

Mg²⁺对超速驱动后离体大鼠心脏的保护作用

李岩, 颜辉

(烟台师范学院体育学院, 山东烟台 264025)

摘要:为研究 Mg²⁺对疲劳心脏的保护作用,以离体大鼠心脏为研究对象,采用 Langendorff 灌流装置对超速驱动的离体心脏施加不同浓度 Mg²⁺的灌流液。结果表明,一定浓度的 Mg²⁺溶液对离体心脏具有明显的保护作用,表现为心肌乳酸脱氢酶漏出减少,谷胱甘肽过氧化物酶活性增高,丙二醛含量降低,心肌组织和线粒体钙超载减轻。

关键词:镁离子;超速驱动;离体大鼠心脏

中图分类号:G804.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-7116(2004)04-0049-03

Research on the protective function of Mg²⁺ to the isolated rat heart after overdriving

LI Yan, YAN Hui

(Department of Physical Education, Yantai Normal University, Yantai 264025, China)

Abstract: Taking isolated rat hearts as research objective, with the adoption of Langendorff perfusion device, Mg²⁺ perfusion solution of varied concentration is exerted on the overdriven isolated hearts for the research of the protective function of Mg²⁺ towards fatigue hearts. The results indicate that Mg²⁺ solution of certain concentration possesses tangible protective effect on isolated hearts with performances of the decrease of the transudation of myocardium LDH, the increase of the activity of GSH - PX, the decrease of the content of MDA and the alleviation of the calcium overloading in myocardium and mitochondrion

Key words: Mg²⁺; overdriving; isolated rat heart

研究报道, Mg²⁺对大鼠心肌的缺血再灌注损伤有良好的保护作用,但迄今在体育科研中对此方面的研究尚少。本实验通过对离体大鼠心脏施加超速驱动,导致其运动性疲劳和损伤后,从血流动力学指标、心肌酶的漏出、脂质过氧化水平及心肌钙离子等指标的变化情况进行观察,研究不同浓度 Mg²⁺溶液对疲劳心脏的保护作用,旨在为消除心脏运动性疲劳提供有益的依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

健康雌性 SD 大鼠 36 只,体重 180~220 g,由华西医科大学实验动物中心提供。

1.2 检测指标

(1)左室内压最大变化速率:将压力 LVP 电信号输入微分器,记录左心室一阶微分曲线 dp/dt。方波定标灵敏度为 13.3 kPa/s·mm⁻¹,高频滤波 75 Hz,时间常数 10 ms,以此为标准,测取左室 dp/dt 曲线上零点至峰顶和负峰顶的数值,即为心室收缩时,室内压最大变化速率和心室舒张时,室内压最大变化速率。

(2)冠脉流出液乳酸脱氢酶(LDH)的活性:每 10 min 取冠脉流出液,根据 LDH 试剂盒说明测定 LDH 活性,单位为 IU/L。

(3)心肌组织谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - Px)的活性:GSH - Px 活力测定采用 DTNB 比色法^[1]。GSH - Px 的活力单位要扣除非酶反应后,每分钟使 GSH - Px 降低 1 μmol 为一个活力单位,即 1 μmol/mg·min⁻¹。

(4)心肌线粒体膜丙二醛(MDA)质量摩尔浓度:采用 TBA 方法^[2]测定,单位为 nmol/mg。

(5)心肌细胞组织和线粒体总 Ca²⁺的质量摩尔浓度:取组织上清液测定心肌组织总 Ca²⁺质量摩尔浓度,并换算出每克湿重心肌组织的 μmol。取线粒体悬浊液,测定心肌线粒体总 Ca²⁺质量摩尔浓度,单位 nmol/mg。蛋白质测定采用双缩脲法^[3]。

1.3 灌流要求

灌流液为 Krebs - Henseleit 液,其成分为:NaCl 118.5 mmol/L, KCl 4.7 mmol/L, MgSO₄ 1.2 mmol/L, KH₂PO₄ 1.2 mmol/L, NaHCO₃ 25 mmol/L, CaCl₂ 2.5 mmol/L, 葡萄糖 11.1 mmol/L, pH 7.4 灌流液持续通以体积分数为 95% O₂ + 体积

收稿日期:2004-01-19

作者简介:李岩(1970-),男,在读博士研究生,研究方向:运动生理学。

分数为 5% CO₂ 的混合气。温度保持 35 ~ 37℃ 左右, 灌流压 7.9 kPa, 灌流速度 10 mL/min, 从左心耳插管测量心室收缩和舒张时的室内压最大变化速率。

