

·基础研究·

红芪复方联合运动预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用*

王 强¹ 施洪飞^{2,3}

摘要

目的:探讨红芪复方联合运动预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用。

方法:健康雄性SD大鼠50只,随机分为假手术对照组(sham)、心肌缺血再灌注模型对照组(IR)、红芪复方预处理模型组(HP)、运动预处理模型组(EP)和运动联合红芪复方预处理模型组(EHP)。结扎左冠状动脉前降支复制大鼠心肌缺血再灌注模型,用放免法检测血清内皮素(ET)、6-酮前列腺素F_{1α}(6-k-PGF_{1α})、血栓素B₂(TXB₂)、用酶联免疫法(ELISA)检测血清心肌钙蛋白I(cTn I)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)含量,用化学比色法检测心肌丙二醛(MDA)含量,用紫外分光光度法检测心肌超氧化物歧化酶(SOD)活性,用原子分光光度法检测心肌中钙离子(Ca²⁺)浓度。

结果:①与IR组相比,EP组、HP组和EHP组血清cTn I漏出明显减少,有显著性差异,与EHP组相比,EP组和HP组中血清cTn I值明显升高;②与IR组相比,EP组、HP组和EHP组心肌细胞胞浆中Ca²⁺浓度显著降低,与EHP组相比,EP组中心肌细胞胞浆中Ca²⁺浓度明显升高;③与IR组相比,EP组、HP组和EHP组血清ET明显降低,差异显著,HP组和EHP组血清TXB₂降低,有显著性差异,HP组和EHP组6-k-PGF_{1α}显著升高,有显著性差异;与EHP组相比,EP组ET、TXB₂显著上升,EP组6-k-PGF_{1α}明显降低;④与IR组相比,EP组、HP组和EHP组心肌中TNF-α和IL-6含量明显降低;与EHP组相比,HP组和EP组心肌中TNF-α和HP组IL-6含量显著上升;⑤与IR组相比,EP组、HP组和EHP组心肌中SOD活性升高,心肌中MDA下降,有显著差异;与EHP组相比,EP组心肌中SOD活性显著降低,心肌中MDA含量显著上升。

结论:红芪复方联合运动预处理可通过增强缺血再灌注心肌的抗氧化能力,减轻白细胞损伤,维持血管内皮功能稳定,改善微循环,降低钙超载,发挥对缺血再灌注心肌的保护效应。

关键词 心肌缺血再灌注;运动;红芪复方;预处理

中图分类号:R541.4, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2017)-04-0434-06

Effects of Hongqi formular combined with exercise preconditioning against myocardial ischemic reperfusion injury in rats/WANG Qiang, SHI Hongfei/Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2017, 32(4): 434—439

Abstract

Objective: To study the effects and mechanisms of Hongqi formular combined with exercise preconditioning against myocardial ischemic reperfusion injury in rats.

Method: Fifty health male SD rats were randomly divided into sham, IR, EP, HP and EHP group. After establishing of EP animal model, the rats were ligated ramus descendens coronary artery to induce myocardial ischemic reperfusion model. The serum cardiac troponin I (cTn I), myocardium IL-6, TNF-α were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The myocardium MDA was detected by chemical colorimetry meth-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.04.011

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81574044)

1 合肥师范学院体育科学学院,合肥,230601; 2 南京中医药大学第二临床医学院; 3 通讯作者

作者简介:王强,男,硕士,副教授; 收稿日期:2016-02-16

od. The myocardium SOD was detected by xanthine hydrocarbonylation. The serum ET, 6-k-PGF 1α , TXB $_2$ density were detected by radioimmunoassay, and the myocardium Ca $^{2+}$ density was detected by atom absorption spectrophotometry.

