

糖尿病大鼠心肌损伤模型的诱导及对血清瘦素水平的影响

郭夏, 郑辉, 李雪粉, 胡睿, 郭丽婷

(泰达国际心血管病医院内分泌科, 天津 300457)

摘要:目的 研究糖尿病大鼠心肌损伤对血清瘦素水平的影响。方法 采用随机数字表法将50只健康大鼠分为正常对照组16只,模型组34只。正常组大鼠给予普通饲料喂养,模型组给予高糖高脂饲料喂养建立糖尿病大鼠模型,喂养8周后,腹腔注射STZ形成糖尿病模型后,继续给予高糖高脂喂养12周,依据是否合并心肌病分为糖尿病组(T2DM组)16只和糖尿病心肌病组(DCM组)12只,比较各组大鼠心脏功能指标、血糖、体重、血脂指标、血清瘦素水平、血浆脑钠肽(BNP)水平,分析血清瘦素水平与糖尿病大鼠心肌病的关系。结果 DCM组E/A比值大于正常对照组、T2DM组,LVEF小于正常对照组、T2DM组,差异有统计学意义($P<0.05$);T2DM组与正常对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);三组大鼠体重、胆固醇比较,差异无统计学意义($P>0.05$);T2DM组、DCM组血糖、甘油三酯水平均大于正常对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),但T2DM组、DCM组血糖比较,差异无统计学意义($P>0.05$);T2DM组、DCM组血清瘦素、BNP水平均大于正常对照组,且DCM组大于T2DM组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 血清瘦素与糖尿病大鼠心肌病的发生、发展密切相关,其水平下降可一定程度改善糖尿病大鼠心肌病预后,减轻心肌损伤。

关键词:血清瘦素;糖尿病大鼠;心肌病;血糖

中图分类号:R542.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.19.020

文章编号:1006-1959(2021)19-0081-03

Induction of Myocardial Injury in Diabetic Rats and its Effect on Serum Leptin Level

GUO Xia,ZHENG Hui,LI Xue-fen,HU Rui,GUO Li-ting

(Department of Endocrine,Teda International Cardiovascular Hospital,Tianjin 300457,China)

Abstract: **Objective** To study the effect of myocardial injury on serum leptin level in diabetic rats. **Methods** Fifty healthy rats were randomly divided into normal control group ($n=16$) and model group ($n=34$), the normal control group was fed with ordinary diet, while the model group was fed with high-glucose and high-fat diet to establish diabetic rat model for 8 weeks, when the STZ-injected rats model was established, and then fed with high-glucose and high-fat diet for 12 weeks, according to whether or not the cardiomyopathy was divided into diabetic group (T2DM group, $n=16$) and diabetic cardiomyopathy group (DCM group, $n=12$). The heart function index, blood sugar, body weight, blood fat index, serum leptin level and plasma brain natriuretic peptide (BNP) level were compared in each group and the relationship between serum leptin level and cardiomyopathy in diabetic rats was analyzed. **Results** The E/A ratio in DCM group was higher than that in normal control group, T2DM group, while LVEF was lower than that in normal control group, T2DM group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$), there was no significant difference between T2DM group and normal control group ($P>0.05$); there was no significant difference in body weight and cholesterol among the three groups ($P>0.05$); the levels of blood glucose and triglyceride in T2DM group and DCM group were higher than those in normal control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$), but there was no significant difference in blood glucose between T2DM group and DCM group ($P>0.05$); the levels of serum leptin and BNP in T2DM group and DCM group were higher than those in normal control group, and DCM group was higher than that in T2DM group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Serum leptin is closely related to the occurrence and development of diabetic cardiomyopathy, and its decrease may improve the prognosis of diabetic cardiomyopathy to some extent, reduce myocardial injury.

Key words: Serum leptin; Diabetic rats; Cardiomyopathy; Blood sugar

瘦素(leptin)是由167种氨基酸组成的肽类激素,主要由白色脂肪组织分泌,可以作用于下丘脑摄食中枢,故与糖尿病、肥胖、胰岛素抵抗密切相关^[1]。研究显示^[2],瘦素可参与脂肪及能量代谢,当瘦素或瘦素受体表达降低时,机体对能量的代谢出现异常,进而引发肥胖及胰岛素抵抗相关的症状。金静^[3]的报道显示,瘦素可导致交感神经系统激活、心率加快、心肌细胞分泌增多,还可影响糖脂代谢。瘦素受体在心脏呈高表达,可调节心脏功能、参与心力衰竭的发生发展。已有研究显示^[4,5],糖尿病对心脏功能的影响主要有糖尿病自主神经病变(CAN)、进展性

