

## • 基础研究 •

## 新西兰兔腹主动脉缩窄术(肾动脉上)后心肌收缩和舒张功能的变化

蔡毅,何昆仑,闫丽辉,冷文修,范利

[摘要] 目的 建立高血压病导致的射血分数正常性心力衰竭的动物模型。方法 雄性新西兰兔 35 只随机分为 2 组:手术组( $n=25$ ) 在右侧肾动脉上 1 cm 处行腹主动脉缩窄术;假手术组( $n=10$ ) 作为对照组。术后观察有无心衰的临床表现,手术前后监测血流动力学变化并定期复查超声心动图。结果 手术组于术后 2 周出现心室肥厚,术后 4 周出现心衰临床表现,等容舒张期时间延长,左室舒张末压升高以及  $-dp/dt_{\max}$  降低。组织 Doppler 超声提示二尖瓣环舒张早期与舒张晚期波峰比值降低(以上均  $P<0.05$ ),而射血分数和  $+dp/dt_{\max}$  无显著性差异。结论 手术组动物出现了心衰的临床表现,左室舒张功能受损但射血分数保持正常,符合人类高血压病导致的射血分数正常性心力衰竭的特点。

[关键词] 舒张性心力衰竭;射血分数正常性心力衰竭;模型;兔;腹主动脉缩窄术

Changes of Systolic and Diastolic Function after Constriction of Abdominal Aorta (above Renal Artery) in New Zealand Rabbit CAI Yi, HE Kun-lun, YAN Li-hui, et al. Department of Geriatric Cardio-Nephrology, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China

**Abstract:** **Objective** To establish an animal model of heart failure with preserved ejection fraction (EF) resulting from hypertension. **Methods** 35 male New Zealand rabbits were randomly assigned to 2 groups: constriction was performed at the abdominal aorta 1 cm just above right renal artery in operated group ( $n=25$ ), and the sham-operated animals were taken as control group ( $n=10$ ). The clinical manifestations of heart failure were followed up carefully. Systolic and diastolic function, and systemic hemodynamics were investigated with echocardiography and left ventricle catheter. **Results** In operated group, marked ventricular hypertrophy was observed 2 weeks after operation. 4 weeks after operation, the clinical manifestations of heart failure presented, and IVRT and LVEDP increased, and  $-dp/dt_{\max}$  decreased. Tissue doppler image indicated that e/a ratio of annulus of mitral valve decreased ( $P<0.05$ ). However, EF and  $+dp/dt_{\max}$  were preserved. **Conclusion** The operated animals presented the clinical manifestation of heart failure, and diastolic function of left ventricle injured, however, ejection fraction was preserved, which corresponded with the character of heart failure with preserved ejection fraction resulting from hypertension.

**Key words:** diastolic heart failure; heart failure with preserved ejection fraction; model; rabbit; constriction of abdominal aorta

[中图分类号] R541.6 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2007)03-0245-03

[本文著录格式] 蔡毅,何昆仑,闫丽辉,等.新西兰兔腹主动脉缩窄术(肾动脉上)后心肌收缩和舒张功能的变化[J].中国康复理论与实践,2007,13(3):245-247.

舒张性心力衰竭(diastolic heart failure, DHF)是一组具有充血性心衰的临床表现、以心室肌收缩功能正常而舒张功能受损为特点的临床症候群。由于临床上通常以左室射血分数(ejection fraction, EF)是否大于 50%作为判断收缩功能正常与否的标准,所以严格来说,DHF 应该称之为“射血分数正常性心力衰竭”(heart failure with preserved ejection fraction, HFPEF)。高血压是导致 HFPEF 的主要疾病<sup>[1]</sup>。长期压力负荷增加会直接引起心肌细胞肥大和间质纤维化,同时冠状动脉结构和功能也会受到损害,出现供血不足,导致心肌产生一系列生化、电生理和机械功能改变<sup>[2]</sup>。在上述变化的共同作用下,心室肌主动弛张功能减退,顺应性降低,僵硬增高,导致充盈障碍,逐渐进展为 HFPEF。本研究的目的是采用腹主动脉(abdominal aorta, AA)缩窄术方法,建立人类高血压病导致的 HFPEF 动物模型。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物 健康雄性新西兰兔 35 只,4~5 月龄,

