



(OSID 码)

· 论著 ·

# 左卡尼汀对自然衰老模型大鼠的心脏保护作用及其分子机制研究

张珍<sup>1</sup>, 张霞<sup>2</sup>, 刘春<sup>3</sup>, 蔡文升<sup>4</sup>, 李雪辉<sup>1</sup>, 邢艳秋<sup>1</sup>

**【摘要】 背景** 左卡尼汀是重要的线粒体能量代谢调节物, 其对衰老心脏是否具有保护作用尚不明确。**目的** 以自然饲养的 24 月龄大鼠来构建自然衰老动物模型, 研究左卡尼汀对自然衰老模型大鼠的心脏保护作用, 并深入分析其分子机制。**方法** 2017 年 1 月—2019 年 6 月, 选取 3 月龄 SPF 级雄性大鼠 30 只。将在标准饲养环境下自然饲养至 4 月龄的大鼠作为青年对照组 ( $n=10$ )。将在标准饲养环境下自然饲养至 24 月龄的大鼠随机分为左卡尼汀组 ( $n=10$ ) 和老年对照组 ( $n=10$ )。左卡尼汀组大鼠给予左卡尼汀  $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 老年对照组大鼠给予等量 0.9% 氯化钠溶液, 均连续灌胃 4 周。记录并比较各组大鼠心脏收缩、舒张功能指标〔包括左心室舒张末期容积 (LVEDD)、左心室收缩末期容积 (LVESD)、左心室舒张末期容积 (LVEDV)、左心室收缩末期容积 (LVESV)、左心室射血分数 (LVEF)、左心室短轴缩短率 (LVFS)〕, 血清丙二醛 (MDA) 水平、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 线粒体超微结构, 心肌组织三磷酸腺苷 (ATP)、磷酸化 -AMP 依赖的蛋白激酶 (p-AMPK)、肉毒碱脂酰转移酶 1 (CPT-1) 水平。**结果** 老年对照组 LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV 大于青年对照组 ( $P<0.05$ ) ; 左卡尼汀组 LVESD、LVESV 小于青年对照组, LVEF、LVFS 高于青年对照组 ( $P<0.05$ ) ; 左卡尼汀组 LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV 小于老年对照组, LVFS 高于老年对照组 ( $P<0.05$ )。老年对照组血清 MDA 水平高于青年对照组, SOD 活性小于青年对照组 ( $P<0.05$ ) ; 左卡尼汀组血清 MDA 水平高于青年对照组 ( $P<0.05$ ) ; 左卡尼汀组血清 MDA 水平低于老年对照组, SOD 活性大于老年对照组 ( $P<0.05$ )。与青年对照组大鼠相比, 老年对照组大鼠线粒体形态各异, 部分线粒体肿胀明显, 基质出现多个局灶性空泡; 与老年对照组相比, 左卡尼汀组大鼠心肌细胞线粒体体积明显缩小, 偶见空泡变性, 线粒体嵴排列整齐致密。老年对照组心肌组织 ATP 水平低于青年对照组 ( $P<0.05$ ) ; 左卡尼汀组心肌组织 ATP 水平高于老年对照组 ( $P<0.05$ )。老年对照组心肌组织 p-AMPK、CPT-1 水平低于青年对照组 ( $P<0.05$ ) ; 左卡尼汀组心肌组织 p-AMPK、CPT-1 水平高于老年对照组 ( $P<0.05$ )。**结论** 左卡尼汀可改善自然衰老模型大鼠心脏功能, 提高其抗氧化能力, 保护衰老心肌线粒体结构和增加衰老心肌 ATP 生成, 其机制可能与上调 AMPK/CPT-1 信号通路有关。

**【关键词】** 衰老; 左卡尼汀; 大鼠; 心脏; AMP 依赖的蛋白激酶; 肉毒碱脂酰转移酶 1

**【中图分类号】** R 33 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.11.012

张珍, 张霞, 刘春, 等. 左卡尼汀对自然衰老模型大鼠的心脏保护作用及其分子机制研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28 (11): 66-70. [www.syxnf.net]

ZHANG Z, ZHANG X, LIU C, et al. Protective effect of levocarnitine on the heart of natural aging rats and its molecular mechanism [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2020, 28 (11): 66-70.

