

原 著

# プロプラノロールの虚血・再灌流時 心筋透析液ミオグロビン濃度に及ぼす影響

澤田 規\* 北川 裕利\* 野坂 修一\*

キーワード▶ プロプラノロール, 心臓マイクロダイアリス法, ミオグロビン, 冠動脈閉塞, 再灌流傷害

## 要 旨

プロプラノロールの心筋保護効果を調べるため, *in vivo* ラットの冠動脈閉塞と解除を行い, 心筋透析液ミオグロビン濃度応答を測定した。プロプラノロールの投与で, 虚血時に心拍数と透析液ミオグロビン濃度上昇がその投与量に依存して抑制された。再灌流時にもプロプラノロールにより透析液ミオグロビン濃度上昇が抑制されたが, 同等の心拍数低下を引き起こしたザテブラジン投与では再灌流時の抑制は出現せず, 再灌流直前のプロプラノロール投与でも抑制が認められたことより心拍数低下と異なる機序が示唆された。プロプラノロールは虚血・再灌流時において心筋保護効果を有し, 虚血時と再灌流時における作用機序は異なる。

$\beta$  受容体遮断作用を有するプロプラノロールは, 心筋虚血疾患の予防薬として使用されているが, 冠動脈を閉塞解除する急性心筋虚血梗塞とその後の再灌流傷害の実験において, 虚血・再灌流後の心筋梗塞領域や心筋逸脱物質流出が非投与群に比べて減少し, 心筋保護作用もあることが報告<sup>1)</sup>されている。この保護機序は, 主に  $\beta$  受容体遮断作用による心拍数減少により虚血中のエネルギー消費節約効果と考えられている。さらに, 摘出灌流心や細胞単離心筋細胞を用いた研究で, 低酸素や低灌流による細胞傷害に対して心拍数低下以外の保護機序が示唆されている<sup>2)3)</sup>。

プロプラノロールのエネルギー節約効果は, 主

として心筋虚血時に出現する。しかし, これまでの *in vivo* 実験系では虚血時傷害と再灌流時傷害を分けて解析することができないため, 再灌流時についての保護効果は十分検討がなされていないかった。

今回, *in vivo* における急性心筋虚血・再灌流時の心筋細胞傷害をプロプラノロールがそれぞれのように修飾するのかについて検討し, さらにその修飾作用についても検討したので報告する。

## 1. 実験方法

### 1) 実験試薬

実験には, プロプラノロール塩酸塩 (インデラル注射液® 2 mg, アストラゼネカ製, 大阪) とザテブラジン塩酸塩 (シグマアルドリッチジャパン製, 東京) を使用した。

### 2) 動 物

雄性 SD ラット 30 匹 (470±11 g) を実験に供した。ラットは個別ゲージで室温 19-25 度, 湿度 30-70% で予備飼育し, 飼育期間中は自由に餌および水を与えた。なお, 動物試験は滋賀医科大学医学部の動物倫理委員会の承認 (番号 2012-5-9) を受けている。また, 日本生理学会の定める生理学領域における動物実験に関する基本指針にも従った。

### 3) 動物実験準備

心臓マイクロダイアリス法をラット心臓に用いて, 冠動脈閉塞による心筋虚血時の心筋透析液中の心筋逸脱タンパク質濃度をモニタリングした。筆者ら<sup>4)5)</sup>が以前発表した論文に詳細を示すので, 本論文では簡単に述べる。ペントバルビター

\* 滋賀医科大学医学部麻酔学講座

2013 年 4 月 5 日受領: 2013 年 7 月 17 日掲載決定 (特掲)

