

國立臺灣大學醫學院生理學研究所

博士論文

Graduate Institute of Physiology

College of Medicine

National Taiwan University

Doctor Dissertation



乙醯左旋肉鹼（Acetyl-L-Carnitine）與羥苯甘胺酸
（Oxfenicine）對鏈佐黴素（Streptozotocin）所引發
之糖尿病鼠心臟力學之影響

Effects of Acetyl-L-Carnitine and Oxfenicine on the
Cardiac Pumping Mechanics in Streptozotocin-Induced
Diabetic Rats

王植賢

Chih-Hsien Wang

指導教授：張國柱 教授

Advisor：Kuo-Chu Chang, Ph.D.

中華民國一百零三年一月

January, 2014

誌謝



自 2007 年進入生理所博士班以來，我任職的單位包括了台大總院創傷醫學部、台大新竹分院(原署立新竹分院)心臟外科、台大總院外科部。感謝每一位長官(創傷部李元麒主任與柯文哲主任；新竹陳文鍾院長與孫瑞昇院長；台大外科賴鴻緒主任)的支持與體諒，讓我得以在職進修完成學業。

能夠完成此一研究，必須要歸功於我的幾位導師：心臟外科兩任主任王水深教授與陳益祥教授、創傷醫學部主任柯文哲教授與台大醫院新竹分院虞希禹副院長。幾位老師們不但從我仍是住院醫師起，便在臨床知識與技術上對我指導有加；更在我博士班就學期間，無論從研究經費的資助到研究內容的建議，均給予我最大的支持。

而實驗室中，從學長蔡明憲博士、學姊吳恩婷醫師、學姊雅惠和如文，都是我這些年來最依賴的請益對象與學習夥伴。在此也要謝謝你們。

當然，最重要的是要感謝張國柱老師，這些年來對我的耐心與關心，沒有放棄我這位上課時常請假缺席的學生，總是利用時間另外替我個別加強許多重要的觀念。謝謝老師。

至於我的老婆大人馨方與兩個寶貝女兒，爸爸終於畢業了。在我完成論文的這段期間，謝謝你們的體諒與支持。

植賢 2014 年 01 月 14 日

中文摘要



研究背景：

對於糖尿病所引起的左心室心肌功能病變的治療方式，改變心肌細胞能量來源的代謝方式是其中一種方法。由於脂質代謝佔心肌能量來源的大部分，在這個研究裡，我們以肉鹼 (carnitine) 的衍生物乙醯左旋肉鹼 (acetyl-L-carnitine, ALC) 及羥苯甘胺酸 (oxfenicine, OXF) (一種 carnitine palmitoyltransferase-1 抑制劑) 來影響脂質進入粒腺體的代謝途徑，治療以鏈佐黴素 (streptozotocin) 所引發的糖尿病 Wistar-Kyoto 鼠，並利用測量左心室壓力與主動脈血流量以得知心臟的收縮功能與內部阻力，比較兩種不同治療方式對於心臟泵浦功能的影響。

研究方法：

以鏈佐黴素 (55mg/kg) 注入兩個月大 Wistar-kyoto 大鼠尾靜脈誘發糖尿病，之後分別每天餵與乙醯左旋肉鹼 (1 g/L 於飲用水) 或是羥苯甘胺酸 (150 mg/kg 經口灌食)，治療八週後分別與年紀相同之正常組與糖尿病未治療組作比較。在麻醉開胸後測量左心室壓力與升主動脈之血流，以計算最大收縮彈性 (maximal systolic elastance, E_{max}) 與理論最大血流 (theoretical maximum flow, Q_{max})。生理上， E_{max} 可以反映一個完整心臟的心肌收縮功能 (contractility)，而 Q_{max} 則是與左心室內部阻力有反比關係。

研究結果：

相較于正常組之 Wistar-kyoto 大鼠，糖尿病鼠的 $E_{\max}$ 下降，但 $Q_{\max}$ 不變，顯示心臟的收縮功能下降。不論是以乙醯左旋肉鹼或是羥苯甘胺酸治療糖尿病鼠， $E_{\max}$ 均可以增加，顯示兩者均可以改善因糖尿病所引起的心臟收縮力下降。然而，僅有乙醯左旋肉鹼可以降低心肌細胞的丙二醇 (malondialdehyde, MDA) 含量，減少脂質的過氧化產物產生。另一方面，以羥苯甘胺酸治療糖尿病鼠會增加週邊血管總阻力，減少 $Q_{\max}$ ，顯示在以羥苯甘胺酸治療後，心室內部阻力反而增加。

研究結論：

相對於羥苯甘胺酸，乙醯左旋肉鹼對於因糖尿病所引起的心臟泵浦功能不良的治療結果更為適當。因為乙醯左旋肉鹼不但可以增加心肌的收縮功能 ($E_{\max}$)，且不會增加週邊血管總阻力，不至於增加心臟的內部阻力。

關鍵詞：

肉鹼棕櫚醯轉移酶-1、彈性-阻力模型、 $dP/dt_{\max}$ 、 $dP/dt_{\min}$ 、理論最大血流量、硫巴比妥鹽檢測法

Abstract



Introduction:

In the treatment of patients with diabetes, one objective is an improvement of cardiac metabolism to alleviate the left ventricular (LV) function. For this study, we compared the effects of acetyl-L-carnitine (one of the carnitine derivatives) and of oxfenicine (a carnitine palmitoyltransferase-1 inhibitor) on cardiac pumping mechanics in streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats, with a particular focus on the pressure-flow-volume relationship.

Methods:

Diabetes was induced by a single tail vein injection of 55 mg kg⁻¹ streptozotocin. The diabetic animals were treated on a daily basis with either acetyl-L-carnitine (1 g L⁻¹ in drinking water) or oxfenicine (150 mg kg⁻¹ by oral gavage) for 8 wk. They were also compared with untreated age-matched diabetic controls. LV pressure and ascending aortic flow signals were recorded to calculate the maximal systolic elastance ($E_{\max}$) and the theoretical maximum flow ($Q_{\max}$). Physically, $E_{\max}$ reflects the contractility of the myocardium as an intact heart, whereas $Q_{\max}$ has an inverse relationship with the LV internal resistance.

Results:

When comparing the diabetic rats with their age-matched controls, the cardiodynamic condition was characterized by a decline in $E_{\max}$ associated with the unaltered $Q_{\max}$. Acetyl-L-

carnitine (but not oxfenicine) had reduced cardiac levels of malondialdehyde in these insulin-deficient animals. However, treating with acetyl-L-carnitine or oxfenicine resulted in an increase in $E_{\max}$, which suggests that these 2 drugs may protect the contractile status from deteriorating in the diabetic heart. By contrast, $Q_{\max}$ showed a significant fall after administration of oxfenicine, but not with acetyl-L-carnitine. The decrease in $Q_{\max}$ corresponded to an increase in total vascular resistance when treated with oxfenicine.

Conclusions:

Acetyl-L-carnitine, but not oxfencine, optimizes the integrative nature of cardiac pumping mechanics by preventing the diabetes-induced deterioration in myocardial intrinsic contractility associated with unaltered LV internal resistance.

Keywords:

Carnitine palmitoyltransferase-1 、 Elastance-Resistance Model 、 $dP/dt_{\max}$ 、 $dP/dt_{\min}$ 、 Theoretical maximum flow 、 MDA/TBARS assay

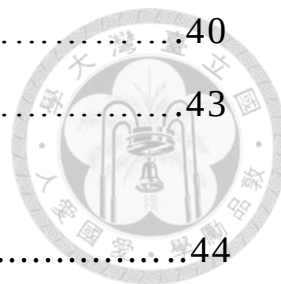
目 錄



誌謝	i
中文摘要	ii
Abstract	iv
目 錄	vi
第一章 研究背景	1
1 正常心肌細胞的能量來源是葡萄糖與脂肪酸	1
2 糖尿病與心血管疾病	3
2-1 糖尿病的血管病變	3
2-2 糖尿病的心肌病變	4
3 肉鹼棕櫚醯轉移酶-1 與肉鹼	7
3-1 乙醯左旋肉鹼	7
3-2 羥苯甘胺酸	9
4 鏈佐黴素引發之第一型(胰島素缺乏)糖尿病模式	10
5 研究目的	11
第二章 研究方法	13
1 實驗動物製備	13
2 實驗動物分組	13
2-1 乙醯左旋肉鹼之投藥方式	14
2-2 羥苯甘胺酸之投藥方式	15
3 實驗儀器介紹	15
3-1 高傳真壓力感應器	15
3-2 電磁感應血流計	16
4 實驗動物手術流程	17
5 左心室/體重比	18

6 彈性-阻力模型與左心室壓力	19
7 左心室收縮末期平衡點	21
8 心臟 $dP/dt_{\max}$ 、 $dP/dt_{\min}$ 及左心室等容壓力下降的時間常數 τ	22
9 以硫巴比妥鹽檢測法估計左心室中的丙二醇含量	22
10 統計方法	24
第三章 研究結果與討論	25
1 乙醯左旋肉鹼可以減緩因鏈佐黴素誘發之糖尿病大鼠左心室肥大	25
2 羥苯甘胺酸會增加鏈佐黴素誘發之糖尿病大鼠之主動脈平均血壓	27
3 乙醯左旋肉鹼與羥苯甘胺酸均可改善糖尿病鼠的 $dP/dt_{\max}$ ，但乙醯左旋肉鹼還可以改善 $dP/dt_{\min}$	28
4 彈性-阻力模型的擬合優度	29
5 乙醯左旋肉鹼與羥苯甘胺酸均可改善糖尿病鼠的最大收縮彈性	30
6 羥苯甘胺酸會增加糖尿病鼠週邊血管總阻力並降低理論最大血流量	31
7 週邊血管總阻力增加，理論最大血流量降低，兩者呈現負相關	32
8 乙醯左旋肉鹼可以降低糖尿病鼠心臟之 MDA/TBARS 含量	33
9 研究討論	34
10 研究成果	38
第四章 研究結論	39

第五章 研究特色.....	40
第六章 研究限制.....	43
圖次	
圖 1.....	44
圖 2.....	45
圖 3.....	46
圖 4.....	47
圖 5.....	48
表次	
表 1 ALC 與 OXF 隊以 STZ 誘發糖尿病大鼠血糖、體重與左 心室重量的影響.....	49
表 2 ALC 與 OXF 隊以 STZ 誘發糖尿病大鼠血液動力學參數 的影響.....	50
表 3 ALC 與 OXF 隊以 STZ 誘發糖尿病大鼠的心臟功能的影 響.....	51
參考文獻.....	52
附錄.....	62



第一章 研究背景



1. 正常心肌細胞的能量來源是葡萄糖與脂肪酸

正常的生理情況下，心肌細胞粒腺體 (Mitochondria) 的能量來源，有百分之七十左右依賴於游離脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 的 β -氧化作用 (β -oxidation) 而來，而只有百分之三十是使用葡萄糖作為能量來源的基質 (substrate)。由於心肌運動是高耗能的活動，因此能量的來源方式與基質的產能效率便關係到心肌細胞的正常或是病態之下的泵浦 (pumping) 功能 (An D, et al., 2006)。由於心肌的收縮與舒張作用高度依賴能量，而粒腺體本身又是細胞中之「能量工廠」，因此心肌細胞中約三分之一的體積是由粒腺體所佔據。根據估計，一個成年人的心臟，其粒腺體每天需製造六公斤的三磷酸腺甘 (adenosine triphosphate, ATP) 以供心肌細胞使用，製造的 ATP 重量約為心臟本身的十五至二十倍重，相當驚人 (Kolwicz SC Jr, et al., 2013)。

儘管每一公克的脂肪酸經氧化代謝後，可以產生 9.4 大卡 (kcal) 的熱量，相較於每一公克葡萄糖的氧化只可以產生 4.1 大卡的熱量，但是代謝脂肪酸必須比代謝葡萄糖使用更多的氧氣。根據研究顯示，每一個氧原子，若使用來氧化葡萄糖，可以得到 2.58 個 ATP，然而，若使用來代謝脂肪酸，則只可以產生 2.33 個 ATP。因此使用脂肪酸作為能量來源，儘管每一單位重量的基質可以得到較多的能量，然而其產生每一單位 ATP 的過程中，必須較使用葡萄糖為基質而言消耗

更多的氧氣。



2. 糖尿病與心血管疾病

許多臨床研究已證實糖尿病會導致心肌病變 (cardiomyopathy) 的發生，而這些心肌病變可以是經由糖尿病所引發的冠狀動脈與微血管阻塞，造成長期缺氧之間接原因所致次發性傷害，或是因為糖尿病經由改變心肌細胞代謝的基質供給和利用，直接引發心肌病變之初發性傷害 (Rodrigues B, et al., 1992; Rodrigues B, et al., 1995)。

2-1. 糖尿病的血管病變

糖尿病本身所伴隨的高血糖與高血脂，即可以是損害血管內皮細胞 (endothelium) 功能的危險因子 (Brownlee M, 2005)。內皮細胞本身透過調節血管張力 (vascular tone) 與血管通透性 (permeability)，讓血管內與細胞間的養分、蛋白質等物質維持通透平衡。而內皮細胞本身亦會釋放諸多調節因子，如一氧化氮 (nitric oxide, NO)、前列腺環素 (prostacyclins)、血管內皮素 (endothelins) 等調節血管的收縮與舒張功能，並可以影響發炎、凝血功能、血管壁增生等作用 (Schalkwijk CG, et al., 2005)。

糖尿病造成過量的葡萄糖與游離脂肪酸進入了血管中循環，經由諸多不同的機制破壞內皮細胞功能。由於粒腺體的電子傳遞鏈中產生過多的超氧化離子 (superoxide anion)，使得細胞內活性氧化物質 (reactive oxygen species, ROS) 大量增加。如此一來，細胞內的蛋白質或染色體易受到細胞過

