

# 腺苷 A1 受体激动剂 2-氯化腺苷抑制异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥厚的作用及机制

李凤昌<sup>1,2</sup>, 杨育红<sup>1</sup>, 王洪新<sup>1</sup>, 张晶<sup>1</sup>, 宋莹<sup>1</sup>, 李洪秀<sup>2</sup>

(1. 辽宁医学院药理学教研室, 辽宁省锦州市 121000; 2. 辽宁省盘锦市第二人民医院, 辽宁省盘锦市 124000)

[关键词] 腺苷 A1 受体; 2-氯化腺苷; 异丙肾上腺素; 心肌肥厚; 能量代谢; 线粒体膜电位

[摘要] **目的** 通过观察腺苷 A1 受体激动剂 2-氯化腺苷(2-CADO)对异丙肾上腺素所致大鼠心肌肥厚的抑制作用及能量代谢的改变,探讨腺苷 A1 受体激动剂对肥厚心肌能量代谢的调节作用及其可能的作用机制。**方法** 大剂量异丙肾上腺素皮下注射建立大鼠心肌肥厚模型。SD 大鼠 40 只,雌雄不限,分为空白对照组、肥厚模型组、2-CADO 组[2-氯化腺苷 0.6 mg/(kg·d)腹腔注射]、普萘洛尔组[28 mg/(kg·d)普萘洛尔灌胃],每组 10 只。造模完毕第 2 天给药,连续 8 周。检测大鼠全心质量指数(HMI)、左心质量指数(LVMI);取左心室组织进行 Masson 染色,观察细胞横径(TDM)改变;碱水解法进行羟脯氨酸(Hyp)含量测定;紫外分光光度法检测心肌组织乳酸(LA)和游离脂肪酸(FFA)含量;激光共聚焦显微镜定量检测线粒体膜电位(MMP)。**结果** 与空白对照组相比,肥厚模型组 HMI、LVMI 显著上升,心肌组织形态发生肥厚样改变;Hyp、LA 和 FFA 含量显著升高,MMP 下降了 44%。与肥厚模型组相比,2-CADO 组 HMI、LVMI 下降,TDM 明显降低,Hyp、LA 和 FFA 含量显著降低,MMP 上升了 50%。**结论** 2-CADO 可以抑制异丙肾上腺素导致的心肌肥厚,其机制可能与改善肥厚心肌的能量代谢有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effect and Mechanism of Adenosine A1 Receptor Agonist—2-Chlorinated Adenosine Inhibiting Isoproterenol-Induced Myocardial Hypertrophy in Rats

LI Feng-Chang<sup>1,2</sup>, YANG Yu-Hong<sup>1</sup>, WANG Hong-Xin<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>1</sup>, SONG Ying<sup>1</sup>, and LI Hong-Xiu<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Cell Biology and Drug Research, Liaoning Medical College, Jinzhou, Liaoning 121000, China; 2. The Second Hospital in Panjin City of Liaoning Province, Panjin, Liaoning 124000, China)

[KEY WORDS] Adenosine A1 Receptor; 2-Chlorinated Adenosine; Isoproterenol; Myocardial Hypertrophy; Energy Metabolism; Mitochondrial Membrane Potential

[ABSTRACT] **Aim** To explore the roles of regulating energy metabolism and mechanism of adenosine A1 receptor agonist inhibiting myocardial hypertrophy by means of 2-chlorinated adenosine (2-CADO) on isoproterenol induced myocardial hypertrophy in rats. **Methods** High-dose isoproterenol subcutaneous injection to rats were used to establish myocardial hypertrophy model. Forty Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups with ten rats for each group: control group, isoproterenol induced myocardial hypertrophy group, isoproterenol induced myocardial hypertrophy + 2-CADO (6 mg/(kg·d), intraperitoneal injection) group, isoproterenol induced myocardial hypertrophy + propranolol (28 mg/(kg·d), per os) group. Rats began to medicate at the second day after myocardial hypertrophy model establishment for 8 weeks. The whole heart quality index (HMI) and left heart quality index (LVMI) were detected. Left ventricular tissue was taken to observe the changes of TDM by Masson staining. Hydroxyproline (Hyp) content was determined by alkaline hydrolysis. Myocardial tissue lactate (LA) and free fatty acid (FFA) content were detected by UV spectrophotometry. Mitochondrial membrane potential (MMP) was detected by laser scanning confocal microscope. **Results** Compared with control group, in myocardial hypertrophy group HMI and LVMI were higher, the contents of Hyp, LA and FFA from left myocardial tissue were significantly increased and MMP decreased by 44%. Compared with myocardial hy-

