心血管疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001011

硫酸锌联合阿司匹林对大鼠急性心肌梗死的保护作用及机制研究

付海荣
（重庆三峡医药高等专科学校，重庆 404120）

【摘 要】**目的**：探讨硫酸锌联合阿司匹林治疗对大鼠急性心肌梗死的疗效及其机制。**方法**：选取 100 只 200 g 左右的雌性 SD 大鼠，随机分为 5 组，每组 20 只。假手术组不结扎并按常规饮食喂养，其余 4 组结扎并在常规饮食的基础上分别给以无菌蒸馏水（对照组）、硫酸锌、阿司匹林、硫酸锌联合阿司匹林，连续给药 7 d 后，使用超声心动图及侵入性导管检测心功能及血流动力学指标，并对大鼠血液中的肌钙蛋白 T 进行检测，然后取出心脏切片进行 HE 和 Masson 染色检验，检测各组心脏组织中的转化生长因子-β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）、环氧合酶-2（cyclooxygenase-2，COX-2）、超氧化物歧化酶 1（superoxide dismutase-1，SOD-1）和谷胱甘肽过氧化物酶-4（glutathione peroxidase-4，GPX-4）的 mRNA 和蛋白质的表达情况。**结果**：给以阿司匹林和硫酸锌联合阿司匹林均能改善心肌梗死情况，保护受损心肌；与单独使用阿司匹林比较，硫酸锌联合阿司匹林更能显著提高收缩压[(119 ± 11) mmHg vs. (103 ± 7) mmHg，P=0.037]、舒张压[(98 ± 4) mmHg vs. (83 ± 6) mmHg，P=0.041]、平均动脉压[(103 ± 6) mmHg vs. (89 ± 5) mmHg，P=0.029] 及 Emax[(5.27 ± 0.33) mmHg/μL vs. (4.13 ± 0.29) mmHg/μL，P=0.027]；降低炎性侵润、心肌梗死面积、心率[(328 ± 11) beats/min vs. (364 ± 19) beats/min，P=0.016]、全身血管阻力[(6.70 ± 0.39) mmHg × min/μL vs. (8.73 ± 0.59) mmHg × min/μL，P=0.039]及心肌梗死标志物肌钙蛋白 T 的水平[(583 ± 51) pg/mL vs. (819 ± 57) pg/mL，P=0.017]；同时也更能降低促炎细胞因子 TGF-β1 和 COX-2 的 mRNA[(0.65 ± 0.18) vs. (1.48 ± 0.12)，P=0.014；(0.70 ± 0.12) vs. (1.21 ± 0.08)，P=0.031]及蛋白[(2.42 ± 0.19) vs. (3.61 ± 0.27)，P=0.032；(1.76 ± 0.32) vs. (5.20 ± 0.59)，P=0.018)]表达水平，增加抗氧化酶 SOD-1 和 GPX-4 的 mRNA[(2.14 ± 0.11) vs. (1.58 ± 0.12)，P=0.021；(2.69 ± 0.17) vs. (1.87 ± 0.07)，P=0.018]及蛋白[(5.40 ± 0.62) vs. (2.40 ± 0.33)，P=0.036；(4.26 ± 0.47) vs. (2.72 ± 0.51)，P=0.023]表达水平。**结论**：硫酸锌联合阿司匹林可有效保护急性心肌梗死对心肌的损伤，其主要的作用机制可能是通过抑制促炎细胞因子 TGF-β1 和 COX-2，激活抗氧化酶类 SOD-1 和 GPX-4 的水平，实现抗炎抗氧化的作用，从而达到对急性心肌梗死的保护效果。

【关键词】心肌梗死；硫酸锌；阿司匹林
【中图分类号】R318.11 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-12-18

Protection and mechanism of zinc sulfate combined with aspirin for acute myocardial infarction

Fu Hairong
(*Chongqing Three Gorges Medical College*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the protection and mechanism of zinc sulfate combined with aspirin for acute myocardial infarction treatment. ***Methods***: Totally 100 female SD rats were selected and randomly divided into five groups, 20 rats in each group. The acute myocardial infarction model was established through ligation of the left anterior descending artery (LAD) in all groups except sham group. Different groups were given different agents, namely sterile distilled water, zinc sulfate, aspirin and zinc sulfate combination with aspirin. After 7 days, cardiac function indexes were detected through invasive cather and echocardiogram, and the blood troponin T also was detected. Then all heart tissues were harvested for HE and Masson staining. mRNA and protein expression levels of transforming growth factor-β1 (TGF-β1), cyclooxygenase-2 (COX-2), superoxide dismutase-1 (SOD-1) and glutathione peroxidase-4 (GPX-4) were also detected. ***Results***: Both aspirin and zinc sulfate combined with aspirin could improve cardiac function. Compared with aspirin alone, zinc sulfate combined with aspirin can significantly increase systolic pressure[(119 ± 11) mmHg vs. (103 ± 7) mmHg, P=0.037], diastolic pressure [(98 ± 4) mmHg vs. (83 ± 6) mmHg, P=0.041], average arterial blood pressure[(103 ± 6) mmHg vs. (89 ± 5) mmHg, P=0.029] and Emax[(5.27±0.33) mmHg/μL vs. (4.13 ± 0.29) mmHg/μL, P=0.027]; decrease inflammatory infiltration and infract size, heart rate[(328 ± 11) beats/min vs.