体重 1.5~2.5 kg,随机分为手术组( $n=25$ )和假手术组( $n=10$ )。购自解放军总医院实验动物中心。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 动物模型的建立** 将兔仰卧位固定于手术台,20%乌拉坦 5 ml/kg 腹腔麻醉。沿腹部正中线逐层切开腹壁,在右侧肾动脉分支上方 1 cm 处分离出一段腹主动脉,用游标卡尺精确测量动脉外径后,选择合适粗细的穿刺针紧贴于动脉壁作为控制缩窄程度的模板,用 4 号丝线将穿刺针和动脉共同结扎,然后抽出穿刺针,使外径减少 35%~40%(游标卡尺复测确认)。假手术组在 AA 下方穿线但不结扎。术后给予青霉素预防感染,标准饲料喂养,自由饮水,观察兔的精神状态、食欲、活动量、呼吸困难及肺部罗音等心衰临床表现。

**1.2.2 超声心动图** 西门子 Sequoia 512 超声心动图机,探头频率 3~8 MHz,分别于术前和术后 2 周、4 周、5 周行心脏超声检查。按照美国超声心动图协会建议的方案,分别测量左房上下径、室间隔(IVS)及左室后壁(LVPW)厚度、左室舒张末容积(LVEDV)、左室收缩末容积(LVESV)、左室射血分数(LVEF)和短轴缩短率(FS)。将脉冲多普勒取样容积置于舒张期二尖瓣叶尖之间,测量二尖瓣舒张早期血流峰值(E)、舒张晚期血流峰值(A)与 E 峰减速时间(DT),并计算 E/A 比值。在彩色多普勒血流显像指导下,将脉冲多普勒取样容积置于右上肺静脉内约 1.0 cm 处,测量肺

基金项目:北京市自然科学基金课题面上项目(7052063);全军“十五”课题资助项目(04T6002)。

作者单位:解放军总医院老年心肾科,北京市 100853。作者简介:蔡毅(1980-),男,江西吉安市人,硕士,医师,主要从事老年心血管内科临床和研究。通讯作者:范利、何昆仑。

静脉瓣收缩期血流峰值 (PVs)、舒张期血流峰值 (PVd) 和心房收缩期血流逆向峰值 (PVa) 与时间 (PVaD), 并计算 S/D 比值。最后启动组织多普勒 (tissue doppler image, TDI), 取心尖四腔切面, 观察二尖瓣环室间隔部收缩期运动速率(s)、舒张早期运动速率(e)、舒张晚期运动速率频谱(a), 以及等容舒张时间 (IVRT)、等容收缩时间 (ICT) 和左室射血时间 (ET), 计算 e/a 比值。

1.2.3 血流动力学 在术前和术后 4~5 周复查心脏超声后 12 h, 分别经两侧颈总动脉将 3F Cobra 导管送至左室 (left ventricle, LV), 与多道生理信号记录系统 (成都仪器厂, RM6240 生物信号采集处理系统 2.0e) 连接后测量心率 (HR)、左室收缩压 (LVSP)、左室舒张末压 (LVEDP)、压力上升最大速率 (+dp/dt<sub>max</sub>) 和压力下降最大速率 (-dp/dt<sub>max</sub>), 并以 Weiss 公式计算等容舒张期松弛时间常数  $\tau$  (与 -dp/dt<sub>max</sub> 相对应的舒张压除以 -dp/dt<sub>max</sub>)。

