

异丙酚对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

解丽君, 张建新, 李兰芳, 张勤增, 郝娜, 李立萍, 李国风
(河北省医学科学院药物所药理学研究室, 河北 石家庄 050021)

摘要: **目的** 探讨异丙酚的心肌保护作用及机制。**方法** 阻断大鼠左冠状动脉前降支 30 min, 再灌注 2 h 引起心肌缺血再灌注(I/R)损伤。缺血前 10 min 分别灌注异丙酚 3, 6 及 12 mg·kg⁻¹ 至再灌 12 h 后实验结束。记录心率和平均动脉压, 并计算心率-血压指数; 光镜电镜观察心肌组织的形态学变化; 原位末端标记检测心肌细胞凋亡率; 免疫组化染色和 Western 印迹检测心肌组织 NF-κB 和胱天蛋白酶 3 的表达。**结果** 与假手术组比较, I/R 组平均动脉压、血压-心率指数分别下降了 34% 和 32% ($P < 0.05$)。光镜电镜观察显示, I/R 组心肌纤维排列紊乱, 心肌细胞间及核周高度水肿; NF-κB 活化, 明显从细胞浆移位于细胞核, 表达量也显著增加 ($P < 0.05$); 胱天蛋白酶 3 表达增强 ($P < 0.01$), 心肌细胞凋亡指数由 5 ± 2 明显升高到 35 ± 5 ($P < 0.05$)。与 I/R 组相比, 异丙酚 6 和 12 mg·kg⁻¹ 组平均动脉压和血压-心率指数升高, 而心肌形态学损伤有所改善; NF-κB 从细胞浆向细胞核的移位被明显限制, NF-κB 的表达量也明显低于 I/R 组 ($P < 0.05$); 心肌胱天蛋白酶 3 表达减弱, 心肌细胞凋亡指数减少 ($P < 0.05$)。**结论** 异丙酚可能通过抑制 NF-κB 的活化, 下调胱天蛋白酶 3 的表达, 从而减轻心肌 I/R 损伤。

关键词: 异丙酚; 心肌再灌注损伤; 核因子-κB; 胱天蛋白酶 3

中图分类号: R963 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)01-0007-06

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.01.002

异丙酚(propofol)是一种临床广泛应用的静脉麻醉药。有研究表明, 其对离体心肌缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤有保护作用^[1-2], 但其对在体的心肌 I/R 损伤的影响及保护机制, 目前国内外少见报道。最近 Jin 等^[3]研究表明, 异丙酚通过减少细胞凋亡来限制 I/R 所致的大鼠心肌损伤。NF-κB 是一类氧化还原敏感的核转录因子, 能与靶基因增强子的 κB 位点结合, 在转录水平调控多种细胞因子、黏附分子和炎性介质的表达, 参与免疫反应、炎症反应和细胞凋亡等多种生物进程^[4]。近来研究表明, NF-κB 也存在于心肌细胞中, 它的活化及其调控的一系列信号分子的表达在心肌 I/R 中发挥了关键性的作用^[5]。因此, 本研究通过心肌 I/R 损伤大鼠动物模型, 观察心肌 I/R 时异丙酚对心肌细胞内 NF-κB 活化和细胞凋亡等的影响, 以进一步探讨异丙酚的心肌保护作用机制。

基金项目: 河北省卫生厅资助项目(05036)

作者简介: 解丽君(1972-), 女, 副主任医师, 博士, 主要从事心血管药理学研究, E-mail: xljer606@163.com; 张建新(1952-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事心脑血管药理学研究。

通讯作者: 张建新, E-mail: zhangjx100@163.com

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

异丙酚及脂肪乳(四川蜀乐药业股份有限公司); 鼠抗 NF-κB-p65、胱天蛋白酶 3 和 β 肌动蛋白单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司); 即用型免疫组化试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)试剂盒和辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 二抗(北京中杉金桥生物技术公司); 原位末端标记(TUNEL)检测试剂盒(德国宝灵曼公司)。Powerlab/8s 八通道生理记录仪(澳大利亚 AD Instrument 公司); 小动物呼吸机 DW-2B(河北医科大学仪器厂), 1-15k 高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司); BIO-PROFIF 凝胶扫描分析系统(法国 VL 公司); H-7500 型透射电子显微镜(日本 Hitachi 公司)。

