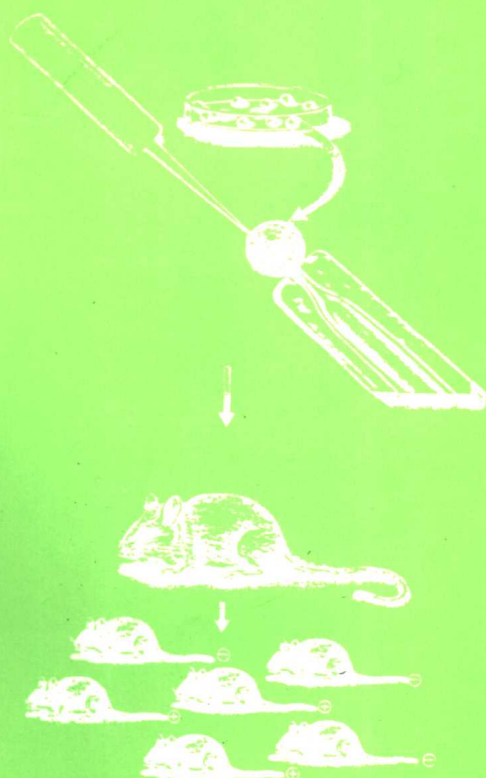


药理学进展

(1998)

金正均 王永铭 苏定冯 主编



科学出版社

药理学进展

(1998)

金正均 王永铭 苏定冯 主编

科学出版社

1998

内 容 简 介

本书介绍了近几年来国内外药理学研究的某些进展。内容涉及药理学的各个领域,包括神经药理学、心血管药理学、肿瘤化疗、免疫药理学、临床药理学和毒理学等。从药物作用的分子机制到临床应用均有论述,颇有一定的深度和广度。

本书可供从事药理学及其相邻学科的科研、教学人员学习参考。

药理学进展

(1998)

金正均 王永铭 苏定冯 主编

责任编辑 许贻刚

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

上海长城绘图印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

*

1998年11月第 一 版 开本:787×1092 1/16

1998年11月第一次印刷 印张:17 3/4

印数:1—2 500 字数:412 000

ISBN 7-03-007118-2/R·407

定价:30.00元

前 言

《药理学进展(1998)》文章虽不多,但内容较广,每篇题目都很吸引人。新技术有充分的阐述,心血管和抗高血压内容仍然占较大比例,但却较多地论述预适应和细胞凋亡的问题,抗休克的讨论也涉及 NO 和 ET。抗癌药的合并应用中也提到用药的顺序问题,其实这是个普遍的问题,其他领域内也应该有相同的现象。药物和物理疗法的热疗算是理化结合的点。分子生物学技术、转基因动物等方法,尽管还不是我国药理领域的常规武器,毕竟在我国得到了良好的开端。

《药理学进展(1998)》包括了药物经济学和市场经济的论述。这是极其不寻常的文章。过去 50 年代时,药理学家重点注意的是新的作用机制,而现在市场意识,经济意识加强了,文章应运而生,读起来也特别新鲜。数学药理的文章,尽管不多,但合并作用分析方面已有所反映。

最令人高兴的是许多文章不是单纯的综合,而是个人经验的传授;作者不少是第一手材料的创导者,也就是国内最具权威的专家,这比毫无选择地收集 INTERNET 信息要好多了。

这是一个药理学的盛宴,是现代知识的山珍海味。读来使人头脑充实,心情愉悦。正所谓开卷有益,一点也不过分!

药理学进展一直是在周金黄教授的亲切关怀和指点下完成的。在此特向周金黄教授致以最高的敬意!

非常感谢诸多作者贡献了时间和经验,也请读者原谅我们工作中的遗漏和错误。

金正均

1998 年 3 月

目 录

肾上腺素受体与高血压·····	韩启德(1)
心血管药理性预适应研究进展与展望·····	陈 修(7)
抗氧化剂的研究和应用前景·····	陈维洲(18)
磷酸二酯酶抑制剂在心血管药理学方面的研究进展·····	蔡际群(26)
细胞凋亡与心血管疾病·····	齐丽彤 周爱儒 张钧华(38)
抗休克药物研究状况及其展望·····	胡德耀(52)
水通道的分子生物学研究进展·····	李学军(65)
细胞外信号引起核反应的细胞信号转导途径·····	唐朝枢 刘秀华(72)
阿司匹林抗栓作用的研究进展·····	汪 钟 高存记(86)
√抗动脉粥样硬化药的进展情况·····	吴葆杰(96)
√粘附分子与细胞粘附的研究进展·····	苏静怡(100)
高血压诊断和治疗进展·····	刘国仗(110)
内源性心血管活性物质与缺血预适应的研究进展·····	李元建 鲁 蓉(118)
动脉粥样硬化与血管紧张素转换酶抑制剂·····	李 峰 江文德(125)
新药研制与市场经济·····	丁光生 杨如华(134)
药物联用定量分析方法研究进展·····	郑青山 孙瑞元(148)
褪黑素的神经内分泌免疫调节作用的研究·····	魏 伟 徐叔云(160)
缺陷型腺病毒抗肿瘤作用研究进展·····	吴曙光 徐 伟(169)
化学免疫与抗体酶·····	荣康泰(178)
神经营养因子研究进展·····	朱兴族(184)
对我国创新药物研究若干战略问题的思考·····	肖 宏(198)
第 20 届国际化疗大会上关于新氟喹诺酮类的报道·····	潘启超(205)
醛固酮的膜受体及其在心血管系统中的意义·····	陶 婷 朱鼎良 龚兰生(212)
腺苷在脑缺血性损伤中的保护作用·····	潘家祜 汪 维 刘实晶(217)
药物经济学的研究进展·····	李 静 程能能 王永铭(224)
喜树碱类药物作用机制及在合并治疗中的研究进展·····	周燕华 刘 键 胥 彬(245)
神经甾体——一类新的神经调节剂·····	李绍顺 李文姬(251)
中药的血清药理研究方法·····	李仪奎 吴健宇(257)
新型遗传性高血压模型——高血压基因工程动物·····	缪朝玉 苏定冯(263)
细胞凋亡与高血压病·····	陶 霞 缪朝玉 苏定冯(272)

