

✦ 实验研究

Feasibility of assessing left ventricular myocardial morphology and function in acute and chronic myocardial hypertrophy rat models with ultrasound biomicroscopy

ZHOU Li¹, WEI Shijie^{2*}, LI Qing¹, NA Lisha¹, WANG Fang¹, WANG Tingting¹

(1. Department of Cardiac Functions Examination, 2. Department of Pharmacy,
General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the feasibility of assessing left ventricular myocardial morphology and function in acute and chronic myocardial hypertrophy rat models induced by isoproterenol (ISO) with ultrasound biomicroscopy (UBM). **Methods** Totally 40 SD rats were randomly divided into 4 groups (each $n=10$). Rats in acute myocardial hypertrophy model group (acute model group) were given subcutaneous injection with ISO 85 mg/kg once a day for 2 days, and those in acute control group were given equal amount saline with subcutaneous injection for equal course. Rats in chronic myocardial hypertrophy model group (chronic model group) were given subcutaneous injection with ISO 5 mg/kg once a day for 7 days, and those in chronic control group were given equal amount saline with subcutaneous injection for equal course. The following parameters, including left ventricular anterior wall diameter (LVAWD), left ventricular posterior wall diameter (LVPWD), left ventricular end diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end systolic diameter (LVESD), left ventricular end diastolic volume (LVEDV), left ventricular end systolic volume (LVESV), left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS) and left ventricular myocardial mass were measured with UBM. Then the rats were sacrificed, the left ventricular myocardial masses were accurately weighed. **Results** Compared with acute control group, LVAWD and LVPWD increased in acute model group (both $P<0.05$). Compared with chronic control group, LVAWD, LVPWD, LVESD and LVESV increased in chronic model group, while LVEF and LVFS decreased (all $P<0.05$). Compared with acute model group, LVEDD, LVESD, LVEDV and LVESV of chronic model group increased, but LVEF and LVFS decreased (all $P<0.05$). Left ventricular myocardial masses measured with UBM were higher than anatomical accurate weighing in all 4 groups (all $P<0.05$). Left ventricular myocardial masses of acute model group measured with both methods were all lower than those of chronic model group (both $P<0.05$). The left ventricular myocardial masses measured with UBM were positively correlated with the value measured by anatomical accurate weighing in all 4 groups (all $P<0.05$). **Conclusion** UBM can non-invasively evaluate left ventricular morphology and function in rats with acute and chronic myocardial hypertrophy induced by ISO.

[Keywords] cardiomyopathy, hypertrophic; microscopy, acoustic; ultrasonography; isoproterenol; disease models, animal

DOI:10.13929/j.issn.1003-3289.2020.03.009

[基金项目] 国家自然科学基金(21868027)。

[第一作者] 周丽(1976—),女,宁夏银川人,硕士,主任医师。研究方向:超声心动图基础与临床。E-mail: 13895602692@126.com

[通信作者] 魏世杰,宁夏医科大学总医院药剂科,750004。E-mail: nxwsj1978@163.com

[收稿日期] 2019-04-16 **[修回日期]** 2020-02-25

超声生物显微镜评估大鼠急慢性心肌肥厚模型左心室心肌形态及功能的可行性

周 丽¹, 魏世杰^{2*}, 李 晴¹, 纳丽莎¹, 王 芳¹, 王婷婷¹

(1. 宁夏医科大学总医院心脏中心功能部, 2. 药剂科, 宁夏 银川 750004)