高的氧化壓力 (oxidative stress) 影響產生破壞，造成基因轉錄、轉譯或是表現蛋白功能上的錯誤。此外，糖化最終產物 (advance glycation end products, AGEs) 也因為細胞內的高血糖與高氧化壓力而產生堆積，AGEs 造成動脈管壁中的膠原蛋白間形成錯誤的連結 (aberrant cross-link) (Schalkwijk CG, et al., 2008)，長期下來，會使動脈管壁形成不可逆的狹窄與動脈硬化。除此之外，血管內皮細胞內堆積的葡萄糖、游離脂肪酸、AGEs、ROS 等也會使內皮細胞一氧化氮生成酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 下降，造成 NO 減少。糖尿病亦會使發炎相關之因子如細胞核轉錄因子 (NF- κ B) 的活化，造成發炎物質增加，因而血管內皮細胞亦遭受破壞。而第一型解酶原活化劑抑制劑 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) 的表現增加，造成血栓溶解作用的抑制，使得血管內皮細胞的受損不易修復，並容易造成血栓的形成。這些不同的機制均是造成糖尿病患者冠狀動脈或是週邊動脈血管形成粥狀動脈硬化 (atherosclerosis)、冠狀動脈缺血、微血管阻塞等血管病變的原因。

2-2. 糖尿病的心肌病變

由於長期糖尿病所造成的血管病變，造成冠狀動脈與心肌微血管的缺血，心肌細胞長期的缺氧狀態下，葡萄糖的糖解作用 (glycolysis) 走向無氧代謝 (anaerobic metabolism)，產生過多的乳酸與氫離子堆積，造成了心肌收縮功能的異常，甚或造成心肌細胞的壞死，使得心臟組織纖維化，造成心臟

衰竭 (An D, et al., 2006)。或是週邊血管在長期糖尿病之後，逐漸發生粥狀動脈硬化，週邊血管總阻力增加，造成左心室後負荷 (afterload) 增加，引發代償性左心室肥大 (left ventricular hypertrophy) (Chang KC, 1998; Chang KC, et al., 2010)。無論是因為心肌細胞長期缺氧或是週邊血管總阻力增加造成的後負荷增加所引起的心臟衰竭，這些都是長期因糖尿病所引起的次發性心肌病變 (Kolwicz SC Jr, et al., 2013)。

然而就算是在糖尿病初期，儘管血管尚未開始產生粥狀動脈硬化，糖尿病即可因為改變了心肌細胞能量來源的基質，改變了代謝途徑，因而影響了心臟的泵浦功能，是謂心臟初發性的傷害 (An D, et al., 2006)。

糖尿病患者的心肌細胞內葡萄糖氧化功能受損，其游離脂肪酸之吸收率及使用率較一般正常個體高，約百分之九十的能量來源來自於游離脂肪酸。然而若要產生一個單位ATP，使用游離脂肪酸比起葡萄糖需要更多氧氣的消耗，因此以游離脂肪酸作為能量來源之代謝效率較差 (Vitale C, et al., 2008)。這些心肌細胞內代謝上的變化，可能會使糖尿病患者的的心臟更無法承受心肌缺血，進而心肌功能大幅降低 (Stanley WC, et al., 1997; Young ME, et al., 2002)。因此，在治療糖尿病患者時，可能的方法之一為藉由改善心臟之游離脂肪酸或葡萄糖之代謝比率，以減輕心肌對於缺血之易感受程度及左心室功能障礙 (Rodrigues B, et al., 1998)。在此，本研究主要採取的治療策略，一是藉由補充肉鹼 (carnitine) 以降低血液中游離脂肪酸的濃度，二是採用抑制肉鹼棕櫚醯轉移酶-1 (carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1) 的方式，

以阻斷線粒體吸收血液中的游離脂肪酸。



3. 肉鹼棕櫚醯轉移酶 -1 (Carnitine Palmitoyltransferase-1, CPT-1) 與肉鹼 (Carnitine)

位於粒腺體外膜上之CPT-1，在游離脂肪酸的氧化過程中是一個重要酵素，也是脂肪醯基 (fatty acyl group) 移轉進到粒腺體過程中的速率決定步驟 (McGarry JD, et al., 1983)。肉鹼是CPT-1的主要輔助因子，是脂肪醯基的受體，用以促使長鏈脂肪酸穿過粒腺體的雙層膜，以進行 β -氧化作用，並降低血液中游離脂肪酸的濃度 (Lee L, et al., 2004; Steiber A, et al., 2004)。此外肉鹼還可降低粒腺體內乙醯輔酶A (Acetyl-CoA) 與游離輔酶A (Free-CoA) 的比例，而降低乙醯輔酶A與游離輔酶A的比例會刺激丙酮酸去氫酶複合物 (pyruvate dehydrogenase complex) 之活性，進而促進葡萄糖的氧化。另一方面，若是使用CPT-1抑制劑，則可以阻止游離脂肪酸進入粒腺體中進行 β -氧化作用，此時，便會強迫細胞使用葡萄糖作為能量來源，達到切換粒腺體代謝基質的目的。

3-1. 乙醯左旋肉鹼 (Acetyl-L-Carnitine, ALC)

肉鹼 (carnitine) 約於二十世紀初被發現，其前驅物質 γ -丁基甜菜鹼 (γ -butyrobetaine) 可於肌肉細胞、心臟、肝臟、腎臟以及大腦中合成，並於肝臟、腎臟或大腦中藉由 γ -丁基甜菜鹼羥化酶 (γ -butyrobetaine hydroxylase) 將 γ -butyrobetaine轉變為肉鹼。此外，肉鹼亦可藉由食用肉類製品中攝取而來，一般而言，體內自行合成約佔四分之一，其餘身體所需知肉鹼藉由飲食而來 (Calabrese V, et al., 2006)。

肉鹼的同分異構物中，人體僅可使用左旋型結構：左旋肉鹼 (L-carnitine)。由於左旋肉鹼是游離脂肪酸進入粒腺體的過程裡CPT-1的主要輔助因子，是脂肪鹼基的受體，因此若當左旋肉鹼缺乏時，長鏈游離脂肪酸會堆積於細胞質中，造成細胞內氧化壓力的上升。

因此肉鹼衍生物可以藉由減少長鏈脂肪酸的堆積，提供良好的抗自由基能力，同時可保護組織不受氧化損傷 (Mingorance C, et al., 2011; Malaquarne M, et al., 2012)。乙鹼左旋肉鹼 (acetyl-L-carnitine, ALC) 是一種肉鹼衍生物，具有類似的生理功能，但與肉鹼相較之下，乙鹼左旋肉鹼的生物可利用率更高且抗氧化能力更強 (Liu J, et al., 2004)。乙鹼左旋肉鹼的對抗氧化壓力的作用比左旋肉鹼還要良好，可能原因為多了乙鹼基 (Fernandez E, et al., 1989)。動物研究中顯示乙鹼左旋肉鹼在大鼠心肌細胞的微粒體 (microsomes) 中，對於草鹼胺腺嘌呤二核苷酸磷酸鹽 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 所誘發之脂質過氧化作用具有保護作用 (Schinetti ML, et al., 1987)。此外，臨床上也發現，以乙鹼左旋肉鹼進行長期治療，對於預防糖尿病患者出現漸進性心肌交感神經功能喪失，可能具有潛在價值 (Turpeinen AK, et al., 2000)。

3-2. 羥苯甘胺酸 (Oxfenicine , OXF)

羥苯甘胺酸 (4-hydrophenyl glycine , Oxfenicine , OXF) 是CPT-1抑制劑的一種。羥苯甘胺酸在進入細胞後，會經由轉胺酶 (transaminase) 形成 4-羥苯基乙醛酸 (4-hydroxyphenylglyoxylate)，抑制CPT-1的活性。CPT-1被抑制後，長鏈醯基肉鹼 (acylcarnitine) 無法形成，使得長鏈脂肪酸無法通過粒腺體的雙層膜，阻止粒腺體使用游離脂肪酸進行 β -氧化作用，進而強迫粒腺體改以葡萄糖代謝，以葡萄糖作為能量基質。由於CPT-1有兩種不同的同功酶 (isoenzyme)，分別為肝臟中的L-CPT-1與心肌或骨骼肌中的M-CPT-1，而羥苯甘胺酸對M-CPT-1的抑制效果比L-CPT-1來得高，因此羥苯甘胺酸可視為對肌肉具選擇性的藥物 (Stephens TW, et al., 1985)。

羥苯甘胺酸藉由阻止粒腺體使用游離脂肪酸進行 β -氧化作用，進而強迫粒腺體改以葡萄糖代謝以增加心肌的用氧效率，增強心肌收縮力，研究發現可能可以用來治療心衰竭 (Rupp H, et al., 2002)。使用另一種CPT-1抑制劑etomoxir也發現，可以改善心臟在壓力負荷增加 (pressure-overload) 下異常的基因表現，使心臟肌凝蛋白 (myosin) 兩種不同的同功酶V1與V3正常化，改善心臟在壓力負荷增加下的表現 (Turcani M, et al., 1999)，或是讓肌質網 (sarcoplasmic reticulum, SR) 上的 Ca^{2+} -pump ATPase 以及肌細胞膜 (sarcolemma) 上的 Na^{+} - K^{+} ATPase正常化，改善糖尿病性心肌病變的心臟功能 (Kato K, et al., 1999)。

4. 鏈佐黴素 (Streptozotocin, STZ) 引發之第一型 (胰島素缺乏) 糖尿病模式

鏈佐黴素 (streptozotocin, STZ) 原為 1950 年代所發現的抗生素，是由土壤中名為 *Streptomyces achromogenes* 的微生物提煉而得 (Vara JJ, et al., 1959)。Rakieten N 等人發現鏈佐黴素 STZ 對胰臟蘭氏小島的 β 細胞具有選擇性的破壞作用，可使動物體喪失製造胰島素之能力 (Rakieten N, et al., 1963)，產生類似於第一型糖尿病的症狀，使動物產生高血糖、體重減輕等特點 (Tomlinson KC, et al., 1989)。

以 STZ 誘發糖尿病的作用與所使用的劑量有關 (Junod A, et al., 1969)，以 35 mg kg^{-1} 之劑量可以誘發輕微糖尿病，而若用至 100 mg kg^{-1} 之劑量施打後 2 到 3 天後，即會造成動物死亡。本項研究 STZ 劑量的使用範圍為 $55\sim 65 \text{ mg kg}^{-1}$ 。因為一般在研究糖尿病對心血管所造成之影響的實驗中，若使用 $55\sim 65 \text{ mg kg}^{-1}$ 的 STZ 所誘發的糖尿病可使得動物體雖然出現高血糖的現象，但在不提供胰島素的情況下，仍能存活相當長的一段時間，因此可用來觀察在長時間不受控制的糖尿病發病狀態對心血管系統造成的影響 (Tomlison KC, et al., 1992)。在本實驗室之前的研究中發現，以 STZ 誘發的糖尿病大鼠會出現大動脈管硬化，以及心室肥大的現象 (Chang KC, et al., 2006)，因此本篇選用此藥物來誘發 Wistar-Kyoto 大鼠，作為第一型糖尿病的實驗動物模型。

5. 研究目的

我們的實驗室團隊過去亦曾經證實，以ALC治療第一型糖尿病大鼠，可以經由降低糖尿病鼠主動脈中丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量，進而進一步減輕第一型糖尿病大鼠的動脈硬化情況。然而若改以OXF治療糖尿病鼠，不但不會改善病鼠動脈硬化的症狀，反而造成MDA在心血管組織內的囤積 (Chang KC, et al., 2010)。

由於MDA是由脂質氧化產生的自由基所形成的高毒性副產物，可與膠原蛋白反應，並形成MDA-膠原蛋白交互聯結產物，會對心血管系統造成高風險疾病 (Slatter DA, et al., 1999; Slatter DA, et al., 2000)。因此，我們想回答的問題為：第一型糖尿病所引起的心肌病變，若分別使用ALC或是OXF治療，儘管兩者對於心血管之MDA所造成之影響正好相反，是否均可有效改善糖尿病對心臟功能的損害呢？

左心室的心肌層是由具有黏彈性 (visco-elastic) 的物質所構成，其力學特性反應在心室腔的功能上，即心室壓力、體積和流量之間的關係 (Hunter WC, et al., 1983; Shroff SG, et al., 1983)。在這項研究中，我們以STZ誘發糖尿病之雄性Wistar-Kyoto大鼠作為動物模型，比較ALC與OXF對大鼠心臟泵浦力學 (cardiac pumping mechanics) 的影響，其中特別探討對壓力-血流量-容積 (pressure-flow-volume) 關係的影響。使用彈性-阻力模型 (elastance-resistance model) 測量左心室壓力與升主動脈的血流量信號，以評估心室泵浦的收縮力學行為 (Campbell KB, et al., 1986; Schroff SG, et al.,

1992)。在給予ALC或OXF後，對糖尿病大鼠心臟的MDA含量進行檢測。



第二章 研究方法



1. 實驗動物製備

本實驗的實驗動物為使用八週大的Wistar-Kyoto雄性大鼠，約二至三隻一籠，於台大醫學院實驗動物中心分籠飼養並進行實驗測試。動物飼養室之溫度控制在 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光週期為12小時光亮，12小時黑暗（熄燈時間為每天下午八時至隔天上午八時），以充足水源及飼料（粗蛋白質23.5%以上、粗脂肪4.5%以上、粗纖維素6%以下、水分12%以下、灰份9%以下）餵食。所有動物實驗操作皆在符合台大醫學院實驗動物中心所制定之實驗動物照顧與使用指導規範下進行。

2. 實驗動物分組

為研究第一型糖尿病動物模式之特性，以及分別投予藥物乙醯左旋肉鹼ALC (acetyl-L-carnitine, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 或羥苯甘胺酸OXF (oxfenicine, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 之治療效果對於大鼠心室泵浦收縮力學行為的影響，隨機將Wistar-Kyoto大鼠分成6組：(i) 正常對照組 (normal control, NC) ($n = 16$)；(ii) 正常大鼠餵予ALC (NC+ALC) ($n = 16$)；(iii) 正常大鼠餵予OXF (NC+OXF) ($n = 16$)；(iv) 以STZ誘發糖尿病之大鼠 (STZ-induced diabetes, DM) ($n = 16$)；(v) 糖尿病大鼠餵予ALC (DM+ALC) ($n = 16$)；(vi) 糖尿病大鼠餵予OXF (DM+OXF) ($n = 16$)。

