

无创肢体缺血预处理对兔缺血性心肌的影响

肖业伟, 侯丽芳, 马玲, 冯志强, 冉兵, 盘强文*
(中国泸州市泸州医学院生理学教研室 646000)

[摘要] **目的:**通过观察不同组兔心肌中热休克蛋白(HSP₇₀), 环氧合酶(COX-2), 一氧化氮合酶(iNOS), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 转录因子- κ B(NF- κ B) mRNA 的表达以及超氧化物歧化酶(SOD), 丙二醛(MDA)和一氧化氮(NO)的变化, 探讨无创肢体缺血预处理对兔缺血性心肌的影响和可能机制。**方法:**实验分单纯缺血对照(Ctr), 无创肢体缺血预处理(LIP)和 LIP + K_{ATP}抑制剂(LG)组。Ctr组不作特殊处理, 先静脉注射垂体后叶素后, 再静脉注射肾上腺素诱发心律失常; LIP组兔双后肢缺血 5 min, 再灌注 5 min, 重复 4 次建立无创肢体缺血预处理模型, 余同 Ctr 组; LG 组先静脉注射 K_{ATP}抑制剂(格列本脲), 余处理同 LIP 组; 实验结束后取心肌组织标本, 生化法检测心肌组织中 SOD 活力, MDA, NO 含量; RT-PCR 法检测心肌组织中 HSP₇₀, COX-2, iNOS, TNF- α 及 NF- κ B mRNA 的表达。**结果:**与 Ctr 组相比, LIP 组 COX-2 和 iNOS 表达增高, TNF- α 与 NF- κ B 表达明显降低, LG 组 HSP₇₀ 表达明显降低; 与 LIP 组相比, LG 组 HSP₇₀ 和 iNOS 表达均明显降低, TNF- α 和 NF- κ B 表达明显增高。心肌组织中 SOD 活力 LIP 组较高, LG 组与 Ctr 和 LIP 组无差异; MDA 含量 Ctr 组高于 LIP 组和 LG 组; NO 含量 LIP 组较高, LG 组 NO 含量与 Ctr 组相比无差异。**结论:**LIP 具有减轻缺血性心肌损伤的作用, K_{ATP} 是其发挥保护作用的重要途径。

[关键词] 无创肢体缺血预处理; 缺血性心肌损伤; ATP 敏感钾通道 (K_{ATP})

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0287-06

[doi] 10.11653/syfy2013180287

Influence of Non-invasive Limb Ischemia Preconditioning on Ischemic Myocardial Injury in Rabbits

XIAO Ye-wei, HOU Li-fang, MA Ling, FENG Zhi-qiang, RAN Bing, PANG Qiang-wen*
(Department of Physiology of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss effects and the possible mechanism of noninvasive limb ischemic preconditioning on ischemic myocardial rabbits by observing the expression of heat shock protein 70 (HSP₇₀), cyclooxygenase-2 (COX-2), inducible nitric oxide synthase (iNOS), tumour necrosis factor- α (TNF- α), nuclear factor- κ B (NF- κ B) mRNA and the variation of superoxide (SOD), malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO). **Method:** Rabbits were randomly divided into ischemia control (Ctr) group, non-invasive limb ischemic preconditioning (LIP) group, LIP + K_{ATP} antagonist, glibenclamide, (LG) group. In ctr group any special treatment was not performed, but the vasopressin was injected intravenously to produce myocardial ischemia background, then epinephrine was injected to induce arrhythmia. Double hindlimb ischemia 5 min and reperfusion 5 min was carried out with repetition of four times to set up a non-invasive limb ischemic preconditioning model. Another methods and contents of observation were same as the Ctr group. The K_{ATP} antagonist (glibenclamide) was injected intravenously to LG group rabbits beforehand, another treatments same with the LIP group. After that, SOD, MDA, NO levels in myocardial tissue were detected by biochemistry method; The mRNA expression level of HSP₇₀, COX-2, iNOS, TNF- α and NF- κ B was evaluated by RT-PCR. **Result:** In LIP group

[收稿日期] 20130319(011)