1.2.4 病理检查 术后 4~5 周完成血流动力学检查后, 在胸骨左侧旁开 1 cm 处开胸, 取出心脏后用 4℃ PBS 缓冲液 (pH = 7.40) 冲洗干净, 剪下 LV (含室间隔), 滤纸吸干, 电子天平称重。从室间隔下部取一小块心肌组织 (约 1 cm<sup>3</sup>), 迅速置于 10% 福尔马林溶液中, 充分固定, 石蜡包埋, 切片后行 HE 染色观察心肌改变。

1.2.5 统计方法 使用 SPSS 11.5 统计软件, 实验数据用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。组内比较采用单因素方差分析, 组间比较采取独立样本 *t* 检验, *P* < 0.05 为有显著性差异。

2 结果

2.1 一般情况 手术组有 10 只兔死于 72 h 围手术期, 有 10 只兔于术后 25~30 d 陆续出现精神萎靡、食欲不振、呼吸困难和肺部罗音等心衰临床表现, 其中 3 只在出现心衰临床表现后 3 天死亡, 其余 7 只存活至术后 5 周, 上述症状进一步加重。另有 5 只兔一直观察至术后 8 周, 仅出现轻度食欲不振或活动量减退。假手术组无死亡。具体表现见表 1。

2.2 血流动力学 术前两组兔左心导管检查无显著性差异。出现心衰后, 手术组兔的 LVEDP 增高了 202% (*P* = 0.000)、-dp/dt<sub>max</sub> 下降了 43% (*P* = 0.001),  $\tau$  值延长了 87% (*P* = 0.000), 而 LVSP 和 +dp/dt<sub>max</sub> 无明显变化。见表 2。

2.3 超声心动图 与假手术组相比, 手术组兔于术后 2 周即出现 IVS (35%, *P* = 0.001) 和 LVPW (16%, *P* = 0.003) 增厚、左房前后径 (17%, *P* = 0.015)、左房上下径 (42%, *P* = 0.000) 扩大、左室质量 (LVmass) 增加 (57%, *P* = 0.003) 和 IVRT 延长 (24%, *P* = 0.042), TDI 检查提示 e 峰下降 (22%, *P* = 0.049)。术后 4 周出现心衰症状后, 室壁增厚和左房扩大更为明显, e/a

下降 (36%, *P* = 0.017); 同时由于左房压升高, 等容舒张期房室压差降低, 使 IVRT 又有所缩短。虽然反映左室短轴收缩功能的 EF、FS、ET 和 ICT 等指标始终无明显变化, 但是 TDI 检查提示术后 2 周 s 波就已出现下降 (24%, *P* = 0.005), 表明长轴方向的收缩功能存在早期损伤, 术后 4 周出现心衰后, s 波下降更为明显 (27%, *P* = 0.029)。术后 5 周复查超声, 以上指标保持稳定变化, 同时出现左室室腔扩大, 表明此时 LV 已由向心性肥厚向离心性肥厚方向进展。具体见表 3。

表 1 新西兰兔的一般情况 (只)

项目	假手术组	手术组
体重 (kg)	2.71 ± 0.72	2.43 ± 0.56
呼吸 (/min)	42 ± 12	65 ± 14
食欲		
正常	10	0
轻度下降	0	2
中度下降	0	3
重度下降	0	10
活动量		
正常	10	0
轻度下降	0	3
中度下降	0	5
重度下降	0	7
精神状态		
正常	10	0
轻度下降	0	3
中度下降	0	5
重度下降	0	7
肺部罗音		
无	10	7
有	0	8
心包或胸腔积液		
无	10	11
有	0	4