第一型糖尿病的誘發模式是採用八週大之 Wistar-Kyoto 雄性大鼠，先將其禁食24小時後，再以 35 mg kg^{-1} 的戊巴比妥鈉溶液 (sodium pentobarbital; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.) 進行腹腔注射麻醉，待麻醉完畢後於其尾靜脈注射 55 mg kg^{-1} 的 STZ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.)，並於動物中心內待其甦醒歸回籠位靜置。STZ 注射二星期後，進行實驗動物的血糖測量，測量方式是以針頭於大鼠尾部採集一小滴血液，滴在血糖測試紙 (Ascensia ELITE® Test Strips) 上之測定區，再利用 (Ascensia ELITE® XL Blood Glucose Meter) 血糖測試機檢測，當血糖值大於 300 mg dL^{-1} 以上即可確認為糖尿病。將確認誘發成功之糖尿病鼠隨機分為糖尿病組與糖尿病治療組。糖尿病治療組以及正常藥物餵食組開始餵食藥物八週，藥物投予方式將分述如下：

2-1. 乙醯左旋肉鹼 ALC 之投藥方式

過去研究顯示，在1升飲用水中溶入1克 (1 g L^{-1}) ALC 可對以 STZ 誘發糖尿病之大鼠發揮保護心臟的作用 (Malone JJ, et al., 2006)。因此本研究之設計，即以添加 ALC 在飲用水的方式，對第一型糖尿病大鼠投予 1 g L^{-1} 的 ALC。由於相較於糖尿病組大鼠，正常組大鼠的體重較重，且飲水量較低，因此給予正常組大鼠的飲用水含有 3 g L^{-1} 的 ALC。並根據我們測量到的每一籠大鼠每天的飲水量，計算出每隻大鼠的平均飲水量。待實驗結束時，糖尿病組的飲用量為 $48.2 \pm 0.5 \text{ mL d}^{-1}$

¹，正常組為 $23.1 \pm 0.4 \text{ mL d}^{-1}$ ，根據此結果可推算，糖尿病組中平均每隻大鼠攝取的ALC劑量為約 148 mg kg^{-1} ，正常組為約 146 mg kg^{-1} ，顯示兩組所攝取的ALC劑量相同。



2-2 羥苯甘胺酸OXF之投藥方式

由於OXF對水的溶解度不佳，因此以濃度1%之羧甲基纖維素鈉鹽 (carboxymethylcellulose sodium salt, CMC; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.) 做為藥物懸浮溶劑，每日給予治療組大鼠胃管餵食 150 mg kg^{-1} 的OXF。糖尿病組大鼠則給予等量的懸浮液作為對照，正常組與正常組的治療大鼠也在相同的週數時給予相同的餵食處理。

經過八週餵食處理後，開始進行實驗，觀察第一型糖尿病的誘發以及給予ALC或OXF治療後對大鼠心室泵浦收縮力學行為的影響。

3. 實驗儀器介紹

3-1. 高傳真壓力感應器 (High Fidelity Pressure Sensor)

早期的壓力測量儀器是使用流體耦合系統，經由液體填充管將壓力傳送到外接之壓力感應器。但由於管線，如polyethylene tube內的液體在傳送壓力訊號的過程中會消耗能量，且訊號波中各個頻率的衰減值各不相同，因此由此系統所得之訊號會有失真之虞。有鑑於此，本實驗使用高傳真

米拉導管 (Millar catheter; model SPC 320, size 2F; Millar Instrument, Houston, TX, U.S.A.)，其感應器位於導管前方 (catheter-tip pressure transducer)，直接在壓力測量點將血壓訊號轉變為電訊號，再經由導線將此電訊號傳至放大器，因此，能避免流體耦合系統在訊號傳送過程中頻率失真的問題。

3-2. 電磁感應血流計 (Electromagnetic Flowmeter)

對於穩態血流 (steady-state flow) 測量時，可用 Fick's principle 和 Indicator Dilution Techniques，但本實驗還需考慮血管的脈態性質，因此需測量脈態血流訊號 (pulsatile flow)。一般所謂的血流計 (flowmeter) 主要是指，可測量脈態血流之儀器 (Milnor WR, 1989)。目前最廣泛使用的是電磁感應血流計，其理論基礎為 Michael Faraday 所發現的電磁感應 (electromagnetic induction) 原理。此原理在說明，一導電物質在磁場中運動會產生感應電動勢 (electromagnetic force)，此電動勢之方向垂直於磁場和物質的運動方向、大小正比於磁場大小和物體的運動速率。本實驗使用方波電磁感應血流計 (square-wave electromagnetic flowmeter, Model 501D; Carolina Medical Electronic Inc., King, NC, U.S.A.)，配合環套血流探頭 (perivascular cuff flow probe, Model 100 series, internal circumference 8 mm; Carolina Medical Electronic Inc., King, NC, U.S.A.)，能在血管上提供一磁場，當脈態血流流過時會產生一感應電動勢，此電動勢大小與血流大小成正比，經放大後可直接由磁帶記錄器記錄。

4. 實驗動物手術流程

麻醉大鼠的一般手術操作與測量取得心臟血管力學參數的方法如過去本實驗室所發表的文獻所述 (Chang KC, et al., 2002)。本實驗於手術前先以 50 mg kg^{-1} 的戊巴比妥鈉 (sodium pentobarbital; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.) 對大鼠進行腹腔注射麻醉，再以電動剃毛剪將頸部、胸部右側開胸位置的毛剃除，並固定四肢於手術木板上，將大鼠置放在加熱墊上，並給予光照以維持體溫。以針頭在大鼠尾部採集一小滴血，利用血糖測試機檢測並記錄其血糖數值。接著接上第二肢導心電圖記錄電極，測量其心電圖訊號，並施以氣管插管維持呼吸順暢。心電圖訊號測量是使用 ECG/Biotach amplifier (Gould, Cleveland, OH, U.S.A.)。預先浸泡於 25°C 生理食鹽水中30分鐘的米拉導管，手術時由右頸動脈插入後，逆著血流推進至升主動脈根部 (aortic root)。接著，將氣管插管接上呼吸器 (Model 131, New England Medical Instruments, Medway, MA, U.S.A.)，調整呼吸頻率以及潮氣容積使接近大鼠的自然呼吸狀態。等待大鼠呼吸穩定後，於右側第二肋間處施行開胸手術，將內徑8釐米的電磁血流探頭套入升主動脈外壁，以測量主動脈血流 (aortic flow) 的訊號。血流計的頻率響應 (frequency response) 設在100 Hz，即血流之測量頻率響應應於100 Hz之衰減量為3 dB。調整血壓感應器插入左心室 (left ventricle)，以測量左心室壓力，並以ECG的R波波峰代表心搏基點，選擇記錄在5至10個心搏的時域 (time domain) 中之左心室壓力與升主動脈血流量信號。使用單跳測量方法 (single-beat estimation) 計算出

收縮彈性與阻力 (systolic elastance and resistance)，以說明實驗動物的心臟泵浦力學特徵 (Chang KC, et al., 1997; Chang KC, 1998)。



待訊號記錄完畢之後，利用針管於右心房抽取大約3毫升的血液，將血液收集至含有5.4 mg (K₂)EDTA的血液保存管 (BD Vacutainer®, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ)，以4℃、轉速為1600 g的離心機中離心10分鐘，吸取上層淡黃色血漿置於1.5毫升的小離心管並保存於-80℃冰箱中，便於進行後續血漿生化物質之測定。最後以3 M的氯化鉀 (KCl) 將動物犧牲，取其心臟及主動脈以磷酸緩衝溶液 (phosphate buffer saline, PBS buffer) 清洗血漬，剪下左心室後測量重量並收集至離心管，置於-80℃冰箱中保存。

5. 左心室/體重比

左心室收縮負荷增加常伴隨著左心室代償性肥大 (compensatory hypertrophy) 的現象，但由於糖尿病鼠與正常鼠體重差異很大，連帶的也會影響到左心室重量，因此將測量到的左心室重量除以體重予以標準化，用來作為判定是否有心室肥大之指標。

$$\text{左心室/體重比} = \frac{LVW}{BW}$$

其中 LVW = 左心室重量

BW = 體重

6. 彈性-阻力模型 (Elastance-Resistance Model) 與左心室壓力

若模型的參數為已被預先確定，則模型中左心室的壓力 $\hat{P}(t)$ 可藉由彈性-阻力模型來預測 (Campbell KB, et al., 1986; Shroff SG, et al., 1992)。左心室瞬間壓力 (instantaneous LV pressure)、等容壓力 (isovolumic pressure) 與主動脈血流量之間的關係可表示如下：

$$\hat{P}(t) = P_{iso}(t) \left[1 - \frac{V_{ej}(t)}{V_{eed}} \right] \left[1 - \frac{Q(t)}{Q_{max}} \right] \quad (1)$$

其中 $V_{ej}(t)$ = 以數值計算主動脈的血流量信號

$Q(t)$ = 所得的瞬間射血體積

Q_{max} = 理論最大血流量 (theoretical maximum flow)

V_{eed} = 有效左心室舒張末期容積 (effective LV end-diastolic volume)，其為左心室舒張末期容積 (LV end-diastolic volume) 與壓力-容積圖軸線之零點截距之間的差異。

$P_{iso}(t)$ = 舒張末期將靠近主動脈竇的升主動脈阻塞所得到的等容壓力 (isovolumic pressure)。

在本研究中， $P_{iso}(t)$ 是以非線性最小平方逼近法 (nonlinear least-squares approximation technique)，從收縮射血壓力量測值衍生所得 (Sunagawa K, et al., 1980):

$$P_{iso}(t) = \frac{1}{2} P_{id \max} [1 - \cos(\omega t + c)] + P_d \quad (2)$$

其中 $P_{id \max}$ = 推導出之最大等容壓力 (peak-developed isovolumic pressure)

ω = 角頻率 (angular frequency)

c = 正弦曲線的相移角 (phase shift angle of sinusoidal curve)

P_d = 左心室舒張末期壓力 (LV end-diastolic pressure)。

根據圖1B，可知 $P_{iso}(t)$ 是將從實驗動物左心室壓力量測值曲線之舒張末期壓力擬合到波峰 (斜率 $+dP/dt$)，以及從波峰壓力擬合到與上一個的舒張末期壓力相同 (斜率 $-dP/dt$) 所估計的等容壓力 (Takeuchi M, et al., 1991)。因此可以利用ECG的R波波峰來辨識左心室舒張末期點。此外，最大等容壓力的估計值為最大等容壓力與左心室舒張末期壓力的壓力總和。

有效左心室舒張末期容積與理論最大血流量均是需以曲線擬合法 (curve-fitting techniques) 求出的模型參數。根據Campbell等人發表過的文獻發現，若擬合間隔 (fitting-interval) 為 $t_{ej} < t < t_{pisomax}$ ，公式(1)則可有效地擬合射血心搏的左心室壓力量測值 (Campbell KB, et al., 1986)，

其中 t_{ej} = 心室射血起始點

$t_{piso\ max} =$ 最大等容壓力的時間點。

其方法為，先選定有效左心室舒張末期容積與理論最大血流量的初始值。隨後利用內爾德 - 米德的簡單算法 (Nelder-Mead simple algorithm) 反覆調整有效左心室舒張末期容積與理論最大血流量，以便將均方根誤差 (root-mean-square error, e_p) 最小化 (Dennis JE, et al., 1987)。最後將與最小目標函數一致的參數記錄為左心室收縮泵浦動力學的模型估計值 (圖1C)。因此，可利用 $E(t) = P_{iso}(t)/V_{eed}$ 來計算左心室的收縮彈性 (systolic elastance)。由於其最大值為最大收縮彈性 ($E_{max} = P_{isomax}/V_{eed}$)，因此可以 $R(P_{iso}) = P_{iso}(t) = Q_{max}$ (Shroff SG, et al., 1992) 來表示左心室的內部阻力。此外，可利用主動脈平均血壓除以主動脈平均血流量，來計算體循環的週邊血管總阻力 (total peripheral resistance, $R_p = \text{mean aortic pressure}/\text{mean aortic flow}$)。

7. 左心室收縮末期平衡點 (Left Ventricular End-Systolic Equilibrium Point)

我們可以利用公式(2)來對左心室舒張末期容積的最大等容壓力 (P_{isomax}) 進行評估。由於壓力 - 射血量迴路 (pressure-ejected volume loop) 是由主動脈流量的時間積分及左心室壓力量測值所得。因此，從左心室舒張末期容積的最大等容壓力預估值劃一條切線到壓力 - 射血量迴路的右側角落，即可取得收縮末期的平衡點 (Chang KC, 1998; Barnea O, et al., 1990)。

8. 心臟 $dP/dt_{\max}$ 、 $dP/dt_{\min}$ 及左心室等容壓力下降的時間常數 τ

我們可藉由判讀左心室脈動性壓力波型，得到心臟 $dP/dt_{\max}$ 、 $dP/dt_{\min}$ 及左心室等容壓力下降的時間常數 (time constant, τ)。其中，左心室舒張末期點被判定為 ECG R 波的波峰。在左心室等容舒張 (isovolumic relaxation) 期間，其壓力下降的時間常數是利用 Weiss 等人所提出之方法計算而得 (Weiss JL, et al., 1976)；所得到的 τ 是 $\ln P$ 與 t 相對關係的負斜率倒數。由於左心室等容壓力假定為單指數下降，因此僅在 $\ln P$ 與 t 之間的關係產生高線性相關係數時，來檢視 $\ln P$ 與 t 相對關係的線性度並計算左心室的 τ 值。

9. 以硫巴比妥鹽檢測法 (Thiobarbituric Acid, TBA Assay) 估計左心室中的丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量

由於 MDA 並不是唯一可以和 TBA 反應的生理分子 (Del Rio D, et al., 2005)，因此 TBA assay 檢測的結果為「TBA 反應物質」(TBA reactive substances, TBARS) 而不是 MDA。然而這卻是最常用於檢測丙二醛，以代表脂質氧化產生自由基的程度的指標。因此本研究仍使用 TBARS 以預測 MDA 含量。

