维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2004)03-0311-04

电刺激小脑顶核防治心肌梗死后大鼠心肌氧化损伤

张润峰 , 陈运贞

(重庆医科大学临床学院心内科,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究电刺激小脑顶核(FNS)对急性心肌梗死(AMI)大鼠心肌氧化损伤的防治作用机制。方法:随机将大鼠分为 AMI、FNS+AMI、毁损小脑顶核(FNL)+AMI 组,于左冠状动脉结扎术后 24h 进行心肌梗死面积、血清乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)活性、心肌组织丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(TAOC)及超氧化物歧化酶(SOD)活性测定。结果:与 MI 组比较,FNS+AMI 组 LDH、CK 活性、MDA 含量,心肌梗死面积显著减少($P<0.01$);TAOC 及 SOD 活性显著升高($P<0.01$)。FNL+AMI 组与 AMI 组以上指标比较无显著性差异($P>0.05$)。结论:FNS 可减轻心肌梗死后大鼠心肌损伤,减小心肌梗死面积;其心肌保护机制可能与其抗氧化损伤作用有关。

【关键词】小脑顶核;电刺激;心肌梗死;抗氧化

【中国图书分类法分类号】R542.2 【文献标识码】A 【收稿日期】200-03-24

The preventive effect of fastigial nucleus stimulation on the oxidative damage in rats with myocardial infarction

ZHANG Runfeng , CHEN Yunzhen

(*Department of Cardiology , College of clinical medicine , Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect of fastigial nucleus stimulation(FNS) on preventing oxidative damage from myocardium after acute myocardial infarction in rats. *Methods*: Wistar rats were randomly divided into acute myocardial infarction(AMI), FNS before AMI model was made(FNS+AMI), bilateral fastigial nucleus lesion(FNL) before AMI(FNL+AMI) groups. At 24 hours after coronary ligation, blood samples and left ventricular myocardium were obtained for measurment of the activity of lactic dehydrogenase(LDH) and creatine phosphokinase(CK) in serum, as well as myocardial infarct size. At the same time, the malondialdehyde (MDA) level, total anti-oxidative capability (TAOC) and superoxide dismutase(SOD) activity in myocardium were measured too. *Results*: LDH, CK activities and MDA level in FNS+AMI group were significantly lower than that in AMI group($P<0.01$). The infarct size in FNS+AMI group was significantly smaller than that in group AMI($P<0.01$). SOD activity and TAOC were significantly increased in FNS+AMI group as compared to AMI group. There was no significant difference between FNL+AMI group and AMI group for all the measurements($P>0.05$). *Conclusion*: FNS can attenuate the damage of myocardium from infarct heart and reduce myocardial infarct size. The mechanism of the protective effect coming from FNS may be related to its antioxidative role.

【Key words】Fastigial nucleus; Electrical stimulation; Myocardical infarction; Antioxidant

大量研究表明,小脑顶核参与心血管、呼吸及内脏活动的调节[1]。通过电刺激小脑顶核(FNS)产生的神经源性神经保护作用,可以实现对心脑等重要器官的保护,防治其缺血性病变[2]。目前已证实 FNS 能缩小脑梗死体积,抑制缺血区脑组织白细胞浸润及脑血管炎症反应,使自由基的产生减少,防止缺血后细胞的死亡[3]。但目前尚无 FNS 对心肌梗死有无保护作用的研究报道;为此,本研究在大鼠心肌梗死模型上,从抗氧化损伤角度探讨 FNS 防治有关心血管疾病的潜在应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物:雄性 Wistar 大鼠,9~11 周龄,体重 250~300g,由重庆医科大学实验动物中心提供。主要试剂:丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(TAOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)等试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

作者介绍:张润峰(1968-),男,博士生,
主要研究方向:冠心病的基础与临床。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.2 心肌梗死大鼠模型制备

参照刘元生等[4]建立大鼠心肌梗死模型方法。气管插管辅助呼吸,开胸后于左心耳与肺动脉圆锥间距左心耳根部下 2mm 处结扎左冠状动脉前降支。针形电极描记肢体导联心电图,以 I、avL 导联 ST 段弓背向上抬高持续 0.5h 以上作为心肌梗死模型制备成功的标志,最后以四氮唑蓝(NBT)染色确认,心肌梗死形成。

1.3 小脑顶核电刺激

参照 Reis 等[5]方法操作。大鼠麻醉后固定于脑立体定向仪,颅顶部正中切口,按照 Wistar 大鼠脑立体定位图谱[6],结合鼠大小进行小脑顶核定位。以前囟为零点,正中线向后 11.4～11.8mm,向左旁开 0.8～1.0mm,钻孔;将双极同心圆电极插入小脑顶核,深度 5.2～5.7mm,电刺激器刺激参数设为:70μA 的直流方波脉冲,频率 50Hz,时程 0.5ms;均为浅麻醉状态下刺激左侧小脑顶核,恒定电刺激 1h。实验结束后,小脑连续切片 HE 染色,发现刺激部位不在小脑顶核者予以排除。

