论著

文章编号:1000-5404(2005)12-1262-04

左旋卡尼汀对大鼠缺血心肌能量代谢的保护作用

谢 江,曾秋棠,王 乐,付作林 (华中科技大学同济医学院协和医院心血管内科,武汉 430022)

提 要:目的 观察左旋卡尼汀对大鼠离体心缺血再灌注损伤的保护作用,并探讨其机制。**方法** 36 只动物随机分成 3 组:A 组缺血 30 min,复灌 120 min;B 组缺血 30 min 后 5 mmol/L 左旋卡尼汀复灌;C 组缺血后 10 mmol/L 左旋卡尼汀复灌。记录冠脉流量、左心室发展压(LVDP)、左心室压力时间变化率(± dp/dt);检测心肌组织中 ATP、糖原和冠脉流出液中 CPK、LDH 含量。**结果** 复灌期间补充左旋卡尼汀可明显改善缺血再灌后的血流动力学变化:+ dp/dt_{max} 和 LVDP 较对照组显著升高,冠脉流量增大;心肌组织 ATP 和糖原含量增加;而冠脉流出液中 LDH、CPK 含量降低。**结论** 左旋卡尼汀具有抗大鼠离体心缺血再灌注损伤的作用,其机制可能与其改善心肌能量代谢有关。

关键词:左旋卡尼汀;缺血再灌注;ATP;糖原

中图法分类号:R364.12; R654.1; R977.22 **文献标识码**:A

Protective effects of L-carnitine on the metabolism of ischemic-reperfusion rat heart *in vitro*

XIE Jiang, ZENG Qiu-tang, WANG Le, FU Zuo-lin (Department of Cardiology, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effects of L-carnitine on myocardial ischemic-reperfusion injury in rats. **Methods** All isolated hearts of thirty-six SD rats were perfused for 20 min on Langendorff apparatus with oxygenized K-H solution. After exposed to ischemia for 30 min, the hearts were reperfused with different solutions so as to 3 groups: group A with K-H solution for 120 min as control; group B with K-H solution mixed with 5 mmol/L L-carnitine for 20 min, then K-H solution only for 100 min; group C treated with the same process as group B, substituting 5 mmol/L L-carnitine for 10 mmol/L. ± dp/dt, LVDP and coronary flux were investigated during the entire procedure. The level of ATP and hepatin in tissue, and the content of LDH and CPK in the coronary efflux were measured. **Results** As compared with group A, groups B and C showed that the treatment of L-carnitine can lead to a better outcome. ± dp/dt_{max} and LVDP were higher, coronary efflux was augmented, the ATP and hepatin concentration were higher in the tissue while CPK and LDH were lower in efflux. **Conclusion** L-carnitine has protective effects against ischemia-reperfusion injury partially due to its prevention of energy loss.

Key words: L-carnitine; ischemia-reperfusion injury; ATP; hepatin

左旋卡尼汀(L-carnitine)是机体脂肪酸代谢中具有重要作用的物质,而其对心血管的影响已经被越来越多的研究证实。左旋卡尼汀能够保护缺血再灌注的心肌,改善心肌收缩力,减少梗死面积,减低恶性心律失常的发生,降低再梗死的发生率,大大改善预后[1]。本实验旨在研究左旋卡尼汀通过减少能量丧失对缺血再灌损伤的保护作用。

作者简介:谢 江(1978-),男,湖北省宜昌市人,硕士研究生,医师,主要从事缺血性心脏病方面的研究。电话:(027)85351479

通讯作者:曾秋棠,电话:(027)85726425

收稿日期:2005-02-25;**修回日期**:2005-04-19

1 材料与方法

1.1 动物模型

雄性 SD 大鼠 36 只(华中科技大学同济医学院实验动物中心提供),体质量(250±20)g。腹腔注射 200 g/L 戊巴比妥钠 1 g/kg 麻醉,剪去胸廓,迅速取出心脏,置于冷的 K-H 液中,分离主动脉,插入主动脉导管,固定于 Langendorff 装置上,于 100 cmH_2O 压力主动脉逆行灌注 K-H 液。K-H 液的成分如下:(mmol/L) NaCl 118.4, KCl 4.7, $CaCl_2$ 2.5, KH_2PO_4 1.8, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.8, $NaHCO_3$ 25.0, 葡萄糖 11.1, pH 7.4,温度 37 ℃。连续通 95% 氧气与 5% CO_2 的混合气体。持续灌注 K-H 液稳定 20 min ,A 组缺血 30 min 再灌注 120 min。B 组缺血 30 min 后用含 5 mmol/L 左