[收稿日期] 2011-11-11

[基金项目] 辽宁省教育厅团队项目(2009T064);辽宁省科技厅科技计划项目(2009225010-40)

[作者简介] 李凤昌,硕士研究生,研究方向为心血管药理。杨育红,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向为心血管药理, E-mail 为 jzwangpeixun@163.com。王洪新,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向为心血管药理。

peretro phy group, in myocardial hypertrophy + 2-CADO group and myocardial hypertrophy + propranolol group HMI, LVMI and the contents of Hyp, LA and FFA reduced, MMP increased by 50%. **Conclusions** Adenosine receptor agonist 2-CADO can inhibit myocardial hypertrophy induced by isoproterenol, the mechanism may be related to improving cardiac energy metabolism and preserving MMP.

腺苷是体内重要的内源性活性物质, 目前已知共有 4 种腺苷受体, 即 A1、A2a、A2b 和 A3 受体, 均为 G 蛋白耦联受体。其中 A1 受体主要分布于心肌, 且占有重要地位<sup>[1]</sup>。当某些原因导致内源性腺苷长期分泌不足, A1 受体产生的生理作用下降, 可引发一些心肌病, 异丙肾上腺素诱导的心肌细胞肥大就与此有关<sup>[2]</sup>。补充外源性 A1 受体激动剂, 是一个很好的治疗途径。目前 A1 受体激动剂有两种: 2-氯环戊腺苷 (CCPA) 和 2-氯化腺苷 (2-CADO), 其中 2-CADO 拮抗血管紧张素 II、内皮素 1 和异丙肾上腺素等所致的体外培养乳鼠心肌细胞肥大<sup>[3]</sup>。另有报道激活 A1 受体可以抑制缺氧状态下培养的乳鼠心肌细胞线粒体 PTP 通道的开放<sup>[4]</sup>。目前已经清楚, 心肌肥厚及心衰与细胞能量代谢障碍有直接关系<sup>[5,6]</sup>, 且能量代谢障碍可导致线粒体 PTP 通道的开放。因此推测激活 A1 受体产生抑制心肌肥厚的作用, 可能与其改善心肌能量代谢的作用有关。本研究利用异丙肾上腺素制备大鼠心肌肥厚模型, 评价 2-CADO 对大鼠心肌肥厚的抑制效果, 探讨其改善心肌能量代谢的可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物

Spargue-Dawley (SD) 大鼠, 雌雄不限, 2 月龄, 体重 220 ~ 250 g, 由辽宁医学院动物实验中心提供, 动物合格证号为 SCXK (辽) 20030007。

### 1.2 药品、试剂和仪器

2-CADO (上海翰鸿化工科技有限公司, 纯度大于 98%), 考马斯亮蓝、心肌组织羟脯氨酸 (Hyp)、乳酸 (LA)、游离脂肪酸 (FFA) 含量检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所), JC-1 荧光探针线粒体膜电位检测试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司), 其它试剂均为国产分析纯。Carl Zeiss 生物显微镜 (德国), TGL-16G 低温高速离心机 (日本日立公司), SP-722E 分光光度计 (上海光谱仪器有限公司), 改良的 Langendorff 心脏灌流装置 (国产), Dakocytomation 全自动免疫组化染色仪 (美国), 激光共聚焦显微镜 (德国)。

### 1.3 动物模型制备及分组

采用大剂量皮下注射异丙肾上腺素法。每日上午皮下注射异丙肾上腺素, 先以 20、10 和 5 mg/(kg·d) 剂量递减 3 天, 再以 3 mg/(kg·d) 连续 7 天, 造模完毕。SD 大鼠 40 只, 随机分为四组, 每组 10 只: 空白对照组、肥厚模型组、2-CADO 组 [0.6 mg/(kg·d) 腹腔注射]、普奈洛尔组 [28 mg/(kg·d) 灌胃]。空白对照组、肥厚模型组均腹腔注射相应剂量的生理盐水。造模完毕第 2 天给药, 连续 8 周, 麻醉后进行指标检测。

### 1.4 全心质量指数和左心室质量指数测定

大鼠称重后, 腹腔注射肝素 600 U 及 10% 水合氯醛 0.3 mL/100 g, 麻醉后固定, 开胸取心, 置于 4℃、95% O<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub> 饱和的 KB 液中漂洗, 再用 Langendorff 装置进行逆向灌流充分清洗后, 取全心于冰浴培养皿中, 迅速剔除非心肌组织, 吸干多余水分, 称重, 再剪去右心室游离壁, 取左心室及室间隔称重, 全心质量指数 (heart mass index, HMI) = 全心质量 (mg)/体质量 (g)、左心室质量指数 (left ventricular mass index, LVMI) = 左心室质量 (mg)/体质量 (g), 以此反映心肌肥厚的程度。取左心室组织块一部分用多聚甲醛保存备用, 一部分 -80℃ 冰箱保存备用。

