

## 缺血后处理对糖尿病大鼠心肌缺血-再灌注损伤的影响

邓应忠 郑兴萍 曹晨 胡鄂曼 谭启荣 刘芳 薛锐 李东升

430074 武汉, 武汉市第三医院心内科 (邓应忠、郑兴萍、曹晨、胡鄂曼、谭启荣、刘芳、李东升); 430060 武汉, 武汉大学人民医院麻醉科 (薛锐)

通信作者: 郑兴萍, Email: 807439737@qq.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.05.017

基金项目: 武汉市卫计委科研项目 (WX12D11)

**Effect of ischemic postconditioning on reperfusion injury in diabetic rats with acute myocardial infarction** Deng Yingzhong, Zheng Xingping, Cao Chen, Hu Eman, Tan Qirong, Liu Fang, Xue Rui, Li Dongshen

Department of Cardiovascularology, The Third Hospital of Wuhan City, Wuhan 430074, China (Deng YZ, Zheng XP, Cao C, Hu EM, Tan QR, Liu F, Li DS); Department of Anesthesiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China (Xue R)

Corresponding author: Zheng Xingping, Email: 807439737@qq.com

**Fund program:** Wuhan Health and Family Planning Commission Research Projects (WX12D11)

缺血-再灌注 (IR) 治疗是抢救缺血性疾病患者的主要措施, 心肌缺血后尽早实现有效再灌注, 挽救濒临死亡心肌, 使心肌的结构和功能得到恢复, 但是, 再灌注损伤降低了早期再灌注带来的益处。缺血后处理 (ischemic postconditioning, IPO) 可明显减轻缺血-再灌注损伤, 已被多项实验证实, 由于临床操作性强, 疗效显著, 这一保护措施已应用于心脏瓣膜置换、心脏介入治疗等临床中<sup>[1]</sup>。然而 IPO 心肌保护措施在糖尿病状态下的效应报道结论不同, 一些学者认为, 糖尿病可使心肌保护效应增强<sup>[2]</sup>, 另一些学者认为 IPO 在糖尿病状态下心肌保护的效应减弱<sup>[3,4]</sup>。本实验通过建立大鼠 II 型糖尿病模型、心肌缺血-再灌注 (IR) 模型、IPO 模型, 观察保护性脂肪因子及其相关通路与氧化应激、促炎性细胞因子、心肌坏死标志物及心肌梗死面积间关系, 评价糖尿病状态下 IPO 对心肌的保护作用, 探讨其作用机制及在糖尿病心肌梗死患者中缺血后处理的使用价值。

### 1 材料与方

#### 1.1 实验动物

采用健康成年雄性 SD 大鼠, 体质量 220 ~ 250 g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。

#### 1.2 动物模型的建立

1.2.1 大鼠糖尿病模型的建立 将 90 只健康雄性 SD 大鼠先喂以高脂高果糖饲料 4 周, 按照大鼠体质量, 以 30 mg/kg 的剂量腹腔注射 1% 的链脲佐菌素-柠檬酸盐缓冲液, 做好记录。对照组中, 按照体质量腹腔注射柠檬酸盐缓冲液。

注射后自由进食饮水, 同时监测大鼠的饮食量、饮水量和尿量。72 h 后当血糖浓度 > 16.7 mmol/L 并持续 1 周以上时表示糖尿病鼠模型诱导成功。所有实验在成模 8 周后开始, 实验期间每周监测血糖水平、胰岛素水平一次。