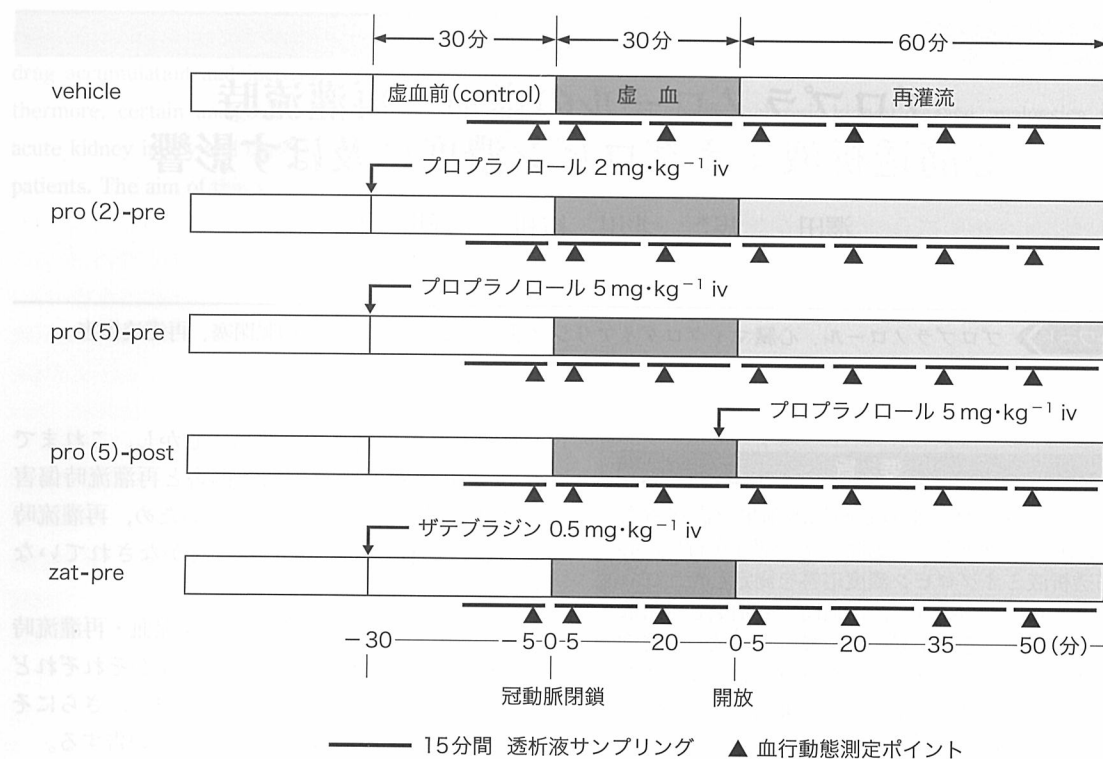


図 1 実験プロトコール

ル投与 ( $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ i. p.}$ ) 後, 気管切開下に人工呼吸を行った。人工呼吸は 1 回換気量  $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 換気回数  $90 \text{ min}^{-1}$  で, 動脈血を採取し, 二酸化炭素分圧を  $35\text{--}45 \text{ mmHg}$  の範囲になるように適宜調節した。保温マットを用いて直腸温を  $37\text{--}38^\circ\text{C}$  に維持した。実験中は, 心拍数, 血圧, 心電図をモニターして記録した。麻酔維持は, ペントバルビタール  $15\text{--}25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$  の持続投与と不動化のためにパンクロニウム  $0.3\text{--}0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$  を持続投与した。ラットを左開胸し, ダイアリスプローブを左室心筋前壁の左冠動脈前下行枝領域に植え込んだ。また, 冠動脈閉塞用に左冠動脈前下行枝根幹に血管を囲むようにスネアを留置した。また, プローブ植え込み位置が虚血領域であることをごく短時間の閉塞を行った際の心筋表面の色の変化で確認した。

ダイアリスプローブの半透膜部分はエパール膜 (クラレメディカル製, 東京) を用い, 両端をポリエチレンチューブでつないだ transverse タイプを自作して使用した (長さ  $5 \text{ mm}$ , 外径  $0.215$

$\text{mm}$ , 内径  $0.175 \text{ mm}$ , 穴孔径  $300 \text{ \AA}$ , ヒトアルブミンふるい係数約  $0.9$ )。その一方より, リンゲル液をマイクロインジェクションポンプで  $5 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$  の流速で灌流し, 他方より心筋透析液を採取した。今までに透析液中のミオグロビン濃度応答が心筋細胞膜傷害の指標となること, また虚血早期より上昇する乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase: LHD) 濃度と同様の時間分解能を有することを筆者ら<sup>4)</sup>は報告した。本研究においても, 透析液中のミオグロビン濃度を測定し, 経時的にモニタリングした。

#### (a) 透析液ミオグロビン濃度測定法

モノクローナル抗体による抗原抗体反応 (サンドイッチ法) と毛細管現象を利用した免疫クロマトグラフィ法を併用使用したロッシュ製ミオグロビン測定キット (カルディアックリーダー®, ロッシュ・ダイアグノスティック製, スイス) で, 心筋透析液中のミオグロビン濃度を測定した (測定検出限界  $30 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$  未満)。

#### 4) 実験プロトコール (図 1)

心筋にダイアリススプローブを植え込んだ後、プローブをリンゲル液で灌流し、透析液ミオグロビン濃度が定常状態となる 2 時間後に心筋透析液を 15 分間サンプリングし、その測定値を虚血前 (control) とした。次に、左冠動脈前下行枝閉塞用のスネアを用い 30 分間閉塞し、その後解除した。心筋透析液サンプリングは虚血中 15 分ごとに 2 回、再灌流 60 分間で 15 分ごとに 4 回行い、その透析液中のミオグロビン濃度を測定した。

