

研究论文

二氮嗪在长时程心脏低温保存中的作用

郭 炜¹, 沈岳良¹, 陈莹莹¹, 胡志斌², 严志焜², 夏 强^{1,*}¹浙江大学医学院生理教研室; ²浙江省人民医院, 杭州 310031

摘要: 延长心脏的体外有效保存时间对临床心脏移植具有重要意义。本文旨在研究线粒体 ATP 敏感性钾通道开放剂二氮嗪(diazoxide, DE)在离体大鼠心脏长时程低温保存中的作用。SD 大鼠随机分成 5 组, 包括对照组(单纯 Celsior 保存液), DE 组(Celsior 液中含 15、30 或 45 $\mu\text{mol/L}$ 的 DE)和 DE+5-HD 组 [Celsior 液中含 30 $\mu\text{mol/L}$ 的 DE 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-羟基癸酸盐(5-hydroxydecanoate, 5-HD)]。利用 Langendorff 离体鼠心灌注法, 观察心脏在 4℃ 条件下保存 10 h 后, 复灌期血流动力学恢复、冠脉流出液中心肌酶漏出量及心肌水含量变化, 并做心肌超微结构检查。结果显示: 与对照组比较, DE 处理后, 复灌期的左心室舒张末期压力明显降低, 心率、左心室发展压、左心室压力变化率、冠脉流出量等的恢复率在多个复灌时间点上优于对照组, 且能显著减少复灌过程中心肌酶(乳酸脱氢酶、磷酸肌酸激酶及谷草转氨酶)的漏出量, 降低心肌水含量; 其中 30 和 45 $\mu\text{mol/L}$ DE 组的保护作用优于 15 $\mu\text{mol/L}$ DE 组; 电镜结果显示 DE 对长时程低温保存心脏的超微结构有较好的保护作用。DE 的上述作用可被线粒体 ATP 敏感性钾通道的特异性阻断剂 5-HD 所取消。以上结果提示: DE 可通过激活线粒体 ATP 敏感性钾通道显著改善离体大鼠心脏长时程低温保存效果。

关键词: 二氮嗪; 器官保存; 线粒体; 心脏; 三磷酸腺苷; 钾通道; 缺血

中图分类号: Q463

The protective effect of diazoxide on long-term heart preservation

GUO Wei¹, SHEN Yue-Liang¹, CHEN Ying-Ying¹, HU Zhi-Bin², YAN Zhi-Kun², XIA Qiang^{1,*}¹Department of Physiology, Zhejiang University School of Medicine; ²People's Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310031, China

Abstract: Prolongation of the duration of heart preservation *in vitro* is very important in clinical heart transplantation. Previous studies have shown that mitochondrial ATP-sensitive potassium channel (mitoK_{ATP}) plays an important role in cardioprotective effect. The purpose of this study was to assess whether the mitoK_{ATP} opener diazoxide as an additive to cardioplegia solution could enhance myocardial protection during long-term hypothermic preservation of the rat heart. Langendorff model of isolated rat heart was used. After 30 min stabilization of perfusion, the hearts were stored in Celsior cardioplegia solution at 4°C with (15, 30 and 45 $\mu\text{mol/L}$) or without diazoxide, a mitoK_{ATP} channel opener, for 10 h followed by 60 min reperfusion. The recovery of cardiac contractile function, myocardial enzyme leakage in the coronary effluent, and myocardial water content were determined. The myocardial ultrastructure was also observed. We found that: (1) Diazoxide treatment improved the recovery of left ventricular developed pressure and $\pm dp/dt_{\text{max}}$ dose-dependently. Left ventricular end-diastolic pressure was significantly lower in diazoxide-treated hearts than that of hearts in Celsior solution after hypothermic preservation for 10 h. (2) Diazoxide at 30 and 45 $\mu\text{mol/L}$ significantly decreased the water content of myocardium and increased coronary flow of the hearts compared to those in control. (3) The leakage of myocardial enzymes (lactate dehydrogenase, creatine kinase and glutamate-oxaloacetate transaminase) in the coronary effluent was significantly reduced in diazoxide-treated hearts. (4) Impairment of myocardial ultrastructure after 10 h hypothermic preservation was alleviated in hearts treated with 30 $\mu\text{mol/L}$ diazoxide. (5) The cardiac effects of 30 $\mu\text{mol/L}$ diazoxide were attenuated by a mitoK_{ATP} blocker 5-hydroxydecanoate (5-HD, 100 $\mu\text{mol/L}$). These results indicate that diazoxide as a supplementation in cardioplegia solution could enhance myocardial protection during long-term hypothermic heart preservation via opening of mitochondrial K_{ATP} channel.

Key words: diazoxide; organ preservation; mitochondria; heart; adenosine triphosphate; potassium channels; ischemia

Received 2004-04-12 Accepted 2004-05-24

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. 398016).

