基础研究 文章编号:0253-3626(2010)01-0060-04

参附注射液对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的实验研究

苏泓洁[1],向小勇[1],赵兴吉[2],都定元[2]
(1.重庆医科大学附属第一医院胸心外科,重庆 400016;2.重庆市急救医疗中心胸心外科,重庆 400014)

【摘 要】目的:探讨参附注射液(Shen fu injection,SFI)对心肌缺血再灌注损伤(Myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)的功效。方法:通过复制大鼠心肌缺血再灌注损伤模型,观察 SFI 不同剂量对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。结果:SFI 高剂量组对大鼠心肌缺血再灌注损伤模型组在给药后 30、60、120 min 能明显降低大鼠 ECG 的 ST 段和 T 波的偏移,有显著性差异($P<0.05$);在给药后 120 min 能明显降低大鼠血清 CK、CK-MB、LDH 和 MMP-9 的活性,有显著性差异($P<0.05$);还能显著降低大鼠心室脏器系数,使其心肌梗塞面积明显缩小,梗塞区重量减轻,明显改善心肌缺血状况;对冠脉结扎再灌注损伤大鼠全血粘度(低切)和血浆粘度的升高有一定的降低作用。结论:SFI 对大鼠心肌缺血再灌注损伤有明显的保护作用,为其临床应用提供了进一步的实验室依据。

【关键词】参附注射液;心肌缺血再灌注损伤;基质金属蛋白酶-9
【中国图书分类法分类号】R654.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-06-17

An experimental study on the protective effects of shenfu injection for myocardial ischemia-reperfusion injury in rats

SU Hong-jie, et al
(*Department of Cardiothoracic Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the function of shenfu injection in myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI). *Methods*: To observe the effects of Shenfu injection (SFI) in different dosages. An experimental rat's model of myocardial ischemia- reperfusion inury (MIRI) was created. *Results*: The high-dosed-Shenfu-injection (SFI) group (20 ml/kg) compared with the MIRI model group showed significant depressant effect on the ECG ST segment and T wave after 30, 60, 120 minutes, respectively, of the injection. Such differences were of great statistical value ($P<0.05$). Similarly, a reduced serum CK, CK-MB, LDH, MMP-9 activity occurred 120 minutes after the injection($P<0.05$). It could significantly reduce the area and extent of myocardial infarction, obviously improve the situation of myocardial ischemia. It showed a certain reducing effect in the increased whole blood viscosity (low shear) and plasma viscosity. *Conclusion*: SFI contributing a valid protective effect in myocardial ischemia-reperfusion injury was indeed significant and served as a contributing laboratory basis for further clinical application.

【Key words】Shenfu injection; Myocardial ischemia-reperfusion injury; Matrix metalloproteinase-9

心肌缺血再灌注损伤(Myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)是指缺血心肌在恢复血液再灌注后,功能代谢障碍及结构破坏反而加重的现象。目前认为其主要的产生机理为自由基增多、细胞内钙超载、微血管损伤和白细胞的作用[1]。另外基质金属蛋白酶类(Matrix metalloproteinases, MMPs)也参与了心肌缺血再灌注损伤的发展过程,可能在缺血损伤的慢性重构中起主要作用[2]。近年来,中医药对 MIRI 的保护作用的实验研究得到重视,其中研究较多的是参附注射液(Shenfu injection, SFI)。其有保护心肌细胞的作用,在临床上广泛应用于休克、心力衰竭、急性心肌梗塞和心律失常等等的治疗[3,4]。但其对基质金属蛋白酶类在 MIRI 中的影响尚未见研究报道。本实验通过复制大鼠 MIRI 模型,对 SFI 在 MIRI 中的保护作用进行初步研究,为其临床应用提供进一步的实验室依据。

作者介绍:苏泓洁(1976-),男,主治医师,硕士,研究方向:心脏及大血管损伤。
通讯作者:向小勇,男,教授,E-mail:charliexiang@sina.com。