1.2 动物、模型制备及分组

清洁级 SD 大鼠 60 只, 雄性体质量 250 ~ 300 g, 合格证号为冀医动字 060346, 由河北省实验动物中心提供。大鼠 ip 给予 1% 戊巴比妥钠 30 mg·kg⁻¹ 进行基础麻醉, 气管插管连接呼吸机, 潮气量为 8 ~ 12 ml·kg⁻¹, 通气频率 60 ~ 70 min⁻¹; 同时记录标准导联心电图。右侧颈总动脉插管, 连接压力换能器, 八通道生理记录仪记录血压、心率。左侧颈内静脉插管, 留置液路静脉输注药物。参照文献[6]建立大

鼠心肌 I/R 动物模型。缺血 30 min, 再灌注 2 h。心肌缺血依据心电图 ST 段抬高确认, 再灌注 ST 段恢复。

大鼠随机分为 5 组, 每组 12 只。① 假手术对照组: 仅开胸不结扎; ② I/R 模型组: 缺血前 10 min 开始持续静脉滴注以 5% 葡萄糖稀释的脂肪乳 $1.0 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$, 至再灌注 2 h 实验结束停止; ③ 异丙酚组 (异丙酚用 5% 葡萄糖稀释): 缺血前 10 min 开始分别持续静脉滴注异丙酚 3, 6 和 $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 至再灌注 2 h 实验结束时停止。

1.3 血流动力学指标的测定

分别于缺血前、缺血 30 min 末、再灌注 2 h 末记录心率 (heart rate, HR)、血压 (blood pressure, BP) 并计算血压-心率指数 (pressure-rate index, PRI)。PRI = 动脉压 \times 心率 / 1000, 反映心输出量。

1.4 光、电镜观察心肌组织的形态学变化

取经过 1.2 分组处理的大鼠, 每组 6 只取左心室前壁部分组织, 4% 多聚甲醛固定, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 常规石蜡包埋, 每个标本切取 $4 \mu\text{m}$ 厚的切片 5 张, 1 张用蛋白甘油粘合, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 光镜下观察心肌组织的病理学变化; 2 张用多聚赖氨酸粘合, 留作阴性对照及免疫组化染色; 其余 2 张用于原位末端标记 (TUNEL) 检测。电镜标本制备: 将心尖部组织 (每组 2 只) 冰台上切成 $2 \text{ mm} \times 2 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ 小块, 2.5% 戊二醛固定, 超薄切片, 透射电镜观察心肌超微结构的变化。

1.5 TUNEL 检测心肌细胞凋亡

取 1.4 制备的石蜡切片 (每组 6 只, 每只 2 张切片), 常规脱腊至水, 新配制的 3% H_2O_2 溶液中室温放置 10 min, 封闭内源性过氧化物酶; 蛋白酶 K 37°C 消化 30 min, 加 TUNEL 混合液, 湿盒 37°C , 60 min, 加入转化剂, 37°C , 30 min, DAB 显色, 苏木精复染, 中性树胶封片。标记前用 DNA 酶处理切片做阳性对照, 用标记液代替 TUNEL 反应液做阴性对照。阳性细胞核和 (或) 细胞碎片呈深浅不一的棕黄色, 每张切片随即选取 10 个视野 ($\times 400$), 计数凋亡细胞 (每个视野计数 100 个心肌细胞), 凋亡率 (%) = (视野内凋亡细胞数 / 视野内所有心肌细胞数) $\times 100\%$ 。

1.6 免疫组化染色观察心肌组织 NF- κ B 的表达

取 1.4 制备的光镜切片 (每组 6 只, 每只 2 张切片), 采用链酶亲和素-过氧化物酶 (SABC) 法对心肌石蜡切片进行免疫组化染色。以 PBS 液代替一抗作为阴性对照, NF- κ B p65 的阳性表达呈棕黄色颗粒, 位于胞质和胞核。每张切片取 10 个高倍视野, 计数每个视野中胞核阳性表达心肌细胞数, 然后计

