

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging ResearchOPG/RANKL/RANK 在慢性心力衰竭大鼠
心肌中的表达特征及其与心肌纤维化的关系Expression characteristics of OPG/RANKL/RANK and the relationship with
fibrosis in myocardial tissues of rats with chronic heart failure

杨 薪^{1a}, 蔡学坤^{1a}, 吴泽龙^{1a},
陈安涛², 陈子豪², 谢 轩²,
区嘉康², 黄兆琦^{1b}

(1. 广州医科大学 附属第三医院, a. 老年医学
科; b. 心血管内科, 广东 广州 510150; 2. 广州
医科大学 临床医学系, 广东 广州 511495)

YANG Xin^{1a}, CAI Xue - kun^{1a},
WU Ze - long^{1a}, CHEN An - tao²,
CHEN Zi - hao², XIE Xuan²,
OU Jia - kang², HUANG Zhao - qi^{1b}

(1. a. Department of Geriatrics; b.
Department of Cardiology, The Third
Affiliated Hospital of Guangzhou Medical
University, Guangzhou 510150,
Guangdong Province, China; 2.
Department of Clinical Medicine,
Guangdong Medical University,
Guangzhou 511495, Guangdong Province,
China)

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金资助
项目(A2020174)

作者简介: 杨薪(1977-), 女, 副主任医师, 主要
从事老年冠心病、心力衰竭等方面的
相关研究

通信作者: 黄兆琦, 副主任医师, 硕士生导师
MP: 13802750240
E-mail: zhouqihuang2007@163.com

摘要:目的 研究骨保护素(OPG)/核因子 κ B受体活化因子配体(RANKL)/核因子 κ B受体活化因子(RANK)在慢性心力衰竭大鼠心肌中的表达特点, 及其与心肌纤维化的关系。方法 将SD大鼠随机分成假手术组(12只)和模型组。假手术组开腹后仅将手术丝线穿过腹主动脉, 不缩窄腹主动脉; 模型组用腹主动脉缩窄法复制慢性心力衰竭模型, 并将造模成功的大鼠根据不同的观察时间随机分为模型1、2、4、8、12周组, 分别有12、11、11、11、11只。实验终点为12周。比较各组大鼠心肌细胞中羟脯氨酸(HYP)、心肌胶原总含量及胶原容积分数(CVF), 用蛋白质印迹法检测心肌细胞中OPG、RANKL和RANK蛋白的表达水平。结果 假手术组和模型1、2、4、8、12周组心肌细胞中HYP含量分别为(0.25 ± 0.04)、(0.37 ± 0.05)、(0.45 ± 0.04)、(0.60 ± 0.05)、(0.82 ± 0.10)和(1.03 ± 0.07) $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 心肌胶原总含量分别为(1.87 ± 0.31)、(2.73 ± 0.38)、(3.36 ± 0.31)、(4.47 ± 0.37)、(6.08 ± 0.74)和(7.67 ± 0.49) $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, CVF分别为(1.95 ± 0.23)%、(2.40 ± 0.25)%、(3.65 ± 0.25)%、(5.43 ± 0.29)%、(6.97 ± 0.36)%和(9.38 ± 0.49)%, OPG蛋白相对表达水平分别为 0.64 ± 0.07 、 0.80 ± 0.07 、 1.02 ± 0.07 、 1.32 ± 0.11 、 2.13 ± 0.12 和 2.84 ± 0.16 , RANKL蛋白相对表达水平分别为 0.71 ± 0.08 、 1.06 ± 0.07 、 1.53 ± 0.07 、 2.62 ± 0.12 、 4.46 ± 0.14 和 6.11 ± 0.16 , RANK蛋白相对表达水平分别为 0.30 ± 0.05 、 0.45 ± 0.05 、 0.63 ± 0.06 、 0.98 ± 0.07 、 1.43 ± 0.10 和 1.63 ± 0.10 。随着时间的延长, 模型组与假手术组相比, 上述指标均显著升高, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。慢性心力衰竭大鼠心肌细胞中OPG、RANK、RANKL蛋白相对表达水平与CVF、心肌胶原总含量均呈显著正相关(均 $P < 0.01$)。结论 在慢性心力衰竭过程中, OPG/RANKL/RANK轴表达明显增强, 其中以RANKL增强最为明显, 且OPG/RANKL/RANK表达水平与CVF、心肌胶原总含量均呈显著正相关。