1 材料及方法

1.1 实验动物与分组

SD 大鼠 70 只,SPF 级,雌雄各半,体重 250~320 g,由重庆市中药研究院实验动物研究室提供。

随机分为 6 组:假手术组,缺血再灌注模型组,实验组(SFI 高、中、低剂量组)及果糖二磷酸钠注射液组,每组 11~12 只。

1.2 试验药物及试剂

SFI:四川雅安三九药业有限公司,规格 10ml/支,批号:

0810004。果糖二磷酸钠注射液:海南通用三洋药业有限公司,规格 5 g/瓶,批号:H53021654。大鼠基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9,MMP-9)试剂:上海门谍塔生物科技发展有限公司(美国 ADL 公司原装进口)。CK、CK-MB、LDH:四川迈克试剂有限公司。

1.3 实验方法

采用戊巴比妥钠 45 mg/kg 经腹腔注射麻醉。麻醉成功后,记录正常Ⅱ导联心电图(Electrocardiogram,ECG)。常规施行气管切开术并行气管插管、正压人工辅助呼吸。在大鼠胸骨旁左侧 3.0 cm 处,3~5 肋间,剪断第 3~5 肋骨行开胸术。进入胸膜腔后,打开心包,在动脉圆锥与左心耳之间冠状动脉左前降支(Left anterior descending,LAD)处穿线,除假手术组外,其余各组在 LAD 下拉紧结扎线使硅胶管压迫 LAD 造成血流阻断(以 ECGⅡ导联 ST 段抬高 0.1 mV 或 T 波高耸,心肌颜色变为暗红色,作为 LAD 结扎成功的标志)。LAD 供血区域—左心室左前壁缺血 15 min 后,松开结扎线,恢复血液 LAD 再灌流。除模型组和假手术组静脉注射生理盐水 10 ml/kg 作为对照外,其余各组分别经尾静脉推注给予 SFI 20、10、5 ml/kg,果糖二磷酸钠注射液 10 ml/kg。记录给药后 5、10、20、30 min、1、2 h 时间点的 ECG,测定 ECG 之 T 波及 S-T 段电压,计算结扎后变化值。2 h 后,经腹主动脉抽血 5 ml。其中 3 ml 注入 1%肝素抗凝试管中,测定全血粘度;再将全血离心,测定血浆粘度,并计算出红细胞聚集指数、刚性指数和变形指数。其中 1 ml 血液,经 3 000 r/min 离心 10 min,分离出血清,并检测血清 CK-MB、CK、LDH 酶的活性。另外 1 ml 血液,采用 ELISA 法检测 MMP-9 的含量水平。最后,处死动物,并取其心脏,用生理盐水洗净心腔内积血,去掉心房组织及脂肪后,称其重量,自左心室冠状平面水平将心肌横切 7~8 片,采用定量组织学(TTC 染色法)测定心肌梗塞范围。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,均采用 SPSS13.0 统计软件进行分析。其中心电图的 S-T 段、T 波采用重复设计分析方法进行分析,其余数据采用单因素方差分析的 LSD 法或 Dunnett's T3 法进行组间比较,$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠 ST 段和 T 波变化值的影响

缺血再灌注损伤模型组与假手术组比较,模型组大鼠心电图出现明显缺血性改变,各时间点 ST 段和 T 波均明显偏移,差异具有极显著统计学意义($P<0.01$)。SFI 组与缺血再灌注损伤模型组比较,高剂量组在给药后 30、60、120 min 能明显降低 ST 段和 T 波的偏移,中剂量组在给药后 60 min 能明显降低 ST 段的偏移,差异具有统计学意义($P<0.05$),(见表 1、2)。提示 SFI 可显著降低 MIRI 大鼠 ST 段偏移,还能明显对抗 MIRI 大鼠 T 波的变化。

