

α -硫辛酸对 H9c2 心肌细胞低氧及低氧/复氧损伤的保护作用及其机制探讨

操全霞,丁昱东

摘要 目的 探讨 α -硫辛酸(α -LA)对 H9c2 心肌细胞低氧及低氧/复氧损伤的保护作用及其作用机制。方法 研究包括 H9c2 心肌细胞低氧实验和低氧/复氧实验两部分,分成常氧组、低氧组或低氧/复氧组、LA 组、乙醛脱氢酶抑制剂异黄酮苷(Daidzin)组(Daidzin 组)、二甲亚砜(DMSO)溶剂对照组(DMSO 组)。采用噻唑蓝(MTT)比色法检测心肌细胞存活率;微量酶标法测定乳酸脱氢酶(LDH)活性;ELISA 法检测心肌细胞乙醛脱氢酶 2(ALDH2)活性;硫代苯巴比妥酸法检测丙二醛(MDA)水平。结果 与常氧组比较,低氧组及低氧/复氧组细胞存活率均下降($P < 0.01$),LDH 活性及 MDA 含量均升高($P < 0.01$);与低氧组或低氧/复氧组比较,LA 组细胞存活率上升($P < 0.01$),ALDH2 活性增加($P < 0.05$),LDH 活性及 MDA 含量降低($P < 0.01$);LA 组、Daidzin 组、DMSO 组 3 组比较,LA 组与 DMSO 组间存活率、ALDH2、LDH、MDA 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$);Daidzin 组与 LA 组、DMSO 组比较,细胞存活率及 ALDH2 活性降低($P < 0.05$),LDH 活性及 MDA 含量升高($P < 0.05$),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 α -LA 可通过上调 ALDH2 活性并减少过氧化终产物形成,最终减轻心肌细胞低氧

及低氧/复氧过程中的氧化损伤。

关键词 α -硫辛酸;异黄酮苷;乙醛脱氢酶;心肌细胞;低氧;低氧/复氧

中图分类号 R 541.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)07-1024-05

随着生活水平的提高,冠心病日渐成为威胁人类生命健康的主要疾病。冠状动脉粥样硬化引起血管管腔狭窄或阻塞是冠心病发生发展的主要机制,经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention,PCI)或冠状动脉旁路移植术(coronary artery bypass graft,CABG)开通严重病变的冠状动脉,进行血运重建,极大地缓解了冠心病心肌缺血症状及预后。但不适用于 PCI 或 CABG 手术的冠状动脉分支病变所致的心肌缺血,以及“罪犯”血管开通后导致的缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury,IRI)^[1],仍然是困扰临床工作者的现实问题。如何进一步减少心肌缺血或 IRI 是目前临床研究关注的热点。研究^[2-5]表明,自由基损伤在缺血及 IRI 的发病机制中起着关键性作用。Trevisan et al^[6]研究心血管病危险因素时发现,心血管危险因子数量与氧化应激状态及抗氧化能力降低呈显著相关性。研究^[7-8]显示,乙醛脱氢酶 2(aldehyde dehydrogenase 2,ALDH2)能降低大鼠心肌低氧损伤引起的细胞凋

2015-03-17 接收

基金项目:安徽省卫生厅医学科研课题计划(编号:2010C058)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院综合内科,合肥 230601

作者简介:操全霞,女,硕士研究生;

丁昱东,男,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: dcd-sunshine@sina.com

inactive carriers) and 150 Uygur controls (naturally cleared the HBV virus) were recruited. Three single nucleotide polymorphisms (SNP) were genotyped. **Results** ① The frequency of HLA-DP rs9277535AA type in HBV carriers group was significantly lower than controls ($P = 0.023$). The frequency of A allele distribution in controls was significantly higher than in carriers ($P = 0.020$). The frequency of HLA-C rs3130542GG type and A allele were different between HBV carriers and controls ($P < 0.001$). The frequency of UBE2L3 rs4821116AA type and G allele were not significantly different between HBV carriers and controls ($P > 0.05$). ② We found that rs9277535 and rs3130542 were in linkage disequilibrium, and the rs9277535A/rs3130542G type was a possible protective factor of HBV, while rs9277535G/rs3130542A type in the subjects was a relative risk. **Conclusion** HLA-DP rs9277535, HLA-C rs3130542 gene polymorphisms are associated with the outcomes of hepatitis B virus infection in Uygur population of Xinjiang in China. The more frequency of HLA protective alleles, the higher rate of HBV natural clearance.