关键词: 心力衰竭; 骨保护素; 核因子 κ B受体活化因子配体; 核因子 κ B受体活化因子; 心肌纤维化

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.01.015

中图分类号: R977.15 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)01-0071-05

Abstract: Objective To study the expression characteristics of osteoprotegerin (OPG)/receptor activator of nuclear factor - κ B ligand (RANKL)/receptor activator of nuclear factor - κ B (RANK) system and the relationship with fibrosis in myocardial tissues of rats with chronic heart failure. **Methods** SD rats were randomly divided into sham - operation group (12 rats) and model group. In sham - operation group, surgical thread was passed through the abdominal aorta without

constricting it after laparotomy; in model group, establish the heart failure model by abdominal aorta coarctation. The successful model rats were randomly divided into model 1 week (12 rats), model 2 weeks (11 rats), model 4 weeks (11 rats), model 8 weeks (11 rats) and model 12 weeks groups (11 rats). The end point of the study is at week 12. The contents of hydroxyproline (HYP), total myocardial collagen and collagen volume fraction (CVF) were compared in all groups. The expression levels of OPG, RANKL and RANK proteins in cardiomyocytes were determined by Western blot. **Results** The contents of HYP in sham-operation, model 1 week, model 2 weeks, model 4 weeks, model 8 weeks and model 12 weeks group were (0.25 ± 0.04) , (0.37 ± 0.05) , (0.45 ± 0.04) , (0.60 ± 0.05) , (0.82 ± 0.10) and $(1.03 \pm 0.07) \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$; the total myocardial collagen contents were (1.87 ± 0.31) , (2.73 ± 0.38) , (3.36 ± 0.31) , (4.47 ± 0.37) , (6.08 ± 0.74) and $(7.67 \pm 0.49) \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$; the CVF were $(1.95 \pm 0.23)\%$, $(2.40 \pm 0.25)\%$, $(3.65 \pm 0.25)\%$, $(5.43 \pm 0.29)\%$, $(6.97 \pm 0.36)\%$ and $(9.38 \pm 0.49)\%$; the relative expression levels of OPG protein were 0.64 ± 0.07 , 0.80 ± 0.07 , 1.02 ± 0.07 , 1.32 ± 0.11 , 2.13 ± 0.12 and 2.84 ± 0.16 ; the relative expression levels of RANKL protein were 0.71 ± 0.08 , 1.06 ± 0.07 , 1.53 ± 0.07 , 2.62 ± 0.12 , 4.46 ± 0.14 and 6.11 ± 0.16 ; the relative expression levels of RANK protein were 0.30 ± 0.05 , 0.45 ± 0.05 , 0.63 ± 0.06 , 0.98 ± 0.07 , 1.43 ± 0.10 and 1.63 ± 0.10 . With the extension of time, the above indexes of all model groups were significantly higher than those in the sham-operation group (all $P < 0.05$). There were positive linear correlation between the relative expression levels of OPG, RANKL, RANK protein and the levels of CVF and total contents in cardiomyocytes of rats with chronic heart failure (all $P < 0.01$). **Conclusions** In the process of chronic heart failure, the expression of OPG/RANKL/RANK axis is obviously enhanced, in which the up-regulation of RANKL level is most obvious. The expression level of OPG/RANKL/RANK is positively correlated with CVF and total myocardial collagen content.

