

- Lancet, 2012, 9843 (380): 756-766.
- [2] 王海霞, 郑瑞强, 林华, 等. 基于 RIFLE 标准急性肾损伤患者发病率及病死率的研究 [J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22 (3): 276-279.
- [3] Venkatachalam MA, Griffin KA, Lan R, et al. Acute kidney injury: a springboard for progression in chronic kidney disease [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2010, 298 (5): F1078-1094.
- [4] Belayev LY, Palevsky PM. The link between acute kidney injury and chronic kidney disease [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2014, 23 (2): 149-154.
- [5] Molls RR, Savransky V, Liu M, et al. Keratinocyte-derived chemokine is an early biomarker of ischemic acute kidney injury [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2006, 290 (5): F1187-1193.
- [6] Bonventre JV. Kidney ischemic preconditioning [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2002, 11 (1): 43-48.
- [7] Jablonski P, Howden BO, Rae DA, et al. An experimental model for assessment of renal recovery from warm ischemia [J]. Transplantation, 1983, 35 (3): 198-204.
- [8] 花兵, 董文斌. Bcl-2 蛋白与急性肾缺血-再灌注损伤 [J]. 国际儿科学杂志, 2010, 37 (2): 167-168.
- [9] Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? [J]. Kidney Int, 2004, 66 (2): 480-485.
- [10] Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure [J]. Kidney Int, 2004, 66 (2): 486-491.
- [11] 俞隼, 顾勤, 刘宁, 等. NF- κ B 信号传导通路在急性肾损伤小鼠细胞凋亡中的作用 [J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22 (4): 384-389.
- [12] 高爽, 郭树彬. 脓毒症急性肾损伤与免疫功能的相关性研究 [J]. 中华急诊医学杂志, 2015, 24 (4): 416-421.
- [13] Li X, Huang Q, Ong CN, et al. Chrysin sensitizes tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in human tumor cells via suppression of nuclear factor-kappaB [J]. Cancer Lett, 2010, 293 (1): 109-116.
- [14] Usha S, Ajit K, Rajesh S, et al. Calreticulin transacetylase catalyzed modification of the TNF-alpha mediated pathway in the human peripheral blood mononuclear cells by polyphenolic acetates [J]. Chem Biol Interact, 2010, 185 (3): 263-270.
- [15] Li SJ, Liu W, Wang JL, et al. The role of TNF- α , IL-6, IL-10, and GDNF in neuronal apoptosis in neonatal rat with hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014, 18 (6): 905-909.
- [16] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium [J]. J Mol Cell Cardiol, 1986, 74 (5): 1124-1136.
- [17] Jiang SH, Liu CF, Zhang XL, et al. Renal protection by delayed ischaemic preconditioning is associated with inhibition of the inflammatory response and NF- κ B activation [J]. Cell Biochem Funct, 2007, 25 (3): 335-343.
- [18] Joo JD, Kim M, D'Agati VD, et al. Ischemic preconditioning provides both acute and delayed protection against renal ischemia and reperfusion injury in mice [J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17 (11): 3115-3123.
- [19] Kim J, Jang HS, Park KM. Reactive oxygen species generated by renal ischemia and reperfusion trigger protection against subsequent renal ischemia and reperfusion injury in mice [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 298 (1): F158-166.
- [20] Park KM, Chen A, Bonventre JV. Prevention of kidney ischemia/reperfusion-induced functional injury and JNK, p38, and MAPK kinase activation by remote ischemic pretreatment [J]. J Biol Chem, 2001, 276 (15): 11870-11876.