[基金项目] 四川省卫生计生厅项目(川卫办发[2006]437号)

[第一作者] 肖业伟, 硕士, 讲师, 从事心肾功能保护研究, Tel:13982455657, E-mail:447372907@qq.com

[通讯作者] * 盘强文, 硕士, 教授, 从事心肾功能保护研究, Tel:13982768727, E-mail:chiwpan@yahoo.com.cn

COX-2 and iNOS expression level was significantly higher compared with the Ctr group, and TNF- α and NF- κ B expression level was significantly reduced; in LG group HSP₇₀ and iNOS expression level was significantly reduced compared with the LIP group, and the TNF- α and NF- κ B expression level was significantly increased, and the difference was statistically significant. SOD level in myocardial tissue in LIP group was higher than others, there was no significant difference between Ctr and LIP group; MDA level in Ctr group was higher than other groups; NO level in LIP group was higher than others, there was no significant difference between Ctr and LG group.

Conclusion: LIP can effectively improve the ischemic myocardial injury, and the K_{ATP} pathway may have a very important role in its protective effects.

[**Key words**] non-invasive limb ischemic preconditioning; ischemic myocardium injury; ATP-sensitive potassium channels (K_{ATP})

心肌缺血再灌注损伤是许多心脏疾患发展过程中的重要环节。心肌缺血预处理 (ischemic preconditioning, IPC) 对缺血心肌的保护作用已得到广泛共识,最近又有学者^[1]观察到无创肢体缺血预处理 (limb ischemic preconditioning, LIP) 对缺血/再灌注 (ischemic reperfusion, I/R) 损伤心肌有保护作用,但 LIP 抗 I/R 损伤的机制并未阐明。本文采用无创肢体缺血预处理的方法,检测心肌组织中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活力、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 及一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的含量,热休克蛋白 (HSP₇₀), 环氧合酶 (COX-2), 一氧化氮合酶 (iNOS), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及转录因子- κ B (NF- κ B) mRNA 的表达,以探讨 ATP 敏感钾通道 (K_{ATP}) 在无创肢体缺血预处理减轻兔缺血性心肌损伤中的作用及机制,为临床预防和治疗相关疾病提供实验性理论依据。

1 材料与方 法

1.1 动物 日本大耳白兔 21 只,雌雄不拘,体重 1.4 ~ 2.2 kg,由泸州医学院动物中心提供。

1.2 试剂与仪器 肾上腺素 (西南药业股份有限公司,批号 080302),垂体后叶素 (蚌埠市宏业生化制药厂,批号 080503),格列苯脲 (北京太平洋药业股份有限公司,批号 080702),RM6280 生物信号采集处理系统 (成都仪器厂),RNA 提取试剂盒 (天根生物技术有限公司),RT-PCR 试剂盒 (成都博瑞克生物技术有限公司),PCR 仪 (Eppendorf),凝胶成像分析系统 (美国 BIO-RAD 公司)。

1.3 动物模型制备及分组 日本大耳白兔用乌拉坦 1 g·kg⁻¹ 静脉麻醉。导管电极经右颈外静脉插入至右心室引导并记录心内膜单相动作电位 (MAP); 针形电极插入四肢皮下记录标准 II 导联心电图 (ECG); 胸骨左缘第 4 或第 5 肋间隙开 1 ~ 2 mm 小孔,插入接触电极至纵隔,触及心包壁层稍加压引导

并记录心外膜 MAP。ECG 和心内、外膜 MAP 的信号输入 RM6280 生物信号处理系统进行同步记录。

实验分组: ①缺血对照 (Ctr, n = 8) 组:不作特殊处理,待体表 ECG 和心内外膜 MAP 图形稳定后,静脉注射垂体后叶素 (2 U·kg⁻¹) 造成心肌缺血背景,再用肾上腺素 (0.2 mL·kg⁻¹) 诱发并观察心律失常的发生及发展情况。同步记录 ECG 及心内、外膜 MAP,观察心内外膜 MAP 变化及与心律失常间的关系; ②无创肢体缺血预处理 (LIP, n = 7) 组:用充气止血带结扎家兔双后肢使之缺血 5 min,松开再灌注 5 min,重复 4 次,待图形稳定后静脉注射垂体后叶素和肾上腺素,方法及观察内容同 Ctr 组; ③LIP + Glibenclamide (LG, n = 6) 组:先静脉注射格列本脲 (0.16 mg·kg⁻¹),30 min 后行与 LIP 组相同的处理。