### 1.5 左心室心肌细胞横径测量

将多聚甲醛中保存的组织块取出, 进行横向截取心尖部位 (包括室间隔) 约 0.5 cm, 置 10% 中性甲醛缓冲液中固定, 24 h 后行石蜡包埋、切片 (5 μm)、Masson 染色后置显微镜下观察。采用 Takemori 等<sup>[7]</sup>方法测量心肌细胞横径 (TDM), 单盲法在每张切片选取 10 个细胞, 每组 3 张切片, 每组合计测量 30 个细胞 TDM, 计算平均值。

### 1.6 左心室组织 Hyp 含量测定

碱水解法测定 Hyp 含量。心功能检测完毕后, 开胸取出心脏, 取心尖组织 60 ~ 100 mg, 剪碎, 加水解液 1 mL, 混匀。放带盖的玻璃磨口试管中, 95℃ 或沸水浴水解 20 min。按照说明依次加入试剂, 3500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 先做出标准曲线, 再加样。在 550 nm 处测定 Hyp 含量, 具体操作参照试剂盒说明书。

### 1.7 左心室组织 LA、FFA 含量测定

紫外分光光度法测定 LA、FFA 含量。截取左心室心肌约 0.2 g, 立即置于  $-80^{\circ}\text{C}$  中保存。制备 20% 组织匀浆, 3500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 测定 LA、FFA 含量, 具体操作参照试剂盒说明书。称取约 0.1 g 左心室组织, 加入适量生理盐水制备成 2% 组织匀浆, 测定样品中总蛋白含量, 具体操作参照考马斯亮兰试剂盒说明书。

### 1.8 激光共聚焦显微镜观察 JC-1 荧光探针染色后线粒体膜电位的改变

每组随机取 2 只大鼠进行线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 测定, 由于采用酶法急性分离技术制备活体心肌细胞, 故被测大鼠不能进行其它指标测量。

酶法急性分离技术制备活体心肌细胞: 将大鼠腹腔注射肝素 600 U 及 10% 水合氯醛 0.3 mL/100g, 麻醉后, 快速开胸取出心脏, 置于  $4^{\circ}\text{C}$  的台氏液中, 之后通过与主动脉根部的连结将体外大鼠心脏悬挂于 Langendorff 灌流装置上, 以台氏液 8 mL/min 连续灌流 5 min, 洗去心脏残血, 然后用无钙台氏液灌流 10 min 至心脏停搏后, 用含 0.3 g/L 胶原酶 II 的无钙台氏液灌流分离大鼠单个心室肌细胞, 当心脏变软、色泽变浅时, 开始剪取心肌组织。将取下的心室肌组织置于装有细胞保存液的试管中, 用吸管轻轻吹打, 使之分散成单个细胞, 弃除大块组织, 置于  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱, 待免疫荧光染色用。所有液体均用 95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$  饱和, 温度保持在  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。

JC-1 荧光探针染色: 取 10 ~ 60 万细胞, 重悬于 0.5 mL 细胞培养液中, 加入 0.5 mL JC-1 染色工作液, 颠倒数次混匀。细胞培养箱中  $37^{\circ}\text{C}$  孵育 20 min。在孵育期间, 按照每 1 mL JC-1 染色缓冲液加入 4 mL 蒸馏水的比例, 配制适量的 JC-1 染色缓冲液, 并放置于冰浴。 $37^{\circ}\text{C}$  孵育结束后,  $4^{\circ}\text{C}$  离心 3 ~ 4 min, 沉淀细胞。弃上清, 注意尽量不要吸除细胞。加入 1 mL JC-1 染色缓冲液重悬细胞,  $4^{\circ}\text{C}$  离心 3 ~ 4 min, 沉淀细胞, 弃上清; 再加入 1 mL JC-1 染色缓冲液重悬细胞,  $4^{\circ}\text{C}$  离心 3 ~ 4 min, 沉淀细胞, 弃上清。再用适量 JC-1 染色缓冲液重悬后, 涂于防脱处理过的载玻片上, 自然干燥。置激光共聚焦显微镜下观察。采用单盲法在每组随机取 30 个细胞进行荧光强度检测, 计算平均值。

