DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.03.019

GIK对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤保护作用的研究

曹新来* 刘桥义 (第三军医大学附属新桥医院麻醉科) 重庆, 630037

提 要 目的: 研究葡萄糖-胰岛素-氯化钾 (GIK)对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的影响,为临床体外循环心脏瓣膜替换术应用 GIK提供依据。方法: 42只大鼠随机分为对照组、缺血再灌注组与 GIK防护组,处死动物后迅速取出心,制成离体心脏作功模型,测定心功能指标与心肌电镜检查。结果: 缺血再灌注明显降低心率、左室收缩压、室内压变化速率、冠脉流量、增加左室终末舒张压及乳酸脱氢酶释放量、明显损害心肌超微结构。而 GIK能使以上指标在缺血再灌注后仍保持在对照组水平。结论: GIK可预防缺血再灌注对心肌的损伤作用,并改善离体作功心脏的功能。

关键词 心肌;再灌流损伤;葡萄糖;胰岛素

中图法分类号 R542.2; R654.2

关于心肌缺血再灌注损伤及葡萄糖-胰岛素-氯化钾 (GIK)液治疗的研究,以往多是通过整体动物或人体心脏直视手术进行,这些方法易受神经体液诸多因素干扰。为了排除这些干扰因素的影响,探讨 GIK对心脏作功及超微结构等的直接保护作用,我们采用离体心脏作功模型,进一步探讨 GIK对心肌的保护作用及可能机理,为临床治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 动物及分组处理

Wistar大鼠 42只,体重 (250± 30) g,雌雄不限,随机均分为3组: 对照灌流组、缺血再灌组和 GIK防护组。实验前 1 h在 20%乌拉坦 (0.75% /kg· bw)腹腔麻醉下,分离出股静脉,由此按 5 ml/100 g· bw静输生理盐水或 GIK液,滴速为 0.4 ml/min,其中对照灌流组及缺血再灌组静输生理盐水, GIK防护组静输 GIK液 (葡萄糖 1 g/100 g· bw、胰岛素 2 u/100 g, bw、氯化钾 1 mg/100g, bw)。

1.2 离体大鼠心脏灌注模型

灌流装置由 Neely等[1]装置加以改良而来,已证实其性能稳定可靠[2],见图 1。将输液处理后的大鼠迅速开胸取出心脏,置于富氧的 4℃冷灌流液内停跳,立即完成主动脉插管,先行 Langendorff逆灌,灌注压 5.8kPa(60cm H_2O);完成左房插管,调整左房灌注压 0.98 kPa(10cm H_2O);行作功灌流,在室后负荷为 5.8 kPa(60 cm H_2O)。待顺灌 15 min,心跳稳定后,按分组进行实验: (1)对照灌流组: 富氧灌流 60 min; (2)缺血再灌组: 停灌 (旷置) 40 min,再灌流 20 min(前 10 min为逆灌,后 10 min为顺灌); (3) GIK防护组: 同缺血再灌组、亦停灌 (旷置) 40 min,再灌流 20 min。灌流液均用 Krebs-Henseleit缓冲液 (以 mmol/L单位: NaCl 118.0, KCl 4.7, $CaCl_2$ 2.5, $MgSO_4$ 1.2, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25.0, NaEDTA 0.5, Glu COSE 11.0),该液通以 95% O_2+ 5% CO_2混合气,血气分析指示 PO_2> 80kPa (600mm Hg), PCO_2 5.3kPa(40mm Hg), pH7.4。

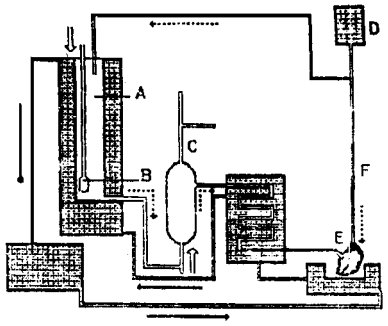


图 1 离体心脏灌流装置

Fig 1 Isolated heart perfusion apparatus

A. Oxygenation pool
B. Bubble-generator
C. Pressure-adjusted tube
D. Adverse-perfusion pool
E. Left-atrium inserted tube
F. Artery inserted tube
←. Water of 37℃
<·. Perfusuate
⇐. 95% O_2; 5% CO_2

1.3 指标检测

1.3.1 离体工作心脏的功能 用改制的 8号注射针头从左室前壁下方插入心室,连接压力传感器,用二导生理记录仪记录左室内压 (LVSP、LVEDP),经微分器微分后记录室内压的变化率,测出正向和负向的最大变化率 (± dp/dt_{max}),二道记录仪的走纸速度为 5mm/s,从记录结果上测出心率 (HR),并记录冠脉流量 (CF)及心输出量 (CO)的变化。

