

曲美他嗪对离体鼠心缺血再灌注损伤的保护作用

王礼春¹, 麦炜颐¹, 廖新学¹, 陈健文², 曾武涛¹, 何建桂¹, 蓝秀健², 马虹¹

(中山大学 1. 附属第一医院内科, 2. 生理科学实验室, 广东广州 510080)

摘要:【目的】探讨曲美他嗪预处理一周对离体鼠心缺血再灌注损伤的影响。【方法】30只15周龄的SD大鼠随机分成3组,分别以曲美他嗪20 mg/(kg·d)、40 mg/(kg·d)及蒸馏水每天灌胃1次,7 d后用Langendroff离体心脏灌注法,缺血45 min后复灌,测量全程左室内压和心电图的变化。【结果】曲美他嗪40 mg/(kg·d)、20 mg/(kg·d)组的复跳时间分别为(2.14±0.54)、(5.26±1.06) min,均较对照组的(10.32±1.89) min为短(P 均<0.001)。复灌后与缺血前的最大左室压力的比值及最大左室压力变化速率的比值在曲美他嗪各实验组均明显大于对照组(P 均<0.001)。另外,曲美他嗪各组再灌注心律失常的总发生率,尤其是室速的发生率均明显小于对照组(P 均<0.01)。【结论】曲美他嗪预处理对离体缺血再灌注鼠心有保护作用。

关键词: 心肌; 再灌注损伤; 曲美他嗪; 大鼠

中图分类号: R543.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-257X(2002)5S-0022-02

心肌缺血与再灌注损伤的一个重要机制是能量代谢的失衡。对心肌能量代谢的干预与优化,已成为一个治疗缺血性心脏病的新途径。曲美他嗪,作为一种哌嗪类衍生物,在缺血或高血脂症时能抑制脂肪酸的 β 氧化、促进葡萄糖的氧化利用,具有独特的改善心肌细胞能量代谢的作用^[1],目前已广泛应用于缺血性心脏病的治疗。大量的临床及基础研究发现,对单纯缺血所引起的疾患,如心绞痛等,曲美他嗪具有显著的改善作用,并能提高患者的运动耐量和左心功能^[2,3],但对人类或动物缺血与再灌注心肌的作用,目前结果不一^[4,5]。本研究考虑到人类应用该药的特点,观察口服曲美他嗪对离体SD大鼠缺血再灌注心脏模型的影响。

1 材料与方 法

1.1 动 物

清洁级15周龄的Sprague Dawley大白鼠30只,雌雄不拘,质量250~300 g,由中山大学实验动物中心提供。

1.2 分 组 及 处 理

30只大鼠随机分成3组,每组10只,分别为对照组,曲美他嗪(法国施维雅药厂产品)20 mg/(kg·d)和40 mg/(kg·d)处理组。所需药物用灌胃法于每晨喂饲前给予,对照组用蒸馏水灌胃,连续7 d。

1.3 方 法

手术前,腹腔注射2 mg肝素,15 min后,用木棒猛击其后脑至昏,开胸迅速取出心脏,放入有氧饱和的Locke灌注液的培养皿中(Locke: NaCl 9.2 g/L, KCl 0.42 g/L, CaCl₂ 0.24 g/L, NaHCO₃ 0.15 g/L, Glucose 1.0 g/L),轻轻挤压心脏,使血液完全排出,并快速将心脏的主动脉断端套入灌注装置中的主动脉插管中,制成Langendroff离体心脏灌注模型,然后给予灌注,灌注速度为7 mL/min,其中灌注液用1.5 L/min的含体积分数5%CO₂的氧气进行饱和。心脏自然灌流平衡15 min后,停止灌注45 min,然后恢复灌流30 min。过程中应用Biolab生物信号采集与处理系统(四川成都泰盟电子有限公司)全程记录左室内压和心电图,并计算出左室内压峰值(LVP_{max})及左室内压最大变化速率($\pm dp/dt_{max}$)

和心室复跳时间。

1.4 统 计 方 法

各组计量资料均以($\bar{x} \pm s$)表示,以SPSS 9.0版软件对数据统计分析,组间差异用方差分析。计数资料以 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 曲美他嗪对心脏复灌后复跳时间的影响

