

脂肪乳预处理和后处理对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用

刘陕岭 王莹 王儒荣 柴云飞 吴畏 黄翰 刘进

【摘要】 目的 观察在心肌缺血/再灌注(I/R)损伤前(预处理)或损伤后(后处理)给予脂肪乳对心脏 I/R 损伤的改善作用,探讨脂肪乳在心脏保护方面的潜在价值。方法 实验采用大鼠 Langendorff 心脏离体灌流模型。将 24 只雄性 SD 大鼠随机分组:空白对照组(ISCH 组)心脏离体平衡 50 min,37 °C 缺血 40 min,复灌 120 min;脂肪乳预处理组(I-preC 组)心脏离体平衡 20 min,给予含 30% 的脂肪乳灌注液输注 15 min,洗脱 15 min,随后 37 °C 缺血 40 min,复灌 120 min;脂肪乳后处理组(I-postC 组)心脏离体平衡 50 min,37 °C 缺血 40 min,复灌 120 min,复灌开始即给予含 30% 的脂肪乳灌注液输注 15 min。于平衡 50 min 和复灌 120 min 期间连续监测左室内压上升和下降最大速率($\pm dp/dt \max$)、左室舒张期末压(LVEDP)、左室舒张压(LVDP)、心率(HR)。平衡 20 min 和复灌 60 min 时接取冠状动脉流出液,测定肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)的活性。复灌结束后计算心肌梗死面积。结果 心脏机械功能指标:与 ISCH 组比较,复灌期间 I-postC 组 $+dp/dt \max$ 、LVDP 显著升高, $-dp/dt \max$ 、LVEDP 显著降低(P 均 < 0.05);而 I-preC 组各指标比较差异无统计学意义。冠状动脉生化指标:复灌 60 min 时 I-preC 组和 I-postC 组 CK 和 LDH 活性均较 ISCH 组显著降低(P 均 < 0.05);I-preC 组与 I-postC 组比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。I-preC 组和 I-postC 组心肌梗死面积较 ISCH 组显著降低[(21.6 ± 1.8)%、(15.9 ± 1.3)% 比 (46.5 ± 3.9)%, P 均 < 0.05];I-preC 组与 I-postC 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 脂肪乳预处理和后处理均能减轻心肌 I/R 损伤后 CK 和 LDH 的释放,缩小心肌梗死面积。脂肪乳后处理能显著增强心肌 I/R 损伤后心脏的机械功能。

【关键词】 脂肪乳; 预处理; 后处理; 缺血/再灌注损伤; 心肌

Protective effect of intralipid on myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart LIU Shan-ling, WANG Ying, WANG Ru-rong, CHAI Yun-fei, WU Wei, HUANG Han, LIU Jin. Laboratory of Anesthesia and Critical Care Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China

【Abstract】 **Objective** To investigate whether intralipid could protect perfused hearts of rats against ischemia/reperfusion (I/R) injury when it was administered before (preconditioning) or after the adverse ischemic event (postconditioning), in order to ascertain if intralipid would be a novel therapeutic strategy for myocardial I/R injury. **Methods** Studies were conducted in Langendorff-perfused isolated rat hearts. Twenty-four male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into 3 groups randomly. The experimental procedure consisted of balance perfusion for 50 minutes, warm global ischemia (37 °C) for 40 minutes and 120 minutes of reperfusion. Preconditioning of hearts in myocardial preconditioning (I-preC group) consisted of 15 minutes of intralipid followed by 15 minutes of wash out before ischemia for 40 minutes and reperfusion for 120 minutes. In myocardial postconditioning (I-postC group) rat hearts were perfused with intralipid for 15 minutes at the onset of reperfusion. Hearts without intralipid treatment served as ischemic control (ISCH) group. Left ventricular mechanical function [heart rate (HR), left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP), left ventricular diastolic pressure (LVDP), maximal change rate of intraventricular pressure rise/down ($\pm dp/dt \max$)] were measured during the experiment, cardiac enzyme activity [creatinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH)] were determined at 20 minutes after balance and 60 minutes after reperfusion. **Results** Comparing with ISCH group, the LVDP and $+dp/dt \max$ in the I-postC group were significantly higher and LVDEP, $-dp/dt \max$ were lower when compared with ISCH groups during reperfusion (all $P < 0.05$). There were no significant differences in above indexes in I-preC group. As compared with the ISCH group, the content of LDH and CK in I-preC and I-postC were significantly lower at 60 minutes after reperfusion (all $P < 0.05$). However, there were no significant differences between the I-preC and I-postC groups with respect to the levels of LDH and CK. The infarct size (IS) of I-preC and I-postC was markedly smaller than that of the ISCH group at 120 minutes of reperfusion [(21.6 ± 1.8)%, (15.9 ± 1.3)% vs. (46.5 ± 3.9)%, both $P < 0.05$]. The IS did not differ between the I-preC and I-postC groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Intralipid administered before or after ischemia can decrease the level of CK, LDH and IS during reperfusion in isolated rat hearts. Intralipid postconditioning improves mechanical function.

