

左卡尼汀对离体家兔心脏缺血再灌注损伤的保护作用

曹玉¹, 刘成娟¹, 孙永旭², 薛玉增³, 王春波^{4*}

(1青岛大学医学院附属医院, 山东 青岛 266003; 2烟台毓璜顶医院;
3聊城市人民医院; 4青岛大学医学院)

[摘要] 将离体兔心灌注模型随机分成三组, 正常对照组连续灌注 K-H液 60 min, 缺血再灌注组关闭主动脉套管停止灌注, 30 min后恢复 37℃ K-H液灌注 60 min, 左卡尼汀组步骤同缺血再灌注组, 但在复灌时先用含 10 mmol/L 左卡尼汀的 K-H液灌注 30 min。记录冠脉流量、左心室发展压 (LVDP)、左心室压力时间变化率 ($\pm DP/DT$); 检测冠脉流出液中丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH) 浓度和心肌组织中 MDA、SOD 含量。结果左卡尼汀组 $\pm DP/DT$ 及 LVDP 较缺血再灌注组显著升高, 冠脉流量增大; 冠脉流出液中 MDA、LDH、CK 及心肌组织中 MDA 水平降低, SOD 水平升高 ($P < 0.05$); 超微结构损伤减轻 ($P < 0.05$)。表明左卡尼汀具有抗兔离体心脏缺血再灌注损伤的作用。

[关键词] 左卡尼汀; 再灌注损伤; 心室颤动

[中图分类号] R541 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1002-266X(2007)28-0030-02

心肌缺血再灌注损伤 (MIRI) 是指心肌缺血较长时间后, 重新恢复血流灌注时心肌损伤反而加重的现象。左卡尼汀是人体脂肪酸代谢的必需辅助因子, 可改善心肌缺血时的异常代谢状况, 减少自由基损伤^[1]。自 2006 年 11 月, 我们进行了相关研究, 旨在探讨左卡尼汀对兔离体心肌 MIRI 的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 健康大耳白兔 24 只, 雌雄兼有, 体质量 (2.3 ± 0.3) kg。注射用左卡尼汀、肝素钠、丙二醛 (MDA)、乳酸脱氢酶 (LDH)、肌酸激酶 (CK)、蛋白测定试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 离体心脏灌注模型的制备 兔耳缘静脉注射肝素 300 U/kg, 5 min 后处死, 迅速开胸取出心脏, 移至贮有预冷 K-H 液的培养皿中, 洗去血液并修剪, 经主动脉插管, 连接于改良 Langendorff 灌注装置^[2]上, 以 95% O₂ 和 5% CO₂ 饱和 K-H 液逆行灌注, 温度 37℃, 灌注压力 10 kPa。3 根电极分别插于左右心耳和心尖部, 连接二道生理记录仪, 持续心率监测。

1.2.2 实验分组及步骤 心脏灌注 20 min 后, 随机分为: ①正常对照组 ($n=8$), 连续灌注 K-H 液 60

min; ②缺血再灌注组 ($n=8$), 关闭主动脉套管停止灌注, 30 min 后恢复 37℃ K-H 液灌注 60 min; ③左卡尼汀组 ($n=8$), 步骤同缺血再灌注组, 但在复灌时先用含 10 mmol/L 左卡尼汀的 K-H 液灌注 30 min 再续灌 K-H 溶液。灌注完毕后电子天平称取心脏质量并于冰上制备 1% 和 10% 的心肌匀浆。

1.2.3 检测指标 ①心功能指标: 于左心耳处插入压力导管, 将导管远端与 MLT844 压力换能器和 PowerLab 生理记录仪相连, 测定左心室发展压 (LVDP) 和左心室压力时间变化率 ($\pm DP/DT$)。②血流动力学指标: 通过左心耳向左心室内置入充满生理盐水的乳胶小囊导管, 调节左室舒张末压为 $0.6 \sim 1.0$ kPa。连接 Macintosh 计算机, 以 MacLab V/4 S 生理实验系统实时记录左室功能的变化以及冠脉流量 (CF)、心率 (HR)。③室颤 (VF): 3 根电极放置于主动脉根部 and 心尖两侧记录心电图, 记录 VF 的发生率。连续 5 次以上基线不规则波动记为 VF, 不能自行转复为窦性心律者记为持续性 VF (SVF)。④生化指标: 分光光度法测定丙二醛 (MDA), 考马斯亮兰法测定心肌匀浆的蛋白浓度, 连续检测法测定肌酸激酶 (CK) 和乳酸脱氢酶 (LDH)。比色法测定超氧化物歧化酶 (SOD) 在心肌中的含量和冠脉流出液中的浓度。⑤心肌超微结构: 心肌标本经戊二醛固定、包埋、切片、染色, 透射电镜观察; 按余志豪等^[3]报道的 Flamen 线粒体分级法及糖原分级计数法对线粒