**Protective Effect of Levocarnitine on the Heart of Natural Aging Rats and Its Molecular Mechanism** ZHANG Zhen<sup>1</sup>, ZHANG Xia<sup>2</sup>, LIU Chun<sup>3</sup>, CAI Wensheng<sup>4</sup>, LI Xuehui<sup>1</sup>, XING Yanqiu<sup>1</sup>

1. Department of Geriatric Medicine, Qilu Hospital of Shandong University/Key Laboratory of Cardiovascular Disease Proteomics of Shandong Province, Jinan 250012, China

2. Department of Cardiology, Rizhao Central Hospital, Rizhao 276800, China

3. Department of Internal Medicine-Cardiovascular, the Fourth People's Hospital of Jinan, Jinan 250031, China

4. Department of Vascular Surgery, Rizhao Central Hospital, Rizhao 276800, China

Corresponding author: XING Yanqiu, E-mail: xingyanqiu@sina.com

**【Abstract】 Background** Levocarnitine plays an important role in mitochondrial energy metabolism, but whether it possesses protective effects on aging heart is unclear. **Objective** A natural aging animal model was constructed with 24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81570356, 81700725); 山东省重点研发计划项目 (2017GSF218014, 2017GSF218101)

1.250012 山东省济南市, 山东大学齐鲁医院老年医学科 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室 2.276800 山东省日照市中心医院心内科 3.250031 山东省济南市第四人民医院心内科 4.276800 山东省日照市中心医院血管外科

通信作者: 邢艳秋, E-mail: xingyanqiu@sina.com

month-old rats fed naturally to study the protective effect of levocarnitine on the natural aging model rats, and its molecular mechanism was further analyzed. **Methods** A total of 30 three-month-old male SPF rats were selected from January 2017 to June 2019. Rats naturally raised to 4 months old in standard feeding environment were used as young control group ( $n=10$ ). Rats naturally raised to 24 months old in standard feeding environment were randomly divided into the levocarnitine group ( $n=10$ ) and the elderly control group ( $n=10$ ). Rats in the levocarnitine group were given levocarnitine  $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , and the rats in the elderly control group were given the same volume of 0.9% sodium chloride solution, and they were all fed for 4 weeks. The indexes of cardiac systolic and diastolic function (including LVEDD, LVESD, LVEDV, LVESV, LVEF, LVFS), serum MDA level, SOD activity, mitochondrial ultrastructure, levels of myocardial tissue ATP, p-AMPK, CPT-1 of rats were recorded and compared in each group. **Results** LVEDD, LVESD, LVEDV and LVESV in the elderly control group were larger than those in the young control group ( $P<0.05$ ); LVESD and LVESV in the levocarnitine group were smaller than those in the young control group, and LVEF and LVFS were higher than those in the young control group ( $P<0.05$ ); LVEDD, LVESD, LVEDV and LVESV in the levocarnitine group were smaller than those in the elderly control group, and LVFS was higher than that in the elderly control group ( $P<0.05$ ). The serum MDA level of the elderly control group was higher than that of the young control group, and the SOD activity was lower than that of the young control group ( $P<0.05$ ); the serum MDA level in the levocarnitine group was higher than that of the young control group ( $P<0.05$ ); the serum MDA level in the levocarnitine group was lower than that in the elderly control group, and the SOD activity was greater than that in the elderly control group ( $P<0.05$ ). Compared with the young control group, the elderly control group had different mitochondrial morphology, some mitochondria swelled obviously, and multiple focal vacuoles appeared in the matrix. Compared with the elderly control group, the mitochondrial volume of myocardial cells in the levocarnitine group was significantly reduced, and occasional vacuolar degeneration was observed, and the mitochondrial crests were neatly and densely arranged. The myocardial tissue ATP level of the elderly control group was lower than that of the young control group ( $P<0.05$ ); the myocardial tissue ATP level of the levocarnitine group was higher than that of the elderly control group ( $P<0.05$ ). The myocardial tissue p-AMPK and CPT-1 levels in the elderly control group were lower than those in the young control group ( $P<0.05$ ); the myocardial tissue p-AMPK and CPT-1 levels in the levocarnitine group were higher than those in the elderly control group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Levocarnitine can improve the cardiac function, enhance the antioxidant capacity, protect the mitochondrial structure and increase the ATP production of the aging myocardium in the natural aging model rats. The mechanism may be related to the upregulation of AMPK/CPT-1 signal pathway.