激光共聚焦显微镜观察 MMP 的改变: JC-1 单体的最大激发波长为 514 nm, 最大发射波长为 529 nm; JC-1 聚合物的最大激发波长为 585 nm, 最大发

射波长为 590 nm。实际观察时, 使用常规的观察红色荧光和绿色荧光的设置即可。细胞内线粒体内膜与 JC-1 结合后, 在激光扫描共聚焦显微镜下可观察到, 在 3 个通道内分别呈现绿色荧光、红色荧光及红绿荧光重叠图像, 用红色荧光与绿色荧光的比值来表示 MMP, 比值越高则 MMP 越高。应用 Fluo-view version 4.3 软件采集并分析图像, 在保证各通道电压、激光强度、增益、补偿、针孔大小、放大倍数及扫描速度等条件一致的前提下, 读取荧光强度, 进行统计分析。

### 1.9 统计学方法

所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用单因素方差分析, 方差齐采用 LSD 进行多重比较, 方差不齐采用 Dunnett's T3 法进行多重比较。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HMI 和 LVMI 的变化

与空白对照组比较, 肥厚模型组 HMI 和 LVMI 显著增加, 表明肥厚模型组大鼠心脏整体形态发生改变, 已经出现显著左心室肥厚。2-CADO 组 HMI 和 LVMI 明显低于肥厚模型组, 说明 2-CADO 对心脏肥厚具有抑制作用 (表 1)。

表 1. 2-CADO 对心肌肥厚大鼠 HMI 和 LVMI 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1. Effect of 2-CADO on HMI and LVMI in myocardial hypertrophy rats

分 组	HMI (mg/g)	LVMI (mg/g)
空白对照组	2.37 ± 0.19	1.76 ± 0.18
肥厚模型组	3.56 ± 0.23 <sup>a</sup>	2.87 ± 0.22 <sup>a</sup>
2-CADO 组	2.91 ± 0.31 <sup>b</sup>	2.35 ± 0.17 <sup>b</sup>
普奈洛尔组	2.67 ± 0.26 <sup>b</sup>	1.94 ± 0.21 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与肥厚模型组比较。

### 2.2 左心室 TDM 的改变

与空白对照组比较, 肥厚模型组单个心肌细胞增粗, 横截面平均增大 32%, 说明肥厚模型组心肌细胞发生显著的改变, 细胞明显肥大。与肥厚模型比较, 2-CADO 组单个细胞变细, 横截面平均减小 15%, 说明 2-CADO 组心肌组织比肥厚模型组细胞肥大程度显著减小, 与普奈洛尔组比较无明显差异 (图 1 和表 2)。

