

丙酮酸钠潜在的临床应用价值

袁凤琴 朱永平 刘晋萍

丙酮酸是生物体系中重要的有机小分子,在三大物质代谢中起重要的枢纽作用。丙酮酸钠是最常见的丙酮酸盐,别名焦葡萄糖酸钠、丙酮酸钠盐,分子式为 $C_3H_3NaO_3$,是一类内源性小分子化合物,其应用领域主要包括用作医药原料及食品添加剂;测定乳酸脱氢酶(LDH)的底物及肝功能试验中丙氨酸转氨酶活性;用作健身和减肥膳食的补充剂等。同时,丙酮酸钠在临床上的作用日益突显。有研究显示,丙酮酸钠在急性胰腺炎、失血性休克等急危重症的救治中具有广阔应用前景^[1-2]。与传统输液产品相比,丙酮酸钠溶液有其独特的优势:它不仅“治标”,还针对性地“提高细胞缺氧耐受性和增强氧化代谢”,相当程度上抑制和逆转原发病的发展,起到“治本”的作用。近年来,国内外科学工作者就丙酮酸钠的作用及其机制开展了大量的研究工作,现就其研究进展综述如下。

1 主要药理作用及其机制

1.1 传统大输液的特点

1.1.1 0.9%氯化钠(NaCl)溶液:0.9%NaCl是临床应用最广泛的基础输液,是最常用的生理盐水,其渗透压与人体血液近似,钠的含量也与血浆相近,但氯的含量却明显高于血浆内氯的含量,单一过量使用易导致高氯性酸中毒,加剧酸碱平衡的紊乱。故NaCl溶液并不完全适用于危重急救,如休克、大出血、严重创伤等和大手术病例大剂量输注的治疗。

1.1.2 5%葡萄糖溶液:5%葡萄糖溶液与生理盐水均为临床广泛应用的基础输液,主要用于机体补水和补充能量。在应激状态(创伤、脓毒症等)下,机体通过多种机制引起血糖增加,导致细胞内糖代谢紊乱,细胞缺氧,因此限制了葡萄糖溶液在急危重症的应用。

1.1.3 林格液:林格液是在生理盐水基础上加入氯化钾和氯化钙,以调节体液、电解质及酸碱平衡。在林格液基础上再加入乳酸钠,则成为乳酸林格液,后者是手术室常用的治疗性液体,适用于酸中毒或有酸中毒倾向的脱水病例。但若乳酸林格液使用不当,也会加剧缺氧时的细胞内酸中毒。

1.2 丙酮酸钠与传统大输液的比较:从上述可以看出,现有的传统输液在重症病例的常规应用中受限或有其副作用,甚至是毒性反应。与传统输液相比,丙酮酸钠溶液作为潜在大输液的优势有如下特点。

1.2.1 强有力的抗氧化和抗炎剂:活性氧自由基是人体的代

谢产物,是人体疾病、衰老、死亡的直接参与者,可造成生物膜系统损伤以及细胞内氧化磷酸化障碍,危害人体健康。丙酮酸根是体内天然的强抗氧化/抗亚硝基化剂,直接和过氧化氢(H_2O_2)、过氧亚硝基($ONOO^-$)等活性氧自由基结合反应,在非酶条件下快速进行氧化脱羧反应生成 H_2O 和 CO_2 ,从而成为体内氧化剂的“清道夫”。同时,通过清除活性氧自由基抑制炎症介质如核转录因子 κB (NF- κB)的激活,在转录水平直接抑制炎症发生,从而起到抗炎作用。

研究表明,丙酮酸钠对 H_2O_2 诱导的细胞毒性提供完全的保护作用,并加强对 H_2O_2 的清除作用。Shostak等^[3]的研究结果显示,丙酮酸钠能保护培养基中大鼠腹膜间皮细胞的氧化损伤,从而证实丙酮酸钠是一种有效的抗氧化剂。Wang等^[4]通过建立大脑中动脉闭塞(MCAO)模型,证明丙酮酸钠能显著减少脑梗死面积、中性粒细胞浸润和小胶质细胞激活,能有效抑制MCAO及脂多糖(LPS)介导的炎症中NF- κB 的活性,降低NF- κB 与DNA的结合能力及减少NF- κB 调控的基因基质金属蛋白酶9(MMP-9)的表达,从而证实了丙酮酸钠的抗炎作用。