1.2.2 心肌缺血-再灌注损伤及 IPO 模型的建立 糖尿病心肌缺血-再灌注模型大鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉并固定于实验台上, 气管插管连接小动物呼吸机。在大鼠四肢皮下及胸前插入针性电极, 连接小动物心电图仪。左侧第四肋间开胸, 剪开心包膜, 充分暴露心脏。在左心耳的下缘处可以观察到一白线状血管, 即为冠脉左前降支, 其刚好位于肺动脉圆锥下缘约 2 mm 处, 用 6-0 带线手术针进行穿线结扎, 见心尖部位以及左心室前壁变白, 心电图可见 ST 段即刻抬高, T 波变高, 提示结扎部位正确。结扎 30 min 后, 松开结扎线恢复血流, 可观察到左心室恢复红润, ST 段回落。糖尿病心肌缺血-再灌注及 IPO 模型的建立: 解除移液枪头的套叠状态即可恢复血供进行再灌注。缺血-再灌注组在缺血 30 min 后, 重新套叠移液枪头又可结扎左前降支, 并于再灌注前实施缺血后处理 (灌注 10 s, 缺血 10 s) 3 个循环, 再灌注 120 min。S 组仅以丝线穿过冠状动脉前降支但不结扎。再灌注 120 min 后处死大鼠。

#### 1.3 实验分组

造模成功的野生型成年雄性 SD 大鼠随机 (随机数字法) 分为 6 组: 正常假手术组 (NS 组,  $n = 10$ )、正常心肌缺血-再灌注组 (NIR 组,  $n = 16$ )、正常缺血后处理组 (NIPO 组,  $n = 16$ )、糖尿病假手术组 (DMS 组,  $n = 10$ )、糖尿病心肌缺血-再灌注组 (DMIR 组,  $n = 16$ ) 和糖尿病

缺血后处理组 (DMIPO 组,  $n=16$ )。

## 1.4 观察指标及技术方法

1.4.1 测量心肌缺血及心肌梗死面积 除 NS 组、DMS 组外, 各组随机取 8 只大鼠心脏, 于再灌注 120 min 时, 经股静脉注射 1% Evans Blue 2 mL, 取下心脏, 置于  $-20^{\circ}\text{C}$  30 min 后, 从心尖到心底缝线结扎部位分成三段, 在中段同一平面垂直于长轴方向将其切成 2 mm 厚的薄片, 置于 1% TTC 溶液 (Sigma 公司, 美国) 中  $37^{\circ}\text{C}$  孵育 20 min。存活的心肌呈蓝色, 缺血区心肌呈砖红色, 梗死区心肌呈灰白色。采用 Imag-Pro 软件 (Media Cybernetics 公司, 美国) 分析计算梗死心肌与全部左心室心肌面积比。各组取其平均数。

1.4.2 血浆检测指标 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法检测血浆中脂联素的含量。比色法测定血清肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、肌钙蛋白 T (cTnT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 含量。硫代巴比妥酸法测定丙二醛 (MDA) 含量。放射免疫法测定血清白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 含量。

1.4.3 心肌细胞因子水平的检测 心肌细胞因子水平的检测: 每组大鼠自前降支结扎线以下心尖部取左心室缺血心肌组织 100 mg, 加入 1 000  $\mu\text{L}$  RIPA 裂解液, 测量蛋白含量, SDS-PAGE 电泳、转膜、封闭、抗体孵育、显影, Odyssey 红外扫描显影仪扫描荧光条带, Quantity one 软件进行灰度测量, 以目的蛋白与内参蛋白的灰度比值作为蛋白相对表达量。

## 1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- $t$  法。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠心肌梗死范围比较

与 NIR 组比较, NIPO 组心梗面积减小 ( $P < 0.05$ ), 而 DMIR 组及 DMIPO 组的心梗面积显著增大 ( $P < 0.01$ ); 与 DMIR 组比较, DMIPO 组的心梗面积无明显变化 ( $P > 0.05$ ); 与 NIPO 比较, DMIR 组及 DMIPO 组的心梗面积显著增大 ( $P < 0.01$ )。见表 1、图 1。

### 2.2 各组大鼠心肌损伤标志物比较

与 NIR 组比较, NIPO 组 CK-MB 及 cTnT 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与 DMIR 组比较, DMIPO 组 CK-MB 和 cTnT 水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