檢測左心室 MDA/TBARS 含量是使用 Cayman 化學公司生產的 TBARS kit (Beuge JA, et al., 1978)。作用原理為：利用 MDA 與 TBA 在高溫下 (90-100°C) 反應生成含有顏色的

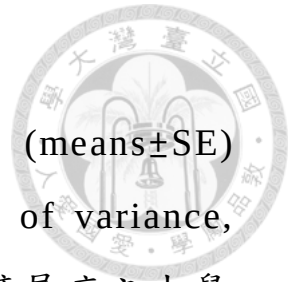
MDA-TBA 錯合物，再檢測該物質的吸光值強弱以判定濃度大小。

進行 MDA 測量前，將所有組織以含有 1% 蛋白質酵素抑制劑 (protease inhibitor; Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 之 RIPA 緩衝液 300 μ l (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 中均質化，於 4°C 以 1600 g 離心 10 分鐘，收得之上清液即為左心室 MDA 樣本。

首先利用廠商提供的 MDA 標準溶液調配濃度，使其分別為 0、0.625、1.25、2.5、5、10、25 以及 50 μ M 的標準溶液作為測量時定量的標準。將欲測量之血漿樣本、主動脈丙二醛樣本與經稀釋的標準溶液各吸取 40 μ l 加入 2 ml 離心管，在各別加入 40 μ l 的十二烷基硫酸鈉 (sodium dodecyl sulfate, SDS) 溶液，而後依序加入 1.6 ml 配置好的呈色試劑 (其中含有 TBA) 於各離心管中，置於 100°C 水浴槽中使其反應一小時，之後取出置於冰上冷卻十分鐘以終止反應，接著將各管於 4°C 以 1600 g 離心十分鐘去除懸浮雜質，取其上清液 150 μ l 分別加入 96 孔洞盤中，利用盤式分析儀讀測其在波長 540 nm 的吸光值。最後利用不同濃度標準液所測得的吸光值做標準曲線，再利用內插法反推各組血漿及組織樣本中所含 MDA/TBARS 的濃度。並同時以 Bradford 法 (DCProtein Assay, Bio-Rad) 測定樣本中含有的蛋白質含量 (Bradford MM, 1976)。

10. 統計方法

本論文中的實驗結果均以平均值±標準誤差 (means±SE) 表示。雙因子變異數分析法 (two-way analysis of variance, ANOVA) 可用來評估ALC與OXF對以STZ誘發糖尿病之大鼠的心臟動力學與代謝的影響。當糖尿病與ALC或OXF之間出現顯著的交互作用時，單純效應分析 (simple effect analysis) 可用來顯示統計上的差異。任一參數其組別間之差異程度可用Tukey's honestly significant difference method分析之。當 $P<0.05$ 時則認為達到統計上之顯著差異。



第三章 研究結果與討論



1. 乙醯左旋肉鹼 (ALC) 可以減緩因鏈佐黴素 (STZ) 誘發之糖尿病大鼠左心室肥大

表1顯示 ALC 與 OXF 對糖尿病組大鼠的血糖值 (blood sugar, BS)、體重 (body weight, BW)、左心室重量 (LV weight, LVW) 與左心室肥厚 (LV hypertrophy, LVW/BW) 的影響。由於 STZ 會對胰臟蘭氏小島 β 細胞造成專一性的破壞，導致個體胰島素分泌量不足，因此在表1中可發現，STZ 所誘發之糖尿病組中所觀察到的高血糖病徵即使投予 ALC 或 OXF 治療而獲得改善，顯示此2種藥物不會對血糖造成影響。而長期處於高血糖狀態下的老鼠，其體重及左心室重量與正常組相較皆有明顯下降的趨勢，在接受 ALC 治療後，體重與未經治療的糖尿病鼠明顯增加許多 (326.6 ± 10.1 vs. 292.1 ± 8.1 g, $P < 0.05$)，但左心室重量卻與未接受治療的糖尿病對照組無顯著差別。

由於糖尿病組的體重相較於正常組有顯著下降的情形，為排除體重對左心室重量的影響，每隻老鼠皆採取左心室重量除以體重進行標準化得到左心室比率，此數值可作為評估是否有左心室肥厚的指標。糖尿病組與正常組相比，左心室比率有顯著的增加 (2.359 ± 0.06 vs. 1.852 ± 0.03 mg g⁻¹, $P < 0.05$)，顯示糖尿病組具有左心室肥厚的現象。而在對糖尿病鼠施予 ALC 治療後，與糖尿病組相比，可觀察到左心室比率有顯著下降的情形 (1.944 ± 0.031 vs. 2.359 ± 0.06 mg g⁻¹, $P < 0.05$)，顯示 ALC 可能具有改善因糖尿病引發左心室肥厚的

功能。相較之下，OXF的投予並沒有造成糖尿病組的體重、左心室重及左心室比率出現顯著改變。而對於正常組大鼠投予ALC及OXF治療，皆不會影響正常組的體重、左心室重及左心室比率等結果。



2. 羥苯甘胺酸 (OXF) 會增加鏈佐黴素 (STZ) 誘發之糖尿病大鼠之主動脈平均血壓

表2顯示ALC與OXF對糖尿病組大鼠基礎血液動力學參數的影響。由此表可發現，糖尿病組的基礎心跳速率 (basal heart rate, HR) 與正常組相比，可觀察到顯著下降的現象 (337.5 ± 3.8 vs. 407.8 ± 9.9 beat min⁻¹, $P < 0.05$)，但此心跳速率下降的情形並未因投予ALC或OXF而得到改善。相對地，OXF明顯地提升糖尿病組的主動脈平均血壓及降低其心臟輸出量 (cardiac output, CO)，而ALC則無此影響。但是以這兩種藥物治療糖尿病組，均不會對糖尿病所引起的心臟輸出量指數 (cardiac index, CI) 達到明顯改善的作用。對正常鼠來說，ALC及OXF的給予皆不會對其血行動力學造成顯著的變量。

3. 乙醯左旋肉鹼 (ALC) 與羥苯甘胺酸 (OXF) 均可改善糖尿病鼠的 $dP/dt_{\max}$ ，但 ALC 還可以改善 $dP/dt_{\min}$

表3顯示 ALC與 OXF對糖尿病組大鼠心臟泵浦功能的影響。

以 OXF治療的糖尿病組可顯著地提升左心室收縮末期壓力 (112.5 ± 3.0 v.s. 96.2 ± 1.6 mmHg, $P < 0.05$)，而 ALC則無此影響。但 ALC與 OXF皆無法防止糖尿病引起的左心室舒張末期壓力 (P_{ed}) 增加。在給予 ALC與 OXF治療後，皆可減緩糖尿病組 $dP/dt_{\max}$ 降低 (8615.7 ± 353.2 v.s. 6918.1 ± 209.7 mmHg s^{-1} , $P < 0.05$; 8220.9 ± 317.9 v.s. 6918.1 ± 209.7 mmHg s^{-1} , $P < 0.05$)。

此外，對糖尿病組施用 ALC治療亦可減緩糖尿病引起的 $dP/dt_{\min}$ 降低 (-5926.9 ± 225.4 v.s. -5008.5 ± 198.5 mmHg s^{-1} , $P < 0.05$)。同時，ALC的治療也可縮短因糖尿病引起的左心室等容壓力下降時間常數 (11.13 ± 0.38 v.s. 14.81 ± 0.65 ms, $P < 0.05$) 的延長。但是 OXF的治療卻對糖尿病組的 $dP/dt_{\min}$ 或左心室等容壓力下降時間常數皆無助益。

另一方面，根據資料顯示，ALC與 OXF的投予皆不會對正常組的心臟功能造成影響。

4. 彈性-阻力 (Elastance-Resistance) 模型的擬合優度 (goodness of fit)

圖1A與1B中，實線與曲線分別顯示一隻對照組大鼠的升主動脈的血流量信號量測量值與左心室壓力波型。在圖1B中，虛線表示舒張末期容量的等容壓力曲線，此是藉由將正弦函數擬合到左心室壓力量測值的等容部分進行估算。

圖1C與圖1D顯示在擬合間隔為 $t_{ej} < t < t_{pisomax}$ 期間，左心室壓力波型的計算值與量測值相似。所有實驗動物 ($n = 96$) 的擬合品質，可以 e_p 平均值 (0.0041 ± 0.0002) 來表示。而模型擬合優度也反映在高確定係數 (coefficient of determination) (0.9901 ± 0.0005) 與相對而言較低的估計標準誤 ($2.41 \pm 0.09\%$)。如此一來，我們才得以使用彈性-阻力 (elastance-resistance) 模型，以模擬參數有效左心室舒張末期容積與理論最大血流量分析心臟泵浦動力學。

5. 乙醯左旋肉鹼 (ALC) 與羥苯甘胺酸 (OXF) 均可改善糖尿病鼠的最大收縮彈性 E_{max}

圖2顯示 ALC 與 OXF 對糖尿病性心臟疾病的舒張末期容量的最大等容壓力 (A)、有效左心室舒張末期容積 (B) 與最大收縮彈性 (C) 等估計值的影響。

相較於正常組，糖尿病組的舒張末期容量的最大等容壓力值顯著降低，而且有效左心室舒張末期容積值則顯著升高，此結果造成最大收縮彈性 ($E_{max} = P_{isomax}/V_{eed}$) 明顯下降。在經過以 OXF 進行治療後，糖尿病大鼠的舒張末期容量的最大等容壓力出現明顯上升，且有效左心室舒張末期容積顯著下降，此結果顯示 OXF 的治療能夠顯著增加最大收縮彈性。另一方面，在不會顯著影響舒張末期容量的最大等容壓力的情況下，ALC 的治療對糖尿病組的最大收縮彈性仍有助益，可結果可能與 ALC 可顯著地降低有效左心室舒張末期容積有關。

此外，ALC 與 OXF 的投予皆不會對正常組的心臟動力變量造成影響。

6. 羥苯甘胺酸 (OXF) 會增加糖尿病鼠週邊血管總阻力 R_p 並降低理論最大血流量 $Q_{\max}$

圖3顯示ALC與OXF對糖尿病大鼠的週邊血管總阻力 (A) 與理論最大血流量 (B) 的影響。

相較於正常組，糖尿病組的週邊血管總阻力與理論最大血流量皆無明顯變化。在接受OXF治療後，糖尿病大鼠的週邊血管總阻力明顯提高，而理論最大血流量則降低。相對地，以ALC治療糖尿病大鼠則不會影響病鼠的週邊血管總阻力與理論最大血流量。

另一方面，以ALC與OXF的給予正常組大鼠，兩者皆不會對正常大鼠的週邊血管總阻力與理論最大血流量造成影響。

7. 週邊血管總阻力 R_p 增加，理論最大血流量 $Q_{\max}$ 降低，
兩者呈現負相關

圖4顯示將所有組別的數據合併後，理論最大血流量與週邊血管總阻力之間明顯呈反比關係 (**圖4A**, $Q_{\max} = 47.7300 - 0.20646 \times R_p$ and $r = 0.2909$; $p < 0.005$)。耐人尋味的是這兩個參數之間顯著的負相關係數，主要源自糖尿病組與糖尿病餵食 OXF 組的數據 (**圖4B**, $Q_{\max} = 50.9368 - 0.3126 \times R_p$; $r = 0.4390$; $p < 0.05$)。

8. 乙醯左旋肉鹼 (ALC) 可以降低糖尿病鼠心臟之 MDA/TBARS 含量

將糖尿病大鼠與同週齡對照組大鼠比較時，其代謝狀態的特徵為血漿中的游離脂肪酸含量 (Chang KC, et al., 2010) (附錄) 及心臟中 MDA/TBARS 含量均呈現上升狀態 (圖5)。

以 ALC 治療的糖尿病大鼠，其因糖尿病造成明顯上升的血漿中游離脂肪酸含量及心臟中 MDA/TBARS 含量獲得顯著的改善。相反地，以 OXF 治療的糖尿病組不但不會降低心臟中之 MDA/TBARS 含量，還會使已經偏高的血漿之游離脂肪酸含量更為增高 (Chang KC, et al., 2010) (附錄)。

另一方面，ALC 與 OXF 的餵予均不會對正常組的 MDA/TBARS 含量造成影響。

9. 研究討論

本實驗室的先前研究便顯示OXF會使週邊動脈的 R_p 升高，可與血漿中FFA含量升高對應，而ALC則無此影響 (Chang KC, et al., 2010)。相對地，因ALC可降低DM組主動脈的MDA/TABRS含量，ALC可減輕糖尿病造成的動脈硬化與心肌梗厚。

在本研究中，我們就ALC與OXF對第一型（胰島素缺乏型）糖尿病大鼠在心臟泵浦力學方面的影響進行比較。可以 $E_{\max}$ 與 $Q_{\max}$ 作為心室泵浦收縮力學行為的特徵 (Campbell KB, et al., 1986; Shroff SG, et al., 1992)。就物理上而言，可將 $E_{\max}$ 作為彈性指標，其反映著收縮狀態的細微變化，且與心室特定收縮狀態的前負荷、後負荷及心跳數均無關 (Suga H, et al., 1973; Hunter WC, et al., 1983)。因此， $E_{\max}$ 代表完整心臟的心肌收縮力。然而 $Q_{\max}$ 與LV內部阻力則呈反比關係， $Q_{\max}$ 是在零負荷條件收縮射血情況下，心室所產生的射血流出量 (Shroff SG, et al., 1992)。本研究結果顯示ALC與OXF皆可提升 $E_{\max}$ ，表示可防止糖尿病性心臟疾病的收縮狀態惡化。但OXF會降低 $Q_{\max}$ 降低，意味著LV的內部阻力升高，進而降低DM組的心室射血流出量。本研究的獨創性在於藉由 $Q_{\max}$ 及 $E_{\max}$ 對以ALC或OXF治療糖尿病性心肌病變大鼠，區分其兩者對心臟的泵浦功能所造成的影響。

在糖尿病性心心肌病變中，胰島素調節功能異常可能會導致鈣恆定 (calcium homostasis) 及肌球蛋白同功酶 (myosin isoenzyme) 的失調 (Dillmann WH, 1980; Malhotra