表 2 新西兰兔的血流动力学指标

项目	术前		术后	
	假手术组	手术组	假手术组	手术组
HR (/min)	253 ± 39	264 ± 16	274 ± 35	281 ± 41
LVSP (mmHg)	109.76 ± 7.80	117.39 ± 10.46	118.18 ± 12.00	122.46 ± 14.39
LVEDP (mmHg)	4.87 ± 1.85	5.13 ± 1.17	5.27 ± 3.19	15.52 ± 2.36 <sup>a</sup>
+dp/dt <sub>max</sub> (mmHg/s)	6342 ± 927	6506 ± 1385	6602.61 ± 816	5921 ± 745
-dp/dt <sub>max</sub> (mmHg/s)	-4991 ± 516	-4929 ± 885	-4746 ± 1645	-2817 ± 738 <sup>a</sup>
$\tau$ (ms)	13.36 ± 1.88	14.69 ± 2.41	14.06 ± 1.50	27.53 ± 3.82 <sup>a</sup>

注: a 与假手术组相比, *P* < 0.01。

2.4 病理检查 与假手术组相比, 心衰兔的心肌细胞体积增大, 排列紊乱, 可见巨形核或畸形核, 细胞间隙变窄, 同时冠状小动脉还存在明显的管壁增厚 (封三图 4.1、图 4.2)。

3 讨论

临床上有 30%~40% 的心衰患者属 HFPEF<sup>[3]</sup>。目前尚缺乏一种具有代表性的或公认的 HFPEF 动物模型, 这主要是因为导致 HFPEF 的基础疾病是多种多样的, 而且病理生理机制也各不相同。已报道的模型有: He 等通过反复冠状动脉内注射聚苯乙烯微球造成犬慢性缺血性心衰, 模拟人类缺血性心脏病的病理生理机制, 其模型特点是具有心衰的临床表现、EF 正常和舒张功能异常<sup>[4]</sup>, 可以作为人类缺血性心脏病导致 HFPEF 的动物模型; Kobayashi 等以 8% 的高盐

饮食饲养 7 周龄的盐敏感大鼠建立高血压病导致的 HFPEF 动物模型,结果 17 周出现左室肥厚,20 周出现 HFPEF<sup>[5]</sup>,但盐敏感大鼠属转基因型大鼠,与临床 HFPEF 的发病机制差异较大;钟明等缩窄兔肾动脉下方的腹主动脉,术后 8 周发现 E/A 和 LVEDP 升高、T 值延长而 EF 正常<sup>[6]</sup>。但是该研究中兔并未出现明显的心衰临床表现,并且由于 E/A 峰属反映二尖瓣舒张期血流速率的指标,受年龄、呼吸、前后负荷和室壁运动等因素影响,尤其是当存在快心率、二尖瓣延迟开放或心率变化幅度较大等情况时重复性较差,故不能作为评价舒张功能的重要指标。

本研究通过缩窄肾动脉上方的腹主动脉,一方面增加压力后负荷,另一方面通过减少肾脏血供导致水钠潴留,增加前负荷,在术后 2 周即出现心室肌肥厚和左房扩大。同时采用最新的 TDI 技术观察心肌长轴

方向运动幅度,发现 e 波和 e/a 等反映心室舒张功能的敏感指标在早期就明显下降。出现心衰后,尽管 EF、FS 等反映心室短轴收缩功能的指标仍保持正常,但反映长轴收缩功能的 s 波却有显著降低,说明收缩功能也存在损伤,这主要是长轴方向的心内膜心肌更容易受缺血、间质纤维化和左室肥厚等因素影响。Yip 等<sup>[7]</sup>报道,应用 TDI 技术发现很多 EF 正常的患者也存在长轴收缩功能的损伤。这与本研究结果是一致的。真正单纯的“舒张性”心力衰竭其实是很少见,关键取决于是否有足够敏感的指标来检测收缩功能。

本研究手术组兔出现了心衰的临床表现,伴有舒张功能损伤且 EF 保持正常,符合人类高血压病导致的 HFPEF 特征,可以作为人类高血压病导致的 HFPEF 动物模型。

