·基础研究·

奥普力农调节自噬减轻大鼠心肌缺血 - 再灌注损伤

许晓文　韩孟晓　刘一韡　张国兴　陆士奇

【摘要】**目的**　观察奥普力农 (olprinone) 后处理对雄性 (sprague-dawley, SD) 大鼠心肌缺血 - 再灌注损伤 (ischemia/reperfusion, I/R) 的影响，并初步探讨其作用机制。**方法**　结扎大鼠冠状动脉左前降支 30 min，再灌注 24 h 建立缺血 - 再灌注模型，将存活的 SD 大鼠随机（随机数字法）分为对照组（sham 组，n=6）、缺血 - 再灌注组 (I/R 组 ,n=9)、奥普力农低剂量组 (I/R+Olprinone-L 组 , n=6)、奥普力农中剂量组 (I/R+Olprinone-M 组 ,n=6)、奥普力农高剂量组 (I/R+Olprinone-H,n=6)。MAP 心脏功能分析系统检测血流动力学指标；TTC 染色法检测大鼠心肌梗死面积；记录大鼠 24 h 病死率；Western blot 法检测心肌 Caspase-3、Bax、Bcl-2、LC3B/LC3A、Beclin-1 的表达。**结果**　I/R 组较 Sham 组心功能舒缩参数明显降低（P<0.01），奥普力农使其显著升高（P<0.05），但 SAP、DAP、MAP、P_{mean} 差异无统计学意义（P>0.05）。I/R+Olprinone-M 组与 I/R+Olprinone-H 组心肌梗死百分比显著低于 I/R 组（P<0.05）。各组之间 24 h 内的病死率对比差异无统计学意义 (P>0.05)。与 sham 组相比，I/R 组显著上调了 Caspase-3、Bax 表达 (P<0.01)，olprinone-M 组下调 Caspase-3 表达 P<0.05），不同剂量的 olprinone 均可抑制 Bax 表达（P<0.05），但促进 Bcl-2 表达（P<0.05）；此外，I/R 组 Bcl-2/Bax 比值降低 (P<0.01)，不同剂量的 olprinone 使其不同程度升高（P<0.05）。相比 sham 组，I/R 组 Beclin-1 表达量升高（P<0.05），olprinone-L 组、olprinone-M 组 Beclin-1 表达量也增加（P<0.05）；不同剂量的 olprinone 使 Bcl-2/Beclin-1 比值不同程度降低，但只有 olprinone-M 组差异有统计学意义（P<0.05）；同时，不同剂量的 olprinone 不同程度的升高 LC3B/LC3A 比值 (P<0.05），olprinone-M 组 LC3B/LC3A 比值居中。**结论**　奥普力农增强缺血 - 再灌注损伤的心肌功能，不会导致血流动力学紊乱；通过抗凋亡蛋白来调节自噬，使细胞自噬达到适当水平，发挥自噬机制来保护心肌细胞。

【关键词】奥普力农；SD 大鼠；缺血 - 再灌注损伤；凋亡；自噬；Bcl-2/Beclin-1

Olprinone alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury via regulating autophagy in rats *Xu Xiaowen, Han Mengxiao, Liu Yiwei, Zhang Guoxing, Lu Shiqi*

Department of Emergency, The First Affilicated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China(Lu SQ, Xu XW); Department of Physiology, Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China(Zhang GX, Han MX);Department of Emergency, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, China(Liu YW)

Corresponding author: Lu Shiqi, Email: lushiqi2004@126.com; Zhang Guoxing, Email:zhangguoxing@suda.edu.cn

【**Abstract**】**Objective**　To observe the effects of olprinone on ischemia/reperfusion (I/R) induced myocardial injury in male (Sprague-Dawley, SD rats) and explore its mechanisms. **Methods**　Rats were subjected to a 30-min coronary arterial occlusion followed by 24-hour reperfusion. The survival rats were randomly divided into sham group (n=6), ischemia reperfusion group (I/R group, n=9), ischemia reperfusion+low dose of olprinone group(IR+olprinone-L group, n=6), ischemia reperfusion+medium

DOI：10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.06.015

作者单位：215006　江苏省苏州，苏州大学附属第一医院急诊科（许晓文、陆士奇）；215123　江苏省苏州，苏州大学独墅湖校区生理教研室（韩孟晓、张国兴）；215004　江苏省苏州，苏州大学附属第二医院急诊科（刘一韡）