(收稿日期: 2015-04-20)

(本文编辑: 郑辛甜)

超声心动图评价不同心肌梗死模型小鼠心功能的改变

赵菁 王迎超 张玲

心血管疾病的发病率呈现逐年上升的趋势, 已成为影响人类健康的重要问题之一。其中心肌梗死(心梗)及心力衰竭(心衰)也成为心血管疾病中比较热门的研究方向。运用合适的实验动物模型模拟临床疾病的病理过程已经成为人类解决临床问题最重要的手段也是必经的阶段。心脏冠状

动脉左前降支结扎术构建急性心肌梗模型以及主动脉弓缩窄构建心衰模型是更贴近临床表现且普遍运用的方法。虽然腹腔连续给药注射法也是比较常用的方法, 但是由于腹腔注射需要连续给药, 而且药用剂量每只老鼠耐受各不相同, 有其难以造模稳定的很多因素, 而自从 1991 年 Rockman 等^[1]首先通过主动脉弓缩窄(TAC)建立小鼠压力超负荷左室肥厚的动物模型后, TAC 技术渐渐成为比较理想的制作小鼠心衰模型的理想手段。冠状动脉结扎(MI)法是较为确切的一种制作小动物心肌梗死模型的方法^[2]。通过手术模拟疾病模型后, 心超的运用可以简单快速地评价心功能指标。因此, 本

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2015.11.013

基金项目: 国家自然科学基金青年资助项目(81202948)

作者单位: 310009 杭州, 浙江大学医学院附属第二医院临床研究中心(赵菁、王迎超), 心血管重点诊治实验室(张玲)

通信作者: 张玲, Email: zhanglingwgs@163.com

文采用小动物超声对两种经典造模方式后心功能改变的各项参数指标进行评价并对模型建立后小鼠的存活率进行研究,为实验动物模型的研究及选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 动物

雄性 C57BL/6J 小鼠 40 只(浙江中医药大学实验动物中心),体质量 18~22 g,每笼 5 只,24 h 昼夜循环饲养,自由饮食。按随机数字法分为假手术组 20 只,主动脉弓缩窄组 10 只,心肌梗组 10 只。

1.2 模型制作

麻醉与术前准备:配置 4% 水合氯醛麻醉剂,根据小鼠体质量,每 10 g 给予 0.1 mL 腹腔注射,小鼠肌肉松弛充分后取仰卧位将头部和四肢固定于手术台上,对颈正中和左前胸进行常规备皮消毒,切开颈部皮肤分离肌肉暴露气管,自小鼠口腔使用 20 G 静脉留置针套管进行气管插管并连接呼吸机,调整呼吸参数为(吸呼比 1:2,呼吸频率 95 次/min,潮气量为 1 mL)。

手术方法:MI 组:清洁手术区域,自小鼠左胸前第 3、4 肋剪开皮肤,分离肌肉,剪刀撑开肋间隙,并撕开心包暴露心脏,用 8-0 非吸收性外科缝线结扎冠状动脉左前降支,5-0 线关闭胸腔,待小鼠自主呼吸恢复后,拔出气管插管,放回饲养间常规饲养。TAC 组清洁手术区域,自小鼠左胸前第 4、5 肋剪开皮肤,分离肌肉,剪刀撑开肋间隙,分离胸腺,暴露主动脉弓。于主动脉弓和头臂干分支处用 27G 针头垫扎,用 6-0 非吸收性外科缝线缩窄主动脉,扎紧后抽出垫针,关闭胸腔待小鼠自主呼吸恢复后,拔出气管插管,放回饲养间常规饲养。假手术组只开胸不结扎,其余过程同手术组。

1.3 心功能测定

应用 Vevo 超高分辨率小动物超声影像系统及高频探头于术前(baseline)及术后 7 d, 14 d 和 28 d 经胸进行心脏小动物超声检查。小鼠半量麻醉,保持自主呼吸,于胸骨旁左心室乳头肌水平短轴切面采集左心室二维图像情况。同时获得二维引导下 10 个心动周期的 M 型小动物超声心动图纪录。测量心率(HR)、左心室收缩期、舒张期前壁厚度(Awsth; Awdth)及后壁厚度(Pwsth; Pwdth),左心室舒张末期内径(LVEDd)、左室收缩末期内径(LVESd)和左心室舒张末期外径(EXLVDd)、左心室短轴缩短率(FS%),按以下公式计算: $FS\% = [(LVEDd - LVESd) / LVEDd] \times 100\%$,所有测量均由两位实验室技术员双盲法操作,取两者均数。