実験群は以下の 5 群とし、各群ともに 6 匹での検討とした。

vehicle 群：投薬なし

pro (2)-pre 群：虚血 30 分前にプロプラノロール  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  をボーラス投与

pro (5)-pre 群：虚血 30 分前にプロプラノロール  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  をボーラス投与

pro (5)-post 群：再灌流 3 分前にプロプラノロール  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  をボーラス投与

zat-pre 群：虚血 30 分前にザテブラジン  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  をボーラス投与

vehicle 群として、control および虚血、再灌流時の透析液ミオグロビン濃度を測定した。プロプラノロールを投与した後の虚血および再灌流時の透析液ミオグロビン濃度応答への影響を調べる目的で pro (2)-pre, pro (5)-pre 群を、また閉塞した冠動脈を解除する直前にプロプラノロールを投与した際の再灌流時透析液ミオグロビン濃度応答に対する影響を調べるために pro (5)-post 群の実験を行った。さらに、洞房結節のペースメーカ細胞を介して徐脈作用を誘導するザテブラジン<sup>6)</sup>投与が虚血・再灌流時の透析液ミオグロビン濃度応答にどのように影響するかを調べる目的で zat-pre 群の実験を行った。

心拍数と平均血圧は虚血前 5 分 (control)、虚血後 5 分、20 分、再灌流開始後 5 分、20 分、35 分、50 分の時点で測定した。

実験終了後、大量のペントバルビタールで殺処理し、左室心筋を切開して、ダイアリスファイバーが心筋層内に植え込まれていることを確認した。

#### 5) 統計解析

データは平均値±標準誤差で表記した。心拍数、平均血圧、透析液ミオグロビン濃度は二元配置分散分析 (反復測定) で有意差検定を行った。この分析で交互作用の見られるときは一元配置分散分析を使用し、post hoc test として Tukey-Kramer test を行った。また、透析液ミオグロビン濃度比の検定には一元配置分散分析を用いた。 $P < 0.05$  を有意とした。

## 2. 結 果

### 1) 心拍数・平均血圧 (表)

表に血行動態を示す。麻酔下ラットでは vehicle 群で、左冠動脈前下行枝の閉塞により心拍数の増加 ( $P < 0.05$ )、平均血圧の下降 ( $P < 0.05$ ) が出現した。その後の冠動脈閉塞の解除では、心拍数と平均血圧の値は虚血時の値と比較して著明な変動は起きなかった。プロプラノロール  $2 \text{ mg}$  投与 [pro (2)-pre] 群では心拍数減少 ( $P < 0.05$ ) が起き、虚血時および再灌流時の心拍数も vehicle 群と比較して減少 ( $P < 0.05$ ) していたが、その変動は vehicle 群と同じであった。平均血圧は control のみ vehicle 群より低値であったが、虚血時および再灌流時には有意差がなかった。プロプラノロール  $5 \text{ mg}$  投与 [pro (5)-pre] 群ではさらなる心拍数の減少 ( $P < 0.05$ ) が起き、虚血時および再灌流時の心拍数は減少 ( $P < 0.05$ ) したが、その変動は、vehicle 群と同様であった。一方、平均血圧は control では vehicle 群に比べ低値であったが、虚血時および再灌流時も vehicle 群と比べて有意差が認められなかった。再灌流直前にプロプラノロールを投与した [pro (5)-post] 群では、投与前の心拍数と平均血圧は vehicle 群と有意差がなかった。再灌流時の心拍数は、vehicle 群、pro (2)-pre 群および pro (5)-pre 群と比較して減少 ( $P < 0.05$ ) していた。平均血圧は、再灌流 5 分値でのみ vehicle 群に比べて低下 ( $P < 0.05$ ) していたが、それ以後は有意差を認めなかった。ザテブラジン投与 (zat-pre) 群において、心拍数は control、虚血、再灌流時において vehicle 群に比べて減少 ( $P < 0.05$ ) していたが、虚血および再灌流に伴う変動は vehicle 群と同様であった。平均血圧は

表 虚血・再灌流時の心拍数および平均血圧値応答

	(a) 心拍数 (beats · min <sup>-1</sup> )						
	虚血前 (control)	虚血			再灌流		
	-5	5	20	5	20	35	50 (分)
vehicle	403±5	419±7 <sup>§</sup>	420±7 <sup>§</sup>	429±7	429±7	428±9	425±6
pro (2)-pre	330±4*	344±4 <sup>§</sup> *	343±5 <sup>§</sup> *	344±4*	346±5*	343±6*	341±5*
pro (5)-pre	310±4* <sup>#</sup>	334±4 <sup>§</sup> * <sup>#</sup>	332±6 <sup>§</sup> * <sup>#</sup>	333±7* <sup>#</sup>	334±6* <sup>#</sup>	335±5* <sup>#</sup>	334±5* <sup>#</sup>
pro (5)-post	401±6	420±9 <sup>§</sup>	423±8 <sup>§</sup>	289±8* <sup>#</sup> ¶	308±6* <sup>#</sup> ¶	324±4* <sup>#</sup> ¶	323±5* <sup>#</sup> ¶
zat-pre	325±8*	348±5* <sup>§</sup>	341±4* <sup>§</sup>	318±7* <sup>#</sup> ¶	320±9* <sup>#</sup> ¶	325±8* <sup>#</sup> ¶	323±7* <sup>#</sup> ¶