**【Key words】** Aging; Levocarnitine; Rats; Heart; AMPK; CPT-1

随着我国社会老龄化加剧,增龄相关的心血管疾病、代谢疾病已成为影响老年人生活和健康的主要疾病<sup>[1]</sup>。增龄不仅是心血管疾病发生、发展的重要危险因素,同时也是增加患者死亡率的重要原因,给家庭和社会造成极大的经济负担<sup>[2]</sup>。因此,深入研究心脏衰老的发生、发展机制,探索延缓衰老的有效策略具有积极深远的社会意义。

动物实验表明,左卡尼汀具有强大的抗氧化和抗炎作用,可以通过调控 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) /P53/衰老相关分泌表型 (SASP) 信号通路抑制衰老大鼠脂肪组织的慢性炎症反应<sup>[3]</sup>。但是左卡尼汀是否可以保护自然衰老的心脏及其可能的分子机制目前尚不清楚。因此,本研究以自然饲养的 24 月龄大鼠来构建自然衰老动物模型,旨在揭示左卡尼汀对衰老心脏的保护作用及其分子机制。

## 1 材料与方法

1.1 实验时间 本实验时间为 2017 年 1 月—2019 年 6 月。

1.2 实验动物 本研究按照《山东大学实验动物使用规范》执行所有动物的实验程序。本实验选取 3 月龄 SPF 级雄性大鼠 30 只,购于山东大学实验动物中

### 本研究价值:

本研究以自然衰老大鼠为模型,模拟在自然衰老状态下心脏结构和功能的变化,发现心脏线粒体超微结构的改变及能量代谢紊乱早于心脏功能病理性改变;左卡尼汀灌胃可提高自然衰老模型大鼠左心室射血分数 (LVEF)、左心室短轴缩短率 (LVFS),改善其心脏收缩功能;降低丙二醛 (MDA) 水平,增加超氧化物歧化酶 (SOD) 活性,进而改善大鼠机体抗氧化能力,同时可保护衰老心肌线粒体结构和增加衰老心肌三磷酸腺苷 (ATP) 的生成,其机制可能与调控磷酸化 -AMP 依赖的蛋白激酶 (p-AMPK) /肉毒碱脂酰转移酶 1 (CPT-1) 信号通路有关。

心。标准饲养环境统一为室温 ( $22.0 \pm 1.5$ )  $^{\circ}\text{C}$ ,湿度 ( $55 \pm 5$ ) %,自然昼夜光线。所有大鼠维持自由饮水和饮食。

1.3 试剂与仪器 左卡尼汀由美国 Sigma 公司提供,纯度为 99% 以上;磷酸化 -AMP 依赖的蛋白激酶 (p-AMPK) 抗体、肉毒碱脂酰转移酶 1 (CPT-1) 抗体和 GAPDH 抗体由英国 Abcam 公司提供;实验所需仪