【Key words】 intralipid; preconditioning; postconditioning; myocardial ischemia/reperfusion injury

Stadler 等^[1]利用肝脏离体灌流模型发现 10% 的脂肪乳预处理能够减少转氨酶、乳酸脱氢酶 (LDH)、钾、二烯烃和三烯菌素的释放,且其作用呈浓度依赖性,他们的研究表明脂肪乳预处理能够减轻肝脏缺血/再灌注(I/R)损伤。Weinberg 等^[2]研究表明,用 10%、20%、30% 的脂肪乳均能提高布比卡因引起中毒大鼠中毒半数有效量(ED50);复苏时用 30% 的脂肪乳能显著改善心功能。后来他们又发现,20% 的脂肪乳能显著提高犬在布比卡因中毒时的存活率^[3]。Rosenblatt 等^[4]曾用含 20% 的脂肪乳灌注液 100 ml 成功复苏 1 例布比卡因和甲哌卡因中毒引起心搏骤停的患者。这些研究提示我们,脂肪乳似乎有一定的心脏保护作用。因此,我们利用大鼠离体灌流模型,研究 30% 的脂肪乳预处理或后处理对心脏 I/R 期间的影 响,从而探讨其保护作用机制。

1 材料与方 法

1.1 Langendorff 离体心脏灌流模型:雄性 SD 大鼠 24 只(四川省医学科学院实验动物研究所,合格证号:SCXK 川 2004-15),体重 200~300 g。用戊巴比妥(40 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,给 500 U 肝素肝素化。心脏离体后,悬挂于 Langendorff 装置,经主动脉对心脏进行逆行灌注。心脏复跳后,剪开肺动脉,便于肺动脉液体回流。待心脏稳定后,经左心耳剪一小口,插入连接压力传感器的水囊,调节左室舒张期末压(LVEDP)5~7 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa),多通道生理记录仪连续监测 LVEDP、左室舒张压(LVDP)、左室内压上升和下降最大速率($\pm dp/dt \max$)及心率(HR)。

1.2 分组与监测指标:24 只大鼠按照随机数字表法分为 3 组。空白对照组(ISCH):心脏离体后平衡 50 min,37 °C 缺血(I)40 min,复灌(R)120 min。脂肪乳预处理组(I-preC):心脏离体平衡 20 min,用含 30% 的脂肪乳灌注液(30% 的脂肪乳 1 ml 加入 21 ml K-H 液中),以 1 ml/min 速度输入灌注体系 15 min,洗脱 15 min。将心脏 37 °C 下缺血 40 min、复灌 120 min。脂肪乳后处理组(I-postC):心脏离体平衡 50 min,37 °C 下缺血 40 min、复灌 120 min,复灌开始给予含 30% 的脂肪乳灌注液,以 1 ml/min 输入灌注体系,持续灌注 15 min。

作者单位:610041 成都,四川大学华西医院麻醉与危重急救研究室

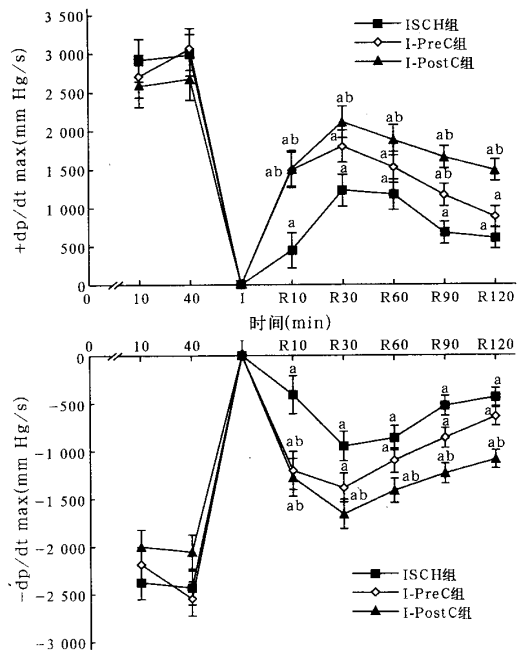
作者简介:刘陕岭(1972-),女(汉族),陕西省人,博士,主治医师,现在青岛大学医学院附属医院麻醉科工作,Email:lsllsxmu@sina.com。

