

· 实验研究 ·

远隔缺血预处理联合七氟醚后处理对大鼠心肌缺血-再灌注时 TLR4/NF- κ Bp65 的影响

游宇鹏 余鹏 胡衍辉 胡凯 邓福谋 肖凡 郎海丽 张静

【摘要】 目的 评价远隔缺血预处理联合七氟醚后处理对大鼠心肌缺血-再灌注时的影响及其机制。**方法** 成年雄性 SD 大鼠 75 只,体重 250~300 g,成功建立 Langendorff 离体灌注模型的大鼠心脏之后,采用随机数字表法分为五组($n=15$):对照组(C 组)、缺血-再灌注组(IR 组)、远隔缺血预处理组(R 组)、七氟醚后处理组(S 组)和远隔缺血预处理+七氟醚后处理组(RS 组)。C 组持续灌注 150 min。IR 组给予缺血-再灌注处理。R 组给予远隔缺血预处理后,给予缺血-再灌注处理。S 组给予缺血-再灌注处理,于再灌注初给予经 2.4%七氟醚饱和的 K-H 液灌注 2 min。RS 组给予远隔缺血预处理后给予缺血-再灌注处理,于再灌注初给予经 2.4%七氟醚饱和的 K-H 液灌注 2 min。再灌注末,采用 1% 2,3,5 氯化三苯基四氮唑测定心肌梗死体积百分比。采用 ELISA 法检测肌酸激酶同工酶(CK-MB),白细胞介素-8(IL-8),白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)浓度。采用 Western blot 法测定 Toll-样受体 4(TLR4),高迁移率族蛋白 B1(HMGB-1),髓样分化因子 88(MyD88),核因子 κ B 抑制蛋白 α (IKB- α),核因子- κ Bp65(NF- κ Bp65),半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase3),B 淋巴细胞瘤基因-2(Bcl-2)和 Bcl-2 相关蛋白(BAX)的蛋白含量。采用 HE 染色观察心肌组织形态学变化。**结果** 与 C 组比较,IR 组、R 组、S 组和 RS 组心肌梗死体积百分比明显增加,CK-MB、IL-8、IL-6 和 TNF- α 浓度,TLR4、HMGB-1、MyD88、NF- κ Bp65、Caspase3 和 BAX 蛋白含量均明显升高,IKB- α 和 Bcl-2 蛋白含量明显降低($P<0.05$),心肌组织病理形态明显恶化。与 IR 组比较,R 组和 S 组心肌梗死体积百分比明显减小,CK-MB、IL-8、IL-6 和 TNF- α 浓度,TLR4、HMGB-1、MyD88、NF- κ Bp65、Caspase3 和 BAX 蛋白含量均明显降低,IKB- α 和 Bcl-2 蛋白含量明显升高($P<0.05$),心肌组织病理形态明显改善。与 R 组和 S 组比较,RS 组心肌梗死体积百分比明显减小,CK-MB、IL-8、IL-6 和 TNF- α 浓度,TLR4、HMGB-1、MyD88、NF- κ Bp65、Caspase3 和 BAX 蛋白含量均明显降低,IKB- α 和 Bcl-2 蛋白含量明显升高($P<0.05$),心肌组织病理形态明显改善。**结论** 远隔缺血预处理和七氟醚后处理均可抑制 TLR4/NF- κ Bp65 信号通路和炎症反应,明显减轻大鼠心肌缺血-再灌注损伤。两者联合处理对心肌的保护作用明显优于单独处理。

【关键词】 缺血预处理;缺血-再灌注;七氟醚后处理;TLR4/NF- κ Bp65 信号通路;炎症因子

Effects of remote ischemic preconditioning and sevoflurane postconditioning on TLR4/NF- κ Bp65 during myocardial ischemia-reperfusion in rats YOU Yujuan, YU Peng, HU Yanhui, HU Kai, DENG Fumou, XIAO Fan, LANG Haili, ZHANG Jing. Department of Anesthesiology, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000, China

Corresponding author: ZHANG Jing, Email: zhangjing_jxndefy@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the effects and mechanism of remote ischemic preconditioning and sevoflurane postconditioning on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. **Methods** Seventy-five adult male Sprague-Dawley rats, weighing 250–300 g, were used and the Langendorff isolated perfusion model of rat hearts was successfully established. They were randomly divided into five groups ($n=15$): control group (group C), ischemia-reperfusion group (group IR), remote ischemic preconditioning group (group R), sevoflurane postconditioning group (group S) and remote ischemic preconditioning+sevoflurane postconditioning group (group RS). Group C was continuously perfused for 150 min. Group IR was given the ischemia-reperfusion treatment. Group R was given ischemia-reperfusion treatment after remote ischemic pre-