作者介绍：付海荣，Email：FuHR_1979@163.com，
研究方向：心血管生理学。

基金项目：重庆市教委 2015 科学技术研究资助项目（编号：Kj1502605）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20160706.1628.006.html (2016-07-06)

(364 ± 19) beats/min, P=0.016], systemic vascular resistance[(6.70 ± 0.39) mmHg×min/μL vs. (8.73 ± 0.59) mmHg×min/μL, P=0.039], levels of troponin T[(583 ± 51) pg/mL vs. (819 ± 57) pg/mL, P=0.017], moreover, levels of mRNA[(0.65 ± 0.18) vs. (1.48 ± 0.12), P=0.014; (0.70 ± 0.12) vs. (1.21 ± 0.08), P=0.031] and protein[(2.42 ± 0.19) vs. (3.61 ± 0.27), P=0.032; (1.76 ± 0.32) vs. (5.20 ± 0.59), P=0.018)] of pro-inflammatory cytokine TGF-β1 and COX-2; increase the levels of mRNA[(2.14 ± 0.11) vs. (1.58 ± 0.12), P=0.021; (2.69 ± 0.17) vs. (1.87 ± 0.07), P=0.018] and protein[(5.40 ± 0.62) vs. (2.40 ± 0.33), P=0.036; (4.26 ± 0.47) vs. (2.72 ± 0.51), P=0.023] of antioxidant enzyme SOD-1 and GPX-4. ***Conclusion***: Zinc sulfate combined with aspirin can effectively protect acute myocardial infarction, and the main mechanism is probably through inhibiting pro-inflammatory cytokine TGF-β1 and COX-2, enhancing antioxidant enzymes SOD-1 and GPX-4 to protect acute myocardial infarction.

【Key words】myocardial infarction; zinc sulfate; aspirin

心肌缺血是由冠脉氧供给和心肌能量代谢需求之间的不平衡引起的。研究表明，心肌缺血后会出现中性粒细胞的聚集及氧化应激反应，从而导致自由基离子的聚集，引起心肌细胞致命性的损伤[1]。目前治疗的主要目标即为抑制自由基离子的产生，抗炎及增加内源性抗氧化酶的活性，降低缺血性损伤。阿司匹林是传统的非甾体抗炎药，已被广泛用作解热止痛、抗血栓及抗炎药物，同时在预防和治疗心肌缺血中也具有显著效果，然而，它的致溃疡性限制了其广泛应用。锌离子在抗溃疡、抗炎及抗氧化方面具有显著效果。已有研究表明，在结扎左前降支建立心肌损伤的模型中，锌离子具有很好的保护作用，可显著提高心肌梗死修复的效果[2-4]。将硫酸锌与阿司匹林联合使用，其含量按 2:1 的比例配制时，具备两种药物共同的特性。因此，本文将探讨硫酸锌联合阿司匹林在结扎左前降支诱导的大鼠心肌梗死模型中对心肌的保护作用。

1 材料与方法

1.1 动物模型及给药

选取 100 只 200 g 左右的 SD 雌性大鼠作为研究模型，所有大鼠被随机分为 5 组，每组 20 只，用 1%的戊巴比妥按 0.3 ml/100 g 的比例进行腹腔注射麻醉，接入空气呼吸机，呼吸频率为 40 次/min，潮气量为 20 ml，呼吸比为 2:1，经胸左前侧第三肋切口进入胸腔，寻找左心耳，使用 6-0 的带线缝合针距左心耳下缘约 5 mm 处，连着少量心肌组织一起结扎，通过每次结扎的位置保持一致来保证每次梗死面积一样，结扎后 10 min 左右即可看见左心变白，则证明模型建立成功，然后逐层关胸，假手术组则不结扎。结扎 4 h 后，待大鼠已苏醒，使用灌胃针对大鼠进行给药。假手术组和其余各组均给以常规饮食喂养。对照组：给以无菌蒸馏水，每次 0.5 ml；硫酸锌组：硫酸锌，75 mg/(kg·d)；阿司匹林组：阿司匹林，75 mg/(kg·d)；阿司匹林联合硫酸锌组：硫酸锌和阿司匹林按 2:1 进行配制，总剂量为 120 mg/(kg·d)。所有药物均每隔 6 h 给一次药，连续给药 6 d。所有动物在第 7 天停止给药，均给以无菌蒸馏水，在第 8 天即对所有动物进行各种检测并处死取材。硫酸锌（国药准字 H33020363，宁波大红鹰药业股份有限公司）、阿司匹林（国药准字 H14020442，太原市卫星制药有限公司）及硫酸锌联合阿司匹林均用生理盐水溶解。

