

• 论著 •

 β_3 受体激动剂对心力衰竭大鼠 β_3 -肾上腺素能受体基因表达及其对细胞凋亡的影响

孔一慧 李为民 田颖

【摘要】 目的 研究 β_3 受体激动剂(BRL-37344)对异丙肾上腺素诱导的心力衰竭(心衰)大鼠 β_3 肾上腺素能受体(β_3 -AR)基因表达水平的影响,探讨 β_3 -AR 在心衰中的作用。**方法** 将 Wistar 大鼠随机分为:Ⅰ组(正常对照组 10 只)、Ⅱ组(正常用药组 10 只)、Ⅲ组(心衰组 30 只)和Ⅳ组(心衰用药组 35 只)。Ⅱ组和Ⅳ组尾静脉注射 BRL-37344 为 $0.4 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,每周 2 次,连续 6 周;Ⅰ组和Ⅲ组尾静脉注射等量生理盐水。6 周后检查以下指标:血流动力学变化;免疫组织化学和 Western Blot 法测定 β_3 -AR 蛋白表达;逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)方法测定 β_3 -AR mRNA 表达;原位缺口末端标记法(TUNEL)检测心肌细胞凋亡。**结果** ①与Ⅰ组比较,Ⅱ组、Ⅲ组、Ⅳ组左室收缩末压(PES)、左室压力最大上升速率(dp/dtmax)和左室压力最大下降速率(dp/dtmin)逐渐减小,左室舒张末压(PED)和左室等容舒张时间常数(Tc)逐渐增加。Ⅰ组与Ⅱ组比较仅 PED 出现统计学差异($P < 0.05$),其余各组间两两比较均有差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);② β_3 -AR 蛋白及其 mRNA 表达Ⅲ、Ⅳ组较Ⅰ、Ⅱ组明显增高,Ⅰ、Ⅱ组间比较无显著性差异;Ⅳ组较Ⅲ组升高更明显。③Ⅲ、Ⅳ组较Ⅰ、Ⅱ组心肌细胞凋亡数明显增加(P 均 < 0.01),Ⅰ、Ⅱ组间比较无显著性差异;Ⅳ组较Ⅲ组增加更明显($P < 0.01$)。**结论** β_3 -AR 表达水平在衰竭心脏比非衰竭心脏明显增高;应用 β_3 -AR 激动剂后变化更显著,可促进心肌细胞凋亡; β_3 -AR 水平过度增高可导致心功能降低,可能是心衰发生的基础。

【关键词】 β_3 肾上腺素能受体; 细胞凋亡; 心力衰竭; β_3 受体激动剂

中图分类号:Q255;Q344.13 文献标识码:A 文章编号:1003-0603(2004)03-0142-06

Effect of β_3 -adrenoreceptors agonist on β_3 -adrenoreceptors expression and myocyte apoptosis in a rat model of heart failure KONG Yi-hui*, LI Wei-min, TIAN Ying. * Department of Cardiology, The First Clinical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang, China

【Abstract】 Objective To evaluate the effects of β_3 -adrenoreceptor (AR) agonist (BRL-37344) on the expression of β_3 -AR in a isoproterenol(ISO)-induced heart failure(HF) rat model and to investigate the influence on the levels of β_3 -AR in failing heart. **Methods** The rats were randomly divided into four groups: I group (control group, $n=10$); II group (normal with BRL group, $n=10$); III group (HF group, $n=30$); IV group (HF with BRL group, $n=35$). II and IV groups received BRL $0.4 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ through caudal vein for 10 minutes twice a week. I and III groups received saline at the same time. The measure included hemodynamics, the expression of β_3 -AR in left ventricular myocytes by the techniques of immunohistochemistry, β_3 -AR proteins by western blot, expression levels of β_3 -AR mRNA in myocardium by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and the levels of apoptotic cells with a terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) kit. **Results** ①Hemodynamic: The tendency of left ventricular end systolic pressure(PES), maximal rates of rise of ventricular pressure(dp/dtmax), maximal rates of decline of ventricular pressure(dp/dtmin) in II, III and IV groups were lower ($P < 0.01$), time constant of left ventricular relaxation(Tc) and left ventricular end diastolic pressure(PED) were higher than those of the I group (all $P < 0.01$). There was no difference between I and II group except PED ($P < 0.05$). Compared with III group, PES, dp/dtmax, dp/dtmin in IV group were dramatically decline ($P < 0.05$); Tc, PED were markedly increased (Tc $P < 0.05$, PED $P < 0.01$). ②The levels of β_3 -AR mRNA and β_3 -AR proteins were higher in III and IV groups when compared with I and II groups. There was no difference between I and II group. IV group's levels were higher than III group's. ③The apoptotic rates in III group and IV group were significantly higher than those in I and II group (all $P < 0.01$). When compared with III group's apoptotic cell rate, IV group's was higher($P < 0.01$). **Conclusion** The levels of β_3 -AR mRNA and proteins show an increase in failing heart compared with nonfailing heart. The effect of β_3 -AR agonist aggravate markedly cardiac function and stimulate cardiac myocytes apoptosis in failing heart. If the levels of β_3 -AR were too high, they might contribute to the loss of cardiac function and be the foundation of the functional degradation of HF.