DOI: 10.12089/jca.2019.11.015

基金项目:国家自然科学基金项目(81760048);江西省自然科学基金项目(20181BAB215023);江西省卫生计生委科技计划项目(20171071);江西省中医药科技计划项目(2017A240)

作者单位:330000 南昌大学第二附属医院麻醉科(游宇鹏、胡衍辉、邓福谋、肖凡、郎海丽、张静);南昌大学第二附属内分泌代谢科(余鹏);南昌市洪都中医院麻醉科(胡凯)

通信作者:张静,Email:zhangjing_jxndefy@163.com

conditioning. Group S was given ischemia-reperfusion treatment, and was perfused with 2.4% sevoflurane-saturated K-H solution for 2 min at the beginning of reperfusion. Group RS was given ischemia-reperfusion treatment after remote ischemic preconditioning, and was perfused with 2.4% sevoflurane-saturated K-H solution for 2 min at the beginning of reperfusion. At the end of reperfusion, the myocardial infarct size was determined by using 1% 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride. The concentrations of creatine kinase isoenzymes (CK-MB), interleukin-8 (IL-8), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by ELISA. The expressions of Toll-like receptor 4 (TLR4), high mobility group protein B1 (HMGB-1), Myeloid differentiation factor 88 (MyD88), IKB- α , NF- κ Bp65, Caspase3, BAX and Bcl-2 protein were detected by Western Blot. Myocardial morphological changes were observed by HE staining.

Results Compared with group C, the myocardial infarct size, the concentrations of CK-MB, IL-8, IL-6 and TNF- α , and the protein expressions of TLR4, HMGB-1, MyD88, NF- κ Bp65, Caspase3 and BAX were significantly increased in group IR, group R, group S and group RS, the expression of IKB- α and Bcl-2 protein was significantly decreased ($P < 0.05$), and the pathological morphology of myocardial tissue was significantly deteriorated. Compared with group IR, the myocardial infarct size, the level of CK-MB, IL-8, IL-6, TNF- α , TLR4, HMGB-1, MyD88, NF- κ Bp65, Caspase3 and BAX were significantly decreased in group R and group S, and the protein expression of IKB- α and Bcl-2 was elevated ($P < 0.05$), the myocardium pathological morphology was significantly improved. Compared with group R and group S, the myocardial infarct size, and the level of CK-MB, IL-8, IL-6, TNF- α , TLR4, HMGB-1, MyD88, NF- κ Bp65, Caspase3 and BAX were significantly decreased in group RS, and the protein expression of IKB- α and Bcl-2 was elevated ($P < 0.05$), the myocardium pathological morphology was improved. **Conclusion** Remote ischemic preconditioning combined with sevoflurane postconditioning could inhibit TLR4/NF- κ Bp65 signaling pathway and inflammatory response, and significantly reduce myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. And the combined treatment of the two is significantly better than the single treatment.

【Key words】 Ischemic preconditioning; Ischemia-reperfusion; Sevoflurane postconditioning; TLR4/NF- κ Bp65 signaling pathway; Inflammatory factor

心肌缺血-再灌注损伤是缺血性心脏病常见的并发症^[1]。已有研究表明,远隔缺血预处理能够对心肌缺血-再灌注起保护作用^[2]。并且,本课题组前期研究表明七氟醚后处理可减轻大鼠心肌缺血-再灌注损伤,发挥心肌保护作用^[3-4]。两者联合应用能不能对心肌起到更好的保护作用及其机制如何,目前尚未完全阐明。本研究探讨远隔缺血预处理联合七氟醚后处理对大鼠心肌缺血-再灌注损伤的影响,并进一步研究其机制。

材料与方法

实验动物与分组 本课题组选择体重为 250~300 g 的成年雄性清洁级 SD 大鼠(南昌大学医学院实验动物中心提供)。模型大鼠心脏随机分为对照组(C组)、缺血-再灌注组(IR组)、远隔缺血预处理组(R组)、七氟醚后处理组(S组)和远隔缺血预处理+七氟醚后处理组(RS组)。

实验方法与模型 C组持续恒流灌注预氧合 K-H 液 150 min。IR组建立 Langendorff 离体灌注模型,行缺血 30 min,再灌注 120 min。R组大鼠在缺血前均以同样压力的阻断带阻断右股动脉 4 次,每次缺血 5 min,再灌注 5 min,以实现远隔缺血预处理。S组大鼠于再灌注初给予经 2.4%七氟醚饱和的 K-H 液灌注 2 min。RS组在缺血前给予远隔缺血

