

· 论 著 ·

## 甘氨酸减轻烧伤大鼠心肌损害的实验研究\*

彭 靖<sup>1</sup>, 李 腾<sup>1</sup>, 吕尚军<sup>2</sup>, 张 勇<sup>2</sup>, 吴 炜<sup>2</sup>, 徐淑秀<sup>1△</sup>, 彭 曦<sup>2▲</sup>(1. 蚌埠医学院护理系, 安徽蚌埠 233030; 2. 第三军医大学西南医院全军烧伤研究所/创伤、  
烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400038)

**摘要:**目的 探讨甘氨酸(Gly)对烧伤后大鼠心肌细胞的保护作用。方法 建立 30% 体表面积Ⅲ度烧伤大鼠模型, 将 72 只 Wistar 大鼠随机分为正常对照组(C 组)、烧伤组(B 组)、Gly 治疗组(Gly 组)。观察伤前及烧伤 12、24、48、72 h 后血清肌酸激酶(CK)、谷草转氨酶(AST)和乳酸脱氢酶(LDH)等心肌酶活性及主动脉收缩压(AOSP)、舒张压(AODP)、左心室收缩压峰值(LVSP)和左心室内压变化最大速率(+dp/dtmax)等心肌力学指标的变化。结果 与 C 组比较, B 组心肌酶各值均明显增高( $P < 0.01$ ), 心肌力学指标各值均明显降低( $P < 0.01$ )。与 B 组比较, Gly 组心肌酶各值上升程度明显降低( $P < 0.05$ ), 心肌力学各指标下降程度均有缓解( $P < 0.05$ )。结论 Gly 能有效降低烧伤后大鼠心肌受损程度, 维护心肌收缩功能。

**关键词:**甘氨酸; 烧伤; 大鼠; 心肌损伤; 心肌酶; 心肌力学

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.36.002

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)36-3804-03

## Experimental study of glycine on alleviating the myocardial injury in burn rats\*

Peng Jing<sup>1</sup>, Li Teng<sup>1</sup>, Lv Shangjun<sup>2</sup>, Zhang Yong<sup>2</sup>, Wu Wei<sup>2</sup>, Xu Shuxiu<sup>1△</sup>, Peng Xi<sup>2▲</sup>(1. Department of Nursing, Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui 233030, China; 2. Institute of  
Burn Research, Southwest Hospital, State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury,  
Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract: Objective** To study the protective effect of glycine on myocardial cells in burn rats. **Methods** The rat model of three degree burns covering 30% of body surface area was established. Seventy two Wistar rats were randomly divided into three groups: namely normal control(C), burned control(B) and glycine treatment control(Gly) groups. The changes of myocardial zymogram (CK, LDH, AST) and myocardial mechanics(AOSP, AODP, LVSP, +dp/dtmax) were analyzed before burn and on post-burn 12, 24, 48, 72 hours. **Results** Compared with the group C, the levels of myocardial zymogram were significantly increased in group B ( $P < 0.01$ ), however, the myocardial mechanics levels were remarkably decreased in group B ( $P < 0.01$ ). Compared with the group B, the rising degree of myocardial zymogram values were notably decreased ( $P < 0.05$ ), and the falling degree of myocardial mechanics values were reduced in group gly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Glycine administration can effectively reduce the degree of myocardial damage and maintain the contractile function of myocardial after burn injury.

**Key words:** glycine; burns; rats; myocardial damage; myocardial zymogram; myocardial mechanics

近来研究发现, 烧伤早期即可出现严重的心肌损害, 由于心脏的特殊性, 其损害不仅可引起心功能不全, 还可诱发或加重休克, 导致全身其他组织器官出现缺血缺氧性损害, 从而引发烧伤后多器官功能不全, 乃至功能衰竭。近年研究发现, 甘氨酸(glycine, Gly)具有抗感染、免疫调节和细胞保护功能<sup>[1]</sup>。有研究表明, 大鼠心肌细胞存在 Gly 受体, 它可能在减轻内毒素和缺血/再灌注引起的心肌损伤中发挥主要作用<sup>[2-3]</sup>。但 Gly 是否能减轻烧伤后心肌损害, 维护心肌收缩功能等这方面报道鲜见。本研究通过建立动物模型, 探讨 Gly 对烧伤后大鼠心肌细胞的保护作用, 现报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 健康成年 Wistar 大鼠 72 只, 体质量(210±20)g, 雌雄不拘(第三军医大学实验动物中心提供)。随机分成 3 组, 正常对照组(C 组)、烧伤组(B 组)和 Gly 治疗组(Gly 组)。实验分烧伤后 12、24、48、72 h 4 个时相点。C 组 8 只大鼠, B 组和 Gly 组各 32 只大鼠(每个时相点 8 只)。C 组不予烧伤, 其

