

### 3 讨论

研究过程安全性评价 20 例健康志愿者口服马来酸氟吡汀 100 mg 后,在整个试验过程中,耐受性好,无不良反应发生,与前期研究一致<sup>[5-8]</sup>。

马来酸氟吡汀在剂量 50 ~ 300 mg 范围内呈线性药动学特性,血浆蛋白结合率高(80% ~ 84%),能广泛分布到组织液及器官中,约 75% 的马来酸氟吡汀通过肝脏代谢,69% 的药物通过肾脏的途径排出体外,对于肾功能减退的患者半衰期延长,药物清除率降低,因此对这类患者应减少用药剂量<sup>[1-3]</sup>。

马来酸氟吡汀主要经肝脏代谢,对于肝功能不全的患者服用马来酸氟吡汀文献已有报道<sup>[9]</sup>, $t_{max}$ 、 $C_{max}$ 和 AUC 与健康受试者之间未发现区别。但对于肝性脑病和胆汁淤积的患者,其 $t_{max}$ 和 AUC 有显著性变化,会加重患者的病情,所以应禁用。

#### 参考文献

[1] FRIEDEL H A ,FITTON A. Flupirtine a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in pain states [J]. *Drug* ,1993 45( 4) : 548-561.

[2] 陈瑞玲,赵志刚. 氟吡汀的药理作用和临床评价[J]. *中国新药杂志* 2008 17( 11) : 981-984.

[3] NARANG P K ,TOURVILLE J F ,CHATTERJI D C ,et al.

Quantitation of flupirtine and its active acetylated metabolite by reversed-phase high-performance liquid chromatography using fluorometric detection [J]. *J Chromatography* ,1984 , 305( 1) : 135-143.

[4] NIEBCH G ,BORBE H O ,HUMMEL T ,et al. Dose-proportional plasma levels of the analgesic flupirtine maleate in man [J]. *Arzneim Forsch* ,1992 42( 10) : 1343-1345.

[5] 白音,刘龙兴,夏东亚,等. 氟吡汀在蒙古族和汉族健康人体内的药动学比较[J]. *中国临床药理学杂志* ,2010 26( 5) : 359-361.

[6] 曾平,刘龙兴,夏东亚,等. 氟吡汀在中国维吾尔族和汉族健康人体内的药动学比较[J]. *中国药理学通报* ,2010 26( 11) : 1509-1512.

[7] 夏东亚,刘龙兴,郭涛,等. 单剂量口服马来酸氟吡汀在汉族健康人体内的药动学研究[J]. *中国药学杂志* ,2011 46( 3) : 218-220.

[8] 郭涛,刘龙兴,夏东亚,等. 氟吡汀在回族和汉族健康人体内的药动学比较[J]. *中国新药与临床杂志* ,2011 30( 5) : 354-357.

[9] POWELL-JACKSON P ,WILLIAMS R. Use of flupirtine maleate as an analgesic in patients with liver disease [J]. *Brit J Clin Pract* ,1985 39( 2) : 63-65.

DOI 10. 3870/yydb. 2012. 12. 001

## 左卡尼汀预处理对体外心脏保存效果的影响\*

周涛<sup>1</sup>, 秦国伟<sup>2</sup>, 向道康<sup>1</sup>

(1. 贵州省人民医院心脏外科, 贵阳 550002; 2. 广西壮族自治区人民医院心电诊断科, 南宁 530021)