实验结束后静注大量空气处死动物获取心肌组织标本待检。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 心肌 HSP₇₀, COX-2, iNOS, TNF- α 及 NF- κ B mRNA 用 RT-PCR 法检测心肌组织中 HSP₇₀, COX-2, iNOS, TNF- α 及 NF- κ B mRNA 的表达水平。采用总 RNA 提取试剂盒提取心肌组织总 RNA,取 800 ng 进行逆转录,反应体系为 20 μ L,转录条件为 30 $^{\circ}$ C 10 min,42 $^{\circ}$ C 40 min,99 $^{\circ}$ C 5 min,4 $^{\circ}$ C 5 min。取逆转录产物 5 μ L 进行 PCR 扩增 (20 μ L 反应体系),cDNA 5 μ L,Rnase Free H₂O 3 μ L,上游引物 1 μ L,下游引物 1 μ L,2 \times Taq PCR MasterMix 10 μ L。扩增条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,一定温度下退火 30,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,35 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。引物序列设计见表 1。

引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 结束后取 8 μ L 产物加 2 μ L 上样缓冲液进行琼脂糖凝胶电泳,将凝胶置于凝胶成像系统进行图像分析,检测积分吸光度 (integrated optical

表 1 引物序列设计

	上游引物	下游引物	退火温度 /°C	产物长度 /bp
HSP70	5'-ACG CCG CCA AGA ACC AGG TG-3'	5'-CCG CTG CGA GTC GTT GAA GT-3'	58	308
COX-2	5'-ATC TAC CCG CCT CAC ATC CCT-3',	5'-AGC TGC TCA TCA TCC CAT TCT-3'	55	124
iNOS	5'-AAC AGT ATA AGG CAA ACA CC-3'	5'-AAG AAC AAT CCA CAA CTC G-3'	50	669
TNF- α	5'-GCT CACGGA CAA CCA GCT-3'	5'-TCC CAA AGT AGA CCT GCC C-3'	55	332
NF- κ Bp65	5'-CGC ATC CAG ACC AAC AAC A-3'	5'-TGC CCA GAA GGA AAC ACC A-3'	60	262
内参 β -actin	5'-ATC GTG CCG GAC ATC AAG G-3'	5'-CCG ACT CGT CAT ACT CCT GCT T-3'	57	475

density, A), 以 HSP₇₀, COX-2, iNOS, TNF- α 及 NF- κ B 的 A 与 β -actin 的 A 比值分别代表 HSP₇₀, COX-2, iNOS, TNF- α 及 NF- κ B mRNA 的相对表达水平。

1.4.2 心肌 SOD 活力, MDA 和 NO 含量 心肌组织匀浆, 生化法检测 SOD 活力, MDA 和 NO 含量。

1.5 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 12.0 统计软件进行处理。组间比较采用单因素方差分析和 LSD 检验, 以 $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结果

