

简 报

ATP-MgCl₂ 对心肌缺血再灌注产生 O₂⁻ 的清除作用

金基焕 杨宗伟 李香善* 李素香*

(延边医学院附属医院心胸外科, 延吉 133000)

关键词 三磷酸腺苷 (ATP), 氯化镁 (MgCl₂), 氧自由基 (O₂⁻)

McCord^[1] 的研究结果表明, 心肌缺血再灌注性损伤是活性氧自由基——主要是超氧阴离子自由基的毒性引起的。我们的研究^[2]证明, ATP-MgCl₂ 心脏冷停搏保护液在动物实验和临床心脏外科手术中, 对缺血缺氧心肌有着十分满意的保护作用。

我们用电子自旋共振波谱仪 (ESR) 分别检测了以含氧灌注液、含氧灌注液加入 SOD 和含氧灌注液加入 ATP-MgCl₂ 对离体兔心再灌注时氧自由基的变化, 以阐明 ATP-MgCl₂ 是否具有清除活性氧自由基的作用。

材 料 和 方 法

一、实验动物及试剂

实验动物为正常家兔, 体重 1.5~4kg, 雌雄兼用。

灌注液为改良的生理盐水 (PSS)^[3], 其成分为 NaCl 118, KCl 54, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1, CaCl₂ 2.4, 葡萄糖 10(mmol/L), pH7.4。使用前通入 95% O₂ 和 5% CO₂ 的混合气体, 测得气体含量为 P_{O₂} 57.3, P_{CO₂} 35.1, pH7.339。

超氧化物歧化酶 (SOD) 150 000U/L;

ATP-MgCl₂ 50μmol/L·kg。

二、仪器

电子自旋共振波谱仪 (ESR), 型号为 ER-2000-SRC-10/12。

三、方法

将兔随机分成三组: 含氧灌注液组 (对照组); SOD 组; ATP-MgCl₂ 组。每组 8 只。实验前禁食 16 小时, 术前半小时静脉肝素化 (1200U/kg 体重)。开胸后迅速摘取心脏置于 37℃ 恒温箱中。致心肌缺血缺氧 30min 后, 立即经主动脉插管, 以灌注液灌注。然后, 立即切开左心室壁, 把左心室游离壁切成条状, 以制备心肌样品。将其装入外径为 6mm 的石英样品管内 (约 3cm 高), 立即放入液氮中速冻。将冷冻的样品放入 ESR 中检测活性氧自由基。ESR 测定条

件为: 温度: -150℃, 微波频率 9.48GHz, 调制 2.5G, 时间常数 500ms, 中心磁场 3372.48G。

结 果

分别以三种灌注液灌注, 其 ESR 波谱如图 1 所示。用含氧灌注液出现一大一小两个峰, 其 g 因子值分别为 2.0043 及 2.039, 是由氧自由基产生的^[4,5]。SOD 组的 ESR 波谱, 与上述小峰相对应的峰几乎消失, 而 ATP-MgCl₂ 组的波谱该小峰明显减小。说明 SOD 和 ATP-MgCl₂ 都具有清除氧自由基的作用。按微元法 $S = \int_0^{\infty} f(x)dx$ 计算每个波谱中小峰的面积, 以此表示活性氧自由基的相对浓度。对其计算结果进行统计学处理得出: SOD 组的波谱面积显著小于对照组

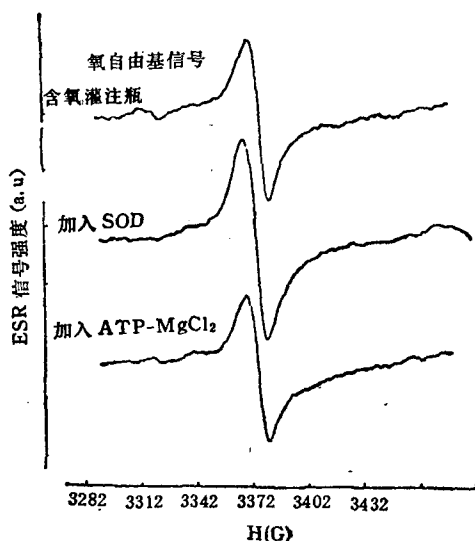


图 1 ESR 检测活性氧自由基波谱

* 本院心血管研究室

表1 检测活性氧自由基信号波谱面积

分组	信号波谱面积 mm ²									比率 (%)	P 值
	n1	2	3	4	5	6	7	8	合计		
含氧灌注液 (对照组)	23.50	27.94	24.60	30.39	33.42	20.92	50.20	43.86	255.15	100	
SOD 组	12.68	12.54	6.95	15.14	7.50	11.82	10.86	12.38	89.87	35.22	<0.01
ATP-MgCl ₂ 组	18.00	8.66	17.70	14.92	27.98	19.60	10.16	10.22	127.24	49.86	<0.01

n: 每组实验动物序号。

($P < 0.01$), ATP-MgCl₂ 组的面积亦显著小于对照组($P < 0.01$), 而 SOD 组与 ATP-MgCl₂ 组之间无显著性差异($P > 0.05$)。结果详见表 1。