Key words: heart failure; osteoprotegerin; receptor activator of nuclear factor- κ B ligand; receptor activator of nuclear factor- κ B; fibrosis in myocardial tissues

心肌细胞凋亡及心室重构是慢性心力衰竭发生的主要机制^[1]。心室重构实质上是心肌细胞及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的变化, ECM 的改变包括胶原蛋白沉积及心肌纤维化^[2]。有研究证实, 血清骨保护素 (osteoprotegerin, OPG)/核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)/核因子 κ B 受体活化因子 (receptor activator of nuclear factor- κ B, RANK) 系统在血管钙化、冠心病、心力衰竭等方面发挥着重要作用^[3]。DUTKA 等对一些常见心血管疾病影响因素进行调整后发现, 血清 OPG、RANKL 水平与心力衰竭患者病情严重程度密切相关, OPG/RANKL/RANK 可能参与心力衰竭的病理过程^[4]。本研究旨在研究 OPG/RANKL/RANK 在慢性心力衰竭大鼠心肌中的表达特点以及与心肌纤维化的关系, 探讨其在心力衰竭发生发展中的变化以及对心肌纤维化的影响。

材料与方法

1 材料

动物 清洁级健康雄性 SD 大鼠, 鼠龄 45 ~ 55 d, 体质量 $(212.70 \pm 7.37) \text{ g}$, 广东省医学实验动物中心

提供。动物生产许可证号: SCXK (粤) 2018 - 0002。本实验经广州医科大学实验动物伦理委员会批准 (伦理批号: SQ2021 - 041)。

试剂 Masson 三色染色试剂盒, 购自北京斯百汇生物技术有限公司; 羟脯氨酸 (hydroxyproline, HYP) 试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所; Trizol RNA 试剂盒, 购自美国 Invitrogen 公司。

仪器 Sonos550 彩色超声心动图仪, 美国 Philips 公司产品; ABI Prism 7500 荧光定量聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪, 美国 Bioneer 公司产品。

2 实验方法

2.1 动物分组、模型构建与处置方法

将 80 只 SD 大鼠随机分为假手术组 12 只和模型组 68 只。模型组参照文献[5]的方法, 用腹主动脉缩窄法复制压力负荷超载的慢性心力衰竭大鼠模型。心脏彩超显示: 大鼠左心室扩大, 心脏收缩功能明显下降, 提示造模实验成功。假手术组开腹后将手术丝线穿过腹主动脉, 除不缩窄腹主动脉外, 其他操作与模型组完全相同。实验终点为 12 周。模型组术中死亡 8 只, 存活 60 只。将造模成功的 60 只大鼠随机分为模型 1、2、4、8、12 周组, 每组 12 只。

2.2 Masson 染色法观察心肌组织中胶原纤维的变化^[6]

剪取左心室部分心肌组织,经甲醛固定、脱水、石蜡包埋,切片后行 Masson 染色,在光镜下观察胶原纤维改变。每张切片随机取 4 个视野测量,用 Image Proplus 6.0 分析图像测算心肌组织胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)。CVF = 胶原面积/总面积。

2.3 酸水解法检测心肌组织 HYP 和胶原总含量^[7]

取左心室冰冻心肌组织,脱水、称重,加入 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸酸解,以 $2\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后,取上清液,依次加入氯胺、过氯酸、二氨苯甲醛等,严格按照试剂盒说明书的步骤进行操作,测定 HYP 含量,然后换算成每克心肌组织中 HYP 含量,再乘以 7.46,得出心肌胶原总含量。

2.4 实时荧光定量 PCR 法检测 OPG、RANKL 和 RANK mRNA 的表达水平^[8]

取各组冻存的左心室心肌组织,用 Trizol 法抽取总 RNA,计算总 RNA 浓度及纯度。取总 RNA $1 \mu\text{g}$ 按逆转录试剂盒说明书的步骤合成 cDNA。产物按实时荧光定量 PCR 试剂盒说明书的步骤进行检测,在 PCR 仪上进行操作。引物均参照 Genbank 提供的序列,用引物 5.0 合成。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参照,对所有样品进行 RNA 总量的校正。假手术组基因相对表达水平等于“1”,计算出其他各组样本的目的基因相对水平。

2.5 蛋白质印迹法检测 OPG、RANKL 和 RANK 蛋白的表达水平^[9]