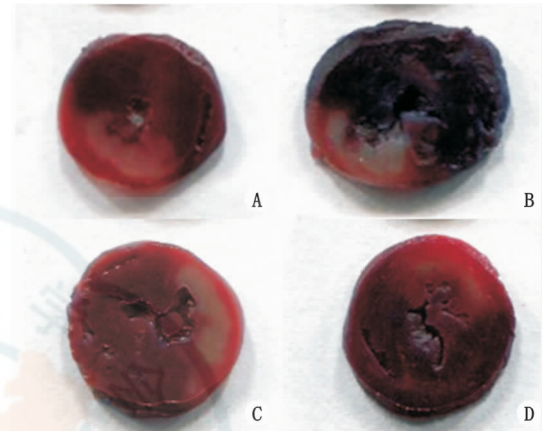
### 2.3 各组大鼠血清 SOD 和 MDA 含量

与 NIR 组比较, NIPO 组 SOD 显著升高 ( $P < 0.01$ ), MAD 降低 ( $P < 0.05$ ); 与 DMIR 组比较, DMIPO 组 SOD 及 MAD 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 1 各组大鼠心肌缺血面积和梗死面积的比较 ( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

组别	缺血面积 (%)	梗死面积 (%)
NIR 组	54.1 $\pm$ 5.2	33.2 $\pm$ 4.3
NIPO 组	48.9 $\pm$ 5.5	23.8 $\pm$ 4.7 <sup>a</sup>
DMIR 组	51.2 $\pm$ 4.6	44.8 $\pm$ 5.7 <sup>b</sup>
DMIPO 组	49.6 $\pm$ 6.4	42.9 $\pm$ 5.4 <sup>b</sup>

注: 与 NIR 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$



存活的心肌呈蓝色, 缺血区心肌呈砖红色, 梗死区心肌呈灰白色; A: NIR 组, 灰白色梗死区范围占 30% 左右, 砖红色缺血区超过 50%, 蓝色存活的心肌范围在 20% 以内; B: NIPO 组, 灰白色梗死区范围占 20% 左右, 与 NIR 组比较明显缩小, 蓝色存活的心肌范围在 20% ~ 30% 之间, 与 NIR 组比较明显扩大; C: DMIR: 灰白色梗死区范围占 44% 左右, 与 NIR 组比较显著扩大, 蓝色存活的心肌范围  $< 10\%$ ; D: DMIPO 组, 与 DMIR 组比较灰白色梗死区范围及蓝色存活的心肌范围差异无统计学意义

图 1 各组大鼠心肌梗死面积比较

表 2 各组大鼠血清心肌损伤标志物水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	CK-MB (U/L)	cTnT (ng/mL)
NS 组	10	674.34 $\pm$ 54.24	0.24 $\pm$ 0.01
NIR 组	16	2154.76 $\pm$ 72.14 <sup>c</sup>	3.95 $\pm$ 0.48 <sup>c</sup>
NIPO 组	16	1208.64 $\pm$ 52.89 <sup>a</sup>	1.72 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
DMS 组	10	549.08 $\pm$ 45.24	0.32 $\pm$ 0.02
DMIR 组	16	2245.84 $\pm$ 62.61 <sup>d</sup>	4.34 $\pm$ 0.36 <sup>d</sup>
DMIPO 组	16	2185.86 $\pm$ 66.08 <sup>b</sup>	4.09 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>

注: 与 NIR 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与 DMIR 组比较, <sup>b</sup> $P > 0.05$ ; 与 NS 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与 DMS 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.01$

表 3 各组大鼠血清 SOD 和 MDA 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	SOD (ng/mL)	MAD (nmol/mL)
NS 组	10	60.36 $\pm$ 4.23	6.34 $\pm$ 0.12
NIR 组	16	41.24 $\pm$ 4.67 <sup>d</sup>	9.36 $\pm$ 0.23 <sup>d</sup>
NIPO 组	16	58.18 $\pm$ 3.84 <sup>ad</sup>	8.04 $\pm$ 0.18 <sup>bde</sup>
DMS 组	10	53.22 $\pm$ 4.17	6.52 $\pm$ 0.14
DMIR 组	16	37.28 $\pm$ 2.32 <sup>d</sup>	8.95 $\pm$ 0.21 <sup>d</sup>
DMIPO 组	16	38.48 $\pm$ 3.40 <sup>a</sup>	8.22 $\pm$ 0.43 <sup>c</sup>

