论著

文章编号:1000-5404(2005)02-0126-04

PDH调控的糖代谢途径对缺氧后复氧的大鼠肥大心肌细胞凋亡的影响

刘 伟[1],何作云[1],冯 兵[1],林大梁[2],周圣华[3],徐 静[1],杨胜利[1] ([1]第三军医大学新桥医院心血管内科,全军心血管内科中心,重庆 400037;[2]湖北省地质医院门诊部,武汉 430072;[3]第三军医大学西南医院心血管内科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH)介导糖代谢途径对缺血再灌注肥大心肌细胞凋亡的影响。**方法** 应用血管紧张素Ⅱ(angiotensinⅡ, AngⅡ)+去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)诱导体外培养的大鼠心肌细胞肥大,采用[^{3}H]-Leu掺入法和测定细胞表面积来鉴定心肌细胞肥大;通过体外培养心肌细胞的缺氧复氧模拟缺血再灌注模型;分别以二氯乙酸(dichloroacetate, DCA)和抗阿霉素A(Antimycin A)干预并采用同位素液闪记数法测定PDH活性;流式细胞术测定细胞caspase-3表达;TUNEL检测细凋亡率。**结果** ①AngⅡ 0.1 μmol/L + NE 1 μmol/L使心肌细胞体积增大49.73%,[^{3}H]-Leu掺入量增加115.17%, $P<0.05$。② DCA和Antimycin A分别增强和抑制PDH活性,呈量效关系,而无明显时间依赖性。③ DCA各组100 μmol/L,1 000 μmol/L,10 000 μmol/L均能抑制caspase-3表达和降低细胞凋亡率,出现量效反应和时间依赖性。④ Antimycin A各组0.1 μmol/L,1 μmol/L,10 μmol/L均增强caspase-3表达和增加凋亡率,也出现量效反应和时间依赖性。**结论** caspase-3表达和细胞凋亡率与PDH活性呈反向变化,PDH介导的糖代谢途径参与了缺氧后复氧的肥大心肌细胞的凋亡过程。

关键词:心肌肥大;细胞凋亡;能量代谢;丙酮酸脱氢酶

中图法分类号:R322.11; R329.25; R542.202 **文献标识码**:A

Effects of glucose metabolism mediated by PDH on apoptosis of hypertrophied cardiac myocytes during post-hypoxia reoxygenation

LIU Wei[1], HE Zuo-yun[1], FENG Bing[1], LIN Da-liang[2], ZHOU Sheng-hua[3], XU Jing[1], YANG Sheng-li[1] ([1]Cardiovascular Disease Research Center, Xinqiao Hospital, Chongqing 400038, [3]Department of Cardiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037; Clinic of Geology Hospital, Wuhan 430072, Hubei Province, China)

Abstract: Objective To explore effects of glucose metabolism regulated by pyruvate dehydrogenase (PDH) on the apoptosis of hypertrophied cardiomyocytes during post-hypoxia reoxygen. **Methods** Cultured rat cardiomyocytes were induced to be hypertrophy by angiotensinⅡ (AngⅡ) and norepinephrine (NE), which was confirmed by [^{3}H]-Leu incorporation in cardiomyocytes and detection surface area of cells. We established a model of post-hypoxia reoxygenation of cultured cardiac cells *in vitro*. Dichloroacetate (DCA) and antimycin A were added respectively, and then the activity of PDH was determined by liquid scintillation counting. We used the flow cytometer to assay caspase-3 expression in hypertrophic cardiomyocytes and TUNEL technology to assay the apoptotic rates of cardiac cells. **Results** ① Surface area of cells increased by 49.73% and [^{3}H]-Leu incorporation by 115.17% AngⅡ (0.1 μmol/L) plus NE (1 μmol/L), $P<0.05$. ② DCA and antimycin A respectively enhanced and inhibited the activity of PDH in dose- and time-dependent manners. ③ DCA at the doses of 100, 1 000, and 10 000 μmol/L inhibited caspase-3 expression and apoptotic rates in dose- and time-dependent manners. ④ Antimycin A at the doses of 100, 1 000, and 10 000 μmol/L inhibited caspase-3 expression and apoptotic rates of cells in dose- and time-dependent manners. **Conclusion** Caspase-3 expression and apoptotic rates of cardiomyocytes change inversely with PDH activity. Glucose metabolism regulated by PDH is involved in apoptotic process of hypertrophic cardiomyocytes during post-hypoxia reoxygenation.

