

大鼠急性心梗中血浆瘦素及血流动力学参数变化的探讨

徐彤彤, 阳跃忠

桂林医学院附属医院心血管内科, 桂林 541001, 广西

摘要 目的: 研究瘦素在大鼠急性心肌梗死(AMI)过程中的变化及其与心梗发展的关系, 从而为 AMI 的临床诊治提供线索。**方法:** 60 只 SD 大鼠被分为两组, 40 只用于建立 AMI 动物模型, 为模型组; 另 20 只行假手术, 为对照组。在术后 1、2、3、4 周分别观察这两组大鼠在 AMI 发展过程中血清瘦素和心肌瘦素的变化, 并测定血流动力学参数和心功能的变化, 同时测量和计算各阶段心肌梗死面积, 以及比较瘦素与各变量间的关系。**结果:** 瘦素在 AMI 大鼠中呈动态变化, 有一个先上升后下降的过程, 模型组的瘦素显著高于对照组。在心梗后的四周, 瘦素与左室重量指数相关 ($P < 0.05$), 而与心肌梗死面积的相关性不明显 ($P > 0.05$)。模型组大鼠的外周血瘦素与动脉 SBP, 动脉 DBP, 左室收缩期峰压 (LVESP), 左室内压最大上升速率 ($+dp/dt_{max}$) 相关 ($P < 0.05$), 但与左室舒张末期压力 (LVEDP) 和左室内压最大下降速率 ($-dp/dt_{max}$) 两参数的相关性不显著 ($P > 0.05$)。**结论:** 瘦素参与了大鼠 AMI 心肌损伤过程, 瘦素升高可提示 AMI 病情恶化。

关键词 急性心肌梗死; 瘦素; SD 大鼠

中图分类号: R965.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-2501(2007)02-0191-04

1994 年美国学者成功克隆了肥胖基因—OB 基因(obese gene), 随后又发现了其蛋白质产物—瘦素(leptin), 使研究人类肥胖及与肥胖相关性疾病, 如心血管疾病、糖尿病、高脂血症、代谢综合征等进入

一个新的阶段^[1~3]。瘦素是由 OB 基因编码、脂肪细胞分泌的蛋白质激素, 由 167 个氨基酸组成^[4]。N 端是由 21 个氨基酸构成的信号肽, C 端有二硫键桥, 是保持其稳定性和发挥生物学活性的关键部位。在血循环中瘦素有二种形式: 结合与游离。游离部分发挥其生物学活性, 由肾脏排出体外。瘦素主要在白色脂肪组织中表达^[4], 皮下脂肪比内脏脂肪产生更多的瘦素。瘦素入血液循环后通过和不同组织的相应特异受体结合从而发挥多种生物学效应。瘦素受体属于 I 类细胞因子受体, 目前认为至少存在 6 种异型体, 广泛存在于下丘脑、大脑脉络丛、肝脏、肾脏、肺、脂肪组织及胰岛细胞表面。在中枢神经系统长型受体参与神经内分泌、摄食及能量代谢的调节(主要为抑制食欲和增加能量消耗); 外周短型受体可直接调节各器官的功能和物质代谢, 如激活交感神经、抑制胰岛素分泌及肝脏的胰岛素敏感性、刺激骨髓造血及促进血管形成等^[5]。

目前认为急性心肌梗死(AMI)的发病与肥胖、高血脂、高血压、高血糖及胰岛素抵抗(即 X 综合征)密切相关。近年研究发现, 瘦素与 AMI 的发生和发展有一定关系^[4]。本实验利用动物模型, 研究在 AMI 过程中瘦素的变化, 及其与心梗发生发展的关系, 以期临床诊断和治疗提供一个线索。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 血液动力学参数及心功能测定的各项测量指标, 均用 6008 型多道生理记录仪记录, 所有电信号均用 SMUP 计算机软件分析处理。血浆及心肌瘦素测定采用放射免疫方法检测(应用天津协和试剂公司提供的瘦素放免试剂盒)。

1.2 实验动物及分组 清洁级近交系雄性 SD 大鼠, 8 周龄, 体重 200~250 g, 由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。其中 40 只被制备成 AMI 模型, 为模型组; 另 20 只仅作假手术, 为对照组。