注: 与 NIR 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 DMIR 组比较, <sup>c</sup> $P > 0.05$ ; 与 NS 组及 DMS 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.01$ , <sup>e</sup> $P < 0.05$

## 2.4 各组大鼠血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$ 含量

与 NIR 组比较, NIPO 组 IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  显著降低 ( $P < 0.01$ ), IL-6 降低 ( $P < 0.05$ ); 与 DMIR 组比较, DMIPPO 组血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  含量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 4。

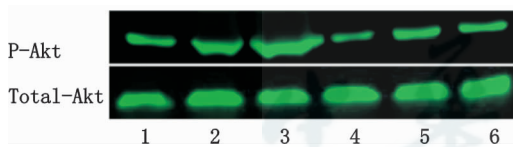
表 4 各组大鼠血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	IL-1 $\beta$ (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)	TNF- $\alpha$ (ng/mL)
NS 组	10	0.28 $\pm$ 0.15	132.41 $\pm$ 28.01	1.52 $\pm$ 0.21
NIR 组	16	0.58 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	296.32 $\pm$ 44.32 <sup>a</sup>	3.54 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
NIPO 组	16	0.45 $\pm$ 0.11 <sup>ac</sup>	240.89 $\pm$ 32.45 <sup>bd</sup>	2.75 $\pm$ 0.28 <sup>ac</sup>
DMS 组	10	0.32 $\pm$ 0.14	142.83 $\pm$ 25.47	1.98 $\pm$ 21.05
DMIR 组	16	0.64 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	342.18 $\pm$ 32.48 <sup>a</sup>	3.75 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>
DMIPPO 组	16	0.62 $\pm$ 0.13 <sup>ac</sup>	329.40 $\pm$ 22.54 <sup>ac</sup>	3.65 $\pm$ 0.24 <sup>ac</sup>

注: 与 NS 组及 DMS 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 NIR 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.05$ ; 与 DMIR 组比较, <sup>e</sup> $P > 0.05$

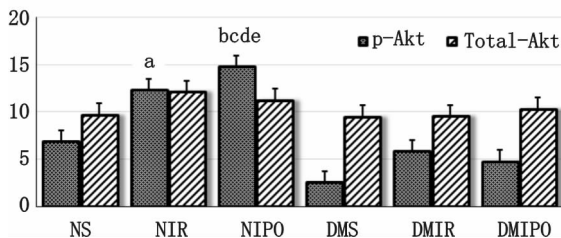
## 2.5 各组大鼠血浆脂联素及心肌组织 p-Akt 和 Total-Akt 蛋白表达

与 NS 组比较, NIR 组和 NIPO 组血清脂联素和 p-Akt 蛋白表达显著上调 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ); DMS 组 p-Akt 蛋白表达显著下调 ( $P < 0.05$ ); 其余各组 APN 及 p-Akt 蛋白表达下调, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与 NIPO 比较, DMS 组、DMIR 组及 DMIPPO 组 APN 和 p-Akt 蛋白表达下调 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ); 6 组大鼠心肌组织总 p-Akt 蛋白表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 5、图 2、图 3。血浆 APN 的表达水平与心肌梗死面积呈负相关, 而与心肌组织中 p-Akt 表达水平呈正相关, 两者的相关系数分别为 0.63 和 0.65 ( $P < 0.01$ )。



P-Akt: 磷酸化蛋白激酶 B; Total-Akt: 总蛋白激酶 B。1: NS 组; 2: NIR 组; 3: NIPO 组; 4: DMS 组; 5: DMIR 组; 6: DMIPPO 组

