DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.05.007

氨利酮治疗充血性心力衰竭时淋巴细胞内环核苷酸和Ca^{2+}含量的变化与心功能的关系

韩雅玲 祝善俊 （新桥医院 心内科）

王一健 （中心实验室）

提 要 测定了20例难治性充血性心力衰竭患者应用氨利酮治疗前后淋巴细胞内环核苷酸和Ca^{2+}含量，同时用热稀释法测定其心指数。氨利酮治疗后淋巴细胞内cAMP和Ca^{2+}含量较治疗前明显升高且与心指数增加的时程相似，治疗前后cAMP和Ca^{2+}与心指数之间均呈显著正相关。提示氨利酮可能通过增加心肌细胞内cAMP和Ca^{2+}浓度发挥正性肌力作用。淋巴细胞cAMP和Ca^{2+}的测定对估计心衰严重程度及判断药物疗效可能有一定意义。

关键词 国产氨利酮

氨利酮（Amrinone，AMR）是1种新型正性肌力药物。AMR对充血性心力衰竭（Congestive heart failure，CHF），尤其对继续用足量洋地黄无效的难治性CHF具有一定疗效[1]，但其作用机制尚无定论。本文通过测定20例难治性CHF患者应用AMR前后外周血淋巴细胞内环核苷酸（包括cAMP和cGMP）和Ca^{2+}含量及其心指数（Cardiac index，CI）的变化，试图探讨CHF者淋巴细胞内环核苷酸和Ca^{2+}含量的变化、临床意义及AMR正性肌力作用的可能机制。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 正常人：选择年龄、性别与实验病人匹配的健康献血员22例，测定其淋巴细胞内环核苷酸，对其中本市居住15年以上者20例测定了淋巴细胞内Ca^{2+}含量。

1.1.2 实验病人：为洋地黄、利尿剂及扩血管剂治疗无效的住院难治性CHF患者。20例中男7例，女13例，年龄21岁～56岁（平均40岁）。按NYHA分级标准心功能Ⅲ级8例，Ⅳ级12例。其中扩张型心肌病2例，风心病18例。患者血清地戈辛均达到治疗浓度（0.91～1.6ng/ml，平均1.22±0.21ng/ml），两周内未使用钙通道阻滞剂，并基本排除骨折，胃肠疾病等影响钙平衡的因素。

1.2 研究方法

1.2.1 淋巴细胞内环核苷酸测定：何长清法[2]。采外周静脉血5ml～8ml，等量无钙镁Hanks液稀释后用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞。以Hanks液洗涤细胞3次后计数，调整细胞总数后立即加入冷冻的10%三氯醋酸，搅匀后置-15～-20℃冰冻24h，此期内室温反复冻融5次，水饱合乙醚抽提3次，60℃水浴5min～10min除去剩余乙醚，3000rpm离心5min弃沉淀后将上清分装各管（均为复管），真空干燥后用放射免疫法在FJ-2101型双道液闪器上计数，将测得值用直线回归求出Pmol/10^6细胞值。药箱由上海第二医科大学同位素室提供。

1.2.2 淋巴细胞内Ca^{2+}测定：沈路一法[3]。采外周静脉血3ml～4ml，等渗氯化锂溶液稀释后用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞。以等渗氯化锂液洗涤细胞4次，再加该液0.12ml于离心沉淀的淋巴细胞中轻摇使其成为均匀的悬浮液。吸取0.02ml计数，另吸0.1ml置于聚乙烯试管，加等量胃蛋白酶消化液于37℃水溶18h后再加0.4%硝酸至2ml。用美国IL—951型原子吸收分光光度计（火焰法）测定Ca^{2+}吸光度，由微机在标准曲线上求出样本Ca^{2+}浓度（ppm级）。计算公式为：

$$\frac{C\ (\text{测定值mmol/L}) \times V_1\ (\text{测定液体积ml})}{LC\ (\text{淋巴细胞计数/mm}^3 \times 10^{-3}) \times V^2\ (\text{悬浮液体积ml})} = \frac{C}{LC}\ \text{fmol/每淋巴细胞}$$

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

1.2.3 CI测定：从股静脉插入漂浮热稀释导管至肺小动脉分枝，用美国Gould SP-1465型心输出量测定仪，以室温（18℃～22℃）5%葡萄糖水5 ml测定心输出量，连测3次，误差控制在10%以下取均值，除以患者体表面积求出CI。

1.2.4 设计：先于患者用洋地黄期间测定CI及淋巴细胞环核苷酸、Ca^{2+}含量。然后停洋地黄，改服国产AMR（由重庆医药工业研究所合成），剂量4 mg/kg/d，6 h～8 h 1次，疗程15天。疗程结束前重复上述检查。4例留置导管3 h行动态CI及环核苷酸、Ca^{2+}含量测定。结果以$\bar{X}\pm SD$表示。