1.2 超声心动图

在给药第 7 天后，对每组中所有存活的大鼠使用 1%的戊巴比妥进行麻醉，行仰卧位，稍偏左，对左侧心前区进行检查。将左心室的室壁划分成 16 个节段区，探测到胸骨旁的左心室的短轴面，待二维超声图像较满意时，启动 AME 模式进行探测，分别对各节段室壁运动博幅、左心室舒张末期内径进行测量，同时计算出左心室射血分数。

1.3 血液动力学测定

在给药第 7 天后，使用 BL-420F 生物信号采集与分析系统进行记录。使用 1%的戊巴比妥进行麻醉，行仰卧位，分离出大鼠右颈总动脉，插入导管，稳定 5 min，记录下心脏速率（heart rate，HR），升主动脉收缩压（aorta systolic pressure，ASP），然后继续将导管推到左心室，记录左心室的收缩压（left ventricular systolic pressure，LVSP），舒张末期压（left ventricular end diastolic pressure，LVEDP），并计算出动脉的收缩压，舒张压，平均动脉压，每搏输出量和全身血管阻力。

1.4 形态学检查

将大鼠的心脏取出后，放置于 4%的多聚甲醛中固定 48 h，然后放入 30%的蔗糖（用多聚甲醛配制）溶液中固定 48 h，进行石蜡切片，厚度为 10 μm，进行 HE 和 Masson 染色。HE 染色和 Masson 染色均需将切片脱蜡，步骤如下：2 次二甲苯去蜡 10 min，依次在浓度为 100%、95%、90%、80%及 70%的乙醇中脱水 5 min，去离子水洗 3 次，每次 3 min。HE 染色步骤[5]：①使用苏木紫液染 5 min，去离子水洗；②1%盐酸酒精分化 3 min，去离子水冲洗至胞核变蓝；③伊红染色 1 min，依次经浓度为 95%和 100%的乙醇各 2 次，每次 2 min；④苯酚/二甲苯（1/3）5 min，二甲苯 2 次，每次 4 min；⑤中性树胶封片。Masson 染色步骤[6]：①铁苏木精 5 min，去离子水洗；②1%盐酸酒精分化 1 min，去离子水洗；③丽春红酸性品红 5 min，去离子水洗；④磷钼酸溶液分化 5 min；⑤苯胺蓝 5 min；⑥磷钼酸溶液分化 1 min，1%冰醋酸 1 min；⑦95%、100%酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。

1.5 生化检测

待心肌梗死模型建立成功后 4 h，采取假手术及梗死大鼠的血液作为假手术组及对照组，待给药 4 次，即 24 h 后，

再次采集各组大鼠的血液，所有血液均用含肝素的抗凝管装置。将采血管垂直放置，自然沉淀 2 h，然后使用 3 000 转的离心机离心 10 min，将血浆吸取至样品管中，并放置 4 ℃冰箱中。将采取的血浆使用全自动生化分析仪对心脏肌钙蛋白 T 进行检测。

1.6 qRT-PCR

分离心尖部分进行基因检测，使用 trizol 进行总 RNA 提取，使用天根的试剂盒，抽取 600 ng RNA，按 20 μL 的体系进行 qRT-PCR 检测。使用美国 ABI 7500 型实时荧光定量 PCR 系统检测 SYBR GREEN 反应信号，出现扩增曲线后再加入溶解曲线从而确认扩增产物具有特异性，采用 SDS 相对定量分析软件对 Ct 值进行检测，软件全部采用默认参数。以 GAPDH 作为参考基因，如对照组中 SOD-1 的 Ct(对照)=Ct(SOD-1)/Ct(GAPDH)，最终各组相关基因的 Ct 值以与对照组的倍数作为参考，如硫酸锌组中 SOD-1 的 Ct=Ct(硫酸锌)/Ct(对照)。引物序列如下：内参 GAPDH(F:5'-CTACCCA-CGGCAAGTTCAAT-3'，R:5'-ATTTGATGTTAGCGGGATCG-3')，SOD-1(F:5'-GGTCCAGCGGATGAAGAG-3'，R:5'-GG-ACACATTGGCCACACC-3')，TGF-β1(F:5'-TCAGACATTC-GGGAAGCAGT-3'，R:5'-ACGCCAGGAATTGTTGCTAT-3')，GPX-4(F:5'-TGGGAAATGCCATCAAATG-3'，R:5'-CGGC-AGGTCCTTCTCTATCA-3')，COX-2(F:5'-GACGAGCGAC-TGTTCCAAAC-3'，R:5'-GGAACTGCTGGTTGAAAAGC-3')。

