

慢性充血性心力衰竭大鼠模型的建立*

宋衍秋¹ 赵莉莉¹ 曹 丽² 崔 丽³ 赵鸿铭¹ 毛用敏^{1△} 崔让庄¹

(1 天津市胸科医院心血管病研究所 天津 300051; 2 天津医科大学总医院 天津 300052; 3 天津市南开医院 天津 300100)

摘要 目的 探讨建立慢性充血性心力衰竭大鼠模型的方法。方法 采用腹主动脉缩窄法制备 CHF 大鼠模型。于右肾动脉分支处上方缩窄腹主动脉至 0.6mm,同时设立假手术组及正常对照组。12 周后行一般情况观察,超声心动图及血液动力学检测心脏结构和功能、计算心脏肥厚指数,HE 及 Masson 染色检测心肌病理改变,综合评价 CHF 大鼠心功能。结果 与假手术及正常对照组比较,CHF 模型组术后 12 周均出现进食减少、精神萎靡、少动、被毛无光;IVS、LVPW、LVM、LVEDD、LVESD、SV 显著增加,EF、FS 显著降低;HR 显著增加;LVSP、+dP/dtmax 显著降低,T-dP/dtmax 显著延长;LVEDP 显著升高,-dP/dtmax 绝对值显著降低;心脏湿重及心脏肥厚指数均增加。病理结果表明 CHF 模型组心肌细胞肥大、排列紊乱、心肌胶原纤维增多。结论 应用腹主动脉缩窄术可成功制备 CHF 大鼠模型。

关键词 慢性心力衰竭 大鼠 动物模型 腹主动脉缩窄

中图分类号 Q95-3 R541.61 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)12-2234-04

Establishment of Rat Models with Chronic Congestive Heart Failure*

SONG Yan-qiu¹, ZHAO Li-li¹, CAO Li², CUI Li³, ZHAO Hong-ming¹, MAO Yong-min^{1△}, CUI Rang-zhuang¹

(1 Department of Cardiovascular Disease, Tianjin Chest Hospital, Tianjin 300051, China; 2 Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China; 3 Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China)

ABSTRACT Objective: To establish rat models with chronic congestive heart failure. **Methods:** The CHF rats were prepared by abdominal aorta constriction to 0.6mm. After 12 weeks, the observation of general condition, echocardiography, hemodynamics parameters, pathological HE staining and Masson staining were all performed to evaluate the cardiac function of CHF rats. **Results:** The general condition of CHF rats were poor. Echocardiography parameters showed IVS, LVPW, LVM, LVEDD, LVESD, SV increased, and EF, FS decreased. Hemodynamics parameters showed HR, LVEDP, T-dP/dtmax increased, and LVSP, dP/dtmax decreased. The heart wet weight and heart mass index of CHF rats were both increased. Pathological results showed there were hypertrophic and disordered cardiomyocyte and proliferation of fibrous tissue. **Conclusion:** CHF rats were established by abdominal aorta constriction.

Key words: Chronic heart failure; Rat; Animal models; Abdominal aorta constriction

Chinese Library Classification: Q95-3 R541.61 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)12-2234-04

前言

慢性心力衰竭(Chronic heart failure, CHF)是一种复杂的临床综合征,由多种心脏结构的改变或功能障碍造成心室充盈和(或)射血能力的异常,病变过程伴随着交感神经系统、肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活,各种神经体液因子水平的变化促使心肌细胞凋亡,以及心肌纤维化^[1]。目前我国 CHF 发病率较高,预后差,是威胁人民健康的主要疾病之一^[2]。建立慢性充血性心力衰竭模型对研究慢性心力衰竭的病理生理机制及探讨治疗方案具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究材料

健康 Wistar 雄性大鼠 40 只,8 周龄,体重 250g-300g,购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,许可证号:

SCXK- (军) 2007-004。随机分为正常对照组 (10 只,Control group),假手术组 (10 只,Sham group) 及模型组 (20 只,CHF group)。实验动物适应饲养环境 1 周后,行造模手术及假手术。

