

JNK 抑制剂对缺血/再灌注大鼠心脏血流动力学的影响

钱洪津 李志梁 焦宝明 郑健生 苏磊

【摘要】 目的 观察 JNK 丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)特异性抑制剂 SP600125 对大鼠心肌缺血/再灌注(I/R)损伤后血流动力学的影响,探讨阻断该信号转导通路减轻心肌 I/R 损伤的作用及机制。**方法** 36 只 SD 大鼠被随机分成 6 组,每组 6 只。用穿线结扎左冠状动脉前降支(LDA)30 min、复灌 180 min 造成心肌 I/R 损伤动物模型。SP600125 组在松开结扎前 5 min 和再灌注过程中分两次静脉给予 SP600125,总剂量分别为 4.7、14.4、47.9 mg/kg;假手术组、模型组、川芎嗪阳性对照组给予等量生理盐水或川芎嗪 30 mg/kg。于结扎前、缺血末、再灌注末观察心率(HR)、平均动脉压(MAP)、左心室内压上升或下降最大速率($\pm dp/dt \max$)、左心室收缩压(LVSP)、左心室发展压(LVDP')、左心室舒张期末压(LVEDP)等血流动力学指标。**结果** 结扎前各组间血流动力学指标差异均无统计学意义。I/R 期间,模型组 HR、MAP、 $\pm dp/dt \max$ 、LVSP、LVDP' 均较假手术组明显下降,LVEDP 则明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较,SP600125 各剂量组和川芎嗪组 $\pm dp/dt \max$ 、LVSP、LVDP' 明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而 HR、MAP 和 LVEDP 差异均无统计学意义;SP600125 各浓度组血流动力学指标与川芎嗪组比较差异均无统计学意义。**结论** 3 种剂量 SP600125 和 30 mg/kg 川芎嗪均能改善大鼠心肌 I/R 引起的心脏收缩和舒张功能,但对血压和 HR 几乎无影响。

【关键词】 JNK 丝裂素活化蛋白激酶; JNK 抑制剂; 缺血/再灌注损伤,心肌

The influence of JNK inhibitor on hemodynamics after ischemia/reperfusion injury to the heart in rats

QIAN Hong-jin*, LI Zhi-liang, JIAO Bao-ming, ZHENG Jian-sheng, SU Lei. * Department of Emergency, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Command, Guangzhou 510010, Guangdong, China

Corresponding author: SU Lei (Email: slei_icu@163.com)

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of JNK mitogen-activated protein kinases (JNK MAPKs) inhibitor SP600125 on hemodynamics after ischemia/reperfusion (I/R) injury to heart in anesthetized rats. **Methods** Thirty-six healthy adult Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into six groups (each $n = 6$): sham operation (SO) group, I/R group, three JNK inhibitor groups (model groups) and ligustrazine hydrochloride (LH) group. In the SO group, a silk suture was passed underneath a main branch of the left coronary artery without tying. In the rest groups, the left coronary artery was occluded lasting for 30 minutes followed by reperfusion for 180 minutes. In the model groups, SP600125 was intravenously administered 5 minutes before the end of the ischemia period, and continued during reperfusion period with a total dose of 4.7, 14.4 and 47.9 mg/kg respectively. Control animals received normal saline or LH 30 mg/kg in the same manner. The changes in hemodynamics, including heart rate (HR), mean blood pressure (MBP), maximal change rate of intraventricular pressure rise/down ($\pm dp/dt \max$), left ventricular systolic pressure (LVSP), LVDP' [LVDP' = LVSP - left ventricular diastolic pressure (LVDP)], left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) were determined during I/R. **Results** There was no statistical difference in hemodynamics among the groups before occluding. The values of HR, MAP, $\pm dp/dt \max$, LVSP, LVDP' in I/R group were significantly lower than those in SO group, and LVEDP was significantly higher. Compared with I/R group, $\pm dp/dt \max$, LVSP, LVDP' in model groups and LH group were significantly higher ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no significant change in HR, MBP and LVEDP after the administration of JNK inhibitor or LH. **Conclusion** Both JNK inhibitor and LH ameliorate cardiac systolic and diastolic dysfunction induced by I/R, without influence on MBP and HR in anesthetized rats.