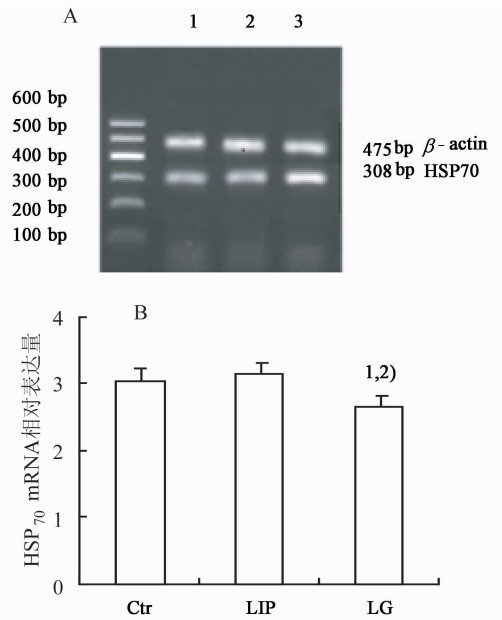
2.1 缺血后各组心肌电稳定性的改变 与自身缺血前比较, 各组的心率均减慢, 差异有统计学意义。缺血后心内膜各组 MAPA 和 V_{max} 减小, APD₉₀ 延长; 缺血后, 各组 MAPA 与 Ctr 组间差异有统计学意义, LIP 组 APD₉₀ 与 Ctr 组间差异有统计学意义; LIP 组与 LG 组 V_{max} 与 Ctr 组间差异有统计学意义。缺血后各组心外膜 MAPA 和 V_{max} 减小, APD₉₀ 延长。LIP 与 LG 组的 V_{max} 与 Ctr 组比较, 差异有统计学意义^[2]。

2.2 LIP 对兔缺血心肌 HSP₇₀, COX-2, iNOS, TNF- α 及 NF- κ B mRNA 表达的影响 与 Ctr 组相比, LIP 组 HSP₇₀ mRNA 的相对表达量增加, 但差异不具有统计学意义, LG 组 HSP₇₀ 与 Ctr 组及 LIP 组相比均明显降低 ($P < 0.01$), 差异有统计学意义, 见图 1。

与 Ctr 组相比, LIP 组 COX-2 和 iNOS 表达增高 ($P < 0.05$), 差异有统计学意义; 与 LIP 组相比, LG 组 iNOS 明显降低 ($P < 0.01$), 差异有统计学意义, 见图 2, 3。

与 Ctr 组相比, LIP 组 TNF- α 和 NF- κ B 表达明显降低 ($P < 0.01$), 差异有统计学意义; 与 LIP 组相比, LG 组 TNF- α 和 NF- κ B 明显增高 ($P < 0.01$), 差异有统计学意义, 见图 4, 5。

2.3 LIP 对兔缺血心肌 SOD 活力, MDA 和 NO 含量的影响 LIP 组 SOD 活力高于 Ctr 组 ($P < 0.05$),



A. HSP70 电泳结果; B. HSP70 相对表达量; 1. Ctr, 2. LIP, 3. LG; 与 Ctr 组相比, ¹⁾ HSP70 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$); 与 LIP 组相比, ²⁾ HSP70 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)

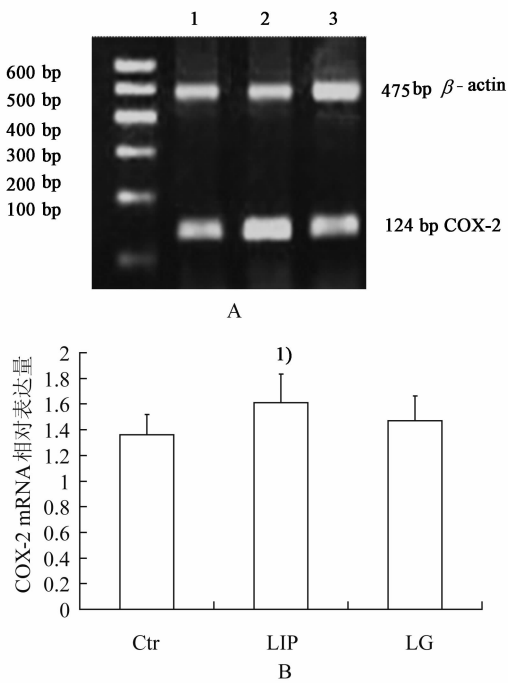
图 1 无创肢体缺血预处理对 HSP70 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$) 差异有统计学意义, LG 组 SOD 活力与 Ctr 组及 LIP 组相比无差异, 见图 6。

LIP 组, LG 组 MDA 含量均低于 Ctr 组 ($P < 0.01$), 差异有统计学意义, LG 组 MDA 含量与 LIP 组相比无差异, 见图 7。