1.4 统计学方法

应用 Sigma Plot 12.0 统计软件包进行数据处理。计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠术后存活情况

冠状动脉结扎术造模组共 10 只小鼠,术中死亡 1 只,主要原因为室颤不能转复心律而死亡,术后 1 周内 2 只死亡,28 d 后存活 7 只小鼠,存活率为 70%。主动脉弓缩窄术造模组共 10 只小鼠,术中死亡 2 只,主要原因为喉头损伤水肿、气胸、主动脉弓破裂,28 d 后存活 8 只小鼠,存活率为 80%。假手术组均无死亡,存活率为 100%。

2.2 两种模型小鼠小动物超声参数检测

运用小动物超声对造模后不同时间点小鼠心功能指标进行监测,发现冠状动脉结扎术后 1 周存活的小鼠较术前 1 天基线小鼠心功能明显降低、左心室前壁变薄、心室射血分数与缩短分数下降($P < 0.01$)(表 1),且小动物超声 M model 图中左心室前壁收缩幅度明显变小(图 1)。

表 1 心肌梗模型组手术后小鼠的心功能 EF 和 FS 比较

组别	左室射血分数 (EF/%)	左室短轴缩短率 (FS/%)	心率 HR (次/min)
术前基线	62.70 ± 9.26	33.20 ± 6.28	391 ± 30
术后 1 周	30.84 ± 6.54 ^a	14.37 ± 3.34 ^a	482 ± 33
术后 2 周	62.14 ± 8.61	32.91 ± 5.80	443 ± 45
术后 4 周	54.26 ± 10.61	27.78 ± 6.43	439 ± 27

注:与术前比较,^a $P < 0.01$

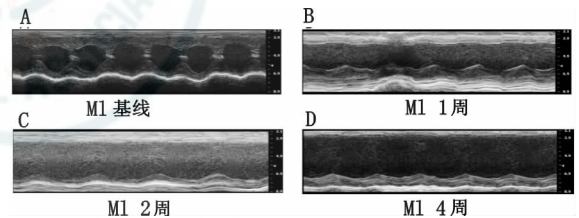


图 1 心肌梗组不同时期小动物超声心动图 M model 比较

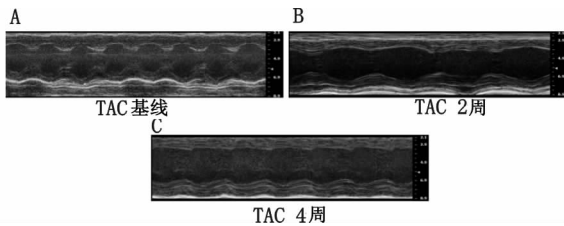
图 1 心肌梗组不同时期小动物超声心动图 M model 比较

主动脉重建缩窄术术后 1 周存活小鼠较术前 1 天基线小鼠心功能明显降低、心室射血分数与缩短分数下降、左室后壁厚度明显变厚($P < 0.01$)(表 2),且小动物超声 M model 图显示左心室前后壁厚度增加,心脏收缩功能减弱(图 2)。

表 2 主动脉弓缩窄组手术后小鼠的心功能 EF、FS、LVPWD 比较

组别	左室射血分数 (EF/%)	左室短轴缩短率 (FS/%)	心率 HR (次/min)	LVPWD (mm)
术前基线	60.10 ± 11.60	32.37 ± 8.80	363 ± 40	0.72 ± 0.08
术后 2 周	44.11 ± 5.88 ^a	21.45 ± 3.3 ^a	384 ± 62	0.89 ± 0.08 ^a
术后 4 周	48.69 ± 9.75 ^a	24.16 ± 5.55 ^a	468 ± 70	1.06 ± 0.2 ^a