器如离心机、高效液相色谱仪等由山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室提供。

1.4 实验分组及干预方法 将在标准饲养环境下自然饲养至4月龄的大鼠(体质量为350~400 g)作为青年对照组( $n=10$ )。将在标准饲养环境下自然饲养至24月龄的大鼠(体质量为480~590 g)随机分为左卡尼汀组( $n=10$ )和老年对照组( $n=10$ )。左卡尼汀组大鼠给予左卡尼汀  $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 老年对照组大鼠给予等量0.9%氯化钠溶液, 均连续灌胃4周。

## 1.5 观察指标

1.5.1 心脏收缩、舒张功能指标 实验结束时, 对所有大鼠称重; 按照  $40 \text{ mg/kg}$  的剂量腹腔注射3%戊巴比妥麻醉各组大鼠。参照文献[4]中的操作方法进行M型超声心动图检查, 超声参数设定如下: 探头频率为9 MHz, 扫描深度为4 cm。记录各组大鼠心脏收缩、舒张功能指标, 包括左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期容积(LVEDV)、左心室收缩末期容积(LVESV)、左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)。

1.5.2 血清丙二醛(MDA)水平、超氧化物歧化酶(SOD)活性 实验结束时, 按照  $40 \text{ mg/kg}$  的剂量腹腔注射3%戊巴比妥麻醉各组大鼠; 经腹主动脉穿刺取血,  $3\,000 \text{ r/min}$  离心10 min(离心半径10 cm), 取血清; 按照MDA和SOD检测试剂盒说明书检测各组大鼠血清MDA水平、SOD活性。

1.5.3 线粒体超微结构 实验结束时, 处死各组大鼠, 取离体心脏, 剪取心尖组织  $1\sim 2 \text{ mm}^3$ ; 采用0.9%氯化钠溶液反复冲洗心尖组织, 而后置于4%戊二醛固定液中; 常规制片后电镜下( $\times 15\,000$ )观察大鼠心肌细胞线粒体超微结构。

1.5.4 心肌组织三磷酸腺苷(ATP)水平 实验结束时, 处死各组大鼠, 取离体心脏, 剪取心尖组织  $1\sim 2 \text{ mm}^3$ ; 采用高效液相色谱法检测各组心肌组织ATP水平。所用仪器为Hypersil ODS(C18)液相色谱分析柱(规格为  $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ), 柱温为室温, 流动相为pH值6.5的50 mmol/L磷酸钾缓冲液。检测参数设置如

下: 流速为  $1 \text{ ml/min}$ , 紫外线波长为254 nm。采用标准曲线法计算各组大鼠心肌组织ATP水平。

1.5.5 心肌组织p-AMPK、CPT-1水平 实验结束时, 处死各组大鼠, 取离体心脏, 剪取心肌组织30~40 mg, 按照文献[3]的方法, 以GAPDH为参照, 采用Western blotting法检测各组大鼠心肌组织p-AMPK、CPT-1水平。

1.6 统计学方法 采用SPSS 17.0软件进行统计分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用LSD- $t$ 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组心脏收缩、舒张功能指标比较 各组LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV、LVEF、LVFS比较, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。老年对照组LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV大于青年对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 左卡尼汀组LVESD、LVESV小于青年对照组, LVEF、LVFS高于青年对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 左卡尼汀组LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV小于老年对照组, LVFS高于老年对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ , 见表1)。

2.2 各组血清MDA水平、SOD活性比较 各组血清MDA水平、SOD活性比较, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。老年对照组血清MDA水平高于青年对照组, SOD活性小于青年对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 左卡尼汀组血清MDA水平高于青年对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 左卡尼汀组血清MDA水平低于老年对照组, SOD活性大于老年对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ , 见表2)。

2.3 线粒体超微结构 青年对照组大鼠心肌线粒体排列整齐, 形态呈圆形或卵圆形, 整个线粒体腔充满整齐、密集、均匀分布与排列的嵴; 与青年对照组大鼠相比, 老年对照组大鼠线粒体形态各异, 部分线粒体肿胀明显, 基质出现多个局灶性空泡; 与老年对照组相比, 左卡尼汀组大鼠心肌细胞线粒体体积明显缩小, 偶见空泡变性, 线粒体嵴排列整齐致密(见图1)。