Key words HLA; hepatitis B virus; uygur; gene polymorphisms

亡及心肌 IRI 时氧化应激水平,改善其心脏功能,而且对氧化应激导致的神经细胞、内皮细胞损伤有拮抗作用。 α -硫辛酸(α -lipoic acid, α -LA)作为 ALDH2 的激活剂及较强的抗氧化剂,是否对心肌缺血或 IRI 起到保护作用尚不清楚。该实验通过 H9c2 心肌细胞低氧和低氧/复氧模型,研究 α -LA 是否对 H9c2 心肌细胞低氧或低氧/复氧损伤起到保护作用并探讨其可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验细胞株 H9c2 大鼠心肌细胞株购自上海生命科学研究院细胞库。

1.2 主要试剂和仪器 α -LA(山西亚宝药业集团股份有限公司);异黄酮苷(Daidzin)(上海源叶生物科技有限公司);胎牛血清(杭州四季青公司);DMEM 合成培养基(美国 Hyclone 公司);噻唑蓝(MTT)(美国 Sigma 公司);乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)试剂盒及丙二醛(malondialdehyde,MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所);ALDH2 试剂盒(武汉华美生物工程有限公司);BCA 蛋白定量试剂盒(杭州碧云天生物技术有限公司);其余试剂为国产分析纯级;CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司);低氧小室(美国 Billups Rothenberg Inc 公司);倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司)。Daidzin 溶于二甲亚砜(dimethyl sulfoxide,DMSO)。

1.3 低氧及低氧/复氧损伤模型的建立^[9] 低氧模型建立: H9c2 心肌细胞正常培养 24 h 达 60%~70% 融合后,换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养并置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内 37 °C 培养 24 h。低氧/复氧模型建立: H9c2 心肌细胞正常培养 24 h 达 60%~70% 后,换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养并置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内 37 °C 培养 24 h 后,置于 37 °C、5% CO₂ 的普通培养箱复氧 12 h。

1.4 实验步骤

1.4.1 H9c2 心肌细胞的培养 H9c2 细胞株在含 10% 胎牛血清高糖 DMEM 完全培养基中培养(条件为 37 °C、5% CO₂) 2~3 d 传代 1 次,实验时取对数生长期细胞。

1.4.2 实验分组及设计 低氧模型分组:常氧组(正常培养 24 h 后换液,不做任何处理继续培养 24 h);低氧组(正常培养 24 h 后换成不含血清的高糖

DMEM 培养基培养并置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内培养 24 h);LA 组(正常培养 24 h 后换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养及 1×10^{-4} mol/L^[9] 的 α -LA,置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内培养 24 h);Daidzin 组(正常培养 24 h 后换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养、 1×10^{-4} mol/L 的 α -LA 及 60 μ mol/L Daidzin^[10],置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内培养 24 h);DMSO 组(正常培养 24 h 后换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养、 1×10^{-4} mol/L 的 α -LA 及 DMSO,置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内培养 24 h)。

低氧/复氧模型分组:常氧组(正常培养 24 h 后换液,继续培养 36 h,不做任何处理);低氧/复氧组(正常培养 24 h 后,换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养并置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内培养 24 h,置于 37 °C、5% CO₂ 的普通培养箱复氧 12 h);LA 组(正常培养 24 h 后,换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养及 1×10^{-4} mol/L 的 α -LA,置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内培养 24 h 后,置于 37 °C、5% CO₂ 的普通培养箱复氧 12 h);Daidzin 组(正常培养 24 h 后,换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养、 1×10^{-4} mol/L 的 α -LA 及 60 μ mol/L Daidzin,置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内培养 24 h 后,置于 37 °C、5% CO₂ 的普通培养箱复氧 12 h);DMSO 组(正常培养 24 h 后,换成不含血清的高糖 DMEM 培养基培养、 1×10^{-4} mol/L 的 α -LA 及 DMSO,置于充满 95% N₂、5% CO₂ 的低氧小室内培养 24 h 后,置于 37 °C、5% CO₂ 的普通培养箱复氧 12 h)。