*通讯作者

体及糖原进行分级计数。

1.3 统计学方法 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0软件分析,组内比较采用 t 检验,组间比较采用单因素方差分析, $P \leq 0.05$ 有统计学差异。VF和持续性 VF的统计用 Fisher精确概率检验法。

2 结果

2.1 三组心功能及血流动力学指标比较 见表 1。

表 1 三组心功能和血流动力学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CF (ml/min)	HR (次/min)	LVP (mmHg)	+DP/DTmax (mmHg/s)	-DP/DTmax (mmHg/s)
对照组	8					
缺血前		11.86±1.43	135.26±7.35	110.57±6.53	6513±224	4352±289
复灌 60 min		10.45±2.01*	134.85±6.76	100.32±6.52*	6324±265*	4218±324*
缺血再灌注组	8					
缺血前		12.37±2.32	136.23±7.98	107.52±8.23	6452±236	4206±352
复灌 60 min		8.32±2.14	155.88±11.52	68.63±5.26	3522±243	2572±196
左卡尼汀组	8					
缺血前		11.75±1.26	135.86±6.65	112.12±9.72	6498±252	4301±301
复灌 60 min		10.98±1.22*	114.61±12.68*	99.36±6.21*	6378±253*	4320±315*

注:与缺血再灌注组比较,* $P \leq 0.05$

2.2 VF发生率 左卡尼汀组与缺血再灌注组 VF发生率明显降低($P \leq 0.05$),但 SVF发生率无显著差异($P > 0.05$)。

2.3 心肌组织生化指标 再灌注末左卡尼汀组心肌组织 MDA含量、流出液中蛋白、CK、LDH含量明显低于缺血再灌注组($P \leq 0.05$);心肌组织 SOD升高较明显($P \leq 0.05$),冠脉流出液中浓度亦显著升高($P \leq 0.05$)。

2.4 心肌超微结构观察 左卡尼汀组正常线粒体和糖原含量明显高于缺血再灌注组($P \leq 0.05$)。

3 讨论

MIR的发生机制为钙超载、自由基损伤、白细胞嵌塞、无复流现象、内环境紊乱和组织细胞损伤。左卡尼汀是一种氨基酸衍生物,存在于需求高能量的组织(骨骼肌、心肌、肝脏、肾上腺)中,是人体脂肪酸代谢的必需辅助因子。在心肌缺血、心力衰竭等情况下,心肌细胞内左卡尼汀含量明显下降。因此,补充外源性左卡尼汀有望改善心肌细胞能量代谢。左卡尼汀保护心肌的作用机制为:①加速心肌细胞脂肪 β 氧化,增加细胞色素氧化酶的活性,增强葡萄糖氧化,增加心肌供能。②减轻缺血再灌注后自由基对组织中脂肪酸成分的过氧化,减少次黄嘌呤在体内堆积,从而减少超氧阴离子的生成;还能减轻组织脂质过氧化和炎症反应^[4]。③促进缺血再灌注后组织器官血流灌注,明显减轻心脏脂质过氧化,改善心脏功能,提高血流动力学指标。④抑制心肌

各组缺血前比较各项心功能指标及血流动力学指标均无显著差异($P > 0.05$)。左卡尼汀组复跳后冠脉流量明显高于缺血再灌注组,心率低于缺血再灌注组($P \leq 0.05$)。再灌注后左卡尼汀组 $\pm DP/DTmax$ 、LVP与缺血再灌注组同时点相比显著升高($P \leq 0.05$)。

缺血再灌注后细胞凋亡。缺血再灌注后钙稳态失衡,各种参与凋亡程序的酶类被激活,而左卡尼汀能抑制其级联活化^[5]。

本实验结果显示,左卡尼汀能明显改善心肌血流动力学指标及心肌超微结构,降低 VF发生率和心肌细胞 MDA、LDH、CPK水平,增加 SOD生成,增强心肌抗氧化能力,减轻缺血再灌注时自由基对组织的损害。显示左卡尼汀对心脏缺血再灌注损伤有一定的保护作用,为左卡尼汀治疗缺血再灌注损伤相关疾病提供了理论基础。

[参考文献]

[1] Luster H, Keller T, Grömmisch J, et al. Effects of L-carnitine and its acetyl and propionyl esters on ATP and PCr levels of isolated rat hearts perfused without fatty acids and investigated by means of ³¹P-NMR spectroscopy[J]. Mol Cell Biochem, 1999, 200(1-2): 93-102.

[2] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理学试验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:1042.

[3] 余志豪,丛连凯,李维才,等.用大剂量胰岛素提高心肌保护效果的研究[J].中华麻醉学杂志,1987,7(1):5-10.

[4] Gorur S, Bağcıoğlu OT, Polat G. Protective effect of L-carnitine on renal ischaemia reperfusion injury in the rat[J]. Cell Biochem Funct, 2005, 23(3): 151-155.

[5] Mutomba MC, Yuan H, Konyavko M, et al. Regulation of the activity of caspases by L-carnitine and palmitoylcarnitine[J]. FEBS Lett, 2000, 478(1-2): 19-25.

(收稿日期:2007-05-15)