*Corresponding author. Tel: +86-571-87217146; Fax: +86-571-87217147; E-mail: xiaqiang@zju.edu.cn

在心脏移植的相关研究中, 尽管许多学者对心脏保存液的成分及灌注方式进行了调整, 如添加血浆有效成分、营养基质、离子交换体抑制剂等^[1, 2], 但术后可逆性心脏收缩功能低下或心肌顿抑的比例仍然很高^[3]。到目前为止, 移植心脏的低温保存时限只有 4~6 h, 远远低于肝、肾、胰腺的保存时间。因此, 延长离体心脏的有效保存时间, 能为潜在的免疫配型赢得机会, 同时也可保证远距离获取供心的成功。

近年来的研究发现, 线粒体 ATP 敏感性钾通道 (mitochondrial ATP-sensitive potassium channel, $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道) 激活与缺血预处理的心肌保护作用有密切关系, $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道开放剂可模拟缺血预处理效应, 减轻缺血再灌注损伤^[4], 改善再灌注后心功能的恢复^[5-7]; 降低心肌梗死范围^[8]; 减少坏死和凋亡的发生^[9, 10]。这为心脏移植过程中的供心保存提供了新的研究思路。

二氮嗪(diazoxide, DE)是一种苯丙噻二嗪类衍生物, 作为一种直接作用于 K_{ATP} 通道的降压药用于临床高血压危象的治疗。在移植心脏保存领域, 已有实验发现 DE 预处理后可明显改善冷保存后心功能的恢复, 减轻心肌水肿程度^[11-13]。但 DE 的降压效应可能使供体的血流动力学不稳定从而影响供体心脏的功能, 另外, DE 预处理方式在临床应用上也具有一定的局限性。因此, 在随后的实验中, 研究者改变了 DE 加药时间, 将 DE (100 $\mu\text{mol/L}$) 添加在心麻痹液中进行心脏保存, 发现 DE 可改善心肌的舒张功能和减轻心肌水肿, 对心肌收缩功能的改善只在 DE 处理 10 h 后才观察到^[14]。本研究采用直接在心麻痹液中添加三个不同浓度的 DE 以观察其对心脏的长时间保护可能的量-效关系, 并用 DE 的特异阻断剂 5-羟基癸酸盐确认 DE 的心脏效应是通过心肌线粒体 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 发挥作用的。

1 材料与方法

1.1 药品和溶液的配制 二氮嗪(diazoxide, DE), 5-羟基癸酸盐(5-hydroxydecanoate, 5-HD)和二甲亚砜(DMSO)均为美国 Sigma 公司产品。DE 使用前用 DMSO 溶解, DMSO 终浓度小于 0.1%。Celsior 液用于心脏的停搏和保存, 其成分及含量为(mmol/L): NaOH 100、KCl 15、 MgCl_2 13、 CaCl_2 0.25、Mannitor 60、Lactobionate 80、Histidine 30、

Glutamate 20, pH 7.4, 渗透压 320 mOsm/L。

1.2 实验动物与分组 雄性 SD 大鼠(体重 250~300 g), 由浙江省医学科学院实验动物中心提供。根据保存液成分的不同, 随机分为 5 组。(1) 对照组: 离体心脏平衡后保存于 Celsior 液中。(2) DE 组: 离体心脏在含 DE 的 Celsior 液中保存, 分为 15、30 和 45 $\mu\text{mol/L}$ 3 个 DE 浓度组。(3) DE + 5-HD 组: Celsior 液中含 30 $\mu\text{mol/L}$ DE 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-HD。

1.3 离体鼠心灌流和低温保存 大鼠称重后开胸, 取出心脏后迅速转移并固定于 Langendorff 灌流装置上, 用改良 Krebs-Henseleit(K-H) 液行常规逆行恒压灌注(76 mmHg)。K-H 液成分如下(mmol/L): NaCl 118.0、KCl 4.7、 KH_2PO_4 1.2、 MgSO_4 1.2、 NaHCO_3 25.0、 CaCl_2 1.25、Glucose 10.0, pH 7.4。整个灌注期间温度保持在 37℃, 灌注液用 95% O_2 -5% CO_2 饱和。肺动脉根部切开, 使冠脉循环回流液充分引流。切开左心耳, 将连有压力传感器的球囊送入左心室, 压力传感器与 MedLab 生物信号采集处理系统连接。待离体鼠心收缩逐渐稳定后, 往心室球囊内缓慢注入适量生理盐水, 使左心室舒张末期压维持在 6~8 mmHg, 记录球囊注水量。平衡灌注 30 min 时测定心室血流动力学指标, 作为基础值。测定完成后经主动脉根部灌注 4℃的 Celsior 液, 灌注压力为 76 mmHg, 灌注时间控制在 3 min 以内, 心脏表面同时降温, 待心脏停跳后置于不同的心肌保存液中, 在 4℃条件下保存 10 h 后, 心脏被重新置于 Langendorff 装置上复灌 60 min, 灌注条件同保存前一致。复灌开始后的前 10 min 作为心脏复苏后的稳定期, 10 min 后开始测定血流动力学指标。

1.4 观察指标

1.4.1 心功能测定指标 观察复灌过程中的心率(HR)、左心室舒张末期压力(LVEDP)、左心室发展压(LVDP)、左心室压力变化率($\pm \text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$)、冠脉流出量(CF)等指标的变化。每隔 10 min 测定一次, 连续测定 5 次。