2006-11-08 收稿 2006-12-22 修回

广西教育厅资助项目[桂教科研(2004)20 号]; 广西科学基金资助项目(桂科自 0640186)

徐彤彤, 女, 硕士研究生, 副教授, 研究方向: 心血管内科临床药理及治疗。

Tel: 0773-2823731 E-mail: xutongtong@sina.com

1.3 AMI 大鼠模型的制作 采用手术方式结扎冠状动脉左前降支制作大鼠 AMI 模型的过程如下: 首先用戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 和 20% 乌拉坦 (200 mg/kg) 行腹腔注射麻醉, 同时行气管插管, 接小动物呼吸机给予通气。然后行左侧开胸术, 打开心包, 用 5 个 0 号丝线在左心耳下 1~2 mm 处结扎左前降支近端。大鼠 AMI 模型制作的成功标志为: 心电图 ST 段弓背向上抬高或出现病理性 Q 波, 直视下可见被结扎血管供应区心肌变为苍白色或发生区域性运动障碍^[5,9]。对照组的大鼠仅在前降支留置一松结, 不结扎, 即被作假手术。所有动物均分笼饲养, 标准饮食 (每 12 h 昼夜循环)。术后给予青霉素 100 000 U 肌肉注射以预防感染。

1.4 血流动力学参数及心功能测定 模型组的 40 只大鼠被分为 4 小组 (每组 10 只), 分别于术后 1、2、3、4 周行血流动力学测定和心功能测定。测定进行前称重, 用 2% 戊巴比妥钠麻醉 (30 mg/kg), 在心电监护下, 分离颈动脉, 插管至左室, 用肝素生理盐水抗凝, 接压力换能器, 分别测量并记录左室舒张末期压力 (LVEDP)、左室收缩期峰压 (LVESP)、动脉 SBP、动脉 DBP、左室内压最大上升速率 ($+dp/dt_{max}$) 和左室内压最大下降速率 ($-dp/dt_{max}$), 并同步记录心率。测量完毕后, 在心室内采集血样 2 mL, 分离血清, 置于 -20 °C 冰箱内保存, 用于测瘦素。同样, 对照组的 20 只大鼠被分为 4 个小组 (每组 5 只), 分别于术后 1、2、3、4 周行血流动力学测定和心功能测定, 方法同上。

1.5 左室重量测定 在完成血流动力学测定后, 经静脉注入 2~3 mL 的 10% KCl 溶液, 使心脏处于舒张末停止跳动状态。然后迅速打开胸腔, 取出心脏置于冰盐水中, 冲洗干净, 沿室间隔剪去右心室, 滤纸吸干后用电子天平称取左室 (包括之室间隔)

重量。

左室重量指数 (LVMI, mg/g) = 左室重量 / 体重

1.6 左室截面直径和梗死面积测定 先于长轴中点垂直横切将左室一分为二, 心尖部分用石蜡包埋, 在其断面切取厚度为 10 μ m 的横截面, HE 染色制成病理切片。然后以显微镜微机彩色图像处理系统测量左室截面直径, 即分别测定最短径和最长径, 取其几何平均值。分别测定左室截面外周长、内周长及疤痕组织弧长, 用下列公式计算出梗死面积:

梗死面积 (%) = 疤痕弧长 / ((外周长 + 内周长) / 2) \times 100%

1.7 血浆和心肌瘦素测定 取左室心底部心肌, 每 100 mg 加入生理盐水 1 mL, 低温匀浆 (匀浆液中加抑肽酶), 煮沸 10 min 后, 进行 3 000 r/min 离心, 取上清液置于 -20 °C 冰箱保存待测。

1.8 统计学分析 采用统计软件 SPSS 11.0 对实验数据处理。实验结果均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 瘦素水平在急性心肌梗死中的变化 如表 1 所示, 在 AMI 后的前 2 周, 随着心肌梗死的进程血清瘦素水平持续升高, 瘦素升高伴有严重的心功能受损。在 AMI 后的第 3、4 周, 随着心肌功能的自身修复, 心功能有改善, 瘦素水平出现下降趋势。模型组的瘦素值显著高于对照组。

2.2 瘦素与心肌梗死面积和左室重量指数的相关性分析 如表 1, 模型组心肌梗死面积与血清和心肌瘦素水平相比无相关性 ($P > 0.05$); 左室重量指数与心肌和血清瘦素浓度比较, 具相关性 (均 $P < 0.05$)。