表1 各组心脏收缩、舒张功能指标比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )  
Tabel 1 Comparison of systolic and diastolic function indexes in each group

| 组别    | LVEDD (mm)        | LVESD (mm)           | LVEDV (ml)            | LVESV (ml)             | LVEF (%)           | LVFS (%)              |
|-------|-------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|
| 青年对照组 | $7.15 \pm 0.64$   | $4.67 \pm 0.57$      | $270.31 \pm 54.84$    | $102.75 \pm 30.09$     | $62.18 \pm 5.84$   | $34.70 \pm 4.55$      |
| 老年对照组 | $8.47 \pm 0.59^a$ | $5.59 \pm 0.97^a$    | $393.45 \pm 60.32^a$  | $158.05 \pm 61.78^a$   | $60.89 \pm 9.82$   | $34.33 \pm 7.04$      |
| 左卡尼汀组 | $6.59 \pm 1.84^b$ | $3.41 \pm 1.31^{ab}$ | $241.80 \pm 135.12^b$ | $54.37 \pm 43.59^{ab}$ | $77.67 \pm 8.84^a$ | $48.02 \pm 8.86^{ab}$ |
| F值    | 6.746             | 12.050               | 7.825                 | 12.192                 | 12.535             | 12.267                |
| P值    | 0.004             | <0.001               | 0.002                 | <0.001                 | <0.001             | <0.001                |

注: 与青年对照组比较,  $^aP<0.05$ ; 与老年对照组比较,  $^bP<0.05$ ; LVEDD=左心室舒张末期内径, LVESD=左心室收缩末期内径, LVEDV=左心室舒张末期容积, LVESV=左心室收缩末期容积, LVEF=左心室射血分数, LVFS=左心室短轴缩短率

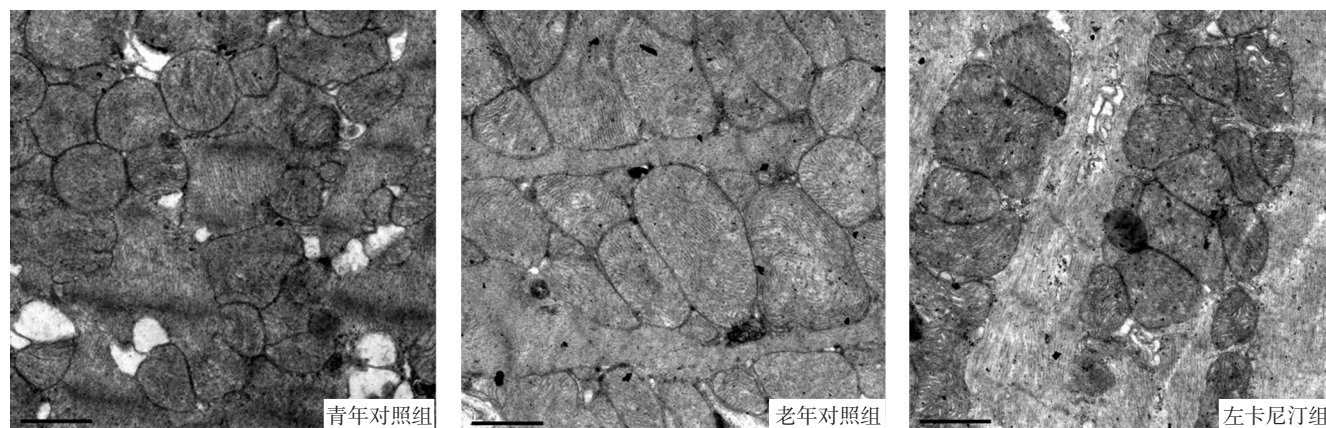


图1 各组大鼠心肌细胞线粒体超微结构 (×15 000)