SD大鼠心脏在停止灌注后逐渐静止,复灌后又渐渐出现电机械运动,从复灌时刻至心室恢复跳动的时间为心室复跳时间。结果显示曲美他嗪40 mg/(kg·d)、20 mg/(kg·d)组和对照组的心室复跳时间分别为(2.14±0.54)、(5.26±1.06)、(10.32±1.89) min,其中两处理组与对照组相比心室复跳时间均显著减少(均 P <0.001)。另外,40 mg/(kg·d)组的复跳时间也小于20 mg/(kg·d)组(P <0.001)。

2.2 曲美他嗪对缺血再灌注心脏收缩功能的影响

缺血再灌注后与停灌前LVP_{max}, $\pm dp/dt_{max}$ 的比值 $r_{LVP_{max}}$, r_{+max} , r_{-max} 可反映剩存的收缩功能。结果,20 mg/(kg·d)和40 mg/(kg·d)曲美他嗪组的 $r_{LVP_{max}}$, r_{+max} , r_{-max} 明显大于对照组(P 分别<0.001,表1)。而两处理组间无明显差异($P=0.961$, $P=0.734$ 和 $P=0.871$)。

2.3 曲美他嗪对再灌注心律失常的影响

再灌注后,各组常发生室性心动过速、心室颤动、频发室性早搏及房室传导阻滞等心律失常。如表2,曲美他嗪20 mg/(kg·d)、40 mg/(kg·d)处理组再灌注心律失常的总发生率,尤其是室速的发生率均明显小于对照组(P 均<0.01),而两处理组间无明显差异($P>0.05$)。

表1 曲美他嗪对缺血再灌注心脏收缩功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	$r_{LVP_{max}}$	r_{+max}	r_{-max}
对照组	10	0.52±0.12	0.42±0.03	0.63±0.02
20 mg/(kg·d)	10	0.86±0.14 ¹⁾	0.62±0.11 ¹⁾	0.89±0.12 ¹⁾
40 mg/(kg·d)	10	0.86±0.14 ^{1),2)}	0.63±0.01 ^{1),2)}	0.90±0.05 ^{1),2)}

与对照组相比,1) P <0.001; 与20 mg/(kg·d)组相比,2) P >0.05

收稿日期: 2002-06-21

作者简介: 王礼春(1971-),男,湖北鄂州人,博士生,主治医师

表 2 曲美他嗪对再灌注心律失常的影响

组别	n	室速	室颤	频发室早	房室传导阻滞	合计
对照组	10	8	2	10	4	24
20 mg/(kg·d)	10	4 ¹⁾	1	8	1	14 ¹⁾
40 mg/(kg·d)	10	3 ^{1), 2)}	0	9	3	15 ^{1), 2)}

与对照组相比, 1) $P < 0.01$; 与 20 mg/(kg·d)组相比, 2) $P > 0.05$

3 讨论

曲美他嗪对单纯的心肌缺血具有明显的治疗作用, 但与硝酸酯类、 β -受体阻滞剂及钙离子拮抗剂不同, 其抗心肌缺血时, 并不影响心血管系统的主要血流动力学参数和心肌的耗氧量^[1~3]。但对心肌缺血再灌注损伤的保护作用, 由于这类研究复杂, 并难以标准化, 不同实验之间缺乏同质性, 且曲美他嗪所用的剂量和途径不同, 因而不同实验结果之间差别很大^[4, 5]。本实验通过左室内压及心电图的监测, 发现在缺血及再灌注后, 经曲美他嗪预处理者, 其再灌注心律失常的发生率和左室内压峰值及变化速率峰值的恢复程度明显优于对照组。同样再灌注后, 心室复跳的速度在曲美他嗪预处理者快于对照组并与曲美他嗪剂量相关, 说明口服曲美他嗪一周后对缺血再灌注心肌有保护作用。

Boucher 等^[4]对离体大鼠心脏进行缺血再灌注时发现, 单纯给予曲美他嗪口服(3 mg/(kg·d), 一共 5 d)无明显的心肌保护作用, 而单独在灌注液中加入曲美他嗪却能减轻心肌的缺血再灌注损伤, 然而当两者合用时, 效果更明显。而本实验在灌注液中未加用曲美他嗪, 而仅给予该药预处理却能观察到明显的心肌保护作用。两者的差别一方面可能与各自所采取的缺血与再灌注方式不同有关, 另一方面也可能与曲美他嗪所用的剂量不同有关。本实验中曲美他嗪的用量为 20 或 40 mg/(kg·d), 大大超过 Boucher 所用的剂量。