Key words: hypermyotrophy; apoptosis; energetic metabolism; pyruvate dehydrogenase

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30100069)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30100069)

作者简介:刘 伟(1974-),男,湖北省通山县人,硕士,医师,主要从事冠心病发病机制及防治方面的研究。电话:(023)65221041,E-mail: liuw1013@yahoo.com.cn

通讯作者:何作云,电话:(023)68755593

收稿日期:2004-02-12;**修回日期**:2004-06-12

在胚胎发育阶段，心肌细胞能量供应主要来源于糖酵解和乳酸的氧化，出生后脂肪酸的氧化率急剧增加，很快成为心肌的主要能量来源，占总能量来源的 60%～70%。成体心肌能量代谢其他来源还有糖氧化、糖酵解，仅少部分来自于氨基酸和酮体的代谢。其主要原因可能是心肌细胞内与能量代谢相关的酶及其蛋白基因表达发生了改变。研究显示[1]，病理性心肌肥大时，能量代谢途径发生了显著改变，脂肪酸氧化显著降低，而糖的利用明显增加，相应地调控脂肪酸氧化的酶基因表达下降，出现胚胎时代谢模式。肥大心肌缺血后发生的左室功能紊乱比正常心肌更加明显，虽然缺血再灌注时，肥大心肌能量在代谢整体上没什么变化，但能量代谢模式已发生了改变：糖酵解急剧加速，而糖氧化没有相应的增强，导致了糖酵解与糖氧化之间的失衡，这可能是导致肥大心肌在缺血后发生左室功能紊乱原因之一[2]。Wambolts 等[3]发现，通过激活糖氧化途径的关键酶（丙酮酸脱氢酶）的活性，促进糖的氧化，可改善缺血后肥大心脏左室功能。促进糖摄取和糖代谢可明显减少缺氧引起的心肌细胞凋亡，但其发生的机制欠清楚[4]。本研究通过模拟体外培养肥大心肌缺血再灌注模型，利用抑制剂（antimycin A）和激活剂（dichloroacetate，DCA）改变 PDH 活性，采用同位素液闪记数法、流式细胞术及 TUNEL 等手段，探讨 PDH 参与糖代谢途径对缺血再灌注肥大心肌细胞凋亡效应的影响。

1　材料与方法

1.1　试剂及主要仪器

DMEM/F1（1∶1）培养基、胎牛血清（FSB）购自美国 Hyclone 公司；胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司；Ang Ⅱ、Norepinephrine（NE）、CoASH，NAD＋、Hexokinase、Citrate synthase、Aspartate oxaloacetic transferase（AST）、DCA、N-ethylmaleimide（NEM）、均购自 Sigma 公司；[^{3}H]-Leu、L-[U-^{14}C]Aspartic acid（207 mCi/mmol）购自英国 Amersham 公司；DoweX 50w-X8（H＋form，100-200 mesh）购自 Fluka 公司；Rabbit anti-caspase-3、TUNEL 检测试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司；其它试剂由第三军医大学新桥医院中心实验室提供。主要仪器有超净工作台、CO_2 孵箱、三气孵箱、倒置显微镜、液闪仪和流式细胞仪。

1.2　心肌细胞的培养

取 2～3 d Wister 大鼠，雌雄不限（第三军医大学实验动物中心提供），颈椎脱臼猝死，无菌条件取出心室，D-Hanks 液洗净残血，切成约 1 mm×1 mm×1 mm 大小的碎块。弃 D-Hanks 液，按体积 1∶15 加入 0.125% 胰蛋白酶，于 37 ℃磁力搅拌消化 5 min，吸出上清液，加含 10% FSB 终止胰酶消化。同条件下重复消化 7～9 次，收集各次消化下来的细胞悬液离心 1 500 r/min 共 5 min，弃上清，加含 10% FSB 的培养基，在 37 ℃，5% CO_2 孵箱中差速贴壁培养 2 h 后，除去非心肌细胞，吸出未贴壁的心肌细胞，配成 1×106 细胞浓度分装在 6 孔板中培养。培养第 3 天，换无血清培养液，向部分培养孔中加入 Ang Ⅱ（0.1 μmol/L）＋NE（1 μmol/L），培养 12 h 后，先做细胞肥大的测定，在证实已发生肥大的基础上再做缺氧复氧培养、凋亡检测及干预实验。

