

## 供心热缺血期间 ATP 和超微结构的变化

钟佛添, 巫国勇, 刘初生, 张 希, 王治平

(中山医科大学附属第一医院心胸外科, 广东 广州 510080)

**摘要:** 【目的】探讨供心不同热缺血期间 ATP 下降程度和超微结构改变, 以确定供心的热缺血时限。【方法】新西兰大白兔 24 只, 分成 4 组, 每组 6 只, 按常规取心方法分别在阻断主动脉后 0 min, 5 min, 10 min, 15 min 取左室心肌组织测 ATP 值, 用电镜观察心肌超微结构, 比较二者的相关性。【结果】4 组心肌 ATP 含量分别为  $(5.72 \pm 0.31)$ ,  $(4.29 \pm 0.19)$ ,  $(3.47 \pm 0.39)$ ,  $(2.60 \pm 0.42) \mu\text{mol/g}$ ,  $P < 0.01$ , 各时期的心肌超微结构亦有明显差别。ATP 下降与超微结构改变呈平行关系, 热缺血 10 ~ 15 min ATP 下降至缺血前 50%, 超微结构出现不可逆改变。【结论】ATP 值是衡量供心质量的重要指标, 其下降与心肌超微结构改变呈平行关系, 热缺血 10 min 以上的供心不宜用于移植。

**关键词:** 组织供者; 心脏移植; 心肌缺血/病理学; 三磷酸腺苷

中图分类号: R654.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)04-0248-03

## The Changes of ATP and Ultrastructure of Donor Heart During Heat-Ischemia

ZHONG Fo-tian, WU Guo-yong, LIU Chu-sheng, ZHANG Xi, WANG Zhi-ping

(Department of Cardiothoracic Surgery, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】To investigate the relationship between ATP decrease and ultrastructure change of donor heart with different heat-ischemia time, in order to confirm the heat-ischemia time limit of the donor heart. 【Methods】New-Zealand rabbits ( $n = 24$ ) were randomly divided into four groups. Left ventricular myocardial tissues were obtained 0 min, 5 min, 10 min, 15 min respectively after aorta clamp. ATP values were determined and the ultrastructure was observed. The correlation between the two was studied. 【Results】ATP mean values were  $(5.72 \pm 0.31)$ ,  $(4.29 \pm 0.19)$ ,  $(3.47 \pm 0.39)$ ,  $(2.60 \pm 0.42) \mu\text{mol/g}$  respectively in 4 different groups ( $P < 0.01$ ), myocardial ultrastructure also presented with obvious difference in different groups. ATP decrease was parallel to the change of myocardial ultrastructure. ATP value decreased by 50% 10 ~ 15 min after heat-ischemia. Ultrastructure also presented with irreversible change. 【Conclusion】ATP value is an important index to evaluate the donor heart quality. The decrease of ATP value was parallel to the change of myocardial ultrastructure. The donor heart is unsuitable for transplantation when heat-ischemia time is over 10 min.

**Key words:** tissue donor; heart transplantation; myocardial ischemia/pathology; adenosine triphosphate

心脏移植能否成功, 最关键因素之一是供心保存的质量。心肌缺血时的能量物质储备、消耗、生成和超微结构改变, 即供心复灌时心肌 ATP 含量和心肌结构损伤程度, 是衡量供心质量的重要标准。目前供心保存的热缺血时限仍较多争论, 但多

数学者认为不能超过 10 min<sup>[1]</sup>。本实验用阻断主动脉后不同时间模拟供心不同热缺血时间, 检测左室心肌组织 ATP 和超微结构, 以探讨供心不同热缺血时间 ATP 值的下降程度和超微结构改变情况, 寻找二者内在联系, 以确定供心热缺血时限。

收稿日期: 2001-02-18

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金资助项目(A1997123)

作者简介: 钟佛添(1945-), 男, 广东五华人, 教授, 硕士生导师。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

健康新西兰大白兔 24 只(由中山医科大学动物实验中心提供),雌雄不拘,体质量( $2.65 \pm 0.46$ ) kg。随机分 4 组,热缺血 0 min 组,5 min 组,10 min 组,15 min 组,各组 6 只。

### 1.2 心肌取材

用氯胺酮( $5 \sim 7$  mg/kg)静脉麻醉,气管切开插管接呼吸机辅助呼吸,股动脉和颈外静脉分别穿刺插管测动脉压(BP)和中心静脉压(CVP)。正中劈胸骨切口,测心包腔温度。全身肝素化( $3$  mg/kg)后分别于主动脉和上、下腔静脉根部过带。阻断上、下腔静脉和主动脉,停止呼吸,同时剪开左、右心房。0 min 组立即取左室心肌测 ATP 和电镜检查。另 3 组分别于主动脉阻断 5、10、15 min 后取左室心肌测 ATP 和电镜检查。

