

· 实验研究 ·

舒芬太尼预处理联合咪达唑仑后处理对大鼠
心肌缺血-再灌注损伤的影响

巩固 陈亮 代雪梅 任玲 古学东 吴畏

【摘要】 目的 探讨舒芬太尼预处理联合不同剂量咪达唑仑后处理对大鼠心肌缺血-再灌注 (ischemia-reperfusion, IR) 损伤的影响。**方法** SPF 级健康雄性 SD 大鼠 42 只, 随机分为七组, 每组 6 只。A 组: 行假手术, 穿线不结扎; B0~B5 组: 构建大鼠心肌 IR 模型, 均结扎 0.5 h, 再灌注 2 h。其中 B0 组: 未经舒芬太尼和/或咪达唑仑处理; B1 组: 经舒芬太尼 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 预处理; B2 组: 经咪达唑仑 0.1 mg/kg 后处理; B3 组: 经咪达唑仑 0.3 mg/kg 后处理; B4 组: 经舒芬太尼 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 预处理联合咪达唑仑 0.05 mg/kg 后处理; B5 组: 经舒芬太尼 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 预处理联合咪达唑仑 0.15 mg/kg 后处理。经颈静脉, 舒芬太尼于缺血前注入, 咪达唑仑于缺血后注入。心肌 IR 结束后测定血清肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、乳酸脱氢酶 (LDH)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和血清丙二醛 (MDA) 浓度, 及炎症因子 TNF- α 和 IL-6 浓度。再灌注 2 h 取各组大鼠心脏, 测算心肌梗死严重程度 (IS/AAR), 采用 Western blot 法检测心肌组织中 Bcl-2、Bax 及 cleaved-caspase-3 蛋白含量。**结果** B0~B5 组 CK-MB 和 LDH 活性、MDA、TNF- α 和 IL-6 浓度、Bax 及 cleaved-caspase-3 蛋白含量均明显高于 A 组 ($P < 0.05$), B1~B5 组均明显低于 B0 组 ($P < 0.05$), B3 和 B4 组明显低于 B2 组 ($P < 0.05$), B5 组明显低于 B1~B4 组 ($P < 0.05$); B1~B5 组 IS 值及 IS/AAR (%) 值均明显低于 B0 组 ($P < 0.05$), B3 和 B4 组明显低于 B2 组 ($P < 0.05$), B5 组明显低于 B1~B4 组 ($P < 0.05$); B0~B5 组 SOD 活性及 Bcl-2 含量均明显低于 A 组 ($P < 0.05$), B1~B5 组均明显高于 B0 组 ($P < 0.05$), B3 和 B4 组明显高于 B2 组 ($P < 0.05$), B5 组明显高于 B1~B4 组 ($P < 0.05$)。与 B0 组比较, B5 组 CK-MB、LDH 活性明显下降, SOD 活性明显上升, MDA、TNF- α 、IL-6 浓度明显下降, IS/AAR 明显下降, Bcl-2 含量增至 B0 组的 2.25 倍, Bax 含量降至 B0 组的 54.89%, cleaved-caspase-3 含量降至 B0 组的 49.67%。**结论** 舒芬太尼预处理联合咪达唑仑后处理可明显减轻大鼠心肌 IR 损伤, 对心肌的保护作用明显优于单独使用时。

【关键词】 舒芬太尼; 咪达唑仑; 缺血-再灌注模型; 心肌损伤; 心肌梗死

Influences of sufentanil and midazolam coprocessing on myocardial injury in rats during myocardial ischemia-reperfusion GONG Gu, CHEN Liang, DAI Xuemei, REN Ling, GU Xuedong, WU Wei. Department of Anesthesiology, General Hospital of Chengdu Military Region of PLA, Chengdu 610083, China