【Key words】 β_3 -adrenoreceptors; apoptosis; heart failure; β_3 -adrenoreceptor agonist

CLC number:Q255;Q344.13 Document code:A Article ID:1003-0603(2004)03-0142-06

基金项目:黑龙江省卫生厅资助项目(2002-036)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学第一临床医学院心内科

作者简介:孔一慧(1967-),女(汉族),安徽省安庆市人,医学博士,副主任医师,主要从事心血管疾病的诊治研究。

充血性心力衰竭(CHF)的发生、发展与交感神经的过度激活有密切的关系, β_1 -肾上腺素能受体(β_1 -adrenergic receptor, β_1 -AR)选择性下调和 Gi 蛋白上调是其主要机制之一^[1]。近年的研究表明,儿茶酚胺介导的 β -AR 调节心肌变力作用有更复杂的机制,其中 β_3 -AR 在衰竭心脏中的作用越来越引起人们的重视,本研究主要通过 β_3 -AR 激动剂对异丙肾上腺素诱导的心力衰竭(心衰)大鼠作用的研究,探讨 β_3 -AR 在心衰中的作用机制及其对心肌细胞凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 心衰动物模型建立:选取体质量为 220 g 左右,10~12 周龄的雄性 Wistar 大鼠(由哈尔滨医科大学实验动物中心提供),用质量分数为 1%的戊巴比妥钠 20~25 mg/kg 经腹腔注射麻醉后,再以 340 mg/kg 异丙基肾上腺素^[2]于中下腹部皮下注射,每日 1 次,连续 2 d。

1.2 分组及给药方法:85 只 Wistar 大鼠被随机分为 4 组:I 组(正常对照组 10 只);II 组(正常用药组 10 只);III 组(心衰组 30 只);IV 组(心衰用药组 35 只)。II 组和 IV 组给予 β_3 受体激动剂(BRL-37344) 0.4 nmol·kg⁻¹·min⁻¹尾静脉注射 10 min,每周 2 次,连续 6 周;I 组和 III 组尾静脉注射等量生理盐水,继续治疗 6 周后检查以下指标。

1.3 血流动力学指标的测定:分离右颈动脉,置入微压力传感导管至左心室。打开压力记录设备,以 400 Hz 的频率应用 Spectrum 软件测定左室压力变化情况。分析左室舒张末压(PED)、左室收缩末压(PES)、左室压力最大上升速率(dp/dtmax)、左室压力最大下降速率(dp/dtmin)以及左室等容舒张时间常数(Tc)的变化。

1.4 免疫组织化学(组化)测定 β_3 -AR 蛋白表达:采用链霉素-生物素复合物(ABC)技术。常规处理抗原修复后滴加山羊抗大鼠 β_3 -AR 抗体(1:200),4℃过夜,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗,然后加入生物素标记的兔抗山羊 IgG,室温孵育 20 min 后滴加 ABC 复合物,室温孵育 20 min,3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色;蒸馏水冲洗、复染、脱水、封片。以 PBS 替代一抗作为阴性对照。含黄色或棕黄色颗粒的细胞为阳性,含蓝紫颗粒的细胞为阴性。显色结果在高倍镜(40×3.3)下根据染色面积和强度进行半定量分析(双盲法):(-)为无阳性染色;(+)为轻度阳性;(++)为中度阳性;(+++)为重度阳性。

1.5 Western 印迹法测定 β_3 -AR 蛋白表达:心肌

组织总蛋白提取按照常规提取方法,测定其蛋白含量(Ultrospec 3000, Pharmacia Biotech)。取各组织中蛋白、标准蛋白经十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳后,转至硝酸纤维素膜上,丽春红染色并观察转移效果,然后用质量分数为 5%的脱脂奶粉-Tris-磷酸盐缓冲液封闭过夜,加入山羊抗 β_3 -AR 抗体(1:200)进行杂交,再用辣根标记的兔抗山羊 IgG 二抗(1:500)进行杂交,DAB 显色,曝光并冲洗,杂交结果在图像分析系统(Chemi Imager™40000, Alpha innotech Corporation)中进行吸光度扫描分析,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参照,计算 β_3 -AR 蛋白与 GAPDH 峰面积的比值。