肾上腺素受体与高血压

韩启德

(北京医科大学第三医院血管医学研究所, 北京 100083)

一、概 述

交感-儿茶酚胺系统在心脏与血管活动的调节中发挥重要作用,而交感神经的递质去甲肾上腺素(NE)与肾上腺髓质分泌的肾上腺素(Epi)必须通过心脏与血管上的肾上腺素受体(adrenergic receptor, AR)才能发挥作用。交感-儿茶酚胺系统兴奋性长期增高时,可通过血管收缩,血管平滑肌过度增生等引起外周血管阻力增高,通过心肌收缩性增强引起心输出量增高,通过肾供血减少引起肾素-血管紧张素系统活性增高等等,这些作用复杂地相互影响,成为高血压病的重要发病因素。当然,除交感-儿茶酚胺系统以外,遗传因素、肾素-血管紧张素-醛固酮系统、血管内皮细胞、胰岛素以及腺苷、前列腺素、多种心血管活性多肽等的改变都在高血压病的发生、发展中占有重要的地位。

AR 属于典型的 G 蛋白偶联膜表面受体,它们激动后通过激活 G 蛋白引发信号转导过程,它们的分子由 7 个跨膜段(每 20~28 个连续的疏水氨基酸构成 α 螺旋,形成一个跨膜段)、3 个细胞外环、3 个细胞内环、细胞外的氨基末端及细胞内的羧基末端组成。

AR 是一个受体家族,包含 α_1 -AR, α_2 -AR, 与 β -AR 3 型,3 型 AR 药理特性的主要差别如表 1。每型 AR 又都包含 3 种亚型。本讲主要介绍 AR 研究的最新进展以及与高血压发病和治疗的关系。

表 1 α_1 -AR, α_2 -AR, 与 β -AR 的药理与信号转导系统特征

	激动剂特征		拮抗剂特征		信号转导特征		
	亲和性序列	选择性激动剂	亲和性序列	选择性拮抗剂	G 蛋白	G 蛋白偶联的酶	第二信使
α_1 -AR	AD=NA $\geq$ PE>Iso	PE, methoxamine cirazoline	Praz $\gg$ Yoh	BE2 254 Praz	Gq/11 Go	PLC	DAG $\uparrow$ IPa $\uparrow$
α_2 -AR	AD=NA $\geq$ PE>Iso	BHT933, UK14 304, BHT920	Yoh $\gg$ Praz	Yoh, Rauw idazoxan	Gi	AC	cAMP $\downarrow$
β -AR	Iso>AD, NA>PE	Iso		propranolol alprenolol	Gs	AC	cAMP $\uparrow$

AD=adrenaline; NA=noradrenaline; Iso=isoproterenol; PE=phenylephrine; Praz=prazosin; Yoh=yohimbine; Rauw=rauwoscine; PLC=phospholipase; AC=adenylyl cyclase; DAG=diacylglycerol

二、 α_1 -AR 与高血压

关于 α_1 -AR 亚型的研究,自 80 年代来经历了一段曲折与复杂的道路,至 1995 年才正式确定 α_1 -AR 可分为: α_{1A} 、 α_{1B} 与 α_{1D} 3 种亚型。它们在药理与分子结构上的主要区别见表 2。

表 2 α_1 -AR 3 种亚型的主要区别

	α_{1A}	α_{1B}	α_{1D}
氨基酸残基数	446	515	560
基因染色体定位	8	5	20
选择性拮抗剂亲和性			
WB4 101	++++	+	+++
5-methyl-urapidil	++++	+	++
(+)-niguldipine	++++	++	+
phentolamine	+++	++	++
spiperone	+	++	+
tamsulosin	+++	+	++
BMY7 378	+	+	+++
RS17 053	+++	+	+
DMD3 213	++++	+	++
选择性激动剂亲和性			
methoxamine	+++	+	++
oxymetazoline	+++	++	+
CEC 敏感性	+	++++	+++

注:上表中+~++++用以表示同一种药物对三种亚型亲和性的差别,并不代表实际亲和性,也不用以比较不同药物对同一种亚型的亲和性

关于 α_1 -AR 3 种亚型在心脏与血管的分布至今还了解得很不全面。这是由于表 2 中显示的 α_1 -AR 亚型选择性拮抗剂对 3 种亚型亲和性的差别还不够大,因此当一种组织中同时存在 3 种亚型 α_1 -AR 时,很难采用放射配体结合分析或药理学功能实验方法对 3 种亚型存在的相对比例及在介导生物学效应中的相对作用作出定量分析。采用分子生物学方法可以对组织中 3 种亚型 α_1 -AR 的 mRNA 水平作出定量分析,但由于 mRNA 的水平不一定完全反映蛋白水平,因而仅有参考价值。目前文献中仅确定分布于大鼠主动脉与肾血管床的 α_1 -AR 分别属于 α_{1D} 与 α_{1A} 亚型。我们实验室的工作证明大鼠后肢与肠系膜阻力血管、肾动脉主干以及猪冠状动脉的功能性 α_1 -AR 均属与 α_{1A} 亚型。我们还采用放射配基结合、收缩功能测定及 RNase 保护分析相结合的方法,确定大鼠心脏中 α_{1A} -AR、 α_{1B} -AR 与 α_{1D} -AR 约分别占 20%,55%与 25%左右,3 种亚型激动时均介导正性变力效应。关于整体血压调节中究竟何种 α_1 -AR 亚型发挥主导作用,目前尚无实验证明,而且根据目前的条件,恐尚难研究清楚。但由于目前已研究清楚的阻力血管床的 α_1 -AR 均属 α_{1A} 亚型,有理由假设主要由 α_{1A} -AR 参与阻力血管张力及外周血压的调节。目前正在努力进行这方面的研究,如这一假设得到证实,则可研制合适的 α_{1A} 亚型选择性拮抗剂来用于降血压治疗,既可提高疗效,又有望减少不良反应。

