DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.04.012

糖尿病性心肌病大鼠的心肌结构、代谢和功能的变化

梁自文 张忠辉 张 平 陈意生 (第三军医大学附属西南医院内分泌科)重庆,630038

提 要 通过腹腔注射链脲佐菌素制成糖尿病大鼠模型。8周后与正常对照鼠比较血糖、血脂、心肌功能、高能磷酸含量及超微结构的改变;糖尿病鼠表现出高血糖、高血脂,左室收缩和舒张功能下降,心肌高能磷酸含量降低,心肌超微结构损害,但未伴有冠状动脉及其分枝的病变。结果表明糖尿病性心肌病的独立存在。

关键词 糖尿病;心功能;高能磷酸;冠状动脉;超微结构;大鼠

中图法分类号 R587.2

很多糖尿病人在发生冠状动脉损害、高血压或是血管病之前已有心功能的降低,目前对其发生机理尚不清楚,对糖尿病性心脏病的存在尚有争议。我们通过链脲佐菌素(STZ)糖尿病大鼠模型,发现在形成冠状动脉病变之前,持久的"葡萄糖毒性"可以导致心肌细胞结构破坏、能量代谢紊乱和心功能降低,形成糖尿病性心肌病。

1 材料与方法

1.1 糖尿病动物模型制作与分组

体重170~220 g Wistar大鼠50只,雌雄各半,随机取25只腹腔注射STZ(55 mg/kg,溶于0.1 mol/L枸橼酸钠缓冲液,pH4.5)作为糖尿病(D)组,余25只仅注射等体积缓冲液作为正常对照(C)组。3 d后采D组尾静脉血测血糖须≥16.6 mmol/L;大鼠自由进食和充足饮水,每周测血糖1次,第8周末处死,当时采心血测果糖胺(FS)、总胆固醇(CH)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、胰岛素(IN)。

血糖采用邻甲苯胺法测定,FS采用比色法测定,IN采用放免法测定,CH、TG、LDL和HDL均采用酶法测定。

1.2 血液动力学研究

10%乌拉坦按1 ml/kg腹腔注射麻醉动物,气管插管,沿颈右动脉逆行插入心导管至左室腔,导管通过压力感受器连于八道生理记录仪,测定左室收缩压(LVSP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室内压最大上升和下降速率($\pm dp/dt_{max}$)及心电图。

1.3 心肌高能磷酸含量

将麻醉大鼠置于人工呼吸控制下,迅速用液氮预冷的金属夹板将心脏冷冻,移置于液氮中保存,称量,参照文献[1]的方法进行心肌样品制备,于高效液相色谱仪测定ATP、ADP和AMP含量。

1.4 形态学观察

麻醉每组3只大鼠,颈动脉插管,0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH7.4,含2%戊二醛)灌注固定,迅速取左室腔中部和心尖之间数块室壁中层组织块切成数小块,分别用3%戊二醛、1%锇酸固定,饱和醋酸铀过夜,丙酮脱水,环氧丙烷置换,环氧树酯618包埋,LKB机切片,在TEM-2000EX透射电镜下观察心肌细胞超微结构并照像。

取去电镜组织后的余留组织块,固定于4%中性福尔马林中,梯度酒精系列脱水,常规石蜡包埋切片,糖原染色,用BHS-2照像显微镜观察冠状动脉开口及其分枝的病变。

1.5 数据处理

结果以$\bar{x}\pm s$表示,进行t检验和方差分析。

2 结果

2.1 一般状况

和C组比较,D组大鼠血糖升高十分明显,而体重和心脏重量均显著降低,心脏重量与体重的比值升高,心电图上QRS综合波电压值增加而PR间期不变(表1)。

表1 实验动物一般状况($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 General data of experimental animals ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	Body weight (g)	Heart weight (g)	Heart weight/Body weight (mg/g)	Plasma glucose (mmol/L)	ECG changes	
						PR interval (m/s)	QRS amplitude (mm)
C	25	461.30±12.69	1.13±0.05	2.45±0.05	8.52±0.90	9.80±0.26	9.90±0.26
D	22	301.70±8.53△	0.84±0.04△	2.78±0.06△	27.37±1.35△△	9.10±0.20	16.10±0.86△

△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* control

2.2 果糖胺、血脂和胰岛素水平

和C组比较,D组大鼠FS显著升高,FS是糖化血红蛋白的指示物,代表测定前1~4周血糖水平;D组大鼠CH和HDL无明显变化,TG和LDL均显著升高,但IN却下降十分明显(表2)。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　果糖胺、血脂和胰岛素水平 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Levels of plasma fructosamine, lipid and insulin ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	FS (mmol/L)	TG (mmol/L)	CH (mmol/L)	LDL (mmol/L)	HDL (mmol/L)	IN (pmol/L)
C	25	1.97± 0.19	0.27± 0.06	0.98± 0.17	0.24± 0.03	0.08± 0.010	7.26± 0.75
D	22	3.16± 0.14△	1.01± 0.13△	1.31± 0.38	0.37± 0.08△	0.08± 0.009	1.41± 0.20△△