[摘要] **目的** 探讨超声生物显微镜(UBM)评估异丙肾上腺素(ISO)所致大鼠急性、慢性心肌肥厚模型左心室形态和功能的可行性。**方法** 将 40 只 SD 大鼠随机均分为 4 组。急性模型组大鼠皮下注射 ISO 85 mg/kg 体质量, 1 次/天, 连续 2 天; 急性对照组以相同剂量、频次皮下注射生理盐水; 慢性模型组皮下注射 ISO 5 mg/kg 体质量, 1 次/天, 连续 7 天; 慢性对照组以相同剂量、频次皮下注射生理盐水。采用 UBM 测量左心室前壁厚度(LVAWD)、左心室后壁厚度(LVPWD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期容积(LVEDV)、左心室收缩末期容积(LVESV)、左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)及左心室质量。处死大鼠后对左心室质量进行精密称重。**结果** 急性模型组 LVAWD、LVPWD 较急性对照组增加(P 均 <0.05); 慢性模型组 LVAWD、LVPWD、LVESD 及 LVESV 较慢性对照组增大, 而 LVEF、LVFS 降低(P 均 <0.05); 慢性模型组 LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV 较急性模型组增大, 而 LVEF、LVFS 降低(P 均 <0.05)。4 组 UBM 所测左心室质量均高于精确称重(P 均 <0.05), 2 种方法所测急性模型组左心室质量均低于慢性模型组(P 均 <0.05)。4 组 UBM 所测左心室质量与精确称重所测左心室质量均呈正相关(P 均 <0.05)。**结论** UBM 能够无创评估 ISO 所致大鼠急、慢性心肌肥厚模型左心室形态及功能。

[关键词] 心肌病, 肥厚性; 显微镜检查, 声学; 超声检查; 异丙肾上腺素; 疾病模型, 动物

[中图分类号] R-332; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2020)03-0362-05

左心室心肌质量增加是心血管疾病的独立危险因素, 也是心血管事件的预期指标^[1]。交感神经兴奋是心室肥厚形成与发展的重要原因。肾上腺素水平与心肌肥厚程度呈正相关。肾上腺素可用于制作与人类心肌肥厚过程类似的急性代偿性及慢性病理性心肌肥厚动物模型, 如皮下连续注射异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)可制作大鼠急性及慢性心肌肥厚模型, 已广泛用于心血管疾病发生、转归及疗效评价等研究中^[2]。目前主要采用颈动脉插管和手术解剖评价 ISO 动物模型左心室形态及功能, 易致动物死亡而无法进行后续药效学、药动学等实验研究。超声生物显微镜(ultrasound biomicroscopy, UBM)是近年发展的超声新技术, 目前已逐渐用于动物实验研究^[3]。本研究观察采用 UBM 测量 ISO 所致大鼠急性及慢性心肌肥厚模型左心室形态及功能参数的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 SPF 级雄性健康 SD 大鼠 40 只, 体质量(280 ± 20)g, 动物许可证号: SCXY(宁)2018-0001, 以标准饲料喂养 1 周后进行实验。将大鼠随机分为急性心肌肥厚模型组(急性模型组)、急性对照组、慢性心肌肥厚模型组(慢性模型组)及慢性对照组, 每组 10

只。急性模型组大鼠皮下注射 ISO 85 mg/kg 体质量, 1 次/天, 连续 2 天; 急性对照组以相同剂量、频次皮下注射生理盐水; 慢性模型组皮下注射 ISO 5 mg/kg 体质量, 1 次/天, 连续 7 天; 慢性对照组以相同剂量、频次皮下注射生理盐水。盐酸 ISO 原料药纯度 $>99.0\%$ (批号: 90100226)。造模过程中, 急性模型组死亡 2 只, 慢性模型组死亡 1 只, 慢性对照组死亡 1 只。

1.2 仪器与方法 采用 Visualsonics Vevo2100 高分辨率超声成像系统, MS-250 探头, 频率 20 MHz。腹腔注射 10% 水合氯醛(0.4 ml/100 g 体质量)后, 仰卧位保定大鼠于鼠板上, 以 8% 硫化钠溶液对胸部心前区褪毛。采用 UBM 观察胸骨旁左心室长轴切面, 使左心室腔尽量呈水平位, 以最大化分辨率和最适图像增益清晰显示左心室心内膜、心外膜, 取样线尽量垂直置于左心室前壁及后壁乳头肌后缘水平, 于二尖瓣关闭前一帧图像测量左心室前壁厚度(left ventricular anterior wall diameter, LVAWD)、左心室后壁厚度(left ventricular posterior wall diameter, LVPWD)、左心室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)及左心室收缩末期内径(left ventricular end systolic diameter, LVESD)。每只大