1.4 实验方法

(1) 实验分组

将 36 只 SD 雌性大鼠随机分为常镁组(A 组, Mg²⁺ 浓度为 1.2 mmol/L)、高镁组(B 组, Mg²⁺ 浓度为 2.4 mmol/L) 和空白对照组(C 组) 3 组, 每组 12 只。

(2) 实验步骤

具体实验步骤见流程图(图 1)。

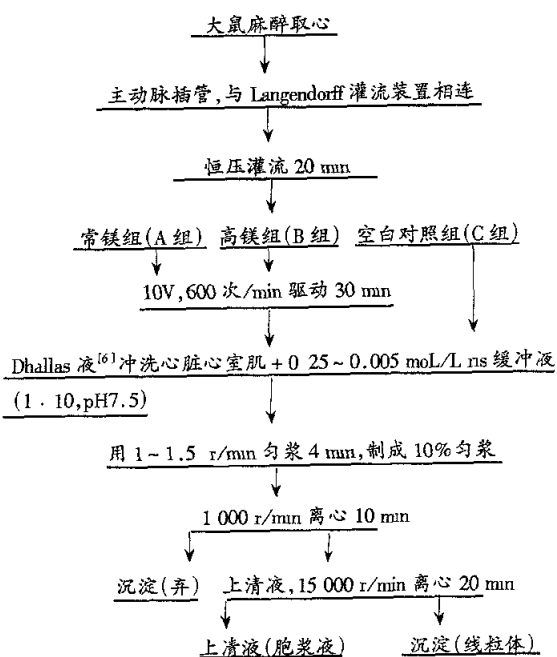


图 1 实验流程

将制取的线粒体置于冰冷的匀浆介质中(0 ~ 4℃), 制成悬浊液, 用 Somiprep-150 型超声波发生器以振幅 14 μm 超声处理 30 s, 使线粒体破碎, 供酶活力测定。以上各步骤均在 0 ~ 4℃ 中操作。

根据要求各取 0.1 mL 的线粒体悬浊液、组织上清液, 按照试剂盒要求在 Secoman-500 型半自动化分析仪上分别测定 MDA、GSH-Px 的量。再分别取 0.1 mL 的上述溶液, 在 Mdecal 电解质分析仪上测定心肌组织和线粒体总 Ca²⁺ 的质量摩尔浓度。

1.5 数据处理

实验所得数据进行统计学分析, 结果以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 数据进行 t 检验, 差异显著性 P < 0.05, 非常显著性 P < 0.01。

2 实验结果

2.1 超速驱动前后左室内压最大变化速率

由表 1 可见, 超速驱动后第 5 min 末, B、C 两组室内压微分仍明显下降, 与超速驱动前相比, 差异显著。但 A 组在超速驱动后第 20 min 末, 与超速驱动前仍差异显著。B 组差异不显著。

2.2 冠脉流出液中 LDH 的变化

由表 2 可见, 在恢复阶段的 20 min 内, A 组依旧保持高水平的 LDH 活性, 与 B、C 组相比, 差异非常显著 (P < 0.01)。提示此刻心肌 LDH 漏出较多, 而给予高镁灌流液恢复后, 可以有效的抑制心肌酶的漏出。

2.3 谷胱甘肽过氧化物酶、丙二醛含量的变化

由表 3 可见, 恢复期对离体心脏给予不同浓度镁离子灌流液, 表现出来 GSH-Px 活力不同, MDA 生成量不同。超速驱动后给予常镁恢复的 A 组, 表现出 GSH-Px 活力降低, MDA 生成增多, 与 B、C 组相比, 差异显著。提示 A 组心脏脂质过氧化水平较高, 自由基生成增多。而高浓度镁溶液对自由基的生成有一定的抑制作用。