通信作者：陆士奇，Email: lushiqi2004@126.com；张国兴，Email: zhangguoxing@suda.edu.cn

dose of olprinone group (IR+olprinone-M group, *n*=6), ischemia reperfusion +high dose of olprinone group (IR+olprinone-H group, *n*=6). A MAP heart function analysis system was used to measure hemodynamic parameters; TTC staining method was used to detect the myocardial infarct size;24-hour mortality of SD rats was recorded; western blot was used to detect the levels of Caspase-3, Bax, Bcl-2, LC3B/LC3A, Beclin-1. **Results** Cardiac function in I/R group was lower than that in sham group, which was significantly improved by pretreatment with olprinone (P<0.01), but systolic arterial pressure (SAP) diastolic arterial pressure (DAP) mean arterial pressure (MAP) mean pressure developed in left ventricle (P_{mean}) had no significant difference (P>0.05). The percentage of myocardial infarct size in olprinone-M and olprinone-H group was lower than that in I/R group (P<0.05).There was no significant difference in mortality among groups within 24 hours. Compared with sham group, the expressions of Caspase-3 and Bax were obviously up-regulated in I/R group (P<0.01), whereas caspase-3 was down-regulated in olprinone-M group (P<0.05) and Bax was inhibited by different doses of olprinone (P<0.05), but the expression of Bcl-2 increased (P<0.05); furthermore, the ratio of Bcl-2/Bax decreased in I/R group (P<0.01) and increased with different degrees in different doses of olprinone (P<0.05). Meanwhile, compared with sham group, the expression of Beclin-1 was up-regulated in I/R group(P<0.05),and also increased in olprinone-L and olprinone-M groups(P<0.05), but the ratio of Bcl-2 /Beclin-1decreased in different doses of olprinone making statistically significant difference only in olprinone-M group (P<0.05). Moreover, different doses of olprinone elevated the different ratios of LC3B/LC3A (P<0.05), and this elevated ratio in olprinone-M group at median among groups. **Conclusions** Olprinone can strengthen the cardiac function after myocardial ischemia/reperfusion injury, without leading to disorders in hemodynamics; by regulating autophagy with anti-apoptotic protein, olprinone can make autophagy to an appropriate level using the mechanism of autophagy to preventing the myocardium from injury.

【**Key words**】 Olprinone; SD rats; Ischemia/reperfusion injury; Apoptosis; Autophagy; Bcl-2/Beclin-1

奥普力农是 1996 年在日本上市的 PDE Ⅲ抑制剂。首先在麻醉犬中被证实可增加心脏的收缩力，减少了外周血管的阻力，但不影响平均动脉压和心率 [1-3]。奥普力农药理作用较为广泛，可抑制心肌细胞与血管平滑肌 PDE Ⅲ的活性，兼有正性肌力和血管扩张作用 [4-5]，相比米力农具有优势 [6]，目前在国内主要应用于心力衰竭治疗 [7]。

缺血 - 再灌注损伤的发生机制尚未完全阐明，一般认为，线粒体通透性转换孔的开放（mPTP），细胞内 pH 变化，细胞内钙超载和由活性氧（ROS）产生的氧化应激以及由细胞因子和补体系统介导的炎症 [8-9]。研究 [10-14] 发现心肌损伤时自噬可以保护心肌，但也有研究发现自噬可损害心肌 [15-16]，故自噬减轻还是加重心肌损伤还有争议 [17]。

奥普力农对心肌缺血 - 再灌注的预处理可使心输出量显著提高和再灌注后的左心室舒张末压和全身血管阻力指数显著降低，同时，也能可有效的降低肌酸激酶和肌钙蛋白 [18]，减少心肌缺血梗死面积 [19]，抗炎作用等 [20]。现有研究均是预处理给药，而在临床工作中常常由于不能预测缺血的发生时间而限制了预处理的应用，而更贴近临床实践的奥普力农后处理对心功能、凋亡、自噬的影响鲜见报道。本研究拟探讨奥普力农后处理能否适当抗凋亡、调节自噬，从而保护心肌。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂

10 周大的雄性 SD 大鼠，体质量约 280 ~ 350 g，购自上海实验动物中心。奥普力农由河北爱尔海泰制药有限公司生产提供。抗 Caspase-3 抗体、抗 Bax 抗体、抗 Lc3 抗体购自美国 Abcam 公司，抗 Bcl-2 抗体购自 Immunoway 公司，抗 Beclin-1 抗体、抗 GAPDH 抗体购自 Santa Cruz 公司，HRP 标记的二抗购自美国 Bioworld 公司。

1.2 心肌缺血 – 再灌注模型

雄性 SD 大鼠分别用三种剂量（0.2 mg, 0.6 mg，2 mg/kg i.p.q12 h）的奥普力农缺血 - 再灌注后处理，用戊巴比妥钠 (45 mg/kg i.p.) 麻醉大鼠。于胸骨左旁 3、4 肋间开胸暴露心脏，剪开心包，结扎冠状动脉左前降支中 1/3，以结扎的心肌组织

颜色变灰作为结扎成功的标志，结扎 30 min 后释放缝线再灌注，同时注射第一次奥普力农，12 h 后再注射第二次奥普力农，共再灌注 24 h[21]。将存活的大鼠分为 5 组：（1）sham 组。大鼠开胸，心肌穿过缝线，但未结扎，(n=6)；（2）I/R 组。大鼠结扎，但未注射奥普力农，(n=9)；（3）奥普力农低剂量组。大鼠结扎，腹腔注射 0.2 mg/kg q12 h，(n=6)；（4）奥普力农中剂量组。大鼠结扎，腹腔注射 0.6 mg/kg q12 h，(n=6)；（5）奥普力农高剂量组。大鼠结扎，腹腔注射 2 mg/kg q12 h，(n=6)。