Result: ①As compared with the group IR, the serum cTn I decreased significantly in groups EP, HP and EHP; As compared with the group EHP, the cTn I level in serum was increased in groups EP and HP. ②As compared with the group IR, the Ca $^{2+}$ level in myocardial sarcoplasmic reticulum was decreased significantly in groups EP, HP and EHP; As compared with the group EHP, the Ca $^{2+}$ level in myocardial sarcoplasmic reticulum was decreased significantly in group EP. ③As compared with the group IR, the ET in serum were decreased significantly in groups EP, HP and EHP; As compared with the group EHP, the ET, TXB $_2$ in serum were increased significantly in groups EP and the 6-k-PGF 1α in serum were decreased significantly in groups EP. ④As compared with the group IR, the IL-6 and TNF- α in cardiac muscle were decreased in groups EP, HP and EHP; As compared with the group EHP, the IL-6 and TNF- α in cardiac muscle were increased in groups EP and HP. ⑤As compared with the group IR, the SOD in cardiac muscle was increased significantly in groups EP, HP and EHP and the MDA in cardiac muscle was decreased significantly in groups EP, HP and EHP; As compared with the group EHP, the SOD in cardiac muscle was decreased significantly in groups EP and the MDA in cardiac muscle was decreased significantly in group EP.

Conclusion: Hongqi formula combined with exercise preconditioning produces cardio-protective effect during myocardial ischemic reperfusion, which may be related with the enhanced anti-oxidant ability, the decreased blood cell damage, the maintenance of vascular endothelium function, the improved microcirculation and the decreased calcium overloading.

Author's address College of Sport Science, Hefei Normal University, Hefei, 230601

Key word myocardial ischemic reperfusion; exercise; hongqi formula; preconditioning

缺血性心脏病在治疗过程中常伴有如心律失常、心肌顿抑、梗死面积扩大、心功能低下的缺血再灌注损伤的现象。这也是临床体外循环下心脏手术和冠状动脉介入治疗常见的并发症。因而,寻求对抗心肌缺血再灌注损伤方法与手段,已成为缺血性心脏病和冠脉介入性治疗的一个重要课题。

缺血预适应是已知的最为强大的抗心肌缺血再灌注损伤的治疗手段。然而,由于存在创伤性和安全时限等方面的问题使其在临床应用上受限。因此,探索无创性、可控性强的预处理方法是该领域的重要研究方向。业已证实,大强度间歇性运动对心肌缺血再灌注损伤有保护效应,中医药中的益气活血法作为药物预处理手段也已被大量使用。然而,由于心肌缺血再灌注损伤机制复杂,涉及面广,单独使用某种方法效果有限。本课题组在前期研究中证实了运动预处理的抗心肌缺血再灌注的效果^[1],并依据中医药的益气活血法使用黄芪总皂苷与红花总黄酮配伍组方,验证了其对抗心肌缺血损伤的保护作用^[2-3]。鉴于此,本课题在大鼠心肌缺血再灌注损伤

模型基础上,运用间歇性运动与红芪复方联合预处理,研究二者联合使用对大鼠心肌缺血再灌注损伤的协同保护作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

红花黄色素从菊科植物红花的干燥花中提取,为橙黄色粉末,纯度为96.4%,提取方法:红花原药浸泡30min,70℃水溶液10倍、12倍量2次提取,提取20min/次,蒸干^[4]。黄芪总皂苷,从豆科植物膜荚黄芪的干燥根中提取,为淡黄色粉末,纯度超过65%,提取方法:膜荚黄芪原药,以95%乙醇加热回流提取3次,每次10倍量,提取1.5h/次,上大孔树脂柱,依次使用蒸馏水、40%、70%、98%乙醇洗脱、蒸干,再热回流提取3次,蒸干^[5]。

白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血栓素A $_2$ (thromboxane A $_2$, TXA $_2$)、内皮素(endothelin, ET)、6-酮前列腺素F $_{1\alpha}$ (6-keto-prostaglandin F $_{1\alpha}$, 6-k-

PGF_{1α})检验试剂盒(美国,武汉优尔生公司进口分装),心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin, cTn I)检验试剂盒(美国,武汉优尔生公司进口分装),超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)检验试剂盒(南京建成生物工程有限公司)。

1.2 仪器

高速低温离心机(TGL-16G-A,上海安亭),多道生理记录仪(BL-420S,成都泰盟),原子吸收分光光度计(AA-7000,日本岛津)、酶标仪(ELX-800,美国Bio-tek),紫外可见分光光度计(SHIMADZU,日本岛津)。

1.3 动物

选用体重为180—220g雄性健康SD大鼠60只(扬州大学实验动物中心)。大鼠常规分笼饲养,5只/笼,室温22—25℃,相对湿度为40%—60%,自然光照,均以标准啮齿类饲料喂养,自由饮食。