图 2 各组大鼠心肌组织 p-Akt 和 Total-Akt 蛋白表达



与 NS 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与 DMS 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与 DMIR 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.01$ , 与 DMIPPO 组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$

图 3 缺血后处理对正常与糖尿病心肌 p-Akt 及 total-Akt 蛋白表达的影响

表 5 各组大鼠血浆脂联素及心肌组织 p-Akt 和 Total-Akt 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	APN (mg/L)	p-Akt	Total-Akt
NS 组	8	8.49 $\pm$ 0.77	6.86 $\pm$ 1.71	9.72 $\pm$ 1.91
NIR 组	16	13.09 $\pm$ 1.66 <sup>e</sup>	12.32 $\pm$ 1.42 <sup>b</sup>	12.13 $\pm$ 1.51
NIPO 组	16	15.63 $\pm$ 1.99 <sup>acdf</sup>	14.79 $\pm$ 2.01 <sup>acdf</sup>	11.22 $\pm$ 2.76
DMS 组	8	4.27 $\pm$ 1.44	2.54 $\pm$ 1.41 <sup>b</sup>	9.51 $\pm$ 2.01
DMIR 组	16	5.25 $\pm$ 1.30	5.86 $\pm$ 1.76	9.54 $\pm$ 1.73
DMIPPO 组	16	5.01 $\pm$ 1.56	4.75 $\pm$ 1.01	10.31 $\pm$ 2.30

注: 与 NS 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 DMS 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与 DMIR 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.01$ , <sup>e</sup> $P < 0.05$ ; 与 DMIPPO 组比较, <sup>f</sup> $P < 0.05$

## 3 讨论

缺血后处理 (IPO) 能减轻氧化应激损伤, 减少线粒体钙超载, 减缓凋亡细胞的死亡<sup>[5]</sup>, 激活再灌注损伤抢救激酶通路、线粒体 ATP 敏感钾离子通道及抑制线粒体渗透孔道的开放等<sup>[6]</sup>, 进而减少心肌梗死面积, 改善心功能。随着防治缺血-再灌注损伤基础理论研究的不断深入, 更接近临床实用的缺血后处理及缺血预处理方面研究做了大量工作<sup>[7-8]</sup>, 但在糖尿病心肌缺血-再灌注损伤, 缺血后处理的影响、分子机制及临床应用可能性研究较少, 本实验通过观察正常及糖尿病大鼠缺血-再灌注及 IPO 大鼠心肌梗死面积和心肌损伤标志物的释放, 探讨在糖尿病大鼠 IPO 是否能减少缺血-再灌注损伤及其机制, 推测临床应用的可能性。

氧化应激和早期炎症反应是心肌再灌注损伤的两个主要病理机制, 再灌注过程中大量氧自由基和活性氧产生可直接损伤心肌细胞, 他们与组成细胞的脂质、蛋白质及核酸等直接反应, 导致细胞结构和功能改变, 引起细胞损伤和死亡<sup>[9]</sup>。SOD 是一种广泛存在于生物体内的金属酶, 它可清除生物体内再利用氧的过程中产生的超氧阴离子。MDA 是生物膜发生脂质过氧化的重要产物, 其含量是衡量氧自由基对细胞损害的标志之一。本实验表明, IPO 能显著提高正常大鼠心肌缺血-再灌注后血清 SOD 含量, 降低血清 MDA 含量, 增加机体对超氧负离子的清除, 保护心肌细胞, 抑制再灌注时氧化应激对心肌的损害。但 IPO 不能提高糖尿病大鼠心肌缺血-再灌注后血清 SOD 含量, 不能降低血清 MDA 含量, 不能减轻再灌注时氧化应激对心肌的损害。

缺血-再灌注过程中, 氧化应激与早期炎症的触发有着密切的关系<sup>[10]</sup>。促炎性细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  在再灌注过程中大量释放, 进一步诱导细胞因子的级联反应, 上调黏附分子和炎症趋化因子, 加速中性粒细胞和单核细胞浸润心肌组织, 激活中性粒细胞和巨嗜细胞, 可引起呼吸爆发, 释放大量氧自由基, 导致心肌收缩力减弱和心肌细胞凋亡等不可逆性心肌损伤。本实验研究发现, IPO 显著降低血清促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  在再灌注过程中大量释放, 减小心肌梗死面积及心肌细胞损伤程度, 但