1.6 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)方法测定 β_3 -AR mRNA 表达:心肌组织总 RNA 提取按照 Trizol 试剂盒说明书(Gibcol 公司)进行,按照一步法 RT-PCR 试剂盒(Clontech Laboratories)提供的说明书加入 RT-PCR 反应所需试剂,无菌水至终体积 50 μ l。逆转录条件为 50℃、1 h。PCR 条件为 94℃预变性 3 min,94℃变性 45 s,退火 45 s;72℃延伸 120 s,40 个循环;72℃延伸 10 min。用于合成的引物参照文献[3,4]方法: β_3 -AR (5'-3')正向引物:AGT GGG ACT CCT CGT AAT G;反向引物:CGC TTA GCT ACG ACG AAC;退火温度 62℃。内参对照 β -actin (5'-3')正向引物:CGT AAA GAC CTC TAT GCC AA;反向引物:AGC CAT GCC AAA TGT GTC AT;退火温度 60℃。引物由上海生工生物工程公司合成。取 5 μ l PCR 产物,于质量分数为 2%的琼脂糖凝胶电泳后,经凝胶成像系统分析和处理,计算 β_3 -AR mRNA 表达与 β -actin 的灰度比值。

1.7 原位缺口末端标记法(TUNEL)检测凋亡细胞:运用 TUNEL 法可以检测到心肌组织病理切片中发生 DNA 断裂的凋亡细胞,该细胞 TUNEL 染色呈阳性,表现为存在于胞核中的棕黄色致密颗粒,称为凋亡小体。凋亡小体是核膜包裹 DNA 碎片的产物,其出现标志着该细胞发生凋亡。取 3 组心肌石蜡切片,按照细胞凋亡检测试剂盒的 POD 法实验步骤进行。光镜下观察,核蓝染者为 TUNEL(-)细胞,代表正常细胞;核黄染者为 TUNEL(+)细胞,代表凋亡细胞。分别观察 5 个高倍视野,取均数作为 TUNEL(+)细胞数目。高倍镜下计算细胞总数和阳性细胞数,阳性细胞率=阳性细胞数/细胞总数。

1.8 药品和试剂来源:①BRL37344、Isoproterenol

由美国 Wake Forest 大学 Bowman Gray 医学院心脏科心脏功能实验室的 C. P. Cheng 教授惠赠。

② β_3 -AR 抗体购自 Santa Cruz 公司。③ β_3 -AR 免疫组化 SP 试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。④辣根标记兔抗山羊 IgG 购自北京中山生物技术有限公司。⑤细胞原位 dUTP 缺口末端 DNA 碎片标记试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.9 统计学分析:指标均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组间比较用方差分析(H 检验)和 q 检验。

2 结果

2.1 血流动力学结果:与 I 组比较, II ~ IV 组 PES、dp/dtmax 和 dp/dtmin 均逐渐减小, PED 和 Tc 逐渐增加。除 I 组与 II 组比较 PED 出现统计学差异外($P<0.05$), I 组与 II 组其它指标无差异,其余各组之间两两比较均有差异(P 均 <0.01)。见表 1。

2.2 β_3 -AR 蛋白表达:

2.2.1 免疫组化法定位研究:在以特异性识别 β_3 -AR 作为一抗的免疫组化切片中, 4 组动物心肌细胞胞浆中均可见阳性的黄色或棕黄色颗粒, 胞膜及胞核中未见阳性颗粒。阳性颗粒均匀分布于胞浆中, 阳性细胞散在分布于心肌组织中, 未见特异性分布。 β_3 -AR 蛋白表达 III 组(图 1C)、IV 组(图 1D)较 I 组(图 1A)、II 组(图 1B)阳性率明显增加, IV 组与 III 组比较, 前者增加更明显。 β_3 -AR 蛋白表达程度: I 组(+), II 组(+), III 组(++), IV 组(+++)。

2.2.2 Western 印迹定量研究: β_3 -AR 蛋白表达 III 组(0.82 ± 0.04)和 IV 组(1.06 ± 0.14)较 I 组(0.47 ± 0.05)和 II 组(0.52 ± 0.07)均明显增高(P 均 <0.01); I 组与 II 组比较无差异, IV 组与 III 组比较, 前者升高更明显($P<0.05$)。见图 2。

2.3 β_3 -AR mRNA 的表达:RT-PCR 检测结果显示, 经 2% 的琼脂糖电泳后可见清晰的 28 s、18 s

表 1 各组血流动力学测定($\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 Hemodynamic parameters in each group($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	PES(mm Hg)	PED(mm Hg)	dp/dtmax(mm Hg/s)	dp/dtmin(mm Hg/s)	Tc(ms)
I 组	8	110.30 ± 3.90	2.60 ± 0.34	$12\ 001\pm 934$	$-8\ 126\pm 690$	12.50 ± 0.62
II 组	8	108.80 ± 4.70	$3.40\pm 0.51^*$	$11\ 775\pm 901$	$-7\ 107\pm 656$	12.70 ± 0.60
III 组	8	$93.20\pm 5.20^{**}\Delta\Delta$	$10.10\pm 0.80^{**}\Delta\Delta$	$7\ 631\pm 520^{**}\Delta\Delta$	$-5\ 011\pm 380^{**}\Delta\Delta$	$20.80\pm 1.01^{**}\Delta\Delta$
IV 组	8	$87.00\pm 3.40^{**}\Delta\Delta\Delta$	$13.30\pm 0.71^{**}\Delta\Delta\Delta$	$7\ 005\pm 390^{**}\Delta\Delta\Delta$	$-4\ 288\pm 440^{**}\Delta\Delta\Delta$	$22.50\pm 0.62^{**}\Delta\Delta\Delta$

