

小鼠心力衰竭模型研究进展

刘 帅¹ 综述 张金国^{1△} 闫 波^{1,2} 审校

(¹ 山东省心脏疾病诊疗重点实验室 济宁医学院附属医院, 山东 济宁 272029; ² George Washington University, Washington DC 20037, USA)

关键词 心力衰竭; 小鼠; 模型

中图分类号: R332 **文献标志码**: A **文章编号**: 1000-9760(2012)12-430-04

心力衰竭是由心脏结构或功能性疾病导致心室充盈或射血能力受损而引起的一种复杂的临床症状群,是急慢性心肌损伤发展的常见结局^[1]。近年来,随着有关心力衰竭基础研究的深入和循证医学的开展,人们对心力衰竭的发病诱因、病理生理机制及临床预防和治疗有了更深入的认识,其中心力衰竭动物模型的成功建立为心力衰竭的基础研究和临床应用提供了客观保障和积极贡献。深入研究该病迫切需要我们建立与之病理生理及血流动力学改变相似的动物模型,由于小鼠与人类基因水平上高度同源、小鼠生化指标及调控机制和人类相似,因此运用小鼠建立心力衰竭模型较其它动物更具有重复性、可靠性、相似性和适用性^[2]。目前,关于小鼠心力衰竭模型的建立已进行了深入研究,现将常用的几种实验性心力衰竭小鼠模型的建模机制、方法、特点作一综述。

1 小鼠缺血性心力衰竭模型的建立

制作缺血性动物模型可诱发动物出现缺血性心力衰竭,而小鼠心肌代谢率高、缺血耐受性差,冠状动脉结扎后易形成透壁性心肌梗死,利用此机制结扎小鼠冠状动脉可制作心力衰竭模型。

Oleg^[3]等全面描述了近交系 C57 小鼠左冠状动脉结扎部位和方法以及诱发心力衰竭的概念,并成功在小鼠模拟临床缺血性心力衰竭;国内学者范谦等也描述了小鼠心肌缺血模型的制备方法和小鼠心力衰竭的诱导;Xue WanLing 等对 11~12 周龄 C57BL/6 小鼠于左心耳下缘 1~2mm 结扎冠状动脉,结合心电图实时监测,成功建立缺血性心力衰竭模型^[4]。

小鼠模型能够较好的模拟临床上冠心病患者心衰进展的病理生理改变,同时模拟临床上缺血性

心力衰竭,可以弥补注射药物制备模型与实际临床病人血流动力学不符的缺点。但是小鼠心脏体积较小,心脏跳动较快,缺血性心力衰竭模型的建立需要较大面积的心肌梗死,同时又要保证动物能够在研究期内存活,对于冠状动脉结扎位置和梗死面积要求较高,对术者技术要求较高^[5]。

2 小鼠压力超负荷型心衰模型的建立

2.1 升主动脉缩窄模型

该模型通过将小鼠升主动脉结扎,造成左心室射血障碍,使左心室压力负荷增加,从而造成左室扩张、肥厚,导致心力衰竭。Balakumar P 等^[6]描述了升主动脉结扎造成心力衰竭模型的方法,并取得了较好的模型评价。马依彤等^[7]通过缩窄小鼠升主动脉诱发心力衰竭,并评估了小鼠左心室收缩压及舒张压的变化情况,1 周后小鼠出现明显的左心室肥厚,8 周时肥厚达到高峰,术后 12 周心脏处于失代偿期,发生心力衰竭,结果表明其病理生理过程与人类左心室后负荷增加导致的心力衰竭相似。

狗或猪等大动物升主动脉缩窄造成心力衰竭的模型往往需要 1a 以上的时间,而小鼠可以在术后 48h 后成为左心室压力负荷模型,缩短研究周期,减少因为时间过长给研究带来的不便,而 Skrbic B 等^[8]通过缩窄和舒张升主动脉建立的模型能够模拟逆转心肌重塑的过程,为心力衰竭提供新的研究策略。但是升主动脉的缩窄模型的建立,需要开胸进行操作,提高了手术难度。

2.2 主动脉弓缩窄模型

小鼠主动脉弓缩窄模型,可诱导小鼠左室肥厚,其原理与升主动脉缩窄模型相同,但是其左心室后负荷增加对心脏形态与功能的影响是逐渐发生的,这一病理生理特点与升主动脉缩窄不同。赵静等^[9]运用超声心动图对主动脉弓缩窄 C57 BL/6