我们的研究表明,在原发性高血压时心脏与血管的 α_1 -AR 及其亚型发生明显的变化。血管中以大鼠主动脉为代表来看,16 周龄的年轻 SHR 与同龄 Wistar 大鼠相比, α_1 -AR 介导收缩效应的敏感性降低,但最大反应无显著改变,功能性 α_1 -AR 均属 α_{1D} 。Wistar 大鼠到 48 周龄时主动脉 α_1 -AR 介导的效应较年轻大鼠减弱,在介导收缩效应中不仅 α_{1D} 亚型发挥作用, α_{1A} 亚型也发挥部分作用;而在同龄中年 SHR 大鼠, α_1 -AR 介导的效应并无改变,但功能性 α_1 -AR 又回到单一的 α_{1D} 亚型。高血压时心脏 α_1 -AR 的改变更加复杂一些。年轻 SHR 与同龄 WKY 大鼠相比,心脏 α_1 -AR 数量无显著改变,介导正性变力效应的敏感性降低; α_{1B} 亚型表达增加, α_{1D} 亚型表达减少。但中年 SHR 与同龄 WKY 大鼠相比,心脏 α_1 -AR 数量增多,介导正性变力效应的敏感性增强, α_{1D} 亚型的相对比例增高。有趣的是如果将中年与年轻 SHR 作一比较,发现无论是 α_1 -AR 总数量,还是各种亚型的相对比例以及介导的正性变力效应,都无明显差异;而中年 WKY 与年轻 WKY 大鼠之间则存在明显差别,从而提示心脏中的 α_1 -AR 及其亚型随年龄发生显著改变,遗传性高血压对年轻时的心脏 α_1 -AR 及其亚型即已发生明显影响,这种影响持续而强烈地存在,与年龄的影响相比占主导地位,因而掩盖了年龄对 α_1 -AR 及其亚型的影响。了解高血压时 α_1 -AR 及其亚型的上述变化对进一步掌握高血压病理生理以及开发新的高血压治疗药物有较大意义。

三、 β -AR 与高血压

早在 60 年代中后期已确定 β -AR 包含 β_1 与 β_2 亚型,与内源性激动剂的亲和性在 β_1 -AR 为 $Epi \leq NE$,而在 β_2 -AR 则 $Epi > NE$ 。对某些拮抗剂的亲和性也有差别。目前对 β_1 与 β_2 -AR 选择性最强的拮抗剂分别为 CGP20712A 与 ICI118551,它们对两种亚型 K_d 值的差别为数百到近千倍。1986 与 1987 年,Lefkowitz 实验室先后分离出地仓鼠与人的 β_2 -AR cDNA 克隆,它们位于第 5 对染色体,所编码的 β_2 -AR 分别含有 418 与 431 个氨基酸,两者同源性为 87%,在跨膜区与细胞内环的氨基酸序列分别有 95% 与 93% 相同。1987 年同一实验室从人胎盘 cDNA 文库分离到 β_1 -AR 基因,其编码 477 个氨基酸,位于第 10 对染色体,与人 β_2 -AR 仅有 54% 同源性,即使在跨膜区也仅有 71% 同源性。

1989 年,Emorine 等克隆到人 β_3 -AR 克隆,编码 402 个氨基酸,序列与人的 β_1 -AR 与 β_2 -AR 分别仅有 50.7% 与 45.5% 同源性,位于第 8 对染色体。在分别转染 β_1 -AR、 β_2 -AR 与 β_3 -AR cDNA 的 CHO 细胞中进行研究,发现 β_3 -AR 的药理特性与 β_1 -AR 或 β_2 -AR 有很大差别(表 3)。主要表现在:①与经典的 β_1 -AR 拮抗剂,例如 β_1 -AR 选择性拮抗剂 CGP 20714A 及 β_2 -AR 选择性拮抗剂 ICI 118551 的亲和性都极低;②与 β -AR 拮抗剂结合的立体异构特异性差。③与激动剂的亲和性由强至弱依次为 $BRL37344 > NE > Epi > 普瑞特罗$ (prenaterol, β_1 -AR 选择性激动剂)与沙丁胺醇(salbutamol, β_2 -AR 选择性激动剂)。其中与 BRL37344 的亲和性甚至高于异丙基肾上腺素(Iso)。④ β_1 -AR 与 β_2 -AR 的拮抗剂吲哚洛尔(pindolol)、CGP12177 与氧烯洛尔(oxprenolol)等对 β_3 -AR 反而起激动剂效应。由于 β_3 -AR 主要分布于脂肪细胞,激动时引起脂肪分解,如能寻找到对 β_3 -AR 亲和性远高于 β_1 -AR 与 β_2 -AR 的激动剂,则无疑将是一种理想的减肥药物,因此目前很多学者都在致力于这方面的研究。在目前已发现的选择性 β_3 -AR 激动剂中 CGP12177 与布新洛尔(bucindolol)的亲和性最高;BRL37344、IY79771、ICI201651 和 SR58611A 刺激 cAMP 生成

的作用较强;CL316243 的选择性最高。较理想的选择性 β_3 -AR 拮抗剂为 SR59230A,特异性 β_3 -AR 放射配体为 ^3H -SB206606。目前尚无可靠证据支持心脏和血管中存在 β_3 -AR。

表 3 β -AR 各种亚型与选择拮抗剂、激动剂的 K_d 值(nM,均值±标准差)

	拮抗剂		激动剂				
	CGP20 712A	ICI118 551	NE	Epi	predaterol	salbutamol	BRL37 344
β_1	1.5±0.2	120±3	0.8±0.3	2.7±0.8	3.9±0.8	74±15	44.0±4.8
β_2	1800±400	1.2±0.2	36.0±0.4	2.2±0.5	36.0±0.9	5.2±0.6	20.0±0.2
β_3	2300±400	260±30	6.3±0.7	49.0±5.3	480±23	270±23	5.9±1.3

注:①所有实验都在分别表达 β_1 、 β_2 与 β_3 -AR 的 CHD 细胞进行;②用拮抗剂做与 ^{125}I -iodocyanopindolol 的竞争抑制曲线,得 K_i 值代表 K_D ;③用激动剂刺激 cAMP 累积,求得 K_{act} 值代表 K_D 。

