·基础研究·

丙氨酰谷氨酰胺在大鼠心肌梗死中的保护作用及其机制

鲍宏刚[1],王勇敢,朱立强[1],徐志勇[1],苏芳菊[2],杨海青[1]*
([1]解放军中部战区空军医院心内科,山西 大同 037000;[2]联勤保障部队解放军第940医院心血管内科,兰州 730050)

【摘 要】 目的 研究丙氨酰谷氨酰胺(Ala-Gln)在大鼠心肌梗死中的作用,并探讨其可能的机制。**方法** 将36只SPF级雄性Wistar大鼠按随机数表法分为4组,即假手术组、心肌梗死模型组(模型组)、心肌梗死+Ala-Gln[0.75 mg/(kg·d)]组(治疗组)、心肌梗死+槲皮素[100 mg/(kg·d)]+Ala-Gln[0.75 mg/(kg·d)]+二甲基亚砜(DMSO)组(槲皮素组),每组9例。模型组、治疗组、槲皮素组造模成功后,治疗组、槲皮素组继续给予相应处理至第7天时处死大鼠,假手术组给予上述各组等量生理盐水。HE染色法观察心肌梗死情况,直接称重法计算心肌梗死面积,免疫组织化学法观察心肌组织中热休克蛋白70(HSP70)表达情况并进行半定量分析,化学比色法检测血清心肌酶(AST、CK-MB、CK)、丙二醛(MDA)活性和超氧化物歧化酶(SOD)水平。采用SPSS 13.0软件对数据进行分析。**结果** 模型组、治疗组、槲皮素组心肌梗死质量百分比分别为(0.241±0.054)%、(0.165±0.372)%、(0.248±0.035)%,与假手术组的(0.010±0.002)%比较,差异有统计学意义($P<0.01$);治疗组心肌梗死质量百分比较模型组和槲皮素组显著缩小(均$P<0.01$)。假手术组、模型组、槲皮素组HSP70表达水平分别为(0.154±0.036)、(0.151±0.033)、(0.151±0.025)ng/ml,组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗组HSP70含量为(0.286±0.056)ng/ml,较其余各组均增加,差异有统计学意义($P<0.01$)。与假手术组比较,模型组、治疗组、槲皮素组中CK、AST、LDH均升高(均$P<0.01$),而治疗组CK、AST、LDH低于模型组和槲皮素组(均$P<0.01$)。与假手术组相比,模型组和槲皮素组MDA水平升高($P<0.05$),SOD水平下降($P<0.05$);而治疗组MDA水平较模型组和槲皮素组下降($P<0.05$),SOD水平较模型组和槲皮素组升高($P<0.05$)。**结论** Ala-Gln对大鼠心肌梗死具有保护作用,其机制可能与诱导HSP70表达、降低MDA活性、升高SOD水平、增强心肌细胞的抗氧化能力、降低活性自由基的损伤等有关。

【关键词】 心肌梗死;丙氨酰谷氨酰胺;超氧化物歧化酶;热休克蛋白70
【中图分类号】 R542.2+2 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2020.11.199

Protective effect of alanyl glutamine on myocardial infarction in rats and its mechanism

BAO Hong-Gang[1], WANG Yong-Gan, ZHU Li-Qiang[1], XU Zhi-Yong[1], SU Fang-Ju[2], YANG Hai-Qing[1]*
([1]Department of Cardiology, Central Theater Air Force Hospital, Datong 037000, Shanxi Province, China; [2]Department of Cardiology, PLA Hospital No. 940, Joint Logistics Support Force, Lanzhou 730050, China)

