

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2021.02.014

电针预处理对心肌缺血再灌注模型大鼠心肌组织 FXR 基因及心肌细胞线粒体功能的影响

林依梦, 张小蕾, 吴松, 万碧江, 薛艺璇, 黄伟✉

湖北中医药大学/针灸治未病湖北省协同创新中心, 湖北省武汉市武昌区昙华林 188 号, 430061

摘要 目的 探讨电针预处理改善心肌缺血再灌注损伤的可能作用机制。方法 40 只 Wistar 大鼠随机分为假手术组、缺血再灌注组、FXR 抑制剂组及电针预处理组, 每组 10 只。各组大鼠均予捆绑固定 7 天后, 除假手术组外其余各组均进行心肌缺血再灌注造模处理。FXR 抑制剂组第 8 天尾静脉注射法尼酯 X 受体 (FXR) 抑制剂 z-Guggulsterone $0.4 \mu\text{l/g}$ 后再造模, 电针预处理组从第 1 天开始取“内关”“足三里”“关元”电针 7 天, 第 8 天再造模。造模后测定大鼠血清白细胞介素 8 (IL-8) 浓度及心肌细胞线粒体呼吸链酶活性及 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性, 检测心肌组织 FXR 基因表达水平。结果 与假手术组相比, 缺血再灌注组 IL-8 浓度升高, 呼吸链酶 I、II、III、IV 及 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性均降低, FXR 基因表达水平上调 ($P < 0.01$)。与缺血再灌注组相比, FXR 抑制剂组与电针预处理组 IL-8 浓度均降低, 呼吸链酶 I、II、III、IV 及 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性升高, FXR 基因表达水平降低 ($P < 0.01$)。与 FXR 抑制剂组比较, 电针预处理组 IL-8 浓度、FXR 基因表达水平升高, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性及呼吸链酶 III、IV 均降低 ($P < 0.05$)。结论 电针预处理可能通过降低血清 IL-8 浓度, 提高心肌细胞线粒体呼吸链复合酶、ATP 酶活性, 下调 FXR 基因表达, 从而改善心肌缺血再灌注损伤。

关键词 电针; 心肌缺血再灌注; 线粒体呼吸链酶; $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶; $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶; 法尼酯 X 受体

心肌缺血是因心肌灌注血液减少, 心脏供氧量减低, 无法支持心脏正常工作的一种病理状态^[1]。研究表明, 心肌缺血再灌注后心肌受损程度可进一步加重, 心肌缺血再灌注损伤心肌面积可占全部梗死面积的 50%^[2]。心肌缺血再灌注损伤涉及许多因素, 如氧自由基形成、炎性反应、钙超载、线粒体、细胞 pH 值等^[3]。临床研究表明, 电针预处理可以改善心肌缺血再灌注损伤情况^[4], 但其机制研究尚未完全清晰。本研究通过观察电针预处理对心肌缺血再灌注模型大鼠血清中白细胞介素 8 (IL-8) 浓度, 心肌细胞线粒体呼吸链酶复合酶活性及 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性, 心肌组织法尼酯 X 受体 (FXR) 基因表达水平的影响, 探讨电针预处理降低心肌缺血再灌注损伤的可能作

用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 40 只, 3 月龄, 体重 180 ~ 220 g, 由湖北省实验动物研究中心购入, 实验动物许可号: SCXK (鄂) 2015-0018。饲养于湖北中医药大学实验动物中心, 每笼 5 只, 常规饲料和消毒无菌水喂养, 室温 (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 湿度 45% ~ 55%, 适应性饲养 1 周后开始实验。

1.2 主要试剂及器材

组织线粒体提取试剂盒 (批号 C3606)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (批号 P0012S), 均购自碧云天生物技术有限公司; 大鼠线粒体呼吸链酶 I、II、III、IV ELISA 试剂盒 (江苏酶免实业有限公司, 批号 MM-0818R2、MM-0821R2、MM-0824R2、MM-0826R2); PBS 溶液 (美国 Gibco 公司, 批号 C0221A); Trizol RNA 分离试剂 (美国 Invitrogen 生物科技公司, 批号 15596-026); cDNA 合成试剂盒 (赛默飞世尔科技有限公司, 批号 K1622);

基金项目: 国家自然科学基金 (81704142); 湖北省中医院首批昙华林名医、昙华林子培养项目 (鄂中医院子 [2018] 72 号); 国家中医药管理局中药传承与创新“百千万”人才工程 (岐黄工程) (国中医药人教函 (2018) 284 号)

