



大鼠心力衰竭模型的构建与鉴定

芦玲巧, 曾翔俊, 郝刚

(首都医科大学基础医学实验教学中心机能实验室, 北京 100069)

【摘要】 目的 比较主动脉弓缩窄和腹主动脉缩窄复制心力衰竭模型的异同, 探索快速有效的心衰动物模型。**方法** 将大鼠分为主动脉缩窄手术组, 腹主动脉缩窄手术组和对照组(C组)。主动脉缩窄手术组实施颈部手术, 在主动脉弓处缩窄动脉直径; 腹主动脉缩窄手术组实施腹部手术, 在腹主动脉处缩窄动脉直径; C组实施颈部手术但不实施动脉缩窄手术。各组实验动物均正常喂养4~6周后进行心脏的超声检测和心脏血流动力学检测。**结果** 心脏超声结果显示: 主动脉弓缩窄手术组左心室壁厚度和左心室腔内径在术后4周明显高于正常组; 而腹主动脉缩窄手术组左心室壁厚度和左心室腔内径在术后4周较正常组没有明显增加。术后6周, 腹主动脉缩窄手术组左心室壁厚度和左心室腔内径都明显增加, 而主动脉弓缩窄手术组左心室壁厚度没有明显改变, 左心室腔内径明显增加。血流动力学指标显示: 主动脉弓缩窄手术组LVESP、LVEDP、LVDP、 $\pm dp/dt_{max}$ 都明显低于腹主动脉缩窄手术组。**结论** 主动脉弓缩窄手术复制心肌肥大导致心功能衰竭模型效果明显快于腹主动脉缩窄手术复制的心肌肥大导致心功能衰竭模型。

【关键词】 主动脉弓; 腹主动脉; 心力衰竭; 模型, 动物

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)08-0022-04

Doi:10.3969/j.issn.1671.7856.2012.008.005

Establishment and Identification of Rat Models of Heart Failure

LU Ling-qiao, ZENG Xiag-Jun, HAO Gang

(Laboratory of Functional Experiments, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

【Abstract】 Objective To compare the difference of two heart failure models established by constriction of aortic arch and abdominal aorta, and to explore an effective method to establish an animal model of heart failure. **Methods** Ninety healthy adult male Wistar rats were randomly divided into three groups. The rats in the group 1 had cervical operation to contract the aortic arch, the rats in the group 2 were operated on abdomen to contract the abdominal aorta, and the rats in the group C had surgery but no aorta constriction. All the rats were fed for 4 or 6 weeks. The heart function of the rats was detected with ultrasound and heart intubation. **Results** At 4 weeks after constriction, ultrasonic results showed a significant increase of the left ventricular wall thickness and internal diameter of the left ventricular cavity in the aortic arch constriction group, and not significantly increased in the abdominal aorta constriction group, compared with those of the control group. At 6 weeks after constriction, both the left ventricular wall thickness and internal diameter of the left ventricle were significantly increased in the abdominal aorta constriction group, while only the internal diameter of the left ventricle was significantly increased and without change of the left ventricular wall thickness in the aortic arch constriction group. Hemodynamic detection showed that LVESP, LVEDP, LVDP and $\pm dp/dt_{max}$ in the aortic arch constriction group were significantly lower than those of the abdominal aorta constriction group at 6 weeks after contraction.

【基金项目】 国家自然科学基金青年基金(30900573)资助, 北京市级精品课程专项(TM201101422607000040)资助。

【作者简介】 芦玲巧(1961-), 女, 实验师。研究方向: 动物机能改变及疾病模型制作

【通讯作者】 郝刚(1958-), 男, 教授。研究方向: 心血管病理生理 E-mail: haogang@ccmu.edu.cn。

Conclusion The progression of heart failure caused by aortic arch constriction in the rats occurs obviously faster than that developed after abdominal aorta constriction.

【Key words】 Aortic arch; Abdominal aorta; Heart failure; Model, rat

心力衰竭是临床诸多心脏疾病的终末阶段, 长期以来, 探讨其发生机制是基础与临床研究的热点问题^[1]。心功能不全的发展直至心力衰竭是一个慢性过程, 临床观察其动态变化有较多的困难, 因此, 模拟临床患者的发病过程建立相应的动物模型, 已成为研究其变化的重要手段之一^[2]。国内目前大多数采用大鼠的腹主动脉缩窄手术制作大鼠心肌肥大及心衰模型, 模型成功需要较长时间^[2,3]。国外有实验通过缩窄大鼠主动脉弓, 造成左室后负荷加重, 长期存活形成慢性心衰模型, 有效缩短造模时间^[4]。我们将此方法与传统方法加以比较, 并建立和摸索出此种模型的质量控制标准, 为探索心功能不全的发生机制提供高效的动物模型。