A, et al., 1981; Penpargkul S, et al., 1981), 進而造成心臟泵浦力學的缺陷。如前所述, 我們可藉由 P_{isomax} 除以 V_{eed} 的比率代表 LV E_{max} 。在本研究中, P_{isomax} 顯著下降暗示著糖尿病大鼠的心肌層無法產生足夠的壓力對應升高的 V_{eed} , 以維持足夠之 E_{max} 。在糖尿病心肌病變中 P_{isomax} - V_{eed} 關係惡化, 代表心肌的基礎協同機制, 例如長度-敏感性 (length-sensitivity) (Rice JJ, et al., 1999), 可能受到損害。另一方面, 在糖尿病性心臟病也發現肌球蛋白同功酶從高活性 V_1 亞型 (fast V_1 isoform) 轉為低活性 V_3 亞型 (slow V_3 isoform) (Dillmann WH, 1980; Malhotra A, et al., 1981; Penpargkul S, et al., 1981)。雖然 Shroff 等人 (Shroff SG, et al., 1992) 表示 Q_{max} 與低活性 V_3 亞型呈相反關係, 但在本研究中並未發現 DM 組的 Q_{max} 有明顯變化。

動物實驗證實 carnitine 含量在罹患糖尿病性心肌病變的心臟中 (Paulson DJ, et al., 1992) 受到抑制。在本研究中, 我們亦發現以 ALC 治療 STZ 所誘發的糖尿病鼠, 可以改善其 V_{eed} 損害, 進而使 E_{max} 得以顯著提升。Neely 與 Morgan (Neely JP, et al., 1974) 表示, 較高的血漿 FFA 含量及其脂肪醯基輔酶 A (fatty acyl-CoA ester) 等酯類, 可能會對心肌結構與功能不利。Folden 等人 (Folden DV, et al., 2003) 也證實 MDA 在脂質過氧化及與氧化壓力相關的心臟功能障礙中有一定的角色。因此, 在本研究中以 ALC 治療 STZ 誘發之糖尿病鼠, 其心臟幫浦功能得到改善, 可能可以歸功於 ALC 所產生的血漿 FFA 及心臟中 MDA 含量的降低。

相較下, 以 OXF 治療 DM 組, 在心臟中 MDA 含量沒有明顯

變化的情況下，反而會使已經偏高的血漿FFA含量更高 (Chang KC, et al., 2010)。因此推測OXF對糖尿病性心臟疾病可能沒有助益，甚至會使LV的收縮狀態惡化。然而我們還是看到以OXF治療糖尿病大鼠，會降低 V_{eed} 並使 P_{isomax} 升高，進而大幅提升收縮彈性 E_{max} 。Zarain-Herzberg與Rupp (Zarain-Herzberg A, et al., 2002) 研究指出，CPT-1抑制劑會影響LV功能，其可以歸因於選擇性的影響一些已控制異常的心肌細胞基因表現，使得數個蛋白質的結構被修飾。因此其提升內質網 Ca^{2+} -ATPase-2蛋白質表現及活性的能力，使得OXF仍得以改善糖尿病性心臟疾病的收縮狀態。

心臟力學的另一面向為 Q_{max} ，相較於同齡對照組大鼠，糖尿病大鼠的 Q_{max} 維持不變。Rupp等人 (Rupp H, et al., 2002) 曾表示以CPT-1抑制劑進行治療，可防止肌球蛋白水解酶 (myosin ATPase) 的活性下降。所以我們預先推測，OXF所造成的肌球蛋白同工酶朝向高活性 V_1 轉變，可能會使 Q_{max} 升高，進而降低LV的內部阻力。然而研究結果發現，以OXF治療DM組並沒有使 Q_{max} 升高，反而使其降低。我們的推論如下：週邊動脈負荷也是會對 Q_{max} 造成不良影響的重要因素 (Chang KC, et al., 2002; Wu MS, et al., 2008)。本實驗室的先前的研究便顯示以OXF進行治療，會令已經偏高的血漿FFA含量更高，使得糖尿病患者週邊循環的 R_p 提高 (Chang KC, et al., 2010)。而 R_p 提高可能抵消了肌球蛋白同工酶朝向高活性 V_1 轉移所得到的效果，因而造成 Q_{max} 下降 (圖4B)。 Q_{max} 降低表示LV的內部阻力增加，並使第一型糖尿病大鼠的心室血流量降低。所以OXF無法提供心臟泵浦力學的最適化，因為 Q_{max}

降低會抵消DM組大鼠的 $E_{\max}$ 提升。相反地，ALC的治療並不會改變糖尿病大鼠的 $Q_{\max}$ (圖3B)。因此ALC療法所帶來的 $E_{\max}$ 升高及不影響 $Q_{\max}$ ，可使能量從左心室傳遞到周邊動脈系統時，均維持在最佳狀態，提供糖尿病患者的組織或器官中不可或缺的養分運輸。

就左心室的功能而言，以ALC治療糖尿病大鼠可改善 $dP/dt_{\min}$ 與 τ 等左心室舒張參數 (圖3)。過去研究也發現以ALC治療經STZ誘發糖尿病之大鼠，可大幅改善其心臟舒張功能 (Rodrigues B, et al., 1988)。而Etomoxir，另一種CPT-1抑制劑，被認為可以選擇性地影響心臟壓力負荷過大 (pressure-overload) 的大鼠心臟的鬆弛速度，改善舒張功能 (Turcani M, et al., 1997)。但在本研究中，我們使用OXF對DM組大鼠治療，對於心臟舒張功能的參數 $dP/dt_{\min}$ 與 τ 均無發現有所改善。

10. 研究成果

根據本研究的結果，ALC可用於治療發生在糖尿病性心肌病變的代謝問題。因為ALC療法可針對心肌細胞代謝異常，對心血管功能有極大幫助。以ALC進行治療，可大幅降低異常血脂、緩解動脈硬化及左心室肥厚，並可改善左心室收縮功能及舒張功能。CPT-1抑制劑OXF的相關臨床研究指出，OXF可大幅延緩患者在運動心電圖測試中發生心絞痛的時間 (Bergman G, et al., 1980)。然而該藥物也被證實會損害大鼠心臟粒腺體代謝能力，降低耗氧量，並引起氧化磷酸化解偶合作用 (uncoupling oxidative phosphorylation) (Bachmann E, et al., 1988)。因此OXF於臨床研究的發展目前已暫時終止 (Stanley WC, 2004)。本研究證實雖然OXF會改善糖尿病大鼠的心肌收縮力，其仍會對心臟造成生化毒性，即FFA與MDA的堆積。以OXF進行治療不但不會改善心臟肥大或是舒張功能，甚至使心臟輸出量 (CO)、主動脈平均血壓 (MAP) 與LV收縮末期壓力 (P_{es}) 惡化。綜合以上結果，我們在此研究說明了OXF與ALC之間的對心臟泵浦力學不同的表現，我們的結果並顯示ALC可能是改善糖尿病患者左心室功能的候選藥物。本研究成果並已於2013年7月刊登於國際期刊PLOS ONE (Wang CH, et al., 2013)。

第四章 研究結論



由上述研究結果，我們可以歸納為以下幾點：

1. 以鏈佐黴素 (STZ) 誘發糖尿病之大鼠，我們可以觀察到其左心室的 $E_{\max}$ 下降，但是 $Q_{\max}$ 並沒有明顯變化。而 V_{eed} 升高與 $P_{\text{iso max}}$ 的降低是造成 $E_{\max}$ 降低的原因，表示糖尿病性心臟疾病的收縮狀態受到損害。
2. 乙醯左旋肉鹼 (ALC) 可以同時使糖尿病大鼠的血漿中游離脂肪酸 (FFA) 含量與心臟中丙二醇 (MDA) 含量降低，但羥苯甘胺酸 (OXF) 不會。
3. 以乙醯左旋肉鹼 (ALC) 或羥苯甘胺酸 (OXF) 進行治療皆會使 $E_{\max}$ 升高，表示這兩種藥物可保護胰島素缺乏的第一型糖尿病大鼠使其心肌收縮力免於惡化。
4. 羥苯甘胺酸 (OXF) 會使糖尿病大鼠的 $Q_{\max}$ 降低並使其左心室內部阻力升高，但ALC則不會。
5. 以乙醯左旋肉鹼 (ALC) 治療糖尿病大鼠可改善 $dP/dt_{\min}$ 與 τ 等左心室舒張參數，而羥苯甘胺酸 (OXF) 不會。

總結來說，乙醯左旋肉鹼 (ALC) 具有改善糖尿病大鼠左心室收縮功能、舒張功能與降低內部阻力的能力，使其得以將由LV傳遞至動脈系統的能量維持在最佳狀態，而羥苯甘胺酸 (OXF) 則無此能力。研究結果顯示乙醯左旋肉鹼 (ALC) 可能是改善糖尿病患者左心室功能的候選藥物。

第五章 研究特色



本研究的貢獻為提供一個將彈性-阻力模型應用在心臟泵浦動力學臨床研究的途徑。就技術層面而言，不可或缺的等容信號必須藉由在舒張末期阻斷升主動脈取得，而此測量技術不允許用於活體或是人類樣本身上。為解決此嚴重問題，等容壓力曲線是採用 Sunagawa 等人 (Sunagawa K, et al., 1980) 提出的方法，以曲線擬合技術，從射血收縮的瞬間壓力取得。數據顯示應用此彈性-阻力模型及等容壓力估計值，可獲得品質良好的模型擬合度。這種方法的實際優點為不須進行任何等容收縮測量，即可計算心室彈性與阻力。此外，可在不擾動心臟負荷條件的情況下，從左心室脈動性壓力以及單一心搏週期得到的升主動脈流量信號，計算出這兩種心臟收縮參數。

由於左心室的心肌 (myocardium) 屬於黏彈性材料 (visco-elastic material)，其機械性能能夠反映出心室腔的行為，即腔室的壓力、體積與流量之間的關係。因此我們可以利用心室壓力與體積瞬間的關係來描述隨時間變化的彈性 (time-varying elastance) (Suga H, et al., 1973)。對於一個射血心搏 (ejecting beat) 而言，左心室收縮末期彈性可利用收縮結束時心室壓力-體積關係求得，同時這個時間點所得到的 time-varying elastance 為最大值 (Suga H, 1971; Sagawa K, 1978)。然而，藉由等體積收縮時所得到的收縮末期彈性僅能算是最大收縮彈性的近似值，其原因在於此時期的心肌細胞是處於縮短且去活性的狀態 (Hunter WC, et al., 1979;

Campbell KB, et al., 1984; Shroff SG, et al., 1985)。此外，心臟力學另一個重要的特點在於其如同黏質的行為 (viscous-like behavior)，不僅可利用心室壓力-流量的關係來描述，同時亦可利用心室的內部阻力 (internal resistance) 來表示 (Hunter WC, et al., 1983; Shroff SG, et al., 1983; Shroff SG, et al., 1985; Campbell KB, et al., 1986)。

西元 1983 年，Hunter 等人 (Hunter WC, et al., 1983) 以及 Shroff 等人 (Shroff SG, et al., 1983) 試圖透過制定合理的模型來預測壓力-流量-體積動力學 (dynamics)，以用於評估射血時期心室的機械性質。在經過幾年的時間，Campbell 等人 (Campbell KB, et al., 1990) 以及 Shroff 與 Motz (Shroff SG, et al., 1989) 終於得到一系列可結合 time-varying elastance 以及黏性阻力 (viscous resistance)，即彈性-阻力模型 (elastance-resistance model) 的組合。根據上述作者們的結論，最初的單一彈性模型 (single-elastance model) 可相當準確的預測心搏量 (stroke volume) 但卻無法用於預測瞬間的流量；為了能夠合理且準確的預測瞬間流量，必須加入一系列的阻力。因此，射血心臟的心室泵浦機制必須使用收縮彈性與阻力兩種條件來量化，而非單獨使用收縮彈性即可達成 (Shroff SG, et al., 1992)。

由於左心室的內部阻力無法藉由壓力-容積的測量計算而得，因此我們同時記錄了左心室壓力與升主動脈血流訊號，並利用 elastance-resistance model 來進行分析而得到最大順應性與理論最大血流量。其中，根據 Hunter 等人的文獻指出 (Hunter WC, et al., 1983)，最大收縮彈性可作為心室收縮力

的指標，其原因在於此參數不受前負荷 (preload) 與後負荷的影響，而前負荷與後負荷又對收縮狀態下的心肌型態改變具有敏感性。另外，根據 Shorff 等人的文獻指出 (Shorff SG, et al., 1992)，理論最大血流量與心室內部阻力成反比關係。事實上，心臟疾病確實具有顯著影響心室阻力的能力，而心室阻力又與生化，如肌凝蛋白同功異構酶分佈 (myosin isoenzyme distribution) (Shorff SG, et al., 1985)，以及後負荷改變有關 (Wu MS, et al., 2008)。

因此，在此研究中，我們比較了 ALC 與 OXF 對 STZ 誘發的糖尿病雄性 Wistar 大鼠心臟泵浦機制的影響，由其偏重於壓力-流量-容積動力學。此方法的新穎處在於，我們可以區分 ALC 與 OXF 在 STZ 誘發的糖尿病大鼠體內，對心臟泵浦功能的影響是作用在理論最大血流量抑或是最大彈性。此外，心室彈性與阻力也可藉由量測在不改變任何負荷情況 (loading condition) 所得到的單個心搏週期 (single cardiac cycle) 的左心室壓力與主動脈血流訊號計算而得。

第六章 研究限制

本研究中某些限制有待解決。本研究所用之研究方法高度依賴彈性-阻力模型，這並不是評估左心室收縮力學的最佳模型。Hunter等人 (Hunter WC, et al., 1983) 表示除了彈性與阻力之外，左心室泵浦的收縮力學行為至少涉及兩個以上的程序。這些程序包括容積影響因素與去活化因素的作用。然而Campbell等人 (Campbell KB, et al., 1986) 表示若擬合間隔為 $t_{ej} < t < t_{pisomax}$ ，則彈性-阻力模型可有效地擬合左心室壓力測量值。此外，Shroff等人 (Shroff SG, et al., 1992) 亦認為若瞭解彈性-阻力模型的侷限，其對量化左心室收縮泵浦力學十分有用。