1.2.2 优越的碱剂:酸中毒能引起一系列并发症,对机体造成严重损害。其中,乳酸性酸中毒(即高乳酸血症)是临床上危重病例常见的综合征。丙酮酸钠本身具备低缓冲系数,同时在有氧条件下因其增强丙酮酸脱氢酶活性,促进三羧酸循环的回补反应而明显增强氧化代谢,加速氧化乳酸和酮体,从而缓解高乳酸血症;在无氧条件下,丙酮酸的糖元异生过程较乳酸的过程要多消耗一个 $[H^+]$,并且在无氧的LDH还原反应中也要消耗细胞内的 $[H^+]$,提高pH,从而有效纠正细胞内酸中毒。

Mongan等^[5]通过实验证明,丙酮酸钠能预防代谢性酸中毒并稳定乳酸/丙酮酸比值,这为其作为一种新型的高级缓冲剂,纠正临床上尚无有效碱剂药物的重症代谢性酸中毒,如乳酸性酸中毒和糖尿病酮症酸中毒提供了可能。

1.2.3 有效改善能量代谢障碍:无论是创伤、脓毒症还是高糖/糖尿病都可导致细胞内糖代谢紊乱和细胞缺氧。缺氧和高糖使糖代谢支路异常,导致体内两大主要氧化还原势能还原型/氧化型辅酶I(NAD⁺/NADH)和还原型/氧化型谷胱甘肽(GSH/GSSG)比例降低,细胞解毒功能下降。在细胞的能量代谢发生障碍时,外源性丙酮酸根能增强细胞缺氧诱导因子-1(HIF-1)的活性,后者又能促进LDH的作用,从而提升NAD⁺/NADH比例,也直接提高了糖酵解关键酶(己糖激酶、6-磷酸果糖激酶1)和糖代谢支路相关酶活性,因此,能够刺激和维持在无氧状态下的糖酵解代谢,维持细胞赖以生存的基本功能,为机体提供基本的能量需求。此外,外源性丙酮酸

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.05.019

基金项目:国家自然科学基金(81100178)

作者单位:310058 杭州,浙江大学医学院毒理研究室(袁凤琴、朱永平);100037 北京,中国医学科学院阜外心血管病医院体外循环科(刘晋萍)

通信作者:刘晋萍,Email:jinpingsw@hotmail.com

根也支持产还原型辅酶 II (NADPH) 的代谢通路(磷酸戊糖支路), 增加 GSH/GSSG 比例, 直接/间接地增强了细胞在缺氧条件下的氧化/还原势能, 维持其解毒功能。

Hegde 等^[6]的研究结果显示, 丙酮酸钠能有效改善活性氧自由基诱导的糖酵解障碍, 并维持 NAD⁺/NADH 正常比例。Phillis 等^[7]的实验证明, 丙酮酸钠的应用可抑制缺血时血糖的减少, 保持无氧糖酵解来产生少量的 ATP, 从而改善机体能量代谢状况, 减轻组织损伤。

1.2.4 显著的细胞、器官保护作用:近 10 余年的体内外动物实验证明, 丙酮酸钠通过作为可替代的能量物质、兴奋氧化还原清除系统、与活性氧自由基直接反应抗氧化等起到对神经细胞的保护作用。

Jagtap 等^[8]用人类神经母细胞瘤作为细胞模型来探究丙酮酸钠(浓度范围为 0.125 ~ 1.000 mmol/L)对 H₂O₂ 介导的细胞凋亡的保护作用。结果显示, 所有剂量的丙酮酸钠均对细胞凋亡有保护作用, 且此作用表现出剂量依赖性。Sharma 等^[9]通过比较丙酮酸钠与葡萄糖对大鼠星形胶质细胞缺血性损伤的疗效, 发现丙酮酸钠能显著改善细胞氧化还原状态, 防止细胞质液泡化, 维持细胞膜完整性, 从而有效改善细胞缺血性损伤。

大量临床前模型及少量的临床试验证实丙酮酸钠治疗能明显改善器官功能障碍和/或生存状态。Mongan 等^[10]在休克初期给予丙酮酸钠, 发现其能改善机体氧化还原状态, 抑制干细胞的凋亡, 改善脑的代谢和功能; 同时还可改善猪左心室的收缩状态, 推迟心血管系统衰竭的发生, 延长猪的存活时间。Slovin 等^[11]证明丙酮酸钠较 NaCl 能明显延长失血性休克大鼠的存活时间, 提高大鼠的存活率。郝志强等^[12]证明丙酮酸钠较等能量的多聚葡萄糖营养液能明显减轻大鼠小肠缺血/再灌注损伤。Moro 等^[13]证明丙酮酸钠治疗能改善大鼠脑外伤引起的认知障碍。