注:与 I 组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 II 组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与 III 组比较: $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

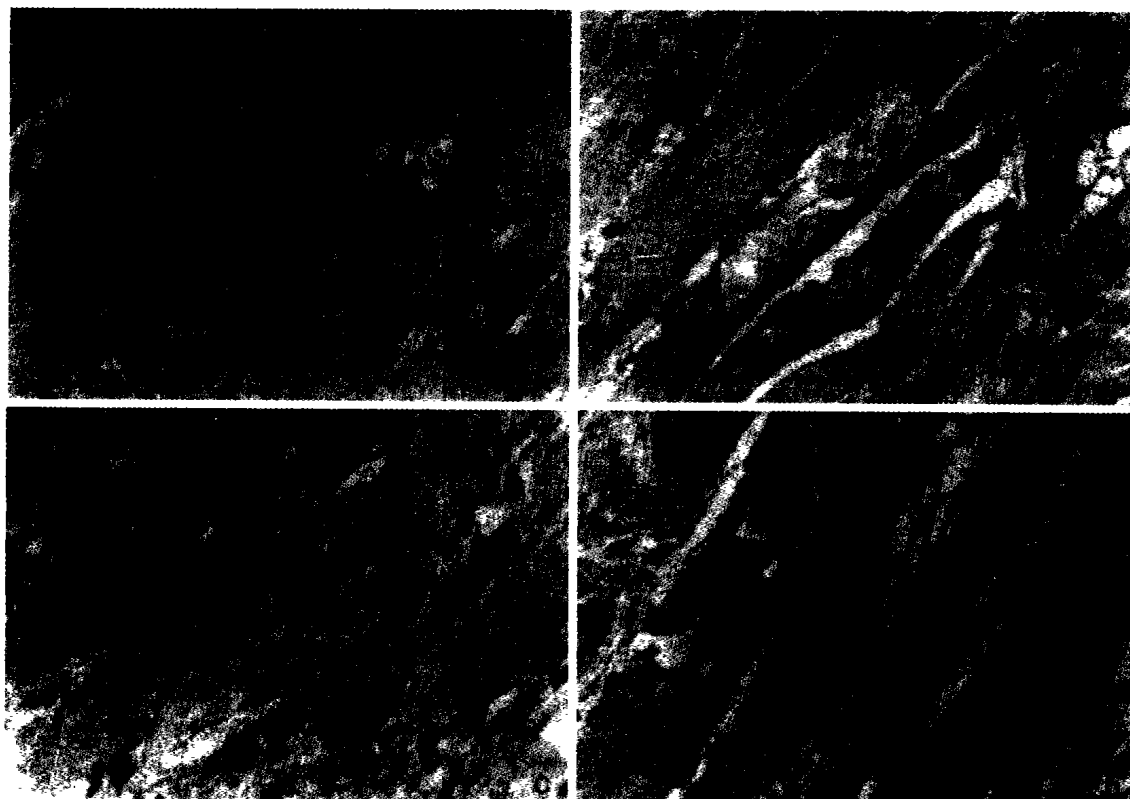
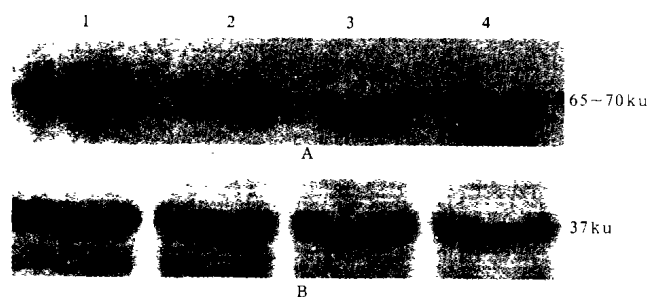


图 1 心肌组织 β_3 -AR 蛋白表达(免疫组化, 40×3.3)