他 2 组大鼠烧伤前禁食 12 h, 1% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉, 背部电推剃毛后 10% 硫化钠脱毛, 抹固体汽油烧伤 18 s, 造成 30% 体表面积Ⅲ度烧伤。伤后按 50 mL/kg 腹腔注射复方乳酸钠抗休克, 创面涂 2% 碘酊抗感染, 每天 2 次。伤后给予标准动物颗粒饲料喂养, 自由饮水。

**1.2 方法** Gly 购自美国 Sigma 公司, 制成 2% 甘氨酸溶液, pH 值调定至 7.2~7.4, 用 0.22 μm 微孔滤膜除菌, 4 ℃ 低温保存, 用前复温至 37 ℃。伤后 6 h 开始, Gly 组腹腔注射甘氨酸(0.5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>), 每次 2.5 mL, 每天 2 次, B 组腹腔注射等容量生理盐水。

## 1.3 检测指标

**1.3.1 心肌酶活性的检测** 各组各时相点麻醉大鼠从插管导管中取血, 置入促凝管中, 4 ℃ 冰箱放置凝固后, 8 000 r/min, 离心 5 min, 取上清液, -20 ℃ 保存。血清肌酸激酶(CK)、谷草转氨酶(AST)和乳酸脱氢酶(LDH)采用血生化自动分析仪检测。

表 1 大鼠不同时相点烧伤后血清 CK 含量的变化( $\bar{x} \pm s, IU/L, n=8$ )

组别	0 h	12 h	24 h	48 h	72 h
B 组	—	1 762.5 ± 141.1 <sup>a</sup>	423.5 ± 121.3 <sup>a</sup>	320.1 ± 41.7 <sup>a</sup>	144.5 ± 31.8
Gly 组	—	734.4 ± 24.7 <sup>ac</sup>	256.2 ± 25.4 <sup>ab</sup>	182.7 ± 15.9 <sup>b</sup>	126.7 ± 22.5
C 组	166.2 ± 42.5	—	—	—	—

<sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与 C 组 0 h 比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>c</sup>:  $P < 0.01$ , 与 B 组相应时相点比较; —: 表示无数据。

表 2 大鼠不同时相点烧伤后血清 LDH 含量的变化( $\bar{x} \pm s, IU/L, n=8$ )

组别	0 h	12 h	24 h	48 h	72 h
B 组	—	3 749.5 ± 179.9 <sup>a</sup>	1 261.3 ± 263.2 <sup>a</sup>	1 099.8 ± 254.6 <sup>a</sup>	478.1 ± 79.9 <sup>a</sup>
Gly 组	—	3 086.3 ± 241.8 <sup>ac</sup>	685.6 ± 27.8 <sup>ac</sup>	378.5 ± 51.2 <sup>ac</sup>	348.1 ± 22.6 <sup>ab</sup>
C 组	195.9 ± 34.2	—	—	—	—

<sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与 C 组 0 h 比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>c</sup>:  $P < 0.01$ , 与 B 组相应时相点比较; —: 表示无数据。

表 3 大鼠不同时相点烧伤后血清 AST 含量的变化( $\bar{x} \pm s, IU/L, n=8$ )

组别	0 h	12 h	24 h	48 h	72 h
B 组	—	732.1 ± 83.2 <sup>a</sup>	755.6 ± 64.5 <sup>a</sup>	486.1 ± 49.7 <sup>a</sup>	142.9 ± 11.4 <sup>a</sup>
Gly 组	—	168.9 ± 12.3 <sup>ac</sup>	221.8 ± 31.1 <sup>ac</sup>	260.6 ± 27.7 <sup>ac</sup>	100.6 ± 16.9 <sup>b</sup>
C 组	119.1 ± 15.6	—	—	—	—

<sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与 C 组 0 h 比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>c</sup>:  $P < 0.01$ , 与 B 组相应时相点比较; —: 表示无数据。

表 4 大鼠不同时相点烧伤后心肌力学指标的变化( $\bar{x} \pm s, kPa, n=8$ )