✉ 通讯作者: huangwei@hbhtcm.com

FXR 抑制剂 z-Guggulsterone (美国 APEX BIO 生物技术有限公司, 批号 B7431); 戊巴比妥钠 (美国 Sigma 公司, 批号 P3761); UltraSYBR Mixture (康为世纪生物科技有限公司, 批号 CW0957)。

环球牌 0.25 mm × 13 mm 无菌针灸针 (苏州针灸用品厂有限公司); HANS-200 型电针治疗仪 (南京济生医疗科技有限公司); CFX96 型荧光定量 PCR 仪 (美国伯乐公司); ALC-V 系列动物呼吸机 (上海奥尔科特生物科技有限公司); ST-360 型酶标仪 (上海科华生物工程股份有限公司); TGL-40B 型台式离心机 (上海安亭科学仪器厂); BL-420S 型生物机能实验系统 (成都泰盟科技有限公司); FA1204B 型电子天平 (上海精密仪器仪表厂)。

1.3 心肌缺血再灌注造模方法^[8]

造模前一晚大鼠禁食水, 1.5% 戊巴比妥钠溶液 (0.2 ml/100 g) 腹腔注射麻醉大鼠, 待大鼠无明显浅反射后, 将其颈部、胸部剃毛便于后续操作。将大鼠仰卧固定于手术台, 连通生物机能实验系统, 75% 酒精消毒, 在颈部正中切开一小口后使用止血钳钝性分离皮下筋膜组织 (减少出血), 暴露、分离气管, 连接呼吸机导管刺入大鼠气管并固定, 调整呼吸频率为 75 次/min, 呼吸比 1:1, 潮气量 11.5 ml/100 g, 呼吸机入气端接 1 L/min 的氧流量, 根据大鼠呼吸频率及深度调节呼吸参数。75% 酒精消毒, 于大鼠胸骨左侧 3~4 肋处做一横切口, 分离皮下筋膜、肌肉组织, 暴露胸骨及肋骨后, 沿胸骨左缘约 0.5 cm 处, 用止血钳剥离第 3、4 肋间肌肉, 后用开胸器扩开两侧的肋骨以暴露胸腔内心脏。小心撕去心包膜后, 在左前降支上 1/4~1/2 之间进针, 迅速结扎血管后出针, 待缺血 20 min 剪开结扎, 使其再灌注 30 min, 造模期间密切关注大鼠生命体征情况。造模成功结扎后可见大鼠心前区较其他未缺血心肌变灰白, 再灌注时可见心前区逐渐恢复红色。本次实验大鼠均造模成功。

1.4 动物分组与干预方法

所有动物进行编号, 采用随机数字表分为假手术组、缺血再灌注组、FXR 抑制剂组及电针预处理组, 每组 10 只。各组大鼠均每天捆绑 1 次, 每次 20 min, 共 7 天。

假手术组第 8 天大鼠麻醉后开胸暴露后取材。缺血再灌注组于第 8 天大鼠麻醉后心肌缺血再灌注造模后取材。FXR 抑制剂组于第 7 天捆绑结束后, 尾静脉注射 FXR 抑制剂 z-Guggulsterone 0.4 μl/g, 第 8 天大鼠麻醉造模后取材。电针预处理组从第 1

天开始采用电针干预, 共 7 天, 第 8 天大鼠麻醉造模后取材。

电针方法: 参照《实验动物穴位图谱》^[9] 取双侧“内关”直刺 1 mm, 双侧“足三里”直刺 7 mm, “关元”直刺 2 mm; 同侧“内关”“足三里”接 1 组电针, 两侧交替使用“关元”附近旁开 0.5 cm 处再浅刺 (直刺 2 mm) 1 针, 两者接 1 组电针。采用频率 2 Hz、强度 1 mA 的连续波, 每次 20 min。

1.5 标本采集

待大鼠心肌缺血再灌注完成后, 立即打开大鼠腹腔, 自腹主动脉取血 2 ml, 静置 15 min 后分离血清, 标记分类后, 放至 -80 °C 冰箱内冻存。取血完成后即刻剖取大鼠心脏, 分离缺血心肌区域。分离约 100 mg 心肌组织, 在 1.5 ml 离心管内其进行称重后 PBS 洗涤组织 1 次; 剪碎心肌组织, 采用组织线粒体分离试剂分离得到线粒体。另取其中一块心肌组织加入 1 ml Triol RNA 分离试剂, 研磨棒冰上迅速研磨, 待心肌细胞充分研磨后, 装入已消毒标记好的 EP 管内, 放至 -80 °C 冰箱内冻存。