1.4 分组与给药

选取能在跑台上正常运动的大鼠50只,按照随机分组方法分为:假手术对照组(sham)、缺血再灌注模型对照组(IR)、运动预处理模型组(EP)、红芪复方预处理模型组(HP)、运动+红芪复方预处理模型组(EHP)。
①sham组:大鼠连续5天静置60min于跑台上,每天结束后给予10ml生理盐水灌胃,24h后麻醉再行手术,只穿线不结扎。
②IR组:大鼠连续5天静置60min于跑台上,每天结束后给予10ml生理盐水灌胃,24h后制备心肌缺血再灌注模型。
③EP组:连续进行5天间歇性跑台训练,每天运动结束后给予10ml生理盐水灌胃,24h后制备IR模型。
④HP组:方式与IR组相同,红芪复方(红花黄色素30mg/kg+黄芪皂苷180mg/kg)(加生理盐水溶解)灌胃。
⑤EHP组:方式与EP组相同,将生理盐水换成红芪复方(红花黄色素30mg/kg+黄芪皂苷180mg/kg)。

1.5 动物模型的制备

1.5.1 大鼠心肌缺血再灌注损伤模型的制备:大鼠以8%戊巴比妥钠(45mg/kg)腹腔注射麻醉,仰卧于手术台上,气管插管,动物呼吸机通气,描记肢体二导联心电图,于左侧第2—第4肋间开胸,将心脏挤出胸腔,于左心耳根部下方2mm处进针,深度约1—

1.5mm,穿过表层于肺动脉圆锥旁出针,迅速将心脏放入胸腔,轻挤胸腔排出气体,提拉已穿好的缝合线并打活结(sham组穿线不结扎),术后稳定15min,结扎缺血30min,松开活结再灌注60min,制备心肌缺血再灌注损伤模型。以结扎处远端心肌颜色变为灰白,ST段抬高1/2作为成功阻断冠状动脉的标志。

1.5.2 大鼠运动预处理模型的制备:参照王强等人研究^[9]建立的大鼠运动预处理动物模型。EP组和EHP组大鼠进行连续5天的大强度间歇性运动,运动速度为35m/min(相当于75%VO_{2max}),运动时间为60min,坡度为0°。每次运动中,先进行5min的适应性跑,速度从15m/min增至35m/min;运动15min,间歇5min,重复3次,最后5min速度从35m/min降至15m/min。

1.5.3 动物样本取材:实验手术开始立即记录心电图,再灌注60min即试验手术结束后经腹主动脉取血8ml,离心取上清,冻存备测,取血后剪开心脏,取左心室心肌组织,冻存备用。

1.6 指标测试与方法

1.6.1 血清cTn I、ET、TXA₂和6-k-PGF_{1α}的测定:采用酶联免疫吸附法测定血清cTn I。采用放免法测定血清ET、TXA₂和6-k-PGF_{1α}。以上指标均按试剂盒上说明要求测定。

1.6.2 心肌SOD、MDA、IL-6和TNF-α的测定:心肌组织在含有1μg/L蛋白酶抑制剂的磷酸缓冲盐溶液中匀浆,低温高速(40℃,12000r/min)离心15min,取上清冻存备用。心肌MDA、SOD及IL-6、TNF-α均按试剂盒方法测定,用二喹啉甲酸法对蛋白质进行定量测定。

1.6.3 心肌细胞内钙离子浓度测定:按试剂盒说明用原子吸收光谱法测量心肌组织细胞钙离子浓度。

1.7 统计学分析

所有数据均以均数±标准差表示,组间比较用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 血清心肌肌钙蛋白 I 浓度的变化

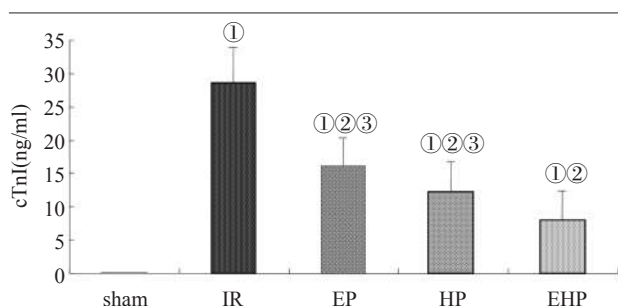
血清cTn I是衡量心肌缺血再灌注损伤金指标。与sham组相比,各组血清中cTn I均升高,有显著性差异($P<0.05$);与IR组相比,EP组、HP组和