冠状动脉粥样硬化性心脏病(CAD)以及糖尿病性心肌病(DCM)3种形式,排除冠状动脉疾病和高血压,糖尿病患者是唯一一种心室肥大导致收缩功能障碍的心脏病^[6]。有研究显示,血清瘦素参与DCM的发生与发展,但具体的相关性尚不清楚。本研究建立糖尿病心肌病大鼠模型,旨在研究血清瘦素水平与糖尿病心肌病的关系,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和动物 由泰心动物实验中心购入SPF级Wistar成年健康大鼠50只,8周龄,体重160~180g。饲养在室温18℃~25℃,相对湿度40%~60%的环境下。链脲佐菌素(Sigma公司,批号:B69776)、重组瘦素(德国Dade Behring公司)、¹²⁵I-胰岛素放射免疫分析药盒(均有北京生物科技有限公司提供)。本研究经过医院伦理委员会批准。

基金项目:滨海新区卫生局科技项目(编号:2013BWKY019)

作者简介:郭夏(1985.7-),女,河北石家庄人,硕士,主治医师,主要从事内分泌、心血管病的治疗工作

通讯作者:郑辉(1980.4-),女,河北任丘人,博士,主任医师,主要从事内分泌、糖尿病、心血管疾病的研究工作

1.2 仪器和饲料 血糖仪 (Roch 德国, 批号: ECS000056)、高速离心机(德国 Leica EG1160)、电子秤(北京科普顺科有限公司)、全自动生化分析仪(日本 Olympus)、显微镜(日本 Olympus, 5424SZX7-1093)。

1.3 方法 将 50 只健康大鼠采用随机数字表法选取 16 只大鼠作为正常对照组, 剩余 34 只作为模型组。模型组给予高糖高脂饲料喂养建立糖尿病大鼠模型, 正常组大鼠给予普通饲料喂养, 喂养 8 周后, 不断水 12 h 采血, 腹腔注射 STZ (25 mg/kg) 形成糖尿病模型后, 继续给予高糖高脂喂养 12 周, 依据是否合并心脏病分为糖尿病组 (T2DM 组) 16 只和糖尿病心脏病组 (DCM 组) 12 只。高糖高脂饲料配方: 4% 胆固醇、10% 猪油、5% 白糖、81% 基础饲料, 将上述配料充分混匀搅拌烤制成形后喂养, 喂养前 1 周临时配制。以随机血糖 ≥ 13.9 mmol/L 为成模标准。心肌形态学观察: 心肌组织经固定、脱水、包埋后, 切成 4 μ m/片, 行 HE 染色, 光镜下观察心肌细胞形态。心功能指标检测: 用 3% 戊巴比妥钠 1 ml/kg 将大鼠麻醉成功后固定在手术台上, 使用 Philips 7500 数字化超声心动图仪应用 M 型超声和二维超声测定左室射血分数 (LVEF) 及二尖瓣舒张早期最大速/心房收缩期之最大速度比值 (E/A 比值)。血清瘦素、血浆脑钠肽 (BNP) 检测: 实验禁食 12 h 后, 抽取颈静脉窦血 1.5~2.0 ml, 分离血清, 用酶联免疫分析方法 (ELISA) 测定血清瘦素水平及血清 BNP 水平。

1.4 观察指标 比较各组大鼠心脏功能指标 (E/A 比值、LVEF)、血糖、体重、血脂 (胆固醇、甘油三酯)、血清瘦素水平、BNP 水平。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计学处理, 计量资料使用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料使用 [$n(\%)$] 表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 说明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物一般情况 共有 44 只大鼠完成实验, 实验过程中有 2 只大鼠血糖升高未达到成模标准, 4 只大鼠死亡, 其中 DCM 组 3 只, T2DM 组 1 只。

表 2 体重、血糖、血脂指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	体重 (kg)	血糖 (mmol/L)	胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)
正常对照组	16	0.82 \pm 0.09	4.53 \pm 0.62	2.07 \pm 0.21	0.95 \pm 0.19
T2DM 组	16	0.79 \pm 0.09	28.92 \pm 3.58 [*] [△]	2.31 \pm 0.30	1.59 \pm 0.29 [*] [△]
DCM 组	12	0.82 \pm 0.13	29.89 \pm 2.46 [*]	2.46 \pm 0.36	1.68 \pm 0.32 [*]

注: 与正常对照组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与 DCM 组比较, [△] $P > 0.05$

表 3 血清瘦素、BNP 比较 ($\bar{x} \pm s$, μ g/L)