1.7 Westren blot

按照文献所述的方法[2]，将大鼠的心尖进行组织蛋白提取，并用 BCA(碧云天，北京，货号：P0012S)法对蛋白浓度进行测定，配制 12%的 SDS-PAGE 凝胶(碧云天，北京，货号：P0012AC)进行电泳，待相应的分子拉开后，停止电泳，使用半干转法将蛋白转到 PVDF 膜(碧云天，北京，货号：FFP24)上，使用脱脂奶粉室(博士德，武汉，货号：AR0104)温封闭 2 h，然后依次一抗 4 ℃过夜，PBST 洗膜 3 次，二抗 37 ℃ 1 h，PBST 洗膜 3 次，使用 ECL(碧云天，北京，货号：P0018A)化学发光显影。所有的抗体均购买于 Santa Cruz(各抗体的货号如下，GAPDH：sc-365062，SOD-1：sc-101523，TGF-β1：sc-146，GPX-4：sc-50497，Cox-2：sc-7951)。

1.8 统计分析

所有数据采用 SPSS 17.0 进行统计分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，各组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK-q 法，检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 模型成功率及死亡率

所有大鼠在进行前降支结扎后，需先观察 10 min 左右，查看大鼠心尖部位是否因缺血而变白，若变白则说明模型建立成功，入选实验组；若未变白，则排除。因此，所有纳入实验组的大鼠模型成功率为 100%。大鼠在给药后，不同的给药对大鼠的死亡率影响不同，其中硫酸锌联合阿司匹林保护大鼠存活的效果最佳。其中假手术组所有 20 只大鼠全部存活，对照组存活 9 只，硫酸锌组存活 10 只，阿司匹林组存活 16 只，硫酸锌联合阿司匹林组存活 18 只，具体统计结果如图 1 所示。

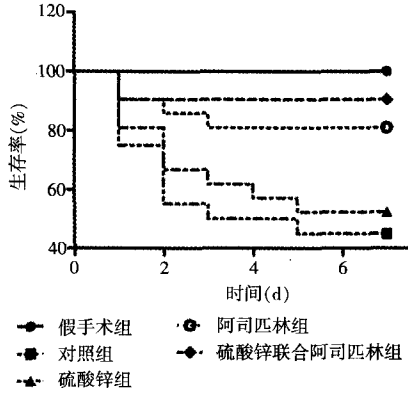


图 1 大鼠生存图

Fig.1 Survival of SD rat

2.2 血流动力学

采用结扎左前降支建立心梗模型后，对照组较假手术组的心率明显上升，而收缩压、舒张压及平均动脉压均明显降低；单独使用阿司匹林后只有收缩压较对照组有明显上升，而其余指标则无统计学差异；使用硫酸锌联合阿司匹林后，与对照组比较，心率显著下降，其余各项指标均明显上升，更加接近假手术组情况，具体结果见表 1。

表 1 血流动力学（$\bar{x} \pm s$）

Tab.1 Hemodynamics（$\bar{x} \pm s$）

组别	心率 (beats/min)	收缩压 (mmHg)	舒张压 (mmHg)	平均动脉压 (mmHg)
假手术组(20)	311 ± 13	122 ± 14	97 ± 11	108 ± 13
对照组(9)	397 ± 15[a]	94 ± 7[b]	76 ± 8[c]	83 ± 6[d]
硫酸锌组(10)	381 ± 18	96 ± 6	79 ± 5	85 ± 7
阿司匹林组(16)	364 ± 19	103 ± 7[e]	83 ± 6	89 ± 5
硫酸锌联合阿司匹林组(18)	328 ± 11[fk]	119 ± 11[gl]	98 ± 4[hm]	103 ± 6[in]
F 值	67.449	153.724	95.036	226.351
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注：a、b、c、d，与假手术组比较，P=0.007、P=0.029、P=0.031、P=0.041；e：与对照组比较，P=0.036；f、g、h、i：与对照组比较，P=0.002、P=0.032、P=0.005、P=0.028；k、l、m、n：与阿司匹林组比较，P=0.016、P=0.037、P=0.041、P=0.029

2.3 组织学及超声

经 HE 染色后，阿司匹林和硫酸锌联合阿司匹林组中的炎性浸润明显少于对照组，同时硫酸锌联合阿司匹林较单独使用阿司匹林更能明显降低炎性浸润。经 Masson 染色后可知，阿司匹林组和硫酸锌联合阿司匹林组的梗死面积显著小于对照组，并且硫酸锌联合阿司匹林的面积较单独使用阿司匹林更小。经 M 超检测后可知，阿司匹林组和硫酸锌联合阿司匹林组的血流情况显著改善，且硫酸锌联合阿司匹林组的效果更佳，结果如图 2 所示。