血预处理,并于再灌注初给予经 2.4%七氟醚饱和的 K-H 液灌注 2 min^[5]。IR组、R组、S组和 RS组参考本课题之前的研究配置 K-H 液,建立 Langendorff 离体大鼠心肌缺血-再灌注损伤模型^[6]。大鼠腹腔内注射戊巴比妥钠 45 mg/kg 麻醉后剖开胸骨,取出大鼠心脏。将取出的心脏置于 4℃ 的 K-H 液中快速冷却,对大鼠主动脉进行插管,再行对大鼠心脏进行恒速灌注。用丝线固定心脏,调节左心室舒张末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)基础值,利用灌注通路的开关控制冠脉缺血和再灌注。

心肌梗死体积百分比测定 利用 1% 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride triazole, TTC, 批号:362883)测定大鼠心肌缺血再灌注损伤后的梗死体积。采用小动物心脏切割器对再灌注末的大鼠心脏进行横切,将 5 块横切后的心肌组织置于 1%TTC 中染色,并在冲洗心肌组织后行固定。大鼠心脏的梗死区被 TTC 染为灰白色,而非梗死区则被 TTC 染为砖红色。最后使用 Alpha View 凝胶图像软件对大鼠心肌梗死体积百分比进行分析。心肌梗死体积百分比(%)=左心室梗死体积/左心室总体积×100%。

心肌组织中 CK-MB、IL-8、IL-6 和 TNF- α 浓度检测 于再灌注末取冠脉漏出液 2 ml,4℃ 1 800 g

离心 15 min 后,收集上清液后分装保存待用。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定肌酸激酶同工酶(CK-MB)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-6(IL-6)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)浓度。本课题组根据试剂盒说明书进行实验操作及数据获取。

心肌蛋白含量检测 再灌注末迅速取下 Langendorff 模型制备成功的心脏,采用 Western blot 法测定心肌组织中 Toll-样受体 4(TLR4),高迁移率族蛋白 B1(HMGB-1),髓样分化因子 88(MyD88),人核因子 κ B 抑制蛋白 α (IKB- α),核因子- κ Bp65(NF- κ Bp65),半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase3),B 淋巴细胞瘤基因-2(Bcl-2)和 Bcl-2 相关蛋白(BAX)蛋白含量。按照文献[7]的方法从心肌组织中提取分离蛋白质,将分离的蛋白质转移至 PVDF 膜后牛奶封闭。加入一抗 TLR4(1:1 000)、一抗 HMGB-1(1:1 000)、一抗 MyD88(1:1 000)、一抗 IKB- α (1:1 000)和一抗 NF- κ Bp65(1:1 000)、一抗 Cleaved-Caspase3(1:1 000)、一抗 BAX(1:1 000)、一抗 Bcl-2(1:1 000)和内参抗-Tubulin(1:2 000),4℃一抗孵育过夜。清洗膜,加入二抗孵育。ELC 显色。本课题组利用 Image J 软件对各个条带的灰度值均进行测定。以 TLR4, HMGB-1, MyD88, IKB- α , NF- κ Bp65,cleaved Caspase-3,BAX 和 Bcl-2 等目的条带的灰度值与内参条带的灰度值的比值来反映蛋白含量。

心肌组织病理观察 再灌注末迅速取下心脏,实验结束后留取左室,用生理盐水冲去血污,将其中冲洗干净的 100 mg 心脏组织均匀切割。并利用 4%的多聚甲醛将切割后的心肌片进行固定,将固定后的心肌片进行石蜡包埋和切片。最后在光镜下观察 HE 染色后的大鼠心肌病理组织形态学变化。

统计分析 采用 Graph Pad Prism7.0 软件对本研究中计量资料进行统计分析,以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。其中,组间比较和组内比较分别采用单因素方差分析和重复测量数据方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

心肌梗死体积百分比 再灌注末,与 C 组比较,IR 组、R 组、S 组和 RS 组心肌梗死体积百分比均明显增加($P<0.05$);与 IR 组比较,R 组、S 组和 RS 组心肌梗死体积百分比均明显减少($P<0.05$);与 R 组和 S 组比较,RS 组心肌梗死体积百分比明显减少($P<0.05$,图 1—2)。

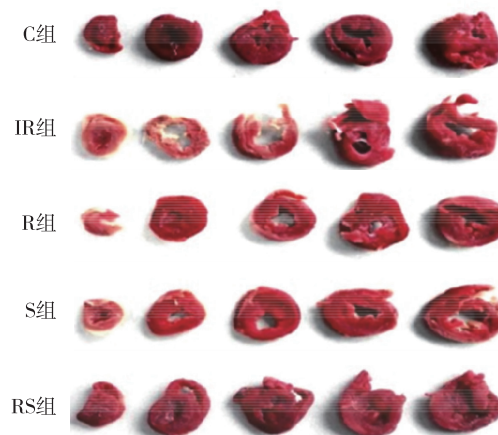
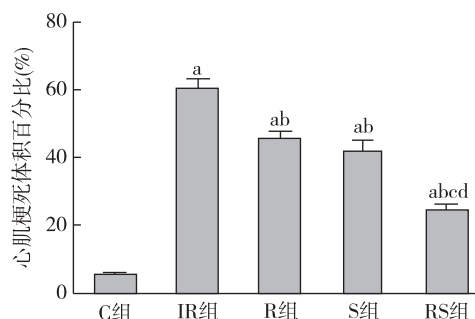