以前认为血管与支气管平滑肌上的 β -AR 属 β_2 亚型,而心脏中的 β -AR 属 β_1 亚型,因此采用 β_1 -AR 选择性拮抗剂治疗缺血性心脏病与高血压一方面可以提高疗效,另一方面又可减少由于阻断 β_2 -AR 所导致的支气管痉挛、末梢血管收缩等不良反应。越来越多的选择性 β_1 -AR 拮抗剂也随之应运而生,并成为冠心病与高血压治疗中的常规药物。近年来则发现心脏中尽管以 β_1 -AR 为主,但同时分布有 β_2 -AR,对其功能、调节以及疾病时的改变也有了一些新的认识。

我们采用 ^{125}I -pindolol 放射配基结合实验分析大鼠心室 β -AR 两种亚型的分布情况。结果显示 β_2 -AR 选择性拮抗剂 ICI 118551 与 β -AR 的结合包含高、低亲和性两种位点。代表它们亲和性的 K_i 值分别与 β_2 -AR 和 β_1 -AR 相符。高、低亲和性位点各占 43%与 57%。在电驱动离体大鼠心脏乳头肌收缩功能实验中,当用 30nmol/L CGP 20712A 选择性阻断 β_1 -AR 后, β -AR 激动剂异丙基肾上腺素(Iso)仍能引起浓度依赖性的正性变力效应。而在 200nmol/L ICI 118551(此浓度仅能阻断 β_2 -AR,而不影响 β_1 -AR)存在下,Iso 浓度-正性变力效应曲线平行右移 5 倍,显示出竞争性的抑制效应。上述实验结果表明在大鼠心室肌中 β_2 -AR 约占 β -AR 总数的 40%,它们激动时与 β_1 -AR 一样介导正性变力效应。文献报道,除大鼠外,猫、豚鼠、狗和兔心脏也都同时存在 β_2 -AR。除兔外,它们都介导正性变时效应,而是否介导正性变力效应则尚有争议。不管怎样,人们最关心的还是人的心脏中是否也存在有功能的 β_2 -AR。自 80 年代中期以来,不少学者分别从心脏移植供体、死亡 2h 之内的尸体或搭桥手术患者中取得心室或心房标本,证明人心脏 β -AR 中约有 20%~35%为 β_2 -AR,它们与 β_1 -AR 同时存在心肌中,并介导正性变力效应。Milano 等在心肌过度表达(高于正常 200 倍) β_2 -AR 的转基因小鼠发现它们在基础状态下心肌的腺苷酸环化酶活性、收缩力以及左室功能都与正常小鼠在 Iso 刺激下所能达到的最高水平相当,从而直接证明了心肌 β_2 -AR 确实能介导心肌正性变力效应。除此以外,Levy 等还在分别或同时表达人 β_1 -AR 与 β_2 -AR 的细胞株中显示 β_2 -AR 激动后与 Gs 蛋白/腺苷酸环化酶系统偶联的效率显著高于 β_1 -AR。

在高血压病心脏中, β_2 -AR 同样具有重要的功能作用。我们首先比较中年(48 周)与青年(10 周)大鼠心脏 β -AR 及其亚型的改变,发现中年大鼠心脏 β -AR 总数量约较青年大鼠心脏减少 28%($P<0.01$), β_1 -AR 与 β_2 -AR 数量减少的程度相同;中年大鼠心脏 β -AR

及其两种亚型各自所介导的正性变力效应也都明显减弱;尤其令人注意的是 β_1 -AR 与 β_2 -AR 各自在介导激动剂正性变力效应中的相对贡献在两种年龄大鼠心脏中有明显差别,在青年大鼠以 β_1 -AR 为主,而在中年大鼠中则 β_1 -AR 与 β_2 -AR 作用相等。由于在这两种年龄大鼠心脏中 β_1 -AR 与 β_2 -AR 的数量都约各占一半,可见在青年大鼠心脏, β_2 -AR 介导正性变力效应的效率低于 β_1 -AR,而到中年时,心脏 β_2 -AR 介导正性变力效应的效率明显增高,达到与 β_1 -AR 相同的水平。随后,我们观察了 48 周龄自发性高血压大鼠(SHR)心脏 β -AR 及其亚型的改变,结果显示中年 SHR 心脏 β -AR 密度较同龄 Wistar 大鼠增高 27%,且 β_1 -AR 与 β_2 -AR 的增高程度相同;而 β -AR 及其两种亚型所介导的正性变力效应并没有显著改变。由此可见,在中年 SHR 心脏中 β_1 -AR 与 β_2 -AR 在介导正性变力效应中的作用也是相同的。

最后我们再来看长期服用选择性 β_1 -AR 拮抗剂后心脏 β -AR 所发生的改变。我们让大鼠饮用选择性 β_1 -AR 拮抗剂氨酰心安 120mg/(kg·d),共 5 周。在给药第 1 周时,血浆氨酰心安已达稳态浓度,为 3 μ mol/L 左右,超过氨酰心安与 β_1 -AR 结合的 K_d 值,而远低于与 β_2 -AR 结合的 K_d 值,说明服药期间仅选择性地直接作用于 β_1 -AR。结果显示,服药大鼠心脏中 β -AR 的密度增高 57%, β -AR 介导的正性变力效应与 cAMP 蓄积均明显增强。特别令人注意的是服药大鼠心脏中不仅 β_1 -AR 的数量与介导效应增强,而且 β_2 -AR 的数量与介导的效应也与 β_1 -AR 呈同等的增高。这一结果与 Hall 等的报道相符。

综上所述,心脏中不仅存在 β_1 -AR,而且存在 β_2 -AR,它们同样能介导 cAMP 生成及正性变力等效应;在中年以后的原发性高血压时 β_2 -AR 在介导正性变力效应中作用进一步增强或相对增强,因此采用选择性 β_1 -AR 拮抗剂单独阻断 β_1 -AR 效应的效果将显然不如采用非亚型选择性 β -AR 拮抗剂同时阻断 β_1 -AR 与 β_2 -AR 的效果。此外,当长期应用选择性 β_1 -AR 拮抗剂时可引起 β_2 -AR 上调及其介导的效应增强,此时其治疗效果将进一步降低。因此,我们考虑在应用 β -AR 拮抗剂治疗高血压时,如无支气管哮喘、远端气道阻塞、外周血管阻塞性疾患等特殊情况下,采用非亚型选择性 β -AR 拮抗剂的效果也许会比采用选择性 β_1 -AR 拮抗剂更为理想。这种想法需进一步在临床病人治疗中进行验证。