Corresponding author: WU Wei, Email: wuweizj@163.com

【Abstract】 Objective To explore the influences of sufentanil and different dose midazolam coprocessing on myocardial injury in rats during myocardial ischemia-reperfusion (IR). **Methods** Forty two healthy male SD rats were selected and randomly divided into 7 groups including, group A: rats were treated with sham operation; groups B0-B5: rat IR model was constructed; group B0: rats were untreated with sufentanil or midazolam; group B1: rats were pre-treated with 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sufentanil; group B2: rats were post-treated with 0.1 mg/kg midazolam; group B3: rats were post-treated with 0.3 mg/kg midazolam; group B4: rats were pre-treated with 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sufentanil and post-treated with 0.05 mg/kg midazolam; group B5: rats were pre-treated with 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sufentanil and post-treated with 0.15 mg/kg midazolam. Sufentanil was injected through cervical vein before ischemia. Midazolam was injected through cervical vein after ischemia. After reperfusion, arterial blood was collected for detecting the activity of CK-MB, LDH or SOD, and the concentration of MDA, TNF- α , or IL-6. Rat hearts were picked off to measure the severity of myocardial infarction (IS/AAR). The expressions of Bax, cleaved-caspase-3 and Bcl-2 in myocardial tissues were

基金项目: 2016 军队后勤科研项目 (CCD16J001)

作者单位: 610083 成都军区总医院麻醉科

通信作者: 吴畏, Email: wuweizj@163.com

detected by Western blots. **Results** CK-MB activity, LDH activity, MDA concentration, TNF- α level, IL-6 level, Bax and cleaved-caspase 3 expression levels in groups B0-B5 were obviously higher than those in group A ($P < 0.05$), in groups B1-B5 were obviously lower than those in group B0 ($P < 0.05$), in groups B3 and B4 were obviously lower than those in group B2 ($P < 0.05$), in group B5 were obviously lower than those in groups B1-B4 ($P < 0.05$); values of IS and IS/AAR (%) in groups B1-B5 were obviously lower than those in group B0 ($P < 0.05$), in groups B3 and B4 were obviously lower than those in group B2 ($P < 0.05$), in group B5 were obviously lower than those in groups B1-B4 ($P < 0.05$); SOD activity and Bcl-2 expression level in groups B0-B5 were obviously lower than those in group A ($P < 0.05$), in groups B1-B5 were obviously higher than those in group B0 ($P < 0.05$), in groups B3 and B4 were obviously higher than those in group B2 ($P < 0.05$), in group B5 were obviously higher than those in groups B1-B4 ($P < 0.05$). CK-MB declined when compared with group B0; LDH declined; SOD rose; MDA declined; TNF- α declined; IL-6 declined; IS/AAR declined; Bcl-2 expression rose to 2.25 fold; Bax expression dropped to 54.89%; cleaved-caspase-3 expression dropped to 49.67%. **Conclusion** Sufentanil pretreatment combined with midazolam aftertreatment can significantly alleviate rat myocardial IR injury, which plays more effective cardioprotective effects than being used alone.

【Key words】 Sufentanil; Midazolam; Ischemia-reperfusion model; Myocardial injury; Myocardial infarction

心肌缺血-再灌注(ischemia-reperfusion, IR)在改善心肌供氧状况的同时,会加重心肌损伤程度^[1]。近年来,麻醉类药物因能够发挥延迟性心肌保护作用而受到广泛关注^[2]。舒芬太尼是一种强效镇痛药,对血流动力学的影响较小,尤其适合于心血管手术的麻醉^[3,4],对人和大鼠的心肌均具有保护性作用^[5,6]。咪达唑仑是一种水溶性镇静药,其不良反应相对较少,普遍用于临床上的麻醉诱导^[7],在心肌 IR 损伤中发挥心肌保护性作用^[8],同时可能通过开放心肌细胞 K_{ATP} 通道对大鼠心肌起保护作用^[9]。目前,在临床麻醉中联合使用两种药物已较为常见,且舒芬太尼联合其他药物对心肌损伤保护作用的研究也有报道^[10],但其与咪达唑仑联合应用能否发挥更强的心肌保护作用尚不明确。本研究旨在探讨舒芬太尼预处理联合咪达唑仑后处理对大鼠心肌 IR 损伤的影响。

材料与方法

实验动物与分组 本研究经成都军区总医院实验动物伦理委员会批准,动物处置过程符合动物伦理学标准。选取 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 60 只,体重 250~330 g,购自南京君科生物工程有限公司。实验用枸橼酸舒芬太尼注射液购自宜昌人福药业有限责任公司,咪达唑仑注射液购自江苏恩华药业股份有限公司。将其中 42 只大鼠依据随机数字表法分为七组($n=6$)。A 组:行假手术,穿线不结扎。B0 组:构建 IR 模型,即结扎 0.5 h,再灌注 2 h。B1 组:缺血前注入舒芬太尼 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (泵注 5 min,停止 5 min),重复 3 次,总量约 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$,结