△ [通信作者]张金国, E-mail: cck112000@yahoo.com.cn

小鼠的左心室进行评价,发现心肌肥厚的发生演变是一个时间依赖性的过程,小动物超声仪能敏感地反映心衰小鼠的心脏重构,评价左室舒张功能。Angela C 等^[10]通过采用高频率多普勒超声测量小鼠左右颈动脉血流速度比率,来确定主动脉弓的结扎程度,成功建立了左室压力负荷模型,取得了良好的模型评价。

该模型不会引起左心室后负荷的急骤增加,因此较升主动脉缩窄模型发生急性左心衰竭的比率降低,同时较升主动脉模型手术时间短、创伤小,术后存活率较高,可以较好的模拟压力超负荷所致的左室肥厚的演变,阐明心脏肥厚时信号分子的参与,以及还原高血压导致心力衰竭的病理生理的发展过程^[11]。但是该手术同样需要开胸操作,有引起开胸并发症的可能,手术操作复杂,较为困难。

2.3 腹主动脉缩窄模型

该模型的机理是主动脉狭窄造成左心室血液流出受阻,左心室后负荷增加,外周循环阻力增大,左心室出现心肌肥厚,失代偿后便可造成充血性心力衰竭。

小鼠模型出现心力衰竭关键在于主动脉的缩窄程度,若缩窄直径小于 50%,可致小鼠急性左心衰竭,最终导致死亡,若缩窄直径大于 60%,外周循环阻力增加不明显,导致模型建立的失败,因此若要造成小鼠心力衰竭,缩窄直径应控制在 50%~60%之间,此范围可在术后四周观察到小鼠发生代偿性心肌肥厚^[7]。

该模型较升主动脉、主动脉弓缩窄模型易于制作,且形成时间短、成功率高,能很好地模拟压力负荷过大导致的左心室肥厚的演变和临床上的高血压导致心力衰竭的病理生理变化过程,可研究心衰发生过程中神经激素改变、分子生物学机制、心血管病药理学,探究心衰从代偿走向失代偿过程中的形态和代谢改变,是较为理想的手术模型。

3 小鼠容量超负荷型心衰模型的建立

3.1 主动脉瓣反流模型的建立

该模型通过破坏主动脉瓣,引起主动脉瓣的关闭不全,舒张期血液自主动脉反流入左心室,导致左心室充盈过度,使左心室舒张期容量负荷过重,左心室逐渐扩张、肥厚,最终导致左心衰竭。

在显示图形的监视下,将导管退至主动脉瓣膜口处固定,上下移动捅穿瓣膜,同时测定心率、颈总动脉收缩压、舒张压、左心室收缩压、左心室舒张末

期压、左心室等容期压力最大变化速率等指标,1)左心室等容期压力最大变化速率下降 $\geq 40\%$,左心室舒张末期压上升 $\geq 40\%$;2)左心室等容期压力最大变化速率下降 $< 40\%$,舒张压下降 $\geq 40\%$,脉压变化率上升 $\geq 40\%$ 。符合 1)或 2)条件者,20min 各参数稳定,为成功模型^[7]。

此模型可用来研究心肌肥厚发展到心力衰竭的病理生理变化、高输出状态等疾病,评价瓣膜置换术的临床疗效,但单独瓣膜关闭不全不易诱导心力衰竭,往往采取联合压力负荷造模^[12]。

3.2 动静脉痿心衰模型的建立

动静脉痿模型通过在肾动脉以下的腹主动脉与下腔静脉间造痿,使体循环的血液进入肺循环,导致回心血量增多,引起容量负荷增加,从而使左心室舒张末容积和压力增高,心排量增加,造成高心排出量心衰。

研究发现动静脉痿模型其收缩功能正常甚至提高,左右心室充盈压的增加和左心室肥厚,而动脉血压降低,心率减慢,左室压最大上升速率降低,伴以左室舒张末压上升及收缩压下降,表明在心肌肥大的基础上发生了心力衰竭。

此模型适用于研究心力衰竭由于容量负荷引起的舒张功能不全但收缩功能正常时的代偿机制,研究心力衰竭时体内神经内分泌机制的改变、水电解质失衡和肾功能异常,但评价抗心力衰竭药物疗效时作用有限。