算得出每张切片 10 个视野中总的阳性表达细胞数。

1.7 Western 印迹法检测心肌组织 NF- κ B 和胱天蛋白酶 3 的表达

取液氮中保存的心肌组织标本 (每组 6 只, 每个标本取约 100 mg), 剪碎, 加入 1 ml 裂解液 [0.6% NP-40, HEPES $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.9, NaCl $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, EDTA $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 苯甲基磺酰氟 (PMSF) $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 抑肽酶 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$], 匀浆, 4°C , $3000 \times g$ 离心 10 min, 去上清, 所得沉淀即为细胞核。将收集的细胞核加入 4 倍体积的核蛋白提取液 [25% 甘油, HEPES $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 7.9), NaCl $420 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, MgCl_2 $1.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, EDTA $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, PMSF $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 二硫苏糖醇 (DTT) $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以及抑肽酶和亮抑肽酶各 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$], 匀浆器研磨, 4°C , $12\ 000 \times g$ 离心 30 min 后收集上清 (核蛋白液), 蛋白定量后保存于 -80°C 备用。取胞核蛋白样品加等体积的电泳样品缓冲液加热变性后, 每泳道上样 $20 \mu\text{g}$ 蛋白, 经 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电转膜。丽春红 S (Ponceau S) 染色确定转膜情况并标记蛋白质标准参照物位置。5% 脱脂奶粉于 37°C 封闭 2 h。先后加入一抗 (大鼠抗 NF- κ B p65 单克隆抗体或大鼠抗 β 肌动蛋白单克隆抗体) 和辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG, DAB 显色液显色。阳性结果区域显深棕色。拍摄滤膜照片, 并通过凝胶成像系统扫描分析灰度值, β 肌动蛋白为内参照, 结果用目的蛋白/内参照的积分吸光度 (integrated absorbance, IA) 的比值表示。

取心肌组织约 100 mg, 剪碎, 加入 1 ml 裂解液 (1% NP-40, 1% 十二烷基硫酸钠 (SDS), NaCl $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐 (Tris-Cl) $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.5, 10% 甘油, 钒酸钠 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, PMSF $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 冰浴中匀浆, 充分裂解细胞, $12\ 000 \times g$ 离心 15 min, 上清即为胞浆蛋白。蛋白定量后保存于 -80°C 备用。按照上述方法检测胱天蛋白酶 3 的表达。

1.8 统计学分析

实验结果数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS11.5 软件进行统计学分析, 单因素方差分析及 Dunnett *t* 检验。

2 结果

2.1 异丙酚对缺血再灌大鼠心肌血流动力学的影响

I/R 造模后, I/R 组和异丙酚 3, 6 和 $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组大鼠的动脉压、血压-心率指数均呈进行性下降, 明显低于假手术组 ($P < 0.05$), 其中 I/R 组

分别下降了 34% 和 32%。异丙酚 12 mg·kg⁻¹ 组在 I/R 后的动脉压和血压-心率指数明显高于 I/R 组 ($P < 0.05$), 异丙酚 3 和 6 mg·kg⁻¹ 组 I/R 后平均动脉压和血压-心率指数与 I/R 组未见明显差异(表 1)。

2.2 异丙酚对缺血再灌大鼠心肌组织的形态的影响

电镜下观察心肌组织超微结构, 假手术组大鼠心肌纤维排列整齐(图 1A), 线粒体膜完整, 嵴清晰(图 2A)。I/R 组心肌纤维排列紊乱, 心肌细胞间及核周高度水肿(图 1B); 线粒体膜严重肿胀, 嵴排列紊乱, 断裂、溶解和消失; 线粒体内糖原颗粒明显减少(图 2B), 提示代谢障碍。与 I/R 组相比, 异丙酚组心肌损伤明显减轻(图 1C, 2C; 图 1D, 2D), 尤其是异丙酚 12 mg·kg⁻¹ 组, 心肌纤维排列均匀(图 1E), 线粒体膜结构完整, 仅轻度水肿, 嵴清晰, 可见糖原(图 2E)。

光镜观察心肌组织的形态学变化, 假手术组大鼠心肌细胞排列整齐, 胞膜完整, 无变性坏死等改变(图 3A); I/R 组大鼠部分区域心肌细胞浊肿, 心肌纤维横纹不清或消失, 核裂解消失(图 3B); 异丙酚给药组亦有心肌细胞变性坏死改变(图 3C, 3D), 但程度较 I/R 组轻, 尤以异丙酚 12 mg·kg⁻¹ 组为好(图 3E)。