Fig. 1 Expression of β_3 -AR protein in myocardium(immunohistochemistry, 40×3.3)

rRNA, 证实 RNA 的完整性, 各组间 β -actin 的表达基本一致, 说明逆转录效果一致。 β_3 -AR mRNA 与 β -actin 的比值在 I 组与 II 组较低 (I 组 0.75 ± 0.11 , II 组 0.82 ± 0.16 , 两者比较无差异), IV 组最高 (1.49 ± 0.16); I 组、II 组与 III 组 (1.29 ± 0.12)、IV 组相比 P 均 < 0.01 ; IV 组与 III 组比较 $P < 0.05$ 。见图 3。



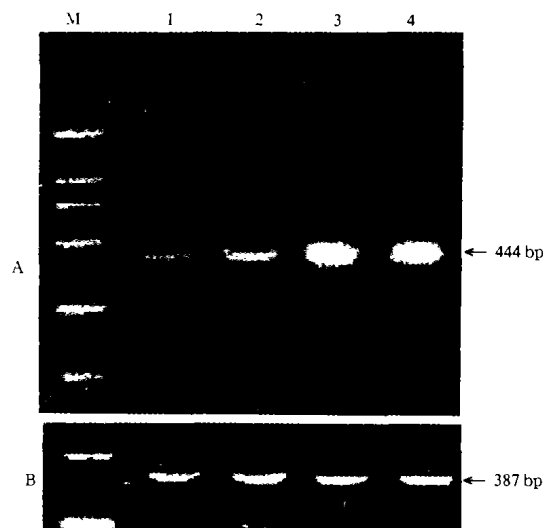
注: A: 1 道为 I 组, 2 道为 II 组, 3 道为 III 组, 4 道为 IV 组;

B: 内参照 GAPDH 蛋白在各组间的表达基本一致

图 2 β_3 -AR 蛋白表达结果

Fig. 2 Expression of β_3 -AR proteins obtained from rat hearts

2.4 细胞凋亡: 高倍镜下 TUNEL 阳性细胞率为: I 组 (1.40 ± 0.60)% (图 4A), II 组 (1.55 ± 0.73)% 偶见凋亡小体 (图 4B), 均显著低于 III 组 (15.34 ± 2.45)% (图 4C) 和 IV 组 (21.33 ± 2.44)% (图 4D) (P 均 < 0.01), III 组与 IV 组比较 $P < 0.01$ 。



注: A 为 β_3 -AR mRNA RT-PCR 产物电泳结果;

M 为 Marker; 2 000 bp, 1 000 bp, 750 bp, 500 bp, 300 bp, 150 bp;