扎 0.5 h,再灌注 2 h。B2 组:结扎 0.5 h,于松线前 5 min 经预留管单次注入咪达唑仑 0.1 mg/kg,再灌注 2 h。B3 组:咪达唑仑用量为 0.3 mg/kg,操作同 B2 组。B4 组:舒芬太尼用量为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,操作同 B1 组;咪达唑仑用量为 0.05 mg/kg,操作同 B2 组。B5 组:舒芬太尼用量为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,操作同 B1 组;咪达唑仑用量为 0.15 mg/kg,操作同 B2 组。在处置过程中,从备留的 18 只大鼠中选取替代大鼠重新建模,予以补足排除鼠。

大鼠心肌 IR 模型的建立 所有大鼠术前禁食 12 h,自由饮水。以 5%戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉大鼠,仰卧位固定,切开气管并插管,连接 HX300 动物呼吸机进行机械通气,RR 60~80 次/分, V_T 6~7 ml/次,吸呼比为 1:3。依据呼吸频率及强度,对呼吸参数进行调整至心率和血压稳定。切开右颈动脉并置管,连接 BL-420S 生物机能实验系统,记录 ECG、HR 及 MAP。切开右颈静脉并置管(预留管),用于后续给药及处理。于左胸 3~4 肋间距胸骨左缘约 0.5 cm 处,钝性分离逐层解剖胸腔,剪开心包膜,暴露心脏。以左冠状静脉主干为标志,于左心耳下约 1~2 mm 处以 6-0 缝线结扎冠状动脉左前降支(LAD),心肌缺血 0.5 h 后,松开结扎线,复流 2 h 制备心肌 IR 损伤模型。缺血成功标志:ECG 显示 ST 段明显抬高(≥ 0.1 mV),结扎线下心肌组织发绀;再灌注成功标志:ECG 显示 ST 段下降过半,心肌局部充血。

模型排除标准:按照呼吸频率和强度调整心率和血压后,基础 HR > 500 次/分或 < 300 次/分;结扎 LAD 后,心律失常致死;结扎 LAD 后,ECG 未

显示 ST 段明显抬高;结扎 LAD 松线后, ECG 的 ST 段抬高回落不明显。

MAP 和 HR 各组大鼠分别在缺血前 0.5 h、缺血时、缺血 0.5 h、再灌注 0.5 h、再灌注 2 h 共 5 个时点记录 MAP 和 HR。

血生化指标 心肌 IR 结束后, 采集腹主动脉血, 于 4℃ 下 4 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 分装保存待用。采用双抗体夹心酶联免疫吸附 (ELISA) 法测定肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-6 (IL-6) 浓度, 试剂盒购自上海西唐科技有限公司。采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 浓度, 黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性, 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。实验操作及数据获取按照试剂盒说明书进行。

心肌梗死面积测定 B0~B5 组大鼠中, 各组取 3 只, 于再灌注 2 h 时再次结扎 LAD, 行伊文氏蓝-氧化三苯基四氢唑 (TTC) 双染实验^[1, 11, 12]。其中, 白色为梗死区 (infarct size, IS), 非蓝染区为缺血危险区 (area at risk, AAR), 蓝染区为非缺血区。应用 ImagePro Plus 5.0 图像分析软件测量左心室 (left ventricle, LV)、IS 及 AAR 面积, 心肌梗死严重程度以 IS/AAR 表示^[1]。本实验伊文氏蓝和 TTC 均购自 Sigma 公司。