**摘要** 目的 探讨左卡尼汀(LCN)预处理对 St. Thomas No. 2 液冷保存大鼠体外心脏效果的影响。方法 SD 大鼠 24 只,随机分成 3 组:假手术组、缺血-再灌注组(I/R 组)、左卡尼汀预处理组(预处理组),每组 8 只。预处理组手术前 5 d 每天腹腔注射左卡尼汀 200 mg · kg<sup>-1</sup>。Langendorff 灌注装置建立大鼠体外心脏灌注模型,I/R 组、预处理组冷保存体外心脏 4 h,假手术组未予停跳与冷保存,观察体外心脏心功能变化情况,比较心功能恢复、心脏复跳时间、心肌含水量及心肌组织匀浆丙二醛的变化。结果 I/R 组、预处理组心脏复跳时间分别为(71.24±10.48)、(69.42±9.49) s,差异无统计学意义( $P>0.05$ );心功能各指标以假手术组最好,预处理组次之,I/R 组最差( $P<0.05$ );I/R 组、预处理组和假手术组心肌含水量分别为(79.42±5.93)%、(69.27±6.52)%、(58.25±5.35)%;丙二醛含量分别为(3.57±0.47)、(2.71±0.39)、(0.84±0.07) nmol · mg<sup>-1</sup>,均以 I/R 组最高,预处理组次之,假手术组最低,均差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 左卡尼汀预处理可以改善 St. Thomas No. 2 液冷保存的大鼠体外心脏的保存效果。

**关键词** 左卡尼汀; 预处理; 心脏移植

中图分类号 R972; R654.2 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)12-1532-04

### Effect of L-carnitine Preconditioning of Rats on Storage of Their Hearts *ex vivo*

ZHOU Tao<sup>1</sup>, QIN Guo-wei<sup>2</sup>, XIANG Dao-kang<sup>1</sup> (1. Department of Cardiac Surgery, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, China; 2. Department of Electrocardiogram, Guangxi Autonomous Region People's Hospital, Nanning 530021, China)

**ABSTRACT Objective** To observe the protective effects of L-carnitine (LCN) preconditioning on rat hearts with cold

preservation in St. Thomas No. 2 solution *ex vivo*. **Methods** Isolated rat heart Langendorff model was established. Twenty-four male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups (8 rats in each group): Sham group, the hearts were not arrested; I/R group and LCN preconditioning group in which the rats were intraperitoneally injected with distilled water or LCN for 5 days respectively and then the hearts were preserved in St. Thomas No. 2 solution *ex vivo* for 4 h. The recovery of myocardial function, heart resuscitation time, malonyldialdehyde (MDA) and wet weight in myocardium were analyzed. **Results** After the hearts were preserved for 4 h, there were no differences in the heart resuscitation time between I/R group and LCN preconditioning group [(71.24±10.48) s vs. (69.42±9.49) s], but LCN preconditioning group showed a better recovery of myocardial function, a lower release of MDA [(2.71±0.39) nmol·mg<sup>-1</sup> vs. (3.57±0.47) nmol·mg<sup>-1</sup>] ( $P<0.05$ ), and the less wet weight in myocardium [(69.27±6.52) % vs. (79.42±5.93) %] ( $P<0.05$ ) than that in I/R group. **Conclusion** LCN preconditioning exerts myocardial protective effects on the hypothermic preservative rat hearts *ex vivo*.

**KEY WORDS** L-carnitine; Pharmacological preconditioning; Heart transplantation

目前,心脏移植已被公认为治疗各种终末期心脏疾病的惟一有效手段<sup>[1-2]</sup>,供心质量是手术成功与否的关键之一<sup>[3]</sup>。因此,各种提高供心保护效果和延长保存时限的研究一直是心脏移植研究领域的重要课题。左卡尼汀可以促进和调节细胞线粒体内长链脂肪酸氧化,在心肌脂肪酸代谢过程中有决定性作用,因此对心肌代谢途径的调节具有非常重要的意义<sup>[4]</sup>。研究表明,心脏停搏液中添加左卡尼汀可以减轻心内直视手术过程中心肌线粒体的脂质过氧化反应,对心肌细胞有较好的保护作用<sup>[5]</sup>;进一步研究提示,含有左卡尼汀的心脏保存液可以减轻冷保存大鼠心肌线粒体的钙超载,改善心肌能量代谢<sup>[6]</sup>。药物预处理目前已被证明可以通过内源性机制对组织器官起保护作用,通过左卡尼汀预先给药进行预处理,可以减轻在体实验动物的心肌缺血-再灌注损伤<sup>[7]</sup>,体外心脏冷保存恢复灌注过程与在体实验动物缺血-再灌注过程有诸多不同之处,但体外心脏保存后恢复灌注的过程中仍存在缺血-再灌注过程。因此,理论上左卡尼汀预处理可能减轻体外心脏冷保存后恢复灌注的心肌损伤。体外心脏的左心室收缩压等相关指标是评价心脏功能状态的参考<sup>[8]</sup>,现利用 Langendorff 灌注装置建立大鼠体外心脏灌注模型,探讨左卡尼汀预处理对 St. Thomas No. 2 液冷保存大鼠供心保存效果的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物分组及模型的建立 健康成年 Sprague-Dawley 雄性大鼠 24 只,体质量 200~250 g,由广西医