表 3 新西兰兔的超声心动图指标

项目	术前		术后 2 周		术后 4 周		术后 5 周	
	假手术组	手术组	假手术组	手术组	假手术组	手术组	假手术组	手术组
E(cm/s)	68.30±20.84	66.00±14.99	64.80±20.11	60.90±20.17	64.70±16.61	66.50±20.66	65.90±17.33	59.00±19.42
A(cm/s)	62.50±18.67	67.70±11.47	60.60±19.51	69.90±13.11	56.20±15.96	73.33±19.36	60.60±13.40	75.80±15.53
E/A	1.14±0.33	1.03±0.36	1.11±0.30	0.91±0.37	1.17±0.24	0.93±0.31	1.11±0.23	0.90±0.28
IVRT(ms)	40.50±7.69	42.70±5.87	42.70±7.56	50.40±9.62 <sup>a</sup>	41.90±7.49	39.33±6.22	42.30±7.75	38.60±6.47
DT(ms)	30.40±5.60	30.70±5.01	32.60±4.81	39.10±9.15	31.20±5.01	33.33±8.24	31.90±4.09	33.00±5.96
PVs(cm/s)	41.22±6.36	49.90±8.28	41.00±6.65	44.60±9.29	40.20±6.41	45.67±6.98	42.20±7.54	48.80±5.26
PVd(cm/s)	28.00±5.39	26.60±4.95	29.10±4.48	26.10±7.64	28.40±5.27	27.00±5.93	29.30±4.72	29.20±8.98
PVa(cm/s)	13.89±2.09	17.30±4.35	15.30±4.30	15.80±2.15	15.30±2.75	17.83±3.31	15.50±3.66	17.40±2.07
PVaD(ms)	55.44±4.36	49.60±6.87	54.20±3.99	53.50±6.60	52.80±3.12	54.83±6.40	51.60±5.48	56.00±3.67
S/D	1.51±0.31	1.94±0.45	1.47±0.39	1.81±0.48	1.45±0.28	1.77±0.44	1.46±0.27	1.79±0.52
LVEF(%)	68.98±4.67	68.68±4.80	67.92±4.39	65.23±5.85	67.14±3.79	63.35±4.69	66.73±3.29	62.74±3.87
FS(%)	35.05±3.49	36.78±3.99	34.90±3.74	32.74±4.12	33.60±3.50	31.22±3.17	33.66±3.48	31.46±3.31
ET(ms)	92.70±7.56	89.80±13.46	96.30±4.14	104.70±13.94	95.00±3.97	99.00±15.96	94.30±3.53	102.20±8.81
ICT(ms)	23.20±6.39	21.30±4.16	26.00±5.68	27.10±7.78	26.30±6.57	27.17±12.66	27.20±6.84	29.20±11.12
LVmass(g)	2.10±0.33	2.33±0.29	2.14±0.28	3.36±0.97 <sup>b</sup>	2.18±0.32	3.10±0.57 <sup>b</sup>	2.20±0.35	3.42±0.50 <sup>c</sup>
左房前后径(mm)	6.31±0.90	7.02±1.01	6.87±0.92	8.07±1.07 <sup>a</sup>	7.02±0.94	8.47±1.05 <sup>a</sup>	7.07±0.94	8.86±1.21 <sup>b</sup>
左房上下径(mm)	7.29±0.85	7.98±1.04	7.53±0.71	10.68±1.28 <sup>c</sup>	7.73±0.64	11.10±1.12 <sup>c</sup>	7.78±0.63	11.45±1.18 <sup>c</sup>
左房左右径(mm)	6.03±0.90	6.30±0.79	6.03±0.73	6.83±1.06	6.02±0.79	6.83±0.92	5.99±0.79	7.15±1.14 <sup>a</sup>
IVS(mm)	1.73±0.16	1.80±0.17	1.72±0.14	2.33±0.42 <sup>b</sup>	1.74±0.15	2.33±0.37 <sup>b</sup>	1.74±0.15	2.42±0.38 <sup>c</sup>
LVPW(mm)	1.71±0.12	1.79±0.11	1.71±0.16	1.98±0.21 <sup>b</sup>	1.70±0.12	2.03±0.12 <sup>b</sup>	1.69±0.13	2.16±0.18 <sup>c</sup>
LVEDV(mm <sup>3</sup> )	3.00±0.95	3.44±0.79	3.08±0.85	3.90±0.80	3.28±0.71	4.07±1.08	3.31±0.67	4.44±1.07 <sup>a</sup>
LVESV(mm <sup>3</sup> )	0.97±0.40	1.02±0.38	1.09±0.33	1.26±0.41	1.17±0.33	1.50±0.51	1.19±0.36	1.78±0.53 <sup>a</sup>
s(cm/s)	9.87±1.58	9.60±0.78	10.02±1.79	7.58±1.61 <sup>b</sup>	9.81±1.75	7.12±1.98 <sup>a</sup>	10.02±1.88	7.16±1.92 <sup>a</sup>
e(cm/s)	9.72±2.71	9.65±1.96	9.70±2.56	7.56±2.18 <sup>a</sup>	9.76±2.57	7.23±2.14 <sup>a</sup>	9.95±2.24	7.08±1.48 <sup>a</sup>
a(cm/s)	10.11±2.21	11.02±2.76	10.28±2.05	10.19±1.40	9.91±2.05	10.93±1.88	8.62±4.36	11.32±1.69
e/a	0.96±0.31	0.90±0.34	0.94±0.31	0.73±0.29	1.01±0.33	0.65±0.11 <sup>a</sup>	1.03±0.29	0.62±0.07 <sup>a</sup>