【Abstract】 Objective To explore the role of alanyl-glutamine (Ala-Gln) in myocardial infarction and its possible mechanism. **Methods** Thirty-six SPF male Wistar rats were randomized into four groups ($n=9$ each): sham operation group, model group (myocardial ischemic group), treatment group treated with isoproterenol [ISO, 5 mg/(kg·d)]+Ala-Gln [0.75 mg/(kg·d)], and quercetin group treated with ISO[5 mg/(kg·d)]+quercetin [100 mg/(kg·d)] +Ala-Gln [0.75 mg/(kg·d)]+dimethylsulfoxide. After successful modeling, the treatment and quercetin groups were treated for 7 days, while the sham operation group were treated with the same amount of saline. The rats were sacrificed after 7 days. HE staining was used to observe myocardial ischemic necrosis, area of myocardial ischemic necrosis was calculated by direct weighing; immunohistochemical method was used to observe the expression and distribution of heat shock protein 70 (HSP70) and semi-quantitative analysis was performed; and chemical colorimetric method was used to detect the activities of serum myocardial creatases (aspartate aminotransferase, AST; lactate dehydrogenase, LDH; creatine kinase, CK) and malonaldehyde (MDA), and the level of superoxide dismutase (SOD). SPSS statistics 13.0 was used for data analysis. **Results** The percentage of myocardial infarction mass in model group [(0.241 ± 0.054)%], treatment group [(0.165 ± 0.372)]% and quercetin group [(0.248 ± 0.035)%] was statistically significantly different with that of the sham operation group [(0.01 ± 0.002)%, $P<0.01$], and the mass of myocardial infarction in the treatment group was significantly smaller than that in the model

收稿日期:2019-12-28;**接受日期**:2020-02-30
基金项目:全军后勤科研面上项目(CWH17L004)
通信作者:杨海青,E-mail:18931258016@189.cn

group and quercetin group ($P<0.01$). There was no significant difference in the expression levels of HSP70 between the sham operation group (0.154 ± 0.036), model group (0.151 ± 0.033) and quercetin group [(0.151 ± 0.025), $P>0.05$], but that of the treatment group (0.286 ± 0.056) was significantly higher than those of the other groups ($P<0.01$). Compared with the sham operation group, CK, AST and LDH increased in model group, treatment group and quercetin group ($P<0.01$), and they were lower in the treatment group than in the model group and the quercetin group ($P<0.01$). Compared with the sham operation group, MDA in the model group and quercetin group increased ($P<0.05$), and SOD decreased ($P<0.05$). MDA was lower and SOD was higher ($P<0.05$ for both) in the treatment group than that in the model group and quercetin group. **Conclusion** Ala-Gln has a protective effect on myocardial infarction in rats. Its mechanism may be related to the induction of HSP70 expression, reduction of MDA activity and increase of SOD level, thus enhancing the antioxidant capacity of cardiomyocytes and reducing the damage of active free radicals.

【Key words】 myocardial infarction; alanyl-glutamine; superoxide dismutase; heat shock protein 70

This work was supported by the General Project of PLA Logistics Scientific Research (CWH17L004).

Corresponding author: YANG Hai-Qing, E-mail: 18931258016@189.cn

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是细胞在应激原刺激作用下合成的一组蛋白质,以分子伴侣形式直接作用于蛋白分子,通过影响细胞信号途径发挥抗应激和细胞保护作用。其中,HSP70家族作为热休克蛋白家族中重要组成部分,在生物细胞中含量最高,可诱导性最强,具有保护细胞免受刺激损伤,促进受损细胞修复、抗炎、抗凋亡、耐受缺血或缺氧损伤等生物学性能[1-3]。热应激诱导HSP70升高可使心肌梗死面积减少,使缺血再灌注心肌收缩功能恢复加快[4]。HSP70的高表达具有抗氧化功能,可防止氧化蛋白质聚集[5,6]。Kim等[7]将高表达HSP70基因导入大鼠体内后,发现大鼠心肌组织高表达的HSP70可抑制一氧化氮合酶的活化,减少一氧化氮的生成,从而提高心肌细胞对缺血的耐受性,减少心肌梗死面积。有研究指出,对谷氨酰胺进行预处理,可诱导HSP70高表达,减少拟行心脏外科手术患者的心肌损伤[8]。自由基损伤是心肌发生缺血坏死的重要环节[9,10]。而HSP70可通过降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)的表达增强超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的清除能力,进而增强心肌细胞的抗氧化能力,降低活性自由基的损伤[11,12]。但丙氨酰谷氨酰胺(alanyl-glutamine, Ala-Gln)是否可通过诱导HSP70高表达,降低MDA活性,减轻SOD水平而在心肌梗死中起到保护作用尚未见相关报道。本研究选择Ala-Gln作为谷氨酰胺的供体诱导HSP70表达,旨在观察Ala-Gln在大鼠心肌梗死中的作用,并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 一般材料