2.3 异丙酚对缺血再灌注大鼠心肌凋亡的影响

TUNEL 染色结果(图 4)显示, 凋亡细胞核和(或)细胞碎片呈深浅不一的棕黄色, 计数结果表明, I/R 组的心肌细胞凋亡率为(35 ± 5)%, 明显高于假手术组的细胞凋亡率(5 ± 2)% ($n = 6, P < 0.05$), 异丙酚 3, 6 和 12 mg·kg⁻¹ 组的心肌细胞凋亡率分别为(29 ± 5)%, (24 ± 6)% 和(20 ± 4)%, 其中异丙酚 6 和 12 mg·kg⁻¹ 组细胞凋亡指数明显低于 I/R 组($n = 6, P < 0.05$)。

表 1 异丙酚对缺血再灌(I/R)大鼠心心率、平均动脉压和血压-心率指数的影响

Tab.1 Effect of propofol on heart rate, mean arterial pressure and cardiac output consumption in myocardial ischemia-reperfusion(I/R) in rats

组别	心率/min ⁻¹			平均动脉压/kPa			血压-心率指数		
	基础	缺血 30 min	再灌 2 h	基础	缺血 30 min	再灌 2 h	基础	缺血 30 min	再灌 2 h
假手术	347 ± 13	356 ± 13	361 ± 21	13.5 ± 1.0	13.1 ± 0.8	12.9 ± 0.7	34.1 ± 3.2	32.9 ± 2.9	33.2 ± 1.9
I/R	359 ± 15	315 ± 13	292 ± 13*	13.2 ± 0.8	10.3 ± 0.7**	9.6 ± 0.8**	33.3 ± 2.8	23.7 ± 2.4**	22.6 ± 2.3**
异丙酚 3	345 ± 14	326 ± 16	285 ± 21*	13.0 ± 0.8	10.1 ± 0.8**	9.8 ± 0.9**	32.7 ± 2.4	23.8 ± 3.0**	23.4 ± 1.6**
6	353 ± 11	322 ± 22	301 ± 18*	13.1 ± 0.7	10.4 ± 1.0*	10.1 ± 1.0**	33.4 ± 4.2	25.3 ± 1.8**	24.7 ± 1.9**
12	344 ± 12	329 ± 15	296 ± 23*	12.8 ± 0.9	11.3 ± 0.6**	10.9 ± 0.9**	31.5 ± 1.1	26.5 ± 2.4**##	25.3 ± 1.7***

大鼠缺血 30 min, 再灌注 2 h 建立 I/R 模型。I/R 组和异丙酚组大鼠分别于缺血前 10 min 持续静脉滴注稀释的脂肪乳 10 ml·kg⁻¹ 或异丙酚 3, 6 和 12 mg·kg⁻¹, 至再灌注 2 h 实验结束时停止。血压-心率指数 = 心率 × 平均动脉压/1000。x ± s, n = 12。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与假手术组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与 I/R 组比较。

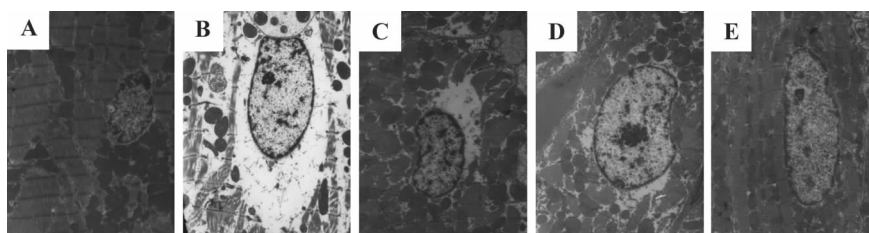


图 1 电镜观察异丙酚对 I/R 大鼠心肌组织超微结构的影响 (×4000)。分组处理见表 1。A: 假手术组; B: I/R 组; C: 异丙酚 3 mg·kg⁻¹; D: 异丙酚 6 mg·kg⁻¹; E: 异丙酚 12 mg·kg⁻¹。

Fig.1 Effect of propofol on ultrastructure changes of myocardium of I/R rats by electron microscope (×4000).