提取心肌蛋白质样品,按 BCA 蛋白含量测定试剂盒说明书测定其浓度。用 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,随后转至 PVDF 膜。将 PVDF 膜置于 5% 脱脂奶中封闭 2 h,分别加入相应的一抗($1:1\,000$) 4°C 孵育过夜。洗膜后,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗抗体(按 $1:1\,000$ 稀释度加入)孵育 1 h。用电化学发光进行显色。以 β -actin 为内参蛋白,用 Quantity One 图像处理软件对各条带灰度值进行半定量分析。

3 统计学处理

用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析。当方差齐时,多重比较用 LSD- t 检验;当方差不齐时,多重比较用 Dunnett's T_3 检验。双变量相关时先检验双变

量正态性,符合双变量正态分布,相关性分析用 Pearson 法;不符合双变量正态分布,相关性分析用 Spearman 法。

结 果

1 各组大鼠心肌组织胶原纤维的改变

模型组用腹主动脉缩窄法复制压力负荷超载的慢性心力衰竭大鼠模型;假手术组开腹后将手术丝线穿过腹主动脉,除不缩窄腹主动脉外,其他操作与模型组完全相同。

模型组至实验终点时共死亡 4 只,模型 1、2、4、8、12 周组分别有 12、11、11、11、11 只纳入统计分析。

在光镜下发现:心肌细胞呈红色,胶原纤维呈蓝色。模型组与假手术组相比,随着心力衰竭时间的延长,大鼠心肌细胞间隙增大,心肌纤维排列紊乱,胞核深染、增大,蓝色胶原纤维沉积明显。其中,模型 12 周组大鼠的心肌纤维化程度最明显。模型组与假手术组相比,随着心力衰竭时间的延长,大鼠心肌组织中 CVF、HYP 及心肌胶原总含量均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图 1 和表 1。

2 各组大鼠心肌细胞中 OPG、RANKL 和 RANK mRNA 表达水平的比较

随着心力衰竭时间的延长,模型组与假手术组比较,大鼠心肌细胞中 OPG、RANKL 和 RANK mRNA 相对表达水平均显著上调,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),其中, RANKL mRNA 相对表达水平上调最为显著。结果见表 2。

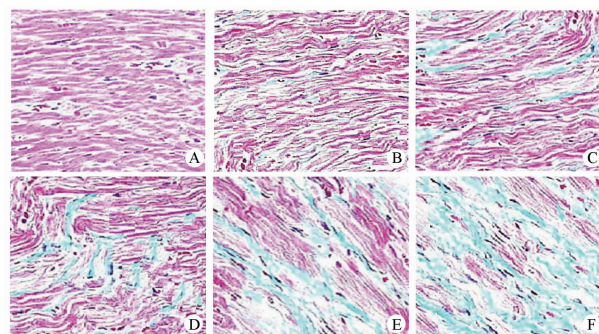


图 1 各组大鼠心肌 Masson 染色结果($\times 400$)

Figure 1 Typical slices stained by Masson stain for myocardial fibrosis in all groups($\times 400$)

A: Sham-operation group, treated without abdominal aorta coarctation; B, C, D, E, F: Model 1, 2, 4, 8, 12 weeks groups, treated by abdominal aorta coarctation.

表1 各组大鼠心肌组织中胶原容积分数(CVF)、羟脯氨酸(HYP)及心肌胶原总含量水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of collagen volume fraction (CVF), hydroxyproline (HYP) and total collagen in myocardial tissues of all groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	CVF(%)	HYP ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)	Total collagen content ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)
Sham-operation	12	1.95 ± 0.23	0.25 ± 0.04	1.87 ± 0.31
Model 1 week	12	2.40 ± 0.25 *	0.37 ± 0.05 *	2.73 ± 0.38 *
Model 2 weeks	11	3.65 ± 0.25 #	0.45 ± 0.04 #	3.36 ± 0.31 #
Model 4 weeks	11	5.43 ± 0.29 Δ	0.60 ± 0.05 Δ	4.47 ± 0.37 Δ
Model 8 weeks	11	6.97 ± 0.36 $\blacktriangle$	0.82 ± 0.10 $\blacktriangle$	6.08 ± 0.74 $\blacktriangle$
Model 12 weeks	11	9.38 ± 0.49 $\diamond$	1.03 ± 0.07 $\diamond$	7.67 ± 0.49 $\diamond$

Compared with sham-operation group, * $P < 0.05$; Compared with model 1 week group, # $P < 0.05$; Compared with model 2 weeks group, $\Delta P < 0.05$; Compared with model 4 weeks group, $\blacktriangle P < 0.05$; Compared with model 8 weeks group, $\diamond P < 0.05$.