1.1.1 实验动物 36只SPF级雄性Wistar大鼠体质量为(160±20)g,购自第四军医大学实验动物中心(动物使用许可证号2007000524909)。

1.1.2 主要药品及试剂 注射用丙氨酰谷氨酰胺购自海南灵康制药有限公司。二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自上海碧云天生物技术有限公司。槲皮素购自美国Sigma公司。氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)购自上海化学试剂公司。伊文思蓝购自中国医药公司北京采购供应站。兔抗鼠HSP70抗体购自武汉博士德生物工程有限公司。羊抗兔生物素标记性二抗购自武汉博士德生物工程有限公司。DAB染色试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。MDA试剂盒、SOD试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及动物模型的建立 将36只SPF级雄性Wistar大鼠按随机数表法分为4组,即假手术组、模型组、治疗组、槲皮素组,每组9例。将大鼠固定在自制动物手术台上,用硫代硫酸钠脱毛,以3.5%水合氯醛(10 ml/kg)腹腔注射麻醉,气管插管并连接海奥尔科特生物科技有限公司生产的小动物呼吸机。逐层打开胸腔,剪开心包,找到左冠状动脉主干后,以其为标志,于左心耳下方2 mm处进针,无损伤带针缝合线结扎左冠状动脉前降支,当结扎区域心肌变白,心电图肢导联出现ST段上抬≥0.2 mV,则判断为造模成功。36只SD大鼠均顺利完成整个实验。造模成功后,治疗组按0.75 mg/kg给予Ala-Gln溶液(Ala-Gln+生理盐水配成浓度为3.3%的溶液),腹腔注射1次/d,连续7 d;槲皮素组在给予Ala-Gln溶液前6 h,按100 mg/kg给予槲皮素(槲皮素是分布于植物界的一种黄酮类复合物,具有广泛的生物学功能,是一种HSP70抑制剂)腹腔注射,注意在使用时需先溶解于DMSO中,1次/d,连续7 d;假手术组在相同冠状动脉部位只穿线,不结扎冠状动脉;模型组与假手术组分别于腹腔注射与槲皮素组等量的生理盐水。

1.2.2 大鼠心肌组织病理改变 取部分心肌组织置于中性甲醛溶液中固定 24 h 后,石蜡包埋并切成 5 μm 薄片,用苏木精-伊红(hematoxylin eosin, HE)染色。在光学显微镜下,每张切片在缺血区随机选择 4 个高倍视野(×400),观察心肌组织学变化。

1.2.3 免疫组化法观察大鼠心肌组织中 HSP70 的表达 将心肌组织切片置于 68 ℃烤箱中烤 60 min 后行免疫组化染色。在光镜下观察 HSP70 染色情况,每张切片随机取 4 个非重叠无血管视野(×400),利用 Image-Proplus 5.0 图像扫描软件进行图像分析,测定每个视野下阳性物质的平均光密度值。平均光密度值=累积光密度值/面积。

1.2.4 MDA 和 SOD 的测定 通过脱臼法处死大鼠后立即取心脏组织 100 mg,按 1∶9的比例加入生理盐水,玻璃匀浆器低温下匀浆,4 ℃,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液。分别采用黄嘌呤氧化法和硫代巴比妥酸显色法测定 MDA 和 SOD,严格按试剂盒操作要求进行。