丙酮酸钠在体内的代谢速度很快, 既可以持续用药, 又可以局部灌注用药和吸入用药。临床研究发现, 经冠状动脉输注 30 mmol/L 丙酮酸钠溶液(速度 90 ~ 360 ml/h), 能够改善和维持充血性心力衰竭(心衰)患者的心脏功能^[14]; 在心脏停搏液中加入 10 mmol/L 丙酮酸钠, 能促进患者术后心脏功能的恢复^[15]; 吸入 0.5 mmol/L 丙酮酸钠(每日 3 次, 持续 6 周以上), 能改善慢性阻塞性肺疾病患者的呼吸状态^[16]; 丙酮酸钠治疗能显著降低 Leigh 综合征患者乳酸、丙酮酸、丙氨酸水平, 并且无不良反应, 为临床治疗线粒体疾病提供新思路^[17]。丙酮酸钠亦可改善感觉运动功能和神经功能缺损^[4]; 改善 1 型糖尿病患者的临床状态^[18]; 改善酒精性肝炎患者的生活状态^[19]等。

丙酮酸钠溶液相对于传统输液, 不仅是容量扩张剂, 还是一种治疗剂, 在常规输液剂量下有显著的器官功能保护作用, 这为其作为一种新型输液提供了可能。

1.3 丙酮酸钠与丙酮酸乙酯的比较:丙酮酸乙酯是丙酮酸亲脂性的酯化物, 研究证实其具有抗炎、抗损伤、细胞保护等多种生物学效应, 在改善脓毒症、缺血/再灌注损伤等方面明显

优于乳酸钠林格液^[20-22]。

为了使大剂量丙酮酸能进入体内达到治疗目的, 近年来的研发方向主要集中在丙酮酸乙酯。然而, 与丙酮酸钠相比, 丙酮酸乙酯仍有不少缺点: 需要与钙离子结合才能有效溶解和稳定, 且不能制成高浓度的高渗溶液; 酯类在水溶液中不能电离成丙酮酸根, 而只能经酯酶或非酶途径自发水解成丙酮酸根, 因其不是缓冲剂, 又经体内水解后产生等量的 [H⁺]。对休克动物的体内实验表明, 虽然可改善休克状态, 但酯类本身不能纠正酸中毒, 也不能构成缓冲液用于制备透析液等^[23]。

研究证明, 在治疗失血性休克时, 小容量高渗丙酮酸钠溶液比大容量丙酮酸乙酯林格液更有效^[24]。因此, 丙酮酸乙酯无法完全取代丙酮酸钠溶液应用于临床。

2 可能存在的问题

2.1 安全性和有效性问题:丙酮酸在体内具有广泛的代谢途径, 人体负荷试验证明其在体内能被迅速代谢, 不易在体内蓄积。近数 10 年来, 大量研究证明丙酮酸钠具有显著的多细胞和多器官功能保护作用, 并且无毒副作用。含丙酮酸钠的水溶液与乳酸盐相比具有更好的生物相容性, 动物体内实验已证实丙酮酸钠溶液可以消除或减轻葡萄糖与乳酸的细胞毒性作用, 并未见毒性反应^[25]。Ryou 等^[26]在幼猪体外循环术中证实, 丙酮酸钠安全剂量范围较大, 丙酮酸根本身无明显毒副作用, 仅全身用药时应注意监测体内钠负荷的增加和避免高浓度(高渗)溶液的静脉快速注射。

20 世纪 70 年代美国海军血液研究所开发了一种内含丙酮酸钠的红细胞复壮液(商品名: Rejuvesol), 它有显著的恢复库存血红细胞功能的作用, 是先进国家深低温血液长期保存的必要制剂。Rejuvesol 的成功开发有力地证明丙酮酸钠的临床应用有实际效果和可能性。

2.2 稳定性问题:丙酮酸钠水溶液在常温下是不稳定的, 因为酮基在常温下会经非酶催化反应自发进行羟醛缩合聚合反应, 产生二聚体(2-羟基-2-甲基-4-酮戊二酸)及其他聚合衍生物。2-羟基-2-甲基-4-酮戊二酸是线粒体三羧酸循环的酶类和 LDH 的抑制剂, 会影响三羧酸循环的进行。因此, 静脉制剂的丙酮酸钠至今未能直接应用于临床, 而常温下的丙酮酸钠溶液稳定性将是其输液产品开发的重点。