1.6 观察指标与方法

1.6.1 血清 IL-8 浓度检测 取备用血清样本, 采用酶联免疫法测定 IL-8 浓度, 严格按照 ELISA 试剂盒说明书步骤执行, 酶标仪测定相应 OD 值。

1.6.2 心肌细胞线粒体呼吸链酶 I、II、III、IV 活性检测 分离所得心肌细胞线粒体, 用 BCA 法测定蛋白含量, 调整各样品的蛋白浓度一致。严格按照 ELISA 试剂盒说明书测定, 利用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值, 绘制相应标准曲线, 按曲线方程计算样本活性。

1.6.3 心肌细胞线粒体 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}/\text{ATP}$ 酶活性检测 采取定磷法, 通过无机磷在反应中的释放量来测定心肌组织内 ATP 的活性, 酶活性以单位时间里每克蛋白释放 ATP 所需的无机磷量 (Pi) 表示。按照 ATP 酶检测试剂盒说明步骤操作, 酶标仪测定吸光度值。

1.6.4 qRT-PCR 法检测心肌组织 FXR 基因表达 取 EP 管中备用心肌标本, 按 Trizol 法提取各样本的总 RNA 后按 cDNA 合成试剂盒说明书操作, 合成各样本的 cDNA, 以 β -actin 为内参。用荧光定量 PCR 仪进行定量分析, 结果用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 FXR 基因的相对表达量。引物由武汉奥科生物有限公司提供, FXR: 上游 5'-TCTCATATTAACAGAAATG-GCTACCTCGCTGCTCCTCATTCACTGT-3', 下游 5'-

TCGCTGTCCTCATTCCTGT -3', 产物大小 101 bp;
β-actin: 上游 5'-CTGAACCTAAGGCCAACCC-3',
下游 5'-GTACGACCAGAGGCATACAGG -3', 产物
大小 116 bp。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件处理, 计量数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 数据均符合正态分布且方差齐, 多组比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清 IL-8 浓度比较

表 1 示, 与假手术组比较, 其余各组血清 IL-8 浓度显著升高 ($P < 0.01$); 与缺血再灌注组比较, FXR 抑制剂组、电针预处理组血清 IL-8 浓度显著降低 ($P < 0.01$); 电针预处理组血清 IL-8 浓度显著高于 FXR 抑制剂组 ($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠血清 IL-8 浓度比较 (ng/ml , $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	IL-8
假手术组	10	235.37 ± 22.86
缺血再灌注组	10	520.76 ± 54.09 ^{a)}
FXR 抑制剂组	10	302.47 ± 30.56 ^{a) b)}
电针预处理组	10	389.05 ± 36.17 ^{a) b) c)}

注: IL-8, 白细胞介素 8。

a) 与假手术组比较, $P < 0.01$; b) 与缺血再灌注组比较, $P < 0.01$; c) 与 FXR 抑制剂组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠心肌细胞线粒体呼吸链酶 I、II、III、IV 活性比较

表 2 示, 与假手术组比较, 其余各组呼吸链酶 I、II、III、IV 活性降低 ($P < 0.01$); 与缺血再灌注组比较, FXR 抑制剂组与电针预处理组各呼吸链酶活性均升高 ($P < 0.01$); FXR 抑制剂组呼吸链酶 III、IV 活性均高于电针预处理组 ($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠心肌细胞线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性比较

表 3 示, 与假手术组比较, 其余各组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性降低 ($P < 0.01$); 与缺血再灌注组比较, FXR 抑制剂组和电针预处理

组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性均升高 ($P < 0.01$); FXR 抑制剂组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性均高于电针预处理组 ($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠心肌细胞线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和

$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性比较 (mmol Pi/g Pro , $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶	$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶
假手术组	10	6.14 ± 0.77	7.60 ± 0.91
缺血再灌注组	10	3.89 ± 0.81 ^{a)}	5.40 ± 0.65 ^{a)}
FXR 抑制剂组	10	5.31 ± 0.73 ^{a) b)}	6.71 ± 0.53 ^{a) b)}
电针预处理组	10	5.01 ± 0.85 ^{a) b) c)}	6.09 ± 0.74 ^{a) b) c)}

注: a) 与假手术组比较, $P < 0.01$; b) 与缺血再灌注组比较, $P < 0.01$; c) 与 FXR 抑制剂组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 各组大鼠心肌组织 FXR 基因表达水平比较