2 结 果

2.1 正常人与CHF者淋巴细胞内环核苷酸和Ca^{2+}含量的比较及CHF者用AMR前后的自身比较（表1）

表1 正常人与CHF者及CHF者自身cAMO、cGMP、Ca^{2+}含量的比较（$\bar{X}\pm SD$）

	正常人	CHF者	
		洋地黄	AMR
cAMP(pmol/10^6细胞)	2.806±1.132	1.814±0.443**	2.418±0.459ΔΔΔ
cGMP(pmol/10^6细胞)	0.066±0.011	0.066±0.006	0.066±0.009
Ca^{2+}(fmol/每细胞)	1.2164±0.3131	0.9273±0.2103**	1.2046±0.2491ΔΔΔ

**正常人与CHF者比较，$P<0.01$；ΔΔΔCHF者用洋地黄及AMR的自身比较，$P<0.001$

2.2 CHF者淋巴细胞内环核苷酸、Ca^{2+}与CI的关系（表2）

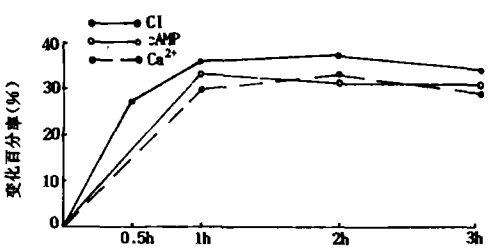
表2 CHF者淋巴细胞内环核苷酸Ca^{2+}与CI的关系

(用洋地黄)	CI	(用AMR)	ΔCI
cAMP	0.9208***	ΔcAMP	0.7685
cGMP	-0.0846	ΔcGMP	-0.1579
Ca^{2+}	0.8771***	ΔCa^{2+}	0.7545

表内数字为相关系数，Δ用AMR后的变化值，***$P<0.001$

患者用AMR后CI从2.13±0.35增加到2.90±0.45L/min/m^2（$P<0.001$）。由表2可见用AMR前后cAMP、Ca^{2+}与CI之间均存在显著正相关关系，cGMP与CI则无明显相关性。

2.3 CI与淋巴细胞内cAMP、Ca^{2+}增加的时程关系（附图）



附图 用AMR后CI及淋巴细胞内cAMP、Ca^{2+}的动态变化曲线

用AMR后1 h CI增加36%，淋巴细胞内cAMP及Ca^{2+}分别增高了33%及30%。用AMR后2 h变化不明显。3 h轻微下降。三者动态变化曲线相似，其r值cAMP与CI为0.9761（$P<0.05$），Ca^{2+}与CI为0.9742（$P<0.05$）。

3 讨 论

近年实验研究表明，淋巴细胞在代谢方面较其他血细胞更为与组织脏器细胞接近[4]，淋巴细胞成份及功能变化一定程度上可以反映心肌细胞的变化[3]，且淋巴细胞较易分离，取材方便，可为从细胞及分子水平研究心肌细胞功能及代谢变化提供较好的细胞模型。已有报导严重CHF者心肌细胞内cAMP储备减

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

少[5]。Thomas[6]于1978年发现严重CHF者淋巴细胞中异丙肾上腺素刺激的cAMP最大生成量低于健康对照者。本文严重CHF者淋巴细胞内cAMP含量较正常人平均减少35%，可能间接反映出患者心肌细胞内cAMP含量是减少的，其机制可能与心衰时长期代偿性血儿茶酚胺水平增高，使心肌β-肾上腺素能受体的密度和调节能力减低以及腺苷酸环化酶活性下降有关。目前认为cAMP能通过使慢钙通道特殊蛋白、肌质网膜受磷蛋白及心肌收缩蛋白发生磷酸化反应，使Ca^{2+}流入心肌细胞内增多，肌质网对Ca^{2+}的摄取和释放加速及收缩蛋白对Ca^{2+}的利用增多，导致心肌收缩力提高[7]。本文CHF者Ca^{2+}含量亦较正常人平均减少24%，cAMP和Ca^{2+}含量的相关系数治疗前为0.8872 ($P<0.001$)，治疗后为0.5361 ($P<0.05$)，间接证明CHF者心肌细胞内cAMP含量下降可能是使Ca^{2+}含量下降的重要原因之一。本文所见CHF者淋巴细胞内cAMP、Ca^{2+}含量与CI间无论AMR治疗前后均有显著正相关关系，提示CHF者心肌细胞内cAMP和Ca^{2+}含量减少可能是心肌收缩力降低的重要分子基础。按AMR治疗前CI降低的程度将患者分为Ⅰ组($CI>2.2L/min/m^2$)及Ⅱ组($CI\leqslant 2.2L/min/m^2$)发现两组间淋巴细胞内cAMP及Ca^{2+}含量均有显著差别（分别为2.099±0.388pmol/10^6细胞；1.528±0.286pmol/10^6细胞，$P<0.01$；1.0316±0.1391fmol/每细胞；0.8231±0.223fmol/每细胞，$P<0.05$），CI降低明显组其cAMP及Ca^{2+}降低亦明显，提示淋巴细胞内cAMP及Ca^{2+}减少的程度可能反映出CHF者心功能损害的严重程度。