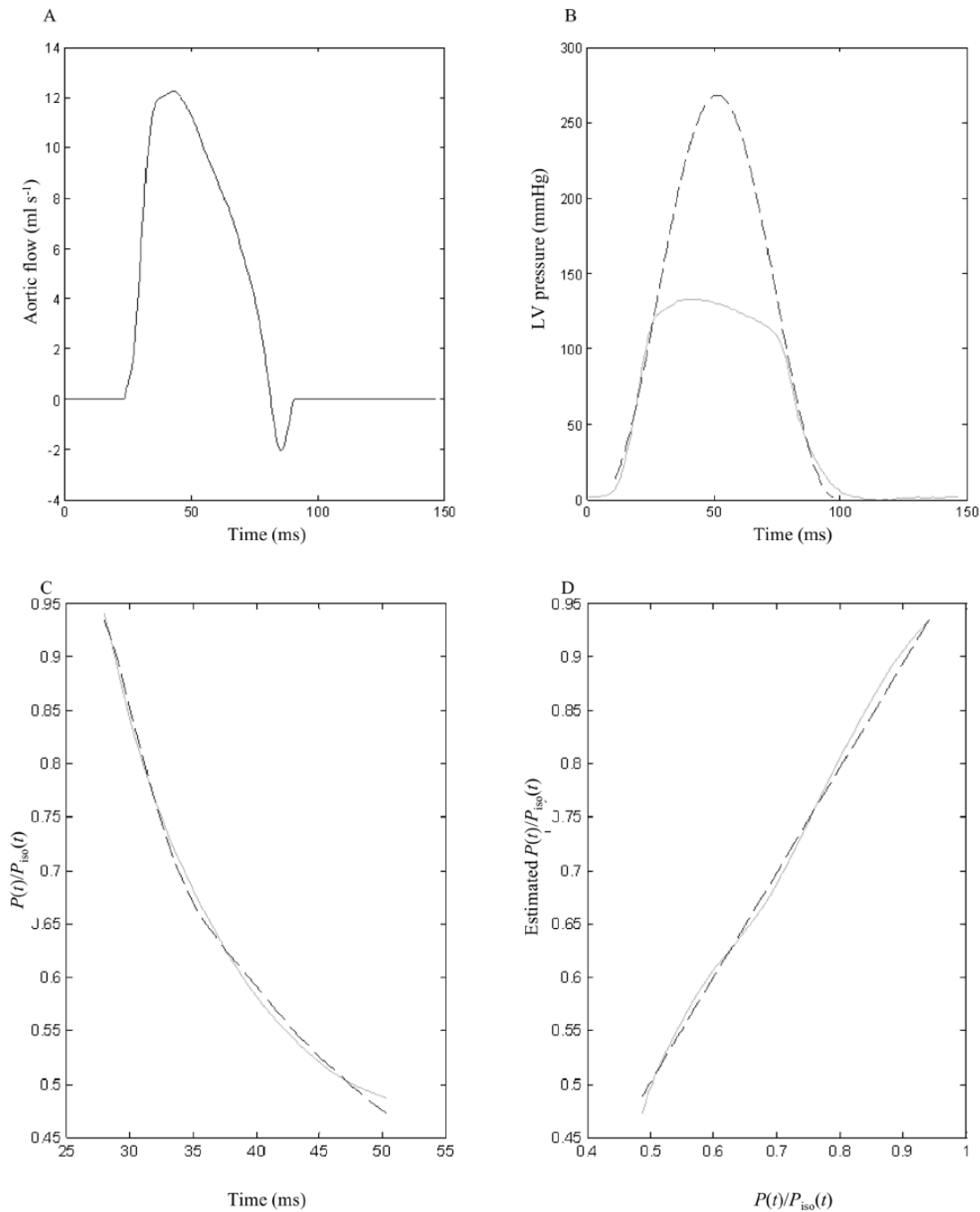


圖1. A圖為對照組大鼠的升主動脈血流量信號量測值。B圖中，實線為量測到之LV壓力波型，虛線表示舒張末期容量的等容壓力曲線，是藉由將正弦函數擬合到LV壓力量測值的等容部分進行估算。C圖與D圖顯示將彈性-阻力模型擬合 $t_{ej} < t < t_{pisomax}$ 時的量測數據及模型產生的數據； t_{ej} 為心室射血起始點， $t_{pisomax}$ 為最大等容壓力的時間點。C圖中，實線代表量測數據，虛線代表模型產生的數據。D圖中，虛線的回歸斜率為1.0。實線代表量測數據與模型產生的數據之間的相關性。 $P(t)$ 為LV壓力量測值； $P_{iso}(t)$ 為等容壓力估計值； $P(t)/P_{iso}(t)$ 為 $P(t)$ 與 $P_{iso}(t)$ 的比率。

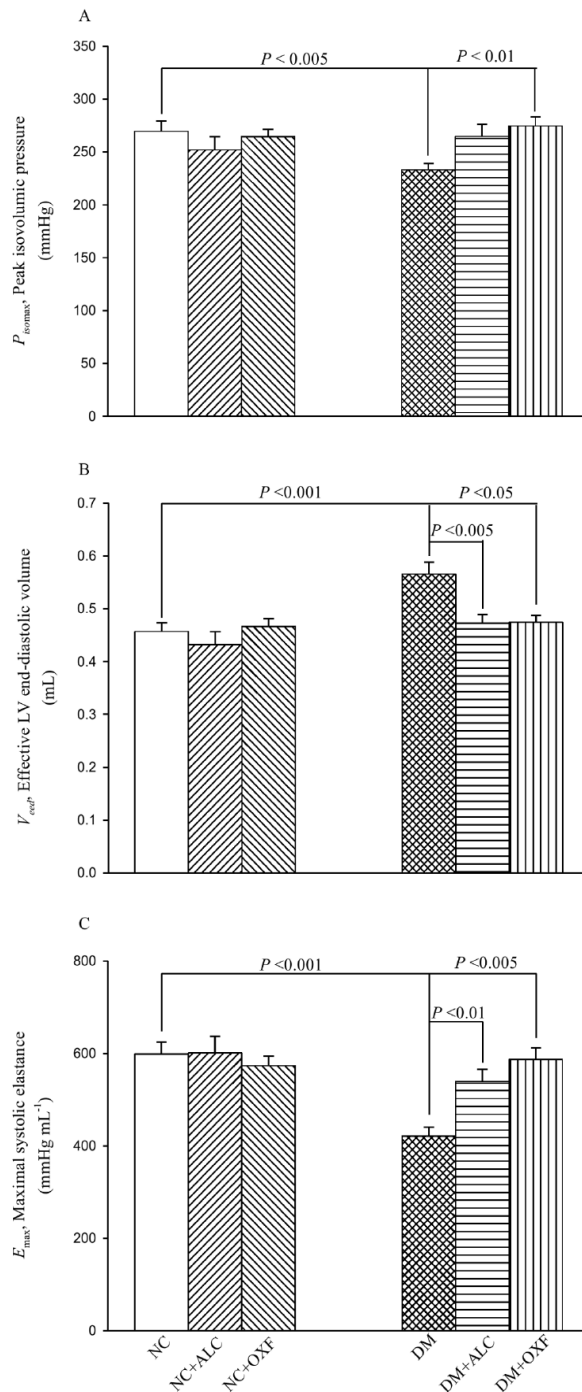


圖2. ALC與OXF對DM組大鼠 P_{isomax} (A)、 V_{eed} (B)與 E_{max} (C) ($E_{max}=P_{isomax}/V_{eed}$)的影響。

NC: 正常對照組; NC+ALC: 以ALC治療之正常大鼠; NC+OXF: 以OXF治療之正常大鼠; DM: 以STZ誘發糖尿病之大鼠; DM+ALC: 以ALC治療之DM; DM+OXF: 以OXF治療之DM; ALC: 乙醯左旋肉鹼; OXF: 羥苯甘胺酸; P_{isomax} : 估計之最大等容壓力; V_{eed} : 有效LV舒張末期容量; E_{max} : 最大收縮彈性。

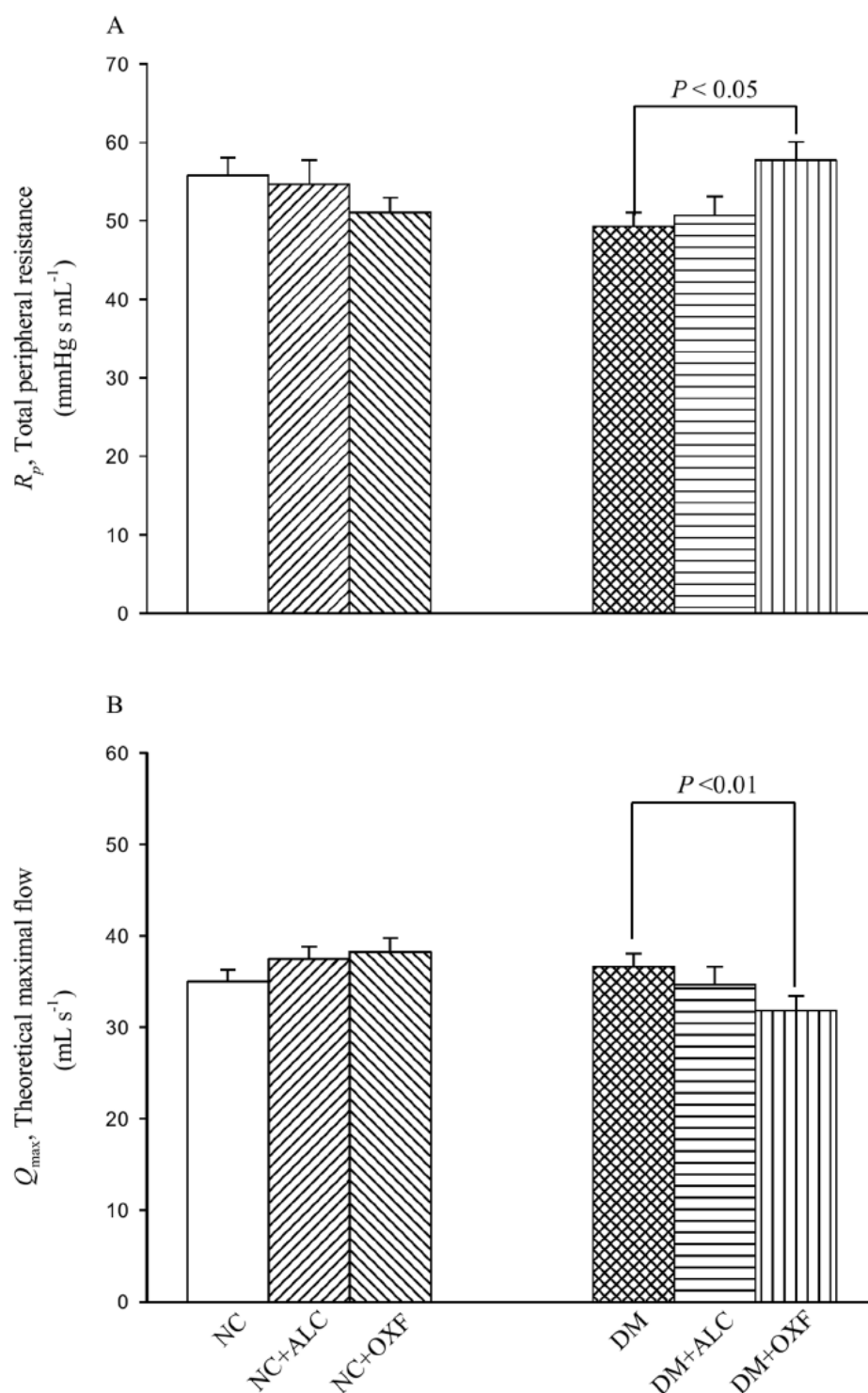


圖3. ALC與OXF對DM組大鼠的 R_p (A)與 Q_{max} (B)的影響。

NC: 正常對照組; NC+ALC: 以ALC治療之正常大鼠; NC+OXF: 以OXF治療之正常大鼠; DM: 以STZ誘發糖尿病之大鼠; DM+ALC: 以ALC治療之DM; DM+OXF: 以OXF治療之DM; ALC: 乙醯左旋肉鹼; OXF: 羥苯甘胺酸; Q_{max} : 理論上的最大血流量; R_p : 周邊總阻力。

