

❖ 实验研究

Evaluation of left ventricular systolic function in early simple obese rats with two-dimensional speckle tracking imaging

ZENG Liqin¹, ZHANG Jun^{1*}, TUO Shengjun¹, WANG Yayun¹, HU Yun¹, HE Jianguo¹, GAO Yu²

(1. Department of Ultrasound, Xijing Hospital, the Air Force Military Medical University, Xian 710032, China; 2. Military Preventive Medical College, the Air Force Military Medical University, Xian 710032, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate left ventricular systolic function with two-dimensional speckle tracking imaging (2D-STI) in rats with simple obesity. **Methods** A total of 16 healthy male rats were fed with normal diet (NF group, $n=6$) and rich fat diet (group HFD, $n=10$) for 12 weeks. The parameters of conventional echocardiography were recorded, and the strain and strain rate of left ventricular myocardium were analyzed with 2D-STI. The degree of myocardial fibrosis, mast cell infiltration and the expression level of light chain 3 (LC3) protein were observed. **Results** Compared with NF group, in HFD group, the weight, abdominal circumference, abdominal fat content, fasting blood glucose and triglyceride increased (all $P<0.05$), while the radial strain rate of anterior septum, the radial strain of anterior septum and anterior wall in left ventricular decreased (all $P<0.05$), so did the longitudinal strain and strain rate in posterior septal basal segment, middle segment, apical segment and lateral wall basal segments in left ventricle (all $P<0.01$). In HFD group, the arrangement of cardiac muscle cells was disordered, and the fat vacuoles was found; the myocardial collagen fiber deposition and the infiltration of mast cells obviously increased, while the expression of LC3 protein decreased. **Conclusion** The left ventricular function of early stage obese rats has been damaged in varying degrees when no obvious changes of heart structure could be observed.

[Key words] Obesity; Rats; Ventricular function, left; Echocardiography

DOI:10.13929/j.1003-3289.201709107

二维斑点追踪成像技术评价早期单纯性肥胖大鼠左心室收缩功能

曾丽琴¹, 张军^{1*}, 拓胜军¹, 王雅韵¹, 胡运¹, 贺建国¹, 高宇²

(1. 空军军医大学附属西京医院超声科, 陕西 西安 710032; 2. 空军军医大学军事预防医学院, 陕西 西安 710032)

[摘要] **目的** 采用二维斑点追踪成像技术观察单纯性肥胖大鼠左心室收缩功能变化。**方法** 将 16 只健康雄性大鼠以普通饮食(NF 组, $n=6$)和高脂饮食(HFD 组, $n=10$)喂养 12 周, 之后记录常规超声心动图参数, 并采用二维斑点追踪技术分析大鼠左心室心肌应变和应变率, 观察大鼠心肌纤维化、肥大细胞浸润程度及轻链 3(LC3)蛋白表达水平。**结果** 与 NF 组相比, HFD 组大鼠体重、腹围、腹部脂肪含量、空腹血糖及甘油三酯均显著增高(P 均 <0.05); 左心室前间隔径向应变率及前间隔、前壁径向应变减低(P 均 <0.05), 后间隔基底段、中间段、心尖段及侧壁基底段纵向应变及应变率均减低(P 均 <0.01)。HFD 组大鼠心肌细胞排列紊乱, 脂肪空泡, 心肌胶原纤维沉积和肥大细胞浸润明显增加, LC3 蛋白表达明显降低。**结论** 肥胖大鼠早期心脏结构无明显改变时, 已存在不同程度左心室功能受损。

[基金项目] 国家自然科学基金(81271580)。

[第一作者] 曾丽琴(1987—), 女, 甘肃白银人, 在读硕士。研究方向: 心血管疾病超声诊断。E-mail: 550377969@qq.com

[通信作者] 张军, 空军军医大学附属西京医院超声医学科, 710032。E-mail: zhangjun@fmmu.edu.cn

[收稿日期] 2017-09-20 **[修回日期]** 2018-01-19

[关键词] 肥胖症;大鼠;心室功能,左;超声心动描记术

[中图分类号] R540.45; R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2018)04-0481-05