3 各组大鼠心肌细胞中 OPG、RANKL 和 RANK 蛋白表达水平的比较

如表2和图2所示:随着时间心力衰竭的延长,模型组与假手术组比较,大鼠心肌细胞中 OPG、RANKL 和 RANK 蛋白相对表达水平均显著上调,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),其中,

表2 各组大鼠心肌组织中骨保护素(OPG)、核因子 κ B受体活化因子配体(RANKL)、核因子 κ B受体活化因子(RANK)mRNA和蛋白表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the mRNA and protein expression levels of osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) and receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) in myocardial tissues of all groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	mRNA			Protein		
		OPG	RANKL	RANK	OPG	RANKL	RANK
Sham-operation	12	1.04 ± 0.08	1.03 ± 0.10	1.04 ± 0.05	0.64 ± 0.07	0.71 ± 0.08	0.30 ± 0.05
Model 1 week	12	1.47 ± 0.10 *	2.36 ± 0.19 *	1.27 ± 0.05 *	0.80 ± 0.07 *	1.06 ± 0.07 *	0.45 ± 0.05 *
Model 2 weeks	12	1.73 ± 0.13 #	3.63 ± 0.21 #	1.49 ± 0.09 #	1.02 ± 0.07 #	1.53 ± 0.07 #	0.63 ± 0.06 #
Model 4 weeks	11	2.48 ± 0.16 Δ	5.74 ± 0.13 Δ	1.85 ± 0.05 Δ	1.32 ± 0.11 Δ	2.62 ± 0.12 Δ	0.98 ± 0.07 Δ
Model 8 weeks	11	3.74 ± 0.13 $\blacktriangle$	7.91 ± 0.14 $\blacktriangle$	2.32 ± 0.08 $\blacktriangle$	2.13 ± 0.12 $\blacktriangle$	4.46 ± 0.14 $\blacktriangle$	1.43 ± 0.10 $\blacktriangle$
Model 12 weeks	11	4.58 ± 0.21 $\diamond$	8.88 ± 0.24 $\diamond$	2.41 ± 0.12 $\diamond$	2.84 ± 0.16 $\diamond$	6.11 ± 0.16 $\diamond$	1.63 ± 0.10 $\diamond$

Compared with sham-operation group, * $P < 0.05$; Compared with model 1 week group, # $P < 0.05$; Compared with model 2 weeks group, $\Delta P < 0.05$; Compared with model 4 weeks group, $\blacktriangle P < 0.05$; Compared with model 8 weeks group, $\diamond P < 0.05$.

讨论

DI GIUSEPPE 等^[10]研究发现,在慢性心力衰竭过程中,RANKL 活性增强会加重心肌的损伤,其会通过促进巨噬细胞增生,导致炎性因子大量释放,从而诱导心肌细胞死亡。GARCIA-GOMEZ 等^[11]研究发

现,RANKL 蛋白相对表达水平增加最为显著。

4 心肌组织 OPG、RANKL 和 RANK 表达水平与纤维化的相关性分析

因双变量不符合正态分布,相关性分析用 Spearman 法。慢性心力衰竭大鼠心肌细胞中 OPG、RANKL、RANK 蛋白相对表达水平与 CVF 的相关系数分别为 0.95、0.97 和 0.95,OPG、RANKL、RANK 蛋白相对表达水平与心肌胶原总含量的相关系数分别为 0.94、0.94 和 0.93,提示 OPG、RANKL、RANK 蛋白水平与 CVF、心肌胶原总含量均呈显著正相关(均 $P < 0.01$)。