收稿日期 2012-05-07 修回日期 2012-08-15

基金项目 \* 贵州省科技攻关项目(黔科合 SY[2010]3119 号)

作者简介 周涛(1975-),男,湖南武冈人,副主任医师,博士,研究方向:体外循环心脏手术与器官保护。电话:0851-5623507, E-mail: chowtao@sina.com。

通讯作者 向道康(1968-),男,贵州务川人,教授,博士,研究方向:心血管外科基础与临床研究。电话:0851-5623507, E-mail: xiangdaokang@vip.sina.com。

科大学实验动物中心提供,动物生产许可证号:SCXK(桂)2003-0003,使用随机数字表法随机分成3组:假手术组、缺血-再灌注组(I/R组)、左卡尼汀预处理组(预处理组),每组8只。预处理组手术前4d和手术当天每天腹腔注射左卡尼汀(商品名:贝康亭,广州贝氏药业有限公司生产)200 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[7]</sup>,I/R组和假手术组大鼠给予等量0.9%氯化钠溶液腹腔注射。

动物模型建立参考文献[6,9],在第5次注射药物结束后大鼠称重,腹腔注射肝素钠抗凝,在麻醉成功后胸骨正中开胸,摘除心脏置入4℃的 Krebs-Henseleit(K-H)缓冲液中。K-H缓冲液主要成分:钠离子(Na<sup>+</sup>)118 mmol·L<sup>-1</sup>,钾离子(K<sup>+</sup>)4.7 mmol·L<sup>-1</sup>,钙离子(Ca<sup>2+</sup>)1.7 mmol·L<sup>-1</sup>,镁离子(Mg<sup>2+</sup>)1.2 mmol·L<sup>-1</sup>,碳酸氢根离子(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)25 mmol·L<sup>-1</sup>,磷酸根离子(PO<sub>4</sub><sup>-</sup>)1.1 mmol·L<sup>-1</sup>,葡萄糖11.5 mmol·L<sup>-1</sup>,主动脉根部在冲洗和修剪后插入主动脉插管,连接于 Langendorff 装置,使用37℃恒温 K-H 缓冲液进行灌注,灌注压维持90 cmH<sub>2</sub>O(1 cmH<sub>2</sub>O=0.098 kPa)。K-H 缓冲液使用时均为新鲜配制,并经孔径48 μm的过滤器过滤,灌注前给予95%氧气(O<sub>2</sub>)和5%二氧化碳(CO<sub>2</sub>)混合气体按1.5 L·min<sup>-1</sup>向储液瓶内的灌流液中通气30 min。灌注5 min后在左心耳剪一小口,将连接有测压导管的心室球囊经左心房、二尖瓣插入左心室,另一端通过压力换能器连接多导生理记录仪。往心室球囊内缓慢注射0.9%氯化钠溶液40~60 μL,使左心室舒张末压为4~6 mmHg,灌注血流动力学平稳后测定血流动力学指标基础值和冠脉流出量(即收集经右房流出的液体量),再逐渐降低灌注温度至30℃以下,I/R组、预处理组经主动脉根部分别灌注4℃St. Thomas No. 2心脏停搏液使心脏停跳,剂量约80 mL·kg<sup>-1</sup>,灌注压70 cmH<sub>2</sub>O,用时约3 min,将停跳心脏取下置于心脏保存液中,分别保存4 h后重新心脏灌注,逐渐恢复灌注温度至37℃,分别于30,60 min后测定血流动力