1.4.2 心肌酶漏出量 分别留取平衡 30 min 时及复灌 2、4、6、8、10 及 30 min 时的冠脉流出液, 用全自动生化分析仪测定其中乳酸脱氢酶(LDH)、磷酸肌酸激酶(CK)及谷草转氨酶(GOT)的含量。

1.4.3 心肌含水量 复灌结束后留取左心室前壁的一块心肌, 用滤纸拭干, 称取湿重后置于 80℃烘箱

中烘烤 48 h, 称心肌干重。心肌含水量=(湿重-干重)/湿重 $\times$ 100%。

1.4.4 心肌超微结构 实验结束后, 分别从对照组、30 $\mu\text{mol/L}$ DE 组和 DE+5-HD 组中各随机留取 2 例心肌, 取左室壁上的一块组织, 置入 3% 戊二醛溶液中, 制备电镜标本, 观察各组保存后心肌超微结构的改变。

1.5 统计学处理 数据以 Mean $\pm$ SD 表示, 并用 SigmaStat 软件包处理。组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和 SNK 检验。

2 结果

2.1 低温保存后心功能恢复情况

2.1.1 心率恢复率的变化 各组心脏保存 10 h 后, 30 及 45 $\mu\text{mol/L}$ DE 处理组的 HR 恢复率(以 K-H 液平衡灌流 30 min 时的指标为 100%) 在复灌 50、60 min 时较对照组增高($P<0.05$), 其余各组无显著性差异($P>0.05$, 表 1)。

2.1.2 左室舒张末期压力的变化 保存后各组 LVEDP 较平衡时均明显增加, 与对照组比较, 3 种浓度的 DE 处理后可显著抑制复灌期 LVEDP 的增高($P<0.01$), 5-HD 取消了 DE 的这一作用($P<0.01$, 图 1)。

2.1.3 左室发展压力恢复率的变化 各 DE 处理组保存后的 LVDP 恢复率均较对照组高。5-HD 组与对照组相比无显著性差异($P>0.05$); 与 15 $\mu\text{mol/L}$ DE 组相比较, 30 $\mu\text{mol/L}$ 及 45 $\mu\text{mol/L}$ DE 组的 LVDP 恢复率明显增高($P<0.05$, $P<0.01$), 而后两组之间无显著性差异($P>0.05$, 图 2)。

2.1.4 左室压力上升/下降最大速率恢复率的变化 与对照组比较, 15 $\mu\text{mol/L}$ DE 处理组的 $+dp/dt_{\max}$ 无显著改变($P>0.05$), 而 30 $\mu\text{mol/L}$ 及 45 $\mu\text{mol/L}$ DE 组的 $+dp/dt_{\max}$ 恢复率则明显增高($P<0.01$); 后两组之间无显著性差异($P>0.05$, 图 3)。

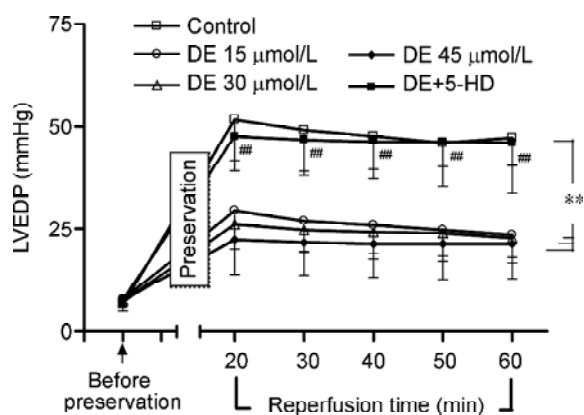


图 1. 低温保存后各组 LVEDP 的变化

Fig. 1. Alterations of left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) before preservation and during 60 min reperfusion after 10 h hypothermic preservation. All results are shown as mean $\pm$ SD. $n=8$. ** $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs 30 $\mu\text{mol/L}$ DE.

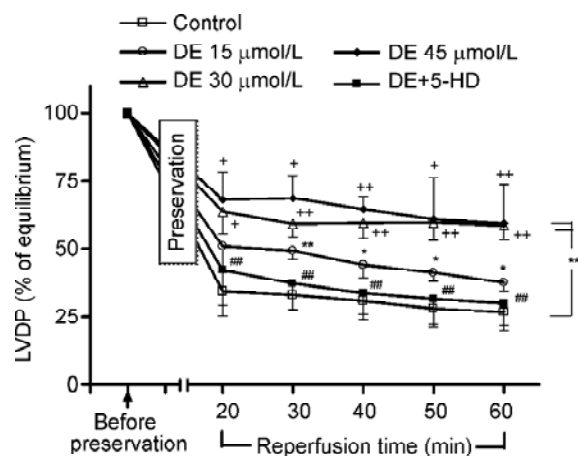


图 2. 低温保存后各组 LVDP 的恢复情况

Fig. 2. Recovery of left ventricular developed pressure (LVDP) during 60 min reperfusion after 10 h hypothermic preservation. All results are shown as mean $\pm$ SD. $n=8$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs 30 $\mu\text{mol/L}$ DE, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs 15 $\mu\text{mol/L}$ DE.