1 道为 I 组, 2 道为 II 组, 3 道为 III 组, 4 道为 IV 组,

B 为 β -actin mRNA RT-PCR 产物电泳结果

图 3 β_3 -AR mRNA 和 β -actin mRNA RT-PCR 产物电泳结果

Fig. 3 β_3 -AR mRNA and β -actin mRNA RT-PCR products obtained from rat hearts

3 讨论

异丙肾上腺素诱导的 CHF 模型已被广泛应用于实验研究中^[5,6]。Teerlink 等^[2]研究表明, 异丙肾上腺素造成心肌坏死的严重程度与其剂量直接相

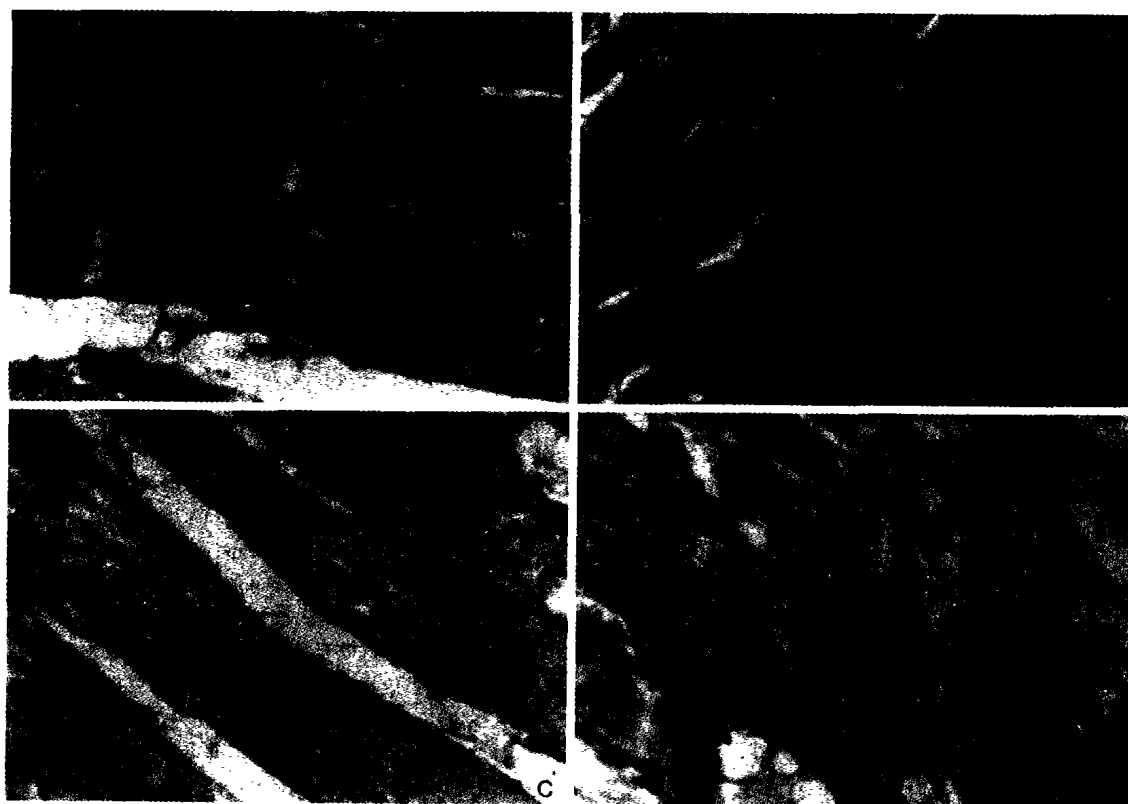


图 4 心肌组织 TUNEL 染色 (40×3.3)

Fig. 4 TUNEL staining for cardiomyopathic hearts (40×3.3)

关, 340 mg/kg 剂量的异丙肾上腺素造成急性死亡率为 75%, 与我们研究的实验结果有差距。本研究急性死亡率偏低, 为 63%, 用药后 6 周时的总死亡率也较文献报道低, 这可能与药物的批号, 动物的来源、营养状态、年龄、种属、生存环境及实验条件不同有关。有关 β 受体在 CHF 中对左室重塑的作用已众所周知^[7]。我们的实验结果证实, 正常组应用 β_3 受体激动剂后仅 PED 增高, 而心衰后用药组比单纯心衰组各方面指标都有恶化, 表明心衰大鼠应用 BRL-37344 后心衰程度更重, 说明 β_3 受体激动剂对于正常心脏及衰竭心脏都有负性肌力作用, 而且在衰竭心脏中更加明显, 即有加重心衰的作用。

本研究通过应用免疫组化、RT-PCR 方法、Western 印迹测定了 β_3 -AR 蛋白及其 mRNA 的表达水平, 结果表明, β_3 -AR 在心衰的心脏中表达增加, 应用 β_3 -AR 激动剂后表达增加更显著。 β_3 受体含量增加在心衰病理变化中的作用还不是很清楚, 它可能是心衰发生、发展的原因或者仅仅是心室功能受损的结果^[8]。心衰时 β_3 受体上调可能有如下几点原因: β_3 受体不包含 β 受体激酶磷酸化位点, 还缺少蛋白激酶 A 调节磷酸化的序列, 它的激活需要比 β_1/β_2 受体激活浓度更高的儿茶酚胺量; β_3 受体对短期激动剂诱导的未耦联信号途径不敏感, 可抵抗长期下调, 同时去甲肾上腺素与 β_3 受体有很高的亲和力; 另外, 在衰竭的心脏中, 与 β_3 受体耦联的 Gi 蛋白含量也明显增加, 促进一氧化氮(NO)生成, 环磷酸鸟苷(cGMP)的增加, 心肌收缩力的降低。因此, 交感神经激活后 β_1/β_2 受体调节的反应消失早, 而 β_3 受体调节的反应可持续存在^[9]。有研究表明, 正常心脏 β_3 -AR 主要是抵消过度的正性肌力作用, 调节氧耗, 阻止钙超载, 从而防止心脏毒性作用。心衰早期, 内源性 NO 的产生除了可以阻止 β_1 -AR 和 β_2 -AR 的过分刺激, 还可增加舒张松弛、增加舒张期储备代偿收缩功能损伤; 而 β_3 -AR 途径作为激活 β_1 -AR 和 β_2 -AR 的负反馈调节在交感神经刺激中所起的作用, 是防止心肌细胞损伤的一种补救途径^[10]。心衰进展到晚期时, 这种代偿机制失衡, β_1 -AR 和 β_2 -AR 密度下调, β_3 -AR 持久增加, 对心肌产生毒性作用, 从而改变儿茶酚胺对心脏正性肌力和负性肌力作用间的平衡, 引起心肌功能障碍。

本研究中应用 TUNEL 法检测发现, III 组和 IV 组较 I 组和 II 组心肌凋亡细胞阳性率明显升高。高倍镜下 III 组、IV 组可见到灶性坏死周围有明显的心肌细胞凋亡现象, 表明大剂量异丙肾上腺素可引起