LIP 组 NO 含量高于 Ctr 组 ($P < 0.01$), 差异有统计学意义, LG 组 NO 含量与 Ctr 组相比均无差异, LG 组 NO 含量低于 LIP 组 ($P < 0.01$), 差异有统计学意义, 见图 8。

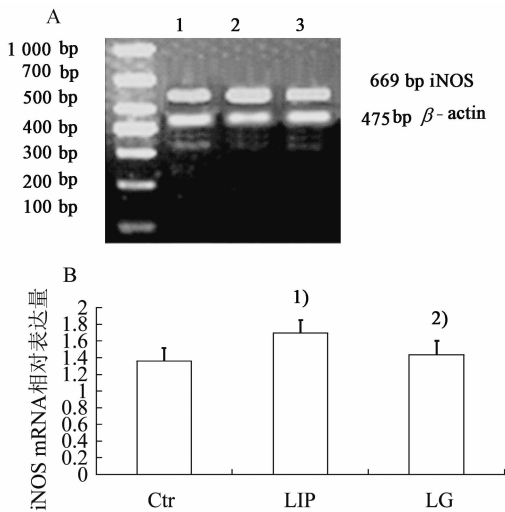
3 讨论

自 1986 年 Murry 第一次提出 IPC 的概念以来, 有学者认为 SOD, HSP₇₀、蛋白激酶 C 和 K_{ATP} 等多种物质或途径参与其中^[3], 具体机制至今尚未完全清楚, 目前多倾向于它是体内多种复杂因素相互影响



A. COX-2 电泳结果, B. COX-2 相对表达量;
1. Ctr; 2. LIP; 3. LG; 与 Ctr 组相比,
1) COX-2 mRNA 表达增高 ($P < 0.05$)

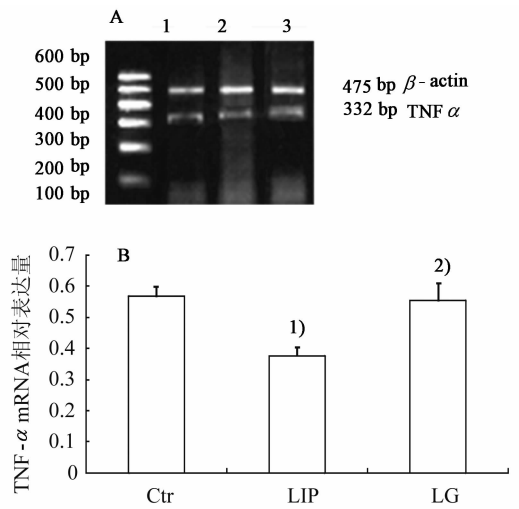
图 2 无创肢体缺血预处理对 COX-2 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)



A. iNOS 电泳结果, B. iNOS 相对表达量;
1. Ctr; 2. LIP; 3. LG; 与 Ctr 组相比,
1) iNOS mRNA 表达增高 ($P < 0.01$); 与 LIP 组相比;
2) iNOS mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)

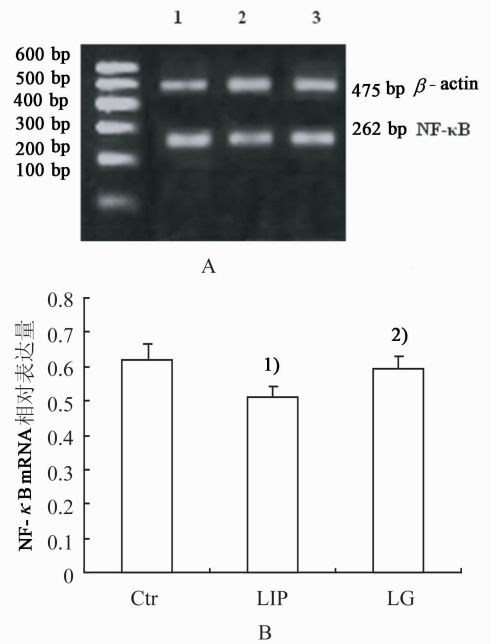
图 3 无创肢体缺血预处理对 iNOS mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