为提供丙酮酸钠大规模生产和在常温下长期保存的可能, 专利《丙酮酸钠冻干粉针剂、注射剂和固体剂型及其生产工艺》指出, 由丙酮酸和碳酸钠反应生成丙酮酸钠, 反应温度为 20 ~ 90 °C, 时间为 60 ~ 70 min, 真空过滤, 结晶用乙酸乙酯和乙醇洗涤 3 ~ 5 次, 真空干燥, 获得纯度大于 99% 的产品, 并将其制成冻干粉针剂、注射剂和固体剂。以上剂型稳定性好, 2 ~ 30 °C 可保存 2 ~ 3 年。

专利《含稳定的丙酮酸钠的水溶液及其制法和用途》指出, 用稀盐酸调节浓度为 10 ~ 1000 mmol/L 的丙酮酸钠水溶液的 pH, 在无菌和 25 °C 条件下放置 6 个月, 经高效液相(HPLC)法测定, 溶液稳定, 丙酮酸钠浓度大于 98%, 未能测得可见的二聚体。

3 结 语

丙酮酸钠生产工艺成熟,成本低廉,具有显著的细胞保护、器官保护作用。与传统输液产品相比,丙酮酸钠溶液在危重症的救治中,不仅可作为容量扩张剂,又可作为治疗剂,在常规输液剂量下起到显著的器官功能保护作用,这使其在临床应用中具有广阔前景。

但目前对于丙酮酸钠的研究尚处于动物实验和体外实验阶段,如何进一步阐明其药理作用、作用机制,解决其稳定性问题,使其成为继生理盐水和乳酸钠林格液之后真正的第三代晶体溶液,将是丙酮酸钠临床应用研究的重要课题,也是急救医学的重要进展,有深刻的医学价值和社会意义。