EHP组血清cTn I显著减少,具有显著性意义($P < 0.05$);与EHP组相比,HP组和EP组中血清cTn I值明显升高,有显著性差异($P < 0.05$);EP组血清cTn I高于HP组,但无显著性差异。以上结果显示,红芪复方和运动预处理都能维持缺血再灌注心肌细胞膜结构的完整性,减少心肌酶的漏出,并且二者联合使用后的效果更加明显。见图1。

2.2 心肌组织细胞内钙离子含量的变化

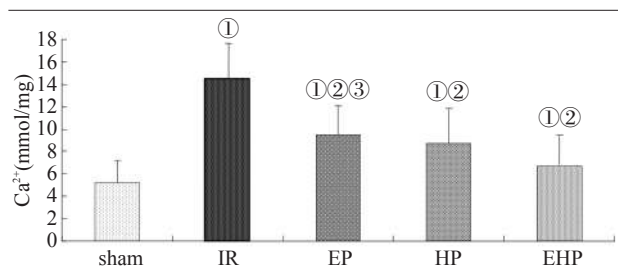
钙离子是心肌细胞内信号转导的关键载体,细胞内钙超载是心肌缺血再灌注损伤的重要病理过程。与sham组相比,其他组心肌细胞胞浆中 Ca^{2+} 浓度均显著升高($P < 0.05$);与IR组相比,其他组心肌细胞胞浆中 Ca^{2+} 浓度显著下降($P < 0.05$);与EHP组相比,EP组心肌细胞胞浆中 Ca^{2+} 浓度明显升高,有显著性意义($P < 0.05$),HP组有升高趋势,但差异不显著($P > 0.05$);EP组与HP组之间心肌细胞胞浆中 Ca^{2+} 差异不显著($P > 0.05$)。以上结果显示,红芪复方和运动预处理均能减轻缺血再灌注心肌细胞内钙超载,维持胞内钙离子稳定态,并且二者联合使用后的效果更加明显。见图2。

图1 大鼠血清心肌钙蛋白I的变化



与sham组比较:① $P < 0.05$;与IR组比较:② $P < 0.05$;与EHP组比较:③ $P < 0.05$

图2 心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度变化



与sham组比较:① $P < 0.05$;与IR组比较:② $P < 0.05$;与EP组比较:③ $P < 0.05$

2.3 血清ET、TXB₂、6-k-PGF_{1α}、6-k-PGF_{1ω}/TXB₂情况

见表1。ET和TXB₂前体TXA₂具有强大的缩血管作用,心肌缺血再灌注时缩血管物质的释放可加重心肌缺血再灌注损伤。6-k-PGF_{1α}前体PGI₂具有舒张血管和防止血小板聚集作用,同时抑制血小板释放血栓素。与sham组相比,EP组、IR组血清TXB₂、ET和HP组ET明显升高($P < 0.05$),HQP组血清ET、TXB₂以及HP组TXB₂升高,但无显著性意义($P > 0.05$),IR组、EP组血清6-k-PGF_{1α}、6-k-PGF_{1ω}/TXB₂以及HP组6-k-PGF_{1ω}/TXB₂明显降低,有显著性意义($P < 0.05$),HP组和EHP组血清6-k-PGF_{1α}、6-k-PGF_{1ω}/TXB₂有降低趋势,但差异不显著($P > 0.05$);与IR组相比,EP组、HP组和EHP组血清ET明显降低,差异显著($P < 0.05$),HP组和EHP组血清TXB₂显著降低($P < 0.05$),EP组血清TXB₂降低,但差异不显著($P > 0.05$),HP组和EHP组6-k-PGF_{1α}、6-k-PGF_{1ω}/TXB₂显著升高,有显著性意义($P < 0.05$),EP组6-k-PGF_{1α}、6-k-PGF_{1ω}/TXB₂有上升趋势,但差异不显著($P > 0.05$);与EHP组相比,EP组ET、TXB₂显著上升,有显著性意义($P < 0.05$),EP组6-k-PGF_{1α}、6-k-PGF_{1ω}/TXB₂明显降低,差异显著($P < 0.05$),HP血清ET、TXB₂有上升趋势,但差异不显著($P > 0.05$),HP组血清6-k-PGF_{1α}、6-k-PGF_{1ω}/TXB₂有降低趋势,但差异不显著($P > 0.05$);EP组与HP组间各项指标差异不显著。以上结果表明,红芪复方预处理都具有维持血管舒缩功能,改善缺血再灌注心肌微循环的作用,运动预处理的效果弱于红芪复方,二者联合使用具有更加明显的保护效应。