2.2 参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠 CK-MB、CK、LDH 的影响

缺血再灌注损伤模型组与假手术组比较,模型组大鼠的心肌酶谱 CK-MB、CK、LDH 活性明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。SFI 组与缺血再灌注损伤模型组比较,高剂量组能明显降低心肌酶谱 CK-MB、CK、LDH 的活性,中剂量组能明显降低心肌酶 CK、LDH 的活性,差异具有统计学意义($P<0.05$),(见表 3)。提示 SFI 可显著减少 MIRI 大鼠心肌酶谱 CK、CK-MB、LDH 的释放。

2.3 参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠 MMP-9 的影响

缺血再灌注损伤模型组与假手术组比较,模型组大鼠的 MMP-9 的活性明显升高,差异具有极显著统计学意义($P<0.01$)。SFI 组与缺血再灌注损伤模型组比较,高剂量组能明显降低 MMP-9 的活性,差异具有统计学意义($P<0.05$)(见表 4)。提示 SFI 可显著减少 MIRI 大鼠 MMP-9 的释放。

2.4 参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠心室脏器系数及心肌梗塞区的影响

缺血再灌注损伤模型组与假手术组比较,模型组大鼠在心室脏器系数、心肌梗塞区重量和百分比等指标的变化上,差异具有极显著统计学意义($P<0.01$)。SFI 组与缺血再灌注损伤模型组比较,能明显降低心室脏器系数、心肌梗塞区的重量和百分比,差异具有统计学意义($P<0.05$)(见表 5)。提示 SFI 能明显减小心肌梗塞区面积,降低心肌梗塞程度,能明显改善冠脉结扎大鼠的心肌缺血状况。

2.5 参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠血液流变学的影响

缺血再灌注损伤模型组与假手术组比较,模型组大鼠的全血切变率(高切和低切)和红细胞聚集指数明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。SFI 组与缺血再灌注损伤模型组比较,高剂量组能明显降低全血粘度(低切)、血浆粘度和红细胞聚集指数(见表 6)。提示 SFI 对 MIRI 大鼠全血粘度(低切)血浆粘度和红细胞聚集指数的升高有一定的降低作用。

3 讨 论

3.1 参附注射液之功效及其对大鼠心电图,心室脏器系数、心肌梗塞区重量和百分比,血液流变学等指标的影响

SFI 的主要成分为:红参、附子等,含有多种活性物质如人参皂甙、乌头类生物碱等,具有益气活血、回阳救逆、固脱的功能。红参、附子已证实具有抗缺血、缺氧,清除氧自由基,抗脂质过氧化,减轻细胞内 Ca^{2+} 超载,稳定膜过氧化结构等多种药理作用,对心肌缺血再灌注损伤具有一定的保护作用[5]。目前研究提示,SFI 对于心肌缺血再灌注损伤的保护机制可能存在于以下几个方面[6,7]:(1)正性肌力和负性频率作用;(2)钙离子(Ca^{2+})拮抗剂样作用;(3)减少炎性反应;(4)促进热休克蛋白 70(HSP 70)表达;(5)此外,有研究提示 SFI 对凋亡相关基因 Bax,bcl-2 和 Fas 等的调控作用至少部分参与了对缺血再灌注损伤的影响;(6)改善血液流变性,保护内皮细胞,促进内皮释放 NO,扩张血管,增加血流,改善微循环;(7)减少心律失常。据黄标通等[8]研究,心脏复跳后室性心律失常发生的机率和强度明显减少,这可能与 SFI 能改善心