在糖尿病大鼠 IPO 上述保护作用不明显。

APN 是 Scherer 等<sup>[11]</sup>于 1995 年从鼠的脂肪细胞中克隆出的一种新 cDNA, 近十年的实验与临床<sup>[12]</sup>发现 APN 主要有三种生物学功能: 胰岛素增敏/代谢调节功能(主要是肝脏和肌肉); 抗炎/血管保护功能; 抗缺血心肌保护功能。APN 高表达, 通过对巨噬细胞抗炎表型极化的抑制作用, 可以制止代谢和心血管病恶化<sup>[13]</sup>。大量流行病学调查显示伴有高血糖的肥胖和糖尿病患者中, APN 水平降低, 且 APN 水平越低, 其患心血管疾病风险越高。血浆 APN 浓度与与胰岛素水平负相关。APN 表达分泌受体内一些炎症因子、转录因子、激素等因素调节, 如炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症介质抑制 APN 的表达分泌, 其中 TNF- $\alpha$  可通过强烈抑制 APN 启动子的活性而发挥作用。在肥胖状态大多数脂肪因子是上调的, 通常充当前炎症介质促进疾病过程。相反, APN 因肥胖而下调<sup>[14]</sup>。Shibata 等<sup>[15]</sup>和 Tao 等<sup>[16]</sup>证实 APN 敲除小鼠对心肌缺血-再灌注损伤易感性增加, 并且在再灌注前给予 APN 的重组体, 可以显著减少心肌梗死面积。这些结果提示在 II 型糖尿病患者中, APN 水平降低, 不仅促进了缺血性心脏病的发生, 还加重了缺血-再灌注后心肌细胞死亡。因此, APN 具有抗炎/血管保护功能, 及抗缺血心肌保护功能。本研究结果缺血-再灌注尤其是缺血后处理引起 APN 显著升高, 而糖尿病心肌中, APN 表达受到抑制, 且缺血-再灌注损伤与后处理均不能上调其表达水平, 心肌梗死面积增大。

PI3K/Akt 信号转导通路是维持细胞周期运行, 抑制细胞凋亡, 促进细胞生长增殖的重要因素。在心肌细胞中 PI3K/Akt 通路的激活可减轻胞内钙超载, 维持线粒体膜稳定性, 防止因线粒体 mPTP 的开放而导致的后续氧化损伤和凋亡反应, 是心肌细胞重要的内源性抗氧化防御机制<sup>[17]</sup>。而缺血后处理作为重要的机体内源性保护措施, 可通过 PI3K/Akt 通路激活发挥保护作用。研究发现糖尿病心肌缺血-再灌注损伤后缺血后处理的保护作用消失, 进一步研究显示缺血后处理保护作用消失的机制与 PI3K/Akt 通路失活密切相关<sup>[18-19]</sup>。Wang 等<sup>[20]</sup>证实 N-乙酰半胱氨酸和别嘌呤醇协同减弱糖尿病大鼠心肌缺血-再灌注损伤机制是通过 APN 上调 PI3K/Akt 通路而实现。与本研究结果相一致。

本实验证实正常大鼠缺血-再灌注期间及缺血后处理后心肌梗死面积逐渐减小, 心肌损伤坏死程度显著减轻, APN 表达及活化 Akt 通道蛋白量依次增高; 而在糖尿病大鼠 APN 表达及活化 Akt 通道蛋白量降低, 且缺血-再灌注、缺血后处理均不能上调 APN 表达, 相关 Akt 通道蛋白活化量亦降低, APN 的低表达及 PI3K/Akt 通路失活作用下增加了糖尿病心肌对缺血的敏感度, 与 Smith 和 Yellon<sup>[21]</sup>研究结果相似, 表明糖尿病缺血-再灌注损伤加重及缺血后处理无法实现对糖尿病心肌缺血的保护作用。本研究结果表明在正常心肌缺血-再灌注及缺血后处理引起 APN 升高且伴随着 p-Akt 的升高, APN 与 p-Akt 的表达呈显著正相关。而