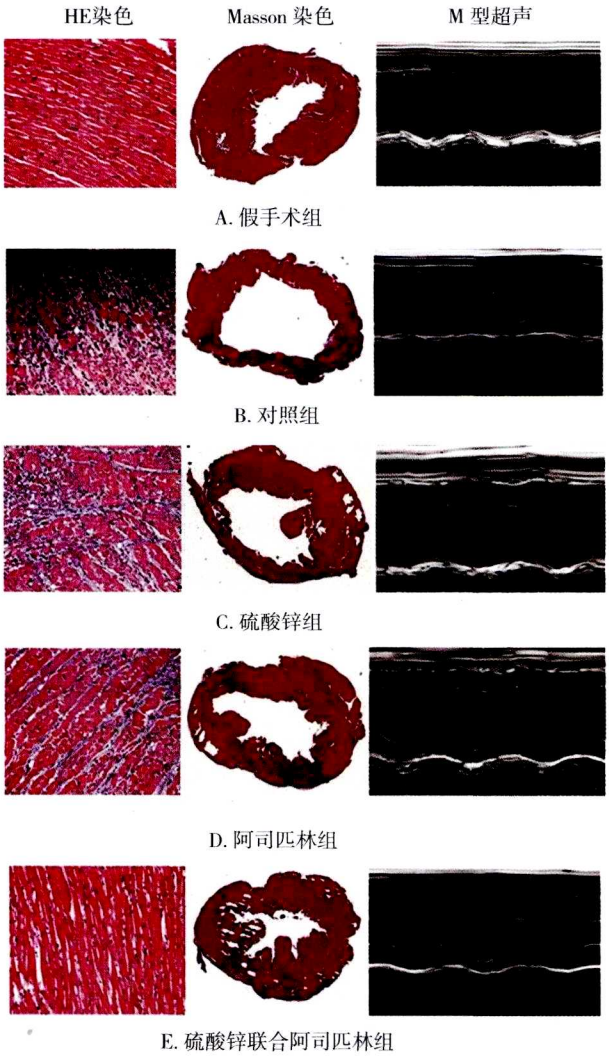


图 2 形态学及超声结果

Fig.2 Morphology and ultrasound

2.4 心脏泵血功能

心肌梗死后，每搏输出量（F=63.238，P=0.000）及左室收缩末期压力-容积关系线的斜率（E_{max}）（F=147.352，P=0.000）较假手术组明显下降（P=0.015，P=0.011），全身血管阻力（F=54.339，P=0.000）则明显上升（P=0.029）；假手术组（20）、对照组（9）、硫酸锌组（10）、阿司匹林组（16）及硫酸锌联合阿司匹林组（18）的每搏输出量分别为（42.67 ± 2.86、21.33 ± 3.56、22.67 ± 2.68、39.00 ± 2.83、40.67 ± 2.94）μL，全身血管阻力分别为（5.20 ± 0.67、10.53 ± 0.43、10.53 ± 0.67、8.73 ± 0.59、6.70 ± 0.39）mmHg × min/μL，E_{max} 分别为（5.93 ± 0.40、3.13 ± 0.25、3.13 ± 0.45、4.13 ± 0.29、5.27 ± 0.33）mmHg/μL。与对照组比较，经阿司匹林和硫酸锌联合阿司匹林治疗后每搏输出量及 E_{max} 明显上升（P=0.021，P=0.023；P=0.014，P=0.012），全身血管阻力明显下降（P=0.035，P=0.021）；与单独使用阿司匹林比较，硫酸锌联合阿司匹林更能明显降低全身血管阻力（P=0.039）同时升高 E_{max}（P=0.027）（图 3）。

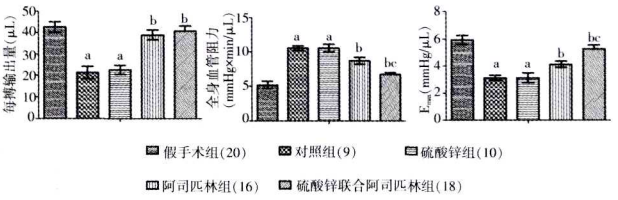
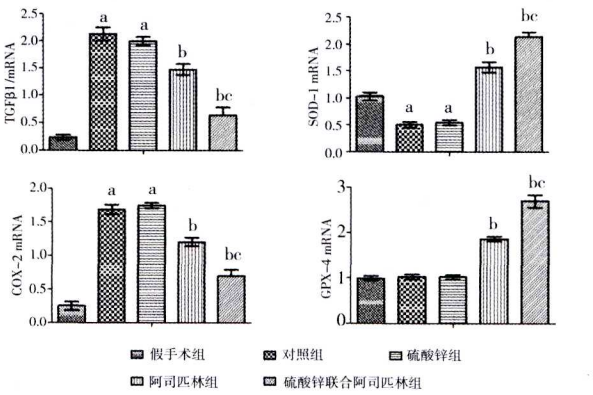