1.2 主要实验仪器

超声诊断仪 Sequoia512 购自美国 ACCUSON 公司 (配有 TDI 程序及 8-14MHz 高频探头),多导生理记录仪 6240M 购自成都仪器厂。

1.3 研究方法

1.3.1 腹主动脉缩窄术制备 CHF 大鼠模型 术前禁食。手术日大鼠称重,腹腔注射 0.4%戊巴比妥钠 40mg/kg 麻醉。麻醉成功后,常规备皮、消毒,腹部正中切口,钝性分离腹主动脉,于右肾动脉分支处上方 0.5cm,将 6 号钝针头 (直径 0.6mm) 平行放置,结扎,抽出针头,确认无出血后,关闭腹腔,逐层缝合。术后禁食并予葡萄糖水 12h,逐渐恢复正常饮食。予以青霉素 40 万 U 肌肉注射,连续 3 天,预防感染。每日观察实验鼠精神、饮食、

* 基金项目 天津市卫生局基金项目 (07KY01)

作者简介 宋衍秋, (1979), 女, 博士, 主要研究方向 心血管疾病基础研究。

△通讯作者 毛用敏, 电话 022-23147200, E-mail: huozhebulei@medmail.com.cn。

(收稿日期 2011-02-05 接受日期 2011-02-28)

活动、毛发等一般情况^[3]。

假手术组于右肾动脉分支上方 0.5cm 处，挑起腹主动脉后，只穿线不结扎，余同模型组。正常对照组未进行手术操作。

1.3.2 超声心动图检测 实验动物于术后 12 周行超声心动图检测。大鼠称重，腹腔注射 0.4%戊巴比妥钠 40mg/kg 麻醉，仰卧位固定，胸部备皮。应用美国 ACCUSON 公司 SequoiasIZ 型超声心动仪，探头频率 8.0MHz，图像深度 2.5cm，双盲法专人检测。于胸骨旁左室长轴面，将 M 型取样线放在 II a 区行 M 型超声图检测，包括左室舒张末径 (Left ventricular end diastolic dimension, LVEDD)、左室收缩末径 (Left ventricular end systolic dimension, LVESD)、室间隔厚度(Interventricular septum, IVS)、左室后壁厚度(Left ventricular posterior wall thickness, LVPW)；机器自动计算出左室射血分数(Ejection fraction, EF)、短轴缩短率(Fractional shortening, FS)、每搏输出量(Stroke volume, SV)及左室质量(Left ventricular mass, LVM)。每一超声指标均取 3 个连续心动周期的平均值^[45]。

1.3.3 血液动力学检测 大鼠称重，腹腔注射 0.4%戊巴比妥钠 40mg/kg 麻醉，仰卧位固定，颈部备皮消毒。颈部正中切口，钝性分离右侧颈总动脉，结扎远心端，将充满 1%肝素的导管自右颈总动脉徐缓进入，同时密切观察压力曲线，待导管进入左心室，即示波显示为左心室压力曲线后，稳定 5min，记录所需血液动力学参数。测量指标包括心率(Heart rate, HR)、左室收缩压(Lleft ventricular systolic pressure, LVSP)、左室舒张末压(Left ventricular end diastolic pressure, LVEDP),左室内压最大上升速率(Left ventricular maximal rates of pressure rise, +dP/dtmax),左室内压最大下降速率 (Left ventricular maximal rates of pressure fall, -dP/dtmax)及 T 值(T- dP/dtmax)。

1.3.4 计算心肌肥厚指数 血液动力学检测完毕后，从颈动脉插管注射 10% KCl 2ml 处死大鼠，使大鼠心脏处于舒张期，迅速

剖胸，分离心脏，沿大血管根部剪断，冰生理盐水清洗，滤纸吸干，电子天平称量心脏湿重 (HW)，计算心脏湿重 / 体重比作为相应的心肌肥厚指数(HW/BW)^[6]。