曲美他嗪对缺血再灌注损伤的保护机制, 迄今尚未完全弄清, 目前一般认为曲美他嗪促进心肌细胞内能量代谢由脂肪酸氧化为主型转移到葡萄糖氧化为主型可能是其作用的基础^[6~8]。最近 Kantor 等^[1]研究发现这一过程是通过曲美他嗪抑制线粒体内长链脂肪酸 3-酮酰辅酶 A 硫解酶来实现的, 其结果使细胞内的 β 氧化直接受抑制, 并间接增加葡萄糖的氧化分解, 从而有利于改善缺血缺氧时葡萄糖酵解与葡

萄糖氧化失耦联, 使细胞内的 H^+ 浓度降低, Na^+ 、 Ca^{2+} 聚集减少, 抑制自由基的形成。在本实验中, 离体心肌的灌注液仅含有葡萄糖而未加任何链长的脂肪酸, 因而不存在直接抑制脂肪酸的 β 氧化这一途径, 但本实验中出现阳性结果, 说明曲美他嗪对缺血再灌注心肌的保护作用可能不仅通过抑制脂肪酸 β 氧化的途径起作用, 还可能存在着多种作用机制, 这也是目前尚未明了之处。

总之, 曲美他嗪是具有独特的药理作用的新一类抗心肌缺血药物。本研究发现其口服预处理后对离体缺血再灌注大鼠心脏有保护作用, 它使离体缺血再灌注心脏的复跳时间缩短, 减轻缺血再灌注对心功能的损害。

参考文献:

- [1] Kantor P F, Lucien A, Kozak R, et al. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase[J]. *Circ Res*. 2000, 86(5): 580.
- [2] Manchanda S C, Krishnaswami S. Combination treatment with trimetazidine and diltiazem in stable angina pectoris[J]. *Heart*. 1997, 78(4): 353.
- [3] Lu C, Dabrowski P, Fragasso G, et al. Effects of trimetazidine on ischemic left ventricular dysfunction in patients with coronary artery disease[J]. *Am J Cardiol*. 1998, 82(7): 898.
- [4] Boucher F R, Hearse D J, Opie L H. Effects of trimetazidine on ischemic contracture in isolated perfused rat hearts[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1994, 24(1): 45.
- [5] Vedrinne J M, Vedrinne C, Bompard D, et al. Myocardial protection during coronary artery graft surgery: a randomized double-blind placebo-controlled study with trimetazidine[J]. *Anesth Analg*. 1996, 82(4): 712.
- [6] El-Banani H, Bernard M, Cozzone P, et al. Ionic and metabolic imbalance as potential factors of ischemia reperfusion injury[J]. *Am J Cardiol*. 1998, 82(5A): 25k.
- [7] El-Banani H, Bernard M, Baetz D, et al. Changes in nuclear magnetic resonance study of the effects of TMZ on intracellular Na^+ and pH during ischemia and reperfusion[J]. *J Moll Cell Cardiol*. 1999, 31(6): A53.
- [8] Mody F V, Singh B I V, Mohiuddin I H, et al. Trimetazidine induced enhancement of myocardial glucose utilization in normal and ischemic myocardial tissue: an evaluation by positron emission tomography[J]. *Am J Cardiol*. 1998, 82(5A): 42K.

(编辑 刘清海)

人 CD134L 基因原核表达载体的构建、鉴定及序列分析

张强, 张春艳, 宁波, 陈琼玲

(中山大学中山医学院免疫学教研室, 广东 广州 510089)

摘要: 【目的】克隆人 CD134L 的 cDNA, 构建人 CD134L 的原核表达载体 pGEX-4T-1/hCD134L, 并进行序列分析。【方法】以 EB 病毒转化健康人外周血 B 淋巴细胞, 从激活的 EB 病毒转化的 B 细胞中提取总 RNA, 采用 RT-PCR 方法扩增出人 CD134L cDNA, 经 *Bam*HI 和 *Sal*I 双酶切后, 克隆入原核表达载体 pGEX-4T-1, 构建高效表达载体 pGEX-4T-1/CD134L, 经限制性内切酶酶切分析和 cDNA 序列分析鉴定重组

收稿日期: 2002-08-06

作者简介: 张强(1972-), 男, 江西高安人, 硕士生, 现在南海出入境检验检疫局工作。