糖尿病心肌中 APN 表达受到抑制, 且缺血-再灌注损伤与缺血后处理均不能上调其表达, p-Akt 的低表达使其无法通过调节 PI3K/Akt 信号通路而发挥保护作用。

IPO 能减少缺血-再灌注大鼠心肌梗死面积, 但在糖尿病大鼠 IPO 不能减少缺血-再灌注大鼠心肌梗死面积, 本研究提示其可能机制: 糖尿病大鼠 IPO 不能提高保护性因子水平如血清 APN、SOD 等; 糖尿病大鼠 IPO 不能降低损伤性因子水平如 MDA 及降低血清促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  在再灌注过程中大量释放; 糖尿病大鼠 IPO 保护作用消失的机制与 PI3K/Akt 通路失活密切相关。提示糖尿病患者合并急性心肌梗死不能通过缺血后处理减少心肌梗死面积, 改善预后。缺血后处理不适用于糖尿病心肌梗死等相关缺血-再灌注损伤患者的预防。

### 参考文献

- [1] Buchholz B, Donato M, D'Annunzio V, et al. Ischemic postconditioning: mechanisms, comorbidities, and clinical application [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 392 (1/2): 1-12. DOI: 10.1007/s11010-014-2014-6.
- [2] Capes SE, Hunt D, Malmberg K, et al. Stress hyperglycaemia and increased risk of death after myocardial infarction in patients with and without diabetes: a systematic overview [J]. *Lancet*, 2000, 355 (9206): 773-778. DOI: org/10.1016/S0140-6736 (99) 08415-9.
- [3] Otel I, Ledru F, Danchin N. Ischemic heart disease in type 2 diabetes [J]. *Metabolism*, 2003, 52 (1): 6-12. DOI: org/10.1016/S0026-0495 (03) 00216-6.
- [4] Elahi MM, Matata BM. Myocardial protection against ischemia-reperfusion injury: novel approaches in maintaining homeostatic stability in blood [J]. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*, 2006, 1 (3): 291-305. DOI: 10.2174/157489006778777007.
- [5] Sun HY, Wang NP, Kerendi F, et al. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular Ca<sup>2+</sup> overload [J]. *Am J Physiol*, 2005, 288 (4): H1900-1908. DOI: 10.1152/ajpheart.01244.2003.
- [6] Dow J, Bhandari A, Kloner RA. The mechanism by which ischemic postconditioning reduces reperfusion arrhythmias in rats remains elusive [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2009, 14 (2): 99-103. DOI: 10.1177/1074248408329606.
- [7] Zhang GM, Wang Y, Li TD, et al. Post-Conditioning with gradually increased reperfusion provides better cardioprotection in rats [J]. *World J Emerg Med*, 2014, 5 (2): 128-134. DOI: 10.5847/wjem.j.issn.1920-8642.2014.02.009.
- [8] 冉斌, 谭春燕, 胡厚祥, 等. 美托洛尔抑制缺氧/复氧诱导的心肌凋亡 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2015, 24 (7): 719-724. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2015.07.006.  
Ran B, Tan CY, Hu HX, et al. Protective effects of Metoprolol on myocardial cell apoptosis of neonatal mouse after hypoxia/reoxygenation [J]. *Chin J Emerg Med*, 2015, 24 (7): 719-724.
- [9] Dhalla NS, Elmosehli AB, Hata T, et al. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2000, 47 (3): 446-456. DOI: 10.1016/S0008-6363 (00) 00078-X.

[10] Wong CH, Crack PJ. Modulation of neuro-inflammation and vascular response by oxidative stress following cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15 (1): 1-14. DOI: 10.2174/092986708783330665.