肥胖为全球性流行病^[1],是糖尿病及高血压等慢性疾病的重要危险因素,可导致左心室重构及功能受损^[2]。目前肥胖导致左心室功能受损的机制尚缺乏动物实验依据。二维斑点追踪成像(two-dimensional speckle tracking imaging, 2D-STI)技术能够准确测量左心室各节段二维应变及应变率,由此评价心肌缺血程度。本研究建立肥胖大鼠模型,结合血清学及心肌组织学,采用 2D-STI 检测大鼠左心室亚临床心肌功能受损情况,为临床早期肥胖患者左心室功能受损机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 成年清洁级 SD 雄性大鼠 16 只(购于空军军医大学动物中心),体质量 285~303 g,适应性饲养 1 周后,随机分为普通饮食(normal food, NF; $n=6$)组和高脂饮食组(high fat diet, HFD; $n=10$)。HFD 组给予高脂饲料(每 100 g 饲料中含脂肪 45.0%)喂养, NF 组给予普通饲料(每 100 g 含脂肪 19.8%)。所有大鼠喂养 12 周,自由采食,记录其体长、腹围、体质量、心脏质量及腹部脂肪。以 HFD 组大鼠体质量大于 NF 组 20% 作为肥胖标准^[3],最终 HFD 组有 6 只大鼠造模成功。

1.2 超声数据采集 对实验鼠禁饲、不禁水 12 h。将大鼠仰卧位保定于平板,以 2% 戊巴比妥钠 2 ml/kg 体质量行腹腔注射麻醉,于胸腹部备皮,连接心电图。采用 GE Vivid E9 彩色超声诊断仪, 12S 探头,频率 10~12 MHz,取连续 3 个以上心动周期超声心动图图像,脱机后将数据传至 EchoPAC 工作站,记录左心室舒张末期内径(left ventricular end diastolic, LVED)、左心室长径(left ventricular long diameter, LVLD)、左心房内径(left atrium diameter, LA)、室间隔厚度(interventricular septum thickness, IVS)、左心室后壁厚度(left ventricle posterior wall thickness, LVPW)、左心室短轴缩短率(left ventricular shortening, FS)及左心室射血分数(left ventricular

ejection fraction, LVEF)。以二维应变分析软件结合左心室壁 16 节段划分法分析左心室径向及纵向收缩期应变和应变率,所有数据测量 3 次,取均值。对声像图质量较差的大鼠,连接动物呼吸机,开胸、切开心包,向胸腔内填充耦合剂,将探头直接接触心脏表面采集超声心动图图像。

1.3 生化指标检测 于鼠尾处取血,检测大鼠空腹血糖。之后开腹,于下腔静脉取血,离心后取血清,置于 -18℃ 冰箱保存 12 h。采用 Hitachi 7 600 全自动生化分析仪检测甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)及低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)。

1.4 病理检查 剖开大鼠胸腔,暴露心脏,用生理盐水行心脏逆行性灌注,反复进行 2~3 次,直至流出液体清亮。处死大鼠,摘取心脏置于无菌纱布中,挤压去除液体残留,以天平秤测量心脏质量。取前壁心肌组织,固定于 4% 多聚甲醛液中,置于 4℃ 冰箱保存 24 h,石蜡包埋切片,行 HE 染色、Masson 染色、甲苯胺蓝染色及免疫组化染色,由病理科医师对结果进行判定及分析。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计分析软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。2 组一般资料、生化指标及超声心动图参数比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2 组大鼠饲养 12 周后,与 NF 组相比, HFD 组大鼠体质量($t=5.573$)、腹围($t=14.513$)以及腹部脂肪含量($t=4.419$)均显著增高(P 均 < 0.01),空腹血糖($t=7.13$)和 TG($t=3.20$)增高(P 均 < 0.05),而 2 组 HDL、VLDL 差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

