

## · 基础研究 ·

## 硝苯地平恶化低钾状态下心脏缺血再灌注后舒张功能

冯建宇, 肖国胜, 金振晓, 姚 远, 张建英, 陈文生, 周京军

**[摘要]:**目的 评价钙通道阻断剂硝苯地平对低钾状态下心脏功能的影响。方法 离体大鼠心脏接受低钾 KH 液灌注, 其中  $K^+$  浓度为  $3.1 \text{ mmol/L}$ , 实验全程记录左室发展压 (LVDP)、左室舒张末压 (LVEDP) 和左室内压变化速率 ( $dp/dt$ ) 的变化。结果 1 h 全心缺血和 1 h 再灌注处理后, LVDP、 $dp/dt$  均较缺血前显著降低, LVEDP 显著升高; 与对照组相比, 再灌注开始后前 15 min 使用含  $0.5 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$  的 KH 灌注, 检测指标均明显改善, 但是再灌注开始后前 10 min 给予  $1 \text{ mol/L}$  硝苯地平显著升高 LVEDP。结论 钙稳态失衡是低钾灌注心脏缺血再灌注后功能损伤的重要原因, 硝苯地平恶化心脏舒张功能, 其机制有待进一步研究。

**[关键词]:** 钙离子; 低血钾; 硝苯地平; 心功能

**[中图分类号]:** R654.1 **[文献标识码]:** A **[文章编号]:** 1672-1403(2012)01-0051-03

## Nifedipine worsens recovery of diastolic function after ischemia/reperfusion in heart perfused with low $K^+$ buffer

Feng Jian-yu, Xiao Guo-sheng, Jin Zhen-xiao, Yao Yuan, Zhang Jian-ying, Chen Wen-sheng, Zhou Jing-jun

Cardiovascular surgery of Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032 PR China; Xiamen Heart Center, Cardiology of Zhongshan Hospital, Xiamen University, Xiamen 361004 PR China

Corresponding author: Chen Wen-sheng, Email: chenws@fmmu.edu.cn;

Xiao Guo-sheng, Email: xgs71@163.com

**[Abstract]: Objective** The purpose of this study was to evaluate the effect of nifedipine, the calcium channel blocker, on myocardial contractile changes induced by low  $K^+$  perfusion. **Methods** Isolated rat hearts were perfused with modified KH solution containing  $3.1 \text{ mmol/L K}^+$ . The left ventricular developed pressure (LVDP), left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP), and  $dp/dt$  of left ventricle were monitored. **Results** After 1 h ischemia/1 h reperfusion, there were a marked decrease in LVDP and  $dp/dt$ , and an increase in LVEDP. Perfusion with  $0.5 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$  during the first 15 min reperfusion significantly improved the contractile dysfunction. However, nifedipine, which was given during the first 10 min reperfusion, significantly increased the level of LVEDP. In addition, nifedipine produced a trend of decrease in LVDP and  $dp/dt$ , although no statistical significance. **Conclusion** Those results confirmed that calcium overload mediates ischemia/reperfusion-induced contractile dysfunction in heart perfusing with low potassium, and also suggested that nifedipine produces exacerbated effect on the ischemic heart.

**[Key words]:** Calcium; Nifedipine; Hypokalemia; Heart function

钾是维持机体正常生理机能不可缺少的电解质, 哺乳动物的血钾浓度介于  $3.5 \sim 5.9 \text{ mmol/L}$ , 在临床高血压、慢性心衰者常伴随不同程度的血钾浓度降低, 现通常把血钾浓度  $< 3.5 \text{ mmol/L}$  时界定

为低钾血症<sup>[1]</sup>。目前认为, 低钾血症是心源性猝死的重要因素之一, 死亡原因可能与患者出现恶性心律失常密切相关。近期我们的研究发现, 低钾可使缺血后再灌注心肌产生胞内钙振荡、并降低心功能<sup>[2-3]</sup>, 提示加重胞内钙超载可能是低钾心肌损伤的又一重要机制。因此, 探讨低钾血症影响心肌钙稳态的机理有助于揭示其损伤机制, 为临床纠治低钾血症提供理论依据。

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(30971196)

西京医院学科助推计划(XJZT09M16)