### 1.3 ATP 测定

采用反相高效液相色谱法测定。色谱条件:采用反相 Sherisorb C18 色谱柱,紫外线检测波长为 254 nm,流动相为 0.05 mmol/L 磷酸铵缓冲液( $\text{pH}=6.0$ ),流量为 0.8 mL/min。

### 1.4 超微结构的观察

取左心室全层心肌,立即放入冷藏的体积分数为 3%戊二醛中作前固定,然后制成约 0.2  $\mu\text{m}$  厚的超薄切片,用透射电镜观察并摄片。

### 1.5 统计学处理

所有数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示。各指标用多组间  $F$  检验。

## 2 结 果

热缺血前一般情况见表 1,各指标各组间无显著性差异。

表 1 各组热缺血前一般情况

Table 1 The conditions of rabbits before heat ischemia

Group	<i>n</i>	<i>m</i> /kg	<i>r</i> (HR)/min	<i>p</i> (MBP)/kPa	<i>p</i> (CVP)/kPa	<i>t</i> / °C
0 min	6	$2.69 \pm 0.52$	$130 \pm 7.66$	$10.15 \pm 1.08$	$0.40 \pm 0.11$	$36.9 \pm 0.68$
5 min	6	$2.58 \pm 0.36$	$142 \pm 9.00$	$11.44 \pm 0.96$	$0.44 \pm 0.13$	$37.0 \pm 0.92$
10 min	6	$2.80 \pm 0.41$	$133 \pm 7.16$	$12.05 \pm 1.38$	$0.42 \pm 0.21$	$36.7 \pm 0.88$
15 min	6	$2.53 \pm 0.36$	$137 \pm 8.09$	$10.82 \pm 1.16$	$0.38 \pm 0.15$	$37.2 \pm 0.95$

$F = 1.05 \sim 2.01$ ,  $P > 0.05$

阻断主动脉后 0 min、5 min、10 min、15 min 组心肌 ATP 含量分别为 ( $5.72 \pm 0.31$ ), ( $4.29 \pm 0.19$ ), ( $3.47 \pm 0.39$ ), ( $2.60 \pm 0.42$ )  $\mu\text{mol/g}$ ,各组间有显著性差异( $F = 80.90$ ,  $P < 0.01$ )。

电镜下见:0 min 组心肌细胞完整,肌丝、肌节排列整齐,线粒体肿胀不明显,嵴完整,核无肿胀,无变形,无自溶,染色质正常,无水肿。5 min 组心肌细胞尚完整,肌丝、肌节排列稍紊乱,线粒体肿胀,增生明显,嵴较乱;核肿胀轻,无自溶,染色质稍边聚;糖原减少,轻度水肿。10 min 组心肌细胞有自溶,肌节变短,肌丝模糊,线粒体肿胀明显,嵴紊乱且断裂,仍有嵴存在;核无自溶,核膜皱缩,常染色质少许,糖原极少,间质中度水肿。15 min 组心肌细胞呈片状自溶明显,肌节断裂,肌丝难辨,线粒体固缩变形,嵴极少且空泡样变,核极度肿胀,变形,自溶明显,染色质消失;间质明显水肿(图 1)。

## 3 讨 论

“尸心移植”是增加供心来源的主要途径。许多学者认为:心肌保护与 ATP 密切相关,心肌 ATP 含量是衡量细胞完整性及恢复可能性的最好指标<sup>[2,3]</sup>。心肌 ATP 含量检测和超微结构观察是衡量供心质量的可靠指标。

在热缺血期间,许多因素导致供心的 ATP 很快被消耗,如底物不能供给,氧缺乏,线粒体进行无氧代谢,酸中毒抑制糖酵解,线粒体膜改变致脂肪酸转运障碍,热缺血的温度,心脏不能迅速于舒张期停搏等。心肌 ATP 含量下降必然使心肌各种代谢活动受限,心肌细胞结构,特别是超微结构亦可发生改变,甚至发生不可逆改变。从本实验结果可见,随着热缺血时间的延长,ATP 不断下降,心肌细