1.3.5 心肌组织病理检查 称重完毕，取部分心肌组织，10%中性福尔马林固定，常规脱水、石蜡包埋、5μm 切片，行病理 HE 染色和 Masson 染色。

1.3.6 统计学分析 计量资料均采用均值± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。应用 SPSS13.0 统计软件，对计量资料先行正态性检验，采用单因素方差分析。以 P<0.05 判定为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察

CHF 模型组大鼠 20 只，存活 14 只，死亡率 30%。其中 5 只于术后 72h 内死亡，解剖发现大鼠心脏扩大，胸腔积液，肝脏、肾脏未见明显异常，未见感染，考虑死亡原因为急性左心衰；只于术后 8 周死亡，并有精神萎靡、喜静少动、饮食减少、皮毛蓬松无光等表现，解剖发现心脏明显扩大，室壁增厚，可见少量胸腔积液，肝脏明显淤血，呈 CHF 征象。假手术组及对照组未发生死亡。存活 CHF 大鼠一般情况差，术后 12 周均出呼吸急促，喜卧、活动严重减少，进食减少，皮毛蓬松无光，爪背暗红等表现，部分 CHF 大鼠出现鼻腔出血。

2.2 超声心动图检测

各组超声心动图检测指标经正态性检验 P 值均 >0.05，可认为近似正态分布。单因素方差分析显示正常对照组、假手术组及 CHF 模型组间 IVS、LVPW、LVM、LVEDD、LVESD、SV 及 EF、FS 均有统计学差异。CHF 模型组 IVS、LVPW、LVM、LVEDD、LVESD、SV 较正常对照组显著增加，而 EF、FS 较正常对照组及假手术组显著降低。假手术组与正常对照组各指标未见统计学差异，见表 1。

表 1 各组大鼠超声心动图检测结果(± s)

Table 1 The echocardiographic measurements of each group

Group	IVS (cm)	LVPW (cm)	LVM (g)	LVEDD (cm)	LVESD (cm)	SV (ml)	EF (%)	FS (%)
Control group	0.20± 0.04	0.22± 0.08	0.73± 0.08	0.53± 0.09	0.28± 0.07	0.33± 0.12	84.2± 5.95	48.18± 6.50
Sham group	0.22± 0.03	0.23± 0.01	1.08± 0.22	0.59± 0.07	0.33± 0.04	0.47± 0.21	82.9± 3.32	46.52± 3.89
CHF group	0.25± 0.04 [▲]	0.28± 0.08 [▲]	1.41± 0.32 ^{▲●}	0.75± 0.10 ^{▲●}	0.45± 0.13 ^{▲●}	0.64± 0.24 [▲]	69.41± 6.71 ^{▲●}	34.81± 4.96 ^{▲●}

Note : ▲P<0.05 CHF group compared with control group ; ● P<0.05 CHF group compared with sham group

2.3 血液动力学检测

各组血液动力学检测指标经正态性检验 P 值均 >0.05，可认为近似正态分布。单因素方差分析显示各组血液动力学检测指标均有统计学差异。与正常对照组及假手术组比较，CHF 模型组 HR 显著增加，LVSP、+dP/dtmax 较显著降低，T-dP/dtmax 显著延长，LVEDP 显著升高，-dP/dtmax 绝对值显著降低。正常对照组与假手术组之间各血液动力学检测指标无统计学差异，见表 2、图 1、2。

2.4 心肌肥厚指数

单因素方差分析显示各组之间心脏湿重及心肌肥厚指数均有统计学差异。CHF 模型组心脏湿重心肌肥厚指数均较假手术组及正常对照组显著增加。正常对照组与假手术组之间无统

计学差异，见表 3。

2.5 心肌组织 HE 染色及 Masson 染色

HE 染色结果显示 CHF 模型组大鼠心肌细胞排列紊乱，心肌细胞肥大，细胞间隙增大，而正常对照组及假手术组大鼠心肌细胞排列整齐、致密，细胞间质明显少于 CHF 模型组。Masson 染色结果显示心肌细胞呈红色，心肌胶原纤维呈绿色，CHF 模型组心肌胶原纤维较正常对照组及假手术组明显增多，见图 3、4。