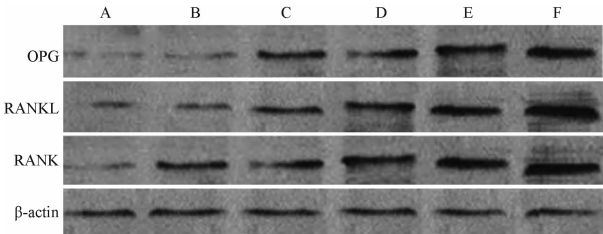


图2 用蛋白质印迹法检测各组大鼠心肌细胞中 OPG、RANKL 和 RANK 蛋白的表达情况

Figure 2 The protein expression of OPG, RANKL and RANK in myocardial tissues of all groups were detected by Western blot A-F refer to figure 1.

现,RANKL 通过刺激趋化因子和单核细胞释放基质金属蛋白酶,促进细胞增殖、凋亡和基质重构,从而刺激血管细胞骨化或钙化。此外,RANKL 还可以诱导心肌细胞分化成纤维细胞,刺激胶原蛋白等细胞间质成分合成,促进细胞间质沉积;同时减少弹性蛋白酶分泌,延缓 I 型胶原的降解速度^[12]。RANK 作为 RANKL 的唯一靶受体,被 RANKL 识别,激发信号级

联反应,发挥生物学效应^[13]。本研究结果显示,慢性心力衰竭大鼠心肌细胞中 *RANKL*、*RANK* mRNA 和蛋白相对表达水平均较假手术组显著升高,且随着心力衰竭时间的延长其相对表达水平均进一步升高,其中,以 *RANKL* 变化最为显著。这说明 *RANKL*、*RANK* 的表达上调会加重心肌纤维化,促进心室重构,从而加速心力衰竭的发展。

OPG 是心血管疾病保护因子,心肌细胞中 OPG 水平随心力衰竭进展而逐渐升高,这可能是机体对心力衰竭病理过程的自我防御代偿反应^[14-15]。OPG 可以通过结合 TRAIL,抑制血管内皮相关炎症因子(如白细胞介素-1、肿瘤坏死因子- α 等)表达、延缓内皮细胞凋亡来提高内皮细胞存活^[16]。OPG 还可以通过抑制血管钙化、抑制血管慢性炎症及免疫反应等途径来保护血管^[17]。此外,OPG 可以通过拮抗肿瘤坏死因子2 α 、降低核因子2- κ B 活性效应而发挥抗炎、抗凋亡作用^[18]。BULEU 等^[19]研究发现,心力衰竭患者的血清 OPG 水平明显高于健康受试者 $[(4.70 \pm 0.25) \text{ vs } (1.30 \pm 0.67) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}, P < 0.001]$ 。本研究结果显示,慢性心力衰竭大鼠心肌细胞中 *OPG* mRNA 和蛋白相对表达水平均较假手术组显著升高,且随着心力衰竭时间的延长其相对表达水平均进一步升高。

本研究提示,OPG、*RANKL*、*RANK* 蛋白表达水平与慢性心力衰竭心肌纤维化指标呈正相关性,提示 OPG/*RANKL*/*RANK* 轴活性增强可能对心肌纤维化有一定的调节作用。这说明通过对 OPG/*RANKL*/*RANK* 轴的研究有助于进一步探讨心肌纤维化的发生机制,为心血管疾病的临床治疗带来新的途径^[20]。

参考文献:

