

## 左-卡尼汀对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用

孙彩霞 高春霖 薛玉良 冯雪辛 张永强 顾书华

左-卡尼汀(L-Car)能改善卡尼汀缺乏及慢性心衰病人的心功能,本研究拟观察 L-Car 对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用及其机制。

## 材料和方法

**动物选择及实验模型** 雄性 Wistar 大鼠 24 只,体重 230 ~ 280 g,北京军事医学科学院实验动物中心提供。腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉,肝素 500 IU/kg 抗凝,10 min 后开胸,游离心脏后迅速置于 4℃ 预冷的 K-H 液[成分(mmol/L):NaCl 118、KCl 4.7、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2、MgSO<sub>4</sub> 1.2、NaHCO<sub>3</sub> 24.7、CaCl<sub>2</sub> 2.5、葡萄糖 11.1]中,主动脉插管行非再循环式 Langendorff 恒压逆行灌注,灌注压为 75 mm Hg(1 kPa = 7.5 mm Hg),温度控制在 36.5 ~ 37.5℃,灌注前用含 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 的混合气平衡 30 min,充分饱和后,氧分压 550 ~ 650 mm Hg,二氧化碳分压 36 ~ 42 mm Hg, pH 值 7.35 ~ 7.45。心脏复跳后,从肺动脉圆锥处剪一小口,以利冠脉液的流出;剪开左心耳,将一带乳胶小水囊的细导管插入左心室,细导管通过压力换能器与 RM-6000 型多导生理记录仪(Nihon Kohden 公司,日本)相连,向小水囊注水,使左心室舒张末压保持在 4 ~ 8 mm Hg。监测左心室功能,K-H 平衡灌注 15 min 时心率低于 250 次/min,左室收缩压峰值 80 mm Hg、冠脉流量(CF)7 ml/min 的心脏弃之不用。

**实验分组** 平衡灌注 15 min 时随机分为 3 组,每组 8 只。对照组(CON 组):继续用 K-H 液灌注 20 min,阻断灌注,造成全心缺血 20 min,再灌注 30 min;CAR1 组、CAR2 组:分别将 0.5、5 mmol/L L-Car(批号 030422,常州兰陵制药有限公司)加入 K-H 液中,余同 CON 组。

**心功能指标的测定** 分别在平衡灌注末(基础值)、缺血前、再灌注 10、20、30 min 记录左室发展压(LVDP)、左室内压上升最大速率(+dp/dt<sub>max</sub>)及下降最大速率(-dp/dt<sub>max</sub>),并计算其恢复率(当前值/基础值);同时测定 CF。

**CK 的测定** 收集缺血前 1 min 及再灌注 30 min 时冠脉流出液,用 Microlab 300 型半自动生化分析仪(Vital 公司,荷兰)测定 CK 活性,试剂盒由中生北控生物科技股份有限公司提供。

**心肌丙二醛(MDA)、ATP 含量的测定** 再灌注 30 min 时,取左心室心肌组织 0.1 g,加入 0.9% 生理盐水,经超声粉

碎制备 10% 心肌匀浆,用硫代巴比妥酸比色法(试剂盒由南京建成生物工程研究所提供)测定 MDA 含量。取左心室心尖部组织,液氮保存,从液氮中取出心脏标本称重,加入预冷的 0℃ 0.4 mol/L 高氯酸,在冰浴中研磨,制备 10% 心肌匀浆,4℃ 3 000 r/min 离心 20 min,取上清液过滤,进样 20 μl 作色谱分析,用 Breeze 高效液相色谱仪(Waters 公司,美国)测定 ATP 含量。

**统计学处理** 采用 SPSS 11.0 统计分析软件进行统计学分析。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,组内比较采用配对 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 结 果

**心功能的比较** 三组各心功能指标的基础值、缺血前值差异无统计学意义(*P* > 0.05);CAR2 组再灌注期 CF、LVDP、± dp/dt<sub>max</sub> 的恢复率均高于 CON 组、CAR1 组(*P* < 0.05),CAR1 组与 CON 组心功能的各指标比较差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 1。