四、 α_2 -AR 与高血压

根据对选择性拮抗剂的亲和性、组织分布特异性以及在染色体的定位,可将 α_2 -AR 分成 α_{2A} 、 α_{2B} 与 α_{2C} 3 种亚型,如表 4。

表 4 α_2 -AR 各种亚型的主要区别

	特异性存在的组织	$K_1(\text{Praz})/K_1(\text{Yoh})$	Oxymet 亲和性	Proz, CPM, ARC239 亲和性	染色体定位
α_{2A}	人血小板 HT29 细胞株	240~570	高	低	10
α_{2B}	新生大鼠 NG108-15 细胞株	5	低	高	2
α_{2C}	QK 细胞株	40	低	高	4

Praz=哌唑嗪;Yoh=育亨宾;Qxymet=羟甲唑啉。

关于 3 种亚型 α_2 -AR 在组织中的分布与介导生物学效应的特征,较之 α_1 -AR 亚型研

究得更少。最近有学者采用分别删除某一种亚型 α_2 -AR 的转基因小鼠进行研究,发现脑中的 α_2 -AR 属 α_{2A} 亚型,激动时引起血压的下降;而外周阻力血管中的 α_2 -AR 属 α_{2B} 亚型,激动时通过血管平滑肌收缩而使血压升高。这一结果提示如能研制出特异性强且能通过血脑屏障的 α_{2A} 亚型选择性激动剂作为抗高血压药物来代替以前的非选择性 α_2 -AR 激动剂可乐定,则药效必然更强,而不良反应更小。

心血管药理性预适应研究进展与展望

陈 修

(湖南医科大学药理学教研室,长沙 410078)

心血管药理性预适应(pharmacologic preconditioning)的概念来源于心肌缺血预适应(myocardial ischemic preconditioning)的研究。预适应是指预先给予某种刺激产生的对有害刺激的耐受性(tolerance)或适应性(adaptation),这在生物学界本是常见的现象。例如小量细菌感染产生的对大量细菌感染的免疫反应,吸烟与饮酒产生尼古丁与乙醇的耐受性等。

近年发现,心肌短时缺血后再灌注对随后的长时间缺血不但不加重损伤,反而能产生保护作用,称为“心肌缺血预适应”^[1],可看作心肌对不良刺激的适应性。其新颖性在于与早年发现的“心肌缺血再灌注损伤”形成鲜明对比,后者是心肌缺血一定时间造成损伤后再供血时,反而能加重缺血损伤,对心血管及其他器官的病理生理学有重要意义,成为过去一二十年心血管研究的热门之一。近年通过心肌缺血预适应的研究,认识到心肌这一重要器官对缺血等有害刺激也可以产生耐受性,即心肌具有与其他器官相似的自身保护功能。这一认识有助于对心血管的生理与病理生理的全面了解,有重要的理论意义;而且利用这一理论防治心血管病有重要的实用价值。因此,心肌缺血预适应成为近年兴起的心血管研究的新热点。

心肌缺血预适应的机制虽然尚未完全阐明,但初步了解已知它是通过体内释放腺苷、缓激肽等活性物质产生的自身保护作用。因此,利用这些活性物质或利用在体内能诱生活活性物质的药物保护心脏以至血管,成为心血管药理性预适应研究的新领域^[2]。本文综述近年有关进展并探讨发展的前景。

一、心肌缺血预适应

心肌缺血预适应有急性期与延缓期之分。急性期发生快,从数分钟开始,约2~4h消失。延缓期发生在预适应后24h,可持续24~72h,又称为“第二窗口保护”^[3]。

(一)心肌缺血预适应的机制

心肌缺血预适应的机制尚未完全阐明。已知急性期与延缓期的发生机制有所不同。

1. 急性期预适应的机制

(1)受体介导:心肌缺血预适应时释放腺苷^[4]、缓激肽^[5]、去甲肾上腺素^[6]、降钙素基因相关肽(CGRP)、血管紧张素 II、内啡肽、内皮素(ET)等内源性物质,分别作用于心肌中与Gi蛋白偶联的各自的受体,即A₁/A₃受体^[4,7,8]、缓激肽B₂受体^[9]、肾上腺素α₁^[10]/β₂受体^[11]、CGRP受体^[12]、AT₂受体^[13]、阿片受体^[14]与ET受体等,进而激活蛋白激酶C(PKC)。后者使某些酶或通道磷酸化(活化),其中主要是ATP敏感的钾通道(K_{ATP})^[15]被活化而开放,缩短动作电位时程,减少Ca²⁺内流,从而保护心肌;或由激活的PKC去激活ecto-5' nucleoti-

dase 产生腺苷^[16],由腺苷产生急性期的心脏保护作用。

(2)非受体介导:短暂的细胞内 Ca^{2+} 升高^[17,18]与自由基^[19,20]这两种不通过受体起作用的因子均可诱发缺血预适应样心肌保护作用。离体大鼠心脏试验显示,高钙(2.3mmol/L)液灌注 5min,继以正常钙液灌 10min,对长时间的缺血/再灌注损伤产生耐受性。此保护作用可被维拉帕米所阻断,可被特异性 PKC 阻滞剂 chelerythrine 消除^[17]。氧自由基本来是心肌缺血再灌注时释放的损伤因子,近年发现它在一定条件下兼有产生缺血预适应样的心肌保护作用。在体家兔试验表明,氧自由基清除剂巯丙甘氨酸(N-2-mercaptopropionylglycine)能阻断一次短时缺血产生的缩小心肌梗死范围的预适应保护作用。灌注黄嘌呤氧化酶与次黄嘌呤产生的超氧阴离子可产生缩小心肌梗死范围的保护作用;此作用可被 PKC 抑制剂阻断^[20]。