图 1 五组大鼠心机标本



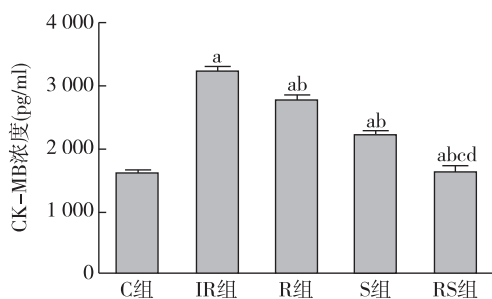
注:与 C 组比较,^a $P<0.05$;与 IR 组比较,^b $P<0.05$;与 R 组比较,^c $P<0.05$;与 S 组比较,^d $P<0.05$

图 2 五组大鼠心肌梗死体积百分比

CK-MB,IL-8,IL-6 和 TNF- α 浓度 与 C 组比较,IR 组、R 组、S 组和 RS 组 CK-MB,IL-8,IL-6 和 TNF- α 浓度均明显升高($P<0.05$);与 IR 组比较,R 组、S 组和 RS 组 CK-MB,IL-8,IL-6 和 TNF- α 浓度均明显降低($P<0.05$);与 R 组和 S 组比较,RS 组 CK-MB,IL-8,IL-6 和 TNF- α 浓度均明显降低($P<0.05$)(图 3—6)。

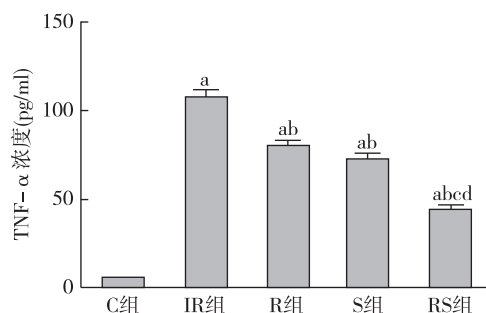
TLR4/MyD88/NF- κ Bp65 信号通路蛋白含量 与 C 组比较,IR 组、R 组、S 组和 RS 组 TLR4, HMGB-1,MyD88 和 NF- κ Bp65 蛋白含量明显升高,IKB- α 蛋白含量明显降低($P<0.05$);与 IR 组比较,R 组、S 组和 RS 组 TLR4、HMGB-1、MyD88 和 NF- κ Bp65 蛋白含量明显降低,IKB- α 蛋白含量明显升高($P<0.05$);与 R 组和 S 组比较,RS 组 TLR4、HMGB-1、MyD88 和 NF- κ Bp65 蛋白含量明显降低,IKB- α 蛋白含量明显升高($P<0.05$,图 7—11)。

Caspase3,BAX 和 Bcl-2 蛋白表达 与 C 组比较,IR 组、R 组、S 组和 RS 组 Caspase3 和 BAX 蛋白



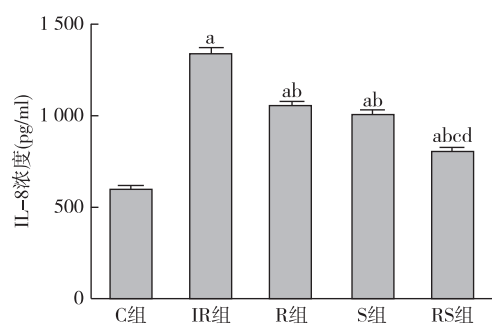
注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$

图 3 五组大鼠心肌 CK-MB 浓度



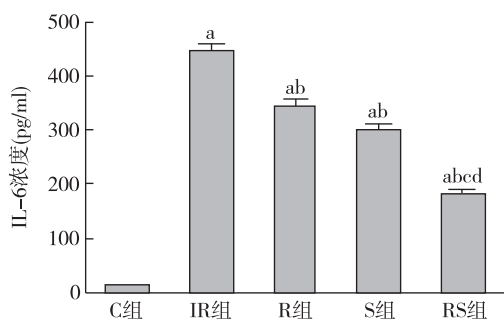
注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$