2.1 常规超声心动图参数比较 2 组常规超声心动图参数比较差异均无统计学意义(P 均 > 0.05 , 表 1)。

2.2 左心室二维应变和应变率比较 与 NF 相比, HFD 组前间隔径向应变率及前间隔、前壁径向应变减

表 1 2 组大鼠常规超声心动图参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVOLD(mm)	LVSLD(mm)	IVS(mm)	LVPW(mm)	LA(mm)	LVEF(%)	FS(%)
HFD 组	5.31±0.22	2.85±0.31	9.51±0.70	7.55±1.13	1.92±0.21	1.96±0.12	3.50±0.19	74.60±15.31	40.00±13.60
NF 组	5.53±0.31	3.01±0.21	9.18±0.50	7.04±0.79	1.63±0.12	1.69±0.13	3.49±0.09	77.40±12.54	42.40±11.94
t 值	1.24	1.17	0.81	0.82	2.01	1.87	0.02	0.34	0.29
P 值	0.25	0.27	0.43	0.43	0.08	0.09	0.97	0.74	0.77

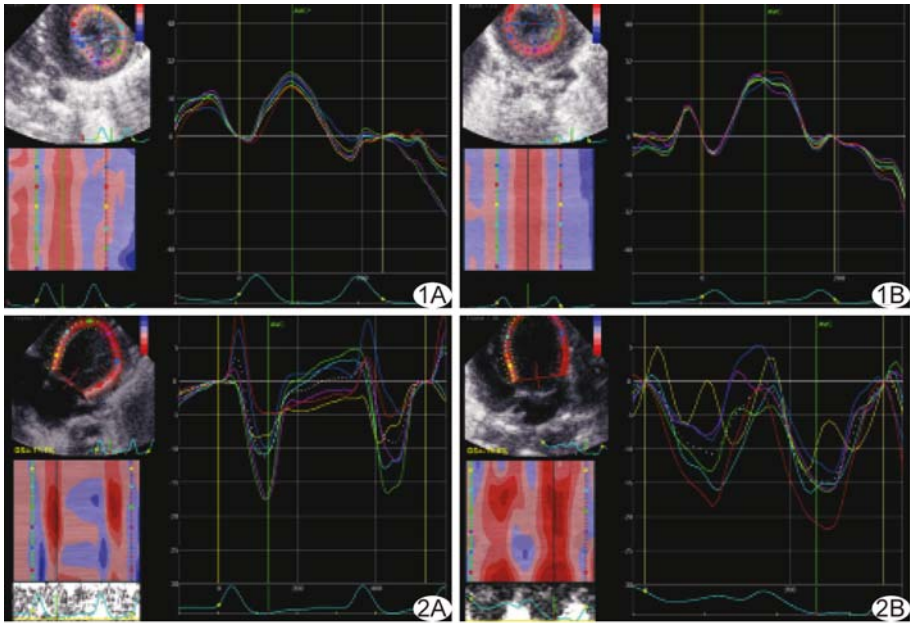


图 1 2 组大鼠心肌径向应变比较 A、B. NF 组(A)及 HFD 组(B)径向应变 图 2 2 组大鼠心肌纵向应变比较 A、B. NF 组(A)及 HFD 组(B)大鼠纵向应变

低,余室壁节段应变及应变率差异均无统计学意义(P 均 >0.05 ;表 2,图 1);后间隔基底段、中间段、心尖段及侧壁基底段纵向应变及应变率差异有统计学意义(P 均 <0.01),侧壁中间段及心尖段纵向应变率差异均无统计学意义(P 均 >0.05 ;表 3,图 2)。

2.3 病理结果 与 NF 组相比, HFD 组大鼠心肌细胞排列紊乱,核大深染,细胞间界限不清,胞浆染色加深,部分呈疏松颗粒状(图 3);心肌胶原纤维沉积(图 4)、心肌肥大细胞浸润(图 5)均较 NF 组明显增加,而心肌组织自噬微管相关蛋白轻链 3(light chain 3, LC3)蛋白阳性表达较 NF 组明显降低(图 6)。