1.5 H9c2 心肌细胞存活率测定 采用 MTT^[11] 比色法检测(设不加细胞只加孵育液为空白组)。培养 96 孔板中的 H9c2 心肌细胞,接种密度为 8 500 个/孔,各组进行相应处理后,每孔加入 MTT 溶液(5 mg/ml) 10 μ l,37 °C 孵育 4 h 后弃培养液,每孔加入 150 μ l DMSO 振荡 10 min,使结晶物充分溶解。选择 490 nm 波长,在酶标仪上测定各孔吸光度(absorbance,A)值,计算细胞存活率。细胞存活率(%) = (A_{试验组}/A_{对照组}) × 100%。

1.6 LDH 活性检测 各组进行相应处理后,吸取细胞培养上清液,按照试剂盒说明书进行检测。

1.7 MDA 含量检测 各组进行相应处理后,吸取细胞裂解上清液,采用硫代巴比妥酸法测定 MDA,

按照试剂盒说明进行检测。

1.8 ALDH2 活性检测 各组进行相应处理后,吸取细胞裂解上清液,采用 ELISA 法测定 ALDH2 活性,按照试剂盒说明书进行检测。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,所有资料呈正态分布,所有实验重复 6 次,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用 SNK- q 检验。

2 结果

2.1 α -LA 对心肌细胞存活率的影响

2.1.1 低氧模型 低氧组与常氧组比较心肌细胞存活率显著下降 ($P < 0.01$),LA 组与低氧组比较心肌细胞存活率显著上升 ($P < 0.01$),表明 α -LA 能显著改善心肌细胞活力。LA 组、Daidzin 组、DMSO 组 3 组比较差异有统计学意义 ($F = 14.514, P < 0.01$); 两两比较显示, Daidzin 组与 LA 组、Daidzin 组与 DMSO 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LA 组与 DMSO 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),表明 Daidzin 具有抑制 α -LA 改善细胞活力的作用, DMSO 对 α -LA 的作用无影响,见表 1。

2.1.2 低氧/复氧模型 低氧/复氧组与常氧组比较心肌细胞存活率显著下降 ($P < 0.01$),LA 组与低氧/复氧组比较心肌细胞存活率显著上升 ($P < 0.01$),表明 α -LA 能显著改善心肌细胞活力。LA 组、Daidzin 组、DMSO 组 3 组比较差异有统计学意义 ($F = 5.271, P < 0.05$); 两两比较显示, Daidzin 组与 LA 组、Daidzin 组与 DMSO 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LA 组与 DMSO 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),表明 Daidzin 具有抑制 α -LA 改善细胞活力的作用, DMSO 对 α -LA 的作用无影响,见表 2。

2.2 α -LA 对心肌细胞 LDH 的影响

2.2.1 低氧模型 低氧组与常氧组比较心肌细胞培养上清的 LDH 活力升高 ($P < 0.01$),LA 组与低氧组比较心肌细胞培养上清的 LDH 活力显著降低 ($P < 0.01$),表明 α -LA 能显著降低低氧组的 LDH 释放率。LA 组、Daidzin 组、DMSO 组 3 组比较差异有统计学意义 ($F = 18.674, P < 0.01$); 两两比较显示 Daidzin 组与 LA 组、Daidzin 组与 DMSO 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LA 组与 DMSO 组比

较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),表明 Daidzin 具有抑制 α -LA 减少 LDH 释放的作用, DMSO 对 α -LA 的作用无影响,见表 1。

2.2.2 低氧/复氧模型 低氧/复氧组与常氧组比较心肌细胞培养上清的 LDH 活力升高 ($P < 0.01$), LA 组与低氧/复氧组比较心肌细胞培养上清的 LDH 活力显著降低 ($P < 0.01$),表明 α -LA 能显著降低低氧/复氧组的 LDH 释放率。LA 组、Daidzin 组、DMSO 组 3 组比较差异有统计学意义 ($F = 17.684, P < 0.01$); 两两比较显示, Daidzin 组与 LA 组、Daidzin 组与 DMSO 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LA 组与 DMSO 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),表明 Daidzin 具有抑制 α -LA 减少 LDH 释放的作用, DMSO 对 α -LA 的作用无影响,见表 2。