图 6 五组大鼠心肌 TNF-α 浓度



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

图 4 五组大鼠心肌 IL-8 浓度

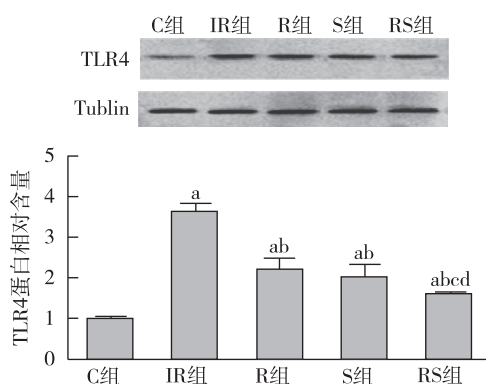


注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

图 5 五组大鼠心肌 IL-6 浓度

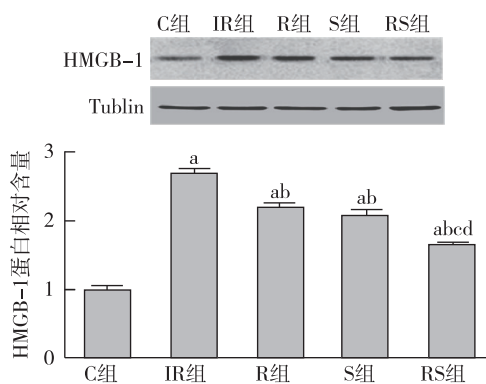
含量明显升高,Bcl-2 蛋白含量明显降低($P < 0.05$);与 IR 组比较,R 组、S 组和 RS 组 Caspase3 和 BAX 蛋白含量明显降低,Bcl-2 蛋白含量明显升高($P < 0.05$);与 R 组和 S 组比较,RS 组 Caspase3 和 BAX 蛋白含量明显降低,Bcl-2 蛋白含量明显升高($P < 0.05$,图 12-14)。

心肌组织病理观察 C 组心肌细胞结构学和形态学上均无明显异常表现,心肌细胞结构清晰,只有少许炎性细胞浸润其中;而 IR 组心肌细胞结构学



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

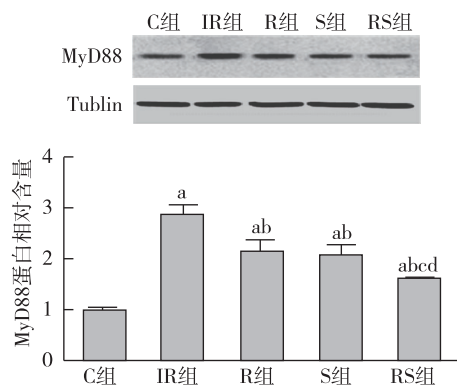
图 7 五组大鼠心肌 TLR4 蛋白含量



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

图 8 五组大鼠心肌 HMGB-1 蛋白含量

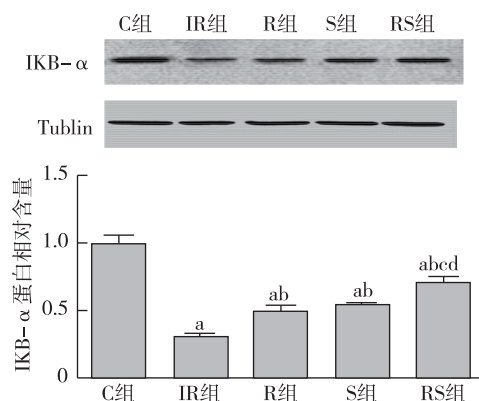
和形态学上均出现异常表现,心肌纤维排列紊乱,大量心肌细胞结构模糊,心肌细胞明显水肿且有大量炎性细胞浸润;与 IR 组大鼠心肌组织比较,R 组和 S 组心肌纤维排列更加整齐,心肌细胞水肿程度



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

图 9 五组大鼠心肌 MyD88 蛋白含量

和炎性细胞浸润数量均明显减少。与 R 组和 S 组大鼠心肌组织比较,RS 组心肌组织病理形态明显改善(图 15)。



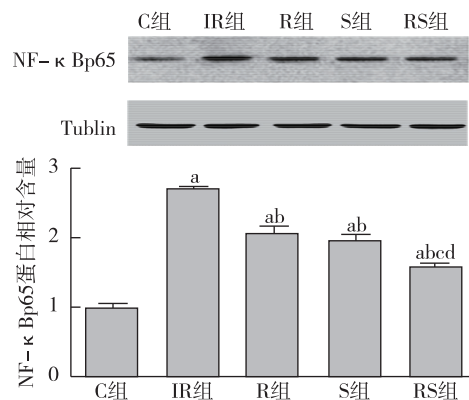
注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