表 1　参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠 S-T 段变化值的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	结扎后(mV)	给药后 5min(mV)	给药后 10 min(mV)	给药后 20 min(mV)	给药后 30 min(mV)	给药后 60 min(mV)	给药后 120 min(mV)
假手术组	10	0.359 ± 0.189	0.229 ± 0.123	0.109 ± 0.097	0.094 ± 0.052	0.085 ± 0.072	0.081 ± 0.090	0.072 ± 0.091
模型组	10	0.562 ± 0.314*	0.581 ± 0.271**	0.549 ± 0.408**	0.511 ± 0.372**	0.466 ± 0.419**	0.423 ± 0.402**	0.397 ± 0.281**
参附 5 ml/kg 组	10	0.528 ± 0.416	0.573 ± 0.320	0.495 ± 0.209	0.417 ± 0.303	0.353 ± 0.316	0.387 ± 0.311	0.291 ± 0.201
参附 10 ml/kg 组	9	0.578 ± 0.319	0.559 ± 0.294	0.442 ± 0.223	0.388 ± 0.161	0.299 ± 0.186	0.279 ± 0.234△	0.231 ± 0.204
参附 20 ml/kg 组	9	0.525 ± 0.326	0.536 ± 0.367	0.394 ± 0.244	0.359 ± 0.198	0.252 ± 0.163△	0.237 ± 0.159△	0.195 ± 0.161△
果糖二磷酸钠 10 ml/kg 组	10	0.585 ± 0.212	0.552 ± 0.298	0.379 ± 0.196△	0.322 ± 0.123△	0.225 ± 0.102△	0.214 ± 0.121△	0.193 ± 0.131△

注：与假手术组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△ $P<0.01$

表 2　参附注射液对冠脉结扎所致心肌缺血大鼠 T 波变化值的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	结扎后(mV)	给药后 5 min(mV)	给药后 10 min(mV)	给药后 20 min (mV)	给药后 30 min (mV)	给药后 60 min (mV)	给药后 120 min (mV)
假手术组	10	0.191 ± 0.164	0.177 ± 0.144	0.164 ± 0.134	0.168 ± 0.131	0.160 ± 0.105	0.138 ± 0.12 4	0.123 ± 0.116
模型组	10	0.481 ± 0.294**	0.438 ± 0.264*	0.411 ± 0.298*	0.389 ± 0.294*	0.410 ± 0.308*	0.388 ± 0.286*	0.302 ± 0.235*
参附 5 ml/kg 组	10	0.472 ± 0.215	0.380 ± 0.233	0.385 ± 0.283	0.340 ± 0.260	0.324 ± 0.225	0.259 ± 0.252	0.220 ± 0.211
参附 10 ml/kg 组	9	0.476 ± 0.255	0.379 ± 0.251	0.379 ± 0.199	0.319 ± 0.235	0.290 ± 0.161	0.216 ± 0.142	0.181 ± 0.140
参附 20 ml/kg 组	9	0.478 ± 0.216	0.379 ± 0.244	0.339 ± 0.226	0.275 ± 0.153	0.248 ± 0.130△	0.177 ± 0.126△	0.138 ± 0.096△
果糖二磷酸钠 10 ml/kg 组	10	0.441 ± 0.290	0.398 ± 0.289	0.285 ± 0.201	0.255 ± 0.191△	0.238 ± 0.102△	0.147 ± 0.119△	0.111 ± 0.103△

注：与假手术组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△ $P<0.01$

表 3　参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠 CK-MB、CK、LDH 的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	CK-MB(U/l)	CK(U/l)	LDH(U/l)
假手术组	5	1 683.00 ± 316.92	3 218.40 ± 760.27	478.40 ± 138.95
模型组	5	2 598.20 ± 595.35*	5 697.40 ± 622.48**	713.40 ± 149.96*
参附 5 ml/kg 组	5	2 171.60 ± 529.33	4 809.80 ± 687.53	637.80 ± 166.53
参附 10 ml/kg 组	5	2 077.60 ± 409.60	4 170.67 ± 509.02△△	570.67 ± 172.92
参附 20 ml/kg 组	5	1 926.20 ± 592.51	3 935.60 ± 943.30△△	535.60 ± 168.72
果糖二磷酸钠 10 ml/kg 组	5	1 895.40 ± 639.83△	3 761.00 ± 872.23△△	523.00 ± 141.51