1.3 心肌功能检测

心肌缺血 - 再灌注 24 h 后，用心脏功能分析系统（上海奥尔科特生物科技有限公司）检测心脏血流动力学指标。分离出大鼠左侧股动脉和右侧颈动脉，分别置入硬脊膜外麻醉导管。检测动脉收缩压、最大左室压力变化速度、左室舒张末压等反应心肌功能的血流动力学指标。

1.4 心肌梗死百分比计算

心功能检测之后，取出心脏，用 1% 的伊文氏蓝 4 mL 左右进行冠脉灌注，沿结扎点处取心脏组织横切面（1~2 mm 厚），放入装有 PBS 的培养皿中，加入适量 TTC，室温下放置 10 min 后取出。心脏横切面中蓝色区域被伊文氏蓝染色，代表未受损心肌，红色区域代表心肌缺血区，缺血区中被 TTC 染成白色区域为心肌梗死区，心脏梗死的百分比即为梗死区与缺血区的比值。

1.5 各组间 24 h 内病死率对比

24 h 内病死率指第一次注射奥普力农后成功关胸至 24 h 后测心功能之前的死亡个数除以这期间死亡个数 + 成功存活满 24 h 个数。

1.6 Western 印记分析

收集研碎的心肌组织，细胞裂解液裂解心肌获得蛋白匀浆，BCA 法定量蛋白，蛋白质印迹法检测 Caspase-3、Bax、Bcl-2、LC3B、LC3A、Beclin-1 等蛋白的表达。用 Image Pro Plus6.0 图像分析软件处理，以目的条带与内参 GAPDH 条带的灰度值比表示蛋白的相对含量。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件，计量资料经正态性检验及方差齐性检验，符合正态分布采用均数 ± 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 进行统计描述，不同组之间的符合正态分布及方差齐性的计量数据采用 ANOVA，两两比较采用 LSD-t 方法，计数资料以百分比表示，多组率的比较采用 R × C 表的卡方检验，以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 奥普力农改善缺血 – 再灌注损伤心肌的功能

SD 大鼠再灌注 24 h 后，用心脏功能分析系统检测心脏血流动力学指标。如表 1 所示，与 sham 组相比，I/R 组和 I/R+Olprinone-L 组的 P_{max} 显著下降，差异有统计学意义 (t=2.91, P<0.01；t=2.98, P<0.01）；与 I/R 组相比，I/R+Olprinone-M 组使 P_{max} 升高（t=2.30, P<0.05）。与 sham 组相比，I/R 组和 I/R+Olprinone-L 组的 P_{min} 增加，差异有统计学意义 (t=3.35, P<0.01；t=2.90, P<0.01）。与 I/R 组相比，I/R+Olprinone-M 组使 P_{min} 显著下降（t=3.18, P<0.01）。与 sham 组相比，I/R 组的 LVEDP 显著增加，差异有统计学意义 (t=2.47, P<0.05），I/R+Olprinone-M 组的 LVEDP 显著下降 (t=2.36, P<0.05）；与 I/R 组相比，I/R+Olprinone-M 组与 I/R+Olprinone-H 组使 LVEDP 显著下降（t=5.06, P<0.01；t=4.34, P<0.01）。dP/dt_{max}：与 sham 组比较，I/R 组的 dP/dt_{max} 明显下降 (t=5.24, P<0.01）；与 I/R 组相比，I/R+Olprinone-M 组、I/R+Olprinone--H 组的 dP/dt_{max} 均有不同程度升高（t=4.18, P<0.01；t=1.78, P<0.05）。$-dP/dt_{min}$：与 sham 组比较，I/R 组 $-dP/dt_{min}$ 下降明显（t=4.95, P<0.01）；与 I/R 组相比，I/R+Olprinone-M 组的 $-dP/dt_{min}$ 明显升高，差异有统计学意义（t=3.34, P<0.01）。SAP、MAP、DAP、P_{mean} 差异无统计学意义（P>0.05）。

2.2 奥普力农降低心肌梗死面积百分比

如图 1 所示，与 I/R 组比较（63.66 ± 5.89）%，I/R+Olprinone-M 组、I/R+Olprinone-H 组的心肌梗死面积百分比分别为（42.66 ± 2.94）%、（22.33.44 ± 3.63）%，差异有统计学意义（t=3.13, P<0.01；t=6.16, P<0.01），I/R+Olprinone-L 组（65.50 ± 6.83）%，差异无统计学意义（t=0.27, P>0.05）。