鼠均连续测量 3 个心动周期,取平均值作为结果(图 1)。设备自动计算获得左心室舒张末期容积(left ventricular end diastolic volume, LVEDV)、左心室收缩末期容积(left ventricular end systolic volume, LVESV)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)及左心室质量。

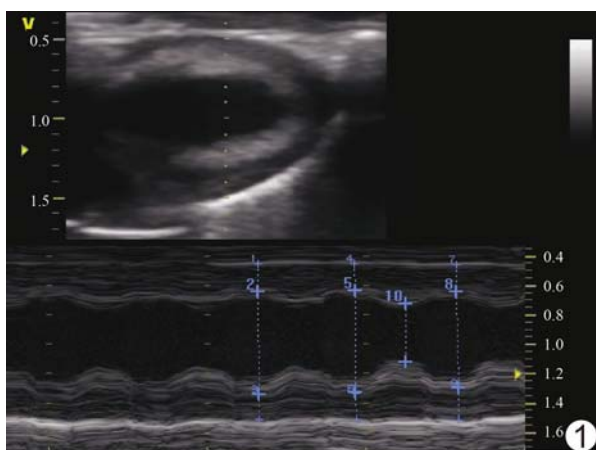


图 1 UBM 测量大鼠左心室参数

1.3 左心室质量测量与病理学检查 超声测量结束后处死大鼠,迅速解剖并摘取心脏,去除心耳及周围结缔组织,分离左心室,以低温生理盐水冲洗干净,滤纸吸干后精密天平称重。取心尖组织置于 4% 多聚甲醛溶液固定,常规切片、HE 染色、镜下观察。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计分析软件。对计量资料进行正态性和方差齐性检验,符合正态分布、方差齐者以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK 法。采用配对 t 检验比较 UBM 所测左心室质量与解剖后精确测量左心室质量。以直线相关分析进行相关性检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 左心室形态及功能参数 急性模型组 LVAWD、

LVPWD 较急性对照组增加(P 均 < 0.05);慢性模型组较 LVAWD、LVPWD、LVESD 及 LVESV 慢性对照组增大,LVEF、LVFS 降低(P 均 < 0.05);慢性模型组 LVEDD、LVESD、LVEDV、LVESV 较急性肥厚模型组增大,LVEF、LVFS 降低(P 均 < 0.05)。见表 1。

2.2 左心室质量 UBM 所测 4 组左心室质量均高于精确称重(P 均 < 0.05),2 种方法所测急性模型组左心室质量均低于慢性模型组(P 均 < 0.05)。急性对照组、急性模型组、慢性对照组、慢性模型组 UBM 所测左心室质量与精确称重均呈正相关($r = 0.91, 0.79, 0.90, 0.73, P$ 均 < 0.05)。见表 2。

2.3 心肌组织病理改变 对照组大鼠心肌纹理均清晰,心肌细胞排列整齐,细胞核均匀分布。急性模型组大鼠心肌细胞排列紊乱,胞浆丰富,细胞核由正常圆形或椭圆形变为长杆状。慢性模型组细胞排列紊乱,心外膜可见炎细胞浸润,心内膜出现心肌细胞坏死迹象及少量成纤维细胞增生。见图 2。

3 讨论

目前制作大鼠心肌肥厚模型有以下 2 种较常见方法^[4],即通过部分结扎主动脉增加后负荷制作压力负荷性心肌肥厚模型,和部分结扎肾动脉制作肾性高血压心肌肥厚模型,具有造模时间短、重复性好等优点,应用较为普遍,但也存在需外科手术干预、术后实验动物死亡率高问题。近年来激素诱导制作大鼠心肌肥厚模型的方法逐渐被采用。皮下注射 ISO 可激活肾上腺素受体,增加心肌细胞合成代谢及 Ca^{2+} 超负荷。ISO 作为 β 受体激动剂,能够提高细胞膜 L 型钙通道(L-type calcium channel, LCC)介导的 Ca^{2+} 内流幅度和同步性,通过 β 肾上腺素受体(β -adrenergic receptor, β -AR)-蛋白激酶 A 信号通路调控肌质网钙释放通路,最终诱导心肌细胞体积增大、蛋白质合成增加和肌小节重构而导致左心室肥厚^[5-6]。ISO 诱导大鼠左心室肥厚模型具有制作简单、实验周期短、效果确切等优点。本研究也证实该方法能够使大鼠心肌明显