1.4 小脑顶核毁损

参照 Glicksten 等[7]方法,于双侧小脑顶核位置的颅骨上钻孔,以 0.5μl 微量进样器分别将 0.2μl 鹅膏氨酸注入,留针 5min。实验结束后,取小脑作连续横切片,尼氏染色证实毁损的小脑顶核处神经元数量减少,尼氏体大量消失。

1.5 实验分组

45 只 Wistar 大鼠随机分为 3 组:①心肌梗死组(AMI 组,$n=15$);②小脑顶核电刺激 + 心肌梗死组(FNS + AMI 组,$n=15$),制备心肌梗死模型前予以 FNS;③小脑顶核毁损 + 心肌梗死组(FNL + AMI 组,$n=15$),制备心肌梗死模型前 5 日予以双侧小脑顶核化学毁损,再电刺激小脑顶核部位。另随机抽取 10 只雄性 Wistar 大鼠作为假刺激假手术组(Sham 组,$n=10$),不进行 FNS,仅于左侧顶核留针 1h,然后开胸于左冠状动脉下穿线,不结扎。各组均于开胸术后 24h 留取样本。去除死亡、未梗死、小脑顶核刺激或毁损失败的大鼠,最终 40 个标本资料完整;分布在以上各组的数量为 9,10,11,10 只。

1.6 观察指标

1.6.1 心肌梗死面积测定

各组大鼠取心脏后,置于液氮中速冻切除主动脉、大血管和右室。将左室沿心脏纵轴均匀切成 1mm 薄片,置于 pH 7.4、5% NBT 溶液中,并于 37℃ 水浴箱孵化 20min。坏死区因无脱氢酶不染色,未坏死区因含有脱氢酶而染成蓝色。小心将染色区与未染色区分离并分别用电子天平称重(精确到 0.01mg)。梗死面积大小用梗死区重量与左室重量百分比表示。

1.6.2 心肌组织 MDA、TAOC、SOD 测定

取冻存的各组心室组织 0.5g,加 4.5ml 冰生理盐水制成 10% 组织匀浆,离心后取上清液,按试剂盒说明以化学比色法测定 MDA 含量,TAOC 及 SOD 活性。

1.6.3 血清 LDH、CK 测定

取颈动脉血 1ml,离心取血清测定 LDH、CK 活性。

1.7 统计学处理

各项实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较用方差分析,两组间比较用 q 检验。

表 1 FNS 对大鼠心肌梗死面积的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	体重(g)	左室质量(mg)	梗死区重量(mg)	梗死面积(%)
Sham	10	285.50 ± 14.02	569.43 ± 50.13	0	0
AMI	9	289.44 ± 12.10	558.03 ± 46.29	229.15 ± 23.98	41.60 ± 2.03
FNS ± AMI	11	280.90 ± 16.55	541.02 ± 40.30	135.80 ± 11.60$^{\triangle}$	25.16 ± 2.30$^{\triangle}$
FNL + AMI	10	284.50 ± 16.57	552.45 ± 48.10	225.17 ± 29.37*	40.39 ± 2.70*

注:与 AMI 组比较,$^{\triangle}P<0.01$,$^{*}P>0.05$

表 2 FNS 对心肌梗死大鼠血清 LDH 和 CK 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	LDH(U/L)	CK(U/L)
Sham	10	954 ± 90	270 ± 40
AMI	9	1612 ± 123$^{\triangle}$	715 ± 110$^{\triangle}$
FNS + AMI	11	1056 ± 102*	373 ± 59*
FNL + AMI	10	1583 ± 139$^{\#}$	702 ± 95$^{\#}$

注:与 Sham 组比较,$^{\triangle}P<0.01$,与 AMI 组比较,$^{*}P<0.05$,$^{\#}P>0.05$

表 3 FNS 对心肌 MDA 含量,TAOC 和 SOD 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MDA(nmol/mg·pro)	TAOC(U/mg·pro)	SOD(nU/mg·pro)
Sham	10	1.90 ± 0.14	1.32 ± 0.16	52.19 ± 7.07
AMI	9	3.89 ± 0.19$^{\triangle}$	0.46 ± 0.11$^{\triangle}$	25.00 ± 6.71$^{\triangle}$
FNS + AMI	11	1.99 ± 0.15*	1.57 ± 0.10*	50.17 ± 6.29*
FNL + AMI	10	3.92 ± 0.16$^{\#}$	0.51 ± 0.11$^{\#}$	23.97 ± 6.20$^{\#}$