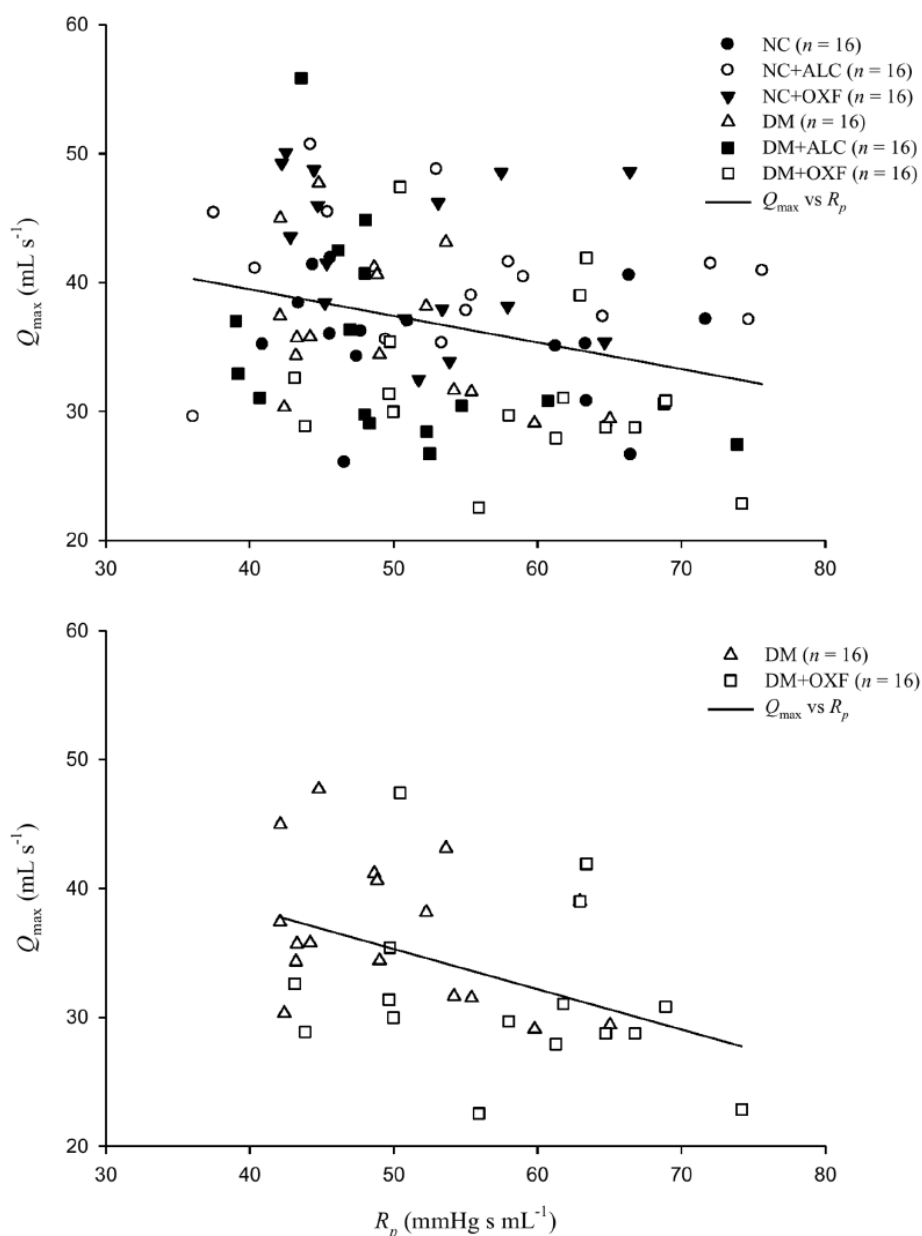


圖4. A圖中，將所有組別的數據合併後， $Q_{\max}$ 與 R_p 之間呈反比關係($Q_{\max} = 47.7300 - 0.2064 \times R_p$; $r = 0.2909$; $p < 0.005$)。然而兩個參數之間顯著的負相關係數，主要是源自DM組與DM+OXF組的數據(B圖中， $Q_{\max} = 50.9368 - 0.3126 \times R_p$; $r = 0.4390$; $p < 0.05$)。

NC:正常對照組; NC+ALC:以ALC治療之正常大鼠; NC+OXF:以OXF治療之正常大鼠; DM:以STZ誘發糖尿病之大鼠; DM+ALC:以ALC治療之DM; DM+OXF:以OXF治療之DM; ALC: 乙醯左旋肉鹼; OXF:羥苯甘胺酸; $Q_{\max}$: 理論上的最大血流量; R_p :周邊總阻力。

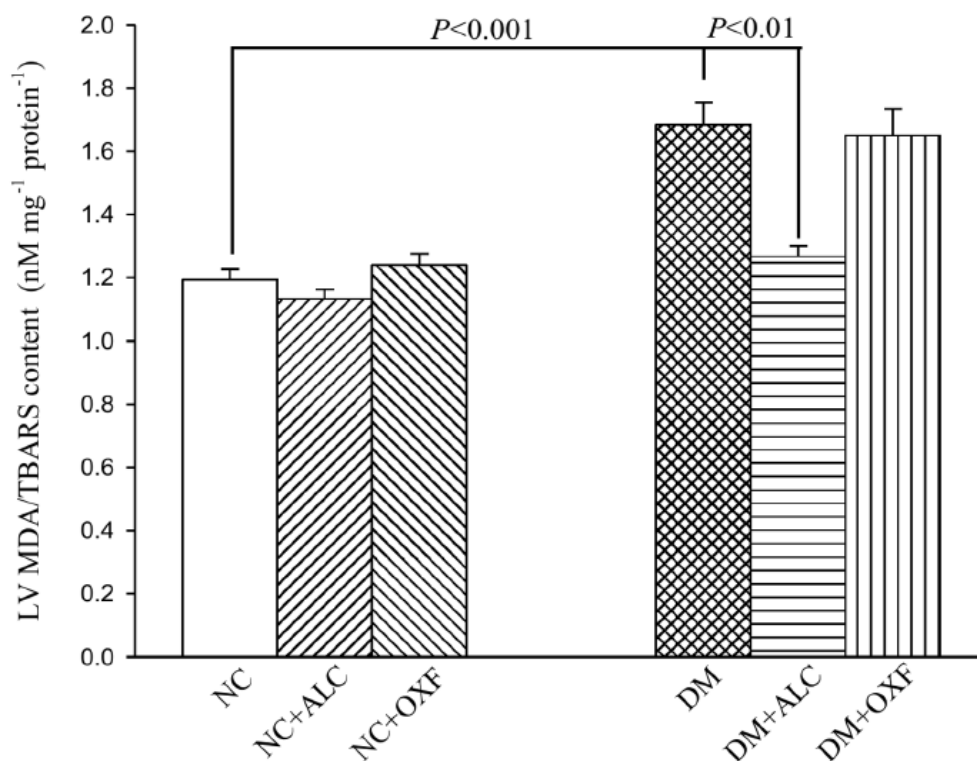


圖5. ALC與OXF對DM組大鼠心臟中MDA/TBARS含量的影響。

NC:正常對照組; NC+ALC:以ALC治療之正常大鼠; NC+OXF:以OXF治療之正常大鼠; DM:以STZ誘發糖尿病之大鼠; DM+ALC:以ALC治療之DM; DM+OXF:以OXF治療之DM; ALC: 乙醯左旋肉鹼; OXF:羥苯甘胺酸; $Q_{\max}$: 理論上的最大血流量; R_p :周邊總阻力。

表 1. ALC 與 OXF 對以 STZ 誘發糖尿病的大鼠血糖、體重與左心室重量的影響

Variable	NC	NC+ALC	NC+OXF	DM	DM+ALC	DM+OXF
BS	98 ±1.5	105.8 ±2.9	104.6 ±2.0	468.3 ±16.8†	462.0 ±8.0	458.8 ±9.8
BW	451.9 ±9.1	477.5 ±10.9	471.3 ±8.4	292.1 ±8.1†	326.6 ±10.1‡	309.7 ±11.7
LVW	0.839 ±0.025	0.829 ±0.023	0.916 ±0.020	0.689 ±0.027†	0.635 ±0.022	0.746 ±0.024
LVW/BW	1.852 ±0.030	1.736 ±0.024	1.950 ±0.041	2.359 ±0.060†	1.944 ±0.031‡	2.409 ±0.068

所有數值皆是以平均值±標準誤表示。

BS: 血糖(mg dL^{-1}) ; BW: 體重(g) ; LVW: 左心室重量(g) ; LVW/BW: 左心室重量/體重比(mg g^{-1})。

NC: 正常對照組 ; NC+ALC: 以乙醯左旋肉鹼治療之正常對照組 ; NC+OXF: 以羥苯甘胺酸治療之正常對照組 ; DM: 以STZ誘發糖尿病之大鼠 ; DM+ALC: 以ALC治療之DM ; DM+OXF: 以OXF治療之DM ; ALC: 乙醯左旋肉鹼 ; OXF: 羥苯甘胺酸。

†與NC組相比具統計上顯著差異($P<0.05$)。

‡與DM組相比具統計上顯著差異($P<0.05$)。

表 2. ALC與OXF對以STZ誘發糖尿病大鼠血液動力學參數的影響

	NC	NC+ALC	NC+OXF	DM	DM+ALC	DM+OXF
HR	407 ±9.9	406.3 ±8.3	398.0 ±7.6	337.5 ±3.8†	354.1 ±7.4	331.9 ±8.2
CO	1.92 ±0.09	1.95 ±0.06	2.01 ±0.09	1.92 ±0.07	1.89 ±0.11	1.70 ±0.05‡
CI	2.04 ±0.10	1.97 ±0.06	2.09 ±0.08	2.63 ±0.07†	2.47 ±0.12	2.27 ±0.08
MAP	100.5 ±1.9	98.4 ±2.5	105.2 ±1.8	95.1 ±3.2	88.8 ±3.1	108.9 ±3.1‡

所有數值皆是以平均值±標準誤表示。

HR: 基礎心跳率(每分鐘心跳數); CO:心臟輸出量 (mL s^{-1}); CI: 心臟輸出指數($\text{L min}^{-1} \text{m}^{-2}$); MAP: 主動脈平均壓(mmHg)。

NC: 正常對照組; NC+ALC: 以ALC治療之NC; NC+OXF: 以OXF治療之NC; DM:以STZ誘發糖尿病之大鼠; DM+ALC: 以ALC治療之DM; DM+OXF: 以OXF治療之DM; ALC: 乙醯左旋肉鹼; OXF: 羥苯甘胺酸。

†與NC組相比具統計上顯著差異($P<0.05$)。

‡與DM組相比具統計上顯著差異($P<0.05$)。

表 3. ALC 與 OXF 對以 STZ 誘發糖尿病大鼠的心臟功能的影響

	NC	NC+ALC	NC+OXF	DM	DM+ALC	DM+OXF
P_{es}	105.8 ±3.3	102.9 ±5.3	105.7 ±2.8	96.2 ±1.6	91.9 ±3.2	112.5 ±3.0‡
P_{ed}	2.49 ±0.30	3.29 ±0.39	2.58 ±0.31	9.77 ±1.18†	6.19 ±0.70	7.52 ±1.08
dP/dt_{max}	10420.2 ±462.1	10213.1 ±535.6	10207.1 ±443.5	6918.1 ±209.7†	8615.7 ±353.2‡	8220.9 ±317.9‡
dP/dt_{min}	-7261.9 ±299.5	-6940.9 ±287.2	-6990.6 ±190.2	-5008.5 ±198.5†	-5926.9 ±225.4‡	-4936.6 ±193.5
τ	8.54 ±0.21	9.38 ±0.26	9.35 ±0.24	14.81 ±0.65†	11.13 ±0.38‡	14.46 ±0.55

所有數值皆是以平均值±標準誤表示。

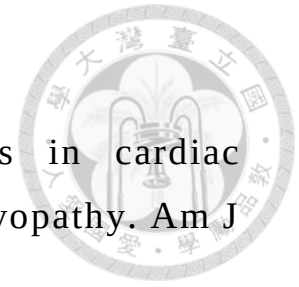
P_{es} : LV 的收縮末期壓力 (mmHg); P_{ed} : LV 的舒張末期壓力 (mmHg); dP/dt_{max} (mmHg s⁻¹); dP/dt_{min} (mmHg s⁻¹); τ : 左室等容壓力衰減的時間常數 (ms); LV: 左心室。

NC: 正常對照組; NC+ALC: 以 ALC 治療之 NC; NC+OXF: 以 OXF 治療之 NC; DM: 以 STZ 誘發糖尿病之大鼠; DM+ALC: 以 ALC 治療之 DM; DM+OXF: 以 OXF 治療之 DM; ALC: 乙醯左旋肉鹼; OXF: 羥苯甘胺酸。

†與 NC 組相比具統計上顯著差異 (P<0.05)。

‡與 DM 組相比具統計上顯著差異 (P<0.05)。

參考文獻



An D, Rodrigues B (2006) Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291:H1489-1506.

Bachmann E, Weber E (1988) Biochemical mechanisms of oxfenicine cardiotoxicity. *Pharmacol* 36:238–48.

Barnea O, Jaron D (1990) A new method for the estimation of the left ventricular pressure-volume area. *IEEE Trans Biomed Eng* 37:109–111.

Bergman G, Atkinson L, Metcalfe J, Jackson N, Jewitt DE (1980) Beneficial effect of enhanced myocardial carbohydrate utilisation after oxfenicine (L-hydroxyphenyl glycine) in angina pectoris. *Eur Heart J* 1:247–253.

Beuge JA, Aust SD (1978) Microsomal lipids peroxidation. *Methods Enzymol* 52:302–310.

Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248–254.

Brownlee M (2005) The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 54:1615-1625.

Calabrese V, Giuffrida Stella AM, Calvani M, Butterfield DA (2006). Acetyl-carnitine and cellular stress response: roles in nutritional redox homeostasis and regulation of longevity genes. *J Nutr Biochem* 17:73-88.

Campbell KB, Ringo JA, Neti C, Alexander JE (1984) Informational analysis of left ventricle/systemic arterial interaction. *Ann Biomed Eng* 12:209-231.

Campbell KB, Ringo JA, Knowlen GG, Kirkpatrick RD, Schmidt SL (1986) Validation of optimal elastance-resistance left ventricle pump models. *Am J Physiol* 251:H382-H397.

Campbell K B, Kirkpatrick R D, Knowlen GG, Ringo JA (1990) Late-systolic pumping properties of the left ventricle. Deviation from elastance-resistance behavior. *Circ Res* 66: 218-233.

Chang KC, Kuo TS (1997) Single beat estimation of the ventricular pumping mechanics in terms of the systolic elastance and resistance. *J theor Biol* 189:89-95.

Chang KC (1998) Theoretical maximum flow of the left ventricle is sensitive to change in ventricular afterload. *J theor Biol* 194:407-417.

Chang KC, Lo HM, Tseng YZ (2002) Systolic elastance and resistance in the regulation of cardiac pumping function in early streptozotocin-diabetic rats. *Exp Biol Med* 227:251-259.

Chang KC, Hsu KL, Tseng CD, Lin YD, Cho Y et al. (2006). Aminoguanidine prevents arterial stiffening and cardiac hypertrophy in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Br J Pharmacol* 147:944-950.

Chang KC, Tseng CD, Lu SC, Liang JT, Wu MS et al. (2010) Effects of acetyl-L-carnitine and oxfenicine on aorta stiffness in diabetic rats. *Eur J Clin Invest* 40:1002–1010.

Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N (2005) A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovas Dis* 15:316–328.