Figure 1 Mitochondrial ultrastructures in the cardiomyocytes of rats in each group

2.4 各组心肌组织 ATP、p-AMPK、CPT-1 水平比较 各组心肌组织 ATP、p-AMPK、CPT-1 水平比较, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。老年对照组心肌组织 ATP、p-AMPK、CPT-1 水平低于青年对照组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 左卡尼汀组心肌组织 ATP、p-AMPK、CPT-1 水平高于老年对照组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ , 见表 3、图 2)。

### 3 讨论

左卡尼汀作为哺乳动物体内天然存在的氨基酸衍生物, 不仅参与机体能量代谢, 还具有抗炎和抗氧化作用。本研究构建自然衰老动物模型, 观察左卡尼汀灌胃对衰老大鼠的心脏保护作用及其分子机制, 结果证实, 左卡尼汀灌胃处理可改善自然衰老大鼠心脏功能和心肌线粒体超微结构, 具有保护衰老心肌的作用。

随着年龄的增长, 心脏逐渐发生心肌细胞纤维化和淀粉样变等结构重构, 同时伴随心肌收缩和舒张功能减退等一系列增龄性改变, 进而增加冠心病、心力衰竭等心血管疾病的发生风险和死亡风险<sup>[5]</sup>。本研究结果显示, 老年对照组 LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV 大于青年对照组, 老年对照组与青年对照组 LVEF、LVFS 比较无统计学差异, 表明随着年龄增长, 自然衰老大鼠的心脏虽然在结构上出现了与体质量增加相关的生理

表2 各组血清 MDA 水平、SOD 活性比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

Table 2 Comparison of serum MDA level and SOD activity in each group

| 组别    | MDA (nmol/ml)           | SOD (U/ml)                |
|-------|-------------------------|---------------------------|
| 青年对照组 | 6.4 ± 0.9               | 167.8 ± 28.6              |
| 老年对照组 | 11.9 ± 1.4 <sup>a</sup> | 122.3 ± 14.8 <sup>a</sup> |
| 左卡尼汀组 | 8.3 ± 1.0 <sup>ab</sup> | 175.2 ± 22.6 <sup>b</sup> |
| F 值   | 62.095                  | 15.905                    |
| P 值   | <0.001                  | <0.001                    |

注: 与青年对照组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; 与老年对照组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$ ; MDA= 丙二醛, SOD= 超氧化物歧化酶

表3 各组心肌组织 ATP、p-AMPK、CPT-1 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

Table 3 Comparison of the levels of p-AMPK and CPT-1 in myocardial tissue in each group

| 组别    | ATP (ng/g)                  | p-AMPK                   | CPT-1                    |
|-------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 青年对照组 | 99.63 ± 9.71                | 0.56 ± 0.04              | 0.55 ± 0.04              |
| 老年对照组 | 56.79 ± 11.84 <sup>a</sup>  | 0.42 ± 0.02 <sup>a</sup> | 0.44 ± 0.02 <sup>a</sup> |
| 左卡尼汀组 | 101.89 ± 11.76 <sup>b</sup> | 0.55 ± 0.02 <sup>b</sup> | 0.54 ± 0.02 <sup>b</sup> |
| F 值   | 51.968                      | 76.250                   | 46.250                   |
| P 值   | <0.001                      | <0.001                   | <0.001                   |

注: 与青年对照组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; 与老年对照组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$ ; ATP= 三磷酸腺苷, p-AMPK= 磷酸化 -AMP 依赖的蛋白激酶, CPT-1= 肉毒碱脂酰转移酶 1

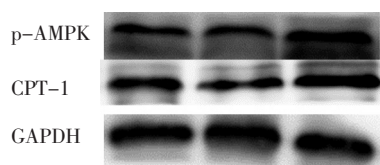


图2 Western blotting 法检测各组大鼠心肌组织 p-AMPK、CPT-1 水平的电泳图

Figure 2 Electrophoretogram of p-AMPK and CPT-1 in myocardial tissue of rats in each group detected by Western blotting method