表 1 大鼠急性心肌梗死时瘦素水平、心肌梗死面积和左室重量指数 ($\bar{x} \pm s$)

术后周次 (wk)	心池血清瘦素 (ng/mL)		心肌瘦素 (ng/mL)		心梗面积 (mm ²)	左室重量指数 (%)
	模型组 (n=40)	对照组 (n=20)	模型组 (n=40)	对照组 (n=20)		
1	0.94 \pm 0.23	0.70 \pm 0.03	1.56 \pm 0.15	0.54 \pm 0.03	29 \pm 8	57 \pm 16
2	1.22 \pm 0.23	0.68 \pm 0.03	1.76 \pm 0.13	0.51 \pm 0.04	32 \pm 10	69 \pm 19
3	0.84 \pm 0.12	0.50 \pm 0.02	1.65 \pm 0.16	0.50 \pm 0.05	30 \pm 10	63 \pm 12
4	0.61 \pm 0.24	0.40 \pm 0.03	0.89 \pm 0.09	0.43 \pm 0.02	30 \pm 9	63 \pm 15

2.3 瘦素与血流动力学相关性分析 如表 2 所示, 从模型组整个发病过程分析, 对外周血瘦素与血流动力学变量进行了相关性比较, 取得如下结果: 外周血瘦素与 SBP、DBP、LVESP、 $+dp/dt_{max}$ 相关 ($r^2 =$

0.9838, $P = 0.041$; $r^2 = 0.9315$, $P = 0.0174$; $r^2 = 0.8608$, $P = 0.0362$; $r^2 = 0.8945$, $P = 0.0271$); 外周血瘦素与 LVEDP、 $-dp/dt_{max}$ 相关性不显著 ($r^2 =$

表 2 模型组外周血瘦素与 SBP、DBP、LVESP、LVEDP、 $\pm dp/dt_{max}$ 的相关性分析($\bar{x} \pm s, n=40$)

术后周次 (wk)	SBP (kPa)	DBP (kPa)	LVESP (kPa)	LVEDP (kPa)	$+ dp/dt_{max}$ (kPa/s)	$- dp/dt_{max}$ (kPa/s)	外周血瘦素 (ng/mL)
1	12.9 \pm 1.4	8.2 \pm 0.9	20.0 \pm 2.6	1.30 \pm 0.21	522 \pm 60	393 \pm 38	5.3 \pm 1.4
2	13.6 \pm 1.3	9.0 \pm 1.0	19.3 \pm 1.2	-0.56 \pm 0.38	588 \pm 85	424 \pm 36	3.6 \pm 1.2
3	14.0 \pm 1.8	9.1 \pm 0.9	19.3 \pm 2.4	-0.82 \pm 0.31	592 \pm 72	432 \pm 30	3.2 \pm 1.4
4	14.8 \pm 2.7	9.6 \pm 1.8	18.8 \pm 3.5	-0.98 \pm 0.48	630 \pm 68	433 \pm 33	1.6 \pm 1.0

3 讨论

已发现血小板有 Obese Receptor b(Ob-Rb) 表达, 瘦素与其受体结合, 使络氨酸残基磷酸化, 进而增强二磷酸腺苷(ADP) 诱导的血小板聚集^[3]。肥胖个体的瘦素浓度范围是 50 ~ 100 $\mu\text{g/L}$, 此浓度范围的瘦素可促进血小板聚集。而正常人瘦素水平 < 10 $\mu\text{g/L}$, 此浓度对血小板的聚集不产生明显影响^[7]。所以, 高浓度瘦素加强血小板聚集可能是肥胖、心血管疾病、糖尿病发病的一个重要相关因素^[8]。临床研究发现, 合并冠心病的糖尿病患者, 其瘦素水平较无冠心病者明显升高。高瘦素、低载脂蛋白 A₁(Apo-A₁) 水平与冠心病的发生高度相关^[9]。