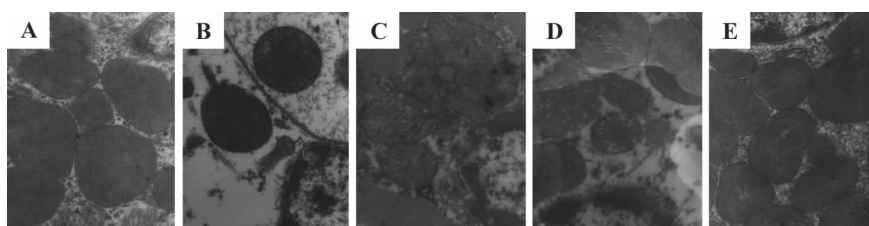


图 2 电镜观察异丙酚对 I/R 大鼠心肌线粒体的影响 (×25 000)。分组处理见表 1。A: 假手术组; B: I/R 组; C: 异丙酚 3 mg·kg⁻¹; D: 异丙酚 6 mg·kg⁻¹; E: 异丙酚 12 mg·kg⁻¹。

Fig.2 Effect of propofol on myocardium mitochondria of I/R rats by electron microscope (×25 000).

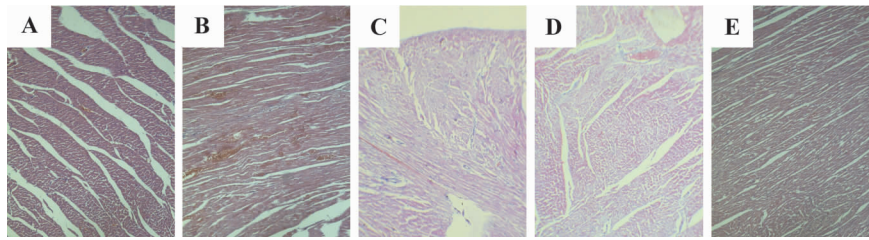


图 3 光镜观察异丙酚对 I/R 大鼠心肌组织形态结构的影响 (HE × 200)。分组处理见表 1。A: 假手术组; B: I/R 组; C: 异丙酚 3 mg·kg⁻¹; D: 异丙酚 6 mg·kg⁻¹; E: 异丙酚 12 mg·kg⁻¹。

Fig. 3 Effect of propofol on pathological changes of myocardium of I/R rats by light microscope (HE × 200).

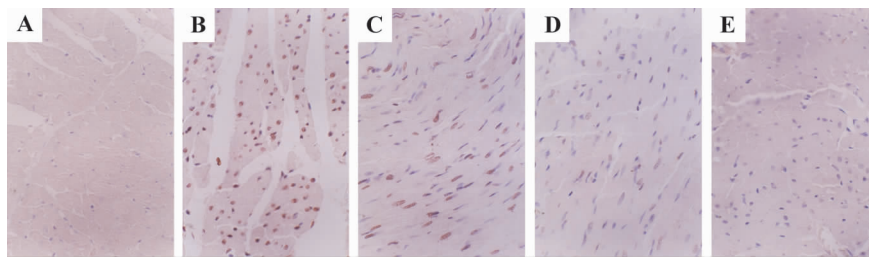


图 4 TUNEL 法检测 I/R 后心肌细胞凋亡 (× 200)。A: 假手术组; B: I/R 组; C: 异丙酚 3 mg·kg⁻¹; D: 异丙酚 6 mg·kg⁻¹; E: 异丙酚 12 mg·kg⁻¹。阳性细胞核和(或)细胞碎片呈深浅不一的棕黄色。

Fig. 4 Effect of propofol on the cardiomyocytes apoptosis by TUNEL staining after I/R in rats (× 200).

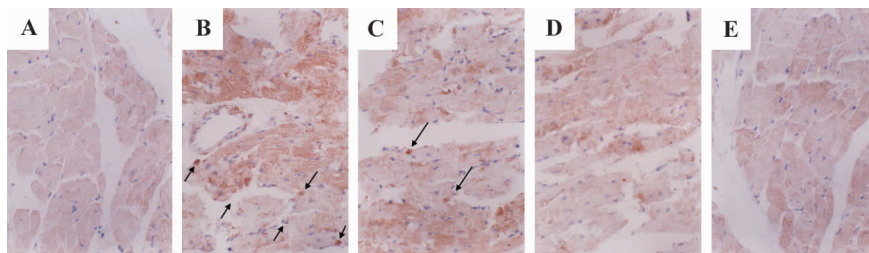


图 5 免疫组化法检测异丙酚对 I/R 大鼠心肌 NF-κB 表达的影响 (× 200)。NF-κB p65 的阳性表达呈棕黄色颗粒, 位于胞质和胞核。A: 假手术组; B: I/R 组; C: 异丙酚 3 mg·kg⁻¹; D: 异丙酚 6 mg·kg⁻¹; E: 异丙酚 12 mg·kg⁻¹。

Fig. 5 Effect of propofol on NF-κB in myocardium by immunohistochemistry after I/R in rats (× 200).