旋卡尼汀(购自 Sigma 公司)的 K-H 液复灌 20 min，继续灌 K-H 液 100 min。C 组重复同样的步骤只是左旋卡尼汀的浓度为 10 mmol/L。灌注完毕电子天平精确称量心脏质量并将其置于液氮中保存。

1.2　测定指标

1.2.1　心功能指标的检测　　于左心耳处剪小口插入压力导管，将导管远端与 MLT844 压力换能器和 Power Lab 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(±dp/dt)。

1.2.2　冠脉流量及 CPK 和 LDH 含量　　于复灌 30 min 记录冠脉流量，并留取即时冠脉流出液，使用 CPK 试剂盒(上海申能生物技术有限公司)和 LDH 试剂盒(北京中生生物工程高新技术公司)，全自动生化测试仪(日立 7107A)，参考文献[2]速率法检测 CPK 和 LDH 含量。

1.2.3　心肌 ATP 含量的测定　　将 ATP 检测剂(碧云天公司)于冰水浴中溶解。取出液氮中的心肌标本，于冰上制备 10%心肌匀浆。用虫荧光素酶法[3]检测心肌匀浆中 ATP 的浓度。

1.2.4　糖原的测定　　取心尖处心肌组织 85 mg，采用蒽酮比色法[4]测定心肌组织中糖原含量。

1.2.5　电镜观察　　左心室心肌切成 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小组织数块，2.5%戊二醛前固定，1%锇酸后固定，5%乙醇、70%乙醇、90%乙醇丙酮、90%丙酮逐级脱水，纯环氧树脂包埋剂浸透 2 h，包埋聚合后超微切片，醋酸双氧铀及枸橼酸铅双重染色 10 min，德国 OPTON EM10C 型透射电镜观察。

1.3　统计学处理

用 SPSS 11.5(Windows 版)软件采用方差分析，各处理组两两比较采用 LSD。

2　结果

2.1　心功能

如表 1 所示，不同组别 + dp/dt_{max} 和 LVDP 复灌后有明显差别($P<0.01$)。治疗组内部各时间点没有差异($P>0.05$)。但是 - dp/dt_{max} 恢复均一般，仅复灌 60 min 3 组差异有显著统计学意义($P<0.05$)。冠脉流量于组间存在差异($P<0.01$)。C 组(10 mmol/L)较 B 组(5 mmol/L)效果更加显著($P<0.01$)。

表 1　各组 LVDP、± dp/dt_{max} 和复灌 30 min 冠脉流量比较($n=12$，$\bar{x}\pm s$)

Tab 1　LVDP，± dp/dt_{max} and coronary flux in 30 min after reperfusion in different groups ($n=12$，$\bar{x}\pm s$)

Group	+ dp/dt_{max} (mmHg/s)			- dp/dt_{max} (mmHg/s)			LVDP (mmHg)			Coronary flux (ml/min)
	Pre-isch	30 min post-isch	60 min post-isch	Pre-isch	30 min post-isch	60 min post-isch	Pre-isch	30 min post-isch	60 min post-isch	
A	2 554±291	1 272±209	988±146	1 712.0±205	1 038±344	625±191	78±4.6	46±7.5	33±6.1	7.0±1.3
B	2 533±216	1 847±199▲▲	1 783±179▲▲	1 718.2±196	1 019±192	763±200	80±7.0	64±7.2▲▲	53±6.6▲▲	7.3±1.6
C	2 513±263	1 951±201▲▲	1 723±154▲▲	1 727.0±197	1 094±240	834±181▲	78±8.1	65±6.3▲▲	54±4.9▲▲	9.2±1.5▲▲△△

▲：$P<0.05$，▲▲：$P<0.01$，*vs* group A；△△：$P<0.01$，*vs* group B

2.2　心肌能量代谢指标

不同组别卡尼汀均升高组织 ATP 的浓度，差异有统计学意义($P<0.01$)，心肌中糖原含量亦得以保留($P<0.05$)(表 2)。

表 2　各组 ATP 和糖原浓度的比较($n=12$，$\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Concentration of ATP and hepatin in different groups ($n=12$，$\bar{x}\pm s$)

Group	ATP (μmol/g)	Hepatin (mg/g)
A	1.33±0.34	1.54±0.12
B	1.70±0.34△	1.67±0.16
C	1.97±0.44△△	1.71±0.18△