Passaro 等^[10] 进行的一项大型临床前瞻性研究发现, 老年超重患者的瘦素浓度高低与其收缩压、舒张压水平呈正相关, 瘦素可能在某些与肥胖相关的高血压的发病中发挥着举足轻重的作用。张政祥^[11] 对 68 例原发性高血压患者和 40 例健康志愿者进行研究后发现血清瘦素水平与血压水平相关, 与高血压靶器官受损无相关性, 与性别和 TG 有关, 与 BMI 和 TG 呈正相关。AMI 时血清瘦素水平与下丘脑-垂体-肾上腺和炎症细胞因子系统的关系有重要临床意义。Stejskal 等^[12] 研究发现, AMI 患者血清瘦素水平升高和瘦素抵抗是通过细胞因子直接作用所致。

本实验结果提示瘦素在心梗发展过程中起了重要作用。在 AMI 早期瘦素急剧升高, 收缩压和左室收缩压下降, 舒张压和左室舒张压增加, 左室内压最大上升和下降速率受损, 心功能明显下降。随着病程进展, 瘦素水平持续一段时间, 在 4 周后开始有下降的趋势, 而心功能也出现自我恢复迹象, 提示在 AMI 发展过程中瘦素表现为一种动态过程, 可能参与心肌损伤的过程。但必须说明, 就目前的研究证据尚不能对瘦素与心肌损伤和梗死发展之间是否伴随或因果关系作出结论。对瘦素与血流动力学是伴随或因果关系作结论亦证据不足。Fujimaki 等^[10] 研

究在 AMI 中心肌酶变化和瘦素的关系发现高瘦素组乳酸脱氢酶与正常瘦素组比较有明显差异, 而在高瘦素血和正常瘦素血患者中其他血清标志物水平无明显差别。Stejskal 等^[9] 亦发现, 高瘦素组 AMI 患者肌钙蛋白(TnT) 水平高于正常瘦素组。因此瘦素在 AMI 患者心肌损害发展中参与了心肌酶学的调节。

目前认为瘦素主要通过诱导和增加内皮细胞第二信使因子活性氧(ROS), 升高对氧化还原反应敏感的活性蛋白(AP-1) 和 NF- κ B, 引起血管内皮细胞功能紊乱, 增加血管局部炎症反应, 加速动脉粥样硬化发展 AMI^[14, 15]。

瘦素能增加内皮细胞内皮素(endothelin 1, ET-1) 的表达, 促使血管痉挛。在冠状动脉粥样硬化的基础上, 高瘦素血症会促发冠脉收缩发生 AMI^[16~19]。本实验发现在 AMI 中心肌高瘦素水平与心功能受损程度密切相关。林季等^[21] 研究发现急性缺血-再灌注损伤后血清瘦素水平呈动态变化, 认为瘦素与炎症反应有关, 可视为一种炎症反应因子。目前认为冠心病是一种炎症性疾病, 瘦素作为脂肪细胞分泌的细胞因子可能象脂肪细胞分泌的其它因子一样, 还具有致炎作用。本研究发现 AMI 早期炎症严重时, 心肌局部瘦素急剧增加, 可能与心肌坏死损伤缺血时炎症反应增加有关。

综上所述, 在 AMI 发展过程中瘦素参与了心肌损伤的进程, 瘦素可能是一种炎症反应因子, 其增加可提示 AMI 的恶化, 具体的机制还需要进一步研讨。

参考文献

1 Meisel SR, Ellis M, Pariente C, *et al.* Serum leptin levels increase following acute myocardial infarction[J]. *Cardiology*, 2001; 95: 206—211.
2 Barouch LA, Berkowitz DE, Harrison RW, *et al.* Disruption of leptin signaling contributes to cardiac hypertrophy independently of body weight in mice[J]. *Circulation*, 2003; 108: 754—759.
3 Shamsuzzaman AS, Winnicki M, Wolk R, *et al.* Independent association between plasma leptin and C-reactive protein in healthy humans[J]. *Circulation*, 2004; 109: 2181—2185.