- [1] TSCHOPE C, KHERAD B, KLEIN O, et al. Cardiac contractility modulation: Mechanisms of action in heart failure with reduced ejection fraction and beyond [J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(1): 14—22.
- [2] GROENEWEGEN A, RUTTEN F H, MOSTERD A, et al. Epidemiology of heart failure [J]. *Eur J Heart Fail*, 2020, 22(8): 1342—1356.
- [3] MARCADET L, BOUREDJI Z, ARGAW A, et al. The roles of *RANK*/*RANKL*/*OPG* in cardiac, skeletal, and smooth muscles in health and disease [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 903657. 2022 - 05 - 26 [2024 - 05 - 22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35693934/>.
- [4] DUTKA M, BOBIŃSKI R, WOJAKOWSKI W, et al. Osteoprotegerin and *RANKL* - *RANK* - *OPG* - TRAIL signalling axis in heart failure and other cardiovascular diseases [J]. *Heart Fail Rev*, 2022, 27(4): 1395—1411.
- [5] 胡咏梅, 李法琦, 罗羽惠, 等. 腹主动脉缩窄大鼠模型制作及临床意义[J]. 重庆医科大学学报, 2004, 29(3): 322—324.
- [6] ZEISBERG E M, TARNAVSKI O, ZEISBERG M, et al. Endothelial - to - mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis [J]. *Nat Med*, 2007, 13(8): 952—961.
- [7] 许亮, 周荣清, 石碧. 酸法水解测定胶原中羟脯氨酸含量条件的优化[J]. 皮革科学与工程, 2005, 15(5): 24—26.
- [8] WONG M L, MEDRANO J F. Real - time PCR for mRNA quantitation [J]. *Biotechniques*, 2005, 39(1): 75—85.
- [9] OZER F F, DAGDELEN S, ERBAS T. Relation of *RANKL* and *OPG* levels with bone resorption in patients with acromegaly and prolactinoma [J]. *Horm Metab Res*, 2018, 50(7): 562—567.
- [10] DI GIUSEPPE R, BIEMANN R, WIRTH J, et al. Plasma osteoprotegerin, its correlates, and risk of heart failure: A prospective cohort study [J]. *Eur J Epidemiol*, 2017, 32(2): 113—123.
- [11] GARCIA - GOMEZ M C, VILAHUR G. Osteoporosis and vascular calcification: A shared scenario [J]. *Clin Investig Arterioscler*, 2020, 32(1): 33—42.
- [12] ONO T, HAYASHI M, SASAKI F, et al. *RANKL* biology: Bone metabolism, the immune system, and beyond [J/OL]. *Inflamm Regen*, 2020, 40: 2. 2020 - 02 - 07 [2024 - 05 - 22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32047573/>.
- [13] FRYSZ M, GERGEI I, SCHARNAGL H, et al. Circulating sclerostin levels are positively related to coronary artery disease severity and related risk factors [J]. *Bone Miner Res*, 2022, 37(2): 273—284.
- [14] FORDE H, DAVENPORT C, HARPER E, et al. The role of *OPG*/*RANKL* in the pathogenesis of diabetic cardiovascular disease [J]. *Cardiovasc Endocrinol Metab*, 2018, 7(2): 28—33.
- [15] ZAMPETTI S, LUCANTONI F, PACIFICO L, et al. Association of *OPG* - *RANKL* ratio with left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in male overweight/obese youths [J]. *J Endocrinol Invest*, 2019, 42(4): 427—434.
- [16] UDAGAWA N, KOIDE M, NAKAMURA M, et al. Osteoclast differentiation by *RANKL* and *OPG* signaling pathways [J]. *J Bone Miner Metab*, 2021, 39(1): 19—26.
- [17] VACHLIOTIS I D, POLYZOS S A. Osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor - kappa B ligand/receptor activator of nuclear factor - kappa B axis in obesity, type 2 diabetes mellitus, and nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Curr Obes Rep*, 2023, 12(2): 147—162.
- [18] WEN K C, TAO L, TAO Z B, et al. Fecal and serum metabolomic signatures and microbial community profiling of postmenopausal osteoporosis mice model [J/OL]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 535310. 2020 - 11 - 27 [2024 - 05 - 24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33330117/>.
- [19] BULEU F N, LUCA C T, TUDOR A, et al. Correlations between vascular stiffness indicators, *OPG*, and 25 - OH vitamin D3 status in heart failure patients [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2019, 55(6): 309.
- [20] LONCAR G, CVETINOVIC N, LAINSCAK M, et al. Bone in heart failure [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2020, 11(2): 381—393.

(收稿日期 2024 - 06 - 08; 本文编辑 戴荣源)