2.3 各组间 24 h 内病死率比较

如图 2 所示，实验各组之间 24 h 内的病死率对比，差异无统计学意义（P>0.05）。

2.4 奥普力农抑制缺血 – 再灌注心肌促凋亡蛋白表达，增加抗凋亡蛋白表达

用 westerblot 免疫印迹法分析奥普力农对凋

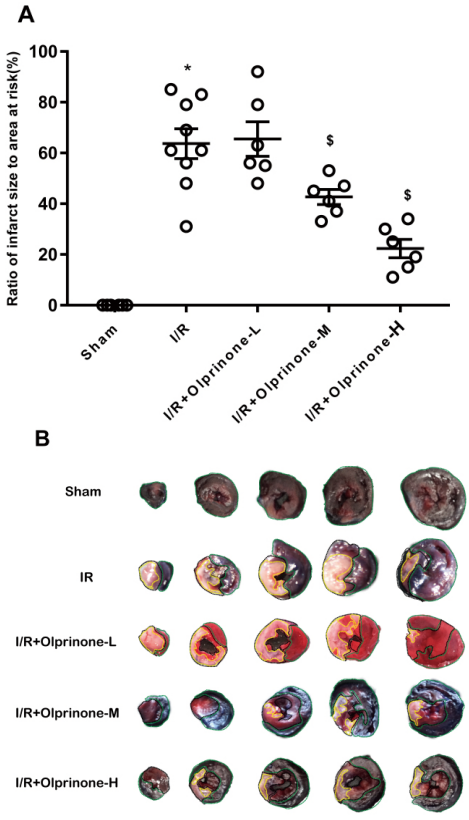
表 1 奥普力农对大鼠缺血 - 再灌注模型心肌的作用效果（$\bar{x}\pm s$）

Table 1 Effect of olprinone on myocardial ischemia reperfusion model in SD rats($\bar{x}\pm s$)

指标	假手术组	缺血 - 再灌注组	奥普力农低剂量组	奥普力农中剂量组	奥普力农高剂量组
SAP(mmHg)	91.79 ± 2.81	83.99 ± 4.683	80.43 ± 5.17	85.91 ± 7.58	87.39 ± 6.418
DAP(mmHg)	79.14 ± 3.34	63.48 ± 7.81	51.03 ± 3.82	53.66 ± 7.60	58.71 ± 6.87
MAP(mmHg)	84.99 ± 2.68	76.50 ± 6.111	64.00 ± 3.85	70.01 ± 8.54	73.16 ± 7.28
P_{max}(mmHg)	100.13 ± 6.12	77.78 ± 6.41[a]	75.07 ± 4.96[a]	95.42 ± 3.83[b]	87.49 ± 4.73
P_{min}(mmHg)	10.65 ± 2.28	30.30 ± 5.09[a]	29.27 ± 1.97[a]	11.67 ± 3.33[b]	24.32 ± 5.75
P_{mean}(mmHg)	56.25 ± 2.65	50.33 ± 5.80	53.17 ± 2.85	49.44. ± 4.72	54.37 ± 5.75
LVEDP(mmHg)	32.79 ± 2.49	45.06 ± 3.83[a]	43.56 ± 1.88	20.00 ± 4.41[ab]	23.51 ± 4.26[b]
dp/dt_{max}(mmHg/s)	3 333.73 ± 513.59	1 348.29 ± 88.67[a]	1 268.98 ± 146.24[a]	2 934.51 ± 372.00[b]	2 022.43 ± 201.43[ab]
dp/dt_{min}(mmHg/s)	3 198.93 ± 578.08	1 163.23 ± 196.06[a]	1 229.32 ± 188.52[a]	2 537.95 ± 279.28[b]	1 784.50 ± 171.03[a]

注：SAP（收缩压），DAP（舒张压）P_{max}（左室最大发展压），P_{min}（左室最小发展压），P_{mean}（平均左室发展压），LVEDP（左室舒张末压），$+dp/dt_{max}$（左室压力上升的最大变化率），$-dp/dt_{min}$（左室压力下降的最大变化率）；与 sham 组比较，[a]P<0.05；与 I/R 组比较，[b]P<0.05

亡蛋白表达的影响，结果显示与 sham 组相比，I/R 组显著增加了 Caspase-3 表达，差异有统计学意义（3.44 ± 0.47，t=5.58, P<0.01）；olprinone-M 组 Caspase-3 表达为（2.00 ± 0.52，t=2.06，P<0.05），低于 I/R 组；olprinone-L 组、olprinone-H 组表达为（2.77 ± 0.42，t=1.06，P>0.05；2.51 ± 0.47，t=1.40，P>0.05），差异无统计学意义。与 sham 组相比，I/R 组能使 Bax 表达增加（4.06 ± 0.25，



A 心肌梗死面积百分比：即梗死区与缺血区的比值。B 大鼠左心室缺血 - 再灌注心肌横切面；绿色虚线表示未缺血或梗死区域；黑色虚线表示缺血 + 梗死区域；黄色虚线表示梗死区域。数据以 Means ± SEM 表示。与 sham 组比较，*P<0.01；与 I/R 组比较，$$P$<0.05