1.3　心肌细胞肥大的鉴定

通过测定培养心肌细胞表面积反映心肌细胞肥大的程度和[^{3}H]-Leu 掺入量来反映细胞蛋白质合成的速率，二者可说明细胞肥大的程度。用 IBSA 图像处理系统测定心肌细胞的周径和表面积，每孔选 5 个视野，每个视野测 20 个细胞，求其平均值，单位用 μm^2。[^{3}H]-Leu 掺入量测定是在加 Ang Ⅱ＋NE 同时加[^{3}H]-Leu 10 μCi/孔（每孔细胞浓度约 1×10^6，体积为 3 ml），设立 3 个平行的复孔。培养 12 h 后，用 D-Hanks 液冲洗 3 次，加入 0.125% 胰蛋白酶液使细胞脱落，将细胞收集在玻璃纤维滤膜上，然后用 10% 三氯乙酸和无水乙醇冲洗，烘干后，加 5 ml 闪烁液在 LS6500 Multipurpose Scintillation Counter（Beckman COULTER$_{TM}$ made in USA）进行放射性测定。单位用 Dpm/well。

1.4　缺氧复氧及细胞代谢的干预

在加入 Ang Ⅱ＋NE 培养 12 h 发生肥大的心肌细胞，更换培养液为含 10% FSB 的培养基。放入三气孵箱中，持续给 92% N_2，3% O_2，5% CO_2，控制氧分压在 5 mmHg 以下。培养 6～8 h 后，恢复通氧：20% O_2，5% CO_2。同时更换为无血清的培养液，设 1 组为对照组，其余各组分别加 1×10^{-4}、1×10^{-3}、1×10^{-2} mol/L DCA 及 1×10^{-7}、1×10^{-6}、1×10^{-5} mol/L Antimycin A，每组设立 3 个平行的复孔。分别在 0、2、4、6、12 h 同时测定 PDH 活性和心肌细胞的凋亡。

1.5　PDH 活性的测定

参照文献[5]方法改进。简单说，培养的心肌细胞吸去培养基后，用 PBS 液冲洗 2 遍，加入含有葡萄糖、EGTA、Tris-HC、NaF、DCA 和 0.1% Triton X-100 等匀浆液[测量总 PDH（PDHt）时，去掉 NaF 和 DCA，增加己糖激酶]，1 min 后，在含有 K^+、Mg^{2+}、Ca^{2+}、DCA、葡萄糖、己糖激酶等条件下，37 ℃温育 15 min。然后加丙酮酸，用在丙酮酸脱氢酶的作用下发生催化反应生成的乙酰 CoA 的含量来反映 PDHa 和 PDHt。乙酰 CoA 的测量参照文献[6]方法。Lowry 法[7]测量每孔心肌细胞蛋白质含量。最后用含 1 g 蛋白心肌细胞在 1 min 内产生的乙酰 CoA 微摩尔数表示 PDH 活性，单位：$\mu mol\cdot g^{-1}\cdot min^{-1}$。

1.6　流式细胞方法测定 caspase-3 蛋白表达

用 0.125% 胰蛋白酶消化、收集上述贴壁细胞，制成单细胞悬液，通过间接荧光方法进行标记。按试剂盒说明分别加入抗 caspase-3 一抗 100 μl、FITC-IgG 二抗 100 μl，用 PBS 冲洗未结合抗体，同时用 PBS 代替一抗作为阴性对照。将样品在流式细胞仪上测定 caspase-3 蛋白，将收集的数据输入计算机处理，以荧光指数（fluorescence index，FI）表示蛋白相对含量。FI＝（实验样品的平均荧光强度-对照样品的平均荧光强度）/对照样品的平均荧光强度。