2.4 异丙酚对缺血再灌注大鼠心肌 NF-κB 表达和胱天蛋白酶 3 的影响

免疫组化结果显示(图 5),假手术组大鼠心肌组织中 NF-κB 呈低表达,且阳性表达仅出现在胞质中,而阴性表达的胞核为蓝色(图 5A);I/R 组中 NF-κB 表达增强,棕黄色的阳性颗粒出现在胞质和胞核,部分胞核染成棕黄色(图 5B),即 NF-κB 活化,出现了核移位。异丙酚 6 和 12 mg·kg⁻¹组 NF-κB 阳性表达数明显减少(图 5C)(表 2)($P < 0.05$)。

Western 印迹结果表明,假手术组仅有微量的 NF-κB 的表达;与假手术组相比,I/R 后的各组 NF-κB 表达量均显著增加($P < 0.01$),异丙酚 6 和 12 mg·kg⁻¹组 NF-κB 的表达明显低于 I/R 组($P < 0.05$)。假手术组仅有少量的胱天蛋白酶 3 的表达;与假手术组相比,I/R 后胱天蛋白酶 3 表达量显著增加($P < 0.01$)。与

I/R 组相比,异丙酚 6 和 12 mg·kg⁻¹组胱天蛋白酶 3 的表达明显降低($P < 0.05$)(表 2, 图 6)。

表 2 异丙酚对 I/R 大鼠心肌细胞 NF-κB 和胱天蛋白酶 3 表达的影响

Tab. 2 Effect of propofol on expression of NF-κB and caspase 3 in myocardium after I/R in rats

组别	NF-κB 阳性细胞数	蛋白表达 (IA _{目标蛋白} : IA _{β肌动蛋白})	
		胱天蛋白酶 3	NF-κB
假手术	1.6 ± 0.7	0.34 ± 0.004	0.63 ± 0.14
I/R	16.4 ± 4.7**	1.79 ± 0.100**	1.90 ± 0.09**
异丙酚 3	14.3 ± 4.5**	1.18 ± 0.022**	1.78 ± 0.08**
6	12.6 ± 3.6**#	0.97 ± 0.017**#	1.59 ± 0.21**#
12	10.3 ± 5.3**#	0.68 ± 0.015**#	1.54 ± 0.15**#

NF-κB 阳性细胞数为每个高倍视野下的个数。x̄ ± s, n = 6. ** $P < 0.01$, 与假手术组比较; # $P < 0.05$, 与 I/R 组比较。

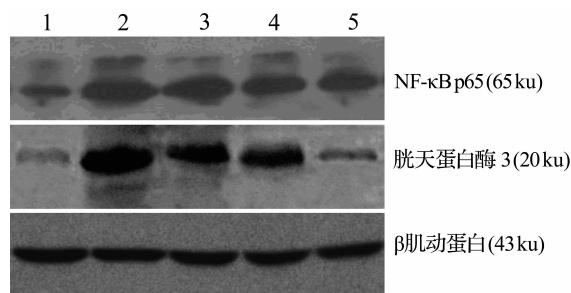


图 6 Western 印迹法检测异丙酚对 I/R 大鼠心肌 NF- κ B 和胱天蛋白酶 3 表达的影响。条带 1: 假手术组; 条带 2: I/R 组; 条带 3~5: 分别为异丙酚 3, 6 和 12 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。

Fig. 6 Effect of propofol on expressions of NF- κ B and caspase 3 in myocardium after I/R in rats by Western blotting.

3 讨论

1986 年 Murry 等^[7]首次提出缺血预适应对心肌 I/R 损伤有保护作用, 人们相继发现一些药物如腺苷和麻醉药等进行预处理也同样具有心肌保护作用。麻醉药使用更为方便、易控和安全, 从而成为一种重要的围术期心肌保护手段。