	(b) 平均血圧 (mmHg)						
	虚血前 (control)	虚血			再灌流		
	-5	5	20	5	20	35	50 (分)
vehicle	118±4	99±3 <sup>§</sup>	94±2 <sup>§</sup>	97±5	97±5	100±5	104±6
pro (2)-pre	99±2*	100±3	95±2	95±9	91±7	92±8	91±8
pro (5)-pre	94±3*	98±5	92±4	92±5	90±3	91±3	93±3
pro (5)-post	113±3	103±2 <sup>§</sup>	101±2 <sup>§</sup>	80±11*	97±9	107±9	109±9
zat-pre	101±3*	100±3	95±3	98±4	104±3	109±3	106±3

(平均値±標準誤差)

§ : P&lt;0.05 vs control, \* : P&lt;0.05 vs vehicle 群, # : P&lt;0.05 vs pro (2)-pre 群, ¶ : P&lt;0.05 vs pro (5)-pre 群

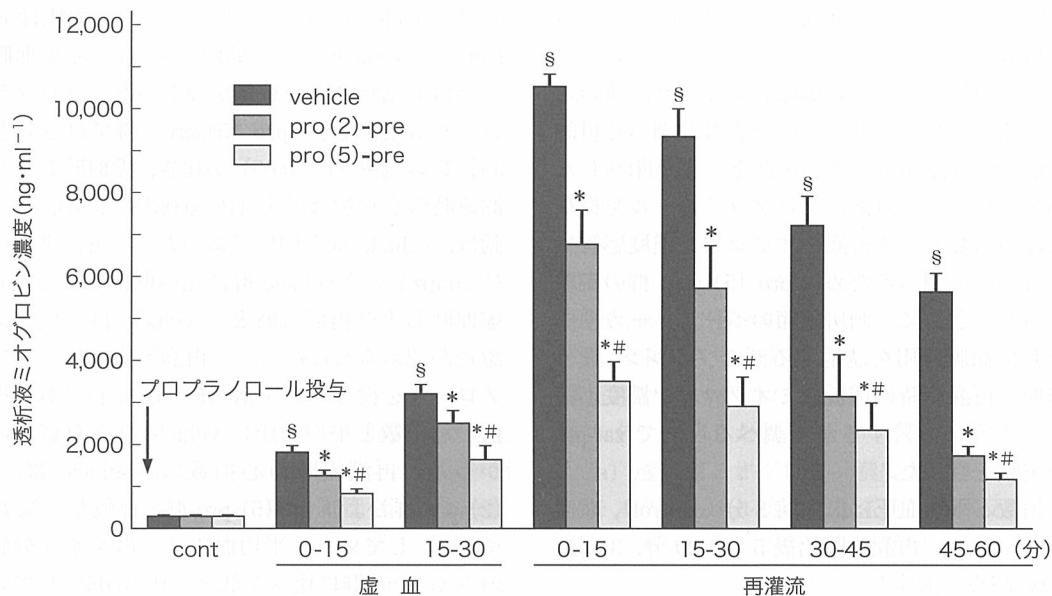


図 2 プロプラノロールの虚血前投与による虚血・再灌流時の透析液ミオグロビン濃度応答  
 データ=平均値±標準誤差, § : P<0.05 vs control, \* : P<0.05 vs vehicle 群, # : P<0.05 vs pro (2)-pre 群