表 1 超速驱动前后左室内压最大变化速率变化情况

$\bar{x} \pm s, \text{kPa}/(\text{s} \cdot \text{mm})$

组别	n/只	驱动前后	心室收缩时室内最大变化速率				心室舒张时室内压最大变化速率			
			5 min 末	10 min 末	15 min 末	20 min 末	5 min 末	10 min 末	15 min 末	20 min 末
A	12	前	297.54 ± 16.35	302.47 ± 14.26	303.18 ± 16.21	302.79 ± 15.20	240.32 ± 18.13	241.66 ± 16.25	241.58 ± 16.17	240.78 ± 15.44
		后	238.59 ± 14.36 ¹⁾²⁾	260.33 ± 16.53 ¹⁾²⁾	278.27 ± 16.20 ¹⁾²⁾	277.10 ± 15.86 ¹⁾²⁾	154.82 ± 21.04 ¹⁾²⁾	194.04 ± 17.14 ¹⁾²⁾	215.47 ± 18.90 ¹⁾²⁾	220.87 ± 14.10 ¹⁾²⁾
B	12	前	286.38 ± 15.46	302.14 ± 15.02	303.08 ± 15.23	303.74 ± 15.13	238.86 ± 14.47	240.58 ± 15.32	240.96 ± 12.63	240.88 ± 14.27
		后	238.59 ± 14.36 ¹⁾²⁾	292.14 ± 16.50	299.28 ± 14.80	303.67 ± 8.56	199.75 ± 16.46 ¹⁾²⁾	223.96 ± 14.05 ¹⁾²⁾	238.07 ± 16.74	240.17 ± 10.20
C	12		196.82 ± 15.22	298.73 ± 14.68	304.26 ± 18.32	303.45 ± 16.25	238.86 ± 14.47	240.58 ± 15.32	240.96 ± 12.63	240.88 ± 14.27

1)与超速驱动前比较 P < 0.05; 2)与 C 组比较 P < 0.05

表 2 恢复灌流期冠脉流出液 LDH 值

$\bar{x} \pm s, \text{IU/L}$

组别	n/只	第 10 min 末	第 20 min 末
A	12	73.58 ± 17.60 ¹⁾	61.40 ± 8.82 ¹⁾
B	12	24.60 ± 8.71	21.80 ± 3.68
C	12	23.55 ± 7.14	21.88 ± 3.68

1)与 B、C 组相比, P < 0.01

表 3 心肌组织 GSH-PX 活性及 MDA 的变化比较

$\bar{x} \pm s$

组别	n/只	GSH-Px / (μmol · mg ⁻¹ · min ⁻¹)	b(MDA) / (nmol · mg ⁻¹)
A	12	20.20 ± 3.15 ¹⁾	1.37 ± 0.25 ¹⁾
B	12	46.38 ± 5.01	0.58 ± 0.24
C	12	45.68 ± 3.12	0.62 ± 0.14

1)与 B、C 组相比, P < 0.05

2.4 心肌组织及线粒体内总钙含量的变化

由表4可见,超速驱动后,A组心肌组织及线粒体总钙质量摩尔浓度均显著增高,与B、C组相比,差异非常显著($P < 0.01$)。这一结果提示,高镁溶液有防止胞浆和线粒体钙超载的作用。

表4 心肌组织及线粒体内总钙的质量摩尔浓度 $\bar{x} \pm s$

组别	n/只	$\rho(\text{组织})/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	$\rho(\text{线粒体})/(\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1})$
A	12	$2\ 168 \pm 0.581^{1)}$	$78\ 21 \pm 24.55^{1)}$
B	12	0.406 ± 0.018	19.14 ± 3.22
C	12	$0\ 375 \pm 0.026$	18.13 ± 4.26

1)与B、C组相比, $P < 0.01$

3 分析与讨论

Mg^{2+} 是细胞内的重要阳离子,在人体细胞内的浓度仅次于钾离子。镁主要分布于细胞内的线粒体和肌原纤维中,并表现出重要的作用。它是细胞新陈代谢中各种酶系统的重要活化剂,它与ATP等形成复合物而激活许多重要酶。资料报道, Mg^{2+} 是300多种酶的辅助因子^[4]。它参与生命活动中如蛋白质的合成、碳水化合物和脂肪代谢、氧化磷酸化作用、膜的离子转运、神经冲动的产生和传导以及肌肉收缩等。 Mg^{2+} 缺乏时,可引起心肌坏死和增加心肌对毒性作用的敏感性,引发心率失常。