表 1. 低温保存后心率的恢复情况

Table 1. Heart rate (% of equilibrium) after long-term hypothermic preservation

Groups	n	Reperfusion time (min)				
		20	30	40	50	60
Control	8	74.35 $\pm$ 9.60	77.48 $\pm$ 4.80	76.05 $\pm$ 5.91	76.0 $\pm$ 13.08	71.43 $\pm$ 2.31
DE 15 $\mu\text{mol/L}$	8	78.78 $\pm$ 14.33	85.16 $\pm$ 14.38	81.63 $\pm$ 21.56	84.82 $\pm$ 15.99	84.12 $\pm$ 14.0
DE 30 $\mu\text{mol/L}$	8	84.80 $\pm$ 8.91	86.18 $\pm$ 11.63	84.82 $\pm$ 12.09	90.28 $\pm$ 8.99*	89.30 $\pm$ 17.1*
DE 45 $\mu\text{mol/L}$	8	85.07 $\pm$ 14.04	91.94 $\pm$ 12.40	90.54 $\pm$ 11.66	85.58 $\pm$ 7.84	86.94 $\pm$ 9.42*
DE+5-HD	8	78.08 $\pm$ 14.45	83.82 $\pm$ 16.92	83.67 $\pm$ 14.20	82.49 $\pm$ 6.25	81.07 $\pm$ 6.18

Heart rate, expressed as a percentage of equilibrium values, during 60 min reperfusion after 10 h hypothermic preservation. All results are shown as mean $\pm$ SD. * $P<0.05$ vs control.

不同浓度的DE处理后,其 $-dp/dt_{\max}$ 恢复率均较对照组增高($P<0.01$),DE+5-HD组与对照组相比无显著性差异($P>0.05$,图3)。

10 h低温保存后心室内压记录曲线见图4。

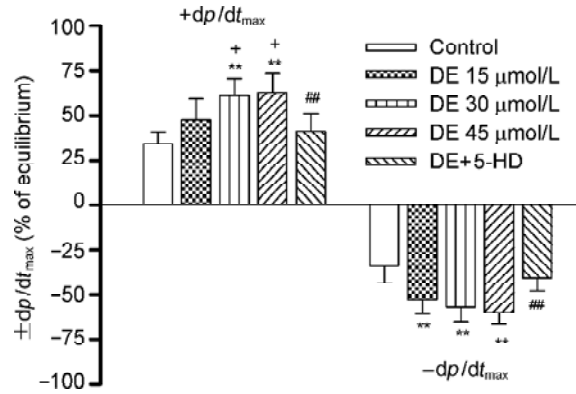


图 3. 低温保存后复灌 60 min 时各组 $\pm dp/dt_{\max}$ 的恢复情况
Fig. 3. Recovery of $\pm dp/dt_{\max}$ at the end of 60 min reperfusion after 10 h hypothermic preservation. All results are shown as mean $\pm$ SD. $n=8$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control, ## $P<0.01$ vs 30 $\mu\text{mol/L}$ DE, + $P<0.05$ vs 15 $\mu\text{mol/L}$ DE.

1.5 冠脉流量恢复率的变化 与对照组相比,30 及 45 $\mu\text{mol/L}$ DE 组的 CF 恢复率在多个复灌时间点处均有

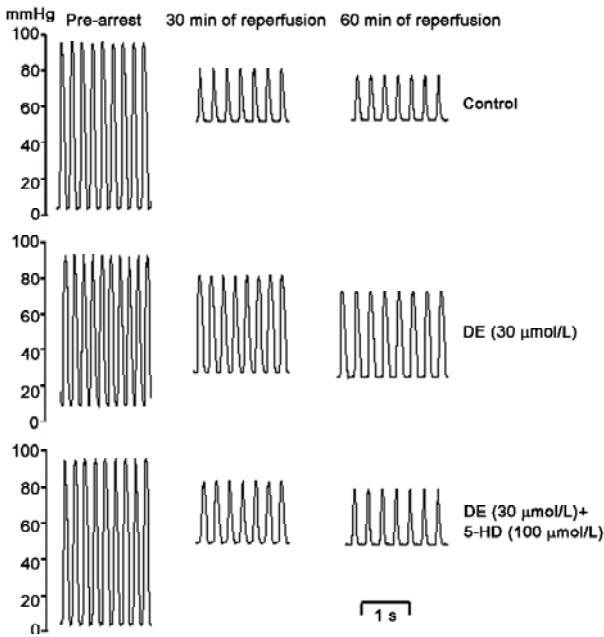


图 4. 低温保存后各组心室内压记录曲线
Fig. 4. Representative tracing showing effect of diazoxide (DE, 30 $\mu\text{mol/L}$) and DE (30 $\mu\text{mol/L}$)+5-hydroxydecanoate (5-HD, 100 $\mu\text{mol/L}$) on intraventricular pressure after hypothermic preservation for 10 h.