部分心肌细胞凋亡。心衰大鼠在 β_3 受体激动剂作用后心肌细胞的 TUNEL 阳性率较单纯心衰组明显增高, 且这些阳性细胞大多位于心肌损伤区, 说明 β_3 受体激动剂有促进心肌细胞凋亡的作用。 β_3 受体过度增加对衰竭心脏细胞凋亡影响的作用机制可能有以下几点: 一是通过调节 Ca^{2+} 内流, 包括改变调节凋亡基因的转录或 Dnase I, 以及激活心肌内 Ca^{2+} 依赖的核酸内切酶, 促发心脏重构^[11], 导致心脏泵血功能减退; 二是心肌 β_3 受体与 Gi 蛋白相连, 刺激内皮型一氧化氮合酶(eNOS)生成 NO(NO 是重要的第二信使), 可作用于心肌细胞内其它介导凋亡的信号分子, 通过影响它们的生成和释放而发挥作用, 促进心肌细胞凋亡。有报道显示 NO 可通过 cGMP 途径诱导 p53 基因表达引起的细胞凋亡^[12]。至于 CHF 时 β_3 受体增加是否有直接的或其它导致心肌细胞凋亡的途径, 还需要进一步深入研究。

本研究结果显示, 心衰时 β_3 受体明显增加并促进凋亡。 β_3 -AR 亚型的研究提示了治疗心衰的新策略: β_3 -AR 阻滞剂可改善心脏的生物学特性, 阻止心肌细胞凋亡, 减缓心衰的进程; 而在用 β_3 -AR 激动剂治疗肥胖和糖尿病时^[13], 要注意它的心脏副作用, 特别是 CHF 患者。

参考文献:

- 1 Post S R, Hammond H K, Insel P A. β -adrenergic receptors and receptor signaling in heart failure [J]. Annu Rev Pharmacol, 1999, 39: 343-360.
- 2 Teerlink J R, Pfeffer J M, Pfeffer M A. Progressive ventricular remodeling in response to diffuse isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats [J]. Circ Res, 1994, 75: 105-113.
- 3 Dincer U D, Bidasee K R, Güner A, et al. The effect of diabetes on expression of β_1 -, β_2 -, and β_3 -adrenoreceptors in rat hearts [J]. Diabetes, 2001, 50: 455-461.
- 4 Bristow M R, Kantrowitz N E, Ginsburg R, et al. β -adrenergic function in heart muscle disease and heart failure [J]. J Moll Cell Cardiol, 1985, 17 (Suppl 2): 41.
- 5 Zhang Zhushan, Onishi K, Cheng cheping. The effect of endothelin-1 on cardiac L-type calcium current; normal vs congestive heart failure [J]. Circulation, 1997, 96: 1266-1274.
- 6 Endoh M, Blings J R. Action of sympathomimetic amines on the Ca^{2+} transient and contraction of rabbit myocardium: reciprocal changes in myofibrillar responsiveness to Ca^{2+} mediated through α - and β -adrenoceptors [J]. Circ Res, 1988, 62 (2): 247.
- 7 易岂建, 钱永如, 李仕章, 等. 充血性心力衰竭患心肌 β 肾上腺素能受体系统在心室重塑中作用的研究 [J]. 中国危重病急救医学, 1999, 11 (7): 421-423.
- 8 Cheng Hengjie, Zhang Zhushan, Onishi K, et al. Upregulation of functional β_3 -adrenergic receptor in the failing canine myocardium [J]. Circ Res, 2001, 89: 599-606.
- 9 Chantal G, Dominique L, Jean-Luc B. β_3 -adrenoceptors in the cardiovascular system [J]. Trend Pharma Science, 2000, 21: 426-

- 431.
- 10 Calderone A, Thaik C M, Takahashi N, *et al.* Nitric oxide, atrial natriuretic peptide and cyclic GMP inhibit the growth - promoting effects of norepinephrine in cardiac myocytes and fibroblasts [J]. J Clin Invest, 1998, 101: 812 - 818.
- 11 Gauthier C, Leblais V, Kobzik L, *et al.* The negative inotropic effect of β_3 -adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle [J]. J Clin Invest, 1998, 102: 1377 - 1384.
- 12 Shingo F, Hirce M O L. Nitric oxide induced apoptosis death of cardiomyocytes via a cyclic - GMP - dependent pathway [J]. Exp Cell Res, 1999, 247: 38.
- 13 Arch J R, Ainsworth A T, Cawthorne M A, *et al.* Atypical β -adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti - obesity drugs [J]. Nature, 1984, 309: 163 - 165.
- (收稿日期: 2003 - 07 - 21 修回日期: 2004 - 02 - 18)
(本文编辑: 李银平)