注:与 Sham 组比较,$^{\triangle}P<0.01$,与 AMI 组比较,$^{*}P<0.05$,$^{\#}P>0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

2 结 果

2.1 各组大鼠心肌梗死面积的比较

单因素方差统计分析,大鼠体重及左室重量在组间无显著性差异($P<0.05$)。心肌梗死面积比较,FNS + AMI 组显著少于 AMI 组($P<0.01$);FNL + AMI 组与 AMI 组无显著性差异(见表 1)。

2.2 各组大鼠血浆 LDH、CK 比较

由表 2 可见,AMI 组 LDH、CK 活性显著低于 Sham 组($P<0.01$)。与 AMI 组比较,FNS + AMI 组 LDH、CK 活性显著下降($P<0.01$);FNL + AMI 组无显著性变化($P>0.05$)。

2.3 各组大鼠心肌 MDA、TAOC、SOD 比较

由表 3 可见,AMI 组 MDA 含量较 Sham 组显著升高($P<0.01$),而 TAOC 及 SOD 活性显著下降($P<0.01$);FNS + AMI 组 MDA 含量与 AMI 组比较显著降低($P<0.01$),TAOC、SOD 活性与 AMI 组比较显著升高($P<0.01$);FNL + AMI 组以上指标与 AMI 组比较无显著性差异($P>0.05$)。

3 讨 论

氧化损伤即氧自由基(OFR)损伤。近年来发现,心肌梗死后除有血流动力学异常和神经内分泌过度激活外,还有心肌损伤后的继续损伤——氧化损伤[8]。在急性心肌梗死,由于炎性细胞因子的作用,儿茶酚胺自身氧化等导致 OFR 增多,OFR 增多又反过来加重心肌损伤,二者间形成恶性循环。因此,早期给以抗氧化干预治疗可以防止疾病的发展。

心肌梗死面积对心肌梗死病情发展和预后有非常重要的影响。CK 和 LDH 是反映心肌损伤的特异性酶,与心肌梗死面积大小呈正相关[9]。本实验结果显示,FNS 可使心肌梗死大鼠血清 LDH、CK 活性降低,心肌梗死面积显著缩小;而毁损小脑顶核后再预电刺激小脑顶核部位,上述血清酶学及心肌梗死面积与单纯心肌梗死大鼠相比均无统计学差异($P>0.05$),提示 FNS 对心脏具有保护作用。

MDA 是脂质过氧化产物,其在组织中的含量高低,反映了组织氧化损伤的程度;而 TAOC 和 SOD 反映机体抗氧化防御系统的能力。FNS 可使心肌梗死大鼠心肌 MDA 含量显著降低,TAOC 及 SOD 活性显著升高;而毁损小脑顶核后再电刺激该部位,与单纯心肌梗死大鼠相比,上述指标无统计学差异($P>0.05$),表明 FNS 对心脏的保护作用可能与其抗氧化损伤作用有关。

许多研究证实,FNS 对缺血性损害及其它多种性质的损害均具有神经保护作用[10];并认为小脑顶核存在一群自主神经元,这些自主神经元的兴奋可对心、脑等重要器官产生明显的缺血性保护,使缺血损伤减轻或不出现,使缺血损伤的范围明显缩小。这种作用的实现是通过一系列神经环路的作用达到的,故称为神经源性神经保护作用;并且这种保护作用可以被"预置",即刺激小脑顶核后 3 周内,这种保护作用都会存在[10]。预先 FNS 1h,可使随后 10d 内由永久性大脑中动脉闭塞所致的大鼠脑梗死体积显著缩小;FNS 后 1～3d,梗死体积缩小可达 58%;刺激后第 7 天,梗死体积仍可缩小 26%[3]。有学者分析,之所以产生 FNS 的预置性脑保护作用,是因为预刺激可使脑组织代谢预先获得某种储备,或是对损伤耐受有利的物质合成增多,或对损伤发生有害的物质合成下降,从而在伤害性刺激真正到来时,能有效地发挥自身保护[2]。在本研究中,我们也证实预先 FNS,可使大鼠的抗氧化防御能力增加,如 SOD、TAOC 显著升高,并使随后发生的心肌梗死面积明显减少;若提前毁损小脑顶核再刺激该部位,则失去上述积极作用,提示 FNS 具有抗氧化损伤的心脏保护作用。FNS 对缺血心肌的抗氧化损伤机制可能如下:(1)FNS 抑制血管收缩活性物质如儿茶酚胺的释放[11],可使儿茶酚胺自身氧化生成氧自由基减少;(2)FNS 抑制花生四烯酸代谢的限速酶—诱生型环氧化酶,进而抑制氧自由基产生[12];(3)核转录调控因子 NF－κB 与 OFR 可相互激活,二者间存在正反馈效应。FNS 可抑制缺血组织 NF－κB 的表达,OFR 相应减少[2]。