图 1 各组大鼠心肌梗死面积百分比（%）

Fig 1 Percentage of myocardial infarction area in each group

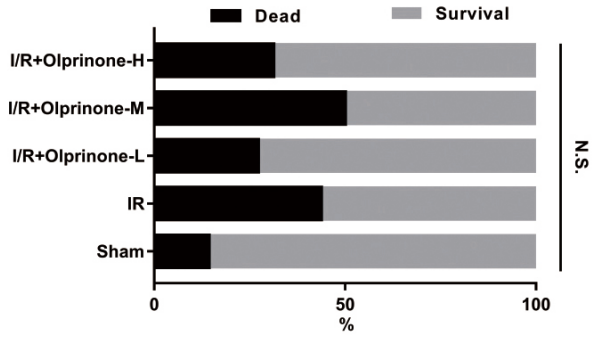


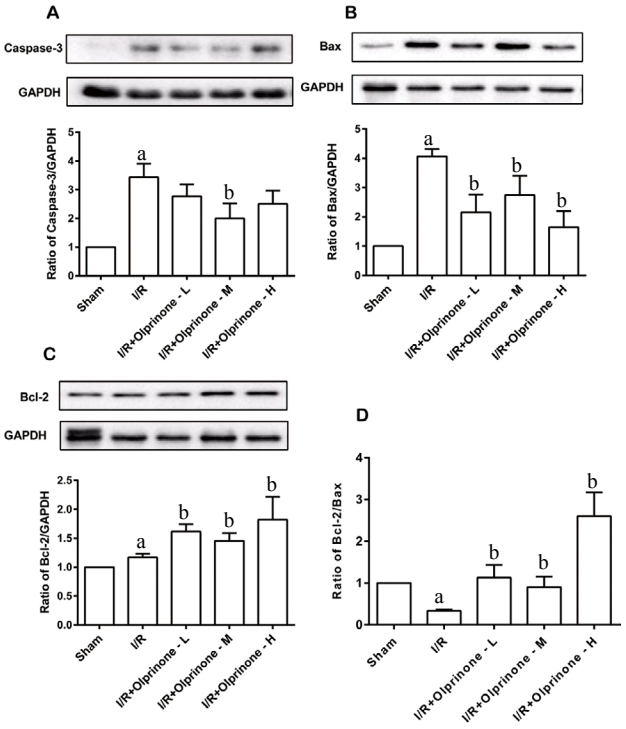
图 2 各组大鼠 24 h 内的病死率

Fig 2 Rats mortality in each group within 24 hours

t=14.35,P<0.01）；olprinone-L 组、olprinone-M 组、olprinone-H 组下调 Bax 表达为（2.16 ± 0.61，t=2.903, P<0.01；2.74 ± 0.66，t=2.01, P<0.05；1.65 ± 0.55，t=4.26, P<0.01）。与 sham 组相比，I/R 组上调 Bcl-2 表达（1.17 ± 0.06，t=2.92,P<0.01）olprinone-L 组、olprinone-M 组、olprinone-H 组能不同程度的促进 Bcl-2 表达（1.62 ± 0.13，t=3.15, P<0.01；1.46 ± 0.13，t=1.99, P<0.05；1.82 ± 0.39，t=1.97, P<0.05）。由 Bcl-2 与 Bax 蛋白表达计算得出 Bcl-2/Bax 比值，与 sham 组相比，I/R 组 Bcl-2/Bax 比值降低（0.33 ± 0.03,t=21.5，P<0.01）；olprinone-L 组、olprinone-M 组、olprinone-H 组预处理使其不同程度升高，差异有统计学意义（1.13 ± 0.31，t=2.78, P<0.01；1.46 ± 0.25，t=2.24, P<0.05；2.60 ± 0.57，t=4.80，P<0.01）。

2.5 对大鼠缺血 – 再灌注中 Beclin–1 蛋白、Bcl–2/Beclin–1 比值，LC3B/LC3A 比值的影响

与 sham 组 Beclin-1 蛋白水平比较，I/R 组 Beclin-1 蛋白表达量升高（1.43 ± 0.06,t=2.46, P<0.05）；olprinone-L 组、olprinone-M 组 Beclin-1 的表达均高于 I/R 组（2.46 ± 0.44，t=2.50, P<0.05；2.80 ± 0.75，t=2.194, P<0.05），差异有统



A：Caspase-3、GAPDH 的显影图像和 Caspase-3 与内参蛋白 GAPDH 的比值；B：Bax、GAPDH 的显影图像；Bax 与内参蛋白 GAPDH 的比值；C：Bcl-2、GAPDH 的显影图像；Bcl-2 与内参蛋白 GAPDH 的比值；D：Bcl-2 与 Bax 的比值。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，与 sham 组比较，$^{a}P<0.05$；与 I/R 组比较，$^{b}P<0.05$

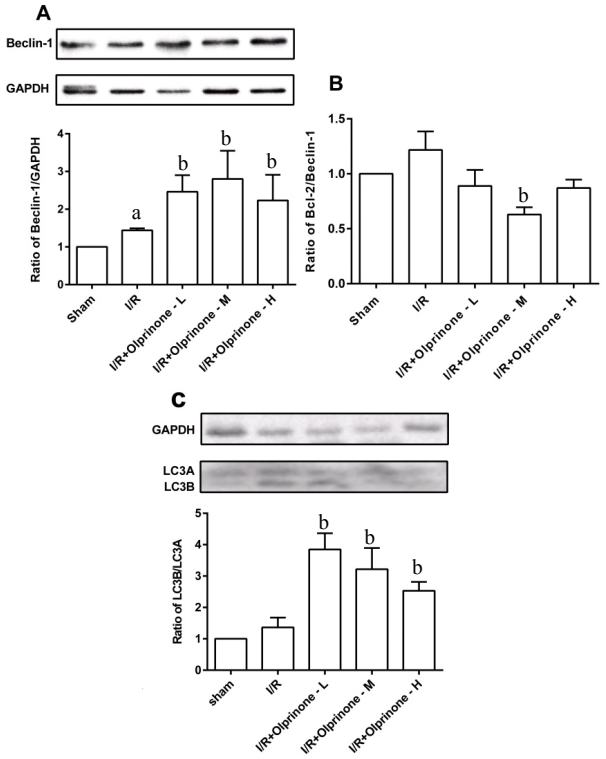
图 3 不同剂量的奥普力农对各组凋亡蛋白表达的影响

Fig 3 Effect of different doses of olprinone on the expression of apoptosis related proteins in each group