4 小鼠药物性心衰模型的建立

4.1 小鼠腹腔注射盐酸异丙肾上腺素(IPH)致心衰模型

大剂量的应用心肌抑制药物如 IPH,导致快速心率及心肌持续强烈收缩,产生广泛的心肌细胞的坏死和纤维化,最终引起心力衰竭^[13]。

Zhang GX 等^[14]全面描述了近交系 C57BL 小鼠腹腔注射 IPH 15mg/(kg·d),连续 7d,诱发心力衰竭的方法;党海舟等^[15]对 C57BL 小鼠腹腔注射 IPH 15mg/(kg·d),连续 11d,术后 8 周小鼠心脏进入失代偿期,达到了建立慢性心力衰竭模型的要求。

该模型制作简单,创伤性小,易于重复并且诱导时间短,适用于以心肌病变为原发病的心力衰竭研究,但其发病机制尚不明确,与临床常见心力衰竭差别较大^[16]。

5 小鼠基因技术心衰模型的建立

小鼠基因与人类基因高度同源,并容易被改变,改变后基因表达相对稳定,如利用基因敲除技术使与心肌功能密切相关的基因缺失,或者利用转基因技术使某种基因在心肌细胞中过度表达,都可能造成心力衰竭。

5.1 基因剔除法

肌肉 Lim 蛋白是一种肌动蛋白为基础的细胞骨架蛋白,可以调节肌肉分化。Lim 蛋白由 MLP 基因表达完成的,剔除该基因可造成该蛋白的合成障碍,从而导致扩张性心肌病。其特点是左室功能不全,伴心肌肥大、间质细胞增生和纤维化,该蛋白基因剔除小鼠作为心力衰竭的模型可以用来研究扩张性心力衰竭的分子治疗^[17]。

过氧化物酶体增值物激活受体(Peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)属于核受体超家族,可以调控心脏中糖和脂质代谢,剔除该基因的小鼠出现心脏功能的降低和心肌的肥厚,利用此模型可以探究心力衰竭所发生时的分子机制^[18]。

5.2 转基因法

将分离或修饰过的基因导入小鼠基因组中,可使该基因过度表达,引发心力衰竭,该类技术运用较多,为临床基础研究提供了大量的研究模型。例如,研究表明钙调蛋白激酶 II 的活性增加促进了心力衰竭的发展,转基因小鼠的心脏中过度表达钙调蛋白激酶 II 细胞质亚型后,可发现小鼠的左室肥厚扩张,并逐步发展为心力衰竭^[19],而在小鼠体内敲入没有激活的钙调蛋白激酶 II 的磷酸化位点,小鼠在主动脉缩窄后能够相对免受心衰的发展^[20];转基因小鼠心脏中过度表达 1-氨基环丙烷基-1-羧酸合成酶 1,小鼠体内神经酰胺合成增加,其具有促进细胞凋亡的作用,建立代谢性心肌病鼠模型,该模型能够用来研究脂质代谢异常导致的心力衰竭,阐明该病的细胞机制,为基因治疗提供依据^[21]。Toko H 等^[22]研究发现肌动蛋白转基因小鼠模型中钙/钙调蛋白依赖性酶 II 激活,左心室逐渐发生扩张和功能障碍,最终因心力衰竭死亡,而抑制钙/钙调蛋白依赖性酶 II 的活性可防止心脏 P53 蛋白和凋亡心肌细胞数量的增加,该模型说明了钙/钙调蛋白依赖性酶 II 在扩张性心肌病心力衰竭的发生过程中发挥关键作用。

5.3 基因干扰法

研究发现, MicroRNA (miRNA) 可以通过与特定 mRNA 结合,调控基因表达,影响心力衰竭的发生和发展。小鼠心肌细胞经特定的 miRNA 转染后,可导致其肥厚和功能下降^[23]。miRNA 变化早于基因和蛋白的改变和临床症状的出现,因此该指标可作为临床早期干预、控制该病发展的动态监测指标, miRNA-126 和 miR423-5p 可以作为心衰的标志物^[24-25]。