增高($P<0.05$),5-HD 处理后取消这一作用;15 $\mu\text{mol/L}$ DE 处理组与对照组无显著性差异($P>0.05$,表 2)。

表2. 低温保存后不同处理组冠脉流量(CF)恢复的情况

Table 2. Coronary flow (% of equilibrium) after long-term hypothermic preservation

Groups	n	Reperfusion time (min)				
		20	30	40	50	60
Control	8	42.62 $\pm$ 10.99	36.24 $\pm$ 7.88	32.02 $\pm$ 7.58	27.86 $\pm$ 7.39	25.16 $\pm$ 7.12
DE 15 $\mu\text{mol/L}$	8	43.53 $\pm$ 3.39	40.62 $\pm$ 1.91	35.75 $\pm$ 2.48	32.23 $\pm$ 1.91	29.24 $\pm$ 3.72
DE 30 $\mu\text{mol/L}$	8	58.13 $\pm$ 7.99*	52.05 $\pm$ 8.33**	49.45 $\pm$ 9.92**	45.03 $\pm$ 11.7**	42.19 $\pm$ 10.2**
DE 45 $\mu\text{mol/L}$	8	53.45 $\pm$ 16.53	47.29 $\pm$ 9.32	44.49 $\pm$ 10.18*	41.97 $\pm$ 8.27*	40.0 $\pm$ 9.24**
DE+5HD	8	41.30 $\pm$ 9.60##	37.16 $\pm$ 2.76##	35.52 $\pm$ 3.51##	28.24 $\pm$ 6.48##	28.07 $\pm$ 2.26##

Coronary flow, expressed as a percentage of equilibrium values, during 60 min reperfusion after 10 h hypothermic preservation. All results are shown as mean $\pm$ SD. $n=8$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control, ## $P<0.01$ vs 30 $\mu\text{mol/L}$ DE.

2.2 心肌酶学的变化

平衡30 min时测冠脉流出液中LDH、CK和GOT的含量,5组间无显著性差异($P>0.05$)。在复灌过程中,各组心肌酶漏出量均显示在复灌4 min左右出现峰值,以后随复灌时间的延长而呈逐渐降低的趋势。与对照组比较,不同浓度的DE处理后其LDH、CK和GOT的含量均明显降低($P<0.05$);DE+5-HD组与对照组相比无显著性差异($P>0.05$,图5、6)。

2.3 心肌水含量的变化

保存10 h后,与对照组比较,15 $\mu\text{mol/L}$ DE组的心肌水含量无显著差异($P>0.05$),30及45 $\mu\text{mol/L}$ DE处理后,心肌水含量明显降低($P<0.01$),5-HD处理后,30 $\mu\text{mol/L}$ DE降低心肌水含量的作用被取消($P<0.05$,图7)。

2.4 各组心肌超微结构的改变

低温保存10 h后对照组心肌结构不清楚,肌纤维排列紊乱;线粒体明显肿胀,嵴结构破坏,较

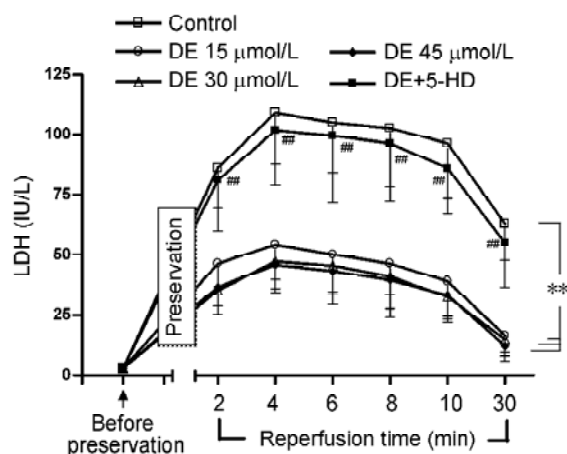


图 5. 低温保存后心肌乳酸脱氢酶(LDH)漏出量

Fig. 5. Release of myocardial lactate dehydrogenase (LDH) in the coronary effluent before preservation and during 60 min reperfusion after 10 h hypothermic preservation. All results are shown as mean $\pm$ SD. $n=8$. ** $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs 30 $\mu\text{mol/L}$ DE.

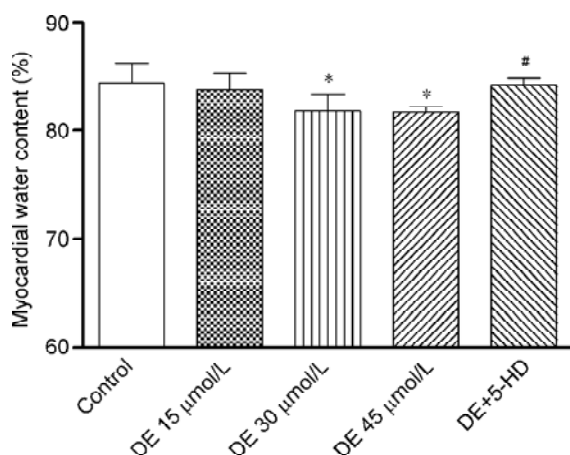


图 7. 低温保存后心肌水含量的变化

Fig. 7. Myocardial water content after 10 h hypothermic preservation, expressed as 100 (wet weight-dry weight)/wet weight. All results are shown as mean $\pm$ SD. $n=8$. * $P<0.05$ vs control, # $P<0.05$ vs 30 $\mu\text{mol/L}$ DE.