图 10 五组大鼠心肌 IKB-α 蛋白含量

讨 论

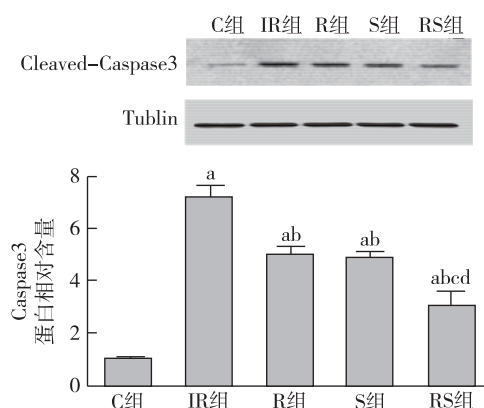
本实验参照文献[8]中介绍的方法,利用灌注通路的开关控制冠脉缺血 30 min,灌注 120 min,建立 Langendorff 离体灌注模型。结果显示离体心肌缺血-再灌注模型制备成功。参考之前文献中采用的方法^[9-10]和预实验结果,本研究选择缺血 5 min,再灌注 5 min,反复 3 次进行缺血预处理,并选择于再灌注初给予经 2.4% 七氟醚饱和的 K-H 液灌注 2 min 进行七氟醚后处理。

本实验结果显示,单独远隔缺血预处理和七氟醚后处理均能够降低心肌梗死体积百分比和 CK-MB,抑制心肌组织病理形态恶化,减轻心肌缺血-再



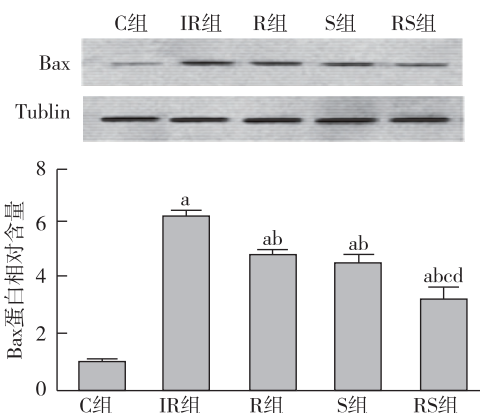
注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

图 11 五组大鼠心肌 NF-κBp65 蛋白含量



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

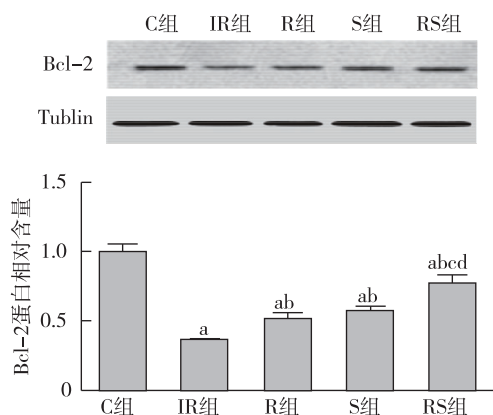
图 12 五组大鼠心肌 Caspase3 蛋白含量



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 R 组比较,^c $P < 0.05$;与 S 组比较,^d $P < 0.05$ 。

图 13 五组大鼠心肌 BAX 蛋白含量

灌注损伤,发挥心肌保护作用。另外,结果显示远



注:与 C 组比较,^a $P<0.05$;与 IR 组比较,^b $P<0.05$;与 R 组比较,^c $P<0.05$;与 S 组比较,^d $P<0.05$ 。

图 14 五组大鼠心肌 Bcl-2 蛋白含量

隔缺血预处理联合七氟醚后处理可明显减轻大鼠缺血-再灌注时心肌损伤,发挥较远隔缺血预处理或七氟醚后处理单独使用时更强的心肌保护作用。

缺血-再灌注时发生的心肌损伤常常伴随着序贯的炎症反应,该炎症反应以炎症细胞浸润和细胞因子产生为特征。大量研究表明,炎症反应是心肌缺血-再灌注损伤的重要作用机制之一。调控缺血再灌注后诱发的剧烈炎症反应至关重要,有效的调控能够在一定程度上减弱心肌缺血-再灌注损伤^[11]。TNF- α 在机体各个方面均发挥着至关重要的功能性作用,包括炎症介质反应、免疫应答调节和血管修复再生等^[12]。缺血-再灌注可诱发产生 TNF- α ,其通过激活黄嘌呤氧化酶而产生氧自由基,两者形成恶性循环,不断加重原有的心肌缺血-再灌注损伤。并且,单核细胞、活化的 T 细胞、内皮细胞、巨噬细胞、成纤维细胞和表皮细胞等在 TNF- α 的诱导下合成分泌 IL-8。IL-8 是一种趋化因子,对中性粒细胞具有特异性的趋化和活化作用,可诱导中性粒细胞产生呼吸爆发,释放超氧化物和溶酶体酶,并导致血管内皮细胞功能障碍^[13]。当心肌发生缺血-再灌注时可促进浸润炎症细胞合成和释放大量白介素因子,通过激活 ICAM-1 信号因子促进组织内炎症细胞的大量浸润^[14]。本