【Key words】 JNK mitogen-activated protein kinase; JNK inhibitor; myocardial ischemia/reperfusion; hemodynamics

随着冠状动脉(冠脉)溶栓术、经皮冠脉腔内成

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(8151001002000018)

作者单位:510010 广东,广州军区广州总医院急诊科(钱洪津),ICU(苏磊),南方医科大学珠江医院心血管内科(李志梁,焦宝明,郑健生)

通信作者:苏磊,主任医师,Email:slei_icu@163.com

作者简介:钱洪津(1968-),男(汉族),江苏省人,医学博士,主治医师。

形术等技术的推广应用,心肌缺血/再灌注(I/R)损伤成为阻碍缺血心肌从再灌注疗法中获得最佳疗效的主要难题。细胞因子在 I/R 损伤中起重要作用^[1]。有研究证实,细胞因子通过多种途径参与组织 I/R 损伤,细胞因子的产生与 JNK 丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)途径密切相关^[2]。再灌注所产生的氧化物可使 JNK MAPK 得以激活,进而使得细胞因子产

生增多。本研究中拟使用 JNK MAPK 特异性抑制剂 SP600125, 观察其对大鼠心肌 I/R 损伤的影响, 探讨阻断该信号转导通路以减轻心肌 I/R 损伤的机制及可行性。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备: 36 只雄性 SD 大鼠由南方医科大学实验动物中心提供, 体重 (250 ± 30) g。戊巴比妥腹腔注射麻醉大鼠, 行气管切开接人工呼吸机, 双侧颈总动脉插管用生物信号采集处理系统监测大鼠血压 (BP) 和左心室血流动力学变化。以穿线结扎法结扎大鼠左冠脉前降支 (LAD) 制备心肌 I/R 模型^[3], 常规心电图监测心肌缺血变化。

1.2 实验分组: 按随机数字表法将大鼠分成 6 组, 每组 6 只。①假手术组 (A 组): 开胸后仅穿线不结扎, 与实验组同途径给予等量生理盐水; ②模型组 (B 组): 按上法制模, 与实验组同途径给予等量生理盐水; ③实验组 (C、D、E 组): 松开结扎前 5 min 静脉给予 SP600125 (美国 Biomol 公司生产), 3 个亚组剂量为 1.5、4.5 和 15.0 mg/kg, 再灌注过程中以 18、55 和 183 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的剂量维持, 使相应血药浓度为 1、3 和 10 mg/L, SP600125 应用总量为 4.7、14.4 和 47.9 mg/kg^[4]; ④川芎嗪对照组 (F 组): 松开结扎前 5 min 持续静脉给予川芎嗪 160 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (30 mg/kg)^[5] 作为阳性对照。

1.3 观察指标: 心率 (HR)、平均动脉压 (MAP)、收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP)、左室内压上升或下降最大速率 ($\pm \text{dp}/\text{dt max}$)、左心室收缩压 (LVSP)、左心室舒张压 (LVDP)、左心室发展压 ($\text{LVDP}' = \text{LVSP} - \text{LVDP}$)、左心室舒张期末压 (LVEDP)。

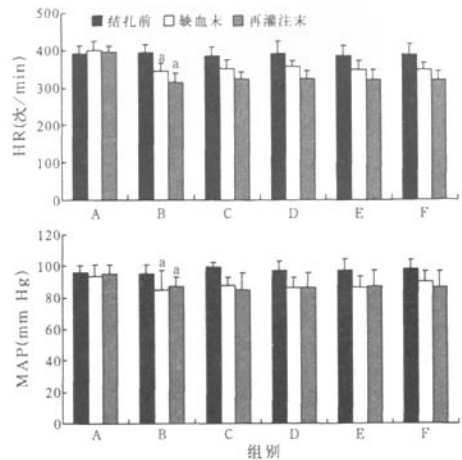
1.4 统计学处理: 使用 SPSS 12.0 统计软件, 数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用方差分析、 q 检验及 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SP600125 和川芎嗪对 HR 和 MAP 的影响 (图 1): 冠脉结扎前各组大鼠 HR 和 MAP 比较差异无统计学意义。I/R 期间, B 组 HR、MAP 较 A 组显著下降 (P 均 < 0.01); 结扎后 HR 和 MAP 均显著下降, 但 C、D、E、F 组在 I/R 期间与 B 组比较差异无统计学意义。提示给予 3 种剂量 SP600125 和川芎嗪预处理对大鼠 BP 和 HR 几乎没有影响。