多空泡变性。30 $\mu\text{mol/L}$ DE 组肌纤维排列较整齐, 线粒体肿胀不明显, 嵴结构相对清楚, 偶有空泡变性。DE+5-HD 组心肌结构与对照组相似(图8)。

3 讨论

本研究发现, 在心麻痹液中直接添加 DE, 可明显改善低温保存 10 h 后大鼠心脏的收缩和舒张功能、减轻心肌损伤引起的细胞内酶的漏出、以及保持心肌细胞线粒体超微结构的相对完整, DE 对长时程低温保存心脏的保护作用的主要指标表现出剂

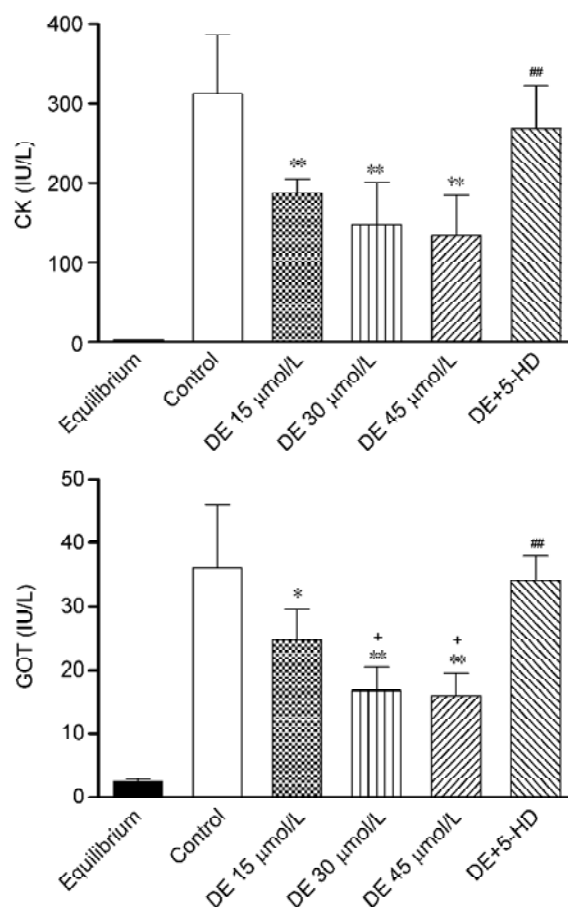


图 6. 低温保存后复灌 4 min 时心肌磷酸肌酸激酶(CK) 及谷草转氨酶(GOT) 漏出量

Fig. 6. Release of myocardial creatine kinase (CK) and glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT) in the coronary effluent at the 4th min of reperfusion after 10 h hypothermic preservation. All results are shown as mean $\pm$ SD. $n=8$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control, # $P<0.01$ vs 30 $\mu\text{mol/L}$ DE, + $P<0.05$ vs 15 $\mu\text{mol/L}$ DE.

量-效应关系, 并可被 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道的特异性阻断剂 5-HD 所取消。表明 DE 的这种心脏保护效应是通过 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道起作用的。

目前临床常用的心脏保存液的有效保存时限只有 4~6 h, 尽管有报道认为低温保存 6 h 后的心脏在移植术后仍可有较好的预后, 但临床统计证实随保存时间延长, 移植后病死率仍有从低温保存 2 h 的 9.8% 上升到 4 h 的 17.6% 的趋势^[15]。提高心脏保存质量, 延长心脏的有效保存时间是心脏移植领域一个有待解决的重要问题。因此, 迫切需要寻找增强心肌保护和延长心脏保存时间的药物。

已有研究证实, DE 预处理可改善心脏保存后舒张功能的恢复, 降低心肌水含量, 增强心输出量^[11, 12], 但考虑到 DE 的降血压效应引起的不利影响及供心获