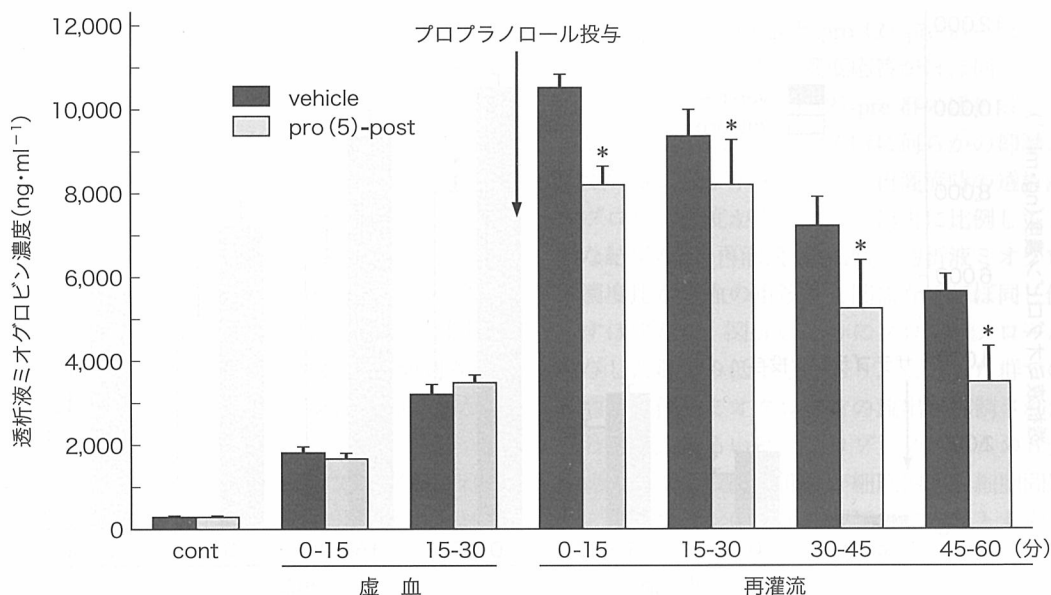


図 3 プロプラノロールの再灌流直前投与による虚血・再灌流時の透析液ミオグロビン濃度応答  
データ=平均値±標準誤差, \*:  $P < 0.05$  vs vehicle 群

control において低下 ( $P < 0.05$ ) していたが、虚血時、再灌流時ともに vehicle 群と有意差は認められず、その変動も vehicle 群と有意差がなかった。

## 2) プロプラノロールの虚血前投与による虚血・再灌流時の透析液ミオグロビン濃度応答 (図 2)

control の透析液ミオグロビン濃度は、すべての群で有意差はなかった。麻酔下ラットでは、すべての群で左冠動脈前下行枝の閉塞により経時的な透析液ミオグロビン濃度の上昇が出現した。その後の冠動脈閉塞の解除で透析液ミオグロビン濃度はさらに上昇し、再灌流 0-15 分をピークに漸減した。プロプラノロール 2 mg 投与 [pro (2)-pre] 群において、虚血に伴う透析液ミオグロビン濃度の上昇は認められたが、その濃度は vehicle 群と比較し 0-15 分、15-30 分値ともに有意に抑制された。再灌流時の透析液ミオグロビン濃度も vehicle 群と比較し低値で、再灌流に伴う上昇も有意に抑制された。さらに、プロプラノロール 5 mg 投与群 [pre (5)-pre] 群において虚血時の透析液ミオグロビン濃度は vehicle、pro (2)-pre 群と比較して低値で、虚血に伴う上昇も有意に抑制された。また、再灌流時の透析液ミオグロビン濃度も vehi-

cle 群、pro (2)-pre 群と比較して低値で、再灌流に伴う上昇も著明に抑制された。

## 3) プロプラノロールの再灌流直前投与による虚血・再灌流時の透析液ミオグロビン濃度応答 (図 3)

透析液ミオグロビン濃度は、control および虚血時において vehicle 群と有意差はなかった。再灌流時の透析液ミオグロビン濃度は vehicle 群と比較して低値 (0-15 分  $8,207 \pm 452$ , 15-30 分  $8,208 \pm 1,087$ , 30-45 分  $5,243 \pm 1,175$ , 45-60 分  $3,488 \pm 853$  ng · ml<sup>-1</sup>) で、再灌流に伴う上昇は有意に抑制された。

## 4) ギテブラジンの虚血前投与による虚血・再灌流時の透析液ミオグロビン濃度応答 (図 4)

ギテブラジン投与群は、vehicle 群と比較して control の透析液ミオグロビン濃度に有意差は認められなかった。虚血時の透析液ミオグロビン濃度は vehicle 群と比較していずれの時期も低値 (0-15 分  $1,311 \pm 117$ , 15-30 分  $2,422 \pm 197$  ng · ml<sup>-1</sup>) であり、虚血に伴う上昇は有意に抑制された。再灌流時も vehicle 群と比較して低値 (0-15 分  $8,062 \pm 405$ , 15-30 分  $6,457 \pm 718$ , 30-45 分  $5,082 \pm 809$ , 45-60 分  $2,778 \pm 595$  ng · ml<sup>-1</sup>) で、