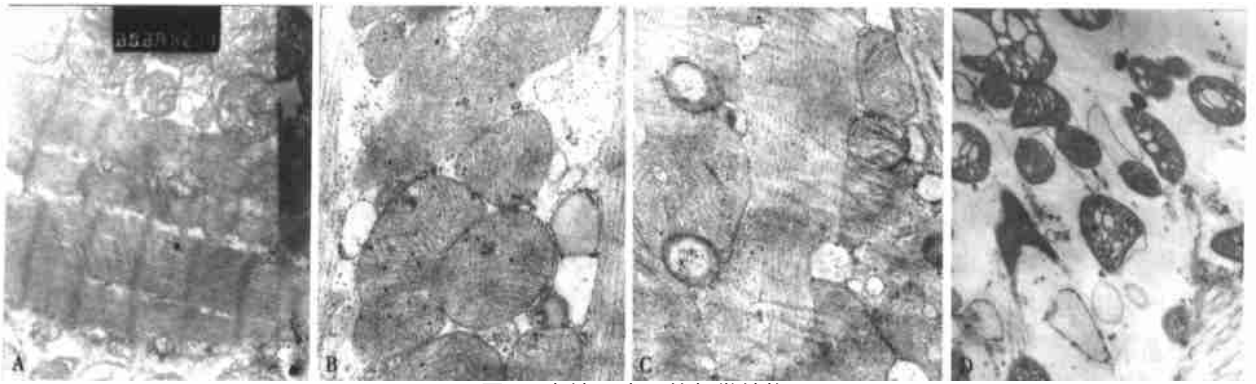


图1 电镜观察下的超微结构

Fig. 1 Ultrastructures observed under electron microscope

A, 0 min ( $\times 11\ 200$ ); B, 5 min ( $\times 25\ 000$ ); C, 10 min ( $\times 15\ 000$ ); D, 15 min ( $\times 12\ 000$ )

胞也从可逆损伤发展到不可逆损伤。当ATP含量下降到缺血前的50%时,即约热缺血10 min时,心肌出现细胞自溶,肌节、肌丝模糊,线粒体肿胀,嵴断裂、减少、紊乱,核皱缩,糖原极少,间质中度甚至重度水肿等不可逆损伤,这表明心肌ATP消耗与心肌结构的损伤呈正相关关系。

供心功能恢复与供心能量代谢,心肌ATP储备、合成和消耗,心肌细胞结构的完整性密切相关。热缺血期间底物供应障碍,有氧代谢停止,线粒体产能障碍;同时由于温度高,且供心不能迅速停搏,必然消耗大量ATP,导致供心ATP含量迅速下降,心肌细胞结构的完整性也受到破坏,供心功能即难于恢复。许多学者认为,当ATP含量下降到缺血前的50%时,心肌将产生不可逆的病理变化,供心复灌后收缩功能难于恢复,以致难于维持全身血流动力学稳定<sup>[4,5]</sup>。因此ATP已成为评价供心质量的最佳指标之一。本实验结果表明:供心热缺血10 min左右,ATP含量下降到缺血前的50%,故认为供心热缺血时间应小于10 min。

#### 参考文献:

- [1] Wicomb W N, Hill D J, Avery J G, *et al.* Donor heart preservation-limitations of cardioplegia and warm ischemia [J]. *Transplantation*, 1992, 53(4): 947.
- [2] Humphrey S M, Seelye R N. Improved functional recovery of ischemic myocardium by suppression of adenosine catabolism [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1982, 84(1): 16.
- [3] Takami H, Matsuda H, Kaneko M, *et al.* Myocardial energy metabolism in preserved heart: comparison of simple storage and hypothermic perfusion [J]. *J Heart Transplant*, 1988, 7(3): 205.
- [4] Ishikawa H, Hirose E, Sasaki Y, *et al.* Detection of myocardial ischemic injury during simple cold storage by measurement of myocardial electrical impedance [J]. *J Cardiovasc Surg*, 1996, 37(1): 261.
- [5] Fallert M A, Mirotnik M S, Downing S W, *et al.* Myocardial electrical impedance mapping sheep hearts and healing aneurysms [J]. *Circulation*, 1993, 87(1): 199.

(编辑 黄小延)

#### ·简讯·

### 中山医科大学附属第一医院重奖 高等级科研成果奖获得者

2001年6月13日,中山医科大学附属第一医院梁秀龄教授负责的“Wilson病分子生物学研究”课题获得2000年度国家科技进步奖二等奖,医院给予奖金30万元;余学清教授负责的“骨调素在肾小球肾炎中的致病作用与调控因素”的研究获得了2000年度教育部中国高校科技奖一等奖,医院给予奖金10万元。

(吴金泉)