计学意义，olprinone-H 组表达量为（2.23 ± 0.68，t=1.263, P>0.05），差异无统计学意义。由 Bcl-2 与 Beclin-1 蛋白表达计算得出 Bcl-2/ Beclin-1 比值，与 sham 组相比，I/R 组 Bcl-2/Beclin-1 比值未有降低 (1.22 ± 0.44,t=1.37，P>0.05)；olprinone-L 组、olprinone-M 组、olprinone-H 组预处理使其不同程度降低，但只有 olprinone-M 组差异有统计学意义（0.89 ± 0.69，t=1.46, P>0.05；0.63 ± 0.13，t=2.50, P<0.05；0.87 ± 0.20，t=1.86，P>0.05）。相比 Sham 组，I/R 组升高 LC3B/LC3A 比值（1.36 ± 0.31,t=1.59,P>0.05），olprinone-L 组、olprinone-M 组、olprinone-H 组 LC3B/LC3A 比值分别为（3.84 ± 0.52，t=3.92, P<0.01；3.22 ± 0.67，t=2.50, P<0.05；2.53 ± 0.58，t=2.36, P<0.05），差异有统计学意义，但 olprinone-M 组 LC3B/LC3A 比值居中。

3 讨论

心肌缺血 - 再灌注使心肌细胞超微结构、代谢和电生理损伤[22-24]，引起血管和心肌的炎症[25]；激活心肌细胞凋亡和自噬机制亡[20-21]。本研究发现奥普力农可明显改善缺血 - 再灌注损伤的心肌功能，通过抗凋亡，调节自噬平衡减少心肌损伤。



A：Beclin-1、GAPDH 的显影图像和 Beclin-1 与内参蛋白 GAPDH 的比值；B：Bcl-2 与 Beclin-1 的比值；C：LC3B、LC3A 显影图像和 LC3B、LC3A 的比值；数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，与 sham 组比较，$^{a}P<0.05$；与 I/R 组比较，$^{b}P<0.05$

图 4 不同剂量的奥普力农对各组自噬相关蛋白表达及 Bcl-2/ Beclin-1 比值的影响

Fig 4 Effects of different doses of olprinone on the expression of autophagy related proteins and the ratio of Bcl-2/Beclin-1 in each group

心肌缺血 - 再灌注损伤容易导致心力衰竭，造成血流动力学紊乱，甚至影响全身脏器灌注，正性肌力药物能否有效的增强心肌细胞功能、不增加心肌细胞氧耗、改善血流动力学显得异常重要。我们的心功能数据显示奥普力农可以增加心脏 P_{max}（左室最大发展压）、$+dp/dt_{max}$（左室压力最大上升变化率）、$-dp/dt_{min}$（左室压力最大下降变化率），降低 P_{min}（左室最小发展压）、LVEDP（左室舒张末压）等心脏缩舒功能指标，发现在中剂量组效果最佳，可能奥普力农正性肌力及舒张心肌作用与其在心脏冠脉中的浓度有关[26]。奥普力农对血压影响不明显，提示奥普力农可以增强缺血 - 再灌注损伤的心肌功能，不会导致血流动力学紊乱。

由于心肌细胞是不可再生的细胞，心肌细胞凋亡在心脏处于病理状态时出现，如过负荷或心肌缺

血[27]。研究认为 BcL-2/Bax 比值对凋亡有决定作用[28-29]，奥普力农预处理可降低 Bax、增强 Bcl-2 表达,从而抑制大鼠缺血 - 再灌注心肌细胞凋亡[20]。此外，细胞凋亡可通过外源性或内源性通路汇聚到 caspase-3[30]；在大鼠心脏移植缺血 - 再灌注模型中也证实，阻断 caspase-3 能减轻再灌注损伤[31]。结果发现奥普力农后处理能抑制促凋亡蛋白 Bax 和 Caspase-3 表达，增强抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达，提高 Bcl-2 与 Bax 的比值，表明奥普力农通过调节促凋亡和抗凋亡信号通路平衡，达到保护心肌功能的作用。