1.7　TUNEL 检测

末端脱氧核苷酸转移酶介导的脱氧三磷酸尿苷缺口末端标记（terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling，TUNEL）检测如下：加入各处理因素后，在不同的时相

点收集细胞爬片。用 PBS 洗 3 次，蒸馏水洗 2 次，4% 多聚甲醛室温固定 30 min，PBS 冲洗，然后按 TUNEL 试剂盒说明进行操作。DAB 显色后，细胞核染成棕黄色者为阳性细胞，即凋亡细胞。随机取 5 个高倍视野(400 倍)，记数 200 个细胞中的阳性细胞数，计算出凋亡细胞率。

1.8 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，利用 SPSS 软件进行统计分析。多组间比较采用单因素方差分析，两组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 心肌细胞肥大的鉴定

加入 AngⅡ + NE 培养 12 h 培养后，心肌细胞表面积明显增加(49.73%)；[^{3}H]-Leu 掺入量显著提高，表明细胞蛋白合成的速率显著增强(115.17%)，心肌细胞已经发生了肥大，见表 1。

表 1 Ang Ⅱ + NE 对心肌细胞表面积和[^{3}H]-Leu 掺入量的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of Ang Ⅱ + NE on surface area of cardiomyocytes and [^{3}H]-Leu incorporation in cardiomyocytes ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Group	Surface area (μm^2)	[^{3}H]-Leu incorporation (Dpm/well)
Control	375.46 ± 23.12	1 384.21 ± 81.21
Ang Ⅱ + NE	561.02 ± 18.48*	2 978.34 ± 101.15*
Ratio(%)	149.73	215.17

*: $P<0.05$, *vs* control

2.2 肥大心肌细胞再灌注及代谢干预条件下 PDH 活性

PDH 是调控糖氧化的限速酶，在心肌细胞糖代谢中起着关键作用，通过增强或抑制其活性可增强或抑制心肌细胞的糖代谢。本实验通过加入丙酮酸脱氢酶激活物 DCA 和丙酮酸脱氢酶抑制物 antimycin A，然后分别测定去磷酸化活性形式的 PDH (PDHa)和总 PDH(PDHt)。用 PDHa 和 PDHa/PDHt 比值来反应丙酮酸脱氢酶活化程度。本实验证实了，加入 1×10^{-4} mol/L DCA 后，PDHa 活性较对照组增强，且在 $1\times10^{-4}\sim1\times10^{-2}$ mol/L 呈量效关系；PDHt 与对照组相比改变不明显($P>0.05$)；PDHa/PDHt 比值在加入 DCA 后变化明显($P<0.01$)。对应地，antimycin A 在浓度 1×10^{-7} mol/L 时抑制 PDHa 活性，其程度成一定的量效关系($P<0.05$)；对 PDHt 无明显影响($P>0.05$)，见表 2。

表 2 缺血再灌注时 DCA 和 antimycin A 对肥大心肌细胞 PDHa、PDHt、PDHa/PDHt 的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of DCA and antimycin A on PDHa, PDHt, and percentage of PDHa to PDHt in cultured hypertrophic cardiomyocytes during reoxygenation ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Group	Active (PDHa) Acetyl CoA ($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$)	Total (PDHt) Acetyl CoA ($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$)	PDHa/PDHt (%)
Control	16.67 ± 5.30	89.56 ± 7.93	18 ± 5
100 μmol/L DCA	47.43 ± 2.19*	90.11 ± 2.46	53 ± 7*
1 000 μmol/L DCA	73.53 ± 6.70**	91.56 ± 7.98	82 ± 8**
10 000 μmol/L DCA	86.31 ± 8.75**	93.32 ± 9.12	94 ± 7**
0.1 μmol/L antimycin A	12.47 ± 5.67	89.41 ± 7.85	15 ± 6
1 μmol/L antimycin A	7.16 ± 0.60*	87.15 ± 6.35	9 ± 2*
10 μmol/L antimycin A	3.18 ± 0.61**	85.19 ± 9.30	5 ± 1**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* control