1.2.5 心肌梗死面积的测量 右心室取血后取出心脏,保留部分主动脉,经主动脉逆行灌注心脏,以生理盐水冲洗心脏,再次在相同部位结扎左冠状动脉前降支,并用 Evans blue 染色剂从主动脉逆行灌注心脏,区分非缺血部位和缺血部位,而后放入-20 ℃冰箱中冷冻 15 min 至心脏组织僵硬。垂直心脏长轴方向,以手术刀切片,每片厚约 1 mm,剔取左心室,滤纸干燥,电子天平称重测得左心室重量。再剔取左心室缺血部位称重并计算缺血心肌重量占左心室重量的百分比(以下简称 IM/LV)。将左心室缺血部位切片放入 1% TTC 中,37 ℃水浴 30 min,区分非梗死部位和梗死部位,剔取梗死区域的心肌组织,滤纸干燥后称重,并计算梗死心肌重量占左心室重量的百分比(以下简称 NEC/LV)。

1.2.6 血清心肌酶的测定 待大鼠处死后,开胸显露心脏,右心室取血 10 ml,离心后血浆置于-20 ℃冰箱中保存。血浆标本解冻后应用 Hitach 7060 型全自动生化分析仪测定肌酸磷酸激酶(creatine kinase, CK)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)及乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH),试剂购自科华-东菱公司。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法,相关性分析采用 Pearson 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠心脏染色结果

大鼠心脏组织 Evans blue 染色结果可见,非缺血部位呈蓝色,缺血部位则不染色;TTC 染色结果可见,非梗死部位呈深红色,梗死部位则呈苍白色(图 1)。

2.2 大鼠心肌组织 HE 染色结果

假手术组大鼠心肌纤维清晰,排列规则,无断裂和缺血坏死(图 2A)。模型组、槲皮素组见片状心肌组织坏死溶解,其间可偶见岛状或细带状存活心肌组织,肌纤维断裂,肌丝断裂溶解,心肌纤维扭曲、心肌细胞肿胀,核固缩或溶解(图 2B, D)。治疗组心肌组织坏死明显减轻(图 2C)。

2.3 大鼠心肌组织中 HSP70 的含量

正常心肌细胞的 HSP70 分布于心肌细胞胞浆中,免疫组化染色阳性呈棕黄色。4 组 HSP70 免疫组化染色及半定量分析结果见图 3。其中,假手术组、模型组、槲皮素组 HSP70 表达水平分别为(0.154±0.036)、(0.151±0.033)、(0.151±0.025) ng/ml,组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗组 HSP70 含量为(0.286±0.056) ng/ml,较其余各组均增加,差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.4 大鼠心肌组织中 MDA、SOD 的含量

与模型组和槲皮素组相比较,治疗组和假手术组中 MDA 水平明显低于模型组和槲皮素组($P<0.01$),治疗组与假手术组 MDA 水平比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。治疗组和假手术组中 SOD 水平明显高于模型组和槲皮素组,差异有统计学意义($P<0.01$),且治疗组中 SOD 水平明显高于假手术组($P<0.01$;表 1)。

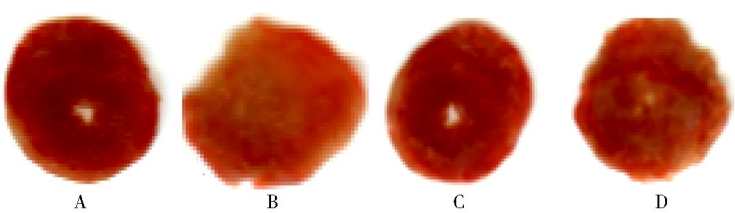
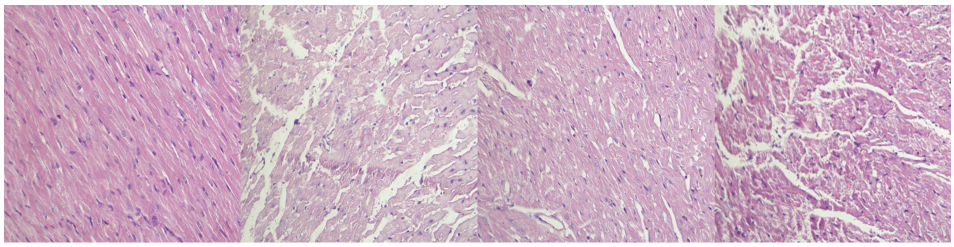


图 1 4 组大鼠心脏 TTC 染色结果

Figure 1 TTC staining of rat heart in each group

A: sham operation group; B: model group; C: treatment group; D: quercetin group.