组别	指标	0 h	12 h	24 h	48 h	72 h
B 组	AOSP	—	126.9 ± 7.40 <sup>a</sup>	120.9 ± 5.6 <sup>a</sup>	123.5 ± 15.0 <sup>a</sup>	117.4 ± 5.4 <sup>a</sup>
	AODP	—	102.6 ± 8.60 <sup>a</sup>	96.1 ± 7.1 <sup>a</sup>	90.4 ± 11.2 <sup>a</sup>	93.4 ± 4.97 <sup>a</sup>
	LVSP	—	145.6 ± 3.60 <sup>a</sup>	144.1 ± 12.3 <sup>a</sup>	126.9 ± 15.9 <sup>a</sup>	119.2 ± 2.10 <sup>a</sup>
	+dp/dtmax	—	7 796.0 ± 625.00 <sup>a</sup>	7 576.0 ± 659.0 <sup>a</sup>	5 322.0 ± 484.0 <sup>a</sup>	5 229.0 ± 698.00 <sup>a</sup>
Gly 组	AOSP	—	135.2 ± 2.50 <sup>ac</sup>	139.2 ± 2.9 <sup>ac</sup>	126.6 ± 1.4 <sup>ab</sup>	120.3 ± 4.80 <sup>ab</sup>
	AODP	—	105.2 ± 5.60 <sup>ab</sup>	110.0 ± 2.9 <sup>ac</sup>	106.1 ± 4.9 <sup>ac</sup>	96.8 ± 5.70 <sup>ab</sup>
	LVSP	—	140.5 ± 4.10 <sup>ab</sup>	147.1 ± 5.4 <sup>ab</sup>	142.1 ± 7.6 <sup>ac</sup>	123.1 ± 3.70 <sup>ac</sup>
	+dp/dtmax	—	8 229.0 ± 339.80 <sup>ac</sup>	7 422.0 ± 165.3 <sup>ab</sup>	6 921.0 ± 379 <sup>ac</sup>	4 974.0 ± 206.00 <sup>ab</sup>
C 组	AOSP	155.1 ± 3.95	—	—	—	—
	AODP	124.9 ± 3.80	—	—	—	—
	LVSP	174.4 ± 11.30	—	—	—	—
	+dp/dtmax	9310.0 ± 555.00	—	—	—	—

<sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与 C 组 0 h 比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>c</sup>:  $P < 0.01$ , 与 B 组相应时相点比较; —: 表示无数据。

**1.3.2 心肌力学指标的检测** 大鼠麻醉按 5 mL/kg 剂量腹腔内注射 20% 乌拉坦, 麻醉后仰卧固定于鼠台, 剪开颈部正中皮肤, 分离出右颈总动脉, 远端结扎, 从近心端将自制充满 100 U/mL 肝素生理盐水的聚乙烯导管插入至右心室, 导管远心端与三通管、压力换能器、载波放大器串接八导生理记录仪(RM-86 型, 日本光电公司生产), 并经计算机接口连接生物信号处理软件, 信号稳定后记录主动脉收缩压(AOSP)、舒张压(AODP), 左心室收缩压峰值(LVSP)和左心室内压变化最大速率(+dp/dtmax)。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异

有统计学意义。

**2 结 果**

大鼠心肌酶谱 CK、LDH、AST 含量变化情况, 心肌力学指标 AOSP、AODP、LVSP、+dp/dtmax 变化情况, 见表 1~4。

**3 讨 论**

近来研究发现, 烧伤早期即可出现严重的心肌损害。烧伤后 30 min, 心肌营养性血流量即减少 15%, 12 h 减少 60%, 24 h 仍明显低于对照值, 表明严重烧伤早期心脏的血供即显著减少, 导致心肌的缺血缺氧性损伤<sup>[4]</sup>, 而心肌在缺血缺氧后数分钟内即可出现能量代谢和功能的变化, 并随着时间的推移呈进行性加重<sup>[5]</sup>。

本研究结果显示, B 组大鼠烧伤后 CK 和 LDH 12 h 即达峰值, AST 24 h 达峰值, 随后逐渐下降。而给予 Gly 后心肌酶谱升高程度明显低于 B 组, 提示 Gly 能有效阻止酶的漏出, 减轻心肌细胞的进一步损伤。其机制可能是: Gly 通过维护细胞膜稳定性, 防止心肌重要酶类流失, 维护细胞能量代谢。血清 CK、AST 和 LDH 均为细胞内的酶类, 参与细胞的正常代谢过程, 在一定程度上其漏出多少可反映组织、细胞的损伤程度。CK 位于线粒体内, 是线粒体三磷酸腺苷(ATP)产生、利用、转换和贮存的关键酶; LDH 催化糖酵解产物丙酮酸与乳酸相互转化以保证细胞内能量代谢的正常进行; AST 催化谷氨酸与草酰乙酸之间的转氨作用, 对于谷氨酰胺的代谢具有重要意义。烧伤后细胞代谢状态异常, 糖酵解产物乳酸的堆积和脂质过氧化损伤等原因引起心肌细胞膜通透性升高, 促使酶从细胞内释放进入血循环, 胞内重要酶的丢失导致细胞能量代谢障碍<sup>[6-7]</sup>。而 Gly 可以防止 ATP 耗竭引起的细胞膜通透性增加, 抑制磷脂酶 A2 的激活, 防止细胞膜降解从而保护细胞膜完整性。