性扩大, 但收缩和舒张功能尚未出现病理性减退, 与既往研究结果一致<sup>[6]</sup>。左卡尼汀组 LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV 小于老年对照组, LVFS 高于老年对照组, LVEF 与老年对照组比较无统计学差异, 提示左卡尼汀主要作用是增强自然衰老大鼠心肌的收缩与舒张功能, 这与既往在临床上观察到的补充左卡尼汀能够明显改善心力衰竭患者心功能的研究结果一致<sup>[7]</sup>。

本研究结果显示, 老年对照组血清 MDA 水平高于青年对照组, SOD 活性小于青年对照组; 左卡尼汀组血清 MDA 水平高于青年对照组; 左卡尼汀组血清 MDA 水平低于老年对照组, SOD 活性大于老年对照组; 提

示左卡尼汀可降低自然衰老大鼠血清 MDA 水平,恢复 SOD 活性。既往研究表明,左卡尼汀具有协助心肌细胞清除氧自由基、减少活性氧 (ROS) 的形成、增加抗氧化蛋白 SOD<sub>2</sub> 表达等抗氧化能力,其机制可能与激活信号转导及转录活化因子 3 (STAT3) 抗氧化信号通路、降低心肌细胞钙离子 / 钙调素依赖性的蛋白激酶 II 3 (CaMK II 3) 有关<sup>[8]</sup>。因此,笔者推测左卡尼汀可能通过降低血清 MDA 水平、增加 SOD 活性来提高自然衰老大鼠的抗氧化能力,进而保护大鼠的心脏。

本研究结果显示,与青年对照组大鼠相比,老年对照组大鼠线粒体形态各异,部分线粒体肿胀明显,基质出现多个局灶性空泡;与老年对照组相比,左卡尼汀组大鼠心肌细胞线粒体体积明显缩小,偶见空泡变性,线粒体嵴排列整齐致密,表明衰老心肌线粒体超微结构和功能受损,且这一病理改变在心脏功能减退之前即已存在<sup>[9]</sup>。因此,笔者推测线粒体结构和功能受损可能是心脏衰老发生、发展的始发因素和早期表现,而左卡尼汀有效改善自然衰老大鼠的心脏功能可能与保护线粒体结构和功能有关。

AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK) 是调控心肌能量的主要信号分子,磷酸化后可上调脂肪酸氧化中限速酶 CPT-1 的表达,参与脂肪酸氧化、能量合成和衰老的发生、发展<sup>[10]</sup>。左卡尼汀作为 CPT-1 的辅助因子,可协助长链脂肪酸转运至线粒体内进行脂肪酸的  $\beta$ -氧化,为机体提供能量。本研究结果显示,老年对照组心肌组织 ATP、p-AMPK、CPT-1 水平低于青年对照组;左卡尼汀组心肌组织 ATP、p-AMPK、CPT-1 水平高于老年对照组。该结果说明衰老心肌中 AMPK 信号通路被抑制,CPT-1 表达下降,且伴随 ATP 生成的减少等代谢功能障碍<sup>[11-12]</sup>,而左卡尼汀可能通过上调 p-AMPK、CPT-1 的表达而增加 ATP 生成,进而发挥抗心脏衰老的作用。

本研究虽然明确了左卡尼汀通过上调 AMPK/CPT-1 信号通路来发挥其心脏保护作用,但尚未明确其是否可同时通过增加脂肪酸氧化而实现该作用,这也是下一步的研究方向。

综上所述,左卡尼汀可改善自然衰老模型大鼠心脏功能,提高其抗氧化能力,保护衰老心肌线粒体结构和增加衰老心肌 ATP 生成,其机制可能与上调 AMPK/CPT-1 信号通路有关。本研究为深入研究衰老心脏的发生机制和探索有效延缓衰老的方法提供了新的视角和策略。