2.4 心肌TNF-α、IL-6、SOD、MDA活性变化

见表2。炎症反应损伤是心肌缺血再灌注损伤的重要机制之一,TNF-α和IL-6是白细胞分泌的细胞因子,是重要的炎症反应标志物,参与介导了心肌缺血再灌注损伤。与sham组相比,IR组、EP组和HP组心肌中TNF-α和IL-6含量明显升高,有显著差异($P < 0.05$),HQP组有升高趋势,但差异不显著($P > 0.05$);与IR组相比,EP组、HP组和EHP组心肌中TNF-α和IL-6含量明显降低,有显著差异($P < 0.05$);与EHP组相比,HP组和EP组心肌中TNF-α和HP组IL-6含量显著上升,有显著性意义($P < 0.05$)。以上结果表明,红芪复方预处理与运动预处理

理都具有减轻缺血再灌注大鼠心肌的炎症反应程度的作用,并且二者联合使用具有更加显著的保护效应。

心肌超氧化物歧化酶是重要的内源性保护蛋白,丙二醛是评价脂质过氧化程度的指标,对抗氧化损伤对减轻心肌缺血再灌注损伤有重要意义。与 sham 组相比,IR 组、EP 组、HP 组心肌 SOD 活性降低,有显著差异($P < 0.05$),EHP 组心肌 SOD 活性有降低趋势,但差异不显著($P > 0.05$);与 IR 组相比,EP 组、HP 组和 EHP 组心肌中 SOD 活性升高,有显

著差异($P < 0.05$);与 EHP 组相比,EP 组心肌中 SOD 活性显著降低,有显著性意义($P < 0.05$)。与 sham 组相比,IR 组、EP 组和 HP 组心肌中 MDA 含量显著上升,有显著性意义($P < 0.05$);与 IR 组相比,EP 组、HP 组和 EHP 组心肌中 MDA 下降,差异显著($P < 0.05$);与 EHP 组相比,EP 组心肌中 MDA 含量显著上升,有显著性意义($P < 0.05$)。以上结果表明,红芪复方预处理与运动预处理均能提高缺血再灌注大鼠心肌的抗氧化能力,减轻自由基对心肌的氧化损伤,并且二者联合使用具有更加显著的保护效应。

表 1 鼠血清内皮素、6-酮前列腺素 F1 α 、血栓素 B2 和 6-k-PGF_{1 α} /TXB₂变化 (x $\pm$ s)

组别	ET(ng/L)	6-k-PGF _{1α} (ng/L)	TXB ₂ (ng/L)	6-k-PGF _{1α} /TXB ₂
sham 组	79.41 $\pm$ 18.29	156.13 $\pm$ 40.68	150.73 $\pm$ 35.25	1.03 $\pm$ 0.011
IR 组	149.34 $\pm$ 36.55 ^①	121.82 $\pm$ 38.17 ^①	221.84 $\pm$ 44.54 ^①	0.55 $\pm$ 0.008 ^①
EP 组	115.72 $\pm$ 22.66 ^{①②③}	129.29 $\pm$ 31.22 ^{①③}	195.43 $\pm$ 33.27 ^{①③}	0.66 $\pm$ 0.009 ^{①③}
HP 组	98.19 $\pm$ 24.16 ^{①②}	145.36 $\pm$ 30.35 ^②	166.46 $\pm$ 32.02 ^②	0.87 $\pm$ 0.009 ^{①②}
EHP 组	90.30 $\pm$ 21.26 ^②	153.48 $\pm$ 35.34 ^②	157.69 $\pm$ 31.89 ^②	0.97 $\pm$ 0.010 ^②

与 sham 组比较:① $P < 0.05$;与 IR 组比较:② $P < 0.05$;与 EHP 组比较:③ $P < 0.05$

表 2 大鼠心肌超氧化物歧化酶、丙二醛、肿瘤坏死因子- α 和白介素-6 含量变化 (x $\pm$ s)