- 4 Zhang YY, Proenca R, Maffei M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue[J] . Nature, 1994; 372: 294—298.
- 5 Mkata M, Yada T, Soejima N. Leptin promotes aggregation of human platelets via the long form of its receptor[J] . Diabetes, 1999; 48: 426—429.
- 6 Nhrayma I, Nakata M, Yamam K. Effect of leptin on platelet and endothelial cells; obesity and arterial thrombosis[J] . Ann N Y Acad Sci, 2000; 902: 315—319.
- 7 Konstantinide S, Schafer K, Koschnick S. Leptin-dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity[J] . J Clin Invest, 2001; 108: 1533—1540.
- 8 Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat[J] . Am J Pathol, 1978; 90: 57—70.
- 9 Milavetz JJ, Raya TE, Johnson CS, *et al.* Survival after myocardial infarction in rats: captopril versus losartan[J] . J Am Coll Cardiol, 1996; 27: 714—719.
- 10 Passaro A, Calzoni F, Zamboni PF. Role of diabetes in influencing leptin concentration in elderly over 2 weight patients[J] . Eur J Endocrinol, 2001; 145: 173—179.
- 11 张政祥, 李红辉, 陈家林, 等. 血清瘦素与原发高血压和血脂及血脂的关系研究[J] . 高血压杂志, 2002; 10: 110—113.
- 12 Stejskal D, Duzicka V, Bartek J. Leptinemia in persons with acute myocardial infarction[J] . Vnitř, 1998; 44: 588—592.
- 13 Nkisel SR, Ellis M. Serum leptin levels increase following

- acute myocardial infarction[J] . Cardiology, 2001; 95: 206—211.
- 14 Fujimaki S, Kanda T, Fujita K, *et al.* The significance of measuring plasma leptin in acute myocardial infarction[J] . J Int Med Res, 2001; 29: 108—113.
- 15 Chu NF, Spiegelman D, Botamisligil GS, *et al.* Plasma insulin, leptin, and soluble TNF receptors levels in relation to obesity-related atherogenic and thrombogenic cardiovascular disease risk factors among men[J] . Atherosclerosis, 2001; 157: 495—503.
- 16 Christopher J, Ronald E, Willa AH. Adiposity, inflammation atherogenesis[J] . Endocrinology, 2003; 144: 2195—2200.
- 17 Bouloumie A, Nnnumo T, Lafontan M. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells[J] . FASEB J, 1999; 13: 1231—1238.
- 18 Yamagishi SI, Eselstein D, Du XL, *et al.* Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein 1 expression in aortic endothelial cells increasing fatty acid oxidation via protein kinase[J] . J Biol Chem, 2001; 276: 25096—25100.
- 19 Queheberger P, Exner M, Sunder PR. Leptin induces endothelin-1 in endothelial cells *in vitro*[J] . Circ Res, 2002; 90: 711—718.
- 20 林季, 颜光涛, 郝秀华, 等. Leptin 及 Orexin-AR1 在大鼠肠缺血-再灌注损伤中的应用[J] . 放射免疫学杂志, 2004; 17: 329—332.

Leptin level change during acute myocardial infarction in rats

XU Tong-tong, YANG Yue-zhong

Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, Guangxi, China

ABSTRACT **AIM:** Experiments were carried out to explore the variation of leptin level during acute myocardial infarction of SD rats and the inter-relationship between leptin change and AMI progress. **METHODS:** Sixty Sprague-Dawley rats were randomized into 2 groups, 40 rats as the AMI group and 20 rats as the sham-operation group. AMI was experimentally established by ligating left coronary artery anterior descending branch. Leptin level in serum and myocardium was measured at 1st, 2nd, 3rd and 4th week after ligation, respectively. Further, myocardial function and death area, as well as the left ventricle weight index were detected. **RESULTS:** The leptin level of the AMI group varied during the AMI process, experiencing a period with increasing leptin level at first and then a period with decreasing leptin level. The leptin level of the AMI group is significantly higher than that of

the sham-operation group. The myocardial death area for the AMI group did not correlate with serum and myocardial leptin concentrations with a P value > 0.05 , while the left ventricle weight index correlated with both leptin concentrations in the early phase of AMI with $P < 0.05$. Leptin concentration correlated well with SBP, DBP, LVESP, and $+dp/dt_{max}$, with $P < 0.05$, while the correlations of leptin concentration with both LVEDP and $-dp/dt_{max}$ were not significant, with $P > 0.05$. **CONCLUSION:** Leptin is involved in the progress of AMI in the experimental SD rats. An increase in leptin level during AMI may signify myocardial deterioration. **KEY WORDS** acute myocardial infarction; leptin; SD rat

本文编辑: 李娟