心肌 I/R 时机体处于氧化应激状态, 大量氧自由基的产生是 I/R 损伤的主要机制之一。异丙酚是近年来广泛应用于临床麻醉和 ICU 镇静的静脉麻醉药, 其化学结构类似于内源性抗氧化剂维生素 E 和外源性抗氧化剂丁羟基甲苯, 可直接与自由基反应使自由基灭活^[8]。研究表明, 异丙酚可以改善离体心脏 I/R 的机械功能以及促进能量代谢的恢复, 减少 I/R 所致的脂质过氧化产物的聚积^[1,9], 从而发挥其心肌保护作用。在体研究方面, 朱科明等^[10]的研究表明, 犬急性心肌 I/R 损伤时, 异丙酚对冠脉循环、左心室功能有一定的保护作用。Jin 等^[3]报道在缺血期给大鼠输注 12 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的异丙酚改善再灌注后心脏的机械功能, 使血清中肌钙蛋白水平下降、心肌梗死面积减小。本研究建立大鼠在体心肌 I/R 损伤模型, 结果表明, 在 I/R 期间输注异丙酚 6 和 12 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的改善了心功能, 减轻了 I/R 所致的心肌组织的形态损伤。与上述研究报道一致。所采用的剂量是参照临床异丙酚麻醉维持剂量 6 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和镇静剂量 3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 而设计的, 该高剂量下大鼠仅处于麻醉维持, 对心肌电生理未见明显影响。

NF- κ B 是一个重要的转录因子, 普遍存在于真核细胞中参与许多基因的表达和调控并介导多种病理生理过程^[11]。近年研究表明, NF- κ B 亦存在于心肌细胞中, 参与心肌 I/R 导致的炎症反应、凋亡和坏死等多种信号转导途径, 发挥了关键性作用^[4,12]。Li 等^[12]通过离体心脏 I/R 模型研究发现, 心脏单纯短暂缺血 5 min 即可引起 NF- κ B 活性迅速地显著性

升高, 而心肌再灌注则进一步放大缺血所致的 NF- κ B 激活效应, 导致了 NF- κ B 的持续激活, 这说明 NF- κ B 是心脏应激反应快速表达基因。另有研究表明, NF- κ B 的持续活化与心肌 I/R 损伤后的细胞凋亡有关, 并且认为活化的 NF- κ B 是通过诱导 Fas, FasL, p53 和胱天蛋白酶 3 等凋亡促进基因的表达和抑制抗凋亡基因 Bcl-2 的生成而产生促凋亡作用^[13]。用基因转染、敲除或特异性抗体抑制 NF- κ B 活化则显著降低心肌梗死面积, 保护 I/R 心肌^[14]。

本研究结果显示, 心肌 I/R 后, NF- κ B 明显从细胞质移位于细胞核内, 核 NF- κ B 表达量显著增加, 凋亡的效应分子和执行者胱天蛋白酶 3 的表达增加, 细胞凋亡指数明显升高。在 I/R 期间输注异丙酚 6 和 12 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可明显抑制 NF- κ B 的活化, 降低胱天蛋白酶 3 的表达和心肌细胞凋亡指数。因此, 异丙酚可能是通过其抗氧化作用减少了氧自由基的产生, 抑制 NF- κ B 的活化, 下调胱天蛋白酶 3 的表达, 干扰心肌细胞凋亡的启动, 从而减轻了心肌 I/R 损伤。然而心肌 I/R 损伤是一多渠道、多环节的复杂的病理生理过程, 异丙酚对损伤的保护作用, 其相应机制以及临床应用价值, 都有待进一步深入地研究。

参考文献:

- [1] 解丽君, 赵松, 张建新, 李兰芳. 丙泊酚通过抑制线粒体途径的细胞凋亡保护心肌缺血再灌注损伤[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2007, **21**(4): 247-254.
- [2] Kokita N, Hara A, Abiko Y, Arakawa J, Hashizume H, Namiki A. Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts[J]. *Anesth Analg*, 1998, **86**(2):252-258.
- [3] Jin YC, Kim W, Ha YM, Shin IW, Sohn JT, Kim HJ, et al. Propofol limits rat myocardial ischemia and reperfusion injury with an associated reduction in apoptotic cell death *in vivo*[J]. *Vascul Pharmacol*, 2009, **50**(1-2):71-77.
- [4] Wong ET, Tergaonkar V. Roles of NF-kappaB in health and disease: mechanisms and therapeutic potential[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2009, **116**(6):451-465.
- [5] Gutiérrez SH, Kuri MR, del Castillo ER. Cardiac role of the transcription factor NF-kappaB[J]. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 2008, **8**(2):153-160.
- [6] 王淑侠, 兰小莉, 王吉文, 裴著果. 大鼠心肌缺血/再灌注损伤模型的改进与评价[J]. 解剖科学进展, 2000, **6**(4): 371-373.
- [7] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning

- with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. *irculation*, 1986, **74**(5):1124-1136.
- [8] Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, Webster NR, Jones JG. The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol)[J]. *Br J Anaesth*, 1992, **68**(6):613-618.
- [9] Kokita N, Hara A, Abiko Y, Arakawa J, Hashizume H, Namiki A. Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts [J]. *Anesth Analg*, 1998, **86**(2):252-258.
- [10] 朱科明, 邓小明, 徐美英, 刘树孝. 异丙酚对犬急性心肌缺血再灌注损伤时血流动力学的影响[J]. *中国急救医学*, 2001, **21**(3):128-130.
- [11] Pasparakis M. Regulation of tissue homeostasis by NF-kappaB signalling: implications for inflammatory dis-
- eases[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, **9**(11):778-788.
- [12] Li C, Browder W, Kao RL. Early activation of transcription factor NF-kappaB during ischemia in perfused rat heart [J]. *Am J Physiol*, 1999, **276**(2 Pt 2):H543-H552.
- [13] Kin H, Wang NP, Mykytenko J, Reeves J, Deneve J, Jiang R, et al. Inhibition of myocardial apoptosis by post-conditioning is associated with attenuation of oxidative stress-mediated nuclear factor-kappa B translocation and TNF alpha release[J]. *Shock*, 2008, **29**(6):761-768.
- [14] Morishita R, Sugimoto T, Aoki M, Kida I, Tomita N, Moriguchi A, et al. *In vivo* transfection of cis element "decoy" against nuclear factor-kappaB binding site prevents myocardial infarction[J]. *Nat Med*, 1997, **3**(8):894-899.

Protective effect of propofol on myocardium ischemia/reperfusion injury in rats

XIE Li-jun, ZHANG Jian-xin, LI Lan-fang, ZHANG Qin-zeng, HAO Na, LI Li-ping, LI Guo-feng
(Department of Pharmacology, Institute of Materia Medica, Hebei Academy of Medical Sciences,
Shijiazhuang 050021, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To explore molecular mechanisms of propofol in myocardial protection. **METHODS** Rat myocardium ischemia/reperfusion(I/R) injury was induced by occluding the left main coronary artery for 30 min and reperfusion for 2 h. Propofol 3, 6 and 12 mg·kg⁻¹ was intravenously given 10 min before ischaemia till the end of experiment. Heart rate (HR) and mean arterial blood pressure (MAP) were recorded, and pressure-rate index (PRI) was calculated. The pathological changes of myocardium were examined by light and electron microscopy. Translocation of NF-κB in the cardiomyocytes was detected by immunohistochemistry. Expressions of NF-κB and caspase 3 were determined by Western blotting. The incidence of cardiomyocyte apoptosis was detected by TdT-mediated dUTP nick end labeling staining. **RESULTS** The cardiac function parameters (MAP, PRI) in I/R group were lower than those of sham group ($P < 0.05$). Compared with I/R group, propofol 6 and 12 mg·kg⁻¹ resulted in improvement in MAP and PRI, respectively ($P < 0.05$). The pathological changes of myocardium induced by I/R injury, such as cardiomyocyte swelling and mitochondrial membrane swelling, the cristae disruption were significantly alleviated by propofol 6 and 12 mg·kg⁻¹. Compared with sham control group, expression of NF-κB in the nuclei markedly increased in I/R group ($P < 0.05$). In addition, expression of caspase 3 and apoptotic index were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with I/R group, propofol 6 and 12 mg·kg⁻¹ significantly attenuated expression of NF-κB in the nuclei ($P < 0.05$), decreased expression of caspase 3 in myocardium ($P < 0.05$) and inhibited occurrence of cardiomyocytes apoptosis. **CONCLUSION** Propofol can inhibit NF-κB activation and down-regulate the expression of caspase 3 and as a result suppress cardiomyocytes apoptotic initiation during the myocardium I/R injury, which may be one of the molecular mechanisms of its cardioprotection.

Key words: propofol; myocardial reperfusion injury; nuclear factor-κ B; caspase 3

Foundation item: The project supported by Health Bureau of Hebei Province (05036)

Corresponding author: ZHANG Jian-xin, E-mail: zhangjx100@163.com

(收稿日期: 2010-03-09 接受日期: 2010-07-27)

(本文编辑: 乔虹)