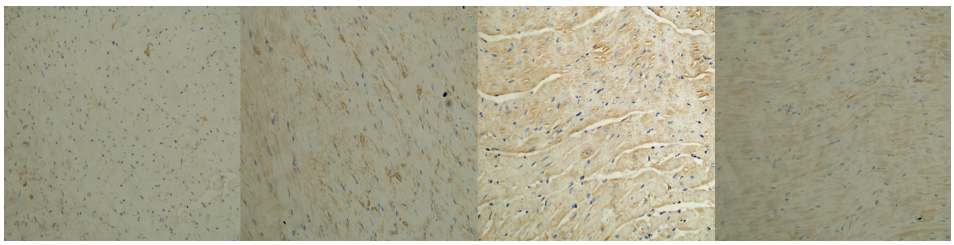


A B C D

图2 4组大鼠心肌组织HE染色结果

Figure 2 HE staining results of myocardial tissue in each group (×400)

A: sham operation group; B: model group; C: treatment group; D: quercetin group.



A B C D

图3 4组大鼠心肌组织HSP70免疫组化染色结果

Figure 3 Immunohistochemical staining results of HSP70 in myocardial tissue of rats in each group (×400)

A: sham operation group; B: model group; C: treatment group; D: quercetin group.

表1 4组大鼠心肌细胞中MDA和SOD含量比较

Table 1 Comparison of MDA and SOD content in myocardial cells between four groups ($n=9$, $\bar{x}\pm s$)

Group	MDA(mmol/0.1g tissue)	SOD(U/0.1g tissue)
Sham operation	2.32±6.01	61.80±6.51
Model	91.92±12.64$^{*\#}$	52.66±4.82$^{*\#}$
Treatment	69.22±5.27$^{*\triangle}$	84.79±7.59$^{*\triangle}$
Quercetin	92.49±8.19$^{*\#}$	51.61±6.05$^{*\#}$

MDA: malondialdehyde; SOD: superoxide dismutase. Compared with sham operation group, $^{*}P<0.01$; compared with model group, $^{\triangle}P<0.01$; compared with treatment group, $^{\#}P<0.01$.

2.5 大鼠心肌缺血、心肌梗死面积百分比

假手术组中未见心肌缺血及心肌坏死,模型组较假手术组出现明显的心肌缺血及坏死,而治疗组心肌缺血及坏死面积较模型组明显缩小($P<0.01$),槲皮素组给予槲皮素后心肌缺血面积及梗死面积较治疗组增大($P<0.01$),但与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$;表2)。

2.6 大鼠血清中CK、AST、LDH的含量

血清CK、AST、LDH在模型组、治疗组、槲皮素组中的含量均高于假手术组($P<0.01$),且治疗组CK、AST、LDH含量较模型组和槲皮素组减少,差异有统计学意义($P<0.01$),而槲皮素组与模型组CK、AST、LDH含量比较差异无统计学意义($P>0.05$;表3)。

表2 4组大鼠心肌缺血和心肌梗死面积百分比比较

Table 2 Comparison of percentage of myocardial ischemia and myocardial infarction area between four groups ($n=9$, %, $\bar{x}\pm s$)

Group	IM/LV	NEC/LV
Sham operation	0.020±0.003	0.010±0.002
Model	0.330±0.058$^{*\#}$	0.241±0.054$^{*\#}$
Treatment	0.230±0.049$^{*\triangle}$	0.165±0.372$^{*\triangle}$
Quercetin	0.372±0.048$^{*\#}$	0.248±0.035$^{*\#}$

IM/LV: ischemic myocardium/left ventricle; NEC/LV: necrotizing myocardium/left ventricle. Compared with sham operation group, $^{*}P<0.01$; compared with model group, $^{\triangle}P<0.01$; compared with treatment group, $^{\#}P<0.01$.