Western blot 检测凋亡相关蛋白含量 取各组大鼠 3 只, 于再灌注 2 h 时分离结扎线下组织约 200 mg, 以 RIPA 裂解液 (Sigma 公司) 提取组织总蛋白, BCA 法定量。各样本取 40 μ g 总蛋白, 进行 10% SDS-PAGE 电泳后, 电转移至 PVDF 膜上。所得 PVDF 膜经 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后, 与目的蛋白一抗于 4℃ 孵育过夜, TBST 清洗 3 次后, 与辣根过氧化物酶标记 (HRP) 的对应二抗于室温孵育 1.5 h, 膜经 TBST 再次清洗后, 以 ECL 试剂进行显色, 利用 Gel-pro 4.0 软件对条带进行量化分析。所用抗体如下: 兔抗大鼠 Bax 单克隆抗体 (稀释度: 1:4 000), 兔抗大鼠 cleaved-caspase 3 多克隆抗体 (稀释度: 1:2 500), 兔抗大鼠 Bcl-2 多克隆抗体 (稀释度: 1:1 000), 兔抗大鼠 β -actin 多克隆抗体 (稀释度: 1:4 000) 及 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (稀释度: 1:3 000), 均购自 Abcam 公司。

统计分析 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 不同时点比较采用重复测量方差分析, 组间比较采用单因素方差分析 SNK 法。 $P < 0.05$ 为差

异有统计学意义。

结 果

MAP 和 HR IR 处理过程中, 七组 HR 差异无统计学意义。缺血前 0.5 h 和缺血时 B0~B5 组 MAP 差异无统计学意义。缺血 0.5 h 至再灌注 2 h, B0~B5 组 MAP 均明显低于缺血前 0.5 h 和缺血时 ($P < 0.05$), 且由缺血时至再灌注 2 h 呈逐渐下降趋势; 缺血 0.5 h 至再灌注 2 h, B0~B5 组 MAP 均明显低于 A 组 ($P < 0.05$), B1~B5 组均明显高于 B0 组 ($P < 0.05$), B3 和 B4 组明显高于 B2 组 ($P < 0.05$), B5 组明显高于 B1~B4 组 ($P < 0.05$) (表 1)。再灌注 2 h, 与 B0 组比较, B5 组 MAP 上升了 3.0 kPa (95% CI 2.73~3.27 kPa)。

血清氧化还原指标 B0~B5 组 CK-MB、LDH 活性及 MDA 浓度均明显高于 A 组 ($P < 0.05$), B1~B5 组均明显低于 B0 组 ($P < 0.05$), B3 和 B4 组明显低于 B2 组 ($P < 0.05$), B5 组明显低于 B1~B4 组 ($P < 0.05$); B0~B5 组 SOD 活性均明显低于 A 组 ($P < 0.05$), B1~B5 组均明显高于 B0 组 ($P < 0.05$), B3 和 B4 组明显高于 B2 组 ($P < 0.05$), B5 组明显高于 B1~B4 组 ($P < 0.05$) (表 2)。与 B0 组比较, B5 组 CK-MB 活性下降 1.9 U/ml (95% CI 1.74~2.06 U/ml), LDH 活性下降 1.12 U/ml (95% CI 1.06~1.18 U/ml), SOD 活性上升 26.61 U/ml (95% CI 22.44~30.77 U/ml), MDA 浓度下降 1.29 nmol/ml (95% CI 1.19~1.38 nmol/ml)。

血清炎症因子 B0~B5 组 TNF- α 和 IL-6 浓度均明显高于 A 组 ($P < 0.05$), B1~B5 组明显低于 B0 组 ($P < 0.05$), B3 和 B4 组明显低于 B2 组 ($P < 0.05$), B5 组明显低于 B1~B4 组 ($P < 0.05$) (表 3)。与 B0 组比较, B5 组 TNF- α 下降 110.32 pg/ml (95% CI 101.91~118.73 pg/ml), IL-6 下降 96.6 pg/ml (95% CI 89.67~103.53 pg/ml)。

心肌梗死面积 B0~B5 组 LV、AAR 及 AAR/LV 差异无统计学意义。B1~B5 组 IS 及 IS/AAR 均明显低于 B0 组 ($P < 0.05$), B3 和 B4 组均明显低于 B2 组 ($P < 0.05$), B5 组明显低于 B1~B4 组 ($P < 0.05$) (表 4)。与 B0 组比较, B5 组 IS/AAR 下降 32.22% (95% CI 24.38%~40.07%)。

凋亡相关蛋白含量 B0~B5 组促凋亡蛋白 Bax 及 cleaved-caspase 3 含量均明显高于 A 组 ($P < 0.05$), B1~B5 组均明显低于 B0 组 ($P < 0.05$), B3