目前多数人认为AMR是选择性磷酸二酯酶同功酶Ⅲ（PDEⅢ）的抑制剂[8]。PDFⅢ可使心肌细胞内cAMP裂解成5'-磷酸腺苷而失活，因此抑制PDEⅢ会提高细胞内cAMP含量。Kariya[9]等用AMR处理犬纯化心肌标本，发现AMR对PDEⅢ具有明显抑制作用。本文CHF者用AMR后淋巴细胞内cAMP及Ca^{2+}含量均较前明显增高，cGMP含量未见改变；用AMR前cAMP、Ca^{2+}与CI之间以及用AMR后cAMP、Ca^{2+}增高程度与CI提高幅度之间均呈显著正相关；cAMP及Ca^{2+}与CI的增加具有相似的时程关系，这些与国外动物实验结果相似[8]，提示AMR可能通过抑制心肌细胞内PDEⅢ，增加cAMP和Ca^{2+}浓度，改善心肌细胞钙动力学发挥正性肌力作用。cAMP、Ca^{2+}与CI变化值之间有良好相关性，cAMP及Ca^{2+}增加明显者CI提高亦显著，提示淋巴细胞内cAMP、Ca^{2+}的增加幅度一定程度上可以反映出AMR的疗效。总之，本文认为难治性CHF者应用AMR后可通过与洋地黄不同的作用机制进一步调动衰竭心肌残余储备力，改善其心功能。

（向给予本文指导及支持的药理教研室姚丹帆、新桥医院传染科及麻醉科实验室致谢。）

参考文献

1. Wynne J.et al.Oral amrinone in refractory congestive heart failure. Am J Cardio 1980;45:1245
2. 何长清，等。人外周血淋巴细胞内环核苷酸含量的探讨。中华微生物学和免疫学杂志 1987;7:369
3. 沈路一，等。淋巴细胞内钙、镁、铜、锌含量测定的研究及临床应用。上海医学 1987;10:641
4. Calucci WS, et al. Decreased lymphocyte beta-adrenergic receptor density in patients with heart failure and tolerance to the beta-adrenergic agonist pirbuterol. N Eng J Med 1981;305:185
5. Brauwald E. Newer positive inotropic agents-Concluding comments. Circulation 1986;73(suppl)Ⅱ:237
6. Thomas J A, et al. Plasma norepinephrine in congestive heart failure. Am J Cardio 1978;41:233

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

7. Goenen MJ, et al. Inotropic effect of amrinone and milrinone on contraction and relaxation of isolated cardiol muscle. Circulation 1986;73(suppl Ⅱ):25
8. Endoh M, et al. Positive inotropic effect of amrinone in relation to cyclic nucleotide metabolism in the canine ventricular muscle. J pharmacol Exp Ther 1982;221:775
9. Kariya T, et al. Biochemical studies on the mechanism of cardiotonic activity of MOL 17043. J Cardiovasc pharmocal 1982;4:509

(收稿：1989.11.09；修回：1990.03.08)

The Relationship between the Changes of Intralymphocyte Cycllc Nucleotide, Ca^{2+} and the Cardiac Function in Patients with Congestive Heart Failure Treated by China-Made Amrinone

Han Yaling et al. (Department of Cardiovasology, Second Xiaoqui Hospital, Third Military Medical College)

Intralymphocyte cyclic nucleotide and Ca^{2+} contents were studien in 20 patients with refractory congestive heart failure before and after treatment with China- made amrinone, and cardiac index was measured by thermodilution technique simultaneously. cAMP and Ca^{2+} contents were markedly elevated in a similar time course to that of the increase in cardias indes during treatment of amrinone. Before and after amrinone treatment both cAMP and Ca^{2+} were positively correlative with cardiac index. These results indicated that amrinone wxerts its positive inotropic effect possibly by augmenting cAMP and Ca^{2+} contents in myocardial cells.

Key words: China-Made amrinone

川东地区658名老年干部体检情况

黄玉先　杨宗才　廖泽仪　黄浦蓉　(西南医院　外宾特诊科)

我科于1985年11月至1988年11月为重庆、涪陵及万县地区干部(含离、退休者及工程技术人员)健康体检，现将患病情况分析如下：

1　一般资料与结果

全部受检人员经详细询问病史、临床各科体检、三大常规、血生化、血糖、血脂、肝肾功能试验、HBsAg、AFP、CEA、胸片、肝胆脾肾B超，同位素肾图、心电图、二级梯运动试验、脑血流图，部分人员根据病史作了颈、胸、腰椎照片，胃肠钡餐，胃镜、结肠镜、支气管镜，肺功能，左心功能，心脏B超，心向量，脑诱发电位，CT等。共检查2179名，其中60岁以上658名，占体检数的30%，男性633名，女性25名，其结果最常见的疾病为动脉硬化，488例，占74.16%；慢性支气管炎343例，占52.12%，白内障238例，占36.17%；肺气肿234例，占35%；颈椎骨质增生195例占29.63%，高脂血症186例，占28.26%，冠心病140例，占21.27%；高血压98例占14.89%；腰椎骨质增生92例，占13.92%；前列腺肥大89例，占13.52%，以上疾病均在10%以上，另查出癌肿17例，其中肺癌6例，膀胱癌5例，甲癌2例，结肠癌2例，肝癌2

(下转405页)

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