注:与术前比较,^a $P < 0.01$



A: 主动脉弓缩窄手术组术前小动物超声 M model; B: 主动脉弓缩窄手术组术后 2 周小动物超声 M model; C: 主动脉弓缩窄手术组术后 4 周小动物超声 M model

图 2 主动脉狭窄组不同时期小动物超声心动图 M model 比较

3 讨论

心肌梗死与心力衰竭作为心血管疾病的终末事件，究其原因是由于心脏功能与结构发生改变，而引起心脏射血和充盈功能的障碍，因此评价心肌梗死及心衰后心功能的改变对其诊断具有重要的意义。超声心动图对心功能检测的优势在于：（1）气体麻醉引导下无损伤及无痛苦；（2）气体麻醉对于心功能的影响较小，且不会由于腹腔注射麻醉镇静药物导致呼吸道分泌液体影响呼吸，可以降低病死率；（3）可用于检测心肌结构、血流及心壁、瓣膜的运动状态；（4）可在体且实时动态监测。因此，应用超声心动图可实时监测小鼠的心功能，且收集参数较多^[3-4]。此外，通过实验动物模拟临床检测可以提高心脏超声诊断早期临床问题的预测能力，从而降低由于心衰心梗引起的心血管疾病病死率^[5]。

本实验运用的 Vevo 2100 成像系统是第一个带有线性阵列技术和彩色多普勒功能的高频率、高分辨率数字成像平台，是迄今世界上唯一的实验小动物超声影像设备。它能够广泛引用于心脏成像，血管成像，肿瘤成像和分子成像。并且带有 MS-250 和 MS-400 两种探头分别检测小鼠及大鼠心脏。运用高分辨率数字成像系统检测经典心梗及心衰模型优势在于创伤小，可重复性强，可操作性高。使用心脏超声检测左室收缩末直径舒张末直径缩短分数和射血分数，左室后壁厚度来观测小鼠心功能检测，相比小动物常规心功能检查手段包括导管心腔内压力测量和朗根道夫

灌注法等^[6]等有创检测更为实用。以往灌注法需处死动物，将心脏离体操作，操作复杂费时，且不能连续动态观察小鼠的心功能，本实验中笔者采用无创心超的方法，连续动态观察小鼠手术前后的心功能，是一种小鼠手术模型比较实用的评价方法^[7]。本次研究结果表明心梗后小鼠心功能明显降低、左心室前壁变薄、心室射血分数与缩短分数下降及左心室前壁收缩幅度明显变小。同样主动脉弓缩窄术后小鼠较术前心功能明显降低、心室射血分数与缩短分数下降、左室后壁厚度明显变厚且左心室前后壁厚度增加、心脏收缩功能减弱。提示两种模型小鼠心脏结构与功能发生明显的病理改变。

参考文献

- [1] Rockman HA, Ross RS, Harris AN, et al. Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991, 88 (18): 8277-8281.
- [2] Johns TN, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals [J]. Ann Surg, 1954, 140 (5): 675-682.
- [3] Respress JL, Wehrens XH. Transthoracic echocardiography in mice [J]. J Vis Exp, 2010, (39). pii: 1738.
- [4] 鲍晓峰, 李长岭, 游向东, 等. 小动物超声心动图在经皮左心室室壁瘤 Parachute 封堵术中的初步应用 [J]. 中华急诊医学杂志, 2014, 23 (3): 280-282.
- [5] 吴英, 林中园, 干青晖. 心电图、心肌标志物与超声心动图在急性心肌梗死早期诊断中的临床应用研究 [J]. 中华急诊医学杂志, 2014, 23 (10): 1162-1165.
- [6] Rottman JN, Ni G, Brown M. Echocardiographic evaluation of ventricular function in mice [J]. Echocardiography, 2007, 24 (1): 83-89.
- [7] Hu P, Zhang D, Swenson L, et al. Minimally invasive aortic banding in mice: effects of altered cardiomyocyte insulin signaling during pressure overload [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 285 (3): H1261-1269.

(收稿日期: 2015-07-15)

(本文编辑: 郑辛甜)