表 1 4 组大鼠超声心动图所测左心室形态及功能参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	LVAWD(mm)	LVPWD(mm)	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEDV(ml)	LVESV(ml)	LVEF(%)	LVFS(%)
急性对照组($n=10$)	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.61 ± 0.04	0.40 ± 0.03	1.88 ± 0.26	0.73 ± 0.13	61.43 ± 6.98	33.80 ± 4.93
急性模型组($n=8$)	$0.20 \pm 0.01^*$	$0.19 \pm 0.02^*$	0.63 ± 0.03	0.42 ± 0.05	2.14 ± 0.20	0.81 ± 0.24	63.90 ± 9.71	35.98 ± 6.94
慢性对照组($n=9$)	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.70 ± 0.03	0.40 ± 0.02	2.53 ± 0.28	0.72 ± 0.09	71.38 ± 3.63	41.88 ± 3.12
慢性模型组($n=9$)	$0.21 \pm 0.02^\#$	$0.21 \pm 0.02^\#$	$0.71 \pm 0.04^\Delta$	$0.52 \pm 0.04^\#^\Delta$	$2.65 \pm 0.33^\Delta$	$1.33 \pm 0.26^\#^\Delta$	$50.64 \pm 6.23^\#^\Delta$	$26.73 \pm 4.02^\#^\Delta$
F 值	14.959	15.278	17.886	19.765	18.507	21.485	30.910	22.392
P 值	0.047	0.040	0.031	0.001	0.038	0.011	0.014	0.026

注: * :与急性对照组比较, $P < 0.05$; # :与慢性对照组比较, $P < 0.05$; Δ :与慢性模型组比较, $P < 0.05$

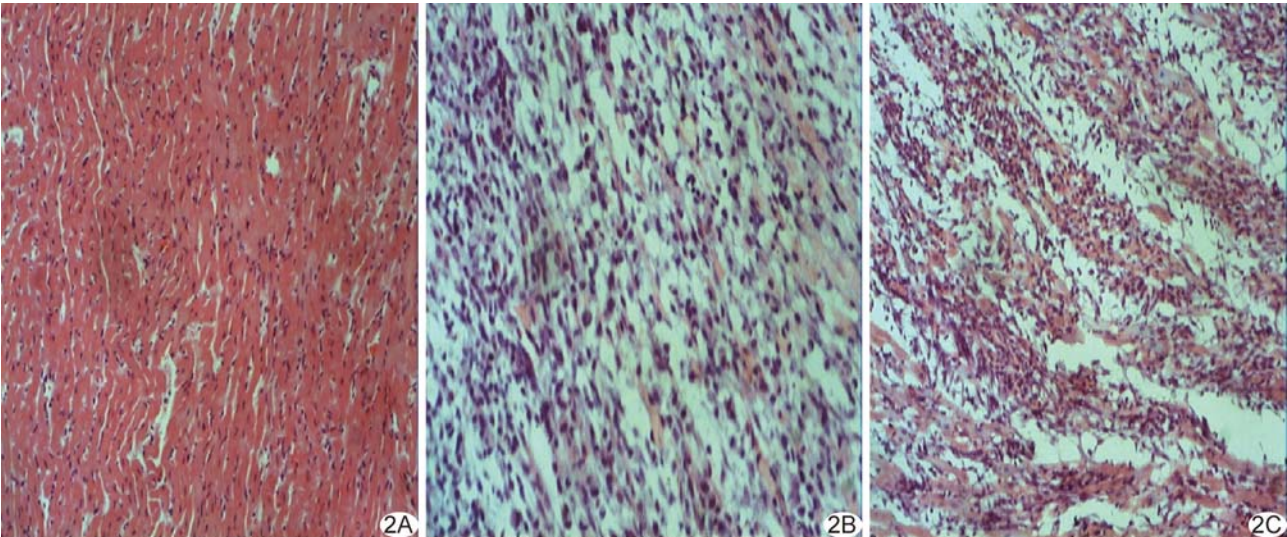


图 2 各组大鼠左心室心肌组织病理图(HE,×100) A. 正常对照组心肌纹理清晰,心肌细胞排列整齐,细胞核均匀分布; B. 慢性模型组心肌细胞排列紊乱; C. 急性模型组心肌细胞排列紊乱,胞浆丰富,细胞核为长杆状

