

辅酶 Q10 对供心冷保存的保护作用

巫国勇 钟佛添 刘初生 王治平

(中山医科大学附属第一医院胸心外科; 广州, 510080)

摘要 目的: 探讨供心冷保存中, Co-Q10 作为保存液成分对供心的保护作用, 同时探讨在再灌注液中加入 Co-Q10 对供心缺血再灌注损伤的保护作用。方法: 新西兰大白兔 24 只分成 3 组, 1 组为基础组, 2 组为对照组, 3 组为实验组, 取心后, 1 组不保存, 2、3 组分别在 UW 液和 UW+Co-Q10 液中保存 6 h, 然后在 Langendorff 模型上, 1、2 组用 KHB 液, 3 组用 KHB+Co-Q10 液再灌注。以功能、代谢和结构多个指标评价供心保存效果。结果: 3 组各指标优于 2 组。结论: Co-Q10 作为保存液成分对供心有良好保护作用, 在再灌注液中加入 Co-Q10 对供心缺血再灌注损伤也有良好保护作用, 值得临床使用。

关键词 泛醌; 器官保存; 动物, 实验

中图分类号 R 654.2

EXPERIMENTAL STUDY ON THE PROTECTIVE EFFECT OF COENZYME Q10 ON HEART COLD-PRESERVATION

Wu Guoyong Zhong Futian Liu Chusheng Wang Zhiping

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

Abstract Objective This study is to investigate the evidence of protective effect of Co-Q10 on heart cold-preservation as a content of preservative fluid and protective effect during ischemia reperfusion. **Methods:** New-Zealand rabbits ($n=24$) were divided into three groups, vacant group as group 1, control group as group 2, experimental group as group 3. After hearts were isolated, preservation with UW fluid for six hours was given in group 2 and with UW+Co-Q10 fluid for six hours in group 3, no preservation was given in group 1. Furthermore, on Langendorff model, hearts in group 1 and 2 were reperfused with KHB fluid while hearts in group 3 with KHB+Co-Q10 fluid. The preservative effect was valued by heart function, cell metabolism and ultrastructure changes. **Results:** All indexes in group 3 were superior to group 2 obviously. **Conclusions:** Co-Q10 has an obvious protective effect on heart cold-preservation as well as on ischemia-reperfusion injury.

Subjects headings ubiquinone; organ preservation; animals laboratory

辅酶 Q10 (Co-Q10) 能增加心肌能量储备, 改善缺血时线粒体功能; 能稳定细胞膜, 促进心肌功能恢复。作为氧自由基清除剂有抗脂质过氧化作用, 能预防心肌再灌注损伤。Co-Q10 与供心保存的关系报道较少, 作为保存液成分单独研究其对供心的保护作用未见报道。本实验探讨供心冷保存中, Co-Q10 作为保存液成分对供心的保护作用和再灌注液中加入 Co-Q10 对供心缺血再灌注损伤的保护作用, 为临床应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与分组

健康新西兰大白兔 24 只, 雌雄不拘, 体重 (2.52 ± 0.15) kg。随机分成 3 组。1 组为基础组, 2 组为对照组, 3

组为实验组, 各组 $n=8$ 。

1.2 方 法

用 25% 乌拉坦 (1 g/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, 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, 主动脉根部插灌注针, 分别阻断上、下腔静脉和主动脉, 停止呼吸, 同时剪开左、右房。1、2 组用 UW 液 (美国 Wisconsin 大学提供, 下同), 3 组用 UW+Co-Q10 (浓度为 2 mmol/L) 液分别行冠状动脉灌注 (温度: 4 °C, 量 10 mL/kg, 压力: 8 kPa)。然后立即常规取下心脏。1 组不保存, 2、3 组分别于 0~4 °C UW 液和 UW+Co-Q10 液中在 4 °C 冰箱内保存 6 h。全部心脏均取右心室前壁少许, 于恒温 37 °C 的 Langendorff 模型中用 KHB 液恒压灌注 30 min (压力: 8kPa)。其中 3 组 KHB 液中加入 Co-Q10 (浓度: 2 mmol/L) (Co-