图 3 心脏泵血功能

Fig.3 Heart function

2.5 肌钙蛋白 T

在每组中随机选取 5 只大鼠抽取血液进行肌钙蛋白 T 检测，假手术组（246 ± 27）pg/mL、对照组（4 124 ± 965）pg/mL、硫酸锌组（4 091 ± 875）pg/mL、阿司匹林组（819 ± 57）pg/mL、硫酸锌联合阿司匹林组（583 ± 51）pg/mL。各组差异有统计学意义（F=164.349，P=0.000），结果显示心肌梗死后对照组的肌钙蛋白 T 明显高于假手术组（P=0.000），经阿司匹林和硫酸锌联合阿司匹林治疗后，肌钙蛋白 T 与对照组（P=0.001、P=0.000）及硫酸锌组（P=0.001、P=0.000）比较明显下降；与单独使用阿司匹林比较，硫酸锌联合阿司匹林更能明显降低肌钙蛋白 T 的水平（P=0.017）。见图 4。



注：a，与假手术组比较，P<0.05；b：与对照组比较，P<0.05；c：与阿司匹林组比较，P<0.05

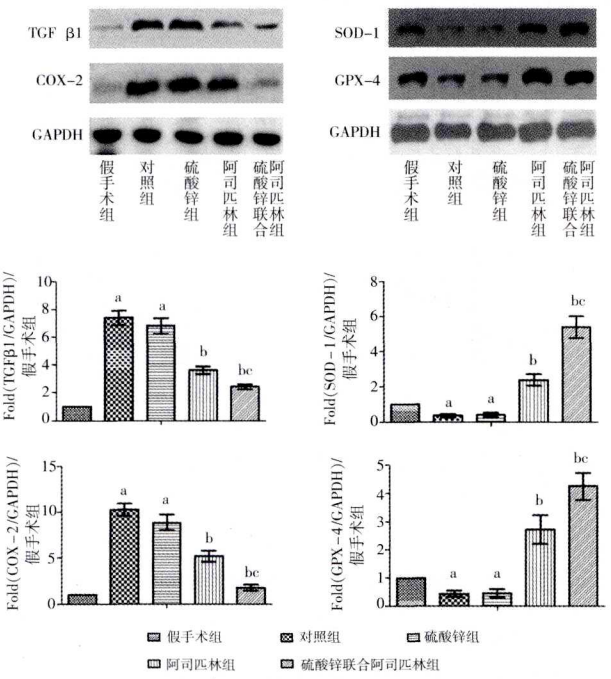
图 4 mRNA 表达水平

Fig.4 mRNA expression level

2.6 基因及蛋白表达情况

每组随机选取 3 只大鼠的心脏组织进行 RNA 提取和 3 只大鼠的心脏组织进行蛋白提取进行 qRT-PCR 和 Western blot 实验。检测出假手术组、对照组、硫酸锌组、阿司匹林组及硫酸锌联合阿司匹林组中的相关 mRNA 相对表达水平，其中 TGF-β1（F=192.337，P=0.000）分别为（0.23 ± 0.06、2.13 ± 0.15、2.0 ± 0.1、1.48 ± 0.12、0.65 ± 0.18），COX-2（F=87.694，P=0.000）分别为（0.25 ± 0.08、1.69 ± 0.86、1.75 ± 0.05、1.21 ± 0.08、0.70 ± 0.12），SOD-1（F=59.572，P=0.000）分别为（1.02 ± 0.09、0.51 ± 0.07、0.55 ± 0.06、1.58 ± 0.12、2.14 ± 0.11），GPX-4（F=146.932，P=0.000）分别为（0.99 ± 0.06、1.02 ± 0.07、

1.02 ± 0.05、1.87 ± 0.07、2.69 ± 0.17），同时检测并计算出相关蛋白相对于假手术组的表达水平，其中 TGF-β1（F=53.907，P=0.000）分别为（7.40 ± 0.51、6.80 ± 0.59、3.61 ± 0.27、2.42 ± 0.19），COX-2（F=166.384，P=0.000）分别为（10.30 ± 0.69、8.90 ± 0.88、5.20 ± 0.59、1.76 ± 0.32），SOD-1（F=184.229，P=0.000）分别为（0.38 ± 0.09、0.42 ± 0.12、2.40 ± 0.33、5.40 ± 0.62），GPX-4（F=85.446，P=0.000）分别为（0.44 ± 0.11、0.46 ± 0.14、2.72 ± 0.51、4.26 ± 0.47）（图 5）。心肌梗死模型中，阿司匹林和硫酸锌联合阿司匹林治疗后，与对照组比较，促炎细胞因子 TGF-β1 和 COX-2 的 mRNA（P=0.021，P=0.013；P=0.014，P=0.009）及蛋白（P=0.025，P=0.016；P=0.017，P=0.009）表达水平明显降低，抗氧化酶 SOD-1 和 GPX-4 的 mRNA（P=0.025，P=0.016；P=0.024，P=0.015）及蛋白（P=0.037，P=0.011；P=0.033，P=0.017）表达水平明显提高；与单独使用阿司匹林比较，硫酸锌联合阿司匹林更能明显降低 TGF-β1 和 COX-2 的mRNA（P=0.014，P=0.031）及蛋白表达水平（P=0.032，P=0.018），升高 SOD-1 和 GPX-4 的 mRNA（P=0.021，P=0.018）及蛋白表达水平（P=0.036，P=0.023）。