表 2 4 组大鼠 UBM 所测左心室质量与精确称重测值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	左心室质量(g)		t 值	P 值
	UBM	精确称重		
急性对照组(n=10)	0.86±0.04	0.75±0.09	2.351	0.043
急性模型组(n=8)	1.04±0.03*	0.86±0.09*	2.622	0.021
慢性对照组(n=9)	0.89±0.05	0.80±0.07	2.224	0.041
慢性模型组(n=9)	1.22±0.10 [#] Δ	0.92±0.08 [#] Δ	2.927	0.011
F 值	16.783	14.491	—	—
P 值	0.037	0.042	—	—

注: *:与急性对照组比较, $P<0.05$; #:与慢性对照组比较, $P<0.05$; Δ:与慢性模型组比较, $P<0.05$

增厚,成功复制心肌肥厚模型。本研究急性模型组大鼠心腔大小无明显变化,心功能亦能维持在正常水平,尚处于急性代偿阶段,病理结果显示心肌细胞出现排列紊乱、细胞核增大等表现;慢性模型组大鼠心脏明显增大,心功能减低,处于失代偿状态,病理示心肌细胞已出现坏死和纤维增生等改变。以上结果提示,急性与慢性心肌肥厚大鼠模型左心室构型和心功能均存在差异。

利用 M 型、二维和三维超声心动图均可计算左心室质量。理论上二维和三维方法较 M 型更准确,但 M 型超声简单快捷,测量变异性小,准确性较高,多数有关左心室质量与预后关系的研究^[7]采用该法。UBM 探头频率高达 20 MHz,分辨率较普通 M 型超声显著提高,因而能更加清晰地显示大鼠心脏结构,是无创评价活体大鼠心脏形态学变化的重要手段^[8]。本研究中,对于左心室构型正常的对照组,UBM 测量左心室质量与金标

准左心室解剖称重的相关性良好(r 均 >0.90),与文献^[9]报道结果相符;但左心室壁增厚、心室重构时,UBM 测量左心室质量与真实值的相关性下降,急性及慢性模型组 r 值分别为 0.79 和 0.73。上述结果提示,虽然 M 型 UBM 具有更高的分辨率,但利用 M 型超声测量左心室质量仍需基于左心室长径为短径 2 倍的形态学假设,因此,左心室构型发生改变必然对计算结果产生影响。此外,采用 M 型超声测量左心室径线后,通过公式计算左心室质量时,径线测值需计算 3 次幂,即使径线误差极小,亦会对左心室质量最终结果产生影响。本研究中 UBM 对于左心室质量的测值略高于金标准值,与文献^[7]报道相符。本组中 UBM 及体外精确测量均显示急性模型组左心室质量低于慢性模型组,尽管 UBM 测量与真实值间存在误差,但对于不足 1 g 的大鼠心脏,UBM 技术仍能敏感反映其变化。

总之,ISO 所致大鼠急性及慢性心肌肥厚模型左心室形态及功能均发生明显改变;UBM 能检出大鼠左心室心肌形态、功能及质量变化,为在模型大鼠体内进行后期生理学、药理学等重要研究提供了可能^[10-11]。

[参考文献]

[1] VERMA A, MERIS A, SKALI H, et al. Prognostic implications of left ventricular mass and geometry following myocardial infarction: The VALIANT (VALsartan In Acute myocardial iNfarcTion) echocardiographic study [J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2008, 1(5):582-591.