后的最终结果。LIP 是以“捆绑法”复制动物双下肢反复短暂缺血预适应的模型,并观察到 LIP 对 I/R 损伤心肌有保护作用,但确切机制不明^[1]。K_{ATP} 通道最初是由 Noma 利用膜片钳技术在心肌细胞膜中



A. TNF- α 电泳结果, B. TNF- α 相对表达量;
1. Ctr; 2. LIP; 3. LG; 与 Ctr 组相比
1) TNF- α mRNA 表达降低 ($P < 0.01$); 与 LIP 组相比,
2) TNF- α mRNA 表达增高 ($P < 0.01$)

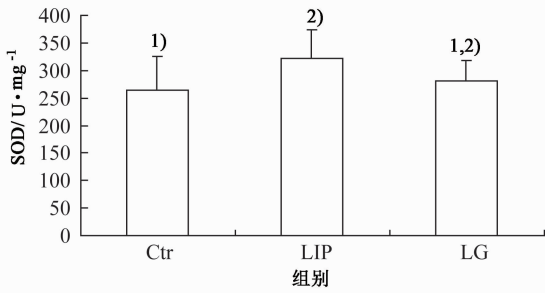
图 4 无创肢体缺血预处理对 TNF- α mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)



A. NF- κ B 电泳结果, B. NF- κ B 相对表达量;
1. Ctr; 2. LIP; 3. LG; 与 Ctr 组相比,
1) NF- κ B mRNA 表达降低 ($P < 0.01$); 与 LIP 组相比,
2) NF- κ B mRNA 表达增高 ($P < 0.01$)

图 5 无创肢体缺血预处理对 NF- κ B mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

发现的一种受细胞内 ATP 浓度调节的通道,其特点是对细胞内 ATP 浓度非常敏感,在生理条件下该通道基本处于关闭状态,当细胞内 ATP/ADP 下降时被激活, K⁺ 外流增加,细胞膜超极化使电压依赖性



不同组比较¹⁾ $P < 0.05$ (图 7,8 同)

图 6 心肌组织中 SOD 活力 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

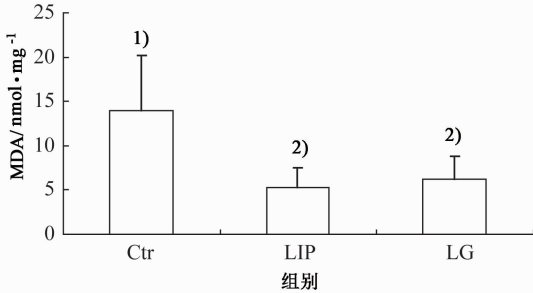


图 7 心肌组织中 MDA 含量 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

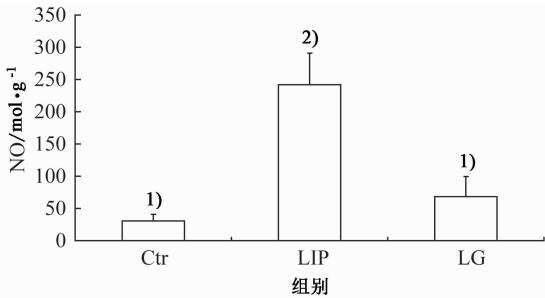


图 8 心肌组织中 NO 含量 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Ca^{2+} 通道失活,阻止 Ca^{2+} 内流,从而降低胞内 Ca^{2+} 浓度,减少能量消耗,推迟缺血性损伤的出现。这就将细胞代谢状态与膜兴奋快速协调起来,从而形成一种独特的细胞保护机制^[4]。有学者认为 LIP 具体作用机制可能与 K_{ATP} 信号通路有关^[5-6]。 K_{ATP} 通道是心肌 IPC 细胞内信号转导途径中的一种“终末效应子”,在缺血预处理中起重要作用。动物实验和临床研究均已证明 K_{ATP} 通道开放剂诱导预处理能有效地防治心肌缺血损伤^[7-10]。因此本文旨在探讨 ATP 敏感钾通道 (K_{ATP}) 在无创肢体缺血预处理减轻兔缺血性心肌损伤中的作用及机制。