[11] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes [J]. *Biol Chem*, 1995, 270 (45): 26746-26749. DOI: 10.1074/jbc.270.45.26746.

[12] Maeda K, Okubo K, Shimomura I, et al. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). 1996 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 425 (3): 556-559. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.08.023.

[13] Ohashi K, Parker J, Ouchi N, et al. Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype [J]. *J Bio Chem*, 2009, 285 (9): 6153-6160. DOI: 10.1074/jbc.M109.088708.

[14] Ouchi N, Walsh K. Cardiovascular and metabolic regulation by the adiponectin/C1q/tumor necrosis factor-related protein family of proteins [J]. *Circulation*, 2012, 125 (25): 3066-3068. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.114181.

[15] Shibata R, Sato K, Pimentel DR, et al. Adiponectin protects against myocardial ischemic-reperfusion injury through AMPK-and COX-2-dependent mechanisms [J]. *Nat Med*, 2005, 11 (10): 1096-1103. DOI: 10.1038/nm1295.

[16] Tao L, Gao E, Jiao X, et al. Adiponectin cardioprotection after myocardial ischemia/reperfusion involves the reduction of oxidative/nitrative stress [J]. *Circulation*, 2007, 115 (11): 1408-1416. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.666941.

[17] Hausenloy DJ, Tsang A, Yellon DM. The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2005, 15 (2): 69-75. DOI: 10.1016/j.tcm.2005.03.001.

[18] Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia - reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK) -pathway [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 61 (3): 448-460. DOI: 10.1016/j.cardiores.2003.09.024.

[19] Ghaboura N, Tamarelle S, Ducluzeau PH, et al. Diabetes mellitus abrogates erythropoietin-induced cardioprotection against ischemic-reperfusion injury by alteration of the RISK/GSK-3β signaling [J]. *Basic Res Cardiol*, 2011, 106 (1): 147-162. DOI: 10.1007/s00395-010-0130-3.

[20] Wang T, Mao X, Qiao S, et al. N-Acetylcysteine and allopurinol up-regulated the Jak/STAT3 and PI3K/Akt pathways via adiponectin and attenuated myocardial postischemic injury in diabetes [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 63 (5): 291-303. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.043.

[21] Smith CC, Yellon DM. Adipocytokines, cardiovascular pathophysiology and myocardial protection [J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 129 (2): 206-219. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2010.09.003.

(收稿日期: 2015-12-07)

(本文编辑: 邵菊芳)

## 读者 · 作者 · 编者

### 借力“互联网+” 学以致用更便捷——“急诊专家共识” App

为了拓宽获取专业知识途径、寻找新鲜辅助工具、提高诊断效率、优化诊断流程, 中华急诊医学杂志和法国梅里埃公司联合开发了《急诊专家共识》App, 现已各大应用商店发布可供下载。

App 内容包括专家共识、临床预测规则、急诊解决方案等, 目前已发布的专家共识包括“D-二聚体检测”急诊临床应用专家共识、降钙素原 (PCT) 急诊临床应用专家共识、临床检验危急值临床应用专家共识 (成人)、急诊超声标准操作规范、上海市急诊/ICU 质量建设标准、急性酒精中毒诊治专家共识、心脏骤停后应用目标性温度管理的加拿大联合指南、血流动力学不稳定骨盆骨折急诊处理专家共识、自发性脑出血诊断治疗中国多学科专家共识、2015 年中国急诊社区获得性肺炎临床实践指南、国际复苏联合会和美国心脏学会关于心脏骤停后体温管理的建议、急性非创伤性胸痛生物标志物联合检测专家共识、卒中相关性肺炎的诊断——卒中并发肺炎专家组共识、中国急性胃黏膜病变急诊专家共识等。今后将根据需要持续更新其他专家共识和相关内容。

请登录各大应用商店搜索“急诊专家共识”下载安装 App。也可扫描以下二维码下载。