我国学者在应用 FNS 治疗大鼠局灶性脑梗死的实验中,使用同心圆电极从小脑顶核引导的电信号显示,体外电刺激可达小脑顶核局部,提示体外刺激也可能在实验或临床中产生效果[13]。目前,通过粘贴于两耳侧乳突的随弃式电极贴片,采用仿生物电,模拟实验性小脑顶核电刺激而研制的小脑电刺激仪,已用于许多疾病的临床治疗,如脑梗死、脑外伤、偏头痛、抑郁症、眼底动脉缺血或缺血性眼病、脑卒中患者心脏自主功能失调等,均取得预期疗效,并证明 FNS 是一种无创、安全的非药物治疗与预防手

维普资讯 http://www.cqvip.com

段[3]。宋建良等[14]研究了 FNS 对脑梗死患者的疗效及对 OFR 的影响,结果表明 FNS 可升高 SOD 活性及 TAOC,降低 MDA 含量,证实 FNS 能有效降低 OFR 对脑的损害。可以预见,FNS 在心血管疾病领域的开拓性研究,也将为心肌梗死等心肌损伤疾病的防治提供新的途径。

参 考 文 献

[1] 朱景宁,张月萍,王建军.小脑参与内脏活动调节的研究进展[J].中国神经科学杂志,2003;19(4):268-272.

[2] 董为伟,主编.神经保护的基础与临床[M].北京:科学出版社,2002;197-203.

[3] 董为伟.电刺激小脑顶核与中枢神经源性神经保护[J].中国工程科学,2001;3(11):32-38.

[4] 刘元生,陈运贞.慢性心肌梗死大鼠实验模型[J].重庆医科大学学报,2002;27(2):153-155.

[5] Reis DJ, Kobylarz K, Yamamoto S, et al. Brief electrical stimulation of cerebellar fastigial nucleus conditions long-lasting salvage from focal cerebral ischemia: conditioned central neurogenic neuroprotection[J]. Brain Res, 1998; 780(1): 161-165.

[6] Paxinos G, Watson C. The Rat brain in Stereotaxic Cooradinates[M]. Fourth Edition, San Diago: Academic Press, 1998; Fig66.

[7] Glickstein SB, Ilch CP, Reis DJ, et al. Stimulation of the subthalamic vasodilator area and fastigial nucleus independently protects the brain against focal ischemia[J]. Brain Res, 2001; 912(1): 47-49.

[8] Shintaro K, Hiroyuki T, Shunji H, et al. Treatment with dimethythiourea prevent left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction in mice: role of oxidative stress[J]. Circ Res, 2000; 87(5): 392-398.

[9] Mc Cord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury[J]. New Eng J Med, 1985; 312(3): 159-165.

[10] Golanov EV, Zhou P. Neurogenic neuroprotection[J]. Cellular and Molecular Neurobiology, 2003; 23(4/5): 651-663.

[11] Arneric SP, Iadecola C, Underwood MD. Local cholinergic mechanisms participate in the increase in cortical cerebral blood flow elicited by electrical stimulation of the fastigal nuleus in rat[J]. Brain Res, 1987; 411(2): 212-225.

[12] 石正洪,杨永清,董为伟,等.电刺激小脑顶核对脑缺血再灌注氧化损伤作用的实验研究[J].兰州大学学报(自然科学版),2003;39(1):74-76.

[13] 夏一鲁,罗 勇,董为伟,等.电刺激小脑顶核对脑卒中大鼠的治疗作用与机制[J].中风与神经疾病杂志,1999;16(1):3-5.

[14] 宋建良,诸国嘉,孙新芳,等.电刺激小脑顶核对脑血管病的疗效及对自由基的影响[J].中华物理医学与健康杂志,2002;24(8):472-474.

(上接第 298 页)被 Bcl-2 所抑制[4]。故 Bcl-2 家族与 Caspase 不同类型之间的作用,在凋亡发生的机制中也是相当重要。而姜黄素对两家族的作用哪一个占主要地位,其作用的具体机制,还需进一步的观察研究。

参 考 文 献

[1] Inano H, Onada M, Inafuku N, et al. Potent preventive action of curcumin on radiation-induced initation of mammary tumorigenesis in rats[J]. Carcinogenesis, 2000; 21: 1835-1841.

[2] Jiang MC, Yang Yen HF, Yen JJ, et al. Curcumin induced apoptosis in immortalized NIH3T3 and maligant cancer cell lines[J]. Nutr Cancer, 1996; 26: 111-120.

[3] Lin JK, Jin-shian SY. Mechanisms of cancer chemoprevention by curcumin[J]. Proc Natl Sci Counc ROC(B), 2001; 25: 59-66.

[4] Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiers of cell survival[J]. Science, 1998; 281: 1322-1326.