△：$P<0.05$，△△：$P<0.01$，*vs* group A

2.3　心肌酶

复灌 30 min 的冠脉流出液中 LDH 和 CPK 浓度存在明显差异($P<0.01$)。治疗组内部差异无显著统计学意义(表 3)。

表 3　各组 LDH 和 CPK 浓度的比较($n=12$，$\bar{x}\pm s$)

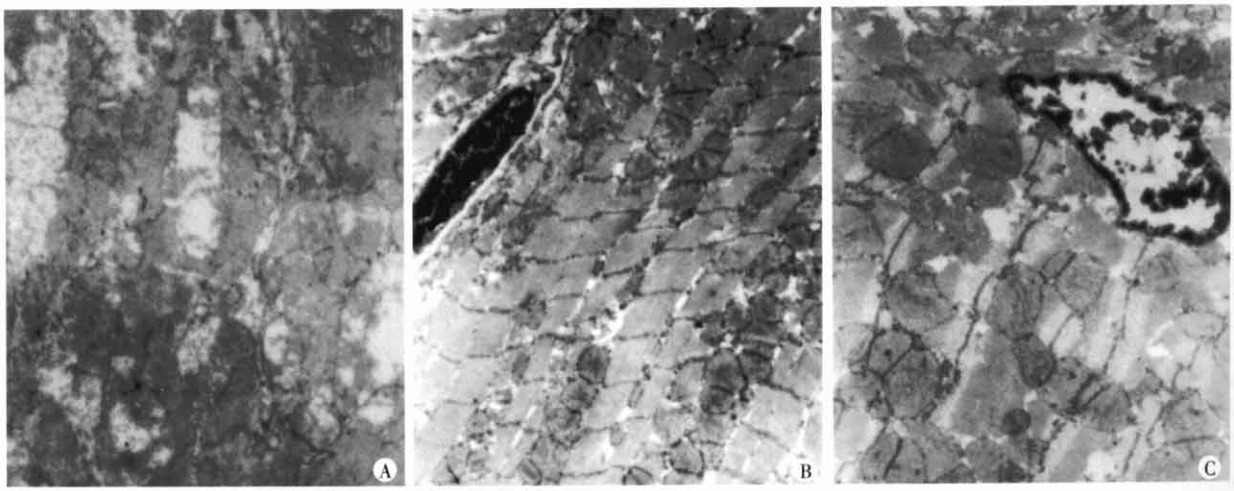
Tab 3　Concentration of LDH and CPK ($n=12$，$\bar{x}\pm s$)

Group	LDH(U/L)	CPK(U/L)
A	26.5±6.3	53.3±6.3
B	19.6±5.7△△	45.8±6.4△△
C	19.5±5.5△△	45.2±7.3△△

△△：$P<0.01$，*vs* group A

2.4　超微结构

3 组心肌组织的超微结构观察见图 1，A 组见肌小节各区带破坏消失，线粒体大小、形态异常，肌丝大面积溶解，胞浆内空泡广泛存在。B 组损害较轻，线粒体和肌浆网无扩张。C 组见肌丝和染色质均可见，肌丝蛋白位置正常。



A: Group A (TEM×6 300); B: Group B (TEM×5 000); C: Group C (TEM×6 300)

图1 3组心肌组织超微结构观察

Fig 1 Ultrastructure of the myocardium of 3 group

3 讨论

左旋卡尼汀本身并不是机体的基本营养素,但是它在脂肪酸及其他营养物质代谢中的作用不可替代。活化的长链脂酰 CoA 不能直接穿过线粒体内膜,此时需要内膜上转运肉碱和脂酰肉碱的载体将 1 分子的脂酰肉碱运进线粒体内膜,1 分子肉碱转运至内膜外。然而卡尼汀对缺血心肌的保护作用已经大大超越了协同脂质转运这一基本生理作用。

本研究主要尝试证实其对能量代谢的影响。实验表明药物治疗后:①心肌 ATP 和糖原含量明显增高,反映心肌损伤的 LDH 和 CPK 减低,表明左旋卡尼汀能改善缺血再灌注心肌的能量代谢,与 Loster 等[5]的报道一致;②心脏功能得以保存:5 mmol/L 组和 10 mmol/L 组复灌 30 min 左心室发展压分别恢复了 80% 和 83%,对照组仅恢复了 59%,除冠脉流量外两治疗组之间心功能指标没有显著统计学差别。可以看到缺血再灌注对心脏收缩和舒张功能都有损伤,而对心功能指标,特别是 $\pm dp/dt_{max}$ 值的分析有理由认为左旋卡尼汀对前者的恢复比后者要强很多。