表 1 七组大鼠不同时点 HR 和 MAP 的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	只数	缺血前 0.5 h	缺血时	缺血 0.5 h	再灌注 0.5 h	再灌注 2 h
HR (次/分)	A 组	6	352.4±18.9	361.7±21.3	354.8±15.4	366.5±31.9	359.3±25.5
	B0 组	6	356.8±25.1	358.7±17.6	355.1±20.9	364.2±27.3	356.5±24.2
	B1 组	6	349.3±22.4	357.6±19.5	351.7±24.2	362.4±28.7	354.1±16.4
	B2 组	6	356.6±17.3	354.3±24.8	356.8±29.3	363.2±20.4	352.9±25.1
	B3 组	6	359.3±26.1	364.2±19.7	361.5±20.8	354.7±23.2	358.1±28.4
	B4 组	6	347.2±20.5	354.9±23.6	363.8±27.4	359.3±16.9	362.7±21.7
	B5 组	6	353.6±19.4	358.2±25.5	358.3±29.7	362.4±24.1	365.9±32.6
MAP (kPa)	A 组	6	13.4±2.7	13.6±2.3	13.9±2.8	13.5±2.1	13.3±2.4
	B0 组	6	13.5±2.5	13.2±2.1	10.3±1.9 ^{ab}	9.4±2.2 ^{ab}	8.9±1.7 ^{ab}
	B1 组	6	13.2±2.2	13.5±2.4	11.4±2.0 ^{abce}	10.3±1.9 ^{abce}	9.9±1.8 ^{abce}
	B2 组	6	13.7±2.5	13.4±1.9	10.9±2.1 ^{abc}	9.9±1.5 ^{abc}	9.5±1.7 ^{abc}
	B3 组	6	13.6±1.8	13.3±2.2	12.1±2.5 ^{abcde}	11.3±2.1 ^{abcde}	10.7±1.9 ^{abcde}
	B4 组	6	13.5±2.4	13.4±2.1	11.2±1.9 ^{abcde}	10.5±2.2 ^{abcde}	10.1±2.6 ^{abcde}
	B5 组	6	13.2±2.0	13.7±2.6	12.9±2.3 ^{abcd}	12.2±1.9 ^{abcd}	11.9±1.6 ^{abcd}

注:与缺血时比较,^a $P<0.05$;与 A 组比较,^b $P<0.05$;与 B0 组比较,^c $P<0.05$;与 B2 组比较,^d $P<0.05$;与 B5 组比较,^e $P<0.05$

表 2 七组大鼠 IR 后血清 CK-MB、LDH、SOD 活性及 MDA 浓度的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	CK-MB(U/ml)	LDH(U/ml)	SOD(U/ml)	MDA(nmol/ml)
A 组	6	0.75±0.09	0.69±0.07	93.75±8.43	1.41±0.13
B0 组	6	3.21±0.28 ^a	2.34±0.18 ^a	54.64±4.96 ^a	3.27±0.28 ^a
B1 组	6	1.79±0.19 ^{abd}	1.58±0.16 ^{abd}	71.31±7.74 ^{abd}	2.35±0.21 ^{abd}
B2 组	6	2.12±0.16 ^{ab}	1.76±0.15 ^{ab}	65.58±7.12 ^{ab}	2.69±0.23 ^{ab}
B3 组	6	1.67±0.14 ^{abcd}	1.55±0.17 ^{abcd}	73.96±6.93 ^{abcd}	2.38±0.19 ^{abcd}
B4 组	6	1.58±0.18 ^{abcd}	1.59±0.19 ^{abcd}	76.65±8.27 ^{abcd}	2.23±0.22 ^{abcd}
B5 组	6	1.31±0.17 ^{abc}	1.22±0.13 ^{abc}	81.24±8.51 ^{abc}	1.98±0.24 ^{abc}

注:与 A 组比较,^a $P<0.05$;与 B0 组比较,^b $P<0.05$;与 B2 组比较,^c $P<0.05$;与 B5 组比较,^d $P<0.05$

