

• 基础研究 •

缺血期急性高血糖对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的影响

苏慧 孙新 王晓明 张海锋 黄晨

【摘要】 目的 探讨缺血期急性高血糖对大鼠心肌缺血/再灌注(MI/R)后心肌损伤的影响,并分析血糖水平与心肌损伤之间的关系。方法 在制备急性大鼠 MI/R(缺血 30min,再灌注 6h)模型的基础上,静脉输注高浓度的葡萄糖溶液,造成 2 个不同浓度的缺血期急性高血糖动物模型。将 32 只 SD 大鼠随机平均分配为 4 组:(1)假手术组(SHAM),(2)生理盐水对照组(CON),(3)高糖 1 组(HG₁)和(4)高糖 2 组(HG₂)。术中监测血糖水平,再灌注结束后检测心肌酶谱水平和心肌梗死面积(IS)。结果 (1)与 CON 组相比较,HG₁ 组和 HG₂ 组缺血期血糖水平均显著升高,分别为(10.5±1.0)、(18.0±1.2)mmol/L vs (4.7±0.7)mmol/L($P<0.05$)。(2)HG₁ 组和 HG₂ 组的血肌酸激酶和乳酸脱氢酶水平明显升高,且心肌酶谱与血糖水平存在正相关(r 分别为 0.80 和 0.73, $P<0.01$)。(3)HG₁ 组的 IS 较 CON 组有扩大趋势,但差异无统计学意义[(40.8±5.2)% vs (37.6±5.8)%, $P>0.05$];HG₂ 组的 IS 明显扩大[(45.6±8.5)% vs (37.6±5.8)%, $P<0.05$],且 IS 与血糖水平存在正相关($r=0.57$, $P<0.01$)。结论 缺血期急性高血糖加重大鼠 MI/R 损伤,且血糖水平与心肌酶谱和 IS 之间存在正相关。

【关键词】 高血糖症;心肌缺血;心肌再灌注损伤;大鼠

Effects of hyperglycemia during myocardial ischemia on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats

SU Hui*, SUN Xin, WANG Xiaoming, et al

* Second Department of Geriatrics, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xian 710032, China

【Abstract】 Objective To study the effects of different levels of hyperglycemia on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. Methods Thirty-two SD male rats were subjected to 30 min of myocardial ischemia (MI) and 6 h of reperfusion (R) and were randomly divided into 4 groups: SHAM (sham operation), CON (saline administration throughout ischemia and reperfusion period), HG₁ (administration of 25% glucose by intravenous infusion during ischemia and saline during reperfusion), HG₂ (administration of 50% glucose by intravenous infusion during ischemia and saline during reperfusion). The velocity of intravenous infusion was 4 ml/(kg·h). Blood glucose levels were monitored throughout the experiment. Myocardial infarction size and serum myocardial enzyme levels of rats were determined after the experiment. Results ① Blood glucose concentrations significantly increased in HG₁ and HG₂ groups compared with CON group, being (10.5±1.0) and (18.0±1.2) mmol/L vs (4.7±0.7) mmol/L respectively. ② Serum CK and LDH increased remarkably in HG₁ and HG₂ groups. There was a positive correlation between blood glucose and CK, LDH levels. ③ There was a trend of increase in infarction size in HG₁ group compared with CON group, but there was no significant difference [(40.8±5.2)% vs (37.6±5.8)%, $P>0.05$]. Myocardial infarction size enlarged significantly in HG₂ group [(45.6±8.5)% vs (37.6±5.8)%, $P<0.05$]. There was a positive correlation between infarction size and blood glucose level. Conclusion Acute hyperglycemia during ischemia significantly exacerbates MI/R injury. Furthermore, there is a positive correlation between hyperglycemia and myocardial injury.

【Key words】 hyperglycemia; myocardial ischemia; myocardial reperfusion injury; rats

近年来临床研究显示,在非糖尿病患者人群中发生急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)时

收稿日期:2006-12-06

作者单位:710032 西安市,第四军医大学西京医院老年病二科(苏慧、王晓明、黄晨),儿科(孙新),基础部生理学教研室(张海锋)

作者简介:苏慧,女,1975年2月生,山西省万荣县人,医学博士,主治医师

通讯作者:黄晨, Tel:029-84775547, E-mail: xjhbzr@fmmu.edu.cn

出现持续性血糖增高者其充血性心力衰竭、猝死及休克的发生率增加,高血糖已成为反映 AMI 患者病情严重程度、判断预后的一个独立指标^[1]。笔者前期的研究结果提示,缺血期急性高血糖可加重大鼠心肌缺血/再灌注(myocardial ischemia/reperfusion, MI/R)损伤。本实验在前期研究工作的基础上进一步观察不同水平的急性高血糖对于大鼠发生 MI/R 后心肌梗死面积和心肌酶谱的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组 SD 雄性大鼠 32 只,体重 180~220 g(由第四军医大学实验动物中心提供),正常饮食。随机分为 4 组,每组 8 只。处理方法如下:缺血期随机地接受以下一种处理,再灌注期均给予生理盐水静脉内泵入:(1)假手术组(SHAM 组,手术操作相同,但不阻断冠脉血流,缺血期给予生理盐水);(2)生理盐水对照组(CON 组,缺血开始后一次性给予生理盐水 1ml 静脉内注射,继而持续静脉内泵入,至再灌注结束);(3)高血糖 1 组(HG₁ 组,缺血即刻给予 25%葡萄糖溶液 1ml,持续静滴至缺血结束);(4)高血糖 2 组(HG₂ 组,缺血即刻给予 50%葡萄糖溶液 1ml,持续静滴至缺血结束)。各组静脉输液速度均为 4ml/(kg·h)。