组别	<i>n</i>	血清瘦素水平	BNP 水平
正常对照组	16	5.63 \pm 2.29	117.52 \pm 12.86
T2DM 组	16	7.06 \pm 1.85 [*]	122.33 \pm 25.22 [*]
DCM 组	12	10.25 \pm 1.97 [*] [△]	323.57 \pm 38.26 [*] [△]

注: 与正常对照组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与 T2DM 组比较, [△] $P > 0.05$

横切面: 心肌纤维呈圆形或不规则, 大小相似。肌原纤维呈点状, 着红色, 分布在肌细胞的周边。细胞核位于肌纤维中央, 呈圆形, 有的未见核。纵切面: 心肌纤维细而短, 分枝吻合成网。细胞核, 位于肌纤维的中央 (箭头), 较大, 有时可见双核。有暗带和明带构成的横纹。横过肌纤维在心肌纤维首尾连接处, 可见与横纹平行着深红色的直线或阶梯状线为闰盘, 见图 1。



图 1 糖尿病心脏病病理学改变 (HE, $\times 400$)

2.2 各组心功能指标比较 DCM 组 E/A 比值大于正常对照组、T2DM 组, LVEF 小于正常对照组、T2DM 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), T2DM 组与正常对照组 E/A 比值及 LVEF 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 心功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	E/A 比值	LVEF (%)
正常对照组	16	0.95 \pm 0.11 [*]	72.50 \pm 4.53 [*]
T2DM 组	16	0.94 \pm 0.09 [*] [△]	72.12 \pm 4.64 [*] [△]
DCM 组	12	1.53 \pm 0.28	58.03 \pm 11.29

注: 与 DCM 组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与正常对照组比较, [△] $P > 0.05$

2.3 各组体重、血糖、血脂比较 三组大鼠体重、胆固醇比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); T2DM 组和 DCM 组血糖、甘油三酯水平大于正常对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但 T2DM 组、DCM 组血糖、甘油三酯比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

2.4 血清瘦素、BNP 比较 T2DM 组、DCM 组血清瘦素、BNP 水平均大于正常对照组, DCM 组大于 T2DM 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

3 讨论

研究显示, 糖尿病相关死亡病因中心血管并发症占大部分, 其中又以缺血性心脏病为主^[7]。由此可见, 糖尿病心脏病严重威胁糖尿病患者的生命安全。糖尿病作为心血管疾病独立危险因素, 可导致心脏结构与功能的改变, 使得心肌对缺血耐受性降

低^[8]。瘦素作为脂肪细胞,是保持能量平衡分泌的一种激素,为 Ob 基因(Obesitygenes)编码的蛋白质产物,其参与机体摄食、体温及能量平衡的调控,调节脂类代谢及胰岛素分泌^[9]。因此,血清瘦素在许多疾病,如肥胖、糖尿病等病理生理过程中均发挥着重要生物学活性。有研究指出^[10],2型糖尿病在慢性病理状态下可发生胰岛素抵抗,通过抑制胰岛素信号转导和葡萄糖转运,降低心肌对葡萄糖的利用,影响心肌代谢,进一步减少 ATP 合成,损伤心肌组织。薛玉刚等^[11]研究显示,瘦素可抑制胰岛素在脂肪细胞中的多种代谢作用,瘦素水平升高,可致炎症反应加剧,还可促使内皮细胞内皮素 1 高表达而使血管痉挛,进一步加重心肌损伤,但是也有学者持不同观点。

本研究结果显示,DCM 组 E/A 比值大于正常对照组、T2DM 组,LVEF 小于正常对照组、T2DM 组($P<0.05$),T2DM 组与正常对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示 DCM 组存在心功能受损。分析认为 DCM 的发生会导致心肌功能和结构的显著改变,造成心室纤维化和肥大,进而出现舒张功能障碍,使 E/A 增大,LVEF 减小。同时三组大鼠体重、胆固醇比较,差异无统计学意义($P>0.05$),T2DM 组、DCM 组血糖、甘油三酯水平平均大于正常对照组($P<0.05$),但 T2DM 组、DCM 组血糖、甘油三酯比较,差异无统计学意义($P>0.05$),表明 2 型糖尿病大鼠存在不同程度的脂质代谢紊乱。分析认为 DCM 早期,高血糖均可诱导细胞内大量氧自由基的生成,使机体处于氧化应激状态,氧自由基介导的氧化损伤会影响胰岛传导系统,进而加剧血糖水平升高。同时氧自由基的过分表达会影响脂质过氧化代谢,从而造成脂质代谢紊乱^[12]。同时 T2DM 组大鼠在喂养至 12 周时,通过超声发现 E/A 比值以及射血分数的变化($P<0.05$),提示在糖尿病大鼠会有一定比例出现心肌病变。瘦素水平升高,会加剧炎症反应、氧化应激状态及胰岛素抵抗,进一步加重糖尿病心肌在缺血再灌注的损伤程度^[13]。本研究中 DCM 组大鼠血清瘦素水平高于正常对照组及 T2DM 组,表明瘦素可能影响糖尿病心肌病的发生、发展。分析原因可能为 DCM 组最初随着心房充盈量的增加和舒张早期充盈量的减少,舒张松弛和心脏僵硬的损害增加,瘦素水平升高,促进脂肪合成和贮存,随着严重反应加剧,炎症因子水平增高,促进心肌纤维化,从而导致心脏收缩和舒张功能发生实质性改变。瘦素水平的升高可能使代谢产物增多,心肌细胞脂质过氧化程度增大,进一步导致冠状动脉微循环和收缩舒张功能恶化。DCM 需排除冠心病和高血压后诊断^[14]。但当这些疾病与 DCM 共存时,可能会迅速发展为晚期心力衰竭。既往很难从临床角度验证这些疾病在 DCM 进程和发展中的作用^[15]。本研究通过建立