表 4 示, 与假手术组比较, 其余各组心肌组织 FXR 基因表达水平上调 ($P < 0.01$); 与缺血再灌注组比较, FXR 抑制剂组、电针预处理组心肌组织 FXR 基因表达水平降低 ($P < 0.01$); FXR 抑制剂组心肌组织 FXR 基因表达水平低于电针预处理组 ($P < 0.05$)。

表 4 各组大鼠心肌组织 FXR 基因相对表达

水平比较 ($1/\beta\text{-actin}$, $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	FXR 基因
假手术组	10	1.00 ± 0.24
缺血再灌注组	10	1.85 ± 0.27 ^{a)}
FXR 抑制剂组	10	1.07 ± 0.21 ^{a) b)}
电针预处理组	10	1.31 ± 0.25 ^{a) b) c)}

注: FXR, 法尼酯 X 受体。

a) 与假手术组比较, $P < 0.01$; b) 与缺血再灌注组比较, $P < 0.01$; c) 与 FXR 抑制剂组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

心肌缺血再灌注是心肌细胞在缺血状况下, 通过再灌注转回心肌缺血造成的可逆性损伤。心肌缺血再灌注损伤可导致心肌细胞的凋亡、坏死、脂质过氧化物的大量堆积, 自由基的增加等^[3]。电针预处理是在针刺预处理的基础上配合电针治疗, 以提高疗效。已有研究^[4,7-8]表明, 电针预处理能够有效减轻心肌缺血再灌注损伤, 在多种机制上改善机体功能, 对心肌细胞起到保护作用。

表 2 各组大鼠心肌细胞线粒体呼吸链酶 I、II、III、IV 活性比较

($\text{nmol/min} \cdot \text{mg}$, $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	呼吸链酶 I	呼吸链酶 II	呼吸链酶 III	呼吸链酶 IV
假手术组	10	233.45 ± 21.02	552.98 ± 41.66	170.44 ± 15.40	1498.49 ± 134.29
缺血再灌注组	10	120.88 ± 10.70 ^{a)}	383.07 ± 44.35 ^{a)}	61.81 ± 7.82 ^{a)}	530.98 ± 47.21 ^{a)}
FXR 抑制剂组	10	160.59 ± 18.30 ^{a) b)}	476.29 ± 59.80 ^{a) b)}	120.22 ± 11.40 ^{a) b)}	1112.72 ± 109.83 ^{a) b)}
电针预处理组	10	175.47 ± 20.50 ^{a) b)}	454.17 ± 38.79 ^{a) b)}	97.50 ± 8.63 ^{a) b) c)}	896.94 ± 91.15 ^{a) b) c)}

注: a) 与假手术组比较, $P < 0.01$; b) 与缺血再灌注组比较, $P < 0.01$; c) 与 FXR 抑制剂组比较, $P < 0.05$ 。

电针预处理的结果与针刺穴位的选取密切相关, 适宜正确的腧穴能达到更优的预防成果。本实验选取大鼠“内关”“足三里”“关元”进行电针预处理。内关作为心包经络穴, 又是八脉交会穴, 主治心系疾病, 在治疗心肌缺血再灌注上的效果已被多次证明^[9-10]。足三里为胃经合穴, 又作为人体重要的保健穴位, 选择针刺足三里, 可以补益脾胃之气, 增强后天之本。关元为任脉腧穴, 亦是全身保健强壮之要穴, 针刺关元可培本固元, 达到“正气存内, 邪不可干”的目的。该腧穴配伍能够达到标本并治, 保护心肌的预处理目的。

IL-8 是由中心粒细胞、多核白细胞、内皮细胞等多种细胞在缺血、缺氧等情况下合成释放的多源性细胞因子, 对炎性细胞具有趋化作用^[11]。当心肌缺血再灌注时, IL-8 会增加中性粒细胞上的黏附分子表达, 诱使中性粒细胞在微循环中聚集, 阻止缺血心肌复流, 造成心肌损伤^[12]。本研究结果可见, 心肌缺血再灌注时血清 IL-8 浓度升高, FXR 抑制剂和电针预处理能够降低血清 IL-8 浓度, 抑制炎症反应, 从而保护心肌。