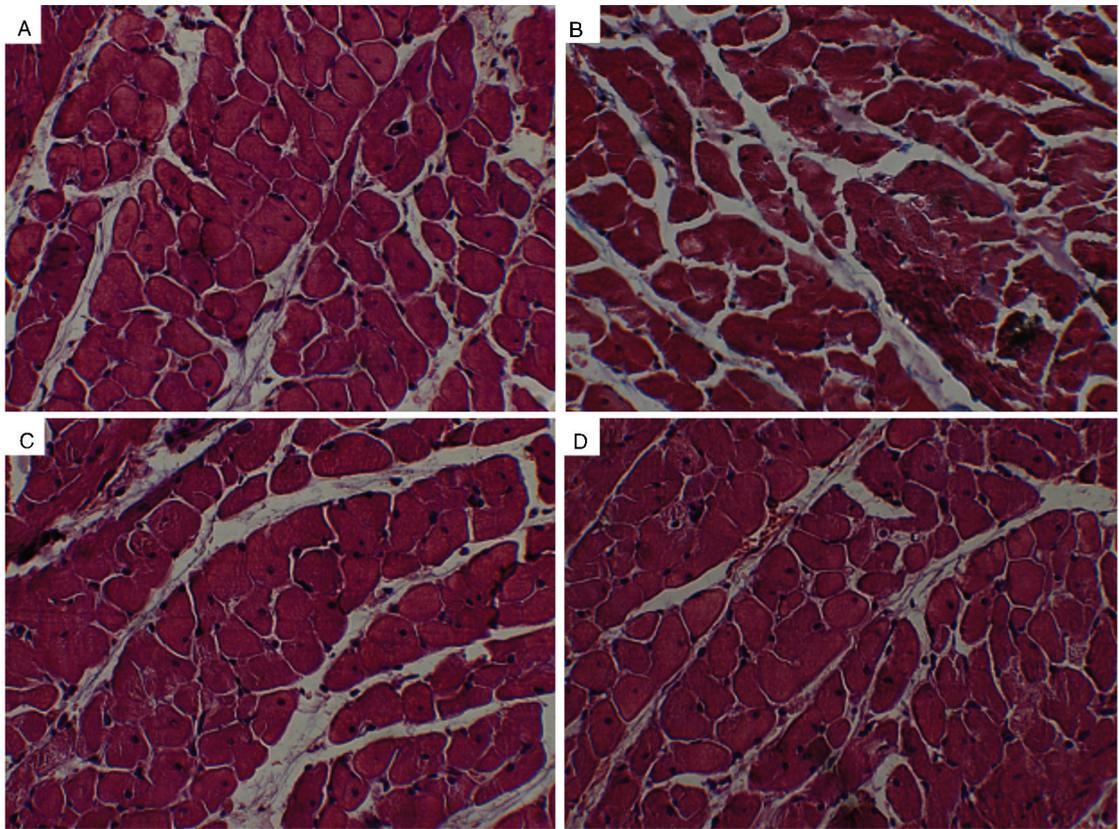


图 1. 左心室组织 Masson 染色 ( $\times 20$ ) A 为空白对照组, B 为肥厚模型组, C 为 2-CADO 组, D 为普奈洛尔组。

Figure 1. Left ventricular tissue with Masson staining

表 2. 2-CADO 对心肌肥厚大鼠 TDM 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 30$ )

Table 2. Effect of 2-CADO on TDM in myocardial hypertrophy rats

分 组	TDM ( $\mu\text{m}$ )	TDM 变幅
空白对照组	$27.32 \pm 1.93$	-
肥厚模型组	$36.17 \pm 2.34^a$	32% <sup>a</sup>
2-CADO 组	$30.46 \pm 2.82^b$	-15% <sup>b</sup>
普奈洛尔组	$31.24 \pm 2.65^b$	-14% <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与肥厚模型组比较。

### 2.3 左心室组织 Hpy、LA 及 FFA 含量

肥厚模型组细胞间隙明显增加, 胶原增生显著, 而空白对照组、2-CADO 组及普奈洛尔组则无此改变 (图 1)。与空白对照组相比, 肥厚模型组 Hpy、LA 及 FFA 含量显著升高。表明肥厚模型组心肌组织胶原增生明显, FFA 堆积; 且细胞已经利用葡萄糖进行无氧酵解, 其产物 LA 发生堆积。与肥厚模型组相比, 2-CADO 组心肌组织 Hpy 含量显著下降, LA、FFA 含量明显降低, 说明 2-CADO 组无明显胶原增生, 2-CADO 具有促进 FFA 氧化, 抑制葡萄糖酵解的作用 (表 3)。

表 3. 2-CADO 对心肌肥厚大鼠左心室组织 Hpy、LA 及 FFA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 3. Effect of 2-CADO on contents of Hpy, LA and FFA of left ventricular in myocardial hypertrophy rats

分 组	Hpy ( $\mu\text{g/g}$ )	LA (mmol/g)	FFA ( $\mu\text{mol/g}$ )
空白对照组	$0.410 \pm 0.039$	$0.390 \pm 0.036$	$195.87 \pm 24.71$
肥厚模型组	$0.630 \pm 0.028^a$	$0.480 \pm 0.084^a$	$254.26 \pm 25.11^a$
2-CADO 组	$0.520 \pm 0.019^b$	$0.400 \pm 0.013^b$	$205.44 \pm 27.89^b$
普奈洛尔组	$0.480 \pm 0.021^b$	$0.460 \pm 0.015^b$	$244.16 \pm 40.90^b$

a 为  $P < 0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与肥厚模型组比较。

### 2.4 2-CADO 对肥大心肌细胞 MMP 的影响

激光共聚焦显微镜下, 空白对照组心肌细胞绿色荧光较暗, 红绿荧光重叠图像呈红色, 说明 MMP 较高。肥厚模型组心肌细胞绿色荧光亮度较亮, 红绿荧光重叠图像呈黄色, 说明 MMP 显著下降, 与空白对照组比较 MMP 下降了 44%。2-CADO 组心肌细胞绿色荧光亮度较暗, 红绿荧光重叠图像呈橙红色, 与肥厚模型组相比 MMP 升高了 50%。普奈洛尔组心肌细胞绿色荧光亮度较亮, 红绿荧光重叠图像呈橙红色, 与肥厚模型组相比 MMP 升高了 63% (图 2 和表 4)。