本研究采用的心肌力学指标主要包括 AOSP、AODP、LVSP 和 +dp/dtmax。其中 AOSP 和 AODP 主要反映心脏压力后负荷状态和外周血管阻力情况, LVSP 反映心肌最大收缩力, +dp/dtmax 则反映心肌最大收缩速度。本研究结果提示, 伤后 12 h AODP 即处于较低水平, 24 h 达谷底; AOSP 随时相持续下降, 48 h 达谷底并开始升高, 但 72 h 仍较低; LVSP 随时相下降程度进行性加重, 72 h 达谷底; +dp/dtmax 随时相持续下降, 72 h 达最低。而给予 Gly 后烧伤大鼠心肌力学指标下降程度均有所缓解, 提示 Gly 能减轻心肌细胞的损害, 维护心肌收缩力。其可能机制为: (1) 维护心肌细胞膜稳定性。大鼠心肌细胞可能存在 Gly 受体<sup>[8]</sup>, Gly 与受体结合后稳定了心肌细胞膜电位, 减轻心肌细胞钙离子超载, 进而维护细胞膜的稳定性<sup>[9-10]</sup>。(2) 改善心肌细胞能量代谢。高能磷酸化合物作为细胞直接能量物质影响心肌细胞的活性和收缩功能, 烧伤后由于心肌血流灌注不足导致心肌缺血缺氧, 再灌注时心肌组织产生大量的活性自由基可以直接攻击线粒体蛋白巯基, 影响线粒体氧化代谢, 导致烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)减少, ATP 合成障碍<sup>[11]</sup>。此外, 缺氧状态下, 心肌细胞在无氧酵解代偿能量代谢障碍的过程中会使得代谢产物乳酸的堆积, 造成细胞进一步损伤<sup>[12]</sup>。本研究前期显示, 严重烧伤大鼠给予 Gly 后乳酸含量明显降低, 同时 ATP 明显增加。

烧伤早期即出现心肌损害, 心肌收缩功能受抑, 泵血能力下降导致有效循环血量减少, 从而诱发或加重休克, 进一步造成全身其他组织器官缺血缺氧性损害。本研究表明, Gly 能减轻烧伤后心肌损害, 改善心肌能量代谢, 维护心肌收缩功能。

#### 参考文献:

- [1] Zhong Z, Wheeler MD, Li X, et al. L-Glycine: a novel anti-inflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2003, 6(2): 229-240.
- [2] Qi RB, Zhang JY, Lu DX, et al. Glycine receptors contribute to cytoprotection of glycine in myocardial cells[J]. *Chin Med J*, 2007, 120(10): 915-921.
- [3] 陈梦飞, 陆大祥, 戚仁斌, 等. 甘氨酸脂质体对心肌细胞线粒体膜电位及凋亡的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2008, 24(7): 1254-1258.
- [4] Huang YS, Yang ZC, Yan BG, et al. Pathogenesis of early cardiac myocyte damage after severe burns[J]. *J Trauma*, 1999, 46(3): 428-432.
- [5] Lopaschuk G. Regulation of carbohydrate metabolism in ischemia and Reperfusion[J]. *Am Heart J*, 2000, 139(2 Pt 3): 115-119.
- [6] 方华, 李昌熙, 王泉云, 等. 体外循环中应用吡咯烷二硫氨基甲酸酯对犬心肌能量代谢的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(8): 1387-1390.
- [7] 周军利, 黄跃生, 党永明, 等. 甘氨酸对缺血缺氧心肌细胞能量代谢的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2008, 8(6): 1093-1095.
- [8] 赵雪, 陆大祥, 戚仁斌, 等. 甘氨酸受体在甘氨酸抗心肌细胞缺氧/复氧损伤中的作用机制研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(11): 2113-2118.
- [9] 唐昱. 热休克蛋白 70 与心肌保护的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(11): 1028-1030.
- [10] Kuzumoto M, Takeuchi A, Nakai H, et al. Simulation analysis of Intracellular Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> homeostasis during beta1 adrenergic stimulation of cardiac myocyte[J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2008, 96(1/3): 171-186.
- [11] Lee HL, Chen CL, Steve T, et al. Biphasic modulation of the mitochondrial electron transport chain in myocardial ischemia and reperfusion[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 302(7): 1410-1422.
- [12] 刘媛媛, 辛武, 周婷. 烧伤患者心肌酶谱的结果分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(5): 624.

(收稿日期: 2012-07-09 修回日期: 2012-09-22)

(上接第 3803 页)

- [14] 陈翔, 颜克香. CD147 siRNA 表达载体的构建与鉴定[J]. *中华皮肤科杂志*, 2006, 38(6): 368-369.
- [15] Kirk P, Wilson MC, Heddle C, et al. CD147 is tightly associated with lactate transporters MCT1 and MCT4 and

facilitates their cell surface expression[J]. *EMBO*, 2000, 19(15): 3896-3904.

(收稿日期: 2012-07-09 修回日期: 2012-08-30)