表 2 2 组大鼠心肌径向应变和应变率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	径向应变(%)					
	前间隔	前壁	侧壁	后壁	下壁	后间隔
HFD 组	16.88±1.36	15.89±1.44	22.61±2.48	21.31±2.77	23.27±3.94	21.27±2.87
NF 组	23.61±5.11	23.02±6.42	21.52±4.09	21.40±4.61	27.22±3.95	26.57±5.42
t 值	2.83	2.42	0.51	0.04	2.29	1.92
P 值	0.02	0.04	0.62	0.96	0.06	0.89

组别	径向应变率(s^{-1})					
	前间隔	前壁	侧壁	后壁	下壁	后间隔
HFD 组	5.93±0.77	6.42±0.85	5.82±1.51	6.37±1.42	6.92±0.81	6.72±2.71
NF 组	7.74±1.14	7.15±0.68	6.79±0.66	6.59±1.48	7.73±1.32	8.00±1.81
t 值	2.94	1.49	1.23	0.25	1.06	0.87
P 值	0.02	0.17	0.25	0.81	0.32	0.41

表 3 2 组大鼠心肌纵向应变和应变率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	纵向应变(%)					
	间隔基底段	间隔中间段	间隔心尖段	侧壁基底段	侧壁中间段	侧壁心尖段
HFD 组	-8.16±1.34	-8.49±2.08	-10.73±2.44	-8.80±2.97	-8.95±2.92	-9.18±1.05
NF 组	-13.61±1.68	-14.92±2.18	-15.88±1.52	-15.38±0.73	-15.38±2.05	-18.76±2.05
t 值	5.66	4.76	3.99	4.80	6.14	9.28
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	纵向应变率(s^{-1})					
	间隔基底段	间隔中间段	间隔心尖段	侧壁基底段	侧壁中间段	侧壁心尖段
HFD 组	-1.41±0.31	-1.69±0.24	-1.41±0.29	-1.76±0.25	-1.33±0.37	-2.22±0.45
NF 组	-3.63±1.31	-3.82±1.03	-3.51±0.50	-3.27±0.51	-2.67±1.19	-3.42±1.41
t 值	3.69	3.56	8.05	5.90	2.58	1.80
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.06	0.10