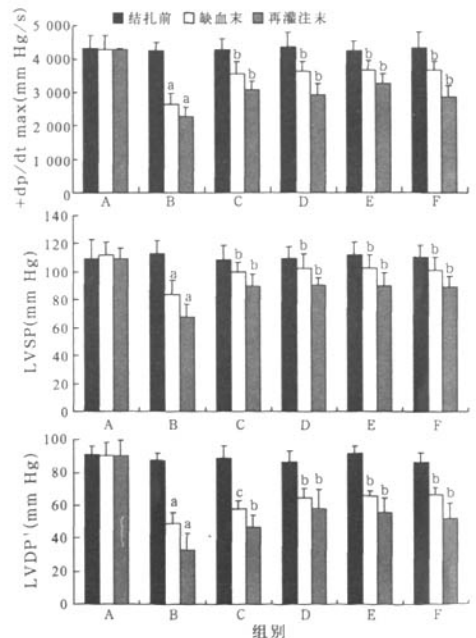
2.2 SP600125 和川芎嗪对 $+\text{dp}/\text{dt max}$ 、LVSP、LVDP' 的影响 (图 2): 结扎前各组 $+\text{dp}/\text{dt max}$ 、LVSP、LVDP' 基础值相近, 差异无统计学意义。在

I/R 期间, B 组 $+\text{dp}/\text{dt max}$ 、LVSP、LVDP' 均较 A 组显著下降, C、D、E、F 组 $+\text{dp}/\text{dt max}$ 、LVSP、LVDP' 值均明显高于 B 组, 且有一定的量-效关系 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。提示 SP600125 和川芎嗪均能改善大鼠心肌 I/R 后的心脏收缩功能。



注: 与 A 组比较, $^a P < 0.01$; 与 B 组比较, $^b P < 0.05$, $^c P < 0.01$, 1 mm Hg = 0.133 kPa

图 1 SP600125 和川芎嗪对 I/R 大鼠 HR 和 MAP 的影响

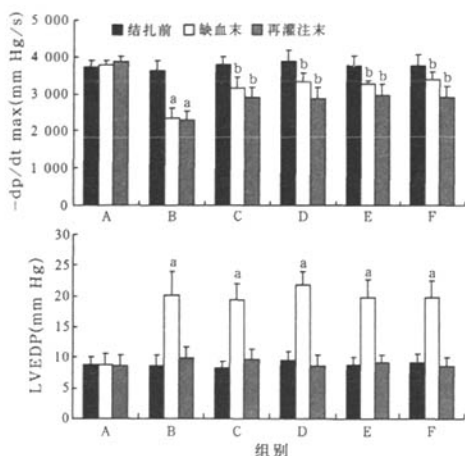


注: 与 A 组比较, $^a P < 0.01$; 与 B 组比较, $^b P < 0.05$, $^c P < 0.01$

图 2 SP600125 和川芎嗪对 I/R 大鼠心脏 $+\text{dp}/\text{dt max}$ 、LVSP、LVDP' 的影响

2.3 SP600125 和川芎嗪对 $-\text{dp}/\text{dt max}$ 和

LVEDP 的影响(图 3);I/R 期间,B 组 $-dp/dt \max$ 显著低于 A 组,C、D、E、F 组 $-dp/dt \max$ 均明显高于 B 组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),4 组间比较差异无统计学意义。各组缺血期 LVEDP 均高于 A 组(P 均 < 0.01),但 C、D、E、F 组与 B 组比较差异无统计学意义;再灌注期各组间 LVEDP 比较差异均无统计学意义。提示 3 种剂量 SP600125 和川芎嗪预处理均可改善大鼠心肌 I/R 后的心脏舒张功能。



注:与 A 组比较,* $P < 0.01$,与 B 组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$

图 3 SP600125 和川芎嗪对 I/R 大鼠心脏 $-dp/dt \max$ 和 LVEDP 的影响

3 讨论

本研究显示,以在体大鼠冠脉结扎法建立 I/R 模型,以川芎嗪为阳性对照药,观察到 JNK MAPK 特异性抑制剂 SP600125 在发挥抗心肌 I/R 损伤作用的同时,对 BP 和 HR 几乎没有明显影响。