△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* control

2.3　血液动力学参数

和 C组比较,D组大鼠 HR缓慢,LVSP和± dp/dt_{max}均显著降低,而 LVEDP明显升高(表 3)。

表 3　糖尿病大鼠血液动力学参数 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Hemodynamic parameters of diabetic animals ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	HR (bpm)	LVSP (kPa)	LVEDP (kPa)	+ dp/dt_{max} (kPa/s)	− dp/dt_{max} (kPa)
C	25	190.62± 24.60	19.60± 1.90	0.27± 0.20	860.58± 30.13	663.43± 22.26
D	22	145.81± 50.60△	15.70± 1.30△	1.97± 0.27△	588.12± 17.20△	431.49± 14.13△

△: $P<0.05$ *vs* control

2.4　心肌高能磷酸含量

和 C组比较,D组大鼠心肌 ATP含量降低,而 ADP和 AMP含量升高,ATP/ADP及 ATP/AMP降低,能荷(EC)下降,EC= ATP+ 0.5ADP/(ATP+ ADP+ AMP),见表 4

表 4　糖尿病大鼠心肌高能磷酸含量 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 4　High-energy phosphate contents of myocardium in diabetic animals ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	ATP (μmol/g)	ADP (μmol/g)	AMP (μmol/g)	ATP/ADP	ATP/AMP	EC
C	10	4.91± 0.13	1.48± 0.03	0.44± 0.02	3.32± 0.12	11.13± 0.76	0.81± 0.80
D	10	3.71± 0.07△	1.84± 0.08△	0.90± 0.01△	2.02± 0.12△	4.12± 0.09△	0.72± 0.69△

△: $P<0.05$ *vs* control

2.5　形态学观察

和 C组比较,D组大鼠在 8周病程中未见到冠状动脉异常改变;但心肌细胞线粒体数目增多、普遍肿胀、嵴突数目减少或断裂,基质电子密度降低,肌浆网中度扩张,心肌间质水肿(图 1~ 2)。

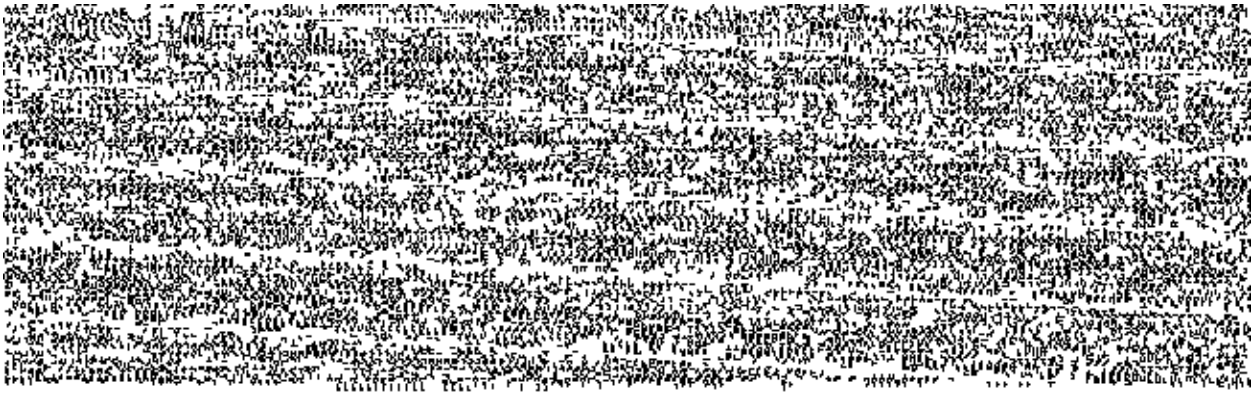


图 1　糖尿病心脏超微结构。显著的线粒体(➤)结构破坏,肌浆网(M)扩张　(TEM× 6000)

Fig 1　Ultrastructure of diabetic heart. Note disruption of mitochondrial matrix organization (➤), extension of myoplasmic reticulum (M)　(TEM× 6000)

图 2　糖尿病大鼠心肌间质水肿明显(E)　(TEM× 10000)

Fig 2　Marked interstitial edema in myocardium of diabetic rat　(TEM× 10000)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 讨论

本研究结果显示大鼠注射 STZ后多饮多尿,显著高血糖,体重和心脏重量均降低,但心脏重量与体重之比值升高,心电图上 QRS综合波电压值升高而 PR间期不变可能与此比值增加有关。糖尿病大鼠在 8周病程中每周监测血糖均明显增高,果糖胺水平也显著升高,反映大鼠处于持续的高血糖状态,血脂也明显异常。