近年来,对 Mg^{2+} 的作用研究有一定进展。时安云等^[5]研究发现在缺血期给予高镁溶液对心脏有保护作用,具体表现在可减轻因缺血所致肌节挛缩引起的LVEDP的升高以及心肌线粒体钙超载。究其原因,线粒体摄 Ca^{2+} 是由线粒体内膜的 $Ca^{2+} - \text{ATPase}$ 完成, $Ca^{2+} - \text{ATPase}$ 的活动依赖于其配体 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 而表现其活性,并以水解ATP为 Ca^{2+} 的主动转运提供能量。当施加 Mg^{2+} 后,其对线粒体 $Ca^{2+} - \text{ATPase}$ 活性的保护,为线粒体提供了一“安全装置”^[6,7]。同时增加 Mg^{2+} 浓度后,大鼠心肌线粒体膜脂质流动性及抗氧化性均优于对照组,这主要是线粒体的完整性防止了过多 Ca^{2+} 的被动性进入。实验还发现,由于给予了高浓度的镁溶液,心肌组织表现出较高的抗氧化酶活性与较低的脂质过氧化反应,提示 Mg^{2+} 的保护作用可能与对抗自由基的生成有关。White等^[8,9]指出,细胞外高镁可防止缺血心肌细胞内 Mg^{2+} 、 K^{+} 的过分丢失及 Ca^{2+} 超载,因而有利于心肌功能及代谢的恢复。由此可见,使用高浓度镁溶液对缺血心脏能够起到保护作用,并使心肌缺血或缺氧得到恢复^[10,11]。也有文献指出,过量的 Mg^{2+} (7 mmol/L)对心脏的收缩力有一定抑制作用,其机理可能是:(1)高浓度的 Mg^{2+} 在肌膜上与钙离子竞争共同离子通道,减少细胞外钙内流;(2) Mg^{2+} 在细胞内促使肌质网加速并加强对钙的结合;(3) Mg^{2+} 能在肌钙蛋白上与钙竞争非特异性的结合部位,使心肌收缩力降低。在本实验中,增加 Mg^{2+} 后,心肌的收缩力并未明显降低,反而有所增加,考虑原因,一方面是给予的 Mg^{2+} 浓度不同(2.4

mmol/L);另一方面,实验中因长时间给予离体心脏超速驱动过程中,心肌细胞 Mg^{2+} 有所丢失,而增加后产生补偿作用^[12]。这两方面的原因产生的可能机制是:增加了肌凝蛋白ATPase活性,ATP分解增多以供心肌能量,致心肌收缩力增加;其次是防止了线粒体对脂肪酸及乳酸代谢的主要功能发生障碍,细胞内pH降低,钙离子抑制作用解除,使收缩时供肌原纤维的钙增加,导致心肌收缩力增加^[11]。

在体育运动实践中,心脏的保护作用日益受到人们的重视,也采取了一些保护手段来防止心脏疾病的发生,但罕见通过补镁来恢复和保护心脏功能。但人们已经发现,运动中镁缺乏可导致冠脉痉挛,并引起心肌电的不稳定,诱发严重的心率失常,严重者引起死亡^[12]。因此对镁的认识应引起人们的重视。

本实验采用了离体大鼠心脏进行超速驱动,并通过增加 Mg^{2+} 浓度来观察其对缺血心脏的保护作用,从而为运动心脏的保护方法提供了新的思路。但对镁的具体保护作用机制,仍需要我们进行进一步的研究探讨。

参考文献:

- [1] 夏奕明,朱莲珍.血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法[J].卫生研究,1987,16(4):29-32.
- [2] 齐凤菊,周 玫.血浆丙二醛(MDA)含量的测定方法——改良的八木国夫法[J].第一军医大学学报,1986,(6):152.
- [3] 崔福生.医学生化检验手册[M].天津:天津科学技术出版社,1982:163.
- [4] 顾天爵.生物化学[M].北京:人民卫生出版社,1992:324.
- [5] 苏静怡.辅酶Q抗脂质氧化作用[J].中国药理学通报,1989,5(5):300.
- [6] 时安云,徐 海.镁对缺血后再灌注心肌线粒体的影响[J].生理学报,1996,48(3):303-306.
- [7] Mela L, Barry H. Influence of inorganic phosphate on the kinetic of heart mitochondria calcium accumulation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1986,10(6):1280-1285.
- [8] White R E, Hartzell HC. Magnesium ions in cardiac function [J] Biochem Pharmacol, 1989, (38):859
- [9] Shattock M J, Hearse D J, Fry C H. The Ionic basis of the anti-ischemic and anti-arrhythmic properties of magnesium in the heart[J]. J Am Col Nutri, 1987, (6):27.
- [10] Chipperfield B. Magnesium and the heart[J] Am Heart J, 1977,93(6):679.
- [11] Seeling M S. Magnesium interrelationships in ischemic heart disease a review[J]. Am J Clin Nutr, 1974,27(11):59.
- [12] 曲绵域 实用运动医学[M].北京:人民体育出版社,2001:88.

[编辑:郑植友]