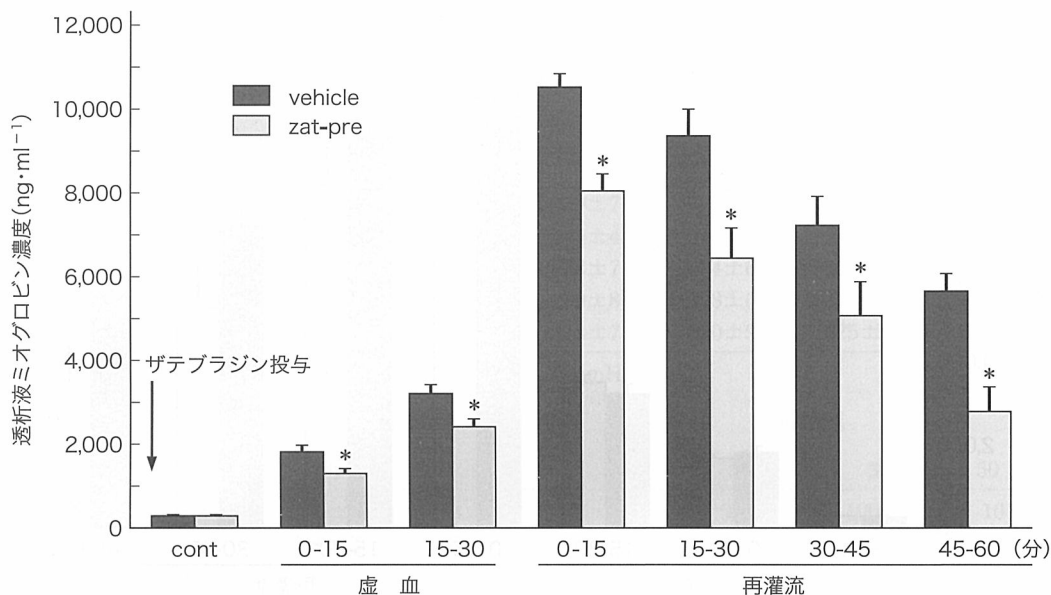


図 4 ギテプラジンの虚血前投与による虚血・再灌流時の透析液ミオグロビン濃度応答  
データ=平均値±標準誤差, \*:  $P < 0.05$  vs vehicle 群

再灌流に伴う上昇は有意に抑制された。また, pro (2)-pre 群と比較して control および虚血時の透析液ミオグロビン濃度に有意差は認められなかったが, 再灌流時は pro (2)-pre 群のほうが低値を示し, 再灌流に伴う上昇は有意に抑制されていた。

5) 虚血 15-30 分と再灌流 0-15 分の透析液ミオグロビン濃度比 (図 5)

先行する虚血時傷害が再灌流時傷害に及ぼす影響について調べる目的で, 虚血 15-30 分と再灌流 0-15 分の透析液ミオグロビン濃度比を計算した。vehicle 群に比べ, pro (2)-pre 群, pro (5)-pre 群は有意に低値を示し, 一方 zat-pre 群では有意差は認められなかった。

### 3. 考 察

本研究において, ラット麻酔下での冠動脈閉塞により心拍数の増加と平均血圧の下降が出現したが, その閉塞を解除しても心拍数と平均血圧の著明な変動は見られなかった。プロプラノロールを冠動脈閉塞前に投与すると, 心拍数は control を含めてすべての期間で減少し, その変動は vehicle 群と同様の傾向が見られた。また, 平均血圧は control においては vehicle 群より有意に低値で

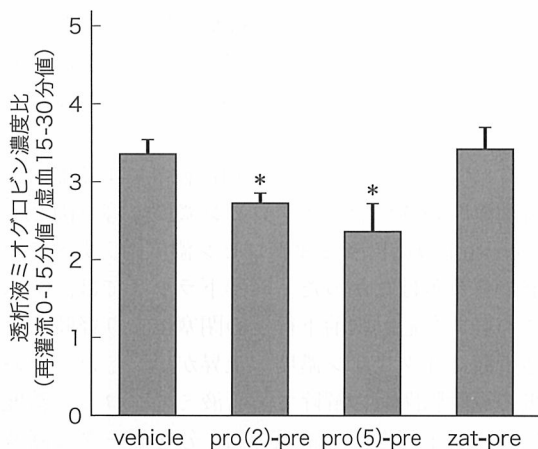


図 5 透析液ミオグロビン濃度比 (再灌流 0-15 分値/虚血 15-30 分値)

データ=平均値±標準誤差, \*:  $P < 0.05$  vs vehicle 群

あったが, 冠動脈閉塞および閉塞解除後も vehicle 群と有意差はなかった。心拍数の減少は冠動脈閉塞解除 60 分後にも認められ, エスモロール, ランジオロールに比較し心拍数減少作用が長く持続しており,  $\beta$  遮断作用が虚血時のみならず再灌流時にも発現していることが推察される。



虚血時の透析液ミオグロビン濃度上昇は、プロプラノロール投与した群〔pro (2)-pre 群と pro (5)-pre 群〕で投与量に依存して抑制した。プロプラノロール投与により血圧の変動は vehicle 群と有意差がなく、心拍数は投与量に依存して減少していた。心筋の酸素消費量は心拍数と血圧によって規定されるが、本研究では透析液ミオグロビン濃度上昇の抑制と心拍数の減少がプロプラノロールの投与量に依存して出現しており、心拍数の減少による酸素消費量減少が起き、細胞傷害が抑制され、その結果細胞からのミオグロビン流出の抑制が引き起こされたと思われる。