表 3 七组大鼠血清炎症因子浓度的比较(pg/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	TNF- α	IL-6
A 组	6	27.64±3.21	65.43±7.33
B0 组	6	153.57±12.89 ^a	171.82±14.95 ^a
B1 组	6	74.21±6.94 ^{abd}	104.37±12.15 ^{abd}
B2 组	6	93.60±10.07 ^{ab}	123.41±13.36 ^{ab}
B3 组	6	61.22±5.83 ^{abcd}	95.62±9.84 ^{abcd}
B4 组	6	76.41±7.82 ^{abcd}	83.59±9.12 ^{abcd}
B5 组	6	43.25±5.11 ^{abc}	75.22±8.43 ^{abc}

注:与 A 组比较,^a $P<0.05$;与 B0 组比较,^b $P<0.05$;与 B2 组比较,^c $P<0.05$;与 B5 组比较,^d $P<0.05$

和 B4 组明显低于 B2 组($P<0.05$), B5 组明显低于 B1~B4 组($P<0.05$); B0~B5 组抑凋亡蛋白 Bcl-2 含量均明显低于 A 组($P<0.05$), B1~B5 组均明显高于 B0 组($P<0.05$), B3 和 B4 组明显高于 B2 组($P<0.05$), B5 组明显高于 B1~B4 组($P<0.05$)(图 1~3)。与 B0 组比较, B5 组 Bcl-2 含量增至 B0 组的 2.25(95%CI 1.99~2.51)倍, Bax 含量降至 B0 组的 54.89%(95%CI 53.78%~55.60%), cleaved-caspase 3 含量降至 B0 组的 49.67%(95%CI 46.41%~52.93%)。

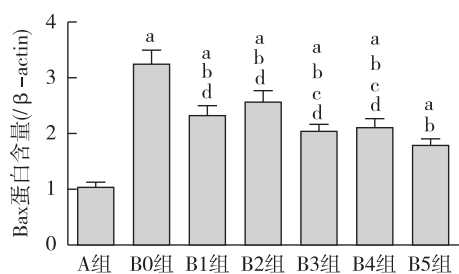
讨 论

目前,临床上由各种原因所导致的心肌 IR 损

表 4 六组大鼠心肌梗死情况的比较($\bar{x} \pm s$)

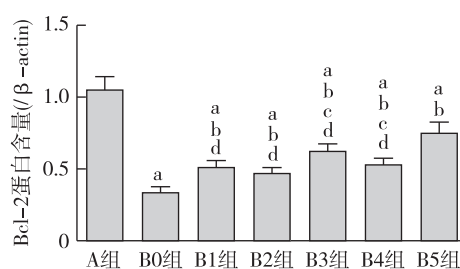
组别	只数	LV(cm ³)	AAR(cm ³)	IS(cm ³)	AAR/LV(%)	IS/AAR(%)
B0 组	3	0.39±0.05	0.18±0.03	0.089±0.012	46.15±5.03	49.44±5.32
B1 组	3	0.42±0.06	0.19±0.02	0.046±0.006 ^{ac}	45.24±4.67	24.21±2.87 ^{ac}
B2 组	3	0.44±0.05	0.21±0.03	0.065±0.007 ^{ac}	47.73±4.94	30.95±3.21 ^{ac}
B3 组	3	0.46±0.07	0.22±0.05	0.048±0.006 ^{abc}	47.83±4.85	21.82±2.64 ^{abc}
B4 组	3	0.45±0.04	0.21±0.02	0.047±0.005 ^{abc}	46.67±5.12	22.38±2.45 ^{abc}
B5 组	3	0.41±0.03	0.18±0.01	0.031±0.004 ^a	43.90±4.55	17.22±2.18 ^a

注:与 B0 组比较,^a $P<0.05$;与 B2 组比较,^b $P<0.05$;与 B5 组比较,^c $P<0.05$



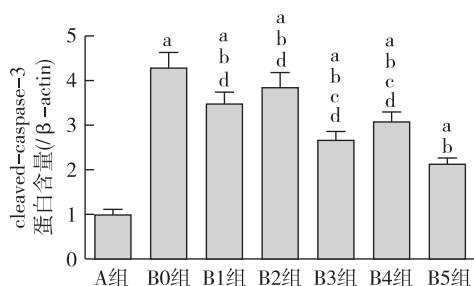
注:与 A 组比较,^a $P<0.05$;与 B0 组比较,^b $P<0.05$;与 B2 组比较,^c $P<0.05$;与 B5 组比较,^d $P<0.05$