[2] 魏世杰,周家伟,甘梦月,等. 苦参碱对心脏肥厚大鼠的心功能和

- 左室重塑的改善作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(4): 338-342.
- [3] 杨娅, 王艳红, 谢瑾捷, 等. 载脂蛋白 E 基因敲除小鼠早期动脉粥样硬化超声生物显微镜成像与组织病理的对照分析[J]. 中国医学影像技术, 2012, 28(1): 44-47.
- [4] 李峰, 冯耀光. 大鼠心肌肥厚模型概述[J]. 中国现代医生, 2010, 48(32): 6-7.
- [5] JUUL A, SCHEIKE T, DAVDSEN M, et al. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease: A population-based case control study[J]. Circulation, 2002, 106(8): 939-944.
- [6] RUIDAVETS J B, LUC G, MACHEZ E, et al. Effects of insulin-like growth factor 1 in preventing acute coronary syndromes: The PRIME study[J]. Atherosclerosis, 2011, 218(2): 464-469.
- [7] LANG R M, BADANO L P, MOR-AVI V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2015, 28(1): 1-39.
- [8] 杨娇, 苏瑞娟, 杨娅, 等. 小鼠左冠状动脉前降支低位结扎早期冠状动脉血流及心功能的变化分析临床[J]. 超声医学杂志, 2015, 17(7): 433-435.
- [9] 李秀昌, 张运, 孟祥水, 等. 左室心肌质量三维超声心动图与 MRI 测值的对比研究[J]. 中国超声医学杂志, 2005, 21(1): 66-67.
- [10] 陈洁娣, 唐羽欣, 胡婷婷, 等. 主动脉弓缩窄大鼠心功能代偿期和失代偿期的评价[J]. 广东药学院学报, 2015, 31(5): 670-675.
- [11] 朱丹, 郭艳红, 米琳, 等. 大鼠心肌梗死模型心功能评价的方法学比较[J]. 中国微创外科杂志, 2009, 9(5): 413-416.

《中国医学影像技术》杂志 2020 年征订启事

《中国医学影像技术》杂志于 1985 年创刊, 是由中国科学院主管, 中国科学院声学研究所主办的国家级学术期刊。刊号: ISSN 1003-3289, CN 11-1881/R。为百种中国杰出学术期刊(2011、2012 年)、中国精品科技期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊、《中文核心期刊要目总览》收录期刊、荷兰《医学文摘》收录源期刊、英国《科学文摘》收录源期刊、俄罗斯《文摘杂志》收录源期刊、WHO《西太平洋地区医学索引》(WPRIM)来源期刊、《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》(JSTChina)收录期刊。

《中国医学影像技术》杂志是临床医学影像学影像医学工程及理论研究相结合的综合性学术期刊, 刊登放射、超声、核医学、介入治疗、影像技术学、医学物理与工程学等方面的基础研究及临床实验研究的最新成果。以论文质量优、刊载信息量大、发刊周期短为其特色, 是我国影像医学研究探索和学术交流的良好平台。

《中国医学影像技术》为月刊, 160 页, 大 16 开, 彩色印刷。单价 26 元, 全年定价 312 元。订户可随时向当地邮局订阅, 邮发代号 82-509; 亦可向编辑部直接订阅, 免邮寄费(银行、支付宝转账均可, 附言栏请注明订阅杂志名称)。

网 址 www.cjmit.com

编辑部地址 北京市海淀区北四环西路 21 号, 中科院声学所大猷楼 502 室 邮编 100190

联系人 杜老师 联系电话 010-82547901/2-810 传真 010-82547903

银行账户名 《中国医学影像技术》期刊社

开户行 招商银行北京分行清华园支行

账 号 110907929010201

支付宝账号 cjmit@mail.ioa.ac.cn(账户名同银行账户名)



中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)
中国科学引文数据库核心期刊
《中文核心期刊要目总览》收录期刊
中国精品科技期刊
美国《科学文摘》收录源期刊
俄罗斯《文摘杂志》收录源期刊
荷兰《医学文摘》收录源期刊
WHO《西太平洋地区医学索引》来源期刊

2019年 第35卷 第10期
Volume 35 Number 10 2019

No 10
总第317期