学指标值 60 min 后取部分左心室心肌以测定心肌含水量及心肌组织匀浆丙二醛 (malonyldialdehyde, MDA) 含量。假手术组主动脉根部未灌注心脏停搏液,在降低灌注温度至 30 ℃ 以下后直接逐渐恢复灌注温度,至 37 ℃ 后 30、60 min 时测定血流动力学指标值 60 min 后取部分左室心肌以测定心肌含水量及心肌组织匀浆丙二醛的含量。

**1.2 实验仪器与试剂** 美国 AD Instruments 公司 ML870 型 PowerLab 多导生理记录仪,MDA 试剂盒购于南京建成生物工程研究所,其他试剂均为国产分析纯试剂。

**1.3 标本采集及指标检测** 测定复灌开始至心脏复跳的时间,通过多导生理记录仪记录灌注温度至 37 ℃ 后 30、60 min 时各血流动力学指标值,包括心率 (heart rate, HR)、左心室发展压 (left ventricular developed pressure, LVDP)、左室内压上升最大速率 (+dp/dt<sub>max</sub>) 以及记录冠脉流量 (coronary flow, CF)。

心脏灌注恢复至 37 ℃ 后 60 min 时取两块左心室心肌组织,其中一块测定心肌含水量:在称湿质量后置入 100 ℃ 的烘箱中烘烤 24 h 后称干质量,心肌含水量采用(湿质量-干质量)/湿质量×100% 值评价,另一块心肌放入冻存管,置于 -80 ℃ 低温冰箱冻存以备检测,检测时将冻存心肌组织室温下解冻、匀浆,严格按照试剂盒说明书使用硫代巴比妥法测定 MDA 含量。

**1.4 统计学方法** 使用 SPSS17.0 软件系统进行统计学处理,计量数据以均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用方差分析,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 心脏复跳时间比较** I/R 组与预处理组体外心脏保存 4 h 后均能成功复跳,复跳时间分别为 (71.24±10.48) s, (69.42±9.49) s,假手术组维持跳动状态,但灌注温度由 30 ℃ 以下后直接逐渐恢复灌注温度至 37 ℃ 时间为 (11.37±2.62) s, I/R 组与预处理组之间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

**2.2 心肌含水量及 MDA 比较** 3 组心肌含水量及心肌匀浆 MDA 含量比较,均以 I/R 组最高,预处理组次之,假手术组最低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.3 心功能指标的变化** 各组体外心脏心功能指标 HR、CF、LVDP 和 +dp/dt<sub>max</sub> 生理值以及恢复灌注温度至 37 ℃ 后 30、60 min 时恢复情况见表 2。

心脏恢复灌注温度至 37 ℃ 后 30 min 时:预处理组 HR、LVDP 和 +dp/dt<sub>max</sub> 较 I/R 组高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),CF 与 I/R 组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),假手术组 HR、CF、LVDP 和 +dp/dt<sub>max</sub> 均较预处

理组和 I/R 组高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 1 3 组大鼠体外心脏复跳时间、心肌含水量和 MDA 比较

Tab. 1 Comparison of heart resuscitation time, water content and malonyldialdehyde in hearts among the three groups of rats *in vitro*

组别	大鼠/只	心脏复跳时间/s	$\bar{x} \pm s$	
			心肌含水量/%	MDA/(nmol·mg <sup>-1</sup> )
预处理组	8	69.42±9.49	69.27±6.52* <sup>1</sup>	2.71±0.39* <sup>1</sup>
I/R 组	8	71.24±10.48	79.42±5.93	3.57±0.47
假手术组	8	11.37±2.62* <sup>1*2</sup>	58.25±5.35* <sup>1*2</sup>	0.84±0.07* <sup>1*2</sup>

与 I/R 组比较,\*<sup>1</sup> $P < 0.05$ ;与预处理组比较,\*<sup>2</sup> $P < 0.05$

Compared with I/R group,\*<sup>1</sup> $P < 0.05$ ; compared with pretreatment groups,\*<sup>2</sup> $P < 0.05$