心肌缺血再灌注造成心肌损伤中, 线粒体的能量障碍是其重要因素之一^[13]。线粒体作为人体重要的细胞器, 既可以氧化磷酸化为机体提供所需的 ATP, 同时作为细胞凋亡的调控中心, 又能够调控细胞凋亡以保证机体的正常运行^[14], 故线粒体结构与功能的完整是保护心肌的重点。线粒体呼吸链酶 I、II、III、IV 协同合作, 实现呼吸链内电子传递, 最终传递至 O₂ 分子^[15]。线粒体呼吸链的整个电子传递过程中, 呼吸链酶复合物是非常重要的一个环节。同时, 心肌缺血再灌注过程的能量代谢与心肌线粒体中离子的转运密切相关。Na⁺-K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶可水解碱性磷酸酶释放能量, 维持 Na⁺、K⁺、Ca²⁺ 水平, 对细胞能量生成及细胞抗损伤过程有着重要作用^[16-17]。心肌缺血再灌注时, Na⁺-K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶失活, 心肌细胞内 Ca²⁺ 超载, ATP 大量消耗, 氧化应激削弱复合酶间的相互作用, 加剧心脏问题^[18-19]。本研究结果可见, 电针预处理提高了 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶活性, 稳定缺血损伤的心肌细胞膜, 抑制心肌细胞内 Ca²⁺ 超载, 维持细胞内外离子梯度或电化学梯度, 能够保护心肌线粒体呼吸链复合酶活性, 减轻心肌在缺血缺氧、再灌注时受到的损伤, 达到预防保护心肌的目的。

法尼酯 X 受体/小异二聚体配体 (FXR/SHP)

通路是最新研究发现的心肌细胞凋亡的通路之一, 心肌缺血再灌注时该凋亡通路被激活, 与心肌凋亡息息相关。前期研究^[2]已表明, 电针预处理可以一定程度地下调 FXR、SHP 基因的表达水平。因此, 通过抑制 FXR 基因表达可减少心肌缺血再灌注损伤。故本研究通过使用 FXR 抑制剂来抑制 FXR 基因的表达, 以观察缺血再灌注后对血清 IL-8 浓度及线粒体呼吸链功能的影响; 同时, 应用荧光定量 PCR 法检测 FXR 基因在各组大鼠心肌组织中的表达情况。结果显示, 心肌缺血再灌注时心肌组织 FXR 基因表达水平上调, 而 FXR 抑制剂组表达水平低于缺血再灌注组, 可见 FXR 抑制剂对 FXR 基因的表达起到一定的抑制作用, 同时血清 IL-8 水平下调, 线粒体呼吸链功能得以改善, 从而降低了心肌缺血再灌注损伤。而电针预处理组的结果与 FXR 抑制剂组的结果相一致, 提示电针预处理对心肌缺血再灌注损伤的保护作用可能是通过有效下调 FXR 基因水平、抑制炎症反应、改善线粒体呼吸链功能产生的。电针预处理是在中医学“治未病”理论基础上, 为临床防治缺血性心脏病提供了更多思路。

参考文献

- [1] BUJA LM. Myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. Cardiovasc Pathol, 2005, 14(4): 170-175.
- [2] YELLON DM, HAUSENLOY DJ. Myocardial reperfusion injury [J]. N Engl J Med, 2007, 357(11): 1121-1135.
- [3] BROWN DA, HALE SL, BAINES CP, et al. Reduction of early reperfusion injury with the mitochondria-targeting peptide Bendavia [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2014, 19(1): 121-132.
- [4] 钱钢, 翟昌林, 胡惠林, 等. 电针预处理对心肌缺血再灌注损伤保护作用及机制研究 [J]. 心电与循环, 2017, 36(3): 164-169.
- [5] 汪梦霞, 廖锦华, 马达, 等. 大鼠在体心肌缺血再灌注模型的建立 [J]. 临床医学工程, 2013, 20(5): 533-535.
- [6] 华兴邦, 周浩良. 大鼠穴位图谱的研制 [J]. 实验动物与动物实验, 1991(1): 1-5.
- [7] 李晨, 张小蕾, 薛艺璇, 等. 电针预处理对心肌缺血再灌注大鼠的保护作用及 FXR/SHP 基因的调控作用 [J]. 中国针灸, 2019, 39(8): 861-866.
- [8] 唐强, 张世强, 郑婷婷, 等. 电针预处理改善心肌缺血再灌注损伤机制的研究进展 [J]. 世界中西医结合杂志, 2019, 14(3): 151-154.
- [9] 陈松, 韩永丽, 吴松, 等. 针刺“内关”预处理对大鼠缺血再灌注心肌的保护作用及机制研究 [J]. 华中科技大