自噬是一种重要的代谢过程，在机体出现癌症，缺血，感染等病理性压力时被激活，包括在溶酶体中对不必要或功能失调的细胞成分进行降解和再循环利用[32-33]。有学者证实大鼠和小鼠心脏急性缺血 - 再灌注后可见自噬的激活[34-35], 研究也表明心肌缺血再灌损伤时能激活自噬[21]。再灌注阶段过度自噬也会损害心肌[16]，抑制自噬可保护心肌[15,36]，故可能调节自噬适当水平能发挥最大的心肌保护作用。此外，自噬与凋亡之间存在紧密联系，自噬对细胞存亡的决定往往取决于凋亡蛋白 Bcl-2 和自噬蛋白 Beclin-1 之间的平衡，Bcl-2/Beclin-1 是判断自噬调节的重要标准，Bcl-2 下调能通过 Beclin-1 维持自噬适当水平，防止自噬致细胞死亡[37]。研究表明 Bcl-2/Beclin-1 比值下调可增强大鼠脑梗死后的神经保护[38]，但 Bcl-2/Beclin-1 在心肌缺血 - 再灌注中的研究鲜有报道。发现中剂量奥普力农使 Bcl-2 与 Beclin-1 的比值最小，Bcl-2 能通过与 Beclin-1 的相互作用调节自噬，抑制自噬过度诱导细胞死亡，最大限度地发挥保护心肌作用。

参 考 文 献

[1] Ogawa T, Ohhara H, Tsunoda H, et al. Cardiovascular effects of the new cardiotonic agent 1,2-dihydro-6-methyl-2-oxo-5-(imidazo[1,2-a] pyridin-6-yl)-3-pyridine carbonitrile hydrochloride monohydrate. 1st communication: studies on isolated guinea pig cardiac muscles[J]. Arzneimittelforschung, 1989, 39(1):33-37.

[2] Ohhara H, Ogawa T, Takeda M, Katoh H, Daiku Y, Igarashi T. Cardiovascular effects of the new cardiotonic agent 1,2-dihydro-6-methyl-2-oxo-5-(imidazo[1,2-a]pyridin-6-yl)-3-pyridine carbonitrile hydrochloride monohydrate. 2nd communication: studies in dogs[J]. Arzneimittelforschung, 1989, 39(1):38-45.

[3] Satoh H, Endoh M. Effects of a new cardiotonic agent 1,2-dihydro-6-methyl-2-oxo-5-[imidazo (1,2-a) pyridin-6-yl]-3-pyridine carbonitrile hydrochloride monohydrate (E-1020) on contractile force and cyclic AMP metabolism in canine ventricular muscle[J]. Jpn J Pharmacol, 1990, 52(2):215-224.

[4] Takaoka H, Takeuchi M, Odake M, et al. Comparison of the effects on arterial-ventricular coupling between phosphodiesterase inhibitor and dobutamine in the diseases human heart[J]. J Am Coll Cardiol, 1993, 22(2):598-606.

[5] Mizushige K, Ueda T, Yuk Ⅱ ri K, et al. Olprinone: a phosphodiesterase Ⅲ inhibitor with positive inotropic and vasodilator effects[J]. Cardiovasc Drug Rev, 2002, 20(3):163-174.DOI: 10.1111/j.1527-3466.2002.tb00085.x

[6] Dobashi S, Watanabe I, Matsumoto S, et al. Comparative e ffect of milrinone and oplprinone in patients with congestive heart failure[J]. J Am Col Card, 2016, 67(13):1420-1420. DOI:10.1016/S0735-1097(16)31421-8.

[7] 奥普力农在急性心力衰竭中应用共识专家组 . 奥普力农在急性心力衰竭中应用的专家共识 [J]. 中华急诊医学杂志 , 2016, 25(5):573-576. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.05.007.

[8] Arumugam TV, Okun E, Tang SC, et al. Toll-like receptors in ischemia-reperfusion injury[J]. Shock, 2009, 32(1):4-16. DOI:10.1097/SHK.0b013e318193e333.

[9] Fröhlich GM, Meier P, White SK, et al. Myocardial reperfusion injury: looking beyond primary PCI[J]. Eur Heart J, 2013, 34(23):1714-1722. DOI：org/10.1093/eurheartj/eht090.

[10] Depre C, Vatner SF. Cardioprotection in stunned and hibernating myocardium[J]. Heart Fail Rev, 2007, 12(34):307-317. DOI：org/10.1007/s10741-007-9040-3.

[11] Decker RS, Wildenthal K. Lysosomal alterations in hypoxic and reoxygenated hearts. I. Ultrastructural and cytochemical changes[J]. Am J Pathol, 1980, 98(2):425-444.

[12] Khan S, Salloum F, Das A, et al. Rapamycin confers preconditioning-like protection against ischemia-reperfusion injury in isolated mouse heart and cardiomyocytes[J]. J Mol Cell Cardiol, 2006, 41(2):256-64. DOI:org/10.1016/j.yjmcc.2006.04.014.

[13] Huang C, Yitzhaki S, Perry CN, et al. Autophagy induced by ischemic preconditioning is essential for cardioprotection[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2010, 3(4):365-373.DOI:10.1007/s12265-010-9189-3.

[14] Gurusamy N, Lekli I, Gorbunov NV et al. Cardioprotection by adaptation to ischaemia augments autophagy in association with BAG-1 protein[J]. J Cell Mol Med, 2009, 13(2):373-387. DOI:10.1111/j.1582-4934.2008.00495.x.

[15] Valentim L, Laurence KM, Townsend PA, et al. Urocortin inhibits Beclin1-mediated autophagic cell death in cardiac myocytes exposed to ischaemia/reperfusion injury[J]. J Mol Cell Cardiol, 2006, 40(6):846-852. DOI:org/10.1016/j.yjmcc.2006.03.428.