1.3 监测指标及方法:连续监测平衡 50 min 和复灌 120 min 期间大鼠心脏 $\pm dp/dt \max$ 、LVEDP、LVDP 和 HR。平衡 20 min 和复灌 60 min 时接取冠状动脉(冠脉)流出液,测定肌酸激酶(CK)和 LDH 含量。复灌结束将心脏速冻后,行氯化三苯四唑(TTC)染色,心脏切片以体积分数为 4% 的多聚甲醛固定 24 h,扫描仪扫描,用 Image-pro plus 5 图像分析软件计算心肌梗死区域占心脏总面积比例。

1.4 统计学分析:数据以均数士标准差($\bar{x} \pm s$)表示;各组心脏机械功能和酶学之间的比较用重复测量的方差分析,两两比较用 Bonferroni 分析;心脏平衡状态和复灌期间机械功能的比较采用多元方差分析;心肌梗死面积的比较用单因素方差分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

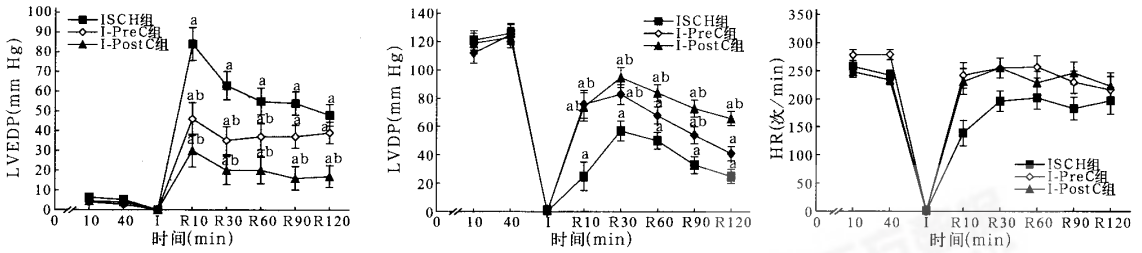
2 结 果

2.1 心脏机械功能(图 1,图 2):平衡状态时 3 组间 $\pm dp/dt \max$ 、LVEDP、LVDP 和 HR 比较差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。与 ISCH 组比较,复灌期间 I-postC 组 $\pm dp/dt \max$ 和 LVDP 均显著升高, $-dp/dt \max$ 和 LVEDP 均显著降低(P 均 < 0.05);I-preC 组 $\pm dp/dt \max$ 、LVEDP、LVDP 则差异均无统计学意义。3 组间 HR 比较差异无统计学意义。



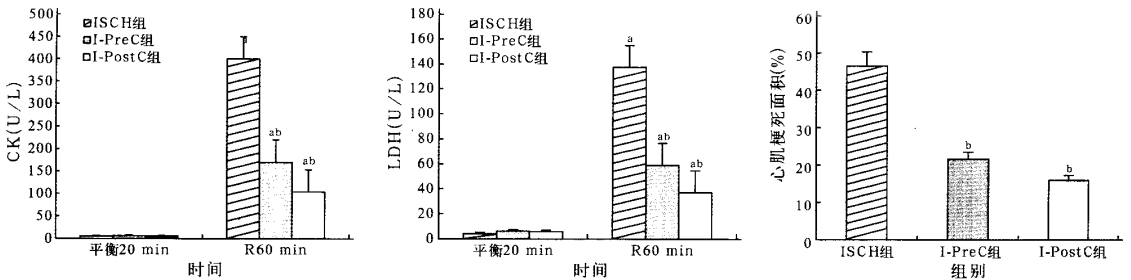
注:与本组平衡 50 min(I)比较,^a $P < 0.05$;与 ISCH 组同期比较,^b $P < 0.05$