讨 论

已有许多研究表明, 心肌细胞再灌注性损伤与活性氧自由基的作用有关。而再灌注性损伤的发病和病理变化, 特别是在亚细胞、分子水平上的研究, 还有待于应用更灵敏的方法进行研究。电子自旋共振波谱技术是获得氧自由基信息最有效的手段。这种方法简便、灵敏度高、专一性强。

现在一般认为^[6], 再灌注性损伤为心肌遭受一段时间缺氧后, 恢复冠状循环的早期出现细胞内 Ca²⁺ 蓄积, 心肌细胞急剧水肿, 氧和基质的利用能力下降, 高能磷酸盐和糖原减少, 超微结构发生改变所致^[7]。

在心肌缺血时, 首先是部分 ATP 降解为 AMP 和腺苷等, 可导致组织内次黄嘌呤和黄嘌呤堆积。当再灌注恢复供氧时, 它们在黄嘌呤氧化酶的作用下产生大量氧自由基。而且, 缺血时局部组织释放的儿茶酚胺和进入缺血组织内的白细胞被激活也可促进氧自由基的生成。与此同时, 心肌内源性 SOD、过氧化氢酶(CAT) 等物质的浓度下降, 不足以清除氧自由基, 从而导致心肌损伤。

再灌注时, 应用外源性氧自由基清除剂或抑制剂可减轻或避免这种损伤^[8]。很多学者对此进行了研

究, 已有多种实验药物临床应用的报告。目前已证明具有抗自由基作用的物质主要有 SOD、CAT 等。Shlafer 等^[9]报道, 在心停搏液中添加 SOD 和 CAT 能明显减轻再灌注性损伤。同时还观察到, 这两种氧自由基清除剂在缺血时的最初 5 分钟或再灌注刚开始时使用效果较好。我们的实验证明, ATP-MgCl₂ 也能有效地清除氧自由基, 对心肌再灌注性损伤具有良好的保护作用。

本实验得到了安徽省心血管病研究所、中国科技大学结构成分分析中心、吉林大学测试中心的大力协助, 在此特表谢意。

参 考 文 献

- McCord J M. *N Engl J Med*, 1985; **312**: 159
- 金基焕等. 中华麻醉学杂志, 1986; **6**: 261
- Shlafer M et al. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1982; **83**: 830
- Knowles P F et al. *Biochem J*, 1969; **111**: 53
- 杨卫东等. 中华心血管病杂志, 1989; **17**(3): 178
- Ambrosio G et al. *Circulation*, 1987; **75**: 282
- Kloner R A et al. *Am J Pathol*, 1974; **74**: 399
- 陈长志. 国外医学——心血管疾病分册, 1989; **1**: 22
- Shlafer M et al. *Circulation*, 1982; **66** (Suppl 1): 85

[本文于 1989 年 9 月 22 日收到]

实 用 技 术 资 料 四 项

鱼鳖混养技术 (5919 号) 据湖南某特种水产研究所试验表明, 采用鱼鳖混养的试验塘, 每亩净产鲜鱼 405.5 千克, 净增鳖 145 千克, 经济效益十分可观。内容包括成鱼成鳖、亲鱼亲鳖混养、鱼种池混养幼鳖及鱼鳖混养的好处。资料费: 单位 20 元, 个人 15 元。

向日葵油的提炼与加工技术 (5927 号) 内容包括种子的准备、脱壳、提炼、精制、脱色与脱臭、冬化、油的稳定性及副产品的处理等工艺流程。资料费: 单位 14 元, 个人 10 元。

南瓜制果胶新技术 (5929 号) 资料费: 单位 7 元, 个人 5 元。

胆红素生产开发现状及其发展趋势 (5934 号) 本资料介绍了胆红素钙盐间接抽提法、氯仿直接抽提法、无醇法、离子交换树脂法、色层快速提取法共五种提取技术, 分析了它们各自的优缺点。并对今后胆红素生产的发展趋势进行了科学的展望。资料费: 单位 25 元。个人 20 元。

[北京市星火技术研究所, 北京 867 信箱 20816 组李群, 邮编: 100024]