- 学学报(医学版), 2017, 46(5): 526-530.
- [[0] 韩永丽, 严江天, 吴松, 等. 电针内关预处理对心肌缺血再灌注大鼠模型血管内皮因子及线粒体功能影响[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(10): 2389-2393.
- [[1] 夏瑞, 杨光, 郑利民, 等. 异丙酚对家兔脑缺血/再灌注期血清白介素-8 的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2000, 20(4): 40-42.
- [[2] 任建军, 董振明, 赵煜毅. 异丙酚对兔缺血-再灌注心肌白介素-8 和心肌核转录因子- κ B 及细胞凋亡的影响[J]. 河北医药, 2009, 31(19): 2541-2543.
- [[3] 金思舒, 罗俊一, 杨毅宁. 线粒体动力学在心肌缺血/再灌注损伤中的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(13): 2526-2531.
- [[4] 朱玉山, 陈俭. 线粒体与细胞凋亡调控[J]. 生命科学, 2008, 20(4): 506-513.
- [[5] 吕宝北, 赵鹏翔, 张鑫, 等. 线粒体呼吸链复合物 I 结构和功能的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(02): 356-359, 380.
- [[6] 张丽伟. 芪参护心汤对大鼠再灌注心律失常心肌 Na^+ - K^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2009.
- [[7] 邱永升, 贾英萍, 李星, 等. 右旋美托咪定后处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国医院药理学杂志, 2016, 36(20): 1752-1755.
- [[8] MOSER CC, FARID TA, CHOBOT SE, et al. Electron tunneling chains of mitochondria[J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1757(9): 1096-1109.
- [[9] 吕磊, 王永园, 徐军. 线粒体活性氧在心肌缺血再灌注中的作用[J]. 国际心血管病杂志, 2017, 44(6): 338-340, 347.

Effect of Electroacupuncture Pretreatment on Farnesoid X Receptor Gene Expression and Mitochondrial Function in Rats Model of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury

LIN Yimeng, ZHANG Xiaolei, WU Song, WAN Bijiang, XUE Yixuan, HUANG Wei

Hubei University of Chinese Medicine/ Hubei Provincial Collaborative Innovation Center of Preventive Treatment by Acupuncture and Moxibustion, Wuhan, 430061

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of electroacupuncture pretreatment of myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI). **Methods** Forty Wistar rats were randomly divided into a sham operation group, a MIRI group, a farnesoid X receptor (FXR) inhibitor group, and an electroacupuncture pretreatment group, with 10 rats in each group. The rats in all groups were bound and fixed for seven days; and after seven days, the model of MIRI was developed in all groups except for the sham operation group. The FXR inhibitor group was injected with 0.4 μg /g FXR inhibitor z-Guggulsterone into the tail vein on day 8 before modeling. The electroacupuncture pretreatment group administered electroacupuncture at 'Neiguan' (PC 6), 'Zusanli' (ST 36) and 'Guanyuan' (RN 4) acupoints since day 1 for seven days, and the model was developed on day 8. After modeling, the serum interleukin-8 (IL-8) concentration, the enzyme activity of myocardial cell mitochondrial respiratory chain enzyme, Na^+ - K^+ -ATPase, and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase, and the expression of myocardial tissue FXR gene were measured. **Results** Compared to sham operation group, the MIRI group had significantly higher IL-8 concentration, lower enzyme activity of respiratory chain enzyme I、II、III、IV Na^+ - K^+ -ATPase, and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase, as well as higher expression of FXR gene ($P < 0.01$). The IL-8 concentration significantly decreased in FXR inhibitor group and electroacupuncture group when compared to MIRI group, and the enzyme activity of respiratory chain enzyme I、II、III、IV Na^+ - K^+ -ATPase, and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase significantly decreased while the FXR gene expression level significantly decreased ($P < 0.01$). The IL-8 concentration level and FXR gene expression level of electroacupuncture group were significantly higher than those of FXR inhibitor group, while the activities of Na^+ - K^+ -ATPase, Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase, and respiratory chain enzyme III and IV were significantly lower ($P < 0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture pretreatment may help improve MIRI through reducing serum IL-8 concentration, increasing enzyme activity of myocardial mitochondrial respiratory chain enzyme and ATPase, and downgrading the expression of FXR gene. **Keywords** electroacupuncture; myocardial ischemia-reperfusion injury; mitochondrial respiratory chain enzymes; Na^+ - K^+ -ATPase; Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase; farnesoid X receptor

(收稿日期: 2020-03-05; 修回日期: 2020-06-10)

编辑: 焦爽