1 材料和方法

1.1 动物

雄性 wistar 大鼠 60 只, 体重 180 ~ 230 g, 中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心(动物许可证号 SCXK2007-004) 提供。动物随机分为 3 组: 主动脉结扎手术组(A 组, n = 20)、腹主动脉结扎手术组(B 组, n = 20)、对照组(C 组, n = 20)。

1.2 制作方法

主动脉弓缩窄手术组将大鼠称重后, 皮下注射阿托品 1 mg/kg, 抑制呼吸道分泌物, 肌注 10 000 U 青霉素, 预防感染。30 min 后, 10% 水合氯醛 0.3 mL/100g 腹腔注射麻醉, 固定四肢仰卧于大鼠手术台上。用 16F 静脉留置针做气管插管, 经口自声门处插入气管, 外接 HX-300S 动物呼吸机(成都泰盟科技有限公司)辅助呼吸, 潮气量 8 ~ 10 mL/min, 呼吸频率 60 次/min。大鼠四肢皮下连接心电监护电极, 术中行心电监护。做颈部手术, 剪去颈部到胸骨柄的毛, 碘伏消毒, 自胸骨柄上方剪开皮肤及肌肉筋膜, 钝性分离颈前肌肉暴露胸骨上窝, 以血管钳紧贴胸骨下方缓慢插入胸腔, 边插边向两侧钝性分离, 动作应柔和, 避免划破肺脏。然后沿胸骨正中白线剪开胸骨, 钝性分离气管前肌群及胸腺, 可见主动脉弓横跨于气管前方, 两侧分别为右颈总动脉和左头臂干动脉。分离主动脉弓, 以 7 号缝合线穿过主动脉弓与气管间隙, 将外径为 0.8 mm 的钛合金针放于主动脉弓上方(头臂干动脉与左颈总动脉之间), 结扎后, 迅速取出钛合金针, 然后逐层关

胸, 皮下注射生理盐水 5 mL 以防脱水。以暖灯保持大鼠体温, 脱离呼吸机。观察大鼠的自主呼吸, 待略有清醒时, 摘掉呼吸管, 装笼饲养。为预防感染术后 3 d, 每日肌内注射青霉素 100 000 U。腹主动脉缩窄手术组采用 Anne 等^[4]腹主动脉缩窄法制备大鼠压力超负荷慢性心力衰竭模型^[5], 将动物用 10% 水合氯醛 0.35 mL/100 g 腹腔注射麻醉后, 仰卧位固定, 剪去剑突下到耻骨联合上方区域的毛, 碘伏消毒。在剑突下约 1 cm 处向下剪开皮肤, 长度 3 cm 左右即可看见腹白线^[6], 沿腹白线切开, 用纱布将内脏轻轻推向左侧, 暴露并钝性分离腹主动脉。将外径为 0.8 mm 的钛合金针放于腹主动脉上方, 结扎后, 迅速取出钛合金针。然后逐层关闭腹部切口, 皮下注射生理盐水 5 mL 以防脱水。以暖灯保持大鼠体温。观察大鼠的自主呼吸, 待略有清醒时装笼饲养。术后 3 d 每日青霉素 100 000 U 肌内注射, 预防感染^[3]。对照组为同期开胸假手术, 即将丝线绕过主动脉弓, 不进行结扎。

1.3 小动物 B 超测定

术后 4 周和 6 周做心脏超声检测左心室前后壁厚度(LVPW)、左心室壁收缩舒张功能及收缩期和舒张期左心室腔直径^[5]。方法如下: 大鼠麻醉后固定, 连接心电图, 应用高分辨率小动物超声影像系统(Vevo 770TM, high resolution imaging system, VisualSonics Inc, Canada)探头频率 8.0 ~ 12.0 MHz, 取胸骨旁左室短轴切面, 在二尖瓣腱索水平记录 M 型超声运动曲线后, 分别测量舒张末期室间隔厚度(IVST)、左室后壁厚度(LVPWT)、左室舒张末期内径(LVEDd)和左室收缩末期内径(LVESd), 计算短轴缩短率(FS)和射血分数(EF)。各指标均在连续 3 个心动周期上测量后取其平均值。

1.4 血流动力学指标的测定

术后 6 周水合氯醛 35 mg/kg 腹腔注射麻醉。将自制的微型导管连接压力换能器经右颈总动脉行左心室插管。另一端连于 BL-420F 生理机能实验系统记录仪(成都泰盟科技有限公司), 稳定 5 min 后, 测量左室收缩压(LVSP), 左室舒张末压(LVEDP), 左心室压力变化最大速率积分(LV + dp/dt_{max} 和 LV - dp/dt_{max})等血流动力学指标。