注：与假手术组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△ $P<0.01$

表 4　参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠 MMP-9 的影响（$\bar{x}\pm s$）

组 别	n	MMP-9(ng/ml)
假手术组	5	18.65 ± 4.26
模型组	5	34.86 ± 6.81**
参附 5 ml/kg 组	5	30.29 ± 6.61
参附 10 ml/kg 组	5	25.43 ± 8.17
参附 20 ml/kg 组	5	22.45 ± 7.55△
果糖二磷酸钠 10 ml/kg 组	5	20.16 ± 6.26△△

注：与假手术组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△ $P<0.01$

肌细胞膜 Na^+-K^+- ATP 酶的活性和增强钠（Na^+）离子通道的开放有关[9]。这些结论与国内外对人参皂苷单体的研究结论相符。

本实验研究结果表明：缺血再灌注损伤模型组与假手术组比较，模型组大鼠心电图出现明显缺血性改变，各时间点 ST 段和 T 波均明显偏移，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；模型组大鼠在心室脏器系数、心肌梗塞区重量和百分比等指标的变化上，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。以上结果说明造模成功。而 SFI 组与缺血再灌注损伤模型组比较，参附注射液组可显著降低 MIRI 大鼠 ST 段偏移，还能明显对抗 MIRI 大鼠 T 波的变化；能明显减小心肌梗塞区面积，降低心肌梗塞程度。这些直观指标说明 SFI 能明显改善冠脉结扎大鼠的心肌缺血状况。同时还说明了 SFI 还对 MIRI 大鼠全血粘度（低切）和血浆粘度的升高有一定的降低作用，改善了血液的微循环状态，并对血小板聚集功能有抑制作用。

3.2　参附注射液对大鼠心肌酶谱指标的影响

另外，在临床上被用来检验心肌梗死、心肌损伤的指标之一——心肌酶谱：包括有肌酸激酶（CK）及其同工酶（CK-MB）、乳酸脱氢酶（LDH）等等，被广泛用于在 MIRI 的研究之中。

心肌酶谱中酶学指标水平与心肌坏死量密切相关，从其水平有助于大致判断心肌细胞损伤程度。CK、CK-MB 和 LDH 广泛存在于心肌细胞中，血清中 CK、CK-MB 和 LDH 均

表 5 参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠心室脏器系数及心肌梗塞区的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	心室重量(g)	脏器系数(g/100g)	梗塞区重量(g)	梗塞百分比(%)
假手术组	10	0.744 ± 0.086	0.296 ± 0.018	0.006 ± 0.011	0.67 ± 1.39
模型组	10	0.787 ± 0.072	0.316 ± 0.014*	0.161 ± 0.045**	21.69 ± 3.02
参附 5 ml/kg 组	10	0.794 ± 0.111	0.317 ± 0.029	0.147 ± 0.041	19.70 ± 3.19
参附 10 ml/kg 组	9	0.789 ± 0.095	0.306 ± 0.022	0.125 ± 0.022	17.57 ± 3.61
参附 20 ml/kg 组	9	0.727 ± 0.041	0.293 ± 0.019△	0.114 ± 0.021	16.17 ± 2.22
果糖二磷酸钠 10 ml/kg 组	10	0.731 ± 0.081	0.298 ± 0.018	0.108 ± 0.019	15.11 ± 2.45