2.3 Caspase-3 蛋白表达的检测

如表 3 所示，DCA 在 100 ~ 10 000 μmol/L，可降低肥大心肌细胞再灌注时 caspase-3 蛋白表达，减少细胞凋亡。与对照组相比，随着再灌注的时间延长，降低 caspase-3 蛋白作用更加明显。相反地，antimycin A 在 0.1 ~ 10 μmol/L 可增强 caspase-3 蛋白表达，增加细胞凋亡，出现明显的时效关系。

表 3 不同因素作用 caspase-3 蛋白表达的荧光指数 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Fluorescence index of caspase-3 protein expression under different conditions ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	FI of caspase-3 protein expression
Control	3	186 ± 41.45
100 μmol/L DCA	3	149 ± 21.23*
1 000 μmol/L DCA	3	124 ± 32.57**
10 000 μmol/L DCA	3	101 ± 13.47**
0.1 μmol/L antimycin A	3	217 ± 24.14*
1 μmol/L antimycin A	3	276 ± 36.39**
10 μmol/L antimycin A	3	315 ± 56.43**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* control

2.4 TUNEL 检测结果

与对照组相比，DCA 各组均能起到降低细胞凋亡率的作用，在 100 ~ 10 000 μmol/L 出现了量效关系；Antimycin A 各组增加了细胞凋亡率，并且呈现一定的量效和时效关系。见表 4。

表 4 DCA 和 antimycin A 对再灌注肥大心肌细胞凋亡率的影响 (%, $\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effects of DCA and antimycin A on apoptotic rates of cultured hypertrophic cardiomyocytes after reperfusion (%, $\bar{x} \pm s$)

Group	n	Apoptotic rates
Control	3	17.34 ± 8.42
100 μmol/L DCA	3	12.19 ± 3.06
1 000 μmol/L DCA	3	9.87 ± 2.01*
10 000 μmol/L DCA	3	8.12 ± 0.24*
0.1 μmol/L antimycin A	3	21.43 ± 8.61
1 μmol/L antimycin A	3	42.25 ± 7.32*
10 μmol/L antimycin A	3	53.35 ± 9.12**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* control

3 讨论

尽管近年来对各种病理原因引起心脏疾病的治疗方面取得了很大的进展，但心力衰竭及其并发症的发生率和致死率仍然是临床上突出的问题。各种治疗策略都以维持心肌的收缩团体为主要目标，而心肌的收缩团体决定于心肌细胞的数量和体积。通过心肌肥大来增加收缩团体往往与增加缺血、心律失常、出现心衰危险性联系在一起。近来的研究表明，心肌细胞凋亡是心肌肥厚向心力衰竭转化的重要机制[8]。因为心肌细胞的不断丢失，使心肌组织合胞体的功能逐渐受损，心功能必将逐步降低。抑制心肌细胞凋亡，预防或延

缓收缩细胞的丢失，可能成为治疗心脏疾病的一个新的途径[9]。

心肌肥大时，心脏的能量代谢途径发生了明显的改变，心肌能量代谢底物由以脂肪酸代谢为主转化为糖代谢为主。目前，还不能肯定心肌肥大与能量代谢改变之间是否存在着因果关系，更不能肯定何为始动因素，何为继发因素，但有证据显示[10]，在某些最终出现心力衰竭的动物模型中，在心肌肥大发生之前已出现了能量代谢的改变。

肥大心肌缺血再灌注时，糖、乳酸、脂肪酸的氧化代谢也能恢复到缺血前的水平，此时出现特异性的变化是糖酵解率明显加速，许多与糖酵解有关的酶活性增强，PDH异构酶、烯醇化酶、肌酸激酶等更多地向无氧、胚胎形式转化[3]，而糖氧化没有相应上升，导致了糖酵解与糖氧化的急剧不平衡。糖代谢的不平衡可能导致糖酵解途径产生的ATP水解，生成的H^+产物增加，超出肥大心肌细胞处理能力，使细胞发生酸中毒[11]。推测可能的原因是，在急性缺血时常伴有血浆中FFA的浓度上升，脂肪酸氧化能提高线粒体内乙酰CoA/CoA水平，抑制PDH的活性较对糖酵解的抑制更明显。在严重缺血时，糖酵解将加速乳酸和H^+产生，加重再灌注时钙超负荷。我们的研究表明，在AngⅡ + NE诱导的大鼠心肌细胞肥大模型中，加入DCA，PDH酶的活性形式(PDHa，PDHa/PDHt)明显上升，而酶总量变化不是很明显，表明DCA促进了糖的氧化；加入antimycin A时，PDHa是下降的，说明antimycin A对糖的氧化起着抑制作用。PDHa和PDHa/PDHt的变化与加入的DCA和antimycin A都存在一定的量效关系。