1.5 统计学方法

实验结果以均数 ± 标准差表示。三组样本的

显著性差异采用单因素方差分析,最小差异分析进行两两比较。 $P < 0.05$,做为差异显著性检验标准。

2 结果

2.1 实验组一般状况

主动脉缩窄手术组大鼠呈现毛发光泽不良,呼吸急促,活动能力下降。大鼠术后 24 h 内死亡 2 只,术后 1 周内死亡 1 只,4 周死亡 1 只,存活率 80%。腹主动脉缩窄手术组,24 h 内死亡 2 只,术后 1 周内死亡 3 只;4 周死亡 1 只,6 周死亡 1 只,存活率 65%。对照组 20 只,死亡 0 只,存活率 100%。

2.2 心室壁及心功能变化

各组大鼠分别在手术前,术后 4 周和 6 周进行心脏超声检查。舒张期结果(表 1)发现:与手术前相比,主动脉弓缩窄术后 4 周,大鼠心室前后壁均出现室壁增厚的表现,手术后 6 周,心室壁增厚的表现明显减轻。这说明主动脉弓缩窄手术组大鼠在 4 周是出现心室肌代偿性的肥厚,6 周时心室肌已经出现明显失代偿,纤维化,因此室壁变薄,同时我们也观察到手术后 6 周左心室腔明显增大。腹主动脉缩窄术后 4 周,做心室壁和心室腔都没有出现明显的

增厚和扩大的表现。而手术后 6 周,左心室后壁出现明显的室壁增厚的表现,而左心室腔在 6 周内都没有明显的扩大表现。

收缩期超声结果(表 2)发现:与手术前相比,主动脉弓缩窄术后 4 周,大鼠心室前后壁均出现室壁增厚的表现,手术后 6 周,心室壁增厚的表现明显减轻。这说明主动脉弓缩窄手术组大鼠在 4 周是出现心室肌代偿性的肥厚,6 周时心室肌已经出现明显失代偿,纤维化,因此室壁变薄,同时我们也观察到手术后 6 周左心室腔明显增大。腹主动脉缩窄术后 4 周,做心室壁和心室腔都没有出现明显的增厚和扩大的表现。而手术后 6 周,左心室后壁出现明显的室壁增厚的表现,而左心室腔在 6 周内都没有明显的扩大表现。

各组大鼠在手术后 6 周进行心功能测定,结果发现:与对照组相比,各组心率没有明显改变,主动脉弓缩窄手术组左室收缩末期压力(left ventricle end systolic pressure, LVESP)、左室舒张末期压力(left ventricle diastolic pressure, LVEDP)左室发展压(left ventricle developing pressure)、左室压力最大变化速率($\pm dp/dt_{max}$)均明显降低,而腹主动脉缩窄手术组各项指标无明显改变(表 3)。

表 1 各组大鼠舒张期左心室壁厚度及左心室腔内径($\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 The thickness and diameter of left ventricle in diastolic phase($\bar{x} \pm s$)

指标 Indices	主动脉弓缩窄 (mm) Aortic arch constriction			腹主动脉缩窄 (mm) Abdominal aorta constriction		
	正常	4 w	6 w	正常	4 w	6 w
左心室前壁厚度	1.772 ± 0.306	2.487 ± 0.678 *	2.378 ± 0.425	1.92 ± 0.177	2.023 ± 0.301	2.057 ± 0.368
左心室后壁厚度	1.9 ± 0.449	2.667 ± 0.282 **	2.082 ± 0.343	2.147 ± 0.154	2.735 ± 0.476	2.777 ± 0.676 *
左心室腔直径	5.667 ± 0.749	6.762 ± 0.613 *	7.323 ± 0.804 **	6.303 ± 0.525	6.635 ± 0.782	6.932 ± 0.692

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. 各组正常值

Note: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. normal values.

表 2 各组大鼠收缩期左心室壁厚度及左心室腔内径($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 The thickness and diameter of left ventricle in systolic phase($\bar{x} \pm s$)

指标 Indices	主动脉弓缩窄 (mm) Aortic arch constriction			腹主动脉缩窄 (mm) Abdominal aorta constriction		
	正常	4 周	6 周	正常	4 周	6 周
左心室前壁厚度	3.075 ± 0.14	4.033 ± 0.721 **	3.315 ± 0.412	3.243 ± 0.482	3.677 ± 0.444	3.74 ± 0.464
左心室后壁厚度	2.738 ± 0.554	3.913 ± 0.315 **	3.3 ± 0.43 *	3.347 ± 0.166	3.855 ± 0.549	4.037 ± 0.601 *
室腔直径	2.777 ± 0.411	2.942 ± 0.479	3.778 ± 0.859 *	2.825 ± 0.717	2.978 ± 0.578	3.128 ± 0.533

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. 各组正常值

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. normal values.

