

高同型半胱氨酸血症兔模型动脉粥样硬化的形成

高 奋, 李静梅, 肖传实

(山西医科大学附属第二医院心内科, 山西省太原市 030001)

[主题词] 高同型半胱氨酸血症; 高脂血症; 动脉粥样硬化; 动物模型

[摘要] 为评价兔高同型半胱氨酸血症模型的建立及其对动脉粥样硬化形成的影响, 采用含 1% 蛋氨酸饮食饲养新西兰大白兔, 并与高脂模型和正常组比较, 动态分析各组血清中同型半胱氨酸的变化及动脉粥样硬化形成的情况。结果发现, 给予 1% 蛋氨酸负荷, 4 周即可观察到明显的高同型半胱氨酸血症发生; 8 周时可见明显的血管狭窄和动脉粥样硬化斑块形成等变化。结果提示, 采用新西兰大白兔给予 1% 蛋氨酸饮食负荷是一种较为可靠的造高同型半胱氨酸血症模型的方法; 高同型半胱氨酸血症是动脉粥样硬化形成的一个独立危险因素。

[中图分类号] R363.2

[文献标识码] A

从首例高同型半胱氨酸 (homocysteine, HCY) 尿症发现以来^[1], 许多研究集中在高同型半胱氨酸与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 发生、发展的关系上, 这些研究中影响因素较多, 诸如种族、年龄和性别等其他危险因素不能很好的控制, 为了更精确、详尽地研究 HCY 与 As 的关系, 需要一种易于复制、安全可靠的高 HCY 血症模型。本实验在相关研究基础上对此进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 动物模型的建立及分组

雄性新西兰大白兔 30 只, 月龄 4~6 月, 体重 2.0~2.5 kg。适应性喂养 15 天, 随机分为 3 组 (每组各 10 只): 对照组喂以标准兔饲料; 高脂组在标准饲料中加入 1% 胆固醇+5% 猪油; 高蛋白组于标准饲料中加入 1% 蛋氨酸。均喂饲 8 周。分别于第 0、4 和 8 周空腹心脏采血 10 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 留取血清-20℃冻存, 成批测定有关指标。

1.2 血脂及血清总同型半胱氨酸检测

血脂测定采用岛津 CL-7300 全自动生物化学分析仪, 试剂盒购自北京中生生物化学试剂公司; 血清总同型半胱氨酸测定采用 IMx 荧光偏振免疫分析仪, 试剂盒由美国雅佩公司提供, 质控血清批内差异 CV2.2%, 批间 CV6.7%。

1.3 超声和病理学改变

[收稿日期] 2001-11-15 [修回日期] 2002-06-10

[基金项目] 山西省回国人员基金(9854)资助。

[作者简介] 高奋, 女, 1971 年出生, 山西省榆社县人, 住院医师, 心血管内科硕士, 研究方向主要为冠心病基础与临床研究。肖传实, 男, 1955 年出生, 吉林省梨树县人, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病的诊断与治疗。

每隔 4 周在本院行腹主动脉血管超声检查, 以间接判断腹主动脉狭窄程度及是否形成主动脉斑块。n 周时管腔狭窄程度 = (0 周时管腔内径 - n 周时管腔内径) / 0 周时管腔内径 × 100%

第 8 周时, 各组随机取 1 只兔, 分别于光镜、电镜下作腹主动脉组织学检查。当实验结束时, 股动脉放血处死全部动物, 取从主动脉弓到髂动脉分支处动脉, 纵向剖开, 10% 福尔马林固定, 计算每条主动脉粥样硬化斑块面积百分数。

1.4 统计方法

采用 SPSS 8.0 软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。同周不同组间均数比较采用成组方差分析; 同组不同周间均数比较采用配对方差分析。相关性分析采用直线相关, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组血脂和同型半胱氨酸水平的比较

0 周时, 30 个样本中血清同型半胱氨酸分布符合正态分布, 同型半胱氨酸的 95% 正常值范围为 6.14~10.74 $\mu\text{mol/L}$, 超过此值上限即定为兔高同型半胱氨酸血症。高蛋白组在第 4 周和 8 周时 HCY 值分别为 16.26 ± 1.31 和 17.11 ± 0.62 $\mu\text{mol/L}$, 符合高 HCY 血症的诊断标准, 表明高同型半胱氨酸血症兔模型建成。

从表 1 可见, 第 4 周时高脂组各项血脂均显著高于对照组及高蛋白组, 而高蛋白组同型半胱氨酸显著高于其他 2 组。第 8 周各项指标与第 4 周无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 1. 第 4 周时各组血脂和同型半胱氨酸水平($\bar{x} \pm s$, $n=9$).

指 标	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	高密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	低密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	同型半胱氨酸 (μ mol/L)
对照组	2.92 \pm 0.62	2.05 \pm 0.78	1.46 \pm 0.08	2.55 \pm 0.57	7.09 \pm 1.09
高脂组	12.69 \pm 3.40 ^a	6.68 \pm 0.50 ^a	0.74 \pm 0.04 ^a	11.52 \pm 3.55 ^a	7.08 \pm 1.03
高蛋氨酸组	2.98 \pm 0.35 ^b	1.93 \pm 0.24 ^b	1.37 \pm 0.17 ^b	2.64 \pm 0.39 ^b	16.26 \pm 1.31 ^{ab}

$P < 0.05$, a: 与对照组比较; b: 与高脂组比较.