[16] Matsui Y, Takagi H, Qu X, et al. Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion: roles of AMP-activated protein kinase and Beclin 1 in mediating autophagy[J]. Circ Res, 2007,

100(6):914-922.DOI:org/10.1161/01.RES.0000261924.76669.36.

[17] Li T, Jiao YR, Wang LH, et al. Autophagy in myocardial ischemia reperfusion injury: Friend or foe[J]? Int J Cardiol, 2017, 239:10. DOI:10.1016/j.ijcard.2017.01.083.

[18] Setoyama K, Kamimura R, Fujiki M, et al. Effects of olprinone on myocardial ischemia-reperfusion injury in dogs[J]. J Vet Med Sci, 2006, 68(8):865-868.DOI:10.1292/jvms.68.865.

[19] Tosaka S, Makita T, Tosaka R, et al. Cardioprotection induced by olprinone, a phosphodiesterase Ⅲ inhibitor, involves phosphatidylinositol-3-OH kinase-Akt and a mitochondrial permeability transition pore during early reperfusion[J]. J Anesth, 2007, 21(2):176-801. DOI:10.1007/s00540-006-0485-7.

[20] Di Paola R, Mazzon E, Paterniti I, et al. Olprinone, a PDE3 inhibitor, modulates the inflammation associated with myocardial ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Eur J Pharm, 2011, 650(23):612-20. DOI:10.1016/j.ejphar.2010.10.043.

[21] Zhang GX, Kimura S, Murao K, et al. Inhibition of cytochrome c release by 10-N-nonyl acridine orange, a cardiolipin-specific dye, during myocardial ischemia-reperfusion in the rat[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(2):H433-439. DOI:10.1152/ajpheart.00938.2009.

[22] Cabrera-Fuentes HA, Aragones J, Bernhagen J, et al. From basic mechanisms to clinical applications in heart protection, new players in cardiovascular diseases and cardiac theranostics: meeting report from the third international symposium on "New frontiers in cardiovascular research[J]." Basic Res Cardiol, 2016, 111(6):69. DOI:10.1007/s00395-016-0586-x.

[23] Donnarumma E, Ali MJ, Rushing AM, et al. Zofenopril protects against myocardial ischemia-reperfusion injury by increasing nitric oxide and hydrogen sulfide bioavailability[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(7): pii: e003531. DOI:10.1161/JAHA.116.003531.

[24] Yang Y, Ma Z, Hu W, et al. Caveolin-1/-3: therapeutic targets for myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Basic Res Cardiol, 2016, 111(4):45. DOI:org/10.1007/s00395-016-0561-6.

[25] Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury[J]. N Engl J Med, 2007, 357(11):1121-1135. DOI:10.1056/NEJMra071667.

[26] Fuj Ⅱ Y, Toyooka H. Different effects of olprinone on contractility in nonfatigued and fatigued diaphragm in dogs[J]. Can J Anaesth, 2000, 47(12):1243-1248. DOI:org/10.1007/BF03019875.

[27] McCully JD, Wakiyama H, Hsieh Y-J, Jones M, Levitsky S. Differential contribution of necrosis and apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004, 286(5):H1923-1935. DOI:10.1152/ajpheart.00935.2003.

[28] Love S. Apoptosis and brain ischaemia[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2003, 27(2):267-282. DOI：10.1016/S0278-5846(03)00022-8.

[29] Yan P, Chen SQ, Li ZP, et al. Effect of exogenous phosphocreatine on cardiomycytic apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax after cardiopulmonary resuscitation in rats[J]. World J Emerg Med, 2011, 2(4):291-295.DOI：10.5847/wjem.j.1920-8642.2011.04.009

[30] Almeida A. Genetic determinants of neuronal vulnerability to apoptosis[J]. Cell Mol Life Sci, 2013, 70(1):71-88.DOI：10.1007/s00018-012-1029-y.

[31] Grünenfelder J, Miniati DN, Murata S, et al. Upregulation of Bcl-2 through caspase-3 inhibition ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat cardiac allografts[J]. Circulation, 2001, 104(12 Suppl 1):I202-I206. DOI:10.1161/hc37t1.094833

[32] Levine B. Eating oneself and uninvited guests: autophagy-related pathways in cellular defense[J]. Cell, 2005, 120(2):159-162. DOI：10.1016/j.cell.2005.01.005.

[33] Murrow L, Debnath J. Autophagy as a stress-response and quality-control mechanism: implications for cell injury and human disease[J]. Annu Rev Pathol, 2013, 8:105-137.DOI:10.1146/annurev-pathol-020712-163918.

[34] Hamacher-Brady A, Brady NR, Gottlieb RA, et al. Autophagy as a protective response to Bnip3-mediated apoptotic signaling in the heart[J]. Autophagy, 2006, 2(4):307-309. DOI:10.4161/auto.2947

[35] Hamacher-Brady A, Brady NR, Logue SE, et al. Response to myocardial ischemia/reperfusion injury involves Bnip3 and autophagy[J]. Cell Death Differ, 2007, 14(1):146-57. DOI:10.1038/sj.cdd.4401936.

(收稿日期：2018-01-12)

(本文编辑：何小军)