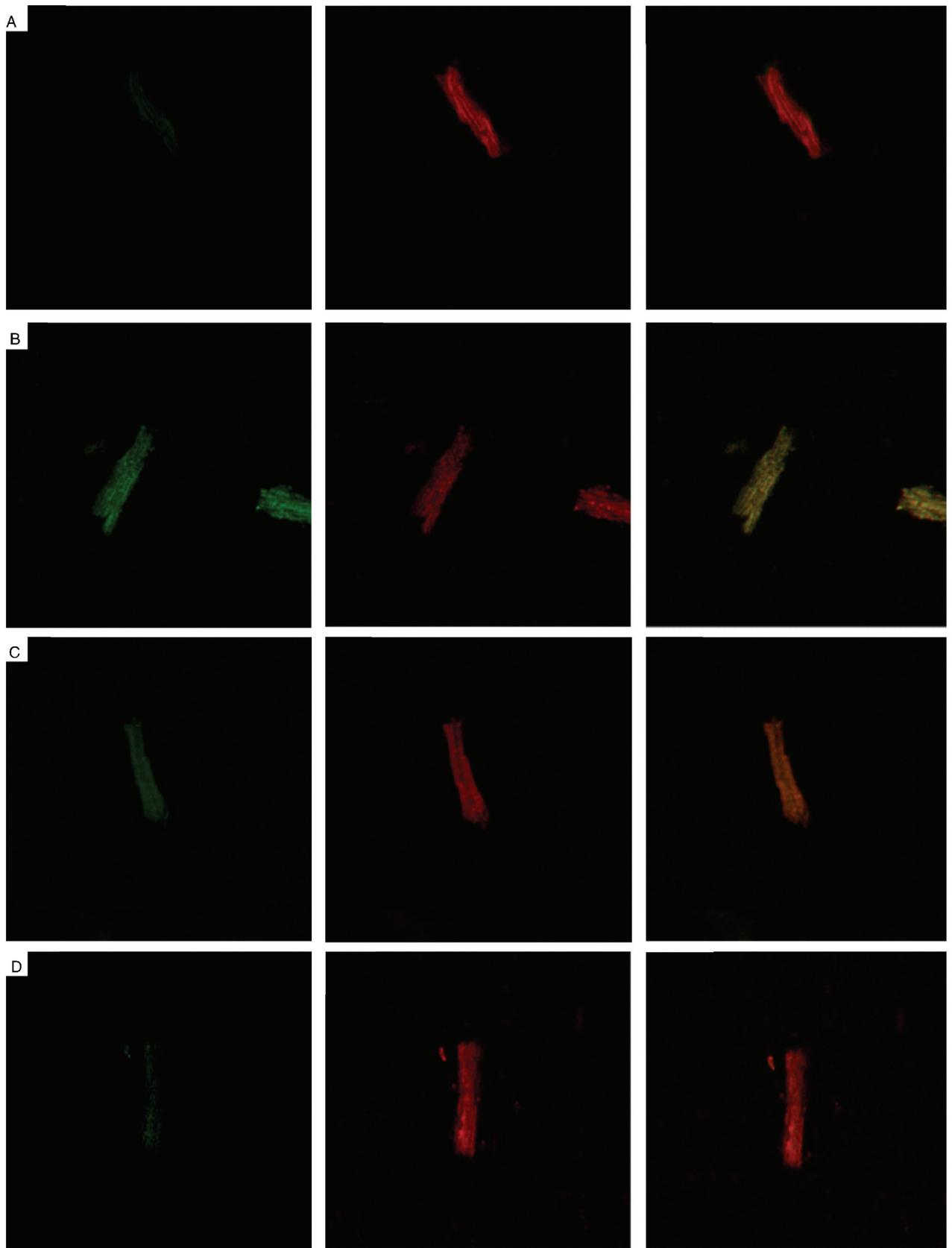


图2. 激光共聚焦显微镜观察2-CADO对大鼠心肌细胞MMP的影响 A为空白对照组,B为肥厚模型组,C为2-CADO组,D为普奈洛尔组。绿色荧光为JC-1单体发出的荧光;红色荧光为JC-1聚合体发出的荧光;黄色或橙红色荧光为JC-1单体和JC-1聚合体荧光的重叠。

Figure 2. The fluorescent image of the effect of 2-CADO on myocardial cells MMP in myocardial hypertrophy rats by laser confocal microscope

表 4. 2-CADO 对大鼠心肌细胞 MMP 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 30$ )

Table 4. Effect of 2-CADO on MMP of myocardial cells in myocardial hypertrophy rats