表3 4组大鼠心肌细胞中CK、AST、LDH含量比较

Table 3 Comparison of contents of CK, AST and LDH in myocardial cells between four groups ($n=9$, U/L, $\bar{x}\pm s$)

Group	CK	AST	LDH
Sham operation	80.33±10.22	12.99±2.03	44.06±6.03
Model	223.56±31.69$^{*\#}$	58.19±16.61$^{*\#}$	126.47±44.87$^{*\#}$
Treatment	130.69±28.81$^{*\triangle}$	31.67±7.43$^{*\triangle}$	94.45±14.15$^{*\triangle}$
Quercetin	213.39±24.89$^{*\#}$	54.02±8.60$^{*\#}$	125.53±38.99$^{*\#}$

CK: creatine kinase; AST: aspartate aminotransferase; LDH: lactate dehydrogenase. Compared with sham operation group, $^{*}P<0.01$; compared with model group, $^{\triangle}P<0.01$; compared with treatment group, $^{\#}P<0.01$.

2.7 HSP70与MDA、SOD、CK、AST、LDH、IM/LV、NEC/LV的相关性分析

Pearson相关性分析结果显示,大鼠心肌组织中HSP70的含量与MDA呈负相关($r=-0.811$, $P<$

0.001),与 SOD 呈正相关($r=0.973$,$P<0.001$);大鼠心肌组织中 HSP70 的含量与 CK、AST、LDH 呈负相关($r=-0.827$、-0.862、-0.888,均 $P<0.001$),与 IM/LV、NEC/LV 呈负相关($r=-0.908$、-0.694,均$P<0.001$)。

3 讨 论

自由基损伤是心肌发生缺血坏死的重要环节[10,11]。氧自由基对心肌的损害主要表现为脂质过氧化反应,即氧自由基与心肌细胞膜上的多不饱和脂肪酸结合,引起脂质过氧化作用,形成脂质过氧化物,进而引起细胞生物分子结构变化和细胞功能损伤,最终导致心肌细胞损伤。MDA 是氧自由基生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的代谢产物,可间接反映心肌组织中氧自由基含量的变化;而 SOD 是生物体产生的一种天然抗氧化物,通过歧化反应清除体内生成的氧自由基,对氧自由基损伤具有保护作用[13,14]。

HSP70 家族作为 HSP 家族中重要组成部分,在生物细胞中含量最高,可诱导性最强,具有保护细胞免受刺激损伤,促进受损细胞修复及抗炎、抗凋亡、耐受缺血或缺氧损伤等生物学功能[1-3]。HSP70 高表达可减少心肌梗死面积,改善心肌收缩功能[3,6]。HSP70 高表达还可减少拟行心脏外科手术患者的心肌损伤[9]。HSP70 可通过降低 MDA 的表达、增强 SOD 的清除能力进而起到增强心肌细胞的抗氧化能力,降低活性自由基的损伤的作用[11,12]。由此推测,HSP70 的诱导剂 Ala-Gln 可能对缺血心肌具有一定的保护作用。