2. 延缓期预适应的机制

延缓期预适应的机制更为复杂,尚未阐明。有资料表明,腺苷也有参与^[21],并与以下活性物质有关。

(1)热休克蛋白(heat shock proteins, hsp):又称应激蛋白(stress protein)。有些证据表明延缓期心肌缺血预适应与心肌中 hsp70 增加密切相关。其产生可能是由于急性期形成的细胞内某些活性物质如 NO 在细胞内的诱导作用。NO 合酶抑制剂能取消这一保护作用与 hsp70 的增加^[22],故认为 NO 能进入细胞核激活热休克蛋白基因,从而诱导 hsp 的产生。热休克蛋白作为“分子伴侣”起复活变性蛋白与稳定大分子的作用^[23]。在转基因小鼠试验也证实 hsp 的充分表达能增加心肌对缺血损伤的耐受力^[24]。在脑神经^[25]与肝脏^[26]缺血预适应均有资料支持 hsp 与其组织保护作用有关。但也有阴性结果的报告,例如家兔心肌缺血预适应试验 24~48h 后心肌 hsp72 虽有增加,但是缺血造成的心肌梗死范围并未缩小^[27]。在大鼠心肌细胞培养的模型缺血预适应也有阴性结果的报道^[28]。

(2)抗氧化酶:大鼠结扎颈总动脉与大脑中动脉产生脑梗死。缺血预适应能减轻脑梗死,测定抗氧化酶 SOD 活性增加,故认为对脑缺血预适应的保护作用与抗氧化酶活性增加有关^[29]。

(二)心肌缺血预适应的应用意义

多种动物试验均证实心肌缺血预适应的存在。虽有种属差异,但多为量的差别与作用机制的差别,而非质的差别^[30]。例如,在大鼠心肌缺血预适应似无腺苷与 K_{ATP} 通道参与,在家兔似无 PKC 位置转移到膜的变化等等。

临床资料表明在人心脏也有缺血预适应现象^[31]。在作冠脉造影术时,多次比一次导管充气阻断血流对心电图与心功能的改善要显著些^[32]。在冠脉搭桥手术时,术前作 3min 缺血(预适应)者,以血清中向宁蛋白(troponin)的量作为心肌损伤的指标,预适应者血清中向宁蛋白低于对照组,可见缺血预适应有保护病人心肌的作用^[33]。

二、药理性预适应

由于缺血预适应在临床实行不便,从心肌缺血预适应得到的启示,可望利用某些活性物质的直接或间接的药理作用发挥似预适应的心肌保护作用,称为药理性预适应。这一新概念不仅有助于了解机体内在的抗损伤的机制,而且为寻找心肌保护的新途径^[31],为研制新药

提供了新思路^[34]。现在研究较多或苗头较大的有药理性预适应的物质类别如下。

(一)腺苷类

1. 腺苷

了解到心肌缺血预适应有腺苷释放参与,因此腺苷成为药理性预适应研究的首要工具。从动物试验到临床试用,作了大量工作^[35]。狗在体心脏实验表明,冠脉注射腺苷产生的心肌保护作用与缺血预适应基本相似,均有 K_{ATP} 通道参与,但持续时略短,说明它不是唯一的介质^[36]。

近年临床应用腺苷滴注作为预适应保护心肌取得了肯定的效果。在有 3 支以上冠脉阻塞,伴有左室功能不全(射血分数约 30%)的病人,冠脉搭桥手术前(10min)滴注腺苷 0.25~0.35mg/kg,与对照组比较,腺苷预处理显著增加心肌耐缺血能力,加快术后心功能的恢复。术后心脏指数显著上升,心率较慢,CPK 释放较少^[37]。在 30 例冠状动脉成型术观察到:15 例术前冠脉内滴注腺苷 10min(2mg/min),继以 3 次导管充气扩张冠脉,每次 2min,间隔 5min,结果腺苷预处理能显著增加心肌对阻断血流引起缺血的耐受性,表现在心电图 ST 段上移与 15 例对照组比较减少 72%,阻断血流诱发的胸痛也显著减轻^[38]。动物实验表明,腺苷对预防骨骼肌缺血/再灌注引起的坏死也有效,可望用于成型外科^[39]。

2. 腺苷受体激动剂

开始时发现腺苷的作用是由 A_1 受体介导的^[4],故用 A_1 受体激动剂 N6-(2-phenylisopropyl)-adenosine 等也有保护作用^[40]。但有实验表明, A_1 受体激动剂持续作用,可以产生 A_1 受体“脱敏”,包括 A_1 受体数目下调、 A_1 受体与 G 蛋白解联、G 蛋白减少等^[41]。

近年研究发现 A_3 受体激动剂也有缺血预适应样作用。离体兔心用 A_3 受体激动剂 N6-(3-iodobenzyl)adenosine-5'-N-methyluronamide (IB-MECA) 灌流 5min 再进行全心缺血/再灌注,能产生与缺血预适应及 A_1 激动剂相似的心肌保护作用:量效依赖性地缩小心肌梗死范围,且不为 A_1 拮抗剂所影响^[42]。另在清醒家兔试验发现 IB-MECA 静脉注射 0.1mg/kg 后 10min 结扎冠脉,能保护心脏预防缺血/再灌注引起的心肌顿抑(myocardial stunning)与减少心肌梗死范围,而且与腺苷及其 A_1 受体激动剂比较,具有不影响血流动力学的优点^[43]。

3. 腺苷代谢调节剂与转运抑制剂

由于腺苷不稳定,且有舒张血管引起激烈的血流动力学作用,临床应用受限制。合成的腺苷调节剂 acadesine 能增加腺苷的血浓度,在动物实验表明有预适应样的抗心肌缺血作用^[44]。可惜它在临床试用效果欠佳,据推测可能是它持续提高腺苷的浓度,使 A_1 受体脱敏所致。

腺苷在血中浓度因核苷酸转运而降低。用核苷酸转运抑制剂可以提高其血浓度。双嘧达莫(dipyridamole)是一个老的腺苷转运抑制剂,在腺苷有预适应样保护作用的启发下,可望有新的用途。新的选择性强效腺苷转运抑制剂 draflazine 及其(-)对映体 R75 231 有腺苷作用而无全身血流动力学影响,口服生物利用度高,可望成为临床有用的心肌保护药^[45,46]。

(二)缓激肽与 ACE 抑制剂

1. 缓激肽的心肌保护作用

大量资料表明,外源性缓激肽有心肌保护作用,在心肌缺血时有缓激肽释放并参与预适应心肌保护作用^[47]。我们在培养的乳鼠心肌细胞证实缓激肽有保护心肌细胞耐受缺氧/再