表 3 各组大鼠术后 6 周左心室心功能改变($\bar{x} \pm s$)
Tab. 3 The heart function in the rats of each group 6 weeks after operation

分组 Groups	心率 HRbeat/min	左室收缩末期压 LVESP mmHg	左室舒张末期压 LVEDP mmHg	左室发展压 LVDP mmHg	左室最大收缩速率 + dp/dt _{max} mmHg/s	左室最大舒张速率 - dp/dt _{max} mmHg/s
对照组	419 ± 19	132.61 ± 6.07	-3.98 ± 1.05	136.58 ± 6.395	8.42 ± 1.26	-5.405 ± 1.12
主动脉弓缩窄	338 ± 55	83.93 ± 7.42 **	21.89 ± 9.44 **	62.038 ± 7.465 **	1.14 ± 0.24 **	-1.072 ± 0.16 **
腹主动脉缩窄	396 ± 35	109.95 ± 9.13	-5.76 ± 3.81	115.713 ± 11.016	3.59 ± 0.42	-3.313 ± 0.37

** $P < 0.01$ vs. 腹主动脉结扎组

Note: ** $P < 0.01$ vs. the abdominal aorta constriction group.

3 讨论

动脉缩窄手术复制心肌肥大导致的心力衰竭模型,其主要原理是动脉直径缩小后,血流阻力变大,使左心室后负荷增加,从而引起心肌肥大和心力衰竭的发生。主动脉弓和腹主动脉相比,前者距离心脏较近,因此主动脉弓直径缩小后,其血流动力学的改变对左心的影响可能更明显。

本实验采用外径为 0.8 mm 的钛合金针,将主动脉弓和腹主动脉分别缩窄到 0.8 mm,检测 4 周和 6 周后左心室壁厚度。结果发现:主动脉弓缩窄手术组术后 4 周左心室壁厚度在收缩期和舒张期都明显高于正常组和腹主动脉缩窄手术组。这一结果说明主动脉弓缩窄手术可以更有效地增加左心室的后负荷,4 周即可引起左心室心肌肥大。而 6 周的心脏超声结果发现:主动脉弓缩窄手术组大鼠心脏左心室壁厚度较术后 4 周有所降低 ($P < 0.05$),同时心功能检测的结果发现:主动脉弓缩窄手术后 6 周,大鼠心功能明显降低。这提示主动脉弓缩窄术后 6 周大鼠心肌肥大已经从代偿发展到失代偿,出现心力衰竭。

腹主动脉缩窄组大鼠左心室壁厚度在术后 4 ~ 6 周都略有升高 ($P > 0.05$)。这一结果说明腹主动脉缩窄术后,其血流动力学改变对心脏的影响较慢,心肌肥大的发生发展的时间较长^[6]。心功能的检测结果也发现:腹主动脉缩窄术后,大鼠心功能较主动脉弓缩窄手术组降低的程度轻。据此我们认为:腹主动脉缩窄手术引起的血流动力学改变对心脏的影响较主动脉弓弱,因此造成心肌肥大和心力衰竭的时间较长。

在上述两种模型的应用过程中,我们可以根据不同的实验要求选择不同的造模方式。如果需要在短时间内造成心肌肥大,并出现心力衰竭,那我们可以选择采用主动脉弓缩窄的方法。但是该方法必须使用呼吸机,同时对手术者的要求较高,必须熟悉胸部及心脏的解剖结构,可以顺利找到头臂干动脉与左颈总动脉及主动脉弓。如果需要观察心肌肥大发生发展的过程,探讨心肌肥大发展成心力衰竭的机制^[6],我们可以采用腹主动脉缩窄的方法。该方法的手术操作简单,不需要呼吸机,但是术后感染的发生率较高,可能导致动物的死亡率较高。

参考文献:

- [1] 郭豫涛. 充血性心力衰竭的动物模型 [J]. 上海实验动物科学, 2001, 21(2): 122 - 123.
- [2] 孙艳侠, 王国干. 心力衰竭动物模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(7): 73 - 78.
- [3] 褚春, 杨军, 谭芳, 等. 腹主动脉狭窄心力衰竭时心室肌细胞电生理失稳态及 Ito 的变化 [J]. 临床医学 医学信息, 2010, 23(9): 3107 - 3108.
- [4] Feldman AM, Weinberg EO, Ray PE, et al. Selective changes in cardiac gene expression during compensated hypertrophy and the transition to cardiac decompensation in rats with chronic aortic banding [J]. Circ Res, 1993, 73(1): 184 - 192.
- [5] 朱文晖, 张晓红, 肖渊茗. 超声心动图评价心力衰竭大鼠模型心功能改变 [J]. 中南大学学报(医学版), 2009, 3(5): 453 - 456.
- [6] 马力, 刘杰, 初楠, 等. 心力衰竭模型心脏肥厚指标与心功能的关系研究 [J]. 首都医科大学学报, 2001, 31(5): 596 - 599.

[修回日期]2012-05-22