本实验通过手术结扎大鼠冠状动脉前降支的方法建立大鼠缺血心肌模型,通过大鼠心肌病理染色结果发现,模型组较假手术组出现明显的心肌细胞坏死,且部分心肌组织出现了纤维化,心肌缺血面积、梗死面积、心肌酶含量较假手术组增加,模型组 MDA 表达水平高于假手术组,而假手术组 SOD 含量则较模型组降低。上述结果表明,造模成功后心肌细胞发生了脂质过氧化反应,产生了大量的代谢产物 MDA,而且 SOD 表达的减少,使心肌细胞清除氧自由基的能力降低,造成心肌损伤。此外,治疗组造模后 30 min 给予腹腔注射 Ala-Gln,其心肌组织 HSP70 表达水平显著高于其他 3 组,虽然心肌缺血面积、心肌梗死面积及心肌酶的含量高于假手术组,但与模型组比较却下降,且 MDA 水平较模型组下降,SOD 水平却较模型组升高,提示 Ala-Gln 对心肌梗死具有保护作用,这可能与诱导心肌组织中 HSP70 表达、抑制脂质过氧化反应、提高心肌细胞清除氧自由基的能力有关。而槲皮素组在给予 HSP70 抑制剂后,HSP70 的表达水平较治疗组降低,且心肌缺血面积、心肌坏死面积、心肌酶、MDA、SOD 与模型组比较差异无统计学意义,表明 Ala-Gln 对心肌梗死的保护作用主要是通过诱导心肌组织 HSP70 表达、抑制脂质过氧化反应、提高心肌细胞清除氧自由基能力来实现的,抑制剂抑制了 HSP70 的表达,导致保护作用也随之消失。

综上所述,Ala-Gln 对心肌梗死具有保护作用,该保护作用主要表现在减少心肌缺血面积、减少心肌梗死面积以及降低心肌酶的含量。其机制可能与 Ala-Gln 诱导心肌组织 HSP70 表达、抑制脂质过氧化反应、提高心肌细胞清除氧自由基的能力有关。Ala-Gln 目前在临床上已被广泛应用,具有肯定的安全性和有效性,故 Ala-Gln 诱导 HSP70 表达升高用于心肌梗死的防治具有潜在的临床价值。

【参考文献】

[1] de Toda IM, Vida C, Ortega E, *et al*. HSP70 basal levels, a tissue marker of the rate of aging and longevity in mice[J]. Exp Gerontol, 2016, 84:21-28. DOI:10.1016/j.exger.2016.08.013.

[2] Duncan EJ, Cheetham ME, Chapple JP, *et al*. The role of HSP70 and its co-chaperones in protein misfolding, aggregation and disease[J]. Subcell Biochem, 2015, 78: 24373. DOI:10.1007/978-3-319-1731-7_12.

[3] 刘健,刘静,李胜泽,等. 抑制热休克蛋白 70 表达可增强宫颈癌细胞对顺铂化疗的敏感性[J]. 南方医科大学学报,2017,37(4):475-481. DOI:10.3969/j.issn.1673-4254.2017.04.09.
Liu J, Liu J, LI SZ, *et al*. Inhibiting HSP70 expression enhances cisplatin sensitivity of cervical cancer cells[J]. J Southern Med Univ, 2017, 37(4):475-481. DOI:10.3969/j.issn.1673-4254.2017.04.09.

[4] Currie RW, Karmazyn M, Kloc M, *et al*. Heat-shock response is associated with enhanced postischemic ventricular recovery[J]. Circ Res, 1988, 63(3):543-549. DOI:10.1161/01.res.63.3.543.

[5] Reeg S, Jung T, Castro JP, *et al*. The molecular chaperone HSP70 promotes the proteolytic removal of oxidatively damaged proteins by the proteasome[J]. Free Radical Biol Med, 2016, 99:153-166. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2016.08.002.

[6] Bobkova NV, Evgen'Ev M, Garbuz DG, *et al*. Exogenous HSP70 delays senescence and improves cognitive function in aging mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112: 16006-16011. DOI:10.1073/pnas.1516131112.

[7] Kim SH, Koh GY, Cho KW, *et al*. Stretch activated atrial natriuretic peptide secretion in atria with heat shock protein 70 over expression[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2003, 228(2): 2002

-2006. DOI:10.1177/153537020322800211.

[8] Sufit A, Weitzel LB, Hamiel C, *et al*. Pharmacologically dosed oral glutamine reduces myocardial injury in patients undergoing cardiac surgery: a randomized pilot feasibility trial[J]. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2012, 36(5): 556-561. DOI: 10.1177/0148607112448823.