* 曹新来,男, 34岁,主治医生,硕士,现在北京 304医院麻醉科 北京, 100037

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3.2 心肌超微结构观察 实验完毕,立即取 1 mm× 1 mm × 1 mm左室壁肌,用 3%戊二醛及 1%锇酸固定,常规脱水,环氧树脂 618包埋,超薄切片,双铅液染色,H-300型电镜观察。

1.3.3 统计学方法 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,用单因素方差分析(PDA-2)进行统计。

2 结果

2.1 心功能的变化见表 1

表 1 心功能的变化 (n= 14, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Change of cardial function(n= 14, $\bar{x}\pm s$)

	Control	Ischemiaz-reperfusion	GIK
LVSP(kPa)	14.6± 1.11	9.83± 2.86**	16.6± 1.85▲▲
LVEDP(kPa)	2.32± 0.26	3.74± 0.62**	2.4± 0.53▲▲
HR(beat/min)	214.00± 37.00	140.00± 31**	202.00± 38▲▲
+ dp/dt_{max}(kPa/s)	170.00± 32.77	95.43± 35.14**	182.10± 40.49▲▲
- dp/dt_{max}(kPa/s)	107.43± 26.44	45.52± 22.45**	108.10± 35.92▲▲
CF(ml/min)	8.1± 1.4	4.6± 0.9**	7.3± 1.2▲▲
CO(ml/min)	20.7± 3.6	10.5± 2.1**	18.9± 3.2▲▲

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control; ▲: $P<0.05$, ▲▲: $P<0.01$ *vs* ischemia-reperfusion

实验各组在实验开始时,心功能无明显差异对照灌流组在实验期间心功能基本稳定。缺血再灌组大鼠心脏停灌 40 min再灌流 20 min时,LVSP, HR± dp/dt_{max}, CF, CO均明显降低,LVEDP显著升高。而 GIK防护组心功能达到对照灌流组水平,有的指标优于对照灌流组,如 LVSP增高超过对照灌流组($P<0.05$),但心率 HR减慢($P<0.05$),与缺血再灌组比较 LVSP HR± dp/dt_{max} CF CO均明显增加($P<0.01$),LVEDP明显下降($P<0.01$)。

2.2 冠脉流出液中乳酸脱氢酶 LDH活力的变化见表 2

表 2 冠脉流出液中 LDH活力的变化 (IU/100 ml)

Tab 2 The activity of lactatc dehydrogenase (LDH) in coronary leakage (IU/100 ml)

Control	Ischemia-reperfusion	GIK
9.6± 3.1	31.17± 11.37**	10.8± 5.3▲▲

**: $P<0.01$ *vs* control;

▲▲: $P<0.01$ *vs* ischemia-reperfusion

心肌缺血 40 min再灌注 20 min时,缺血再灌组 LDH的释放量上升,与对照灌流组比较增加 2.2倍($P<0.01$),GIK防护组冠脉流出液中 LDH活力接近对照灌流组水平($P<0.01$),说明 GIK能减少再灌注后 LDH的释放量。

2.3 心肌超微结构的变化

对照灌流组肌纤维排列整齐有序,各肌节清晰,闰盘形态正常。线粒体结构正常。

缺血再灌组肌纤维排列紊乱,肌节收缩,I 带消失,Z线增粗;线粒体灶性空化;嵴断裂、数量减少,未见糖原颗粒,见图 2

GIK防护组肌纤维排列尚整齐,部分区域I 带增宽。线粒体结构大致正常。胞浆内糖原颗粒略多于对照灌流组,见图 3, 4

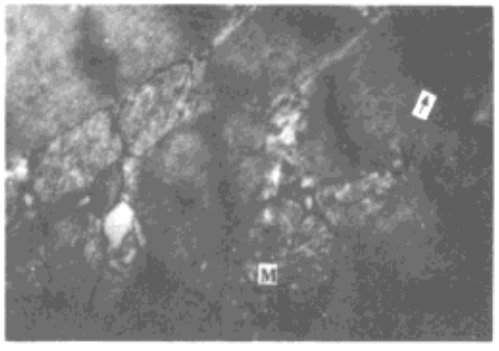


图 2 缺血再灌组心肌纤维排列紊乱,I 带消失,Z线增粗(↑),线粒体(M)灶性空化,嵴断裂、数量减少。糖原颗粒消失(TEM× 15 000)

Fig 2 Cardiomyofibril arranged in a chaotic state, I bands disappeared and Z lines widened. The mitochondria was hollow locally, its creast broken and its number reduced. Glycogen granules disappeared in ischemia-reperfusion group(TEM× 15 000)

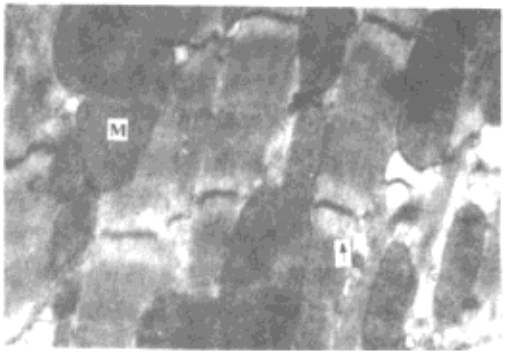


图 3 GIK防护组心肌纤维排列尚整齐,I 带增宽(↑),线粒体(M)大致正常(TEM× 15000)