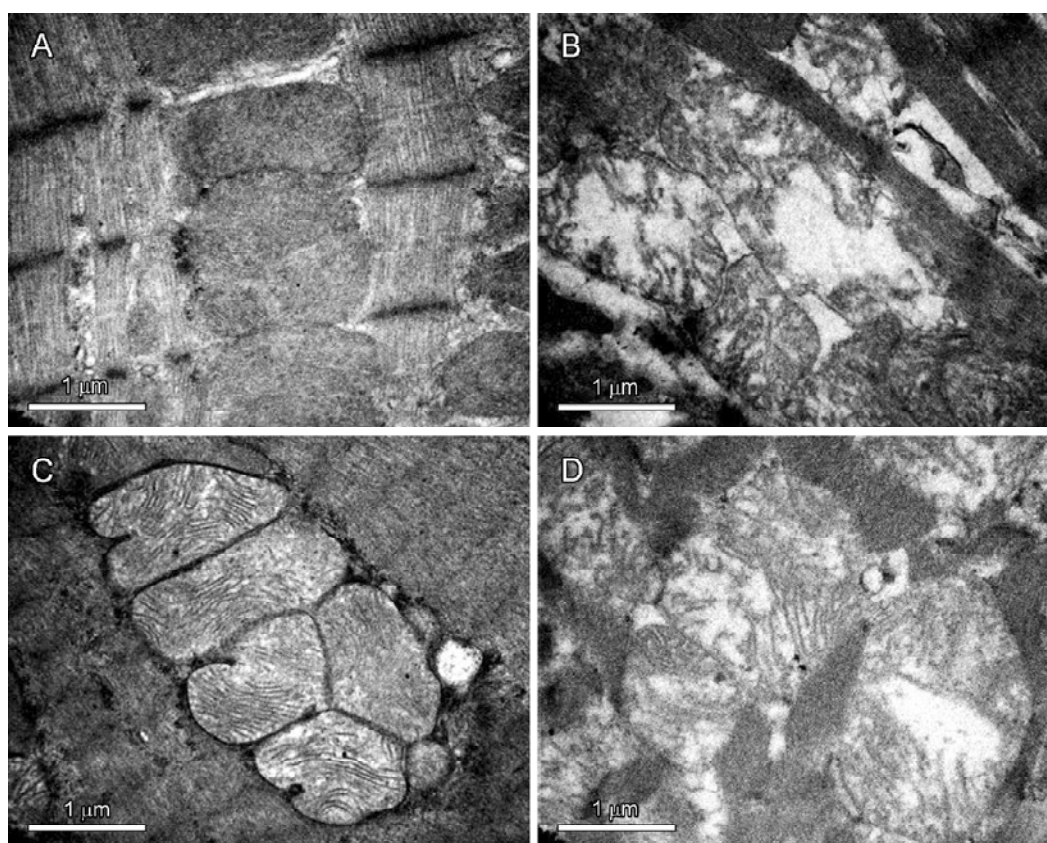


图 8. 低温保存 10 h 后心肌线粒体结构的改变

Fig. 8. Myocardial mitochondria after 10 h hypothermic preservation. A: Normal myocardium from rat heart perfused with K-H solution for 30 min. B: Control group. Mitochondrion bloated and bubbled and disruption of cristae was observed in the rat heart preserved in Celsior solution for 10 h. C: DE group. Mitochondrion was shown slightly swelling, but disruption of cristae was not obvious in the rat heart preserved in Celsior solution supplemented with 30 $\mu\text{mol/L}$ DE. D: DE+5-HD group. Mitochondrion bloated and bubbled and cristae was disrupted in the rat heart preserved in Celsior solution supplemented with 30 $\mu\text{mol/L}$ DE and 100 $\mu\text{mol/L}$ 5-HD. Scale bar, 1 μm .

取前进行 DE 预处理的不便利性, 将 DE 直接添加在保存液中进行心脏保存研究有更大的临床可行性。Kevelaitis 等将 100 $\mu\text{mol/L}$ DE 添加到心脏保存液中, 发现其能明显改善心肌的舒张功能、减轻心肌水肿, 但对缺血后心肌收缩功能的改善只在 DE 处理 10 h 后才出现, DE 处理未改变内皮/非内皮依赖性冠脉反应^[14]。本研究发现, 含 DE 的心脏保存液可剂量依从性地改善 10 h 保存后心脏的收缩功能, 促进舒张功能和冠脉流量的恢复, 以上作用可被 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道的特异性阻断剂 5-HD 取消, 提示在心脏长期缺血低温保存过程中 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道的开放介导了对心肌力学和冠脉功能全面的保护作用。

有关 DE 的心肌保护作用机制尚未完全明了。但是, 从本研究结果所见, DE 与保存心脏共存 10 h 明显减少了心肌细胞内酶的释出量和心肌组织含水

量, 提示其可保持心肌细胞膜的稳定性; 同时发现, DE 可明显减小在长期心脏低温保存中的心肌细胞线粒体的损伤程度, 5-HD 可取消这一作用, 表明 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道开放对线粒体膜结构具有保护作用。有研究显示, 在心脏低温保存过程中, 8~12 h 是心肌能量急剧下降、心脏功能显著减退的关键阶段^[16]。线粒体作为细胞氧化磷酸化的场所, 它既是一个能量工厂, 又参与许多重要生理功能的调节, 对其结构的保护直接影响了心肌低温保存后的复苏效果。目前已知, $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道开放后可通过维持线粒体内 K^+ 平衡以控制线粒体基质容积的改变, 基质容积增加可提高氧代谢率、促进线粒体呼吸^[17,18], 从而向心肌细胞提供能量。DE 可能通过直接开放 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道, 改善细胞的能量供应, 对抗心脏低温保存 8~12 h 时的急剧能量降低, 在改善保存后