实验观察到, LIP 具有增强兔心肌电稳定性的作用,但 K_{ATP} 途径则可能仅在抗应激和改善供血进而增强兔心肌电稳定性方面发挥了作用,但并非维护心肌电稳定性的关键因素^[11]。

I/R 损伤主要表现为自由基大量生成,脂质过氧化产物(如 MDA)增多,而机体抗氧化能力降低,

抗氧化酶活性下降。SOD 是体内重要的氧自由基清除剂,对心肌 I/R 损伤有保护作用,而 MDA 的高低又可以间接地反应机体细胞受自由基攻击的严重程度。已有研究表明^[12],心肌 IPC 过程中主要的氧自由基清除剂如 SOD 活性升高,提供机体清除氧自由基的能力,能改善再灌注后左心室功能。本实验观察到 LIP 组 SOD 活力明显高于 Ctr 组,而 LIP 组 MDA 含量均低于 Ctr 组,说明 LIP 可直接通过提高 SOD 活力、降低 MDA 含量对缺血心肌发挥保护作用,但 LIP 可能并不通过 K_{ATP} 途径来影响氧化损伤。

HSP₇₀ 是热休克蛋白家族中结构最保守和主要的一类,其作为内源性保护物质对细胞损伤产生保护作用。I/R 损伤对心肌细胞来说是一种强应激因素,因而可以激活 HSP₇₀,使其表达增加。本实验观察到 LIP 组 HSP₇₀ mRNA 表达与 Ctr 组相比变化不明显,而 LG 组 HSP₇₀ mRNA 与 Ctr 组及 LIP 组相比表达均明显减少,说明 LIP 可通过使 HSP₇₀ 表达增加对缺血心肌起保护作用,而 K_{ATP} 抑制剂格列本脲能阻断这种保护作用,提示 K_{ATP} 可影响 LIP 诱导的 HSP₇₀ 表达。

有研究^[13]发现 IPC 能使 COX-2 表达增加,应用 COX-2 阻断剂后能阻断这种保护作用。也有研究^[14]发现 COX-2 的表达量与 NF- κ B 的激活有关。韩君勇等^[15-16]报道在许多实验中 iNOS 及 COX-2 共同表达,缺血后两者的 mRNA 和蛋白表达时间和峰值时间相同, iNOS 通过增加 NO 合成进而促进 COX-2 的表达和活化,阻断 iNOS 作用后可减少 COX-2 表达,而阻断 COX-2 的作用不影响 iNOS 的表达。本实验发现 LIP 组心肌组织中 COX-2 及 iNOS 表达量与 Ctr 组相比均明显增加,使用 K_{ATP} 抑制剂格列本脲后, LG 组 COX-2 及 iNOS 的表达量与 Ctr 组及 LIP 组相比并未减少,说明 LIP 通过使 COX-2 及 iNOS 表达增加对缺血心肌起保护作用, K_{ATP} 位于 COX-2 及 iNOS 的下游。

I/R 损伤产生的自由基可直接激活 NF- κ B,进而诱导 TNF- α 的产生。NF- κ B 是参与心肌 I/R 损伤的重要信号转导因子,能上调 TNF- α 基因转录和蛋白合成; TNF- α 是 I/R 损伤连锁反应中的关键性介质,产生快,能诱导白细胞聚集和释放 IL-6, IL-8, 血小板活化因子和白三烯等炎症介质,诱发心、脑等多部位的缺血再灌注损伤^[17]。本研究发现 LIP 组 NF- κ B 及 TNF- α 的表达均明显低于 Ctr 组,而使用 K_{ATP} 抑制剂格列本脲能阻断 NF- κ B 及 TNF- α 的减少,说明 LIP 可通过 K_{ATP} 途径使 NF- κ B 及 TNF- α 表

达减少对缺血心肌起保护作用。

综上所述, LIP 可通过 K_{ATP} 途径对缺血性心肌损伤起到保护作用, 而开放(如左西孟旦、米诺地尔、心肌肽素等)或阻滞(如格列苯脲) K_{ATP} 的药物(或电针等其他手段^[18-19])均可影响缺血/再灌注心肌损伤。这为无创肢体缺血预处理这种简单易行的手段用于临床预防或治疗缺血/再灌注心肌损伤提供了新的思路。

[参考文献]

[1] 陈晓光, 白涛, 王俊科, 等. 非创伤性肢体缺血预适应对心肌缺血/再灌注损伤的影响[J]. 中国医科大学学报, 2006, 35(3): 256.