Dennis JE, Woods DJ (1987) New Computing Environments. In: Wouk A, Eds. *Microcomputers in Large-Scale Computing*. Philadelphia: SIAM, p.116–122.

Dillmann WH (1980) Diabetes mellitus induces changes in cardiac myosin in the rat. *Diabetes* 29:579–582.

Fernandez E, Pallini R, Gangitano C, Del Fa A, Sangiacomo CO et al. (1989) Effects of L-carnitine, L-acetylcarnitine, and gangliosides on the regeneration of the transected sciatic nerve in rats. *Neurol Res* 11:57–62.

Folden DV, Gupta A, Sharma AC, Li SY, Saari JT et al. (2003) Malondialdehyde inhibits cardiac contractile function in ventricular myocytes via a p38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *Brit J Pharmacol* 139:1310–1316.

Huijberts MS, Schaper NC, Schalkwijk CG (2008) Advanced glycation end products and diabetic foot disease. *Diabetes Metab Res Rev* 24 Suppl 1:S19-24.

Hunter WC, Janicki JS, Weber KT, Noordergraaf A (1979) A: Flow-pulse response: A new method for the characterization of ventricular mechanics. Am J Physiol 237(Heart Circ Physiol 6):H282-H292.

Hunter WC, Janicki JS, Weber KT, Noordergraaf A (1983) Systolic mechanical properties of the left ventricle: effects of volume and contractile state. Circ Res 52:319–327.

Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE (1969). Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. J Clin Invest 48:2129-2139.

Kato K, Chapman DC, Rupp H, Lukas A, Dhalla NS (1999) Alternations of heart function and $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity by etomoxir in diabetic rats. J Appl Physiol 86:812-818

Kolwicz SC Jr, Purohit S, Tian R (2013) Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes. Circ Res 113:603-616.

Lee L, Horowitz J, Frenneaux M (2004) Metabolic manipulation in ischaemic heart disease, a novel approach to treatment. Eur Heart J 25:634–641.

Liu J, Head E, Kuratsune H, Cotman CW, Ames BN (2004) Comparison of the effects of L-carnitine and acetyl-L-carnitine on carnitine levels, ambulatory activity, and oxidative stress biomarkers in the brain of old rats. Ann NY AcadSci 1033:117–131.

Malaguarne M (2012) Carnitine derivatives: clinical usefulness. Curr Opin Gastroenterol 28:166–176.

Malhotra A, Penpargkul S, Fein FS, Sonnenblick EH, Scheuer J (1981) The effects of streptozotocin-induced diabetes in rats on cardiac contractile proteins. Circ Res 49:1243–1250.

Malone JJ, Cuthbertson DD, Malone MA, Schocken DD (2006) Cardioprotective effects of carnitine in streptozotocin-induced diabetic rats. Cardiovas Diabetol 5:2.

McGarry JD, Mills SE, Long CS, Foster DW (1983) Observations on the affinity for carnitine, and malonyl-CoA sensitivity, of carnitine palmitoyltransferase-I in animal and human tissues. Demonstration of the presence of malonyl-CoA in non-hepatic tissues of the rat. Biochem J 214:21–28.

Mingorance C, Rodriguez-Rodriguez R, Justo ML, Alvarez de Sotomayor M, Herrera MD (2011) Critical update for the clinical use of L-carnitine analogs in cardiometabolic disorders. Vasc Health Risk Manag 7:169–176.

Neely JP, Morgan HE (1974) Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of the heart muscle. Annu Rev Physiol 36:413–459.

Paulson DJ, Sanjak M, Shug AL (1992) Carnitine deficiency and the diabetic heart. In: Carter AL (ed). Current Concepts in Carnitine Research. CRC Press, Boca Raton, Florida, 215–230.

Penpargkul S, Fein FS, Sonnenblick EH, Scheuer J (1981) Depressed cardiac sarcoplasmic reticular function from diabetic rats. *J Mol Cell Cardiol* 13:303–309.

Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MR (1963). Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Cancer Chemother Rep* 29:91-98.

Rice JJ, Winslow RL, Hunter WC (1999) Comparison of putative cooperative mechanisms in cardiac muscle: length dependence and dynamic responses. *Am J Physiol* 276(Heart Circ Physiol 45):H1734–H1754.

Rodrigues B, Xiang H, McNeill JH (1988) Effect of L-Carnitine Treatment on Lipid Metabolism and Cardiac Performance in Chronically Diabetic Rats. *Diabetes* 37:1358–64.

Rodrigues B, McNeill JH (1992) The diabetic heart: metabolic causes for the development of a cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 26:913–992.

Rodrigues B, Cam MC, McNeill JH (1995) Myocardial substrate metabolism: implications for diabetic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 27:169–179.

Rodrigues B, Cam MC, McNeill JH (1998) Metabolic disturbances in diabetic cardiomyopathy. *Mol Cell Biochem* 180:53–57.

Rupp H, Zarain-Herzberg A, Maisch B (2002) The use of partial fatty acid oxidation inhibitors for metabolic therapy of angina pectoris and heart failure. *Herz* 27:621–636.

Sagawa K (1978) The ventricular pressure-volume diagram revisited. *Circ Res* 43:677-687

Schalkwijk CG and Stehouwer CD (2005) Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci* 109:143-159.

Schinetti ML, Rossini D, Greco R, Bertelli A (1987) Protective action of acetyl-carnitine on NADPH-induced lipid peroxidation of cardiac microsomes. *Drugs Exp Clin Res* 13: 509–515.

Shroff SG, Janicki JS, Weber KT (1983) Left ventricular systolic dynamics in terms of its chamber mechanical properties. *Am J Physiol* 245(Heart Circ Physiol 14):H110–H124.

Shroff SG, Janicki JS, Weber KT (1985) Evidence and quantitation of left ventricular systolic resistance. *Am J Physiol* 249(Heart Circ Physiol 18):H358-H370

Shroff SG, Motz W (1989) Left ventricular systolic resistance in rats with hypertension and hypertrophy. *Am J Physiol* 257: H386-H394.

Shroff SG, Janicki JS, Weber KT (1992) Mechanical and energetic behavior of the intact left ventricle. In: Fozzard HA, Eds. *The Heart and Cardiovascular System*, Second Edition. NY: Raven, p129–150

Slatter DA, Paul RG, Murray M, Bailey AJ (1999) Reactions of lipid-derived malondialdehyde with collagen. *J Biol Chem* 274: 19661–19669.

Slatter DA, Bolton CH, Bailey AJ (2000) The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus. *Diabetologia* 43:550–557.

Stanley WC, Lopaschuk GD, McCormack JG (1997) Regulation of energy substrate metabolism in the diabetic heart. *Cardiovasc Res* 34:25–33.

Stanley WC (2004) Myocardial energy metabolism during ischemia and the mechanisms of metabolic therapies. *J Cardiovasc Pharmacol Therapeut* 9(Supplement 1):S31–S45.

Steiber A, Kerner J, Hoppel CL (2004) Carnitine: a nutritional, biosynthetic, and functional perspective. *Mol Aspects Med* 25: 455–473.

Stephens TW, Higgins AJ, Cook GA, Harris RA (1985) Two mechanisms produce tissue-specific inhibition of fatty acid oxidation by oxfenicine. *Biochem J* 227:651-660

Suga H (1971) Left ventricular time-varying pressure/volume ratio in systole as an index of myocardial inotropism. *Jpn Heart J* 12:153-160.

Suga H, Sagawa K, Shoukas AA (1973) Load independence of the instantaneous pressure-volume ratio of the canine left ventricle and effects of epinephrine and heart rate on the ratio. *Circ Res* 32:314–322.

Sunagawa K, Yamada A, Senda Y, Kikuchi Y, Nakamura M et al. (1980) Estimation of the hydromotive source pressure from ejection beats of the left ventricle. *IEEE Trans Biomed Eng* 27:299–305.



Takeuchi M, Igarashi Y, Tomimoto S, Odake M, Hayashi T et al. (1991) Single beatestimation of the slope of the end-systolic pressure-volume relation in the human left ventricle. *Circulation* 83:202–212.

Tomlinson KC, Gardiner SM, Bennett T (1989) Diabetes mellitus in Brattleboro rats: cardiovascular, fluid, and electrolyte status. *Am J Physiol* 256(6 Pt 2):R1279-1285.

Tomlinson KC, Gardiner SM, Hebden RA, Bennett T (1992) Functional consequences of streptozotocin-induced diabetes mellitus, with particular reference to the cardiovascular system. *Pharmacol Rev* 44:103-150.

Turcani M, Rupp H (1997) Etomoxir improves left ventricular performance of pressure-overloaded rat heart. *Circulation* 96: 3681–3686.

Turcani M, Rupp H (1999) Modification of left ventricular hypertrophy by chronic etomixir treatment. *Br J Pharmacol* 126:501-507

Turpeinen AK, Kuikka JT, Vanninen E, Yang J, Uusitupa MI (2000) Long-term effect of acetyl-L-carnitine on myocardial ¹²³I-MIBG uptake in patients with diabetes. *Clin Auton Res* 10:13–16.

Vara JJ, Deboer C, Dietz A, Hanka LJ, Sokolski WT (1959). Streptozotocin, a new antibacterial antibiotic. *Antibiot Annu* 7:230-235.

Vitale C, Collins P (2008) Optimization of cardiac metabolism in diabetes mellitus. *Curr Pharm Design* 14:2537–2550.

Weiss JL, Frederiksen JW, Weisfeldt ML (1976) Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure. *J Clin Invest* 58:751–760.

Wang CH, Wang SS, Ko WJ, Chen YS, Chang CY et al. (2013) Acetyl-L-carnitine and oxfenicine on cardiac pumping mechanics in streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats. *PLOS ONE* 8:e69977

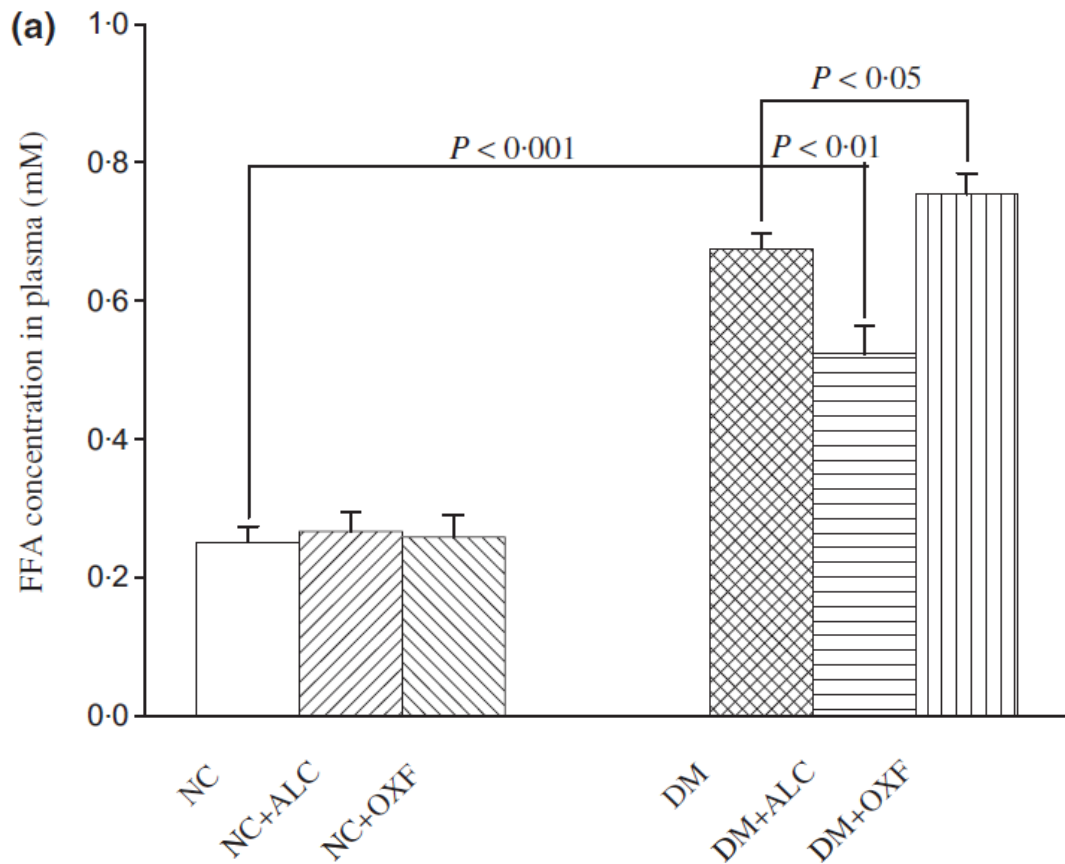
Wu MS, Liang JT, Lin YD, Wu ET, TsengYZ et al. (2008) Aminoguanidine prevents the impairment of cardiac pumping mechanics in rats with streptozotocin and nicotinamide-induced type 2 diabetes. *Brit J Pharmacol* 154:758–764.

Wu MS, Chang CY, Chang RW, Chang KC (2012) Early return of augmented wave reflection impairs left ventricular relaxation in aged Fisher 344 rats. *Exp Gerontol* 47:680–686.

Young ME, McNulty P, Taegtmeyer H (2002) Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes: Part II: potential mechanisms. *Circulation* 105:1861–1870.

Zarain-Herzberg A, Rupp H (2002) Therapeutic potential of CPT I inhibitors: cardiac gene transcription as a target. *Expert Opin Investig Drugs* 11:345–356.

附錄



ALC與OXF對DM大鼠血漿中游離脂肪酸(FFA)含量的影響。

NC:正常對照組; NC+ALC:以ALC治療之正常大鼠; NC+OXF:以OXF治療之正常大鼠; DM:以STZ誘發糖尿病之大鼠; DM+ALC:以ALC治療之DM; DM+OXF:以OXF治療之DM; ALC: 乙醯左旋肉鹼; OXF:羥苯甘胺酸

(本圖摘自 Chang KC, Tseng CD, Lu SC, Liang JT, Wu MS et al. (2010) Effects of acetyl-L-carnitine and oxfenicine on aorta stiffness in diabetic rats. Eur J Clin Invest 40:1002–1010.)