分 组	MMP	MMP 变幅
空白对照组	3.478 ± 0.552	
肥厚模型组	1.936 ± 0.281 <sup>a</sup>	-44% <sup>a</sup>
2-CADO 组	2.912 ± 0.375 <sup>b</sup>	50% <sup>b</sup>
普奈洛尔组	3.173 ± 0.253 <sup>b</sup>	63% <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与空白对照组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与肥厚模型组比较。

### 3 讨 论

心肌肥厚是心脏为适应各种刺激而产生的心肌细胞体积增大,重量增加。其病理变化包括心肌细胞肥大、心肌间质细胞增殖以及心脏细胞外基质改建等多方面的改变。虽然早期心肌肥厚有利于维持正常的心功能,但由于心肌肥厚本身也可增加心肌耗氧量,降低心肌顺应性,故长时间会导致心力衰竭,增加猝死发生率。正常心脏的供能 60% ~ 90% 来自脂肪酸的氧化,剩余部分由葡萄糖和乳酸供给。蛋白质不参与心肌的能量供给,但是胶原蛋白是构成心肌细胞间质的成分之一,胶原蛋白总量的显著增加一般被认为是心肌细胞间质构成发生改变,胶原出现了异常增生。

本研究结果发现,大剂量给予异丙肾上腺素后,大鼠 HMI、LVMI 显著上升;光镜下肥厚心肌组织的 Masson 染色切片可看到心肌细胞横径增加;明显的胶原蛋白(蓝色)增生,这在正常心肌组织切片中是看不到的。Hyp 占胶原中总氨基酸的 13.4%, Hyp 含量的显著升高代表了胶原蛋白总量的显著升高,即心肌细胞间质的增生。这些指标的升高表明大鼠心脏整体形态发生肥厚样改变,单个心肌细胞体积已经明显增大,细胞间质也发生了明显变化。通过 2-CADO 治疗,能够明显抑制大鼠心脏形态的肥厚样改变、心肌细胞肥大及细胞间质的改变。

线粒体是细胞能量产生和供应的主要场所,它是一个膜结构的细胞器,其功能依赖于内膜化学电势的维持,而这个化学电势由线粒体膜电位和 pH 梯度构成,MMP 是主要构成成分<sup>[8]</sup>,它前者贡献度远大于后者,因此,MMP 也被单独用来衡量线粒体的产能状态<sup>[9]</sup>。在一些因素作用下,如缺血、缺氧、中间代谢产物堆积及毒性作用以及线粒体本身的基因异常等原因,均可引起 MMP 异常改变。线粒体膜通透性转运孔(PTP)是一种通道复合体,它的

实质是一种  $\text{Ca}^{2+}$  释放途径。正常状态下 PTP 是关闭的,此时 MMP 处于正常值,当某些因素引起线粒体内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度过高时,可以改变 PTP 的状态。PTP 孔道变为半开放状态时,分子量  $< 300$  Da 的物质自由进出线粒体,引起 MMP 下降,线粒体内的细胞色素 C 会进入胞浆,启动细胞凋亡程序<sup>[10,11]</sup>。而 PTP 的全开放状态将导致分子量  $< 5000$  Da 的物质自由进出,线粒体内  $\text{Ca}^{2+}$  全部释放入胞浆,MMP 消失,并导致细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度过高,加速细胞死亡。由此可见,PTP 的通透状态直接影响 MMP 的高低,同时 MMP 的下降也被认为是细胞凋亡或坏死的一个不可逆阶段。

在发生肥厚的心肌细胞中,产能机构在底物利用方面明显的变化是由原来的优先利用脂肪酸变为优先利用葡萄糖<sup>[12]</sup>。脂肪分解增强而脂肪酸的氧化利用受抑制,导致心肌组织局部脂肪酸浓度升高。有氧条件下,葡萄糖被彻底氧化成二氧化碳和水,并释放出大量能量。无氧代谢过程产生的能量很少,只是有氧代谢产能的 5.6%。因此,无氧环境下糖的分解代谢只能补充有限的能量,是心脏在缺氧环境下的应急产能方式。肥厚心肌常伴有缺氧,葡萄糖的有氧氧化不能充分进行,无氧酵解作为代偿方式频繁发生,中间产物 LA 增多<sup>[13]</sup>。同时由于过氧化体增殖物激活型受体(PPAR)大量失活等原因造成线粒体内的 FFA 也不断堆积<sup>[14]</sup>。LA、FFA 的大量堆积可导致线粒体内  $\text{H}^+$  浓度过大,引起线粒体膜内外 pH 梯度失衡,线粒体会消耗 ATP 摄入超量  $\text{Ca}^{2+}$  以维持 pH 梯度的稳定,实质也是维护 MMP 的稳定。而这样既增加了心肌耗能又引发了线粒体内  $\text{Ca}^{2+}$  超载。 $\text{Ca}^{2+}$  大量进入线粒体后,与线粒体内含磷酸根的化合物结合生成大量不溶性的磷酸钙沉积于线粒体内膜,使电子传递链功能障碍,自由基生成增多而能量生成减少。严重的  $\text{Ca}^{2+}$  超载则引起 PTP 开放<sup>[10,11]</sup>,从而导致 MMP 显著下降。