[2] 侯丽芳, 肖业伟, 冯志强, 等. 无创肢体缺血预处理对兔缺血心肌电稳定性的影响及机制研究[J]. 泸州医学院学报, 2009, 32(5): 465.

[3] Wu S N, Wu A Z, Sung R J. Identification of two types of ATP-sensitive K-channels in rat ventricular myocytes [J]. Life Sci, 2007, 80(4): 378.

[4] Grover G J, Garlid K D. ATP-sensitive potassium channels; a review of their cardioprotective pharmacology [J]. J Mol Cell Cardiol, 2000, 32(4): 677.

[5] Hausenloy D J, Yellon D M. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application [J]. Cardiovascular Research, 2008, 79, 377.

[6] Heidbreder M, Naumann A, Tempel K, et al. Remote vs. ischaemic preconditioning: the differential role of mitogen-activated protein kinase pathways [J]. Cardiovascular, 2008, 78: 108.

[7] 于明懂, 高春霖, 吕国义, 等. 左西孟旦对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 天津医药, 2011, 39(9): 831.

[8] Ozcan C, Biengraeber M, Dzeia P, et al. Potassium channel openers protect cardiac mitochondria by attenuating oxidant stress at reoxygenation [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, 282(2): H531

[9] Simon S, Charles H, Maythem S. Long-term oral treatment with nicorandil prevents the progression of left

ventricular hypertrophy and preserves viability [J]. J Cardiovasc Phare, 2005, 45(4): 333.

[10] 司延斌, 龚培力. 尼可地尔对心肌肥厚模型大鼠的保护作用及机制研究 [J]. 中国药房, 2006, 17(17): 1294.

[11] 侯丽芳, 冯志强, 肖业伟, 等. 无创肢体缺血预处理对兔心肌电稳定性的影响及机制 [J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2011, 25(5): 422.

[12] Sun X C, Xian X H, Cai J S, et al. Superoxide dismutase participates in p38MAPK mediated neuroprotection of limb ischemic preconditioning in global brain ischemic rats [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2007, 21(6): 455.

[13] Kim E, Raval A P, DeFazio R A, et al. Ischemic preconditioning via epsilon PKC activation requires cyclooxygenase-2 activation *in vitro* [J]. Neuroscience, 2007, 145(3): 931.

[14] Syeda F, Grosjean J, Rebecca A, et al. Cyclooxygenase-2 induction and prostacyclin release by protease-activated receptors in endothelial cells require cooperation between mitogen-activated protein kinase and NF- κ B pathways [J]. Bio Chem, 2006, 281: (17): 11792.

[15] 韩君勇, 陈运贞. 大鼠心肌细胞缺氧预处理中 COX-2、iNOS 和 p38MAPK 间信号转导关系的研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19(1): 1407.

[16] 韩君勇, 陈运贞, 彭健, 等. 大鼠心肌缺氧预处理中 COX-2、iNOS、p38MAPK 和线粒体 K_{ATP} 通道间信号转导关系的研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(12): 2481.

[17] 程道宾, 王进, 罗杰峰, 等. 脑缺血预处理诱导大鼠脑缺血耐受的研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2007, 22(7): 599.

[18] 张红星, 黄国付, 周利, 等. 电针对心肌缺血再灌注损伤家兔心肌 ICAM-1 表达的影响 [J]. 中国康复医学杂志, 2007, 22(9): 7935.

[19] 苏娟, 励建安, 沈梅, 等. 生理性缺血训练促进心肌缺血模型 VEGF 表达的时间规律 [J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(9): 774.

[责任编辑 邹晓翠]