2.2 腹部血管超声学检查结果

第 4 周时管腔狭窄程度高脂组显著高于对照组和高蛋氨酸组 ($P < 0.01$), 分别为 18.58 ± 2.15 、 2.62 ± 0.82 和 4.27 ± 0.96 , 高蛋氨酸组与对照组比较无显著差别 ($P > 0.05$)。第 8 周时高脂组 (34.52 ± 11.35) 和高蛋氨酸组 (27.64 ± 4.03) 均显著高于对照组 (3.09 ± 0.59), P 值分别为 0.021 和 0.040, 高蛋氨酸组与高脂组间无显著差别 ($P > 0.05$)。

相关性分析显示, 总胆固醇、同型半胱氨酸与腹主动脉内径狭窄程度呈显著正相关, 相关系数 r 分别为 0.610 和 0.533, P 分别为 0.035 和 0.226。

2.3 病理学改变

实验第 8 周高脂组与高蛋氨酸组腹主动脉及股动脉分叉处均肉眼可见内膜凹凸不平增厚, 有浅黄色斑块产生。主动脉斑块面积百分数高脂组 ($51.7 \pm 25.3\%$) 和高蛋氨酸组 ($40.1 \pm 21.9\%$) 与对照组 ($10.2 \pm 6.2\%$) 相比明显增高 ($P < 0.05$), 且高脂组显著高于高蛋氨酸组 ($P < 0.05$)。40 倍光镜下可见对照组血管壁分层清晰, 内膜完整; 高脂组与高蛋氨酸组均可见明显的斑块突出管腔 (图 1)。

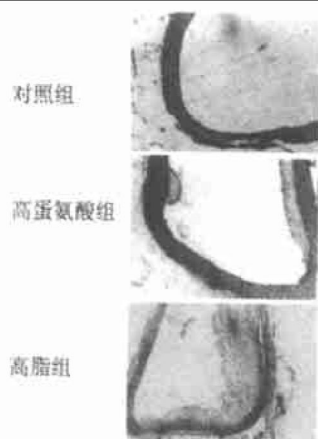


图 1. 40 倍光镜下各组血管组织学的变化.

3 讨论

本实验参考 Steven 等^[2]方法, 采用 1% 蛋氨酸饮食造高 HCY 血症模型, 但所选动物模型与其不同。国外多选用小型猪、狒狒和猴等大型哺乳动物^[3,4],

效果很好, 但存在经费昂贵、进入实验动物只数有限且不易重复等问题。国内有采用 Wistar 大鼠造模型的报道^[5], 但是 As 形成情况未做详尽报道。我们结合实际情况, 采用造 As 模型较公认的新西兰大白兔造模, 同时以经典的高脂模型作为阳性对照, 旨在观察早期的高 HCY 血症对动脉粥样硬化形成的影响。

造模过程中发现, 给予高蛋氨酸饮食 4 周时, 已有明显的高 HCY 血症形成 (即 HCY 浓度大于等于 $10.74 \mu\text{mol/L}$), 此时腹主动脉超声检查尚无明显的管腔狭窄等间接变化, 说明血液中 HCY 浓度增高至明显的 As 形成尚有一定的时间性, 提示早期检测到高 HCY 血症并加以纠正, 可能会延缓或阻止动脉粥样硬化的形成。同时, 高脂血症模型与高蛋氨酸模型相比较, 前者较快形成动脉粥样硬化 (仅需 4 周), 且程度较重 (尸解时肉眼血管粥样硬化斑块多且血管狭窄程度重)。提示与高 HCY 血症相比, 高血脂仍是动脉粥样硬化重要的危险因素, 但是高脂饮食与高蛋氨酸饮食所造成的实验兔胆固醇浓度增高与 HCY 浓度增高没有平行性, 提示两者致动脉粥样硬化的作用相对独立^[6,7]。有关同型半胱氨酸致动脉粥样硬化的可能作用机制有待深入研究。

[参考文献]

- [1] Mc Cully KS. Vascular Pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*, 1969, **56**: 111-128
- [2] Steven RL, Christopher GS, Donad JP, et al. Vascular Dysfunction in Monkeys with Diet-induced Hyperhomocysteinemia. *J Clin Invest*, 1996, **98**: 24-29
- [3] Lentz SR, Malinow MR, Piegors DJ, et al. Consequences of hyperhomocysteinemia in vascular function in atherosclerotic monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 2930-2934
- [4] Young PB, Kennedy S, Molloy AM, et al. Lipid peroxidation induced in vivo by hyperhomocysteinemia in pigs. *Atherosclerosis*, 1997, **129**: 67-71
- [5] 马雪兴, 刘玉明, 王毓明. 叶酸、VB6、VB12 对大鼠同型半胱氨酸水平及动脉损伤的影响. 国内文萃, 2000, **10**: 1-3
- [6] Karin S, Christian I, Heidi B, et al. High prevalence of hyperhomocysteinemia in critically ill patients. *Crit Care Med*, 2000, **28**: 123-128
- [7] Biasoli S, Schiavon R. Homocysteine as a cardiovascular risk factor. *Blood Purif*, 2000, **18** (3): 177-182

(此文编辑 朱雯霞)