图 1 脂肪乳预处理或后处理对心脏 I/R 期间 $\pm dp/dt \max$ 的影响



注:与本组平衡 50 min(I)比较,^a $P < 0.05$;与 ISCH 组同期比较,^b $P < 0.05$

图 2 脂肪乳预处理或后处理对心脏 I/R 期间 LVEDP、LVDP 和 HR 的影响



注:与本组平衡 20 min 比较,^a $P < 0.05$;与 ISCH 组同期比较,^b $P < 0.05$

图 3 脂肪乳预处理或后处理对心脏 I/R 时 CK、LDH 及心肌梗死面积的影响

2.2 冠脉血生化指标(图 3):平衡 20 min 时,3 组 CK 和 LDH 活性比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。复灌 60 min 时,I-preC 组与 I-postC 组 CK 和 LDH 活性较 ISCH 组均显著降低[CK:(103.5 ± 49.7)U/L、(170.1 ± 49.7)U/L 比 (399.7 ± 49.7)U/L, LDH:(37.0 ± 17.5)U/L、(59.1 ± 17.5)U/L 比 (137.5 ± 17.5)U/L, P 均 < 0.05];而 I-preC 组与 I-postC 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 心肌梗死面积(图 3):与 ISCH 组比较,I-preC 组和 I-postC 组的心肌梗死面积显著降低[(21.6 ± 1.8)%、(15.9 ± 1.3)%比 (46.5 ± 3.9)%, P 均 < 0.05];I-preC 组和 I-postC 组间比较差异无统计学意义。

3 讨论

脂肪乳注射液在临床已经应用了近 50 年,可为机体提供能量和必须的脂肪酸。脂肪乳由磷脂包含的三酰甘油组成,并含有卵磷脂、甘油和维生素 E 等成分。黄进宇等^[5]研究发现,大鼠心肌 I/R 时心律失常明显增加,冠脉回流液 LDH 释放增加,心肌组织一氧化氮(NO)水平下降。本研究结果也发现,大鼠心肌 I/R 期间,心脏机械功能显著下降,冠脉流出液中 CK 和 LDH 活性显著增加,表明 37 °C 缺血

40 min,心脏发生了再灌注损伤。本实验中利用大鼠心脏灌流模型研究发现,与 ISCH 组相比,在心脏复灌期间给予 30% 的脂肪乳可显著改善左室机械功能,表现为 LVDP 和 +dp/dt max 显著增加,而 LVEDP 和 -dp/dt max 相应减少。表明脂肪乳后处理可显著增加左室的顺应性,但脂肪乳预处理则并不显著增强左室机械功能,这与 Van de Velde 等^[6]的研究结果类似。脂肪乳预处理和后处理均能减轻复灌 60 min 时 CK 和 LDH 的释放,减小心肌梗死面积;而脂肪乳后处理不仅增强左室机械功能,还显著减少 CK 和 LDH 的释放,表明在复灌期间给予脂肪乳其发挥保护作用更确切,脂肪乳后处理本身更有临床价值。因为更多的心脏 I/R 损伤需要我们提供治疗的措施。

Van de Velde 等^[6]研究发现,结扎犬冠脉前降支,复灌期间给予 20% 的脂肪乳,犬的心脏收缩功能恢复较快,表明复灌期间给予脂肪乳可增强顿抑心脏的功能恢复。后来他们利用兔的离体心脏模型发现,20% 的脂肪乳仅在后处理时能增强心脏的机械功能,但脂肪乳预处理并不增强心脏的机械功能^[7]。他们的实验仅缺血 15 min 造成心肌顿抑,并没有造成心肌梗死,且也没有检测相应酶的活性。本研究中采用大鼠缺血 40 min 复灌 120 min 造成心

肌 I/R 损伤模型,显示脂肪乳后处理不仅增强心肌顿抑(短期缺血复灌期间)左室机械功能,而且显著增强心脏 I/R 损伤复灌期间的左室顺应性,增加左室机械作功。

从动物实验到个案报道,多数文章报道了脂肪乳能逆转局麻药布比卡因中毒引起的心搏骤停^[2-4]。Rosenblatt 等^[4]研究认为患者复苏成功的原因可能与脂肪乳降低了布比卡因的离解程度有关。我们认为脂肪乳在心搏骤停中的复苏作用除了上述原因之外,可能与脂肪乳后处理减轻心脏再灌注损伤也有关系,而且整体给予脂肪乳不仅可减轻心脏再灌注损伤,而且可减轻其他重要脏器的再灌注损伤。正如众多研究,虽然认为心脏 I/R 损伤与自由基生成、钙超载有关,但机制不明^[8]。我们尚不清楚脂肪乳发挥保护作用的机制。

综上所述,本研究表明给予含 30% 的脂肪乳灌注液对离体大鼠心脏 I/R 损伤有一定的保护作用,这提示脂肪乳对治疗心脏 I/R 损伤可能具有潜在的临床应用价值。但脂肪乳起保护作用的主要成分和作用机制如何,脂肪乳的最佳使用剂量和时效关系,以及其他物种是否也存在着这种保护作用等,有待进一步研究。

参考文献

[1] Stadler M, Nuyens V, Boogaerts J G, et al. Intralipid minimizes hepatocytes injury after anoxia-reoxygenation in an ex vivo rat liver model[J]. Nutrition, 2007, 23(1): 53-61.

