†††}
Nic	MDA	1.32±0.26 [°]	1.43±0.25 ^{†°}	1.52±0.24 ^{†°}	1.58±0.26 ^{††°}	1.62±0.24 ^{†††°}
	CK	192±35 [°]	213±36 ^{†°}	232±38 ^{†°}	252±42 ^{††°}	306±52 ^{†††°}
	CF	210±61 [°]		282±51 ^{††°}	306±61 ^{†††°}	306±61 ^{†††°}
	CR	0.034±0.008 [°]		0.024±0.005 ^{††°}	0.023±0.005 ^{††°}	0.023±0.005 ^{††°}

°MDA (nmol/ml); CK(IU/L); CR[kPa/(ml·100g·min)]; CF [ml/(100g·min)]

显著下降(Tab 1). 可见 Nic 能扩张冠状动脉, 并有效地对抗缺血再灌注损伤所致的冠脉阻力增加.

Nic 抗缺血再灌注心律失常的作用 溶剂对照组在心肌缺血时, 仅有室早发生, 其比率为 3/7; 再灌注期间, 室早、室速和室颤的发生比率分别为 7/7、6/7 和 2/7. 而 Nic 组在心肌缺血时, 无心律失常发生; 再灌注期间, 也只有室早发生, 其比率为 2/7. 可见 Nic 能明显对抗再灌注时室早和室速的发生 ($P < 0.05$ or 0.01).

DISCUSSION

氧自由基在心肌缺血再灌注损伤的病理发展过程中起重要作用⁽⁷⁾, 其主要细胞毒性反应是膜脂质过氧化⁽⁸⁾. MDA 是脂质过氧化的代谢产物, 其含量反映脂质过氧化程度, CK 释放量的多少, 可间接反映细胞的损伤程度, 本实验发现, Nic 能降低缺血再灌注心肌 MDA 含量和 CK 释放量, 提示 Nic 具有抗脂质过氧化作用, 这可能是其保护心肌缺血再灌注损伤重要因素.

Nic 能扩张冠脉, 降低室壁张力, 增加心肌营养性血流量⁽⁹⁾. 本文也观察到, Nic 能有效地对抗缺血再灌注损伤所致的冠脉阻力增加. 这些作用也可能是其保护心肌缺血再灌注损伤的原因之一.

再灌注心律失常与自由基有关⁽⁹⁾. 本文结果表明, 再灌注期间室性心律失常的发生率明显增加, Nic 具有抗再灌注心律失常作用, 这

是否与其抗脂质过氧化作用有关, 有待研究.

REFERENCES

- 1 Zhao DH, Fang KQ, Sheng BH. Antiarrhythmic effects of nicorandil. *Acta Pharm Sin* 1987; 22 : 250
- 2 Zhao DH, Chen SY, Fang KQ, Sheng BH. Effects of nicorandil on physiological properties of guinea pig papillary muscles. *Chin Pharmacol Bull* 1989; 5 : 112
- 3 Hess ML, Manson NH. Molecular oxygen: friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia / reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1984; 16 : 969
- 4 Irié H. Experimental studies on ischemic injury and reperfusion injury to the cardiac sarcoplasmic reticulum. The myocardial protective effect of nicorandil. *Jpn Circ J* 1988; 52 : 563
- 5 Hou D, Liu WY, Fang FZ, et al. The experimental study of prevention of myocardial reperfusion injury with free radical scavengers. *Perfusion* 1988; 3 : 205
- 6 张丽丽. 磷酸肌酸激酶测定. 见: 上海市医学化学研究所主编. 临床生化检验, 上册. 第 1 版, 上海: 上海科学技术出版社, 1982 : 337-40.
- 7 Ytrehus K, Myklebust R, MjØs OD. Influence of oxygen radicals generated by xanthine oxidase in the isolated perfused rat heart. *Cardiovasc Res* 1986; 20 : 597
- 8 Aono J, Akima M, Sakai K. Effects of N-(2-hydroxyethyl) nicotinamide nitrate (SG-75) on methacholine-induced ECG changes in intact anesthetized rats. *Jpn J Pharmacol* 1981; 31 : 823
- 9 Hearse DJ, Tosaki A. Free radicals and reperfusion-induced arrhythmias : Protection by spin trap agent PBN in the rat heart. *Circ Res* 1987; 60 : 375

~~~~~  
欢迎购阅《中国药理学报十年累积索引》

本刊采用电脑编印了《中国药理学报十年累积索引》, 通过刊载的作者名、中英文关键词名、刊登的年卷期页各单位单个项目索引可查到有关的相应资料, 大大方便了文献检索的需要. 特别适用于科技情报单位.

本刊加印了少量索引本, 每本定价 8.10 元, 欢迎购阅. 如有需要本软件者, 可与本刊编辑部联系.