糖尿病大鼠心率缓慢,左室收缩压降低,而左室舒张末压显著升高,左室收缩及舒张速率减慢,反映大鼠左室收缩和舒张功能减退,与糖尿病大鼠游离灌注心脏检测结果一致[2];糖尿病大鼠心肌组织 ATP含量降低,ADP和 AMP升高,能荷下降,表明线粒体呼吸功能障碍,氧化磷酸化过程受阻;超微结构上糖尿病大鼠心肌细胞线粒体明显增多、变形、嵴断裂,肌浆网扩张,间质水肿,这些改变与国外学者观察大同小异[3]。值得注意的是在 8周病程中糖尿病大鼠心肌结构、代谢和功能的改变并不伴有冠状动脉的病变,但有明显的持久的血糖过高,表明此心肌病变主要是由于持久性高血糖所致,与冠状动脉病变和心肌缺血无关,故系糖尿病早期独立的病变;随着血糖的控制,心肌病变可以恢复(见另文报道),也有力支持其独立性。

糖尿病大鼠胰岛素缺乏,糖脂代谢紊乱,形成持久高血糖和高血脂,出现所谓"葡萄糖毒性"[4],致心肌酶如 Ca^{2+}-ATP酶、异柠檬酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶等活性降低,心肌细胞的氧化磷酸化偶联作用受阻,有氧代谢不能顺利进行,能量产生障碍,因此与能量代谢关系密切的线粒体病变较早出现,呼吸功能降低,底物利用减少,细胞内 Ca^{2+} 蓄积[5];高血糖还致心肌细胞膜上葡萄糖转运因子Ⅳ数目减少[6],细胞不能利用葡萄糖作为能源;胞浆肌球蛋白 ATP酶同功酶分布异常[7];这些因素直接导致心功能降低。

目前对糖尿病性心脏病的存在已有较多支持,它由冠状动脉性心脏病变、心肌病变和心脏自主神经病变 3部分组成,其中心肌病变是独立存在的[8],临床上常被忽视,本实验结果进一步阐明糖尿病心肌病变的独立性,以期引起对早期严格控制高血糖的高度重视。

参考文献

1 顾建国,荣 沛,王义明等.反相 HPLC法测定大鼠梗塞心肌组织中 ATP、ADP、AMP.中国药科大学学报,1989;5(3):141

2 Suzuki O, Matsubara T, Kanashiro M *et al*. Are diabetic hearts more resistant to ischemia/reperfusion injury? Jpn Circ J, 1993; 57(4): 328

3 Zhu XX, Zhou XP, Zhong XL *et al*. Streptozotocin induced cardiomyopathy in diabetic rats. Chin Med J [Engl], 1993; 106(6): 463

4 张巾超.高血糖与糖尿病慢性并发症.实用糖尿病杂志,1995;3(3):50

5 Noda N, Hayashi H, Satoh H *et al*. Ca^{2+} transients and cell shortening in diabetic rat ventricular myocytes. Jpn Circ J, 1993; 57(5): 449

6 Garvey WT, Hardin D, Juhaszova M *et al*. Effects of diabetes myocardial glucose transport system in rats: implications for diabetic cardiomyopathy. Am J physiol, 1993; 264(3 Pt 2): H837

7 Cohen A. Diabetic cardiomyopathy. Arch Mal Coeur, 1995; 88(4): 479

8 Shehadeh A, Regan TJ. Cardiac consequences of diabetes mellitus. Clin Cardiol, 1995; 18(6): 301

(收稿:1996-01-09;修回:1996-06-11)

(编辑 王 红、沈锡庚)

Changes of myocardial structure, metabolism and functions in diabetic cardiomyopathy in rats

Liang Ziwen, Zhang Zhonghui, Zhang Ping, Chen Yisheng (Department of Endocrinology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Eight weeks after the rats were inflicted with diabetic cardiomyopathy with intraperitoneal injection of 55 mg/kg streptozotocin, the changes of blood content of sugar and fat, myocardial functions, myocardial content of high-energy phosphoric acid and myocardial ultrastructure were studied. It was found that the rats with diabetic cardiomyopathy exhibited hyperglycemia, hyperlipemia, decrease in contraction and relaxation of the left ventricle, decrease of the myocardial content of high-energy phosphoric acid and damages of the myocardial ultrastructures without the involvement of the coronary arterial system. These findings confirm that the occurrence of diabetic cardiomyopathy is independent from atherosclerosis or microvascular disease.

Key words diabetic cardiomyopathy; cardiac function; coronary artery; high-energy phosphoric acid; ultrastructure; rat

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net