左旋卡尼汀特别是在高浓度情况下(大于 1 mmol/L)能够明显增强糖在缺血心肌复灌后的有氧氧化。离体心脏研究证实左旋卡尼汀通过降低 acetylCoA/CoA 比值而使丙酮酸脱氢酶的活性明显增强,从而促进了三羧酸循环。因此有人认为在心肌缺血再灌注损伤保护方面左旋卡尼汀促进碳氢化合物的氧化比其促进脂质代谢的作用更大[6]。同样虽然卡尼汀减少长链肉碱的堆积也有利于受损心肌渡过再灌注心律失常的高发期,但是补充卡尼汀使糖有氧氧化增强比降低毒性肉碱浓度也更有利于心肌的保护[7]。成年鼠心肌能量主要来自于脂肪酸的氧化磷酸化,然而不同个体的具体情况比如:底物来源,能量需求的程度,供氧的程度,以及个体的代谢水平等都会影响心肌的能量利用。缺乏卡尼汀会导致脂肪酸向线粒体转运障碍,从而出现 ATP 的缺乏和心功能的损害。所以卡尼汀是脂肪酸代谢的协同因子[8]。Broderick 等[9]用三甲乙酸钠减低体内 25% 的卡尼汀,然后取出心脏进行离体实验,增加左心房压力,未发现有明显心功能的异常,而缺血组的心脏输出量和舒张指数都下降。表明短期内卡尼汀的缺乏对正常心肌影响不大,但是卡尼汀缺乏的心肌对缺血缺氧非常敏感。在此值得指出的是,Tatlian 等[10]认为卡尼汀预处理后的豚鼠心脏抗缺血再灌注损伤的能力得到增强,而本研究组曾尝试用高浓度的左旋卡尼汀缺血前预处理大鼠心肌,不仅心功能没有改善,复灌后室颤的发生率反而增高。这一差别可能与动物和实验条件的不同有关。虽然各种浓度的卡尼汀及其衍生物在缺血心肌的治疗机制和作用方式上存在争议,但是在缺血发生后人为补充卡尼汀有利于心脏的恢复已成共识。

在过去众多临床尝试中,左旋卡尼汀的作用已得到了肯定。Mamoulakis 等[11]的最新研究发现 1 型糖尿病患者体内总的卡尼汀和游离卡尼汀水平降低,并且有迹象表明卡尼汀与 1 型糖尿病的长期并发症呈负相关。因此可以推测给幼儿和青春期糖尿病患者补充卡尼汀有利于纠正代谢紊乱,降低其心脑血管疾病的发生率。左旋卡尼汀对缺血再灌注损伤具有保护作用,

然而其剂量的高低，衍生物和作用时间的不同均可产生不同的效果，其中的机制有待深入研究。

参考文献：

[1] Cui J, Das D K, Bertelli A, *et al*. EEffects of L-carnitine and its derivatives on postischemic cardiac function, ventricular fibrillation and necrotic and apoptotic cardiomyocyte death in isolated rat hearts[J]. Mol Cell Biochem, 2003, 254(1-2): 227 - 234.

[2] 闫 军，王天佑，彭 亮，等. 细胞培养液中微量乳酸脱氢酶的测定法[J]. 生理科学，1989，9(2)：57 - 60.

[3] 严 涛，张 平，段恒春，等. 组织 ATP、ADP、AMP 的荧光素酶系测定[J]. 第三军医大学学报，1987，9(4)：294 - 296.

[4] 方家驹. 生物化学实验教程[M]. 北京：人民卫生出版社，1993. 70 - 73.

[5] Loster H, Keller T, Grommisch 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.

[6] Calvani M, Reda E, Arrigoni Martelli E. Regulation by carnitine of myocardial fatty acid and carbohydrate metabolism under normal and pathological conditions[J]. 2000, 95(2): 75 - 83.

[7] Hwang Y C, Bakr S, Ranmasamy R, *et al*. Relative importance of enhanced glucose uptake versus attenuation of long-chain acyl carnitines in protecting ischemic myocardium[J]. Coron Artery Dis, 2002, 13(6): 313 - 318.

[8] Carvajal K, Moreno Sanchez R. Heart metabolic disturbances in cardiovascular diseases[J]. Arch Med Res, 2003, 34(2): 89 - 99.

[9] Broderick T L, Cifuentes J, Green D, *et al*. Short-term carnitine deficiency does not alter aerobic rat heart function but depresses reperfusion recovery after schemia[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2001, 79(10): 892 - 897.