研究结果显示,单独远隔缺血预处理和七氟醚后处理均能够抑制心肌缺血-再灌注损伤后的炎症反应,并且远隔缺血预处理联合七氟醚后处理可明显抑制炎症反应,其抑制炎症反应作用优于单独使用。

另外,心肌炎症反应调节机制十分复杂,多种模式识别受体参与其中。HMGB-1 激活 TLR4,启动心肌缺血-再灌注损伤的炎症反应^[15]。TLR4 作为炎症反应的一个闸门,通过调节 MyD88 介导的 NF- κ Bp65 信号转导通路激活免疫和炎症反应,在炎症反应中起到关键作用^[16]。生理条件下,NF- κ Bp65 以一种无活性的状态与抑制性蛋白 IKB 在胞质中相结合;而在缺血-再灌注损伤等作用下,IKB 磷酸化并降解,NF- κ Bp65 由胞质转移到胞核,启动后续重要炎症反应。TLR4/MyD88/NF- κ Bp65 信号通路介导的炎症反应在心肌缺血-再灌注损伤中发挥重要的作用。研究显示,远隔缺血预处理联合七氟醚后处理较单独远隔缺血预处理和七氟醚后处理,可更明显抑制 TLR4/MyD88/NF- κ Bp65 信号通路,发挥其对缺血-再灌注时心肌的重要保护作用。

缺血-再灌注损伤后心肌细胞具有多种死亡方式,其中心肌细胞凋亡是重要的死亡方式之一^[17-18]。cleaved Caspase-3 在细胞凋亡过程中发挥着重要的执行作用,以其为代表的 Caspase 家族可介导凋亡的蛋白酶级联反应,进而促使细胞内 DNA 和蛋白质结构破坏,功能消失。另外,抗凋亡 Bcl-2 基因可明显抑制多种细胞损伤诱因,有效增加机体各种细胞的存活时间进而减缓细胞凋亡。但是,本身具有促凋亡功能的 Bax 基因可以明显减弱抗凋亡 Bcl-2 基因的细胞保护作用。本实验组采用 Western Blot 法测定再灌注末各组 cleaved Caspase-3, BAX 和 Bcl-2 的蛋白含量。结果显示,远隔缺血预处理或七氟醚后处理的单独应用能够明显降低凋亡相关蛋白含量,并且远隔缺血预处理联合七氟醚后处理可明显抑制细胞凋亡,其抑制强度作用优于单独使用。

综上所述,远隔缺血预处理联合七氟醚后处理可抑制缺血-再灌注后 TLR4/MyD88/NF- κ Bp65 信号通路和炎症反应,进而明显降低心肌细胞的凋亡程度,明显减轻大鼠缺血-再灌注时心肌损伤,发挥

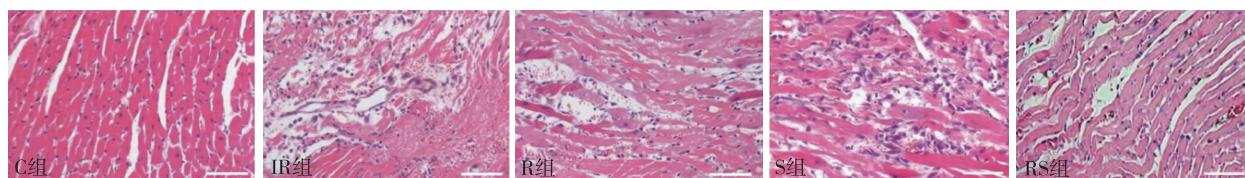


图 15 五组大鼠心肌组织病理改变的 HE 染色图($\times 200$ 倍)