3 讨论

成熟、稳定的 CHF 动物模型的建立是 CHF 不断深入研究的基础。目前国内外常用的 CHF 动物模型有：压力后负荷致 CHF^[7]、容量前负荷致 CHF^[8]、缺血性心病致 CHF^[9]、心脏快速

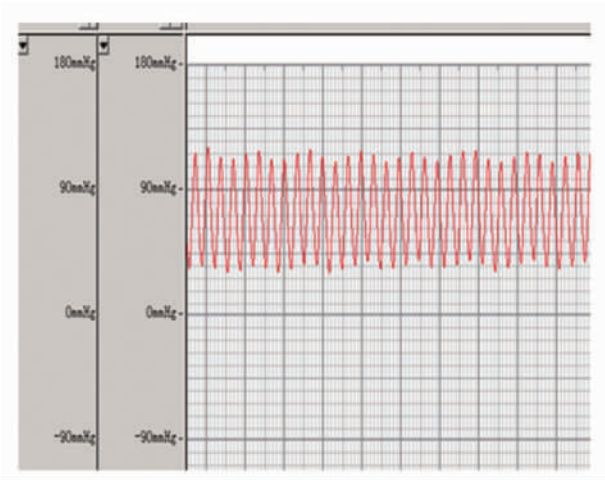


图 1 CHF 模型组左心室压力曲线图

Fig. 1 Left ventricular pressure curve of CHF group

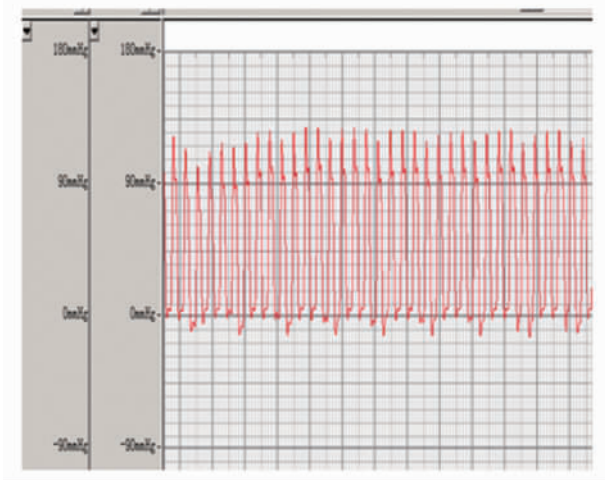


图 2 假手术组左心室压力曲线图

Fig. 2 Left ventricular pressure curve of Sham group

表 2 各组大鼠血液动力学检测结果($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The hemodynamic measurements of each group

Group	HR(bmp)	LVSP (mmHg)	LVEDP (mmHg)	+dP/dtmax (mmHg/s)	-dP/dtmax (mmHg/s)	T-dP/dtmax (ms)
Control group	383.04± 20.14	132.45± 14.42	-7.12± 8.64	5471.00± 890.29	-4493.00± 259.05	32.72± 7.39
Sham group	394.60± 21.99	133.04± 14.51	-6.06± 8.59	5778.20± 732.35	-4530.00± 263.53	32.03± 6.50
CHF group	440.98± 13.05▲	123.84± 9.37▲	28.42± 16.97▲	4120.50± 1200.63▲	-3844.00± 684.72▲	37.60± 7.08▲

Note : ▲P<0.05 CHF group compared with control group ; ● P<0.05 CHF group compared with sham group

表 3 各组大鼠 HW 及 HW/BW($\pm s$)

Table 3 The HW and HW/BW of each group

Group	HW(g)	HW/BW(mg/g)
Control group	1.52± 0.12	3.03± 0.26
Sham group	1.53± 0.10	3.01± 0.24
CHF group	2.31± 0.38▲	4.41± 0.85▲●

Note : ▲P<0.05 CHF group compared with control group ; ● P<0.05 CHF group compared with sham group