Q10 浓度根据文献推荐)。

1.3 观测指标

① 供心再灌注至恢复稳定心跳节律时间及心率。② 供心收缩功能: 用蛙心夹夹住心尖, 通过换能器连接 2 导仪描记收缩曲线, 取稳定时曲线之高度以 1 组为基础, 2、3 组分别与 1 组比较得出收缩功能恢复之比率。③ 再灌注前及未分别取右、左心室心肌测 ATP 和丙二醛(MDA)。④ 冠脉流量(CSF): 分别于再灌注 0、5、10、15、30 min 准确收集 1 min 冠状窦流出液并计量。⑤ 心肌耗氧量(MVO₂): 分别于再灌注 0、5、10、15、30 min 收集动脉、冠状窦液行血气分析, 按公式计算: $Ca. O_2/Ccs. O_2 = 1.34 \times \text{心率} \times SO_2 + 0.0031 \times PO_2$ $MVO_2 = (Ca. O_2 - Ccs. O_2) \times CSF \div \text{心重} \times 100$ $Ca. O_2/Ccs. O_2$ 分别为动脉/冠状窦端氧含量。SO₂ 为氧饱和

度。PO₂ 为氧分压)。⑥ 再灌注未取左室心肌电镜检查。

2 结果

2.1 统计学处理

所有数据均用 ($\bar{x} \pm s$) 统计。取心前情况用多组间 *F* 检验, 其余指标用 2、3 组 *t* 检验, *P* < 0.05 有显著性差异。

2.2 取心前一般情况

体重(WT)、心率(HR)、平均动脉压(MEP)、中心静脉压(CVP)、胸腔温度(TC), 见表 1, 各组间无差异。

2.3 各组间指标测定

结果见表 2、3、4。

表 1 取心前一般情况

Table 1 The general conditions before heart isolated

Group ¹⁾	n	WT(g)	HR(Times/min)	MBP(kPa)	CVP(kPa)	T of TC(°C) ²⁾
1	8	2.54±0.18	132±8	11.8±0.7	0.45±0.09	36.8±0.41
2	8	2.55±0.13	130±7	11.9±0.8	0.44±0.10	36.7±0.31
3	8	2.53±0.16	136±10	11.6±0.4	0.50±0.12	36.5±0.5

1) There is no difference between group 1, 2, 3 (*P* > 0.05); 2) T of TC: temperature of thoracic cavity

表 2 3 组各指标测定结果

Table 2 The results of indexes determined in three groups

Group	1	2	3
n	8	8	8
Time from reperfusion to recovering stable rhythm (min)	1.9±0.7	5.7±1.0	3.7±0.9 ¹⁾
Stable HR after reperfusion (times/min)	118±18	85±18	106±16 ¹⁾
Recovering rate of contracting function of myocardium (%)	1.00±8.00	0.55±0.08	0.76±0.09 ¹⁾
ATP content before reperfusion (μmol/g)	6.1±0.8	3.2±0.6	4.65±0.7 ¹⁾
ATP content at the end of reperfusion (μmol/g)	5.5±0.6	2.6±0.5	4.2±0.6 ¹⁾
MDA content before reperfusion (nmol/g)	518±59	595±48	548±50
MDA content at the end of reperfusion (nmol/g)	705±87	790±89	609±63 ¹⁾

1) There is significant difference between group 2 and group 3 (*P* < 0.05)

表 3 再灌注后 3 组冠脉流量

Table 3 The CSF after reperfusion in three groups (ml/min)

Group	n	The time after reperfusion (min)				
		0	5	10	15	30
1	8	18.14±3.00	17.5±2.53	16.8±3.4	16.1±3.4	15.4±2.0
2	8	12.6±2.3	10.4±2.4	8.1±1.7	7.4±1.5	6.7±1.1
3	8	16.9±2.6 ¹⁾	15.5±2.4 ¹⁾	15.0±2.9 ¹⁾	13.1±2.3 ¹⁾	11.2±1.6 ¹⁾

1) There is significant difference between group 2 and group 3 (*P* < 0.05)

表4 再灌注后3组心肌耗氧量
Table 4 The MVO₂ after Reperfusion in three groups (mL/kg)

Group	n	The time after reperfusion(min)				
		0	5	10	15	30
1	8	39.0±5.0	64.5±8.6	62.0±7.3	57.9±5.1	52.7±6.7
2	8	34.3±6.3	38.3±6.9	38.1±3.5	30.3±2.1	25.1±4.9
3	8	39.4±5.9	58.8±7.3 ¹⁾	5.72±6.9 ¹⁾	48.6±5.3 ¹⁾	39.8±7.3 ¹⁾

There is significant difference between group 2 and group 3 ($P < 0.05$)