心脏恢复灌注温度至 37 ℃ 后 60 min 时:预处理组 LVDP 和 +dp/dt<sub>max</sub> 较 I/R 组高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),HR、CF 与 I/R 组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),假手术组 HR、CF、LVDP 和 +dp/dt<sub>max</sub> 较预处理组和 I/R 组高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**3 讨论**

心脏移植手术的疗效和预后与供心的功能状态直接相关,目前国内外关于供体心脏的保护方法尚无统一标准,有关器官保存液方面,目前使用较多的是 HTK、UW 液等保存液,欧洲使用最广泛的器官保存液是 HTK 液<sup>[10]</sup>,St. Thomas No. 2 液是目前临床心内科直视手术中使用最广泛的晶体心脏停搏液,在心脏移植的基础研究和临床使用上仍有一定的用途<sup>[11]</sup>,故笔者在本研究中使用 St. Thomas 液作为器官的停搏液与保存液。各种器官保存液对器官保存的安全时间均有一定的限制,一般认为体外心脏冷保存安全时限为 4~6 h,所以本研究体外心脏冷保存时间设计为 4 h,设想在体外心脏手术前预先使用参与能量代谢的药物左卡尼汀,通过观察对大鼠体外心脏低温保存的影响,探讨左卡尼汀预处理可否改善 St. Thomas No. 2 液冷保存体外心脏的保存作用。结果表明,左卡尼汀预处理可明显加快冷保存后体外心脏 HR、CF、LVDP 和 +dp/dt<sub>max</sub> 等心功能指标的恢复,改善心脏功能,减少心肌含水量,表明经左卡尼汀预处理后,心肌结构和心脏功能可以得到更好的保护,可以强化 St. Thomas No. 2 对体外心脏的保存效果。

目前认为心肌缺血-再灌注损伤过程实质上是代谢失衡的过程,心肌能量代谢障碍是心肌缺血-再灌注损伤的重要因素<sup>[6]</sup>。左卡尼汀是人体能量代谢过程中重要的调节物质,可以通过增加能量的产生而提高

表 2 3 组大鼠在不同时间点体外心脏心功能指标的比较

Tab.2 Comparison of the recovery of myocardial function at different time points among the three groups of rats

组别与时间	大鼠/ 只	HR/ (次·min <sup>-1</sup> )	CF/ (mL·min <sup>-1</sup> )	LVDP/ mmHg	+dp/dt <sub>max</sub> / (mmHg·ms <sup>-1</sup> )
预处理组	8				
灌注前(基础值)		233.91±23.08	10.23±2.35	109.65±16.33	2.89±0.59
灌注恢复 30 min		187.35±17.66 <sup>*1</sup>	7.73±1.56	87.38±13.51 <sup>*1</sup>	2.41±0.50 <sup>*1</sup>
灌注恢复 60 min		193.42±19.24	8.68±2.17	95.85±14.47 <sup>*1</sup>	2.54±0.53 <sup>*1</sup>
I/R 组	8				
灌注前(基础值)		229.67±20.36	10.53±2.36	115.94±19.06	3.05±0.67
灌注恢复 30 min		154.56±13.65	7.82±1.94	75.45±10.74	2.01±0.45
灌注恢复 60 min		187.74±16.57	8.38±2.04	86.42±15.68	2.28±0.47
假手术组	8				
灌注前(基础值)		235.74±21.86	11.54±2.48	116.64±20.77	2.96±0.67
灌注恢复 30 min		217.68±16.33 <sup>*1*2</sup>	10.73±1.76 <sup>*1*2</sup>	112.32±18.64 <sup>*1*2</sup>	2.84±0.58 <sup>*1*2</sup>
灌注恢复 60 min		231.83±19.54 <sup>*1*2</sup>	11.36±1.97 <sup>*1*2</sup>	115.57±19.83 <sup>*1*2</sup>	2.95±0.54 <sup>*1*2</sup>

与 I/R 组比较, <sup>\*1</sup>P<0.05; 与预处理组比较, <sup>\*2</sup>P<0.05

Compared with I/R group, <sup>\*1</sup>P<0.05; compared with pretreatment groups, <sup>\*2</sup>P<0.05