表 1 三组缺血前后各时点心功能恢复率和 CF 的比较(*n* = 8,  $\bar{x} \pm s$ )

指标	组别	基础值	缺血前	再灌注		
				10 min	20 min	30 min
LVDP(%)	CON 组	-	-	40 ± 12	51 ± 11	52 ± 10
	CAR1 组	-	-	42 ± 11	52 ± 10	54 ± 9
	CAR2 组	-	-	67 ± 12*	76 ± 11*	75 ± 10*
+ dp/dt <sub>max</sub> (%)	CON 组	-	-	38 ± 11	48 ± 11	53 ± 11
	CAR1 组	-	-	40 ± 11	49 ± 10	53 ± 9
	CAR2 组	-	-	57 ± 12*	68 ± 11*	72 ± 9*
- dp/dt <sub>max</sub> (%)	CON 组	-	-	42 ± 12	53 ± 12	55 ± 11
	CAR1 组	-	-	42 ± 12	53 ± 11	56 ± 11
	CAR2 组	-	-	60 ± 14*	69 ± 13*	72 ± 12*
CF(ml/min)	CON 组	9.5 ± 1.9	9.1 ± 2.3	6.8 ± 1.5	6.5 ± 1.4	6.2 ± 1.6
	CAR1 组	9.7 ± 2.0	8.8 ± 2.3	7.0 ± 1.7	6.4 ± 1.7	6.2 ± 1.8
	CAR2 组	10.1 ± 1.6	9.8 ± 1.7	9.3 ± 1.9*	8.8 ± 1.8*	8.6 ± 1.8*

与 CON 组比较,\**P* < 0.05 与 CAR1 组比较,\**P* < 0.05

**冠脉流出液中 CK 活性的比较** 缺血前 1 min 时三组 CK 差异无统计学意义[CON 组、CAR1 组、CAR2 组分别为 20 ± 9、17 ± 8、(17 ± 8) U/L];再灌注 30 min CAR2 组低于 CON 组、CAR1 组[CON 组、CAR1 组、CAR2 组分别为 85 ± 29、78 ± 24、

作者单位:300211 天津医科大学第二医院麻醉科[孙彩霞(现在江苏大学附属医院麻醉科)、高春霖、薛玉良、冯雪辛、张永强];常州三维工业技术研究所医学部药理学研究室(顾书华)

( $45 \pm 17$ ) U/L] ( $P < 0.05$  或  $0.01$ ), CAR1 组与 CON 组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

MDA、ATP 含量的比较 与 CON 组、CAR1 组比较, CAR2 组 MDA 含量降低, ATP 含量升高 ( $P < 0.01$ ), CON 组、CAR1 组 MDA、ATP 含量差异无统计学意义, 见表 2。

表 2 三组再灌注 30min 时心肌 MDA、ATP 含量的比较 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

组别	MDA(nmol/mg·prot)	ATP( $\mu$ mol/g)
CON 组	$7.9 \pm 0.8$	$2.9 \pm 0.4$
CAR1 组	$7.3 \pm 0.9$	$3.2 \pm 0.4$
CAR2 组	$5.8 \pm 0.8^{*}$	$4.1 \pm 0.5^{*}$

与 CON 组比较,  $^{*} P < 0.01$  与 CAR1 组比较,  $^{*} P < 0.01$

## 讨 论

本研究的预实验中将 10 只大鼠离体心脏用 K-H 液持续灌注 85 min, 灌注 15 min 时达到平衡状态, 随着灌注时间的延长, 心功能逐渐减弱, 灌注 85 min 时 LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$  低于灌注 15 min 时, 此下降趋势符合 Langendorff 离体心脏模型的特点, 因灌注液中含有胶体成分, 长时间晶体液灌注会使心肌水肿, 心功能逐渐减弱, 但灌注 85 min 时 CK 活性并无明显增加, 证明 Langendorff 装置的性能稳定。

LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$ 、CF 是心功能的主要参数, CK 则是评价心肌细胞膜受损较为客观的指标<sup>[1]</sup>, 本研究比较心功能指标的恢复率, 能准确地反应出心功能的恢复情况, 增加了可比性, 结果表明, 离体心脏再灌注期间心肌细胞受损, 心功能下降, 5 mmol/L L-Car 可减少再灌注末心肌细胞 CK 漏出, 改善心功能, 减轻心肌缺血再灌注损伤。