1.2 实验材料及仪器 Evans 蓝和氯化三苯基四氮唑(TTC)(上海化学试剂公司);肌酸激酶(CK),乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(长城临床试剂公司);微量注射泵(美国 Harvard 公司);Beckman-600 紫外分光光度计(美国 Beckman 公司);血糖仪(美国强生公司)。

1.3 心肌缺血模型制备及实验方案 3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔麻醉,分离颈动脉以供取血,分离颈静脉建立静脉通路。选择左室支常规制备大鼠 MI/R 模型,心肌缺血 30 min,再灌注 6 h。再灌注开始后封闭胸腔(排净胸腔气体)、恢复动物自主呼吸。穿刺颈静脉以程控微量注射泵输液给药。

1.4 血糖和心肌酶谱检测 分别于缺血前、缺血后 25 min 和再灌注 2h, 4h 截尾取血,用血糖仪测血糖水平。心肌酶谱测定:再灌注结束后由颈动脉取血 2ml,常温放置 20min 后,3000 转/min,离心 5min,取血清 300μl 严格按照试剂盒说明书检测 CK 和 LDH。

1.5 心肌梗死面积测定 按本室建立的方法检测心肌梗死面积(infarct size, IS)^[2]。简述如下:再灌注 6h 结束后,再次原位阻断冠状动脉血流,2% Evans 蓝 4ml 由颈动脉注入后迅速分布全身,速取出心脏,冻存于 -20℃。用心脏切片器垂直于心脏长轴将其切成 1 mm 厚

的薄片,置于 1% TTC(pH 7.4)中,37℃ 孵育 15 min。用数码相机拍照并输入计算机。采用单盲法分别将 Evans 蓝染色区(蓝染,非缺血区)、TTC 染色区(红染,缺血区)以及非 TTC 染色区(白色,梗死区)用 Image Pro Plus 面积测算软件进行计算处理。IS 以心肌梗死面积占缺血区面积的百分比表示。

1.6 统计学处理 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Origin7.0 软件进行统计学分析。数据分析以组间 *t* 检验(采用方差分析和线性相关分析)进行统计学分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血糖水平变化 缺血前各组间血糖水平无明显差异。静脉给予高糖溶液后,血糖水平迅速升高,HG₁ 组缺血期血糖达到 (10.5 ± 1.0) mmol/L 水平,HG₂ 组达 (18.0 ± 1.2) mmol/L 水平,两组与 CON 组相比均存在显著差异。4 组大鼠血糖水平变化见表 1。

表 1 4 组大鼠不同时间点的血糖水平 (mmol/L)

组别	缺血前	缺血 25min	再灌 2h	再灌 4h
SHAM	5.4±0.9	5.3±1.0	5.5±0.6	5.3±0.9
CON	4.9±0.9	4.7±0.7	4.9±1.1	5.2±0.9
HG ₁	5.1±0.8	10.5±1.0*	6.7±1.1*	5.9±0.9
HG ₂	4.7±0.6	18.0±1.2*	8.6±1.6*	6.6±1.2*

注:与 SHAM 组比较,* $P < 0.05$;与 CON 组比较,* $P < 0.05$

2.2 心肌酶谱的变化 为观察高糖对 MI/R 心肌损伤的影响,本实验检测了血清 CK 和 LDH 水平。MI/R 后 CK 和 LDH 明显升高,与 SHAM 组比较有显著差异。HG₁ 组的 CK 水平较 CON 组升高,但不存在显著性差异,LDH 明显升高,与 CON 组比较存在显著差异。HG₂ 组的 CK 和 LDH 水平均明显升高,与 CON 组比较存在显著差异。线性相关分析结果提示,CK 和 LDH 水平与血糖水平呈正相关(r 分别为 0.80 和 0.73)。各组心肌酶谱水平的变化见表 2。

表 2 4 组大鼠再灌注 6h 血清 CK,LDH 水平 (μkat/L)

组别	CK	LDH
SHAM	17±2	12±2
CON	51±6*	40±5*
HG ₁	56±5	45±4*
HG ₂	60±7*	48±5*

注:与 SHAM 组比较,* $P < 0.05$;与 CON 组比较,* $P < 0.05$

2.3 高糖对 MI/R 梗死面积的影响 CON 组、HG₁ 组和 HG₂ 组间总缺血范围无明显差异,分别为 $(48.7 \pm 4.0)\%$, $(49.0 \pm 4.7)\%$ 和 $(46.9 \pm$