给氧损伤的作用^[48]。有文献报道,缓激肽虽有抗心肌梗死作用,但在大鼠离体心脏未观察到 HOE140 有阻断缺血预适应缩小心肌梗死范围的作用,故认为它不介导大鼠的缺血预适应^[49],但在家兔心脏看到缓激肽参与缺血预适应^[50]。我们新的实验资料表明,预先灌流缓激肽能保护离体豚鼠心脏的抗 DPPH 自由基对心功能的损伤作用。但因外源性缓激肽的体内作用很复杂,直接用于心肌保护受到限制。

2. 血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂

研究 ACE 抑制剂的心血管作用机制,发现有缓激肽参与。因缓激肽是 ACE 的代谢底物之一,在 ACE 抑制时增加。并发现缓激肽激活 B₂ 激肽受体产生 NO 与前列环素,产生心血管保护作用,是 ACE 抑制剂产生心血管作用的一个重要方面^[51]。有资料表明,ACE 抑制剂依那普利酸(enalaprilat)可能通过缓激肽激活 PKC 保护离体心脏功能,延长保存的时间^[52],我们发现 ramipril 有保护家兔离体主动脉耐受 DPPH 自由基损伤内皮细胞的急性预适应样作用^[53]。并发现家兔静脉注射 ramipril 50μg/kg 后 48h,ACE 的抑制作用已消失,但保护兔主动脉内皮细胞的抗 DPPH 自由基损伤的作用仍存在,故认为对血管有延迟性预适应作用^[54]。最近有报道卡托普利与赖诺普利(lisinopril)单独应用对离体人心房肌小梁的缺氧/再给氧引起的收缩功能损伤无保护作用,但能加强缺氧引起的预适应作用^[55]。我们在家兔心脏实验则发现 ramipril 预处理能产生延迟性的预适应样效应。静脉注射 50μg/kg ramipril 后 24~48h,取心脏作离体实验,能耐受 DPPH 自由基以及黄嘌呤氧化酶与次黄嘌呤作用产生的自由基对心功能的损伤。此作用可被 HOE140 或 *N*-*L*-精氨酸或 actinomycin D 所阻断,故推测其机制是通过缓激肽激活 B₂ 受体诱生 NO 与热休克蛋白所产生的^[56]。

(三)钾通道开放剂

1. ATP 敏感性钾通道(K_{ATP})与心肌缺血预适应

大量文献说明,腺苷与腺苷受体激动剂、缓激肽、去甲肾上腺素等由受体介导的预适应;与氧自由基等非受体介导的预适应保护作用大都通过激活 PKC 起作用^[2,15,18,20],而 PKC 又能使 K_{ATP}通道开放^[15,57,58],致使动作电位时程缩短,产生超极化,减少 Ca²⁺内流,避免心肌缺血引起的细胞内钙超负荷,从而保护心肌。

2. K_{ATP}开放剂

许多实验证据说明,K_{ATP}通道开放剂能模拟心肌缺血预适应样作用,保护心脏^[59],aprikalim、bimakalim、kromakalim、nicorandil、pinacidil 等能显著缩小心肌梗死范围,或保护心肌收缩功能。这种保护作用能被 K_{ATP}阻滞剂 glybenclamide 取消,不伴有腺苷释放,且在低于降压的剂量即可产生,故与其血流动力学作用或腺苷无关。但伴有抑制中性粒细胞在缺血心肌的浸润,减少氧自由基的产生^[59]。对 K_{ATP}开放剂的作用有不同的报道:离体兔心心肌细胞实验结果,pinacidil 有开放 K_{ATP}与抗心肌缺血作用,但 nicorandil 无这两种作用^[60]。也有人报道 pinacidil 无预适应样的作用,而是开放 K_{ATP}通道促进诱导预适应的形成^[61],K_{ATP}开放剂还具有抗缺血性心律失常,抗高血压作用,是一类值得深入研究的保护心脏的药物。

(四)内毒素类

前曾有人报道动物注射细菌内毒素能产生保护心肌缺血作用。随后从中分离出一低毒成分单磷脂 A(monophosphoryl lipid A,MLA),能增强人体对内毒素的耐受性。近年在家兔与犬更发现 MLA 有抗心肌缺血与抗心肌缺血引起的顿抑作用。狗静脉注射微量(30μg/kg) MLA 24h 后能显著减少心肌梗死范围 50%~75%。其保护心肌的预适应机制与释放缓激

肽-诱导 iNOS 产生 NO 开放 K_{ATP} 通道有关,同时保存心肌中 ATP^[62],但无诱导 hsp 参与^[63]。现在正在进行冠状动脉搭桥手术前的二期临床试验。

(五)儿茶酚胺类

过去只知道去甲肾上腺素等儿茶酚胺类对心肌有损伤作用,近年报道去甲肾上腺素有诱导心肌产生急性期与延迟性预适应样的心肌保护作用。大鼠在体给药 24h 后取心脏作实验,仍有保护心肌的抗缺血再灌注损伤能力,缩小心肌梗死范围,且伴有 hsp70 增加。肾上腺素 α_1 受体阻滞剂能消除此作用^[64]。离体大鼠心脏灌流 0.01~1.0mg/L 苯肾上腺素(phenylephrine)5min 后,灌洗 10min 再给予全心缺血 30min,能显著减轻缺血造成的心功能损伤与心律失常,伴有抑制缺血造成的 Na^+ 、 Ca^{2+} 细胞内流^[65]。在体家兔结扎冠脉 30min 再灌 4h 造成心肌梗死,用苯肾上腺素在结扎前 15min 注射(50 μ g/kg)预处理者,梗死范围显著缩小。血压虽在给药后上升,但在结扎冠脉时已恢复正常,表明苯肾上腺素能增强兔心对缺血损伤的耐受性^[66]。这种 α_1 受体激动引起的预适应效应在离体家兔实验证明不是由腺苷介导的,而是激动 PKC 的结果,因为腺苷受体拮抗剂不影响此效应,而 PKC 拮抗剂能消除之^[67]。