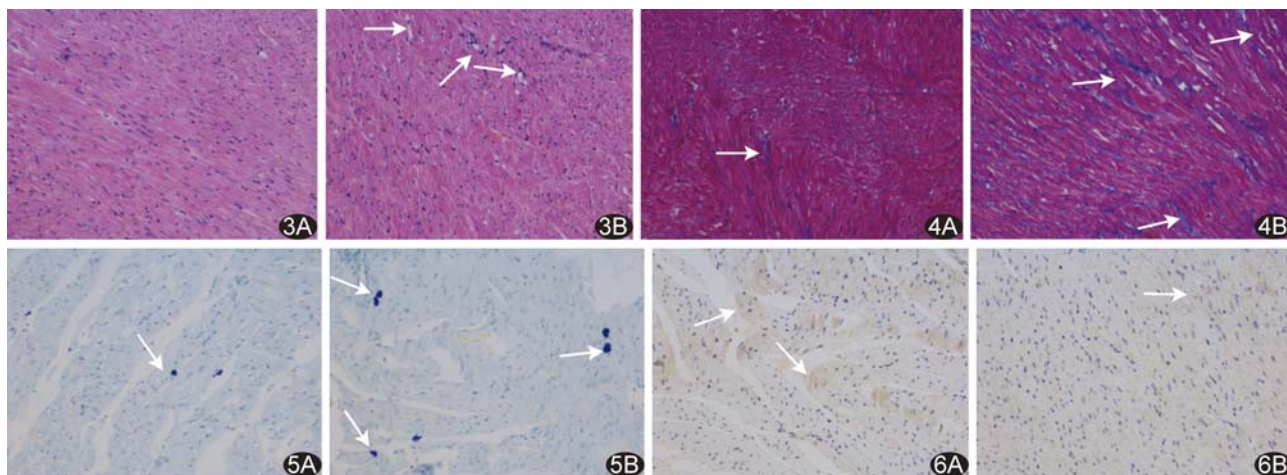


图 3 2 组大鼠心脏 HE 染色($\times 200$)表现 A. NF 组; B. HFD 组,部分心肌细胞出现颗粒变性,脂肪空泡(箭) 图 4 2 组大鼠心脏 Masson 染色($\times 200$,箭示心肌胶原蛋白)表现 A. NF 组; B. HFD 组 图 5 2 组大鼠心脏甲苯胺蓝染色($\times 200$,箭示心肌肥大细胞) A. NF 组; B. HFD 组 图 6 2 组大鼠心脏免疫组化染色($\times 200$,箭示 LC3 蛋白)表现 A. NF 组; B. HFD 组

3 讨论

肥胖是引起血脂、血糖代谢异常及心脏损害的独立危险因素^[4]。美国心脏病学会^[5]指出,肥胖是冠心病及左心室功能障碍的重要危险因素。常规超声心动图是评估心脏解剖和功能的重要方法^[6],但目前临床主要以目测法评估有无节段室壁运动异常,评估结果易受主观因素的影响,且由于早期肥胖患者左心室心肌损害不明显而易致漏诊。研究^[7]表明,纵向排列的心肌纤维对心肌缺血更敏感。早期肥胖大鼠心肌缺血及心脏受损,其纵向应变变化较明显,且左心室长轴收缩功能改变较舒张功能更为明显。STI 技术可准确测量左心室各节段二维应变值及应变率,敏感地评价心肌缺血程度。本研究中,2 组大鼠常规超声心动图参数差异无统计学意义,但采用 2D-STI 技术检测发现 HFD 组左心室部分室壁节段收缩末期径向和纵向应变及应变率减低,提示肥胖大鼠早期存在心脏受损和心肌缺血,支持薛甜等^[8]的相关临床研究结果。

本研究中,HFD 组大鼠体质量、腹部脂肪含量、空腹血糖及 TG 均较 NF 组明显升高。血脂及血糖代谢异常可致动脉粥样硬化,进而引起心肌缺血及心脏受损,激发心肌炎症反应。心肌肥大细胞受刺激后可分泌促纤维化因子、促炎因子和促心肌肥大因子^[9]。HFD 组大鼠部分心肌节段应变和应变率减低,可能与心肌肥大细胞浸润、胶原纤维沉积量及心肌纤维化程度较 NF 组显著增加,进而导致心肌僵硬增加、弹性下降有关。此外,细胞自噬是一种保守的细胞防御机制,心血管疾病多伴有炎症反应并与细胞自噬密切相关,

自噬受抑制可使炎症加剧,并导致心肌组织损伤^[10]。本研究中,HFD 组心肌 LC3 蛋白表达较 NF 组显著减少,提示其自噬机制可能受到抑制,可能是导致肥胖大鼠心肌部分节段运动减低的原因之一。

有学者^[11]发现,单纯肥胖患者左心室长轴收缩功能明显受损,且肥胖程度与左心功能受损程度密切相关。本研究中,HFD 组大鼠早期心脏解剖结构与 NF 组相比差异无统计学意义,但部分室壁节段径向和纵向应变及应变率减低,提示左心室存在部分心肌缺血及心脏损伤,可能与血糖及血脂代谢异常引发心肌炎症反应、导致心肌纤维化及心肌自噬机制受抑制有关。

本研究的局限性:实验中 2 组共 5 只大鼠通过开胸获得超声心动图,可能导致结果有一定偏倚,需在今后的研究中进一步完善。

总之,早期单纯性肥胖大鼠常规超声心动图检查无明显异常改变时,2D-STI 已可检测到左心室部分节段收缩末期纵向和径向应变及应变率有所减低。

[参考文献]