2.3 α -LA 对心肌细胞 MDA 的影响

2.3.1 低氧模型 低氧组与常氧组比较心肌细胞的 MDA 含量升高 ($P < 0.01$),LA 组与低氧组比较心肌细胞的 MDA 含量显著降低 ($P < 0.01$),表明 α -LA 能显著降低低氧组的 MDA 含量。LA 组、Daidzin 组、DMSO 组 3 组比较差异有统计学意义 ($F = 7.757, P < 0.05$); 两两比较显示, Daidzin 组与 LA 组、Daidzin 组与 DMSO 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LA 组与 DMSO 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),表明 Daidzin 具有抑制 α -LA 减少 MDA 含量的作用, DMSO 对 α -LA 的作用无影响,见表 1。

2.3.2 低氧/复氧模型 低氧/复氧组与常氧组比较 MDA 含量升高 ($P < 0.01$),LA 组与低氧/复氧组比较心肌细胞的 MDA 含量显著降低 ($P < 0.01$),表明 α -LA 能显著降低低氧/复氧组的 MDA 含量。LA 组、Daidzin 组、DMSO 组 3 组比较差异有统计学意义 ($F = 23.124, P < 0.01$); 两两比较显示, Daidzin 组与 LA 组、Daidzin 组与 DMSO 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LA 组与 DMSO 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),表明 Daidzin 具有抑制 α -LA 减少 MDA 含量的作用, DMSO 对 α -LA 的作用无影响,见表 2。

2.4 α -LA 对心肌细胞 ALDH2 的影响

2.4.1 低氧模型 低氧组与常氧组比较 ALDH2 含量无显著差异 ($P > 0.05$),LA 组与低氧组比较 ALDH2 含量上升 ($P < 0.05$),表明 α -LA 能显著增加心肌细胞 ALDH2 的含量。LA 组、Daidzin 组、DMSO

表1 α -LA 对低氧损伤后 H9c2 心肌细胞的影响 ($n=6 \bar{x} \pm s$)

项目	常氧组	低氧组	LA 组	Daidzin 组	DMSO 组
心肌细胞存活率(%)	100.00 ± 00.00*	66.73 ± 2.06	83.75 ± 2.48*	74.53 ± 3.64 [#]	79.01 ± 5.89
LDH 活性(U/L)	101.12 ± 21.62*	221.78 ± 29.67	148.04 ± 29.35*	230.78 ± 29.41 [#]	154.04 ± 18.38
心肌细胞 MDA 含量(nmol/ml)	0.555 ± 0.054*	1.265 ± 0.076	0.766 ± 0.097*	1.121 ± 0.146 [#]	0.824 ± 0.107
心肌细胞 ALDH2 含量(ng/ml)	0.300 ± 0.067	0.229 ± 0.054	0.394 ± 0.014*	0.305 ± 0.043 [#]	0.390 ± 0.125

与低氧组比较: * $P < 0.05$; 与 LA 组比较: [#] $P < 0.05$

表2 α -LA 对低氧/复氧损伤后 H9c2 心肌细胞的影响 ($n=6 \bar{x} \pm s$)

项目	常氧组	低氧/复氧组	LA 组	Daidzin 组	DMSO 组
心肌细胞存活率(%)	100.00 ± 00.00*	51.75 ± 6.79	66.59 ± 5.75*	54.91 ± 8.61 [#]	65.04 ± 4.82
LDH 活性(U/L)	131.14 ± 21.40*	261.66 ± 30.11	199.28 ± 21.49*	274.52 ± 25.72 [#]	206.57 ± 24.7
心肌细胞 MDA 含量(nmol/ml)	0.637 ± 0.058*	1.629 ± 0.062	1.046 ± 0.069*	1.477 ± 0.106 [#]	1.141 ± 0.063
心肌细胞 ALDH2 含量(ng/ml)	0.317 ± 0.124	0.303 ± 0.038	0.400 ± 0.039*	0.283 ± 0.047 [#]	0.383 ± 0.011