注:与假手术组比较,*P<0.05,**P<0.01;与模型组比较,△P<0.05,△△ P<0.01

表 6 参附注射液对冠脉结扎再灌注损伤大鼠血液流变学的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	全血切变率(s^{-1})		血浆粘度(mps)	红细胞压积(1/1)	红细胞聚集指数	红细胞刚性指数	红细胞变形指数
		200	3					
假手术组	5	4.45 ± 0.27	9.21 ± 1.05	1.25 ± 0.06	0.23 ± 0.05	7.32 ± 0.43	11.05 ± 1.24	1.68 ± 0.32
模型组	5	4.86 ± 0.28*	11.51 ± 0.66**	1.31 ± 0.05	0.26 ± 0.05	8.76 ± 0.54**	11.98 ± 1.57	1.71 ± 0.28
参附组 5 ml/kg	5	4.92 ± 0.39	11.18 ± 1.03	1.35 ± 0.09	0.26 ± 0.05	8.27 ± 0.57	11.89 ± 2.63	1.77 ± 0.35
参附组 10 ml/kg	5	4.66 ± 0.24	10.40 ± 0.79	1.29 ± 0.07	0.25 ± 0.03	8.29 ± 0.52	11.20 ± 1.31	1.71 ± 0.25
参附组 20 ml/kg	5	4.53 ± 0.35	10.09 ± 0.81△	1.20 ± 0.08△	0.24 ± 0.05	8.02 ± 0.64△	12.33 ± 2.31	1.76 ± 0.40
果糖二磷酸钠 10 ml/kg 组	5	4.56 ± 0.25	10.52 ± 1.04	1.23 ± 0.10	0.24 ± 0.06	8.09 ± 0.38	10.50 ± 2.53	1.82 ± 0.47

注:与假手术组比较,*P<0.05,**P<0.01;与模型组比较,△P<0.05,△△ P<0.01

主要来自于此。心肌缺血时,自由基大量蓄积,导致心肌细胞严重损伤,心肌细胞线粒体破裂释放 CK、CK-MB 和 LDH 增多,血清中 CK、CK-MB 和 LDH 活性增强,因此心肌损伤程度可由血清 CK、CK-MB 和 LDH 的活性间接评定[10]。

本实验研究表明:缺血再灌注损伤模型组与假手术组比较,模型组大鼠的心肌酶谱 CK、CK-MB、LDH 的活性明显升高,差异具有统计学意义(P<0.05)。SFI 组与缺血再灌注损伤模型组比较,能明显降低心肌酶谱 CK、CK-MB、LDH 的活性,差异具有统计学意义(P<0.05)。提示 SFI 可显著减少 MIRI 大鼠心肌酶谱 CK、CK-MB、LDH 的释放,从而减轻其细胞损伤程度。

3.3 参附注射液对大鼠基质金属蛋白酶-9 的影响

MMPs 是一类锌(Zn)依赖性内肽酶。MMPs 能够依赖锌离子降解细胞外基质(Extraellular matrix,ECM)成分,如明胶和弹性蛋白的内肽酶家族。MMPs 作为一类蛋白质大分子,利用其改变机体组织结构的能力,广泛参与胚胎的形成、排卵、骨的再建、肿瘤的生长和转移、炎症、心肌梗死后的心室重构等生理及病理过程。在健康组织中,MMPs 的活化水平正常是较低的。但是,在某些病理过程中,一些 MMPs 成员的表达及活化增加[11,12]。可见,某些类型的 MMPs 在一些疾病的发生发展过程中发挥着非常重要的作用。近年来,对 MMPs 与多种心血管疾病发病的关系研究较多。大量文献已证明它参与多种心血管疾病的发生发展,如动脉粥样硬化、再狭窄、扩张型心肌病、心肌梗死等。在心肌梗死或损伤后,可以引起的心肌纤维化病变。心肌纤维化发生、发展过程中,心成纤维细胞将合成、分泌较多的细胞外基质。同时,心肌成纤维细胞的 MMPs 活性或表达也将增加,以促进 ECM 的降解[11,12]。这可能是机体维持 ECM(包括胶原)代谢平衡的一种自我调节方式[13]。