[10] Tatlian O, Kalaycioglu S, Gokgoz L, *et al*. The dose-dependent effects of L-carnitine in myocardial protection in normothermic ischemia[J]. Cardiovasc Surg, 1998, 6(2): 145 - 148.

[11] Mamoulakis D, Galanakis E, Dionyssopoulou E, *et al*. Carnitine deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes[J]. J Diabetes Complications, 2004, 18(5): 271 - 274.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2005)12-1265-01

个案与短篇

X-连锁无丙种球蛋白血症 1 例

X-linked agammaglobulinemia: a case report and literature review

高 蕾，陈幸华，孔佩艳，张 怡，刘 林，刘 红 （第三军医大学新桥医院血液内科，重庆 400037）

我科于今年收治 1 例 X 连锁无丙种球蛋白血症患者，现报告如下。

1 病例介绍

患者，付某，男性，28 岁，住院号 248490。因“反复发热 3 个月余”入院。患者于 3 个月前受凉后出现发热，呈持续性，每日体温高峰呈上升趋势，最高达 40℃，发热前有明显畏寒、乏力，伴咳嗽，咯少量白色粘液痰，咳嗽剧烈时伴右侧胸痛。院外考虑“肺部感染”，间断予以抗生素（青霉素、头孢曲松）、氟康唑及异烟肼、利福平、乙氨丁醇三联抗痨治疗，体温不能得到有效控制，于 2003 年 9 月 20 日入我院治疗。患者平素体弱，20 年前患“纤维素性心包炎”，15 年前患“化脓性脑膜炎”。父母体健，有 2 个哥哥，均早年夭折，死因不详，4 个姐姐身体健康。追问母亲家系未发现其他患病男性。入院查体：体温 38 ℃，脉搏 96 次/min，呼吸 18 次/min，血压 95/75 mmHg，发育良好，营养中等，无明显贫血貌。全身皮肤未见出血点，右侧颌下、左侧锁骨上可分别触及一肿大淋巴结，直径约 6 cm，质中，触痛。咽部轻度充血，右下肺扪诊呈浊音，呼吸音稍降低，双肺未闻及干湿啰音。心率 96 次/min，律齐，各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音。肝、脾肋下未及。双下肢不肿。入院查血常规：WBC 4.0×10^9/L，L 15%，HGB 135 g/L，PLT 128×10^9/L；肝功：ALT 84 IU/L，AST 73 IU/L，TP 40 g/L，ALB 29 g/L，GLB 11 g/L，A/G 2.64；ASO 33 U/ml；血沉 22 mm/h；抗 HIV、抗 HCV、抗人球蛋白试验、肝炎 9 项、肥达氏反应及结核抗体均阴性；SFP 964 μg/L；PPD 试验阴性；血培养无菌生长；胸部 CT 示：双侧胸腔少量积液并右侧斜裂下部积液，双下肺感染；B 超示：双侧胸腔少量积液，肝脾肿大。颈部淋巴结活检示：淋巴结机构破坏，中央区及边缘区可见广泛性坏死，其中有较多碎片，坏死区增生细胞多见，如：组织细胞、免疫母细胞、转化淋巴细胞。核分裂像易见，很少见浆细胞及中性粒细胞，倾向于组织细胞坏死性淋巴结炎。入院后考虑为坏死性淋巴结炎，予以强的松 30 mg，干扰素 300 μg 治疗，同时予以头孢哌酮＋丁胺卡那霉素抗感染治疗，患者体温逐渐恢复正常，但体温正常 3 d 后，患者再次出现高热，口腔白膜，咽拭子查见霉菌丝，查肝功：ALT 392 IU/L，AST 226 IU/L，TP 29 g/L，ALB 24 g/L，GLB 5 g/L，A/G 4.8，T-Bil 89.26 μmol/L，D-Bil 89.26 μmol/L；免疫球蛋白定量：IgG 1.3 g/L，IgM 0.19 g/L，IgA 0.36 g/L，IgE 30 IU/ml；复查血常规：WBC 1.57×10^9/L，L 20%，HGB 121 g/L，PLT 26×10^9/L；骨髓像提示：骨髓增生减低，考虑粒细胞缺乏症（再

（下转 1268 页）

作者简介：高 蕾（1977 - ），女，新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人，硕士，医师。电话：(023)68774609

通讯作者：孔佩艳，电话：(023)68755609

收稿日期：2004-09-09；修回日期：2005-01-05