组织对缺血缺氧的耐受能力。研究表明,在体外循环心内直视手术中使用添加左卡尼汀的心脏停搏液可以给心肌组织提供足够量的游离卡尼汀,促进线粒体功能恢复,改善组织缺血-再灌注时的能量代谢障碍,优化心肌细胞能量代谢,有助于减轻心肌细胞的损伤,促进心功能恢复<sup>[5]</sup>。笔者先前研究表明左卡尼汀添加至 St. Thomas No. 2 液可减轻长时间冷保存心肌线粒体钙超载,改善心肌能量代谢,对心肌细胞线粒体有较好的保护作用,有助于长时间冷保存大鼠体外心脏能量代谢平衡的维持<sup>[6]</sup>。研究表明通过左卡尼汀预先给药进行预处理,可以减轻在体实验动物的心肌缺血-再灌注损伤<sup>[7]</sup>。在本研究中,使用左卡尼汀预处理可能增加心脏的能量储备,使体外心脏再灌注时心肌能量失衡相对较轻,有助于能量平衡的维持,因此表现为心功能恢复较好。

心肌再灌注时增多的氧自由基使脂质发生过氧化反应,MDA 是该过程中的重要中间代谢产物,因此 MDA 反映机体脂质过氧化程度,其水平高低可间接反映机体细胞受氧自由基攻击的严重程度。本研究显示,使用左卡尼汀预处理使再灌注心脏 MDA 产生减少,表明左卡尼汀预处理可以减轻再灌注时自由基损伤。

因此,左卡尼汀预处理可以在一定程度上改善心肌能量代谢,减轻自由基损伤,对心肌细胞有较好的保护作用,有助于改善大鼠体外心脏冷保存效果。

参考文献

[1] MCGLOTHLIN D, DE MARCO T. Transplantation in adults with congenital heart disease [J]. Prog Cardiovasc Dis, 2011, 53(4): 312-323.

[2] GRAPOW M T, CARREL T P, ECKSTEIN F S. Surgical treatment options in end-stage heart failure [J]. Ther Umsch, 2011, 68(2): 95-102.

[3] GOLDSMITH K A, DEMIRIS N, GOOI J H, et al. Life-years gained by reducing donor heart ischemic times [J]. Transplantation 2009, 87(2): 243-248.

[4] 殷仁富, 陈金明. 心脏代谢学: 代谢与治疗 [M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2002: 210-246.

[5] 向道康, 阎兴治, 杨世虞, 等. 左卡尼汀对体外循环心瓣膜替换术心肌的保护作用 [J]. 中华医学杂志, 2003, 83(21): 1887-1890.

[6] 周涛, 向道康, 秦国伟. 左卡尼汀强化 St. Thomas No. 2 液对长时间冷保存体外心脏能量代谢的影响 [J]. 中国心血管病研究, 2010, 8(11): 851-854.

[7] 向道康, 孙宗全, 刘小斌, 等. 左卡尼汀预处理对缺血-再灌注大鼠心肌的保护作用 [J]. 贵州医药, 2007, 31(3): 215-217.

[8] 朱凌云. 4 种 β<sub>2</sub> 肾上腺素受体激动药对大鼠体外心脏功能影响比较 [J]. 医药导报, 2012, 31(2): 142-147.

[9] 周涛, 张大国, 向道康. 左卡尼汀强化 St. Thomas No. 2 液对低温体外心脏的保存效果 [J]. 中国组织工程与临床康复, 2011, 15(31): 5809-5812.

[10] LEE S, HUANG C S, KAWAMURA T, et al. Histidine-tryptophan-ketoglutarate or celsior: which is more suitable for cold preservation for cardiac grafts from older donors? [J]. Ann Thorac Surg, 2011, 91(3): 755-763.

[11] 黑飞龙, 王仕刚, 于坤, 等. 心脏移植心肌保护策略 [J]. 中国体外循环杂志, 2009, 7(3): 166-168.

DOI 10.3870/yydb.2012.12.002