Fig 3 Cardiomyofibril still arranged in good order, I bands widened. The mitochondria was approximately normal in GIK group(TEM× 15000)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

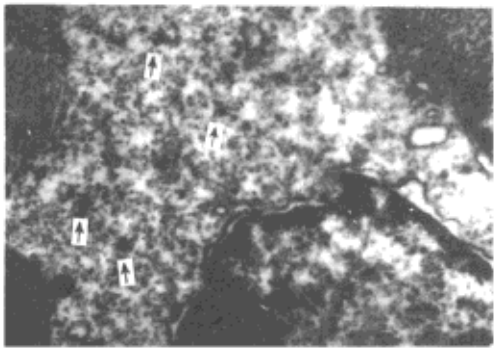


图 4　GIK防护心肌细胞组胞浆内可见一定数量的糖原颗粒(↑),且略多于正常灌流组(TEM× 20000)

Fig 4　A certain amount of glycogen granules in the cytochylema were seen in GIK group, and more than those in control group. (TEM× 20000)

3　讨论

离体灌流工作心脏模型(Isolated perfused working heart)排除了神经-体液因素对心脏活动的影响,获得的结果是实验因素对心肌的直接效应,且能较客观地模拟心脏在生理状况下的工作情况,方法简单,实验操作易于控制,便于大批数据的收集,可同时研究心脏的收缩、顺应性及心泵功能,可研究冠脉灌注状况,心脏氧耗、底物的利用、酶学及其它生化改变,是模拟研究心肌缺血再灌注损伤变化及心肌保护的一个较理想模型。

本实验 GIK防护组 CO、CF明显高于缺血再灌组,显著改善了缺血再灌注所致的心脏低功能状态,这是由于 GIK增强了心肌收缩力与改善心肌顺应性所致,因为实验中 LVSP、± dp/dt$_{max}$明显增加,而 LVEDP明显降低,尽管该组大鼠心脏经历了缺血再灌注,但由于预先给予了葡萄糖、胰岛素与氯化钾,使心肌超微结构得到了保护、酶的释放减少,且心功能恢复完好,接近或达到对照灌流组水平。心肌收缩力的增强是以能量代谢为基础,本实验 GIK增加糖原的储备,糖酵解对缺血再灌注早期心肌的功能和代谢的恢复起着关键作用[3]。据报道在心脏外科手术前,特别是心脏瓣膜替换,预防性 GIK可增强心肌对缺血的耐受性,促使心肌功能较早恢复,提高 CO、CF,降低对强心药的使用率,降低低排率及死亡率[4,5]。本实验结果证明了 GIK能提高离体作功心脏心肌的收缩力和顺应性,为临床应用 GIK进一步提供了依据。

参考文献

1 Neely J R. Effect of press development on oxygen consumption by isolated rat heart. Am J Physiol, 1996; 212(4): 804

2 李　靖,肖家思.小哺乳动物心脏顺应性离体灌流技术.第三军医大学学报, 1990; 12(5): 424

3 Jeremy K W. The functional recovery of post-ischemia myocardium requires glycolysis during early reperfusion. J Mol Cell Cardiol, 1993; 25(3): 261

4 Moulten, A L. Cardiac function with glucose-insulin-potassium solution. Ann Thorac Sury, 1990; 49(6): 1023

5 陈秉学.大剂量胰岛素应用于心脏直视手术的临床探讨.中华麻醉杂志, 1989; 9(1): 34

(收稿: 1996-08-20;修回: 1997-04-11)

(编辑　张大春)

Protective effects of glucose-insulin-potassium on myocardial injury after ischemia/reperfusion in isolated rat heart

Cao Xinlai, Liu Qiaoyi (Department of Anesthesiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630037)

Abstract Objective: To explore the protective effects of glucose-insulin-potassium (GIK) on myocardial damage after ischemia/reperfusion. Methods: After 42 rats were randomized into the control, ischemia/reperfusion and GIK-treated groups, the animals were killed to establish the model of isolated working heart with Langendorff device. Then the parameters of heart function and activity of LDH were determined with biochemical assay and the changes of myocardial ultrastructure observed with electron microscopy. Results: Ischemia/reperfusion induced the obvious decrease in HR, LVSP, (dp/dt max, CF and CO, increased LVEDP and activity of LDH in coronary flow and damaged myocardial ultrastructure. But no significant changes were found in GIK-treatecd group and the control group. Conclusion: GIK can prevent myocardium from injury after ischemia/reperfusion and improve the function of the isolated working heart.

Key words myocardium; ischemia/reperfusion; glucose; insulin; rat

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net