注：a，与假手术组比较，P<0.05；b：与对照组比较，P<0.05；c：与阿司匹林组比较，P<0.05

图 5　蛋白表达水平

Fig.5　Protein expression level

3　讨　论

硫酸锌可增强吞噬细胞的吞噬及趋化能力，抑制 NF-κB 炎症信号通路，抑制炎性细胞因子[如肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）、白介素-1（interleukin-1，IL-1 等]的活化表达，从而抑制炎症反应；机体损伤时，硫酸锌可激活超氧化物歧化酶，降低氧自由基的水平，从而抑制氧化应激反应，稳定细胞膜，改善组织的呼吸及能量代谢能力，保护机体免受进一步损伤[3,7]。有研究报道，在糖尿病大鼠模型中，硫酸锌联合格列本脲可显著预防心血管疾病的发生率，给予硫酸锌后，大鼠心脏的 TNF-α 和氧化应激水平明显降低，同时心脏中血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）的表达水平显著上升，并改善心肌水肿情况[8]；在大鼠心肌梗死模型中，硫酸锌可降低心脏氧化应激损伤，降低 TNF-α，改善血脂氧化情况，同时促进血管生成[3]。另外，补充硫酸锌后，心肌细胞线粒体中大量的 Ca^{2+}会与 Zn^{2+}耦合形成二聚体，从而形成抗氧化防御系统[7]。

有研究报道[8-9]，在急性心肌梗死模型中，阿司匹林可有效抑制病灶区的扩大，改善心功能，同时还可有效预防室性快速心律失常和心室肌纤维震颤，本研究的结果与之前的研究结果一致，即阿司匹林对急性心肌梗死具有保护作用。本研究还发现，与单独使用阿司匹林比较，硫酸锌联合阿司匹林更能显著改善急性心肌梗死的血流动力学情况；降低炎性侵润，减少心肌梗死面积；提高心脏的泵血功能，增加 E_{max}，降低全身血管阻力；降低肌钙蛋白 T 的水平；降低 TGF-β1 和 COX-2 的水平，增加 SOD-1 和 GPX-4 的水平。有研究表明，硫酸锌具有抗炎抗氧化的作用[3,7]，提示硫酸锌联合阿司匹林在急性心肌梗死中之所以具有很好的保护效果，很可能是通过抑制梗死部位的炎症反应和抗氧化作用而实现对受损心肌的保护。

TGF-β1 作为一种具有多向调节功能的细胞因子，在急性心肌梗死中，TGF-β1 的激活可促进促炎性细胞因子及炎症趋化因子的表达，从而加重炎性反应，加重对梗死部位的损伤[10]，COX 作为前列腺素合成所必需的酶，也是前列腺素合成的关键限速酶，COX-2 是 COX 的一种同工酶，主要由机体损伤诱导产生，从而参与促炎症反应，在急性心肌梗死中，机体损伤会诱导大量 COX-2 产生，促进梗死部位的炎症反应，从而加重机体的损伤[11]。氧化应激反应（ROS）是指氧自由基（如超氧阴离子、H_2O_2 及羟自由基）的水平增高从而导致中性粒细胞炎性浸润，蛋白酶分泌增加，产生大量氧化中间产物，对机体

产生负面作用。心肌梗死发生时，梗死部位的ROS水平急剧上升，同时，心肌的抗氧自由基功能下降，从而加重了梗死部位的心肌损伤[3]。SOD-1 是生物体内重要的抗氧化酶，是生物体内清除氧自由基的首要物质，它可对抗与阻断氧自由基对细胞造成的损害，并及时修复受损细胞；GPX-4 是谷胱甘肽氧化还原酶（GPX）家族中的重要成员，以磷脂过氧化物作为催化底物，可消除细胞内的活性氧，从而降低氧自由基对机体的损害[3,8,12]。

本研究发现，与单独给予阿司匹林比较，硫酸锌联合阿司匹林更能显著抑制 TGF-β1 和 COX-2，同时更佳显著地促进 SOD-1 和 GPX-4 的表达，进而抑制梗死部位的炎症反应和氧化应激反应。虽然阿司匹林具有抗炎抗氧化的作用，但其同时对 PEG2 的表达具有抑制作用，并且还会导致 Src 激酶的异常活化，而 PEG2 不仅是 TGF-β1 和 COX-2 的上游抑制分子，而且还是 SOD-1 和 GPX-4 的上游激动分子[13]，Src 激酶的激活会通过 Raf 磷酸化激活 mTOR，而 mTOR 通过 SOD-1 和 GPX-4 的抑制作用从而促进 ROS 的激活[14]；硫酸锌进入体内后，在高浓度阿司匹林环境中，锌离子可被解离出来，并作为辅因子促进 PEG2 的表达。同时，由于锌离子的特殊结构，可与 Src 激酶形成共轭物从而抑制 Src 激酶的活性[15]。因此，硫酸锌联合阿司匹林的效果显著，其原因可能是在含有阿司匹林的环境中，锌离子得以解离，从而以辅因子和共轭物的形式分别促进和抑制 PEG2 及 Src 激酶的表达，进而抑制促炎因子 TGF-β1 和 COX-2 及促进抗氧化因子 SOD-1 和 GPX-4 的表达。