MMP-9 存在于心内膜、内膜下层、间质组织和心肌细胞内[14],其作用底物为血管基底膜的主要成分:胶原Ⅳ、胶原 V、弹性蛋白、明胶等。在病理状态下,MMP-9 基因表达产物的量或活性变化可引起继发性基膜损害,但大多数细胞胞体内并不存贮 MMP-9,在受到特定刺激后由细胞临时合成与释放。在许多实验性心肌损伤中,MMP-9 表达或活性增加,如在鼠、兔持续冠脉闭塞模型和猪再灌注损伤模型[15],新近对鼠慢性研究显示 MMP-9 缺失可减轻持续性冠状动脉结扎诱导左室扩张和胶原聚集,表明 MMP-9 同样也参与了 MIRI 的发展过程,可能在缺血损伤的慢性重构中起主要作用[16]。

本研究表明:缺血再灌注损伤模型组与假手术组比较,模型组大鼠的 MMP-9 的活性明显升高,差异具有极显著统计学意义(P<0.01)。SFI 组与缺血再灌注损伤模型组比较,高剂量组能明显降低 MMP-9 的活性,差异具有统计学意义(P<0.05)。提示 SFI 可显著减少 MIRI 大鼠 MMP-9 的释放,进而抑制心脏胶原的降解,减轻了心肌细胞的损伤。

3.4 参附注射液与果糖二磷酸钠注射液的对照研究

本研究表明:SFI 组与果糖二磷酸钠注射液组,在对降低大鼠心肌 ST 段和 T 波的偏移,降低血清 CK、CK-MB、LDH 和 MMP-9 的活性,减小大鼠心室脏器系数及心肌梗塞区,对抗全血粘度(低切)和血浆粘度的升高等方面,差异无统计学意义(P>0.05)。进一步证明了 SFI 对 MIRI 具有一定的保护作用。

综上所述,SFI 可显著降低冠脉结扎再灌注损伤大鼠 ECG 的 ST 段偏移,还能明显对抗 T 波的变化;可显著减少心肌酶谱 CK、CK-MB、LDH 和基质金属蛋白酶 -9 的释放;能明显减小心肌梗塞区面积,降低心肌梗塞程度,能明显改善心肌缺血状况;对全血粘度(低切)和血浆粘度的升高有一定

基础研究 文章编号:0253-3626(2010)01-0064-04

TTX 通过 JAK2/STAT3 通路活化 SOD 减轻心肌细胞凋亡

刘胜中[1],杨双强[2]

(1.四川省医学科学院·四川省人民医院胸心外科,成都 610072;2.重庆医科大学附属第一医院胸心外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究 JAK2/STAT3 信号通路在河豚毒素(Tetrodotoxin,TTX)心脏停搏液心肌保护中的作用。方法:24 只 Wistar 大鼠随机均分为对照组、TTX 组和 TTX+AG490 组,每组 8 只。对照组:开胸取左心室肌作为缺血前对照。TTX 组:建立离体心脏 Langendorff-Neely 灌注模型,预灌注 K-H 缓冲液 30min 后,灌注 4℃ TTX 心脏停搏液,停搏心脏并低温维持 60 min,复灌 K-H 缓冲液 60 min 后,取左心室肌备用。TTX+AG490 组:操作同 TTX 组,但预灌和复灌时均在 K-H 缓冲液中加入 JAK2 抑制剂 AG490(5 μmol/L)。分别采用免疫组化法、比色法和 TUNEL 法测定心肌组织中 p-STAT3、SOD 活性和 MDA 含量,以及心肌细胞凋亡指数(Apoptosis index,AI),并比较组间的变化。结果:与对照组相比,TTX 组和 TTX+AG490 组 p-STAT3 表达量均明显增加($P<0.05$);予以 AG490 处理后,p-STAT3 表达量较 TTX 组明显下降($P<0.05$)。与对照组相比,TTX 组和 TTX+AG490 组 SOD 活性和 MDA 含量均明显增加($P<0.05$);予以 AG490 处理后,SOD 活性较 TTX 组显著降低($P<0.05$),MDA 含量却明显增加($P<0.05$)。经历缺血再灌注后,TTX 组和 TTX+AG490 组心肌细胞 AI 明显高于对照组($P<0.05$);与 TTX 组相比,TTX+AG490 组 AI 显著增加($P<0.05$)。结论:JAK2/STAT3 信号通路通过增强 SOD 活性,减轻膜脂质过氧化损伤,减少心肌细胞凋亡,介导 TTX 心脏停搏液对缺血心肌的保护作用。