5.0)%。缺血30 min再灌6 h后大鼠心脏出现明显梗死区。与CON组相比, HG_1 组IS有扩大趋势,但不存在显著性差异[(40.8±5.2)% vs (37.6±5.8)% , $P>0.05$]。 HG_2 组IS较CON组明显扩大[(45.6±8.5)% vs (37.6±5.8)% , $P<0.05$]。线性相关分析结果提示,IS与血糖水平呈正相关($r=0.57$)。不同处理组大鼠MI/R后IS原始图见图1,柱状图见图2。

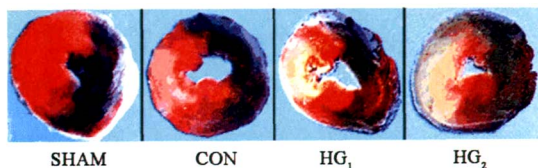
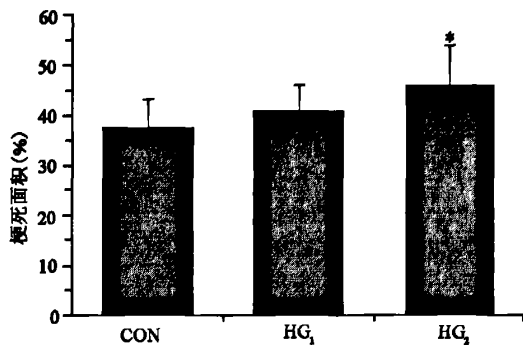


图1 大鼠MI/R后心肌梗死面积(原始图)



与Con组比较, * $P<0.05$

图2 大鼠MI/R后心肌梗死面积

3 讨论

最近大型临床研究结果表明,AMI死亡率与血糖水平密切相关,合并高血糖的AMI患者远期心力衰竭发生率、心源性休克和猝死的发生率均较血糖水平正常的AMI患者显著增加,提示高血糖已经成为预测AMI患者预后的一个独立指标^[3]。笔者前期研究结果表明,缺血期急性高血糖可加重大鼠MI/R心肌损伤,表现为心肌酶谱升高和IS扩大。本研究在前期研究工作的基础上进一步探讨了缺血期不同水平高血糖对MI/R心肌损伤的影响。

以往,高血糖对MI/R心肌损伤的研究多集中在2型糖尿病上,研究发现糖尿病大鼠发生MI/R后心功能恢复差,IS扩大^[4]。由于长期持续的血糖水平升高可能造成糖尿病性心肌病变和冠状动脉粥样硬化改变,继而加重MI/R心肌损伤,不能很好地解释高血糖本身对心肌损伤的作用。而本研究在成功建立了急性高血糖大鼠模型的基础上,研究高血

糖本身对急性MI/R的影响。

结果证明,通过静脉输注2个浓度的葡萄糖液,造成了2个水平缺血期高血糖并显著加重大鼠MI/R损伤,与临床研究结果相一致,并为临床研究提供了理论支持。Kersten等^[5]研究了缺血前高血糖对犬MI/R损伤的影响,发现缺血期和再灌注期犬的心功能出现明显下降,心肌梗死范围扩大,与本研究结果相同。同时,相关分析结果表明,高血糖水平与MI/R损伤程度相关,表现为血糖水平和心肌酶谱与IS之间存在正相关,提示缺血期高血糖可作为预测MI/R损伤的一个指标。

对于高血糖诱导加重MI/R心肌损伤的机制目前尚不明确。以往研究表明,高糖可通过以下几个方面对心脏造成危害:低血容量,诱导炎症和高凝血症,导致一氧化氮代谢失调和内皮功能紊乱,诱导氧化应激,下调缺血预适应,对心肌细胞具有直接毒性作用^[6]。

总之,本研究在整体水平上发现缺血期急性高血糖加重大鼠MI/R心肌损伤,并且心肌损伤程度与血糖水平呈正相关,提示缺血期高血糖水平可作为预测心肌损伤的一项指标。

参考文献

- [1] Timmer JR, Van der Horst IC, Ottervanger JP, et al. Prognostic value of admission glucose in non-diabetic patients with myocardial infarction. *Am Heart J*, 2004, 148: 399-404.
- [2] Gao F, Gao E, Yue TL, et al. Nitric oxide mediates the antiapoptotic effect of insulin in myocardial ischemia-reperfusion, the roles of PI3-kinase, Akt, and endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. *Circulation*, 2002, 105: 1497-1502.
- [3] Wong VW, Ross DL, Park K, et al. Hyperglycemia: still an important predictor of adverse outcomes following AMI in the reperfusion era. *Diabetes Res Clin Pract*, 2004, 64: 85-91.
- [4] Di Filippo C, Marfella R, Cuzzocrea S, et al. Hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic rat increases infarct size associated with low levels of myocardial HO-1 during ischemia reperfusion. *Diabetes*, 2005, 54: 803-810.
- [5] Kersten JR, Schmeling TJ, Orth KG, et al. Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning *in vivo*. *Am J Physiol*, 1998, 275: H721-H725.
- [6] Devos P, Chioloro R, Van den Berghe G, et al. Glucose, insulin and myocardial ischaemia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2006, 9: 131-139.