组别	SOD(U/mg)	MDA(nmol/mg)	TNF- α (pg/mg)	IL-6(pg/mg)
sham 组	1.45 $\pm$ 0.36	4.92 $\pm$ 1.73	15.48 $\pm$ 3.44	16.57 $\pm$ 3.22
IR 组	0.43 $\pm$ 0.12 ^①	12.02 $\pm$ 2.84 ^①	37.13 $\pm$ 4.58 ^①	44.45 $\pm$ 7.65 ^①
EP 组	0.96 $\pm$ 0.19 ^{①②③}	7.85 $\pm$ 1.56 ^{①②③}	19.65 $\pm$ 3.02 ^{①②③}	19.82 $\pm$ 3.36 ^②
HP 组	1.16 $\pm$ 0.28 ^{①②}	6.94 $\pm$ 1.74 ^{①②}	19.87 $\pm$ 2.85 ^{①②③}	20.45 $\pm$ 2.79 ^{①②③}
EHP 组	1.34 $\pm$ 0.27 ^②	5.82 $\pm$ 1.42 ^②	16.43 $\pm$ 2.71 ^②	17.44 $\pm$ 3.67 ^②

与 sham 组比较:① $P < 0.05$;与 IR 组比较:② $P < 0.05$;与 EHP 组比较:③ $P < 0.05$

3 讨论

红芪复方是以中医气血理论为指导,结合中药本身的味性,经过大量科学实验的验证,将红花黄色素与黄芪总皂苷按比例配伍而成。本课题组在前期研究中已经证实了红芪复方通过改善微循环、调节缺血再灌注心肌血管舒缩功能、抗氧化等机制对缺血心肌发挥保护作用^[2-3]。大量研究证实,运动预处理对心肌缺血再灌注损伤有保护作用。本课题组在大量的前期研究中证实了运动预处理可通过降低钙超载、抗氧化、调节缺血再灌注心肌的血管舒缩功能等机制发挥心肌保护作用^[1]。

业已证实^[7],心肌缺血一再灌注损伤的始动因素是能量代谢障碍,与自由基损伤作用、细胞内钙超载、白细胞损伤作用以及微循环障碍等因素密切相关,自由基氧化作用是钙超载、白细胞损伤和微循环障碍的共同启动因子。胞内钙超载是心肌细胞不可逆损伤的共同通路,微循环障碍和白细胞损伤是心

功能障碍的关键要素。

心肌超微结构破坏是心肌缺血再灌注损伤的主要临床表现形式。血清 cTn I 含量是临床上衡量心肌缺血损伤的“金指标”^[8]。生理状态下,cTn I 是以肌原纤维结构成分的形式存在,少见游离形式,加上细胞膜限制,血液中含量极低。而当肌原纤维微细损伤发生,细胞膜的完整性遭到破坏,血液中 cTn I 浓度升高。心肌缺血再灌注导致细胞内钙超载,肌原纤维过度收缩,引起肌丝断裂,并激活钙依赖性降解酶,引发结构蛋白溶解,细胞胞浆中游离 cTn I 增多,同时由于自由基损伤作用,导致质膜受损,cTn I 漏出增加。本研究结果显示,运动联合红芪复方预处理能减少心肌缺血再灌注引起的 cTn I 漏出,表明运动联合红芪复方预处理能维持心肌在缺血再灌注期的细胞超微结构的完整性,减轻 I/R 的损伤作用,且联合使用的效果更佳。

心肌缺血再灌注引发心肌细胞膜脂质过氧化增

加,通透性增强,心肌细胞钙漏增多,ATP的生成减少以及自由基氧化损伤导致肌浆网钙离子泵破坏,钙泵摄钙障碍,缺血缺氧导致酸中毒, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换增多, Na^+/H^+ 交换蛋白激活,进而活化 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶和 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换通道,钙离子内流增多,引发细胞内钙超载。研究证实^[9],心肌细胞内钙超载引发线粒体功能障碍是缺血再灌注心肌发生不可逆损伤的关键因素。因此,减轻钙超载是阻断或减少这一损伤的重要措施。本研究结果显示,运动联合红芪复方预处理能降低缺血再灌注心肌细胞内钙离子浓度,表明运动联合红芪复方预处理具有维持心肌内钙稳态,减轻缺血再灌注期胞内钙超载的作用。