**作者单位:** 710032 西安, 陕西省西安市, 第四军医大学西京医院心脏外科(冯建宇、金振晓、陈文生), 生理学教研室(姚远、张建英、周京军); 361004 厦门, 厦门市心脏中心 厦门大学附属中山医院心内科(肖国胜)

硝苯地平(Nifedipine)是第一代二氢吡啶类 L 型钙通道阻断剂, 已有研究提示, 缺血再灌注期给予

硝苯地平可显著减轻心肌缺血再灌注损伤<sup>[4]</sup>。本实验采用离体心脏灌注模型,首次观察了 L 型钙通道阻断剂对低钾状态下缺血再灌注后心功能的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 清洁级 SD 雄性大鼠,体重(240 ± 20)g,由第四军医大学实验动物中心提供。

**1.2 离体心脏灌注、实验指标监测和实验分组** 按照常规实施大鼠离体心脏灌注<sup>[3]</sup>,简要方法为,于实验开始前配制含 3.1 mmol/L K<sup>+</sup> 的 KH 液(低钾液),成分为(mmol/L): NaCl 140, KCl 1.9, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 1.25, NaHCO<sub>3</sub> 25, Glucose 11。低钾 KH 液于灌注之前 45 min 以体积分数为 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 混合气体予以平衡,直至实验结束,温度维持在 37 °C, pH 维持在 7.35 ~ 7.45。之后,大鼠腹腔内注射 3% 戊巴比妥钠 50 mg/kg,肝素 1 000 U/kg,麻醉后迅速开胸取心脏,置于 4 °C 低钾 KH 液。而后将主动脉根部固定于灌流管口,用低钾 KH 液(37 °C)自主动脉口恒压灌注,灌注压为 80 mmHg。待心脏复跳后于左心耳后方剪一小口,将带有乳胶球囊(内含少量去离子水)的测压管经二尖瓣插入左心室,测压管另一端经压力换能器(MP 100, BIOPAC Systems, Inc.)与计算机连接。调节球囊内的液体使左室舒张末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP) 介于 5 ~ 10 mmHg 之间。

实验中全程记录左室内压(left ventricular pressure, LVP)、左室收缩峰压(left ventricular peak systolic pressure, LVPSP)、LVEDP 和左室内压最大变化速率(maximum rates of increase and decrease in left ventricular pressure, ± dp/dt<sub>max</sub>)的变化。左室发展压(left ventricular developed pressure, LVDP)采用 LVPSP - LVEDP 计算获得。

大鼠随机分为三组:①对照组(Control 组):心脏接受 1 h 全心缺血,1 h 再灌注处理;②低钙处理组(Low Ca<sup>2+</sup> 组):再灌注开始后前 15 min 采用低钙液灌流,KH 液中 Ca<sup>2+</sup> 降低至 0.5 mmol/L,其余条件同①;③硝苯地平处理组(Nifedipine 组):于再灌注开始后前 10 min 给予 1 mol/L 硝苯地平处理,其余条件同①。

硝苯地平购于 Sigma 公司,依据文献,其使用浓度为 1 mol/L<sup>[5-6]</sup>。

**1.3 统计学分析** 实验结果以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,利用 GraphPad Prism 4.0 统计软件进行分析,两组间比较用 LSD - t 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

对照组心脏经 1 h 缺血、1 h 再灌注处理后左室 LVDP、+ dp/dt 和 - dp/dt 分别降低至缺血前(35.9 ± 5.0)%、(40.7 ± 6.1)% 和(40.2 ± 5.8)%, LV-EDP 抬升至(26.3 ± 0.9) mm Hg(图 1 和图 2)。与对照组相比,低钙处理后左室 LVDP、+ dp/dt 和 - dp/dt 均升高( $P < 0.05$ ), LVEDP 显著降低( $P < 0.05$ )(图 1 和图 2),提示钙超载是低钾状态下心肌损伤的重要原因。

与对照组相比,1 mol/L 硝苯地平处理使得 LV-EDP 显著抬高( $P < 0.05$ ),对 LVDP、+ dp/dt 和 - dp/dt 虽无统计学差异影响,但有降低趋势(图 1 和 2),提示,硝苯地平恶化心脏舒张功能。