(六)其他腺苷受体激动剂与 PKC 激活剂

除前述多种通过受体活化 PKC 的活性物质外,尚有内皮素-1^[69]、乙酰胆碱^[70]等均可产生保护心肌的预适应样作用。随着对缺血预适应的研究深入,发现越来越多的内源性或外源物质有预适应样心肌保护作用。其作用机制虽尚未阐明,但初步研究结果多与激活腺苷受体和(或)激活 PKC 有关。活化 PKC 可能是一中心环节,因为它可通过磷酸化开放 K_{ATP} 通道;或通过激活 5'核苷酸酶增加腺苷产生;或通过调节 hsp 的表达;产生心肌保护作用。由于 PKC 有多种不同亚型,作用十分复杂,且受动物不同种属的影响,故 PKC 介导预适应的确切作用还有待进一步研究^[71]。

1. 腺苷受体介导的其他药理性预适应

除前述的多种由腺苷介导的预适应样作用的药物/活性物质外,下列物质的药理性预适应作用值得注意。

(1)维司力农(Vesnarinone):为近年研制的有效的噻啉酮类强心药,最近报道此药在犬在体结扎冠脉前灌流 10min[20 μ g/(kg·min)]及结扎 90min 再灌 6h 的第 1 小时灌流此药,能显著缩小梗死范围。此作用伴有冠脉流出腺苷增加,可被腺苷阻滞剂或 5'核苷酸酶抑制剂所消除,因此认为此药有腺苷依赖性的抗心肌梗死作用^[72]。因为此药的给药与作用特点与缺血预适应相似,故认为这一强心药有缺血预适应样效应,并可能为此药开辟新的用途^[73]。

(2)乙醇:流行病学调查表明少量饮酒可减少冠心病发病率。最近报道豚鼠饮水中含有 2.5%或 5%乙醇,饮用 3~12 周后取心脏进行心肌缺血实验,发现与对照比较,心肌功能与 CPK 释放均明显减轻。此作用可被腺苷 A_1 受体阻滞剂取消,提示是由 A_1 受体中介的预适应样心肌保护作用^[74]。

(3)吸入性麻醉药:久知吸入性麻醉药有保护心肌作用。最近受到缺血预适应研究的启发,在体家兔实验发现:用氟烷、enflurane 或 isoflurane 吸入维持麻醉的心肌梗死范围比用戊巴比妥钠、ketamine-xylazine 或 propofol 麻醉的减小一半。离体兔心用溶有 3 种吸入性麻醉药的灌流液灌流 5min 后洗 10min 再进行冠脉结扎的心脏,比对照组心肌梗死范围也显著缩

小。 A_1 受体阻滞剂与 PKC 拮抗剂均能消除此保护作用,表明有腺苷受体与 PKC 参与。但在氟烷预处理的心脏流出液中,腺苷未见增加。对此的解释只要使腺苷受体与 PKC 偶联,即可产生预适应,而正常时两者不处于偶联状态^[75]。

2. 直接活化 PKC 的物质

除上述氧自由基与 Ca^{2+} 能直接活化 PKC 外,还有佛波酸酯(phorbol ester)如 TPA、PMA 等,1,2-DAG 的同系物如 SAG、DOG 与 OAG 等,均能活化 PKC,使之移位于细胞膜,产生预适应样的心肌保护作用,但其有效性受动物种属与给药途径等条件的的影响^[71]。 Ca^{2+} 作为细胞内的信使,在心肌缺血 5min 时可增加 2~4 倍,它能与几种 PKC 亚型结合而激动之,产生预适应效应^[18]。如前述异丙肾上腺素诱导的预适应效应即与增加细胞内 Ca^{2+} 有关^[68]。

三、药理性预适应研究的展望

(一)基础理论研究的展望

1. 寻找预适应机制的共同通路 with 特异通路

近年发现能产生心肌缺血预适应样效应的活性物质越来越多,但作用发生的机制不论是否由受体介导的,大多通过激活 PKC 或开放 K_{ATP} 通道,虽然有例外,但大多数情况下预适应有 PKC 参与。故激活 PKC 可视为预适应的共同通路^[71],而开放 K_{ATP} 通道可视为最常见的保护途径^[58~60,76]。

PKC 与 K_{ATP} 通道开放密切相关^[77]。PKC 的活性是多方面的,使 K_{ATP} 通道磷酸化而激活之是它的功能之一^[78]。现知 PKC 亚型有 12 个之多,在不同动物种属与组织中,功能也有别。例如依赖 Ca^{2+} 的 α_1 亚型与不依赖 Ca^{2+} 的 δ 亚型对大鼠心肌缺血预适应重要^[18]。在众多的 PKC 激活剂中,内源性的腺苷、缓激肽与去甲肾上腺素占有特别的位置。在心肌缺血预适应时,缓激肽只在缺血阶段释放,与腺苷一起激活 PKC,使之开始信号转导,而腺苷则持续释放^[79]。有趣的是吸入性麻醉药,氧自由基与乙醇等不增加腺苷释放,但是其预适应样效应可被腺苷受体阻滞剂所消除^[75]。有资料表明, Ca^{2+} 增加可促进腺苷的释放,但腺苷及其受体在药理性预适应的信号转导中的作用有待阐明。

根据上述线索,阐明腺苷为代表的 PKC 激活剂如何激活预适应发生所必需的 PKC 亚型,以及 PKC 使 K_{ATP} 通道开放的信号转导过程,进而沿着 PKC 激活剂与 K_{ATP} 通道开放剂研究开发产生药理性预适应的药物,可望有大的成果出现。

在延迟性心肌缺血预适应与药理性预适应的机制研究方面,许多证据表明 hsp 可能是心肌^[23]与脑神经^[25]的保护介质。但在心肌缺血预适应也有阴性结果^[27,28],在内毒素成分 MLA 诱导的心肌缺血预适应也未发现 hsp 的参与^[63]。故在寻找共同途径时应找出特异性的规律。

2. 缺血预适应增强剂的研究前景

心肌缺血预适应产生的对心肌的保护作用强度还不足以满足临床需要。因此,研究增强预适应效应的理论,寻找预适应保护作用增强剂迫切需要。银杏提出物能增强糖尿病大鼠心脏的缺血预适应作用^[80]提供了研究植物成分的线索,是一个好的开端。

3. 预适应概念扩大的研究前景