图 1 七组大鼠心肌组织中 Bax 含量的比较



注:与 A 组比较,^a $P<0.05$;与 B0 组比较,^b $P<0.05$;与 B2 组比较,^c $P<0.05$;与 B5 组比较,^d $P<0.05$

图 3 七组大鼠心肌组织中 Bcl-2 含量的比较



注:与 A 组比较,^a $P<0.05$;与 B0 组比较,^b $P<0.05$;与 B2 组比较,^c $P<0.05$;与 B5 组比较,^d $P<0.05$

图 2 七组大鼠心肌组织中 cleaved-caspase-3 含量的比较

伤较为多见,如心肌梗死溶栓^[13]、心肺复苏^[14]及冠脉搭桥手术^[15]等。因此,有必要在心肌 IR 过程中采取有效措施以减少这一损伤。近年研究表明,麻醉类药物舒芬太尼和咪达唑仑在 IR 所致的心肌损伤中均发挥保护性作用,但两种药物联合应用对心肌 IR 损伤的影响尚未报道。本研究通过干预大鼠心肌 IR 损伤模型后发现,舒芬太尼预处理联合咪达唑仑后处理能明显减轻 IR 所致的心肌损伤,且效果明显优于单独用药时,但两种药物最佳剂量组合还有待于进一步摸索。

本研究舒芬太尼和咪达唑仑的用量及给药方式部分参考了既往研究^[16]。经颈静脉,舒芬太尼于缺血前 30 min 注入,咪达唑仑于缺血后 30 min 注入。与既往研究^[10]药物联合应用不同的是,两种药物联合时给药剂量均减半,这种方式能更好地比较和体现单独和联合使用的效果,而部分消除剂量叠加效应,更具有指导意义。两种药物单独或联合使用时,均对心肌 IR 大鼠 MAP 的维持有一定作用,能减弱 IR 引起的脂质过氧化反应,改善 IR 引起的炎症反应,减少 IR 大鼠的心肌梗死面积,降低 IR 引起的心肌细胞凋亡;且以舒芬太尼减半量和咪达唑仑高剂量减半量使用时效果最佳,心肌保护作用最显著。

此外,舒芬太尼对心肌 IR 大鼠心肌损伤的保护性作用,可能与 PI3K/AKT 信号通路的激活有关。刘祥等^[16]研究表明,舒芬太尼预处理能够增强心肌 IR 模型大鼠心肌细胞中 p-AKT 的表达水平。近年来,咪达唑仑因其在心脏类手术中对心肌起保护性作用而受到更多关注^[8]。崔湧等^[9]研究发现,咪达唑仑能够开放心室肌细胞 ATP 敏感性钾(K_{ATP})通道。既往研究表明,K_{ATP}通道开放能减轻

应激反应引起的钙超载性心肌细胞损伤,而被认为具有心肌保护作用^[18]。同时, Ozcan 等^[19]通过体内外研究证实,以 K_{ATP} 通道开放剂干预心脏 IR 损伤能显著预防心肌细胞凋亡及其线粒体损伤。因此,咪达唑仑的心肌保护作用与其对 K_{ATP} 通道开放的调控密切相关,但其影响 K_{ATP} 通道开放的机制仍有待于进一步揭示。

舒芬太尼具有血流动力学稳定的特点,其预处理可以改善左心室功能,升高 MAP,减轻大鼠心肌 IR 损伤而发挥心肌保护作用^[16]。咪达唑仑不良反应相对较少^[8]。本研究发现舒芬太尼和咪达唑仑联合使用对大鼠心肌 IR 损伤的保护性作用明显强于两种药物单独使用时;且在联用过程中检测到大鼠较为平稳的心率,一方面弥补了咪达唑仑在血流动力学稳定性方面的不足,另一个方面发挥了咪达唑仑不良反应相对较少的优势。研究表明,两种药物能够相辅相成,联用体现出了更强的心肌保护效应,为相关临床研究提供了一定的参考意义。