MAPK 被认为是多种细胞外信号引起细胞增生、肥大的细胞内信息传递的汇聚点或共同通路^[6],参与多种刺激引起的心肌应激反应。心肌细胞在应激反应下,其胞内信号转导通路的介导机制除与抗心肌细胞凋亡和抑制核转录因子- κB 表达有关外,还有其他一些尚不明确的作用^[7]。最近的研究表明,在心肌 I/R 导致细胞凋亡的过程中,MAPK 家族中的 JNK 和 p38 MAPKs 起了重要作用,同时证明 p38 MAPKs 在缺血阶段即被激活,并一直持续在再灌注过程中^[8];而 JNK 的激活只是发生在再灌注过程中^[9]。这样,通过对凋亡抑制的研究,可以寻找出减轻因再氧化应激而损伤心肌的方法。再灌注所产生的氧化物可使 JNK MAPK 得以激活,进而使得细胞因子产生增多。细胞因子的产生与 JNK

MAPK 途径密切相关^[10]。目前发现,尽管细胞因子数量众多,但进入细胞内的信息通道却为数较少,如能对其关键的信号通路进行有效阻断和调节,这对于阻断凋亡调控的细胞因子及应激蛋白的表达具有目标明确、效果明显的优势。

SP600125 是非特异选择性 JNK 抑制剂,为苯并噻唑的衍生物,通过可逆性竞争 ATP 抑制 JNK,对人的 JNK 亚型 JNK1、2、3 之间无特异性抑制。本研究观察到,SP600125 可明显保护发生 I/R 的心肌,但并未明显影响血流动力学,似乎只是抑制了 I/R 引起的凋亡;且 SP600125 的心肌保护作用存在一定的量-效关系,只有中等剂量组(D 组)和高剂量组(E 组)与模型组存在显著的差异,而出现保护作用的高峰似乎来自 D 组的给药方案,而再增加剂量,其保护作用也未增强,很可能与 JNK ATP 结合位点的饱和有关。当然,不能排除应用高剂量是否会对其他的酶产生作用,这有待今后进一步的研究。

参考文献

- [1] Daemen MA, van de Ven MW, Heineman WA, et al. Involvement of endogenous interleukin-10 and tumor necrosis factor- α in renal ischemia-reperfusion injury [J]. Transplantation, 1999, 67(6): 792-800.
- [2] Sugden PH, Clerk A. 'Stress-responsive' mitogen-activated protein kinases (c-Jun N-terminal kinases and p38 mitogen-activated protein kinases) in the myocardium [J]. Circ Res, 1998, 83(4): 345-352.
- [3] Himori N, Matsuura A. A simple technique for occlusion and reperfusion of coronary artery in conscious rats [J]. Am J Physiol, 1989, 256(6 Pt 2): H1717-1725.
- [4] Ferrandi C, Ballerio R, Gaillard P, et al. Inhibition of c-Jun N-terminal kinase decreases cardiomyocyte apoptosis and infarct size after myocardial ischemia and reperfusion in anaesthetized rats [J]. Br J Pharmacol, 2004, 142(6): 953-960.
- [5] 梁日欣, 廖福龙, 李文, 等. 川芎嗪的药物性预适应对麻醉大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 1999, 15(5): 13-15.
- [6] Bueno OF, Molkentin JD. Involvement of extracellular signal-regulated kinase 1/2 in cardiac hypertrophy and cell death [J]. Circ Res, 2002, 91(9): 776-781.
- [7] 张良清, 徐军发, 蔡康荣, 等. 腺苷预处理对缺血/再灌注心肌细胞凋亡及核因子- κB 表达的影响 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(3): 158-160.
- [8] Yin T, Sandhu G, Wolfgang CD, et al. Tissue-specific pattern of stress kinase activation in ischemic/reperfused heart and kidney [J]. J Biol Chem, 1997, 272(32): 19943-19950.
- [9] 吴允孚, 曾元英, 邵素凤, 等. 危重病患者心肌损伤与炎症细胞因子释放的关系 [J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14(10): 615-617.
- [10] Kobayashi M, Takeyoshi I, Yoshinari D, et al. P38 mitogen-activated protein kinase inhibition attenuates ischemia-reperfusion injury of the rat liver [J]. Surgery, 2002, 131(3): 344-349.

(收稿日期: 2008-10-06 修回日期: 2008-11-22)

(本文编辑: 李银平)