TNF- α 是一种单核因子,主要由血液单核细胞和组织巨噬细胞产生,是重要的致炎因子,参与介导炎症反应、组织损伤和休克等病理生理过程。研究证实^[10],缺血再灌注组织可经P38丝裂原活化蛋白激酶(P38 mitogen-activated protein kinases, P38MAPK)与核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB)途径促使TNF- α 产生增多。IL-6主要由活化的中性粒细胞产生,是重要的炎症因子和免疫调节因子。心肌缺血再灌注引起NF- α 、IL-6等炎症因子释放,促使中性粒细胞向损伤区域聚集,组织浸润增加,从而引发炎症反应,同时产生了大量自由基,加剧再灌注组织损伤,而且TNF- α 可直接诱导心肌细胞凋亡。

前列环素是花生四烯酸的代谢产物,主要由血管内皮细胞合成,具有抑制血小板聚集、抗血栓形成、扩张小血管和抑制炎症介质的释放等作用。TXA₂是前列环素的生理拮抗剂,是由血小板微粒合成和释放,具有收缩血管和引发血小板聚集的作用。在正常生理状态下,前列环素与TXA₂处于动态平衡中。前列环素与TXA₂比例的失衡是引发心肌缺血或坏死的主要原因之一。ET是血管内皮分泌的缩血管活性肽,生理剂量对调节血管张力和控制血流有重要作用。心肌缺血再灌注发生时引起血浆中ET急剧升高,导致ET与血管舒张因子失衡,血管平滑肌强烈收缩,致使冠脉挛缩,加重心肌缺血,甚至出现无复流现象。有研究发现^[11],心肌缺血再灌注导致循环中白细胞的大量聚集、活化,引发血管内皮释放TXA₂、ET等缩血管物质,受损的内皮也减少

了如PGL₂、NO等舒血管物质的合成释放,引起PGL₂/TXA₂调节失衡,导致微循环障碍,加重组织无复流。我们的研究证实,红芪复方联合运动预处理能降低心肌缺血再灌注期血清中TNF- α 、IL-6等炎症因子水平,改善血清PGL₂、TXA₂活性,表明运动联合红芪复方预处理具有减少缺血再灌注部位的TNF- α 、IL-6等细胞因子释放,降低血液中的白细胞向缺血区心肌趋化、浸润,减轻炎症反应的程度,减轻缺血再灌注的白细胞损伤作用,并能维持血管内PGL₂/TXA₂平衡,改善缺血再灌注心肌组织的微循环,降低无复流现象发生,且联合使用的效果更好。

心肌组织缺血导致AMP和次黄嘌呤堆积,黄嘌呤氧化酶生成增多,组织再灌注期内合成增多的黄嘌呤氧化酶氧化次黄嘌呤,产生大量自由基。同时,再灌注期内儿茶酚胺氧化过程、线粒体电子传递、吞噬细胞呼吸爆发、花生四烯酸代谢过程、细胞内钙超载和NOS催化作用都促使自由基产生增多。自由基直接损伤生物膜,引起细胞内钙超载,诱导炎症介质产生,导致血管内皮受损。SOD等内源性抗氧化酶是生理状态下维持细胞氧化还原稳态的基础。自由基氧化细胞质膜导致细胞脂质过氧化增加,导致MDA等脂质过氧化物产物生成增多。因此,维持细胞内源性抗氧化系统的功能,消除自由基氧化效应是减轻心肌缺血再灌注损伤的重要途径。本研究结果证实,运动联合红芪复方预处理能增加心肌细胞抗氧化酶活性,减轻细胞质膜脂质过氧化水平,表明红芪复方联合运动预处理可通过减轻自由基氧化损伤,进而维持再灌注期心肌细胞内钙稳态和血管内皮功能稳定,并减轻炎症反应,发挥心肌保护作用。

综上所述,红芪复方联合运动预处理具有更加明显保护缺血再灌注心肌的作用。红芪复方联合运动预处理可通过增强缺血再灌注心肌的抗氧化能力,减轻白细胞损伤,维持血管内皮功能稳定,改善微循环,降低钙超载,发挥对缺血再灌注心肌的保护效应。

参考文献

- [1] 王强,闻剑飞,汪辉,等.运动预处理后内源性阿片肽对大鼠心肌缺血再灌注损伤晚期保护作用[J].中国康复医学杂志,2015,30(10):995—1001.

(下转第463页)