プロプラノロールには *in vitro* での実験において、抗酸化<sup>7)</sup>や膜安定化<sup>8)</sup>などの作用も指摘されている。しかし、洞房結節に直接作用するザテブラジン (zat-pre) 群では pro (2)-pre 群とほぼ同等な心拍数減少が起き、さらに虚血時の透析液ミオグロビン濃度もほぼ同等であったことから、心拍数減少以外の作用機序は本研究の虚血モデルでは大きく関与していないことが考えられた。虚血時のプロプラノロールの心筋保護作用は、心拍数減少による酸素消費量の軽減が大きく関与することが示唆された。

透析液ミオグロビン濃度は冠動脈閉塞解除により再灌流 0-15 分をピークとした急峻な上昇を認め、その後漸減した。虚血部に血流が再開されると、虚血に伴う傷害以上の細胞傷害が引き起こされたことになる。こうした再灌流時の透析液ミオグロビンの上昇は、プロプラノロールを投与した群〔pro (2)-pre 群, pro (5)-pre 群〕において vehicle 群に比べ抑制された。この再灌流に伴う傷害は酸素の供給再開によって引き起こされるので、プロプラノロールの酸素消費量減少作用、心拍数減少が、この傷害の抑制に関与することはきわめて少ないと考えられる。再灌流の透析液ミオグロビン濃度は、いくつかの要因の影響を受ける。再灌流時の透析液ミオグロビン濃度は単に先行する虚血時の細胞傷害を反映しただけで、虚血時にプロプラノロールによって細胞傷害が抑制されミオグロビン濃度の低下した結果として、二次的に再灌流時にもその値が低下し、プロプラノロールによる直接的な影響ではないとも考えられる。しかし、

本実験では zat-pre 群と pro (2)-pre 群では虚血時の透析液ミオグロビン濃度応答がほぼ同等であったが、再灌流時には pro (2)-pre 群の透析液ミオグロビン濃度が低く、再灌流時に何らかの抑制が起きていることが示唆される。再灌流時の透析液ミオグロビン濃度が虚血に伴う傷害に比例して二次的な結果なら、再灌流/虚血時の透析液ミオグロビン濃度比が虚血の重篤度と関係なくほぼ同じ値を示すはずだが、図 5 のようにプロプラノロールを投与した群のみ低下しており、こうした群でのみ再灌流に伴うミオグロビンの流出が抑制されたと思われる。あるいは、プロプラノロールの  $\beta$  受容体遮断による収縮力抑制が細胞内から細胞間質へのミオグロビンの漏出を遅延させることも考えられる。再灌流時にプロプラノロールによって虚血部の収縮力の低下がミオグロビンの間質への放出を遅らせると、急峻な上昇が抑制される。間質へのミオグロビンへの放出は、ゆっくりとした勾配で上昇するカーブを描くことになる。本実験では、プロプラノロール投与群でも vehicle 群でも同じような濃度カーブを描いており、収縮力の抑制の関与も低いと思われる。

プロプラノロールが再灌流傷害を直接抑制するかを検証するため、プロプラノロールを再灌流直前に投与〔pro (5)-post 群〕したところ、再灌流時の透析液ミオグロビン濃度上昇が vehicle 群に比べて抑制された。この 2 群では、再灌流に先行する虚血時の透析液ミオグロビン濃度に差がないことから再灌流時傷害への影響はほぼ同じで、この抑制は虚血に伴う二次的な効果でなく、再灌流時に細胞傷害に直接影響を与えたものと考えられる。再灌流時には、虚血時のエネルギー不足により産生されたヒポキサンチンと再灌流時に流入した大量の酸素が結びついてできる活性酸素種による酸化作用で、細胞膜が傷害されること<sup>9)</sup>や、先行する虚血により低下していた細胞内 pH が再灌流によって急速に回復することで、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  過負荷を生じること<sup>10)</sup>、プロテインキナーゼ C (protein kinase C : PKC) 活性の誘導により細胞傷害を引き起こすこと<sup>11)</sup>が報告されている。プロプラノロールには、*in vitro* ではあるが抗酸化作用<sup>7)</sup>や細胞膜安定化作用<sup>8)</sup>を持つほかに PKC 活性の抑

制<sup>12)</sup>もあることが指摘されており、本研究でもこれらの作用が再灌流時傷害を抑制した可能性がある。今後は、細胞酸化や細胞膜安定化、PKC 活性に作用する薬物を併用投与した実験モデルで、プロプラノロール作用機序について検証する予定である。

今回の研究から、冠動脈閉塞ラットでプロプラノロールは虚血時傷害および再灌流時傷害にそれぞれ抑制効果を示した。しかし、その作用機序はそれぞれ異なることが示唆され、虚血時傷害には心拍数低下が主として作用し、また再灌流時傷害には先行する虚血時傷害も影響しているものの、再灌流に伴う傷害への保護効果が関与していることが示唆された。今回の結果から、虚血の予防薬としての効果のみならず、心筋虚血・再灌流時の傷害に対して心筋保護効果として有効であることが示唆された。虚血・再灌流時の心筋保護効果は心筋虚血疾患に対する術前投与のみならず、開心術のポンプ離脱後心筋傷害に対しても保護効果が期待され、臨床においてもこうした面からの検証が期待される。