对大鼠心肌缺血-再灌注的保护作用。并且,二者联合处理对心肌的保护作用明显优于单独处理。

参 考 文 献

- [1] Maroko PR, Braunwald E. Effects of metabolic and pharmacologic interventions on myocardial infarct size following coronary occlusion. *Circulation*, 1976, 53(3 Suppl): I162-I168.
- [2] Gill R, Kuriakose R, Gertz ZM, et al. Remote ischemic preconditioning for myocardial protection: update on mechanisms and clinical relevance. *Mol Cell Biochem*, 2015, 402(1-2): 41-49.
- [3] Zhang J, Wang C, Yu S, et al. Sevoflurane postconditioning protects rat hearts against ischemia-reperfusion injury via the activation of PI3K/AKT/mTOR signaling. *Sci Rep*, 2014, 4: 7317.
- [4] 张静, 乔世刚, 殷明, 等. 七氟醚后处理对大鼠心肌缺血再灌注时线粒体自噬的影响. *中华麻醉学杂志*, 2015, 35(8): 944-947.
- [5] 张静, 余鹏, 华福洲, 等. ERK1/2 介导的 p70S6K 信号通路在七氟醚后处理保护离体大鼠缺血再灌注损伤中的作用. *临床麻醉学杂志*, 2015, 31(7): 697-701.
- [6] Zhou C, Li H, Yao Y, et al. Delayed remote ischemic preconditioning produces an additive cardioprotection to sevoflurane postconditioning through an enhanced heme oxygenase 1 level partly via nuclear factor erythroid 2-related factor 2 nuclear translocation. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2014, 19(6): 558-566.
- [7] 王贵龙, 高鸿, 王子君, 等. 七氟醚对大鼠离体心脏全心缺血-再灌注心率失常及电生理的影响. *临床麻醉学杂志*, 2018, 34(12): 1223-1226.
- [8] 张静, 王琛, 胡素梅, 等. 七氟醚后处理对大鼠离体心脏缺血再灌注时心肌细胞凋亡和凋亡的影响: 与 ERK1/2 信号转导通路的关系. *中华麻醉学杂志*, 2014, 34(1): 98-101.
- [9] Ackers-Johnson M, Li PY, Holmes AP, et al. A simplified, lan-gendorff-free method for concomitant isolation of viable cardiac myocytes and nonmyocytes from the adult mouse heart. *Circ Res*, 2016, 119(8): 909-920.
- [10] Zhang J, Wang C, Yu S, et al. Sevoflurane postconditioning protects rat hearts against ischemia-reperfusion injury via the activation of PI3K/AKT/mTOR signaling. *Sci Rep*, 2014, 4: 7317.
- [11] Wang Q, Liu GP, Xue FS, et al. Combined vagal stimulation and limb remote ischemic preconditioning enhances cardioprotection via an anti-inflammatory pathway. *Inflammation*, 2015, 38(5): 1748-1760.
- [12] Badalzadeh R, Baradaran B, Alihemmati A, et al. Troxerutin preconditioning and ischemic postconditioning modulate inflammatory response after myocardial ischemia/reperfusion injury in rat model. *Inflammation*, 2017, 40(1): 136-143.
- [13] Mc Tiernan CF, Feldman AM. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep*, 2000, 2(3): 189-197.
- [14] Lu L, Wei P, Cao Y, et al. Effect of total peony glucoside pretreatment on NF- κ B and ICAM-1 expression in myocardial tissue of rat with myocardial ischemia-reperfusion injury. *Genet Mol Res*, 2016, 15(4).
- [15] Doyle SL, O'Neill LA. Toll-like receptors: from the discovery of NFkappaB to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(9): 1102-1113.
- [16] Yang WS, Kim JS, Han NJ, et al. Toll-like receptor 4/spleen tyrosine kinase complex in high glucose signal transduction of proximal tubular epithelial cells. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(6): 2309-2319.
- [17] Fuchs Y, Steller H. Programmed cell death in animal development and disease. *Cell*, 2011, 147(1): 742-758.
- [18] Maiese K, Chong ZZ, Shang YC, et al. Targeting disease through novel pathways of apoptosis and autophagy. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16(12): 1203-1214.

(收稿日期:2018-10-12)

· 消息 ·

《临床麻醉学杂志》2020 年度征订通知

《临床麻醉学杂志》系麻醉学和相关学科的专业学术期刊,1985 年 3 月创刊。目前,本刊被国内三大核心数据库收录,包括“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊),中国科学院文献情报中心“中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊”,北大图书馆《中文核心期刊要目总览》(中文核心期刊)。中国科学技术信息研究所《2018 年版中国科技期刊引证报告(核心版)》显示,本刊核心总被引频次为 2660,核心影响因子为 1.292,在外科学综合类期刊中排在第 3 位。2014 年 9 月和 2017 年 10 月,本刊分别入选中国科学技术信息研究所“第三届中国精品科技期刊”和“第四届中国精品科技期刊”,即“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊。

本刊中国标准连续出版物号 CN 32-1211/R,ISSN 1004-5805。2020 年度本刊仍从邮局发行,邮发代号 28-35,大 16 开本,每期 104 页,每月 15 日出版,15 元/期,全年 180 元(含邮费)。请到当地邮局或中国邮政网(<http://bk.11185.cn/index.do>)订阅,或与本刊编辑部联系,地址:南京市鼓楼区紫竹林 3 号《临床麻醉学杂志》编辑部,邮编:210003,电话:025-83472912,Email:jca@lcmzxxz.com。