## 3 讨论

实验观察到,在低钾灌注离体心脏模型中,再灌注早期采用低钙灌注液显著减轻心功能损伤,提示钙超载是低钾灌注中心脏缺血再灌注损伤的重要原因;首次观察 L 型钙通道阻断剂硝苯地平的心肌作用时发现,硝苯地平进一步抬高缺血再灌注后 LV-EDP,提示硝苯地平影响低钾灌注心肌的舒张功能。心肌钙稳态由 L 型钙通道、质膜钠钙交换体、

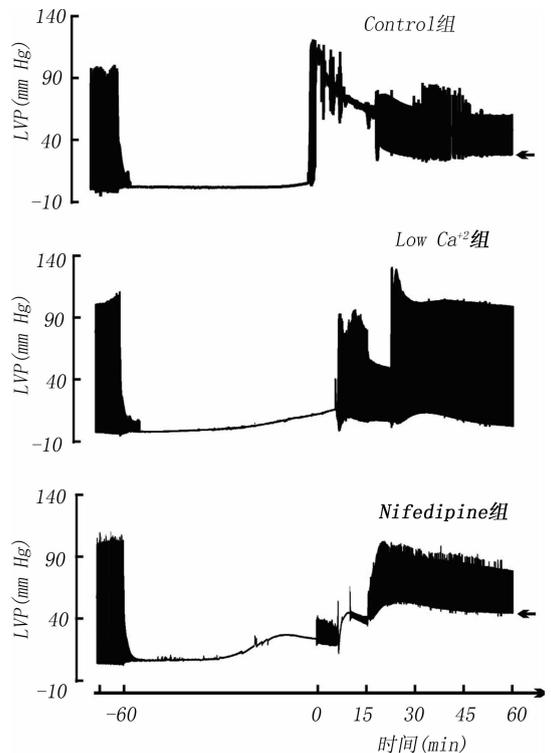
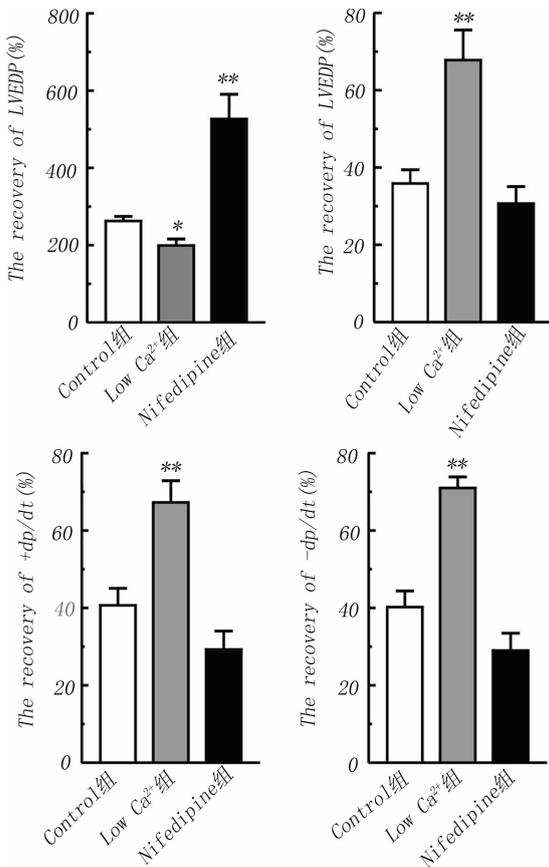


图 1 再灌注早期 Control 组、Low Ca<sup>2+</sup> 组和 Nifedipine 组的心功能变化



注:与 Control 组相比 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

图2 再灌注早期 Control 组 Low Ca<sup>2+</sup> 组和 Nifedipine 处理对心功能的影响

质膜钙泵、肌浆网膜钙释放通道 (ryanodine 受体)、肌浆网膜钙泵等多分子共同调节。课题组之前观察到,质膜钠钙交换体反向交换模式抑制剂 KB-R7943 可拮抗低钾状态下缺血再灌注心肌损伤<sup>[2-3]</sup>;本实验也观察到,再灌注早期采用低钙液灌注将显著保护心功能,这些结果一致提示,钙超载是低钾状态下心肌损伤的重要原因。L 型钙通道是细胞外 Ca<sup>2+</sup> 内流的主要介质,理论推测阻断 L 型钙通道将保护心功能。然而给予其阻断剂硝苯地平后,心脏舒张功能却进一步恶化,因此 L 型钙通道在低钾状态下心肌缺血再灌注损伤中的作用仍需明确。