T2DM 组及 DCM 组大鼠模型,观察到 E/A 比值、LVEF、血清瘦素水平及 BNP 水平的变化,推测瘦素水平对 DCM 发生发展的可能影响,为糖尿病性心肌病发生发展提供了理论参考。

综上所述,血清瘦素水平与糖尿病大鼠心肌病的预后密切相关,加强对 T2DM 血清瘦素的监测,可一定程度预防 DCM 的发生。而血清瘦素下降可能一定程度改善 DCM 患者预后,减轻 2 型糖尿病心肌病损伤程度,但仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1]Wasim M,Awan FR,Najam SS,et al.Role of Leptin Deficiency, Inefficiency, and Leptin Receptors in Obesity [J].Biochem Genet,2016,54(5):565-572.
- [2]王立坤,武雪亮,杨占清,等.2 型糖尿病患者血清抵抗素和瘦素及脂联素水平与颈动脉斑块的相关性研究[J].中国临床药理学杂志,2017,33(4):297-300.
- [3]金静.血清瘦素和脂联素水平与非缺血性扩张型心肌病患者预后的关系研究[J].实用心脑血管病杂志,2018,26(1):18-21.
- [4]Wang ZV,Hill JA.Diabetic cardiomyopathy: catabolism driving metabolism[J].Circulation,2015,131(9):771-773.
- [5]蔡欢,何玉秀,刘静芹,等.利拉鲁肽改善糖尿病大鼠心脏脂质异位沉积的效果和机制研究 [J]. 中国循环杂志,2019,34(10):1013-1020.
- [6]沈清萍,吕涛.HbA1c 联合血清 α_1 -MG、 β_2 -MG 检测在糖尿病早期肾功能损害诊断中的价值探讨[J].中国实验诊断学,2016,20(11):1875-1877.
- [7]冯晓轩,于梅,包海鹏.糖尿病肾病动物模型的研究[J].黑龙江中医药,2016,45(1):60-61.
- [8]Piret SE,Olinger E,Reed A,et al.A mouse model for inherited renal fibrosis associated with endoplasmic reticulum stress [J].Disease Models & Mechanisms,2017,10(6):773-786.
- [9]王颖,佟俊旺,盛佳曦,等.血清瘦素、25 羟维生素 D 水平与 2 型糖尿病下肢血管病变关系的研究 [J]. 中国糖尿病杂志,2016,24(4):328-330.
- [10]Li L,Tan J,Miao Y,et al.ROS and Autophagy: Interactions and Molecular Regulatory Mechanisms [J].Cell Mol Neurobiol,2015,35(5):615-621.
- [11]薛玉刚,尚福军,薛玉生,等.不同剂量瘦素预处理对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].现代生物医学进展,2016,26(16):5019-5023.
- [12]李娇阳,高彦彬,周盛楠,等.通心络对 2 型糖尿病大鼠肾脏血管紧张素 II 表达的影响[J].世界中医药,2015,10(8):1222-1226.
- [13]付黎明,李铁,吕佳,等.糖尿病动物模型复制方法研究概况[J].中国医药科学,2016,6(3):41-45.
- [14]Hall ME,Harmancey R,Stec DE.Lean heart: Role of leptin in cardiac hypertrophy and metabolism [J].World J Cardiol,2015,7(9):511-524.
- [15]季肖丽,姚圣蜜,王倩,等.血小板反应素-1 与糖尿病心肌病关系研究[J].中国老年学杂志,2014(21):6229-6230.

收稿日期:2021-03-11;修回日期:2021-03-23

编辑/肖婷婷