参考文献

- [1] Ziolkowski W, Wierzbica TH, Kaczor JJ, et al. Intravenous sodium pyruvate protects against cerulein-induced acute pancreatitis. *Pancreas*, 2008, 37: 238-239.
- [2] Slovin PN, Huang CJ, Cade JR, et al. Sodium pyruvate is better than sodium chloride as a resuscitation solution in a rodent model of profound hemorrhagic shock. *Resuscitation*, 2001, 50: 109-115.
- [3] Shostak A, Gotloib L, Kushnier R, et al. Protective effect of pyruvate upon cultured mesothelial cells exposed to 2 mM hydrogen peroxide. *Nephron*, 2000, 84: 362-366.
- [4] Wang Q, van Hoecke M, Tang XN, et al. Pyruvate protects against experimental stroke via an anti-inflammatory mechanism. *Neurobiol Dis*, 2009, 36: 223-231.
- [5] Mongan PD, Fontana JL, Chen R, et al. Intravenous pyruvate prolongs survival during hemorrhagic shock in swine. *Am J Physiol*, 1999, 277: H2253-2263.
- [6] Hegde KR, Kovtun S, Varma SD. Inhibition of glycolysis in the retina by oxidative stress: prevention by pyruvate. *Mol Cell Biochem*, 2010, 343: 101-105.
- [7] Phillis JW, Ren J, O'Regan MH. Studies on the effects of lactate transport inhibition, pyruvate, glucose and glutamine on amino acid, lactate and glucose release from the ischemic rat cerebral cortex. *J Neurochem*, 2001, 76: 247-257.
- [8] Jagtap JC, Chandele A, Chopde BA, et al. Sodium pyruvate protects against H₂O₂ mediated apoptosis in human neuroblastoma cell line-SK-N-MC. *J Chem Neuroanat*, 2003, 26: 109-118.
- [9] Sharma P, Karian J, Sharma S, et al. Pyruvate ameliorates post ischemic injury of rat astrocytes and protects them against PARP mediated cell death. *Brain Res*, 2003, 992: 104-113.
- [10] Mongan PD, Capacchione J, West S, et al. Pyruvate improves redox status and decreases indicators of hepatic apoptosis during hemorrhagic shock in swine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 283: H1634-1644.
- [11] Slovin PN, Huang CJ, Cade JR, et al. Sodium pyruvate is better than sodium chloride as a resuscitation solution in a rodent model of profound hemorrhagic shock. *Resuscitation*, 2001, 50: 109-115.
- [12] 郝志强, 王为忠, 李孟彬, 等. 丙酮酸对大鼠移植小肠缺血再灌注损伤的保护作用. *世界华人消化杂志*, 2005, 13: 265-267.
- [13] Moro N, Ghavim SS, Hovda DA, et al. Delayed sodium pyruvate treatment improves working memory following experimental traumatic brain injury. *Neurosci Lett*, 2011, 491: 158-162.
- [14] Hermann HP, Arp J, Pieske B, et al. Improved systolic and diastolic myocardial function with intracoronary pyruvate in patients with congestive heart failure. *Eur J Heart Fail*, 2004, 6: 213-218.
- [15] Olivencia-Yurvati AH, Blair JL, Baig M, et al. Pyruvate-enhanced cardioprotection during surgery with cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2003, 17: 715-720.
- [16] Votto JJ, Bowen JB, Barton RW, et al. Inhaled sodium pyruvate improved FEV1 and decreased expired breath levels of nitric oxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, 2008, 21: 329-334.
- [17] Koga Y, Povalko N, Katayama K, et al. Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1 α gene. *Brain Dev*, 2012, 34: 87-91.
- [18] Petkova I, Hristov V, Petrov K, et al. Oral application of sodium pyruvate in healthy persons and patients with diabetes mellitus type I. *C R Acad Bulg Sci*, 2007, 60: 579-584.
- [19] Petkova I, Mateva L, Beniozef D, et al. Sodium pyruvate infusions in patients with alcoholic liver disease: preliminary report. *Acta Physiol Pharmacol Bulg*, 2000, 25: 103-108.
- [20] 徐欣晖, 陈琦, 陈怡, 等. 丙酮酸乙酯对肾缺血/再灌注损伤小鼠炎症因子及丝裂素活化蛋白激酶表达的影响. *中国危重病急救医学*, 2010, 22: 750-753.
- [21] 寇秋野, 管向东. 丙酮酸乙酯对脓毒性休克犬氧代谢及组织灌注指标的影响. *中国危重病急救医学*, 2008, 20: 34-36.
- [22] 李锟, 吴承堂. 丙酮酸乙酯抗脓毒症作用的研究进展. *中国危重病急救医学*, 2005, 17: 254-255.
- [23] 周方强. 含稳定的丙酮酸钠的水溶液及其制法和用途: 中国, 200610117237. 2008-04-23.
- [24] Sharma P, Mongan PD. Hypertonic sodium pyruvate solution is more effective than Ringer's ethyl pyruvate in the treatment of hemorrhagic shock. *Shock*, 2010, 33: 532-540.
- [25] Fink MP. Ethyl pyruvate: a novel treatment for sepsis. *Curr Drug Targets*, 2007, 8: 515-518.
- [26] Ryou MG, Flaherty DC, Hoxha B, et al. Pyruvate-enriched cardioplegia suppresses cardiopulmonary bypass-induced myocardial inflammation. *Ann Thorac Surg*, 2010, 90: 1529-1535.

(收稿日期: 2012-10-09)

(本文编辑: 李银平)

· 科研新闻速递 ·

肠系膜淋巴管结扎保护烧伤后心功能障碍的细胞基础

严重烧伤后 4~24 h 会发生心肌收缩障碍, 而实验表明烧伤前结扎肠系膜淋巴管可防止心肌功能障碍, 但其机制尚不清楚。为此, 美国研究人员进行了研究以探讨其机制。实验分为假烫组、假烫加肠系膜淋巴管结扎组、烫伤组、烫伤加肠系膜淋巴管结扎组。假烫或烫伤后 4 h、24 h 分离大鼠左心室肌细胞。使用电生理学技术记录肌细胞大小、收缩性、L 型钙离子通道电流, 并检测能反映烧伤后 L 型钙离子通道电流水平的 L 型钙离子通道 $\alpha 1C$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 、 $\alpha 2\delta 1$ 等亚基的 mRNA 含量。与假烫组、假烫加肠系膜淋巴管结扎组、烫伤加肠系膜淋巴管结扎组相比, 烫伤组大鼠伤后 4 h、24 h 心肌收缩力下降了约 20%, 24 h 时大鼠 L 型钙离子通道电流水平下降了 30%; 而各组肌细胞大小、钙离子通道 mRNA 含量比较差异均无统计学意义。结果表明, 细胞重塑对烧伤后收缩障碍作用不大; L 型钙离子通道电流变化在烧伤后心肌收缩抑制中发挥了重要作用。

杜明华, 胡森, 编译自《J Surg Res》, 2013-02-22(电子版)