与低氧/复氧组比较: * $P < 0.05$; 与 LA 组比较: [#] $P < 0.05$

组3组比较比较差异有统计学意义($F = 16.376, P < 0.01$); 两两比较显示 Daidzin 组与 LA 组、Daidzin 组与 DMSO 组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$), LA 组与 DMSO 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 表明 Daidzin 具有抑制 α -LA 增加 ALDH2 含量的作用, DMSO 对 α -LA 的作用无影响, 见表1。

2.4.2 低氧/复氧模型 常氧组与低氧/复氧组比较心肌细胞的 ALDH2 含量无显著差异($P > 0.05$), LA 组与低氧/复氧组比较 ALDH2 含量上升($P < 0.05$), 表明 α -LA 能显著增加心肌细胞 ALDH2 的含量。LA 组、Daidzin 组、DMSO 组3组比较差异有统计学意义($F = 9.231, P < 0.05$); 两两比较显示, Daidzin 组与 LA 组、Daidzin 组与 DMSO 组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$), LA 组与 DMSO 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 表明 Daidzin 具有抑制 α -LA 增加 ALDH2 含量的作用, DMSO 对 α -LA 的作用无影响, 见表2。

3 讨论

冠心病的发生与冠状动脉粥样硬化的程度有密切关系, 药物治疗可延缓或阻止冠状动脉粥样硬化病变的发展, 改善心肌供血, 减少心绞痛的发作及心肌梗死的发生, 但对于冠状动脉严重狭窄甚至闭塞病变, PCI 或 CABG 在血运重建方面则起着更为重要的作用, 当然可能由此导致的心肌 IRI 仍然备受关注。心肌 IRI 是指心肌血供中断一段时间后又突然恢复了血供, 原缺血心肌发生了较血供恢复前更严重的损伤^[12], 心肌再灌注时产生的大量氧自由基是导致心肌再灌注损伤的主要因素^[13]。MDA 作为

脂质过氧化的代谢产物其含量可以反映细胞受氧自由基攻击的严重程度, LDH 的活性也是评价心肌细胞低氧及低氧复氧损伤程度的重要指标, MTT 是一种可以进入活细胞的染料, 吸光度值反映出心肌细胞内线粒体脱氢酶的活性, 同时还间接反映心肌细胞的存活情况。本实验低氧组及低氧/复氧组与常氧组比较, 心肌细胞存活率降低, 培养液中 LDH 活性升高, 心肌细胞 MDA 含量升高, 表明本实验中心肌细胞低氧损伤模型和低氧/复氧模型建立是成功的, 为分析 ALDH2 激活剂 α -LA 的保护作用和 ALDH2 特异性抑制剂 Daidzin 的干预作用提供了可靠的基础。

α -LA 作为 ALDH2 的激活剂, 同时也是一种较强的抗氧化剂, 能否在抗低氧或低氧/复氧损伤方面发挥重要作用值得进一步探讨。本研究显示, 与低氧组或低氧/复氧组比较, α -LA 能使低氧或低氧/复氧心肌细胞的 ALDH2 活性显著增加, LDH、MDA 含量显著下降, 从而显著提高了低氧或低氧/复氧条件下的细胞存活率, 加入 ALDH2 特异性抑制剂 Daidzin 后可显著抑制 α -LA 的这一作用, 差异均有统计学意义。为排除 Daidzin 的溶媒 DMSO 对实验结果的影响, 增设 DMSO 组对照, 显示 DMSO 组数据与 LA 组比较差异无统计学意义, 说明加入 Daidzin 后对 α -LA 保护作用的抑制系 Daidzin 对 ALDH2 特异性抑制所致。

综上所述, α -LA 可以通过上调 ALDH2 的活性、减少过氧化终产物的形成, 实现减轻心肌细胞低氧损伤和低氧/复氧损伤的目的, 为临床应用 α -LA 治疗冠心病缺血损伤和再灌注损伤提供理论依据。