本研究证实,发生心肌肥厚大鼠心肌组织 LA 和 FFA 含量显著升高,与空白对照组比较其 MMP 下降了 44%,表明肥大的心肌细胞在能量代谢的底物利用方面发生了变化,能量代谢出现明显障碍。2-CADO 组大鼠心肌组织 LA 和 FFA 含量明显降低,与肥厚模型组比较其 MMP 上升了 50%。

综上所述,2-CADO 可以抑制异丙肾上腺素导致的心肌肥厚,减少大鼠全心重量与左心重量,抑制胶原蛋白的增生。在能量代谢方面,2-CADO 抑制了肥大心肌细胞在能量代谢底物利用方面的转

变,维持 MMP 基本不变。提示 2-CADO 抑制心肌肥厚的机制可能与促进心肌细胞对脂肪酸的氧化利用,减少葡萄糖的无氧酵解,抑制线粒体  $\text{Ca}^{2+}$  超载及 PTP 开放,维持 MMP 的稳定有关。

#### [参考文献]

- [1] Grdeń M, Podgórska M, Szutowicz A, et al. Altered expression of adenosine receptors in heart of diabetic rat[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2005, 56 (4): 587-597.
- [2] 荆黎, 杨育红, 王洪新, 等. 腺苷 A1 受体激动抑制心肌细胞肥大[J]. *中华高血压杂志*, 2008, 16 (4): 349-353.
- [3] Liao Y, Takashima S, Asano Y. Activation of adenosine A1 receptor attenuates cardiac hypertrophy and prevents heart failure in murine left ventricular pressure-overload model[J]. *Circ Res*, 2003, 93 (8): 759-766.
- [4] Li L, Wu LL, Wang C, et al. Adiponectin modulated carnitine palmitoyltransferase-1 through AMPK signaling cascade in rat cardiomyocytes [J]. *Regul Pept*, 2007, 139: 72-79.
- [5] Murray AJ, Lygate CA, Cole MA, et al. Insulin resistance, abnormal energy metabolism and increased ischemic damage in the chronically infarcted rat heart[J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 71 (1): 149-157.
- [6] Weiss RG, Chatham JC, Georgakopoulos D, et al. An increase in the myocardial PCr/ATP ratio in GLUT4 null mice[J]. *FASEB J*, 2002, 16 (6): 613-615.
- [7] Takemori E, Hasegawa Y, Kalahira J, et al. Effects of benazapril hydrochloride on cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats [J]. *Drug Res*, 1991, 41: 612-615.
- [8] Skárka L, Ostádal B. Mitochondrial membrane potential in cardiac myocytes[J]. *Physiol Res*, 2002, 51 (5): 425-434.
- [9] Mathur A, Hong Y, Kemp BK, et al. Evaluation of fluorescent dyes for the detection of mitochondrial membrane potential changes in cultured cardiomyocytes [J]. *Cardiovasc Res*, 2000, 46 (1): 126-138.
- [10] Capano M, Crompton M. Biphasic translocation of Bax to mitochondrial[J]. *Biochem*, 2002, 367 (Pt 1): 169-178.
- [11] Banerjee J, Ghosh S. Phosphorylation of rat brain mitochondrial voltage-dependent anion as a potential tool to control leakage of cytochrome c[J]. *J Neurochem*, 2006, 98 (3): 670-676.
- [12] Fujii N, Nozawa T, Igawa A, et al. Saturated glucose uptake capacity and impaired fatty acid oxidation in hypertensive hearts before development of heart failure[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 287 (2): H 760-766.
- [13] Kakinuma Y, Miyauchi T, Yuki K, et al. Novel molecular mechanism of increased myocardial endothelin-1 expression in the failing heart involving the transcriptional factor hypoxia-inducible factor-1alpha induced for impaired myocardial energy metabolism [J]. *Circulation*, 2001, 103 (19): 2 387-394.
- [14] Gómez-Garre D, Herráiz M, González-Rubio ML. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma in auricular tissue from heart failure patients[J]. *Eur J Heart Fail*, 2006, 8 (2): 154-161.

(此文编辑 文玉珊)