作者贡献:张珍进行文章的构思与设计、统计学处理,撰写论文并进行英文的修订;邢艳秋进行研究的实施与可行性分析、论文的修订,负责文章的质量控制及审校,对文章整体负责、监督管理;张霞、刘春、蔡文升、李雪辉进行数据收集;张珍、张霞进行数据整理;张珍、邢艳秋进行结果的分析与解释。

本文无利益冲突。

## 参考文献

- [1] MOZAFFARIAN D, BENJAMIN E J, GO A S, et al. Heart disease and stroke statistics—2015 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2015, 131 (4): e29–322. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000152.
- [2] FORMAN D E, SANTANASTO A J, BOUDREAU R, et al. Impact of incident heart failure on body composition over time in the health, aging, and body composition study population [J]. *Circ Heart Fail*, 2017, 10 (9): e003915. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.117.003915.
- [3] YANG L W, SONG M, LI Y L, et al. L-Carnitine inhibits the senescence-associated secretory phenotype of aging adipose tissue by JNK/p53 pathway [J]. *Biogerontology*, 2019, 20 (2): 203–211. DOI: 10.1007/s10522-018-9787-z.
- [4] ZHANG X, LIU C, LIU C C, et al. Trimetazidine and L-carnitine prevent heart aging and cardiac metabolic impairment in rats via regulating cardiac metabolic substrates [J]. *Exp Gerontol*, 2019, 119: 120–127. DOI: 10.1016/j.exger.2018.12.019.
- [5] CAMICI G G, SAVARESE G, AKHMEDOV A, et al. Molecular mechanism of endothelial and vascular aging: implications for cardiovascular disease [J]. *Eur Heart J*, 2015, 36 (48): 3392–3403. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv587.
- [6] 朱炬, 李彦东, 白雪波, 等. 应用经胸超声心动图观察异丙酚对衰老大鼠心脏功能的影响研究 [J]. *现代医药卫生*, 2019, 35 (19): 2949–2951.  
ZHU J, LI Y D, BAI X B, et al. Study on the influence of propofol on cardiac function in aging rats at different times by transthoracic echocardiography [J]. *Journal of Modern Medicine & Health*, 2019, 35 (19): 2949–2951.
- [7] DA SILVA GUIMARÃES S, DE SOUZA CRUZ W, DA SILVA L, et al. Effect of L-carnitine supplementation on reverse remodeling in patients with ischemic heart disease undergoing coronary artery bypass grafting: a randomized, placebo-controlled trial [J]. *Ann Nutr Metab*, 2017, 70 (2): 106–110. DOI: 10.1159/000465531.
- [8] VACANTE F, SENESI P, MONTESANO A, et al. L-carnitine: an antioxidant remedy for the survival of cardiomyocytes under hyperglycemic condition [J]. *J Diabetes Res*, 2018, 4028297. DOI: 10.1155/2018/4028297.
- [9] MARTÍN-FERNÁNDEZ B, GREDILLA R. Mitochondria and oxidative stress in heart aging [J]. *Age (Dordr)*, 2016, 38 (4): 225–238. DOI: 10.1007/s11357-016-9933-y.
- [10] SALMINEN A, KAUPPINEN A, KAARNIRANTA K. FGF21 activates AMPK signaling: impact on metabolic regulation and the aging process [J]. *J Mol Med*, 2017, 95 (2): 123–131. DOI: 10.1007/s00109-016-1477-1.
- [11] KATES A M, HERRERO P, DENCE C, et al. Impact of aging on substrate metabolism by the human heart [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41 (2): 293–299. DOI: 10.1016/s0735-1097 (02) 02714-6.
- [12] LESNEFSKY E J, CHEN Q, HOPPEL C L. Mitochondrial metabolism in aging heart [J]. *Circ Res*, 2016, 118 (10): 1593–1611. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.307505.

(收稿日期: 2020-08-11; 修回日期: 2020-10-04)

(本文编辑: 崔丽红)