综上所述，与单独使用阿司匹林比较，硫酸锌联合阿司匹林对急性心肌梗死具有很好的保护作用，改善梗死后的心脏功能，其主要机制可能是通过抑制 TGF-β1 和 COX-2 表达，从而抑制梗死部位的炎症反应；同时促进 SOD-1 和 GPX-4 的表达，降低梗死部位的氧自由基水平，降低 ROS，实现抗氧化作用。在抗炎抗氧化的双重作用下，实现对急性心肌梗死的保护作用，降低梗死面积，改善心功能及血流情况。

参 考 文 献

[1] 陈 雯，刘 宁，张 颖，等. 硫化氢通过抑制炎性细胞因子及氧化应激保护大鼠骨骼肌缺血再灌注的心肌损伤[J]. 南方医科大学学报，2013，33(4)：554-558.

[2] Shih CJ，Chiou YL. Zinc sulfate inhibited inflammation of Der p2-induced airway smooth muscle cells by suppressing ERK1/2 and NF-κB phosphorylation[J]. Inflammation，2013，36 (3)：616 - 624.

[3] Al-Rasheed NM，Attia HA，Mohamed RA，et al. Preventive effects of selenium yeast，chromium picolinate，zinc sulfate and their combination on oxidative stress，inflammation，impaired angiogenesis and atherogenesis in myocardial infarction in rats[J]. J Pharm Pharm Sci，2013，16 (5)：848-867.

[4] Wilkinson EA. Oral zinc for arterial and venous leg ulcers[J]. Cochrane Database Syst Rev，2014，9(9)：CD001273.

[5] 张 敏. HE 染色在临床病理诊断中的应用[J]. 齐齐哈尔医学院学报，2011，32(4)：552-553.

[6] 沈 蕾，陈 莉，李 昊，等. 苦味酸-天狼猩红染色和 MASSON 染色评价心脏纤维化的比较[J]. 中国分子心脏病学杂志，2012，12(2)：118-121.

[7] Moretti D，Biebinger R，Bruins MJ，et al. Bioavailability of iron，zinc，folic acid，and vitamin A from fortified maize [J]. Ann N Y Acad Sci，2014，1312(4)：54-65.

[8] Kamalov G，Ahokas RA，Zhao W，et al. Uncoupling the coupled calcium and zinc dyshomeostasis in cardiac myocytes and mitochondria seen in aldosteronism[J]. J Cardiovasc Pharmacol，2010，55 (3)：248-254.

[9] Korkmaz S，Radovits T，Barnucz E et al. Pharmacological activation of soluble guanylate cyclase protects the heart against ischemic injury[J]. Circulation，2009，120(8)：677-686.

[10] Bujak M，Frangogiannis NG. The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling[J]. Cardiovasc Res，2007，74(2)：184-195.

[11] Davies NM，Smith GD，Windmeijer F，et al. COX-2?selective non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of gastrointestinal tract complications and myocardial infarction：an instrumental variable analysis [J]. Epidemiology，2013，24(3)：352-362.

[12] Rush JW，Green HJ，Maclean DA，et al. Oxidative stress and nitric oxide synthase in skeletal muscles of rats with post-infarction，*compensated chronic heart failure*[J]. *Acta Physiol Scand*，*2005*，*185*(3)：211-218.

[13] Dhanasekar C，Kalaiselvan S，Rasool M. Morin，a bioflavonoid suppresses monosodium urate crystal-induced inflammatory immune response in RAW 264.7 macrophages through the inhibition of inflammatory mediators，intracellular ROS levels and NF-κB activation [J]. *PLoS One*，*2015*，*10(12)*：*e0145093*.

[14] Martel-Gallegos G，Casas-Pruneda G，Ortega-Ortega F，et al. Oxidative stress induced by P2X7 receptor stimulation in murine macrophages is mediated by c-Src/Pyk2 and ERK1/2[J]. Biochim Biophys Acta，2013，1830(10)：4650-4659.

[15] Salehi B，Mohammadbeigi A，Sheykholeslam H，et al. Omega-3 and zinc supplementation as complementary therapies in children with attention-deficit/hyperactivity disorder[J]. J Res Pharm Pract，2016，5 (1)：22-26.

（责任编辑：张辉洁）