[2] Weinberg G L, VadeBoncouer T, Ramaraju G A, et al. Pretreatment or resuscitation with a lipid infusion shifts the dose-response to bupivacaine-induced asystole in rats [J]. Anesthesiology, 1998, 88(4): 1071-1075.

[3] Weinberg G, Ripper R, Feinstein D L, et al. Lipid emulsion infusion rescues dogs from bupivacaine-induced cardiac toxicity[J]. Reg Anesth Pain Med, 2003, 28(3): 198-202.

[4] Rosenblatt M A, Abel M, Fischer G W, et al. Successful use of a 20% lipid emulsion to resuscitate a patient after a presumed bupivacaine-related cardiac arrest [J]. Anesthesiology, 2006, 105(1): 217-218.

[5] 黄进宇, 何炳荣, 颜志中, 等. 培唑普利对大鼠心肌再灌注损伤的保护作用[J]. 中国危重病急救医学, 1999, 11(7): 413-415.

[6] Van de Velde M, Wouters P F, Rolf N, et al. Long-chain triglycerides improve recovery from myocardial stunning in conscious dogs[J]. Cardiovasc Res, 1996, 32(6): 1008-1015.

[7] Van de Velde M, DeWolff M, Leather H A, et al. Effects of lipids on the functional and metabolic recovery from global myocardial stunning in isolated rabbit hearts [J]. Cardiovasc Res, 2000, 48(1): 129-137.

[8] 沈炳玲, 秦毅, 颜利求. 锌对家兔心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 9(9): 560-562.

(收稿日期: 2007-09-24)

(本文编辑: 李银平)

• 启事 •

2008 年急诊高级技能与模拟实训学习班

上海交通大学医学院附属新华医院将于 2008 年 6 月 16—19 日在上海市举办国家级继续教育项目“急诊高级技能与模拟实训”学习班, 授予 I 类学分 13 分。学习班以“实用技术与最新进展相结合”为宗旨, 邀请本领域的专家对各种急救实用技术和新进展进行授课, 主要内容包括: 2005 年版心肺复苏指南讲解及模拟实训, 急诊创伤规范化处置, MODS 研究现状及进展, 机械通气与危重病, 急诊胸痛、腹痛的诊疗策略, 医疗风险的规避与纠纷处理, 急性中毒, 技能实训等。

报名方法: 将姓名、性别、单位、职务、地址、邮编、电话、传真、Email、地址寄至上海市控江路 1665 号新华医院潘曙明医生收; 邮编: 200092。电话: 021-65790000 转 6002; 手机: 叶云洁 13641609663 或于洋 13761879849。学习班每人学费及资料费共 800 元, 住宿费每日 100 元, 伙食费自理。也可以通过 Email 报名: lazylady_yyj@hotmail.com 或 yangyu.robin@gmail.com。

(上海新华医院)

2008 年全国大内科新进展学习班将举办

2008 年全国大内科新进展学习班由中华医学会主办, 拟于 2008 年 5 月下旬在北京举办, 共 6 d, 培训费 980 元, 食宿统一安排, 费用自理。学习期满授予学员国家级 I 类继续教育学分 10 分[项目编号: 2008-03-10-117(国)]。

1 内容: 代谢综合征; 短暂性脑缺血发作; 肺动脉血栓栓塞症; 风湿性疾病; 高血压; 呼吸衰竭; 急性冠脉综合征; 急性缺血性脑卒中; 抗感染药物; 抗栓和溶栓; 类风湿关节炎; 脑出血; 如何选用调脂药; 糖尿病急性并发症; 糖尿病口服降糖药; 糖尿病胰岛素治疗; 心房颤动; 心律失常; 心血管病常用药物等。

2 主讲人: 刘又宁、萧建中、马欣、程显声、王鸿懿等教授。

3 报名办法: 请将详细的通讯地址填写清楚后寄到: 北京市东城区东四西大街 42 号, 中华医学会网络信息部, 丛凤娟、包文婕收, 邮编: 100710; 信封请注明: “大内科班”。电话: 010-85158694(08:30—17:00), 手机: 13811356867, 传真: 010-85158693, Email: congjf@cma.org.cn 或 cmaowlb@163.com。可电话报名索取正式通知。

(中华医学会信息网络部)