参 考 文 献

- [1] 吴云,顾尔伟,方卫平,等.舒芬太尼后处理对在体大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响.安徽医科大学学报,2011,46(7): 652-655.
- [2] 韩冲芳,贺建东,王晓鹏,等.七氟醚预处理联合后处理对大鼠心肌缺血-再灌注损伤的影响.临床麻醉学杂志,2015,31(6): 592-596.
- [3] Pouraghaei M, Moharamzadeh P, Soleimanpour H, et al. Comparison between the effects of alfentanil, fentanyl and sufentanil on hemodynamic indices during rapid sequence intubation in the emergency department. *Anesthe Pain Med*, 2014, 4(1): e14618.
- [4] Fechner J, Ihmsen H, Schüttler J, et al. The impact of intra-operative sufentanil dosing on post-operative pain, hyperalgesia and morphine consumption after cardiac surgery. *Eur J Pain*, 2013, 17(4): 562-570.
- [5] Lemoine S, Zhu L, Massetti M, et al. Continuous administration of remifentanyl and sufentanil induces cardioprotection in human myocardium, in vitro. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2011, 55(6): 758-764.
- [6] Wu QL, Shen T, Ma H, et al. Sufentanil preconditioning protects the myocardium from ischemia-reperfusion via PI3K/Akt-GSK-3 β pathway. *J Surg Res*, 2012, 178(2): 563-570.
- [7] Seo JI, Han SH, Choi R, et al. Cardiopulmonary and anesthetic effects of the combination of butorphanol, midazolam and alfaxalone in Beagle dogs. *Vet Anaesth Analg*, 2015, 42(3): 304-308.
- [8] Xia WF, Liu Y, Zhou QS, et al. Comparison of the effects of propofol and midazolam on inflammation and oxidative stress in children with congenital heart disease undergoing cardiac surgery. *Yonsei Med J*, 2011, 52(2): 326-332.
- [9] 崔湧,马虹,聂宏光,等.咪达唑仑对大鼠单一心室肌细胞 ATP 敏感性钾电流的作用.山西医药杂志,2010,39(8): 687-689.
- [10] 谈媛媛.舒芬太尼复合异丙酚在急性心肌梗死镇痛中的应用研究.解放军医学杂志,2015,40(7): 587-590.
- [11] 张静,余鹏,周志东,等.七氟醚后处理对大鼠心肌缺血-再灌注时 AKT/GSK3 β /mTOR 表达的影响.临床麻醉学杂志,2015,31(12): 1215-1220.
- [12] 张静,余鹏,华福洲,等.ERK1/2 介导的 p70S6K 信号通路在七氟醚后处理离体大鼠缺血-再灌注损伤中的作用.临床麻醉学杂志,2015,31(7): 697-701.
- [13] Bonaca MP, Bhatt DL, Braunwald E, et al. Design and rationale for the prevention of cardiovascular events in patients with prior heart attack using ticagrelor compared to placebo on a background of aspirin-thrombolysis in myocardial infarction 54 (PEGASUS-TIMI 54) trial. *Am Heart J*, 2014, 167(4): 437-444.
- [14] Albrecht M, Gruenewald M, Zitta K, et al. Hypothermia and anesthetic postconditioning influence the expression and activity of small intestinal proteins possibly involved in ischemia/reperfusion-mediated events following cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation*, 2012, 83(1): 113-118.
- [15] Brevoort D, Kranke P, Kuijpers M, et al. Remote ischemic conditioning to protect against ischemia-reperfusion injury: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 2012, 7(7): e42179.
- [16] 刘祥,景桂霞,白娟,等.舒芬太尼预处理对大鼠心肌缺血再灌注时 PI3K/Akt 的影响.南方医科大学学报,2014,34(3): 335-340.
- [17] Marinovic J, Ljubkovic M, Stadnicka A, et al. Role of sarcolemmal ATP-sensitive potassium channel in oxidative stress-induced apoptosis: mitochondrial connection. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294(3): H1317-H1325.
- [18] Ozcan C, Terzic A, Bienengraeber M. Effective pharmacotherapy against oxidative injury: alternative utility of an ATP-sensitive potassium channel opener. *J Cardiovas Pharmacol*, 2007, 50(4): 411-418.

(收稿日期:2016-11-24)