利益相反なし

# 引用文献

- 1) Vik-Mo H, Maroko PR, Ribeiro LG. Comparative effects of propranolol, timolol and metoprolol on myocardial infarct size after experimental coronary artery occlusion. *J Am Coll Cardiol* 1984 ; 4 : 735-41.
- 2) Tamsah RM, Dyck C, Netticadan T, Chapman D, Elimban V, Dhalla NS. Effect of beta-adrenoceptor blockers on sarcoplasmic reticular function and gene expression in the ischemic-reperfused heart. *J Pharmacol Exp Ther* 2000 ; 293 : 15-23.
- 3) Iwai T, Tanonaka K, Kasahara S, Inoue R, Takeo S. Protective effect of propranolol on mitochondrial function in the ischaemic heart. *Br J Pharmacol* 2002 ; 136 : 472-80.
- 4) Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Sugimachi M, Sunagawa K, Mori H. Microdialysis separately monitors myocardial interstitial myoglobin during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ*

- Physiol* 2005 ; 289 : H924-30.
- 5) Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Nosaka S, Mori H. Isoflurane attenuates myoglobin release during ischemic and/or reperfusion periods. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008 ; 52 : 650-7.
- 6) Schlitz R, Rose J, Skyschally A, Heusch G. Brady-cardiac agent UL-FS 49 attenuates ischemic regional myocardial dysfunction and reduces infarct size in swine : Comparison with the beta-blocker atenolol. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995 ; 25 : 216-28.
- 7) Kramar JH, Mak IT, Freedman AM, Weglicki WB. Propranolol reduces anoxia/reoxygenation-mediated injury of adult myocytes through an anti-radical mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 1991 ; 23 : 1231-44.
- 8) Takeo S, Yamada H, Tanonaka K, Hayashi M, Sunagawa N. Possible involvement of membrane-stabilizing action in beneficial effect of beta adrenoceptor blocking agents on hypoxic and posthypoxic myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 1990 ; 254 : 847-56.
- 9) Josephson RA, Silverman HS, Lakatta EG, Stern MD, Zweier JL. Study of the mechanisms of hydrogen peroxide and hydroxyl free radical-induced cellular injury and calcium overload in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 2354-61.
- 10) Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury : Preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011 ; 301 : H1723-41.
- 11) Churchill EN, Mochly-Rosen D. The roles of PKC  $\delta$  and epsilon isoenzymes in the regulation of myocardial ischaemia/reperfusion injury. *Biochem Soc Trans* 2007 ; 35 : 1040-2.
- 12) Sozzani S, Agwu DE, McCall CE, O'Flaherty JT, Schmitt JD, Kent JD, et al. Propranolol, a phosphatidate phosphohydrolase inhibitor, also inhibits protein kinase C. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 20481-8.



## ABSTRACT

### Effect of Propranolol on Dialysate Myoglobin Levels Evoked by Ischemia/Reperfusion

Tadashi SAWADA, Hirotoshi KITAGAWA,  
Shuich NOSAKA

*Department of Anesthesiology, Shiga University of Medical  
Science, Otsu 520-2192*

**Background :** Although propranolol is well known to induce the preventive effect against ischemic disease, its effect on ischemia/reperfusion injuries remains unknown. We examined whether propranolol provides cardioprotection against ischemia/reperfusion injuries.

**Methods :** Microdialysis and 30 min of coronary artery occlusion followed by 60 min of reperfusion were applied in anesthetized rats. The dialysate myoglobin levels served as indices of myocardial injury, and were measured in the following groups : without propranolol administration (vehicle) ; with propranolol [ $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , pro(2)-pre], [ $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , pro(5)-pre]

administration ; zatebradine [ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , zat-pre] administration. Drugs were administered before coronary occlusion.

**Results :** In the pro(2)-pre, pro(5)-pre and zat-pre groups the heart rate was suppressed during the entire period. Ischemia-induced increase in dialysate myoglobin level was suppressed in the pro(2)-pre, pro(5)-pre and zat-pre groups in comparison with vehicle group. Reperfusion-induced increase in dialysate myoglobin level was suppressed in the pro(2)-pre, pro(5)-pre and zat-pre groups in comparison with vehicle group. The ratios of reperfusion/ischemia myoglobin level in pro(2)-pre and pro(5)-pre were lower than those in vehicle and zat-pre. Reperfusion-induced increase in myoglobin level was suppressed by administration of propranolol immediately before reperfusion.

**Conclusions :** The results suggest that propranolol provides myocardial protection against ischemia/reperfusion injury. The protective effect of propranolol on reperfusion might be independent of its effect on ischemia.

**key words :** propranolol, microdialysis, myoglobin, coronary occlusion, reperfusion injury