近年，半胱氨酸蛋白酶家族成员(caspase)在细胞凋亡中的作用越来越受到关注，许多调控细胞凋亡的因素可通过caspase起作用。Caspase家族成员中研究最多、功能相对较明确的为caspase-3。Caspase-3为凋亡的效应分子，是凋亡途径下游进行底物酶解的关键蛋白酶，被称为凋亡的“执行者”。在培养液中加入DCA后，与对照组比，缺氧后的肥大心肌细胞中caspase-3表达下降，表明细胞凋亡减少，我们采用TUNEL方法检测细胞凋亡率，也得到了同样的结论。相反地，当加入antimycin A时，细胞caspase-3表达增强，凋亡率上升。Caspase-3表达水平与心肌细胞凋亡率基本上一致。我们还发现，PDH活性(PDHa及PDHa/PDHt)与心肌细胞的凋亡程度(凋亡率)呈反向变化关系，即PDHa和PDHa/PDHt上升时，细胞凋亡率下降，反之，凋亡率则上升。而且，随着作用时间的延长这种反向关系更加明显。故此，我们有理由相信，PDH介导的糖代谢途径参与了缺氧后复氧的肥大心肌细胞的凋亡过程。其中具体的信号转导机制还有待进一步研究。

参考文献：

[1] Lehman J J, Kelly D P. Transcriptional activation of energy metabolic switches in the developing and hypertrophied heart[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2002, 29(4): 339 - 345.

[2] Schonekess B O, Allard M F, Lopaschuk G D. Recovery of glycolysis and oxidative metabolism during postischemic reperfusion of hypertrophied rat hearts[J]. Am J Physiol, 1996, 271(2 pt 2): H798 - 805.

[3] Wambolts R B, Lopaschuk G D, Brownsey R W, *et al*. Dichloroacetate improves postischemic function of hypertrophied rat hearts[J]. J Am Coll Cardiol, 2000, 36(4): 1378 - 1385.

[4] Malhotra R, Brosius F C 3rd. Glucose uptake and glycolysis reduce hypoxia-induced apoptosis in cultured neonatal rat cardiac myocytes[J]. J Biol Chem, 1999, 274(18): 12567 - 12575.

[5] Constantin Teodosiu D, Cederblad G, Hultman E. A sensitive radioisotopic assay of pyruvate dehydrogenase complex in human muscle tissue[J]. Anal Biochem, 1991, 198(2): 347 - 351.

[6] Collins-Nakai R L, Noseworthy D, Lopaschuk G D. Epinephrine increases ATP production in hearts by preferentially increasing glucose metabolism [J]. Am J Physiol, 1994, 267(5 Pt 2): H1862 - 1871.

[7] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, *et al*. Protein measurement with folin phenol reagent[J]. J Biol Chem, 1951, 193(1): 265 - 275.

[8] Hein S, Arnon E, Kostin S, *et al*. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: structural deterioration and compensatory mechanisms[J]. Circulation, 2003, 107(7): 984 - 991.

[9] Haunstetter A, Izumo S. Toward antiapoptosis as a new treatment modality [J]. Circ Res, 2000, 86(4): 371 - 376.

[10] Lehman J J, Kelly D P. Gene regulatory mechanisms governing energy metabolism during cardiac hypertrophic growth[J]. Heart Fail Rev, 2002, 7 (2): 175 - 185.

[11] Lopaschuk G D, Wambolt R B, Barr R L. An imbalance between glycolysis and glucose oxidation is a possible explanation for the detrimental effects of high levels of fatty acids during aerobic reperfusion of ischemic hearts[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1993, 264(1): 135 - 144.

(编辑　栾　嘉)