• 科研新闻速递 •

N-乙酰半胱氨酸复合去铁胺治疗改善脓毒症大鼠存活率

氧化应激反应在多器官衰竭和脓毒性休克的发病过程中具有重要的作用。最近国外学者报道了合成抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸联合去铁胺治疗脓毒症大鼠的研究结果。实验选取雄性 Wistar 大鼠, 体质量 300~350 g, 采用盲肠结扎穿孔法造成大鼠脓毒症。将大鼠随机分成 4 组: I 组动物于 3、6、12、18 和 24 h 皮下注射 N-乙酰半胱氨酸 20 mg/kg, 3 和 24 h 皮下注射去铁胺 20 mg/kg; II 组采用基础支持方法, 即盲肠结扎穿孔术后即刻和术后 12 h 给予生理盐水 50 ml/kg, 每 6 h 给予头孢曲松 30 mg/kg 和克林霉素 25 mg/kg; III 组给予 N-乙酰半胱氨酸联合去铁胺加基础支持方法; N 组作为对照组。术后 12 h 分别测定脓毒症大鼠主要器官组织中髓过氧化物酶活性(中性粒细胞浸润标志酶)、脂质过氧化物含量(氧自由基的产物)、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性(抗氧化剂酶)以及线粒体中过氧化物(反映电子传递异常)等指标。测定结果显示: 经抗氧化剂治疗的大鼠髓过氧化物酶活性有明显的降低, 且在所有实验动物的器官中脂质过氧化物含量显著增加; 而线粒体的过氧化物含量则明显减少。此外, 抗氧化剂还改善了过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性的异常。对照组脓毒症大鼠存活率仅为 10%; 采用基础支持方法的大鼠存活率提高到 40%; 单纯使用 N-乙酰半胱氨酸联合去铁胺治疗的大鼠存活率为 47%, 与采用基础支持方法效果相似; 而同时使用 N-乙酰半胱氨酸联合去铁胺治疗加基础支持方法的大鼠存活率则提高到 66%。实验结果显示: 应用 N-乙酰半胱氨酸联合去铁胺治疗, 能通过降低大鼠氧化应激反应、减轻中性粒细胞浸润和线粒体功能障碍, 改善盲肠结扎穿孔术后脓毒性休克大鼠的预后和存活率。

夏斌编译自《Crit Care Med》, 2004, 32(2): 342 - 349; 胡 森审校

高容量血液滤过对脓毒性休克患者血流动力学紊乱和预后的影响

研究的目的是评价高容量血液滤过对脓毒性休克患者血流动力学紊乱和预后的治疗效果。研究共纳入某大学医院 ICU 中 24 名伴有器官功能障碍的脓毒性休克患者。全部患者均采用高容量血液滤过治疗 96 h, 超滤比率在 $40 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 $60 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 以 28 d 病死率作为观察目标。结果显示, 所有患者血流动力学参数的改善均具有显著的统计学意义 ($P < 0.05$), 同时, 应用去甲肾上腺素的剂量也呈直线下降 ($P < 0.05$)。采用 3 种不同脓毒症严重程度评分的患者 28 d 病死率均超过 70%, 而高容量血液滤过组的病死率仅为 46% ($P < 0.075$), 且上述研究结果具有可重复性。研究者认为, 高容量血液滤过对降低脓症患者 28 d 病死率具有积极的作用, 但还需要增加更多的病例做进一步的研究。

夏斌编译自《ASAIO J》, 2004, 50(1): 102 - 109; 胡 森审校

β_2 肾上腺素受体激活减轻内毒素引起的急性肾功能衰竭

器官中 β_2 肾上腺素能受体的异常与脓毒性休克的发病机制有关, 但肾脏 β_2 肾上腺素能受体过度表达对于伴有内毒素血症的肾损伤是否具有保护作用尚不十分清楚。最近, 研究者将含人 β_2 肾上腺素能受体的转基因腺病毒注入大鼠肾脏。结果显示, 肾组织中 β_2 肾上腺素能受体密度增加 3 倍。与对照组相比, 2 周后大鼠肾小球滤过率和钠的重吸收增加。使用 β_2 肾上腺素能受体拮抗剂 ICI118551 后, 能抑制肾小球滤过率的增加。给予脂多糖后, 随着肾脏肿瘤坏死因子- α mRNA (TNF- α mRNA) 表达增加, 肾小球滤过率、 β_2 肾上腺素能受体密度以及环磷酸腺苷 (cAMP) 亦增加。 β_2 肾上腺素能受体过度表达的大鼠, 其肾小球滤过率恢复到基础值、肾组织中白细胞浸润以及 TNF- α mRNA 表达增加, 这些都与内毒素的作用被阻断有关。研究表明: ① β_2 肾上腺素能受体在肾脏中的特异表达增强, 对于依赖 β_2 肾上腺素能受体配体激活的肾脏具有保护作用; ② 注入腺病毒 β_2 肾上腺素能受体基因的方法对于制订脓毒症合并急性肾功能衰竭的治疗策略具有潜在的价值。

夏斌编译自《J Am Soc Nephrol》, 2004, 15(2): 316 - 325; 胡 森审校