- [1] Booth FW, Laye MJ, Lees SJ, et al. Reduced physical activity and risk of chronic disease: The biology behind the consequences. *Eur J Appl Physiol*, 2008, 102(4):381-390.
- [2] Cuspidi C, Rescaldani M, Sala C, et al. Left-ventricular hypertrophy and obesity: A systematic review and meta-analysis of echocardiographic studies. *J Hypertens*, 2014, 32(1):16-25.
- [3] 杨爱君,崔雁,叶卉初,等.营养性肥胖动物模型的建立. *临床和实验医学杂志*, 2005, 4(3):156-157.
- [4] Ades PA, Savage PD. Obesity in coronary heart disease: An

- unaddressed behavioral risk factor. *Prev Med*, 2017, 104: 117-119.
- [5] Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the study of obesity. *Circulation*, 2009, 120(16): 1640-1645.
- [6] 马新欣, 张跃力. 超声心动图评价左心房重构的应用. *中国医学影像技术*, 2015, 31(12): 1915-1918.
- [7] Biering-Sørensen T, Hoffmann S, Mogelvang R, et al. Myocardial strain analysis by 2-dimensional speckle tracking echocardiography improves diagnostics of coronary artery stenosis in stable angina pectoris. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2014, 7(1): 58-65.
- [8] 薛甜, 朱向明, 李国杰, 等. 彩色多普勒超声评价超重人群心脏结构、功能及颈动脉内-中膜厚度. *中国医学影像技术*, 2011, 27(3): 548-551.
- [9] Maclean J, Pasumarthi KB. Signaling mechanisms regulating fibroblast activation, phenocconversion and fibrosis in the heart. *Indian J Biochem Biophys*, 2014, 51(6): 476-482.
- [10] Tanaka Y, Guhde G, Suter A, et al. Accumulation of autophagic vacuoles and cardiomyopathy in LAMP-2-deficient mice. *Nature*, 2000, 406(6798): 902-906.
- [11] 拓胜军, 张建蕾, 汪军虎, 等. 腹型肥胖患者左心室长轴收缩及舒张功能与肥胖程度相关性研究. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2012, 26(7): 671-673.

第五届上海儿科影像高峰论坛暨国家级继续教育学习班通知

近年来, 儿科影像与介入医学发展迅猛、成果斐然, 新理念、新技术、新方法在儿科影像诊断与介入治疗应用日新月异, 人工智能新技术在骨龄检测、小儿肺炎等智能自动化诊断上也首先得以新探索和新尝试。“第五届上海儿科影像高峰论坛暨国家级继续教育学习班”将于 2018 年 5 月 11 日—5 月 13 日在上海长城假日酒店举行。本次高峰论坛及学习班将秉承前几届形成的“简洁、实用、融合、创新”的学术精神、学风和会风, 特邀国内外著名儿科影像诊断、介入治疗及人工智能影像学诸领域专家、学者, 共同探讨、交流和传授包括胎儿、新生儿在内的儿科影像诊断与介入治疗及其人工智能化的医疗、教学、科研最新进展与科学论文发表、成果转化策略。同时, 也真诚期待您及您的团队提供本次会议前尚未公开发表的相关领域最新科研成果和/或精彩课件。

本次论坛由上海交通大学医学院附属新华医院、复旦大学上海医学院附属儿科医院、上海交通大学附属儿童医院(上海市儿童医院)(承办)、上海交通大学医学院附属儿童医学中心、《中国医学影像技术》期刊社等单位联合主办。

大会执行主席 杨秀军

会议专题 儿科影像与人工智能。涵盖包括胎儿、新生儿在内的儿科影像诊断、介入治疗与人工智能能医疗、教学、科研及科学论文发表、成果转化策略。

学分类型 本次高峰论坛及学习班将授予国家继续教育 I 类学分 10 分。

投稿及截止时间 投稿 E-mail: litt@shchildren.com.cn; 投稿截稿日期: 2018 年 4 月 20 日

注册费用 正式代表: 1 000 元/人、在读研究生 600 元/人; 注册包含: 学费、会务费、午餐及资料费, 晚餐及交通、住宿费自理; 个别注册费报销困难者可向会务组申报减免。