【关键词】信号转导及转录激活因子 3;超氧化物歧化酶;凋亡;河豚毒素;心肌保护

【中国图书分类法分类号】R541.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-08-24

作者介绍:刘胜中(1981-),男,医师,硕士,
研究方向:胸心外科,心肌保护。

通讯作者:杨双强,男,教授,E-mail:yysqiang@163.com。

的降低作用。SFI 对 MIRI 具有保护作用,这可能是 SFI 治疗缺血性心脏病的药理学基础,为其临床应用提供了进一步的实验室依据。

参 考 文 献

[1] 季海刚,司 亮,司晓晨,等.丹参对心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究进展[J].光明中医,2006,21(3):52-54.

[2] 曹泽玲,叶 平,汪 海.基质金属蛋白酶在心肌缺血再灌注损伤中的作用[J].中华老年多器官疾病杂志,2005,4(2):150-154.

[3] 曾月炉. 参附注射液辅助治疗急性心肌梗死并心力衰竭 54 例[J]. 中国实用乡村医生杂志,2005,12(1):31-32.

[4] 李 芳.参附注射液治疗病态窦房结综合征临床观察[J].中西医结合心脑血管病杂志,2005,2(3): 174-175.

[5] 吴永涛,罗 毅,顾 云,等.参附注射液对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国比较医学杂志,2007,17(1):26-29.

[6] 谢 健,闵 苏.参附注射液对缺血再灌注损伤保护作用的研究进展[J].重庆医学,2006, 35(22):2099-2100.

[7] Zhang XJ,Song L, Zhou ZG,et al.Effect of shenfu injection on gastrointestinal microcirculation in rabbits after myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. World J Gastroenterol,2006, 12(27):4389-4391.

[8] 黄标通,龙建平,熊卫民,等.体外循环心脏瓣膜替换术中参附注射液的心肌保护作用[J]. 实用医学杂志,2006 ,22(2):195-197.

[9] Cao J,Zheng Y Q,Liu T P,et al. Inhibitory efects of ginsenoside Rgl and Rbl on rat brain microsomal Na^+-K^+-ATPase activity [J]. Acta Pharmacol Sin,1990,1(1):10-14.

[10] Tsung S H. Creatine kinase isoenzyme patterns in human tissue obtained at surgery[J]. Clin Chem,1976,22(2):173-175.

[11] Lopez B,Gonzalez A,Diez J.Role of matrix metalloproteinases in hypertension assosiated cardiac fibrosis[J].Curtn Nephrol Hypert,2004,13(11):197-204.

[12] Tao Zhenyin,Maria A,Yang Fang,et al.Temporal changes in matrix metalloproteninase expression an d inflammatory response associated with cardiac rupture after myocardial infarction in mice[J].Life Science,2004,74(12):1561-1572.

[13] 王丽平, 朱曦龄, 杨 方, 等.AcSDKP 对大鼠心成纤维细胞 MMP-2、MMP-9 活性和 MMP-1 表达的影响[J].基础医学与临床,2007,27(3):279-283.

[14] Mcdonough J L,Arrel D K,Van Eyk J E. Troponin I degradation and covalent complex formation accompanied myocardial ischemia/repefusion injury[J].Circ Res,1999,84(1):9-20.

[15] Romanic A M,Harrison S M,Bao W,et al.Myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by targeted deletion of matrix metalloopmteinase-9[J].Cardiovasc Res,2002,54(3):549-558.

[16] Bagkelai K, Marktanner R, Datifo JB,et al.Decreased expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in stunned myocardium [J].Sarg Res,1998,77(1):35-39.

(责任编辑:关蕴良)