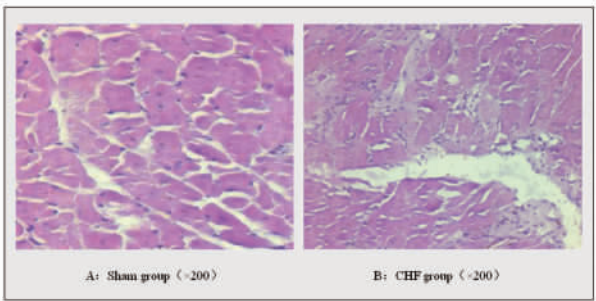


图 3 大鼠心肌 HE 染色图

Fig. 3 HE staining of myocardial in Sham group and CHF group

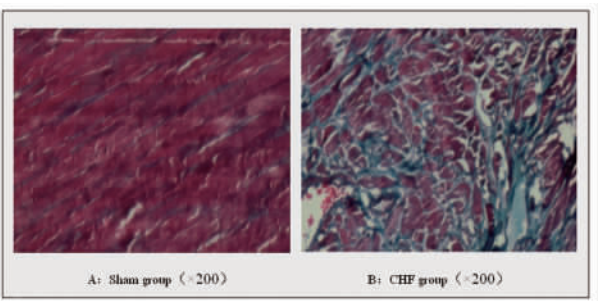


图 4 大鼠心肌 Masson 染色图

Fig. 4 Masson staining of myocardial in Sham group and CHF group

起搏致 CHF、损害及抑制心肌药物致 CHF^[10]以及遗传和转基因方法致 CHF^[11]。腹主动脉缩窄致 CHF 模型是通过手术造成腹主动脉机械性的狭窄,长期增加心脏后负荷,导致心肌肥厚,继而左心室扩张,逐渐发生 CHF^[12]。该模型能够模拟压力负荷增高致心肌肥厚乃至 CHF 的病理生理过程,并且不易受药物等其他因素的影响,易形成稳定的 CHF 模型^[13]。自 Desjardins 等^[14]首建流出道狭窄模型以来,因其简便易行,可重复性强,成模

时间相对稳定等诸多优点业已被广泛应用于心力衰竭的动物实验中。因此,本实验选用腹主动脉缩窄法制备 CHF 模型。腹主动脉缩窄制备 CHF 模型,传统造模术式从腹部正中开口探寻腹主动脉,并将腹主动脉的内径缩窄至 0.7mm,其成模时间多在 30 周左右,死亡率为 30%-40%^[15,16]。本实验在传统造模术式的基础上改进了腹主动脉缩窄程度,采用 0.6mm 钝性针头对腹主动脉进行缩窄,造模 12 周后经临床症状、超声心

动物图、有创性血液动力学、病理学等多种途径综合评价 CHF 动物模型,确定造模成功。与传统方法比较本实验缩短了造模时间,提高了效率,却未增加动物死亡率。为了确保 CHF 模型的稳定,降低死亡率,主要需要注意以下几方面问题:(1) 实验动物选择。本实验全部选择雄性 Wistar 大鼠,排除激素水平的影响。此外由于不同周龄的大鼠其体重不同,腹主动脉内径差别大,对于手术耐受不同。动物太大,腹主动脉缩窄过细,急性左心衰发生率明显增加,而动物过小,则对手术的耐受性明显下降,因此本实验经过摸索后严格选用体重在 250-300g,8 周龄大鼠行腹主动脉缩窄术。(2) 麻醉剂选用 0.4%戊巴比妥钠 40mg/kg 腹腔注射给药。严格按常规剂量给药,若动物不能迅速麻醉,除少数属个体差异外,注意可能因动物挣扎,药物流到体外,或针头误入肝、脾等实质脏器,不要盲目加大剂量,以免药物过量导致动物死亡。(3) 由于手术过程中需要将肠道外置以探寻腹主动脉,为提高实验动物对手术的耐受性及防治肠扭转、肠梗阻的发生,本实验于术前 8 小时实验动物禁食,予以葡萄糖水,术中将肠道放回腹腔时予以适量石蜡油润滑肠道,术后继续禁食,葡萄糖水 12 小时。(4) 术后应予以适量抗生素,并应严密观察动物的一般情况,避免由于感染或人为因素造成实验动物的死亡。