缺血再灌注损伤与再灌注期自由基生成过多、钙超载、微血管损伤和能量生成不足等有关, Kantor 等<sup>[2]</sup>发现, 再灌注期间脂肪酸的代谢速率常能迅速恢复并超过缺血前水平, 高速率的脂肪酸氧化抑制了糖的有氧氧化, 致能量代谢紊乱, 糖酵解加速, 细胞内酸化加重, 从而造成心肌再灌注损伤。L-Car 有抗氧化的作用, 它能增强红细胞内超氧化物歧化酶的活性, 降低过氧化氢酶的活性, 减少再灌注期心肌组织 MDA 含量, 改善心功能<sup>[3-5]</sup>。L-Car 又名左旋肉碱, 其化学名为 L- $\beta$ -羟- $\gamma$ -三甲氨基丁酸, 是脂肪酸氧化必不可少的辅助因子, 脂肪酸的氧化为正常成人心脏提供了 60% ~ 80% 的能量, 因此, 卡尼汀在心肌细胞的能量代谢中起着重要的作用。不同浓度的 L-Car 对糖、脂肪酸代谢的作用不同, 0.5 mmol/L

(10 倍生理浓度) L-Car 可促进未成熟缺血心肌的脂肪酸氧化, 而 5 mmol/L (100 倍生理浓度) L-Car 对脂肪酸氧化却有抑制作用, 它可通过促进糖的有氧氧化而改善心功能<sup>[6,7]</sup>。卡尼汀能增强卡尼汀乙酰转移酶活性, 促进线粒体内乙酰 CoA 向线粒体外转移, 致使乙酰 CoA/CoA 降低, 丙酮酸脱氢酶复合体活性增强, 进而促进再灌注期糖的有氧氧化, 改善能量代谢<sup>[8]</sup>。本研究结果表明, 5 mmol/L L-Car 能增加再灌注末心肌 ATP 含量, 降低心肌 MDA 含量, 对心肌缺血再灌注损伤有有一定的保护作用。

综上所述, L-Car 对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤有保护作用, 可能与抑制心肌脂肪酸代谢, 改善糖的有氧代谢有关。

## 参 考 文 献

- Brian SP, Mersha H, Timothy V, et al. Global ischemic duration and reperfusion function in the isolated perfused rat heart. *Resuscitation*, 2004, 62:97-106.
- Kantor PF, Dyck JR, Lopaschuk GD. Fatty acid oxidation in the reperfused ischemic heart. *Am J Med Sci*, 1999, 318 :3-14.
- Loster H, Bohm U. L-carnitine reduces malondialdehyde concentrations in isolated rat hearts in dependence on perfusion conditions. *Mol Cell Biochem*, 2001, 217:83-90.
- Gurlek A, Tutar E, Akcil E, et al. The effects of L-carnitine treatment on left ventricular function and erythrocyte superoxide dismutase activity in patients with ischemic cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*, 2000, 2: 189-193.
- Irat AM, Aktan F, Ozansoy G. Effects of L-carnitine treatment on oxidant/antioxidant state and vascular reactivity of streptozotocin-diabetic rat aorta. *J Pharm Pharmacol*, 2003, 55:1389-1395.
- Sakamoto T, Aoki M, Imai Y, et al. Carnitine affects fatty acid metabolism after cardioplegic arrest in neonatal rabbit hearts. *Ann Thorac Surg*, 2001, 71:648-653.
- Broderick TL, Panagakis G, DiDomenico D, et al. L-carnitine improvement of cardiac function is associated with a stimulation in glucose but not fatty acid metabolism in carnitine-deficient hearts. *Cardiovasc Res*, 1995, 30:815-820.
- Calvani M, Reda E, Arrigoni Martelli E. Regulation by carnitine of myocardial fatty acid and carbohydrate metabolism under normal and pathological conditions. *Basic Res Cardiol*, 2000, 95:75-83.

(收稿日期:2005-03-29)

(本文编辑:刘玉华)