心肌各项功能恢复的同时,也保持线粒体膜的相对稳定和完整,保证了心肌细胞的长期生存。

■ ■ **mitoK_{ATP}** 通道开放已经被认为是多种形式细胞保护的共同通路,如 **mitoK_{ATP}** 通道参与缺血预处理的心肌保护作用^[5]、介导 TNF- α 对缺氧/复氧损伤的心肌保护作用^[4]以及参与阿片激动剂对抗心肌缺血性损伤^[19]。但是 **mitoK_{ATP}** 通道开放对抗缺血性损伤的具体保护机制至今还未完全阐明。目前认为, **mitoK_{ATP}** 通道开放后可降低线粒体膜电位、对抗线粒体钙超载,可调节线粒体基质容积、提高氧代谢率和促进线粒体呼吸^[5],可抑制氧应激引起的细胞凋亡^[9]等,以上机制可能也参与长期心肌保存的有益作用。以上推测有待进一步的确认。

参 考 文 献

- Chien S, Zhang F, Niu W, Ehringer W, Chiang B, Shi X, Gray LA Jr. Fructose-1,6-diphosphate and a glucose-free solution enhances functional recovery in hypothermic heart preservation. *J Heart Lung Transplant* 2000; 19(3): 277-285.
- Cropper JR, Hicks M, Ryan JB, Macdonald PS. Cardioprotection by cariporide after prolonged hypothermic storage of the isolated working rat heart. *J Heart Lung Transplant* 2003; 22(8): 929-936.
- Long C(龙村), Guan YL(管玉龙). Advance in hyperpolarized Cardioplegia. *J Cardiovas Pulmon Dis(心肺血管病杂志)* 2002; 21(3):189-190.
- Fu C(傅琛), Cao CM, Xia Q, Yang J, Lu Y. Reactive oxygen species and mitochondrial K_{ATP}-sensitive channels mediated cardioprotection induced by TNF- α during hypoxia and reoxygenation. *Acta Physiol Sin(生理学报)* 2003; 55(3): 284-289.
- Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB, D'Alonzo AJ, Lodge NJ, Smith MA, Grover GJ. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels. Possible mechanism of cardioprotection. *Circ Res* 1997; 81(6): 1072-1082.
- Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection? *Circulation* 1998; 97(24): 2463-2469.
- Wang Y, Ashraf M. Role of protein kinase C in mitochondrial K_{ATP} channel-mediated protection against Ca²⁺ overload injury in rat myocardium. *Circ Res* 1999; 84(10): 1156-1165.
- Toyoda Y, Levitsky S, McCully JD. Opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels enhances cardioplegic protection. *Ann Thorac Surg* 2001; 71(4): 1281-1288.
- Akao M, Ohler A, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circ Res* 2001; 88(12): 1267-1275.
- Wakiyama H, Cowan DB, Toyoda Y, Federman M, Levitsky S, McCully JD. Selective opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels during surgically induced myocardial ischemia decreases necrosis and apoptosis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002; 21(3): 424-433.
- Cropper JR, Hicks M, Ryan JB, Macdonald PS. Enhanced cardioprotection of the rat heart during hypothermic storage with combined Na⁺-H⁺ exchange inhibition and ATP-dependent potassium channel activation. *J Heart Lung Transplant* 2003; 22(11): 1245-1253.
- Kevelaitis E, Oubenaissa A, Peynet J, Mouas C, Menasche P. Preconditioning by mitochondrial ATP-sensitive potassium channel openers: An effective approach for improving the preservation of heart transplants. *Circulation* 1999; 100 (19 Suppl): II345-II350.
- Kevelaitis E, Oubenaissa A, Mouas C, Peynet J, Menasche P. Ischemic preconditioning with opening of mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels or Na/H exchange inhibition: which is the best protective strategy for heart transplants? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121 (1): 155-162.
- Kevelaitis E, Oubenaissa A, Mouas C, Peynet J, Menasche P. Opening of mitochondrial potassium channels: a new target for graft preservation strategies? *Transplantation* 2000; 70(4):576-578.
- Wheeldon D. Thoracic organ preservation. *Perfusion* 1991; 6 (3): 191-202.
- Ku K, Oku H, Alam MS, Saitoh Y, Nosaka S, Nakayama K. Prolonged hypothermic cardiac storage with histidine-tryp- tophan-ketoglutarate solution: comparison with glucose-insulin-potassium and University of Wisconsin solutions. *Transplantation* 1997; 64(7): 971-975.
- Dos SP, Kowaltowski AJ, Laclau MN, Seetharaman S, Paucek P, Boudina S, Thambo JB, Tariosse L, Garlid KD. Mechanisms by which opening the mitochondrial ATP- sensitive K⁺ channel protects the ischemic heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283(1): H284-H295.
- Holmuhamedov EL, Jovanovic S, Dzeja PP, Jovanovic A, Terzic A. Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels modulate cardiac mitochondrial function. *Am J Physiol* 1998; 275 (5 Pt 2): H1567-H1576.
- Peart JN, Gross GJ. Adenosine and opioid receptor-mediated cardioprotection in the rat: evidence for cross-talk between receptors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285(1): H81-H89.