表2表明:3组再灌注后至恢复稳定心跳节律的时间比2组少,有显著性差异。3组心率和心肌收缩功能恢复率优于2组,有显著性差异。3组再灌注前及再灌注末ATP含量均高于2组,有显著性差异。2,3组在灌注前MDA含量无显著性差异,而再灌注末有显著性差异,3组比2组低。表3表明:再灌注后各组冠脉流量3组均比2组高,有显著性差异。表4表明:虽再灌注开始时,2,3组心肌耗氧量无差别,但5 min后,3组高于2组,有显著性差异。

2.4 超微结构

1组细胞结构完整,肌丝,肌节排列规则;线粒体无肿胀,嵴完整;核无肿胀,无自溶;肌浆内糖原较多,水肿不明显。2组细胞呈局灶性自溶、断裂,肌丝、肌节排列紊乱;线粒体肿胀,嵴紊乱,核膜变形、皱缩,染色质边聚;糖原极少,间质、特别是血管周围明显水肿。3组细胞结构完整;肌丝、肌节排列规则;线粒体稍肿胀,嵴完整,但稍乱;核稍肿胀,染色质轻度边聚;糖原减少,间质水肿不明显。

3 讨论

由于供心的缺乏,使许多心脏病人在等待供心过程中死亡。延长供心保存时限是目前的研究热点,也是增加供心来源的主要途径。目前许多心脏移植中心采用单纯低温保存,保存液允许临床安全保存时限仅3~4 h^[1],本实验采用Co-Q10作保存液成分,并在再灌注液中加入Co-Q10在Langendorff模型上灌注,通过功能、代谢、结构多个指标评价Co-Q10对供心保存的作用,结果可见Co-Q10对供心有较好的保护作用,说明Co-Q10作为保存液成分,能产生极好的心肌保护作用,可延长供心保存时间。

3.1 Co-Q10与供心能量储备及代谢

再灌注后供心功能恢复与ATP储备密切相关,冷保存期间,由于养分和氧的供应障碍,线粒体产能障碍,ATP储备下降,影响再灌注后收缩功能的恢复和能量的产生。Co-Q10能增强心肌在无氧状态下的能量形成,改善缺血时线粒体功能,增加ATP储备^[2],结果表明:在保存液中加入

Co-Q10能增加供心ATP储备,使再灌注后心跳迅速恢复稳定和收缩功能增强,ATP产生增加,心肌耗氧量增加。

3.2 Co-Q10稳定细胞膜结构,促进心功能恢复

供心功能能否恢复及维持受体的血流动力学稳定,也与心肌细胞结构,特别是超微结构有无不可逆改变密切相关。Co-Q10能稳定细胞膜结构,在心肌缺血时对室肌有较好保护作用^[3]。结果显示:实验组线粒体、核、肌丝、肌节及糖原等结构的保护均优于对照组,水肿的程度较轻,证明Co-Q10能较好地保护心肌细胞结构。

3.3 Co-Q10与供心缺血再灌注损伤

Co-Q10是氧自由基清除剂,能非特异性地与细胞各个部位相结合,增强琥珀酸-细胞色素C还原酶活性,还能提供电子给氧自由基,使其还原成氧原子,氧利用加强,自由基被清除,减轻再灌注损伤^[4]。结果表明:Co-Q10能明显减少供心再灌注后氧自由基形成,减少再灌注损伤。

作者认为:Co-Q10作为冷保存液成分及再灌注液中加入适量的Co-Q10可对供心提供较好的心肌保护作用 and 预防再灌注损伤。最佳剂量有待进一步研究,以便临床应用。

参 考 文 献

- 1 Yew P S, Kahyon H Y, Raymon C M, *et al*. Prolonged hypothermic cardiac storage for transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1992, 104: 817
- 2 Crestanello J A, Kamelyard J, Lingle D M, *et al*. Elucidation of a tripartite mechanism underlying the improvement in cardiac tolerance to ischemia by coenzyme Q10 pretreatment. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1996, 111: 443
- 3 Chen Y F, Liu Y T, Wu S c. Effectiveness of coenzyme Q10 on myocardial preservation during hypothermic cardioplegic arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1994, 107(1): 242
- 4 Ohh rar H, Kanaide H, Yoshimura R, *et al*. A protective effect of coenzyme Q10 on ischemia and reperfusion of the isolated perfused rat heart. *J Mol Cell Cardiol*, 1981, 13: 65

(1997-12-10 收稿 1998-05-04 修回)