参考文献

- [1] Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra L H, Lentsch A B, et al. Ischemia/reperfusion injury [J]. *J Surg Res*, 2002, 105(2): 248 - 58.
- [2] Ferrari R, Agnoletti L, Comini L, et al. Oxidative stress during myocardial ischaemia and heart failure [J]. *Eur Heart J*, 1998, 19 Suppl B: B2 - 11.
- [3] Chapple I L. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases [J]. *J Clin Periodontol*, 1997, 24(5): 287 - 96.
- [4] Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants [J]. *Exp Physiol*, 1997, 82(2): 291 - 5.
- [5] Finkel T, Holbrook N J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing [J]. *Nature*, 2000, 408(6809): 239 - 47.
- [6] Trevisan M, Browne R, Ram M, et al. Correlates of markers of oxidative status in the general population [J]. *Am J Epidemiol*, 2001, 154(4): 348 - 56.
- [7] Ohsawa I, Nishimaki K, Yasuda C, et al. Deficiency in a mitochondrial aldehyde dehydrogenase increases vulnerability to oxidative stress in PC12 cells [J]. *J Neurochem*, 2003, 84(5): 1110 - 7.
- [8] Chen Z Q, Zhang J, Stamler J S. From the cover: identification of the enzymatic mechanism of nitroglycerin bioactivation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(12): 8306 - 11.
- [9] He L, Liu B, Dai Z, et al. Alpha lipoic acid protects heart against myocardial ischemia-reperfusion injury through a mechanism involving aldehyde dehydrogenase 2 activation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 678(1-3): 32 - 8.
- [10] 徐丹令, 孙爱军, 付 晗, 等. 乙醛脱氢酶 2 抑制剂 daidzin 对大鼠心肌细胞低氧损伤作用的机制 [J]. *上海医学*, 2007, 30(S1): 176 - 7.
- [11] Gomez L A, Alekseev A E, Aleksandrova L A, et al. Use of the MTT assay in adult ventricular cardiomyocytes to assess viability: effects of adenosine and potassium on cellular survival [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1997, 29(4): 1255 - 66.
- [12] Schulze C J, Wang W, Suarez-Pinzon W L, et al. Imbalance between tissue inhibitor of metalloproteinase-4 and matrix metalloproteinases during acute myocardial [correction of myocardial] ischemia-reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2003, 107(19): 2487 - 92.
- [13] Ambrosio G, Tritto I. Reperfusion injury: experimental evidence and clinical implications [J]. *Am Heart J*, 1999, 138(2 Pt 2): S69 - 75.

The protective effects of alpha-lipoic on H9c2 cardiomyocytes undergoing hypoxia or hypoxia/reoxygenation(H/R) injury and its possible mechanism

Cao Quanxia, Ding Chandong

(Dept of Internal Medicine, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To investigate the protective effects of alpha-lipoic (α -LA) on H9c2 cardiomyocytes undergoing hypoxia or hypoxia/reoxygenation(H/R) injury and explore its possible mechanisms. **Methods** H9c2 cardiomyocytes in hypoxia or H/R injury researches were respectively divided into normal control group, hypoxia or H/R group, hypoxia or H/R + α -LA group (LA group), hypoxia or H/R + α -LA + Daidzin group (Daidzin group) and hypoxia or H/R + α -LA + DMSO group (DMSO group). The myocardial cell survival was detected by MTT, the activity of LDH and ALDH2 were respectively analyzed by microtitration and ELISA, the MDA level was measured by TBA. **Results** Compared to the normal control group, the cell survival rates of hypoxia and H/R group were decreased ($P < 0.01$), the levels of MDA and LDH were significantly increased ($P < 0.01$). Compared to the hypoxia or H/R group, the cell survival rates and ALDH2 activities of LA group were improved ($P < 0.05$), the levels of MDA and LDH were decreased ($P < 0.01$). Compared to the LA group and DMSO group, the cell survival rates and ALDH2 activities of Daidzin group were decreased ($P < 0.05$), the levels of MDA and LDH were increased ($P < 0.05$), and no significant differences of all the above measures were found between LA group and DMSO group ($P > 0.05$). **Conclusion** α -LA can protect H9c2 cardiomyocytes from hypoxia or H/R injury by means of upregulating activities of ALDH2 and decreasing hypoxia or H/R induced lipid peroxidation.

Key words alpha-lipoic acid; Daidzin; ALDH2; cardiomyocyte; hypoxia; hypoxia/reoxygenation