参考文献(References)

- [1] Mann DL, Bristow MR. Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond [J]. *Circulation*, 2005, 111 (21): 2837-2849
- [2] 戚文航. 心力衰竭的流行病学及治疗进展[J]. *现代实用医学*, 2004, 16(11):632-634
QI Wen-hang. Epidemiology and treatment of heart failure [J]. *Modern Practical Medicine*, 2004, 16(11):632-634
- [3] Matiwala S, Margulies KB. Mechanical approaches to alter remodeling [J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2004, 1(1):14-18
- [4] Chung ES, Perlini S, Aurigemma GP, et al. Effects of chronic adenosine uptake blockade on adrenergic responsiveness and left ventricular chamber function in pressure overload hypertrophy in the rat[J]. *J Hypertens*, 1998, 16(12 Pt 1):1813-1822
- [5] 赵晓静,崔长琮,张海柱等. 豚鼠慢性充血性心力衰竭及致心肌肥厚模型的研究[J]. *医学研究生学报*, 2003, 16(12):891-893
ZHAO Xiao-jing, CUI Chang-zong, ZHANG Hai-zhu, et al. The experimental study on the animal model of guinea-pig chronic heart failure and compensatory hypertrophy [J]. *Journal of Medical Postgraduates*, 2003, 16(12):891-893
- [6] Singh AP, Singh M, Balakumar P. Effect of mast cell stabilizers in hyperhomocysteinemia-induced cardiac hypertrophy in rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2008, 51(6):596-604
- [7] Norton GR, Woodiwiss AJ, Gaasch WH, et al. Heart failure in pressure overload hypertrophy. The relative roles of ventricular remodeling and myocardial dysfunction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2002, 39 (4): 664-671
- [8] Scheuermann-Freestone M, Freestone NS, Langenickel T, et al. A new model of congestive heart failure in the mouse due to chronic volume overload[J]. *Eur J Heart Fail*, 2001, 3(5):535-543
- [9] Kim WG, Park JJ, Oh SI, et al. Chronic heart failure model with sequential ligation of the homonymous artery and its diagonal branch in the sheep[J]. *ASAIO J*, 2001, 47(6):667-672
- [10] Okafor CC, Saunders L, Li X, et al. Myofibrillar responsiveness to cAMP, PKA, and caffeine in an animal model of heart failure [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 300(2):592-599
- [11] 刘晓望,傅向华.心力衰竭的动物模型. *国外医学心血管疾病分册* [J]. 2004, 31(2):100-102
LIU Xiao-kun, FU Xiang-hua. Animal model of heart failure. *Foreign Medical Cardiovascular Disease*[J]. 2004, 31(2):100-102
- [12] Takano H, Hasegawa H, Nagai T, et al. Implication of cardiac remodeling in heart failure: mechanisms and therapeutic strategies[J]. *Intern Med*, 2003, 42(6):465-469
- [13] YANG Tao, ZHANG Wei, ZHANG Lei, et al. Approach of white rat abdominal aorta stenosis model preparation and its effectiveness[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2009, 29(1):24-26
- [14] Desjardins GS, Mueller RW, Cauchy MJ. A pressure overload model of congestive heart failure in rats [J]. *Cardiovasc Res*, 1988, 22(10): 696-702
- [15] 杨涛,张伟,张雷,等. 大鼠腹主动脉缩窄模型的制备及其效果的探讨[J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(1): 24-26
YANG Tao, ZHANG Wei, ZHANG Lei, et al. Rat model of abdominal aortic banding, and effects of the preparation [J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2009, 29(1): 24-26
- [16] Wen C, Wu L, Ling H, et al. Salutory effects of *Corydalis yanhushuo* extract on cardiac hypertrophy due to pressure overload in rats [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2007, 59(8):1159-1165