L 型钙通道蛋白是由孔道形成亚单位 ( $\alpha_1$ ) 与调节亚单位 ( $\alpha_2$ 、 $\beta$ 、 $\delta$  和  $\gamma$ ) 组成的异源寡聚体,目前已有的阻断剂包括二氢吡啶类,如,硝苯地平,苯并硫氮杂类,如,地尔硫卓和苯基烷基胺类生物碱,如,维拉帕米三类化合物<sup>[7]</sup>。药物作用机制研究表明, $\alpha_1$  亚单位是三类药物作用的共同靶点<sup>[7]</sup>。本实验观察到,二氢吡啶类药物硝苯地平显著影响缺血再灌注心肌的舒张功能,那么其他钙通道相关药物是否存在类似的心肌作用有待进一步明确。

心肌的舒张过程主要依赖于肌浆网钙泵、质膜

钠钙交换体等分子对舒张期钙水平的调节<sup>[8]</sup>。本实验观察到,硝苯地平恶化低钾灌注心脏缺血再灌注后舒张功能,提示改变肌浆网钙泵、质膜钠钙交换体活性可能是硝苯地平恶化心脏舒张功能的重要原因。长期以来,硝苯地平临床应用是否增加心血管事件一直存在争议<sup>[9-10]</sup>,本研究结果支持硝苯地平增加心血管事件这一观点,而恶化心脏舒张功可能是重要原因。

总之,本实验结果表明,硝苯地平恶化低钾灌注心肌缺血再灌注后舒张功能,深入阐明其作用机制可为临床用药提供相应的理论依据。

## 参考文献:

- [1] Kjeldsen K. Hypokalemia and sudden cardiac death [J]. *Exp Clin Cardiol*, 2010, 15(4): e96-99.
- [2] Wu F, Wei GZ, Li WJ, *et al*. Low extracellular K<sup>+</sup> increases intracellular Ca<sup>2+</sup> oscillation and injury by activating the reverse mode Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger and inhibiting the Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase in rat cardiomyocytes [J]. *Int J Cardiol*, 2010, 140(2): 161-168.
- [3] 张学平, 吕风华, 毕生辉, 等. 反向钠钙交换体参与低钾加重的缺血再灌注后的心功能损伤 [J]. *中国体外循环杂志*, 2011, 9(2): 82-84.
- [4] Smart SC, Sagar KB, Warltier DC. Differential roles of myocardial Ca<sup>2+</sup> channels and Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange in myocardial reperfusion injury in open chest dogs: relative roles during ischemia and reperfusion [J]. *Cardiovasc Res*, 1997, 36(3): 337-346.
- [5] Marengo FD, Wang SY, Wang B, *et al*. Dependence of cardiac cell Ca<sup>2+</sup> permeability on sialic acid-containing sarcolemmal gangliosides [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1998, 30(1): 127-137.
- [6] Maruyama R, Takemura G, Tohse N, *et al*. Synchronous progression of calcium transient-dependent beating and sarcomere destruction in apoptotic adult cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290(4): H1493-1502.
- [7] Viola HM, Macdonald WA, Tang H, *et al*. The L-type Ca<sup>2+</sup> channel as a therapeutic target in heart disease [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(26): 3341-3358.
- [8] Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling [J]. *Nature*, 2002, 415(6868): 198-205.
- [9] Turnbull F, Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials [J]. *Lancet*, 2003, 362(9395): 1527-1535.
- [10] Sciarretta S, Palano F, Tocci G, *et al*. Antihypertensive treatment and development of heart failure in hypertension: a Bayesian network meta-analysis of studies in patients with hypertension and high cardiovascular risk [J]. *Arch Intern Med*, 2011, 171(5): 384-394.

(收稿日期: 2011-09-05)

(修订日期: 2011-11-01)