[9] Wang Y, Zhang ZZ, Wu Y, *et al*. Honokiol protects rat hearts against myocardial ischemia reperfusion injury by reducing oxidative stress and inflammation[J]. Exp Ther Med, 2013, 5(1): 315-319. DOI: 10.3892/etm.2012.766.

[10] Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal[J]. Oxid Med Cell Longev, 2014, 2014: 360438. DOI:10.1155/2014/360438.

[11] 秦丽娟,曹宇. 局部热应激预处理对肝脏缺血/再灌注损伤的防护作用的机制[J]. 中国应用生理学杂志,2005, 21(3): 285-288. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6834.2005.03.011.
Qin LJ, Cao Y. Protective effects of local heat preconditioning on hepatic ischemia/reperfusion injury[J]. Chin J Appl Physiol, 2005, 21(3): 285-288. DOI:10.3969/j.issn.1000-6834.2005.03.011.

[12] 吴建明,林子豪,刘麒. 热应激预处理对皮瓣缺血再灌注损伤的影响及机制[J]. 中华整形外科杂志, 1999, 15(5): 351. DOI:10.3760/j.issn:1009-4598.1999.05.009.
Wu JM, Lin ZH, Liu Q. Effects of heat-shock pretreatment on the survival of island flaps in rats[J]. Chin J Plast Surg, 1999, 15(5): 351. DOI:10.3760/j.issn:1009-4598.1999.05.009.

[13] Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, *et al*. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion[J]. Cardiovasc Res, 2004, 62(1): 74-85. DOI:10.1016/j.cardiores.2004.01.006.

[14] 李应东,赵信科,刘凯. 当归红芪超滤物对急性心肌梗死大鼠SOD、MDA、LDH1及HSP70的影响[J]. 中华中医药杂志, 2011,26(10):2430-2433.
Li YD, Zhao XK, Liu K. Effect of ultra-filtration extract mixture from Angelica and Hedysari, radix on SOD, MDA, LDH1 and HSP70 in acute myocardial infarction rats[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2011, 26(10): 2430-2433.

(编辑:苏凯燕)

·消 息·

《中华老年多器官疾病杂志》“临床病理讨论”栏目征稿

临床病理讨论(Clinicopathological Conference, CPC)是临床实践中的一个重要环节,是多个学科合作对患者进行个体化诊治的一种形式,尤其对于一些疑难和罕见病例更为重要。综合患者的临床表现、实验室检查、影像学检查和病理检查等各项结果,一方面可以明确疾病的诊断并制定治疗方案,使患者受益,另一方面亦有利于为临床医师提供更好的经验和更开阔的思路,提高医师的诊疗能力。一篇好的临床病理讨论,往往是教科书上找不到的活教材,也是其他文体难以取代的好形式。

“临床病理讨论”一直以来都是本刊的一个特色栏目,深受广大读者喜爱。所刊登的一般多为回顾性的病例讨论与总结,旨在总结经验、吸纳教训和传播知识。在工作实践中,我们根据广大读者和作者的建议,对临床病理讨论文章的格式进行了调整。(1)作者在文题下署名(而非仅在文末注明由何人整理),**作者拥有本文的著作权**。(2)文章正文为中文,正文前有言简意赅的中英文摘要。**论文性质等同于本刊“论著”**。(3)所选病例可以是疑难、罕见病例,也可以是诊断明确、但病情危重或有诸多并发症、治疗上甚为棘手的病例,亦可为其他对临床实践有指导或提示意义的病例。

本刊热忱欢迎广大专家学者为本刊撰写或推荐相关稿件。

具体格式请参考本刊近期发表的“临床病理讨论”文章。

地址:100853 北京市复兴路28号《中华老年多器官疾病杂志》编辑部
电话:010-66936756
网址:www.mode301.cn
E-mail:zhlndqg@mode301.cn