注:与同一时间点的假手术组相比,a:P<0.05,b:P<0.01,c:P=0.000。

致谢:解放军总医院南楼心血管一科实验室韩丽娜老师为本研究提供了许多帮助,在此表示衷心感谢!

[参考文献]

[1] Galderisi M. Diastolic dysfunction and diastolic heart failure: diagnostic, prognostic and therapeutic aspects [J]. Cardiovasc Ultrasound, 2005, 3: 9-11.

[2] 蔡毅,何昆仑,范利.舒张性心力衰竭新概況[J].中华老年心脑血管病杂志,2006,6:425-427.

[3] 张运.舒张性心力衰竭的研究进展[J].心肺血管病杂志,2004,23(1):51-55.

[4] He Kurn-lun, Dickstein M, Sabbah HN, et al. Mechanisms of heart failure with well preserved ejection fraction in dogs following limited

coronary microembolization[J]. Cardiovasc Res, 2004, 64: 72-83.

[5] Kobayashi M, Machida N, Mitsuishi M, et al. Beta-blocker improves survival, left ventricular function, and myocardial remodeling in hypertensive rats with diastolic heart failure[J]. Am J Hypertens, 2004, 17(12): 1112-1119.

[6] 钟明,张薇,卜培莉,等.兔舒张性心力衰竭模型的建立[J].基础医学与临床,2001,21(4):379-382.

[7] Yip G, Wang M, Zhang Y, et al. Left ventricular long axis function in diastolic heart failure is reduced in both diastole and systole: time for a redefinition? [J]. Heart, 2002, 87: 121-125.

[8] Sanderson JE. Diastolic heart failure: fact or fiction? [J]. Heart, 2003, 89: 1281-1282.

(收稿日期:2006-10-20 修回日期:2006-12-06)

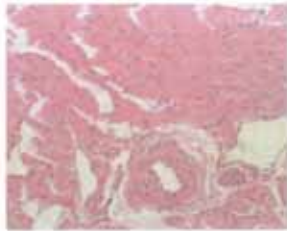


图4.1 假手术组 (HE, 100 ×)

图4.2 手术组 (HE, 100 ×)

图5.1 葡萄糖代谢减低的脑区

图5.2 葡萄糖代谢增加的脑区

图1.1—图1.3 正文见P202。图2.1—图2.3 正文见P231。图3.1—图3.6 正文见P238。  
图4.1—图4.2 正文见P246。图5.1—图5.2 正文见P283。