近年来,分子生物学技术取得了迅猛的发展,采用转基因技术建立的小鼠心力衰竭模型对研究心力衰竭相关基因改变起到了重要的作用,为了解心衰相关的基因,以及为基因治疗提供依据,但是该类模型不能反映临床心衰病人的病因和心脏的病理变化情况,同时造价不菲。

6 展望

近年来,心血管疾病发病率呈逐年上升趋势。心力衰竭是心血管疾病中的难治病症之一,同时又是该领域的研究热点,建立合适的动物模型是研究该病发病机制和临床处理的关键环节之一。常见的建立动物模型的方法大体可分为手术法、药物法和基因法,每种方法各有优势和局限性。心力衰竭动物模型的选择也较为广泛,如猪、犬、兔、大鼠、小鼠等,小鼠遗传性、免疫性、代谢性和内分泌等较稳定,生命周期短,能在短期内还原心力衰竭的发生、发展规律,已被国内外广泛使用,加之转基因时代的到来,转基因小鼠的应用,使得对于心血管疾病的发病机制的研究层次从细胞水平向分子水平深入。因此,各种心力衰竭的建模方法、病理及病理生理学各有其特点,在今后的研究中可根据实验需要选择适合的方法,建立动物模型。

参考文献:

- [1] 钱俊峰,姜红,葛均波.我国慢性心力衰竭流行病学和治疗现状[J].中国临床药理学,2009,16(5):700-702.
- [2] 高翔.小鼠基因功能研究及疾病模型系列专题[J].中国细胞生物学学报,2010,32(1):159-160.
- [3] Tarnavski O, Mc Mulle JR, Schinke M, et al. Mouse cardiac surgery: comprehensive techniques for the generation of mouse models of human diseases and their application for genomic studies[J]. Physiol Genomics, 2004, 16: 349-360.
- [4] Xuan W, Liao Y, Chen B, et al. Detrimental effect of fractalkine on myocardial ischaemia and heart failure[J]. Cardiovasc Res, 2011, 92 (3): 385-393.
- [5] Patten RD, Hall-porter MR. Small animal models of heart

- failure development of novel therapies, past and present[J]. *Circ Heart Fail*, 2009, 2:138-144.
- [6] Balakumar P, Singh AP, Singh M, et al. Rodent models of heart failure[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2007, 56(1): 1-10.
- [7] 马一彤, 刘芬, 杨毅宁. 心血管疾病小动物实验手册[M]. 人民卫生出版社, 2008:143.
- [8] Bjornstad JL, Skrbic B, Sjaastad I, et al. A mouse model of reverse cardiac remodeling following banding-debanding of the ascending aorta[J]. *Acta physiol(OXF)*, 2012, 205(1): 92-102.
- [9] 赵静, 曾智, 颜亮, 等. 小动物超声仪与临床用超声仪评价小鼠心脏重构的对比分析[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(3):443-447.
- [10] Dealmeida AC, Van Oort RJ, Wehrens XH. Transverse aortic constriction in mice[J]. *J Vis Exp*, 2010, 1729(38):1-10.
- [11] Faerber G, Barreto-Perreira F, Schoepe M, et al. Induction of heart failure by minimally invasive aortic constriction in mice; reduced peroxisome proliferator-activated receptor co-activator levels and mitochondrial dysfunction[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2011, 141(2):492-500.
- [12] Den Ruijter HM, Berecki G, Verkerk AO, et al. Acute administration of fish oil inhibits triggered activity in isolated myocytes from rabbits and patients with heart failure[J]. *J Circulation*, 2008, 117(4):536-544.
- [13] Karthikeyan K, Bai BR, Devaraj SN. Efficacy of grape seed proanthocyanidins on cardioprotection during isoproterenol-induced myocardial injury in rats [J]. *Cardiovasc Pharmacol*, 2009, 53(2):109-115.
- [14] Zhang GX, Ohmori K, Nagai Y, et al. Role of AT1 receptor in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy and oxidative stress in mice[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42(4):804-811.
- [15] 党海舟, 李明凯, 徐明. 主动脉弓缩窄术和腹腔注射 IPH 致小鼠慢性心力衰竭两种模型比较和评价[J]. *心脏杂志*, 2012, 24(2):168-172.
- [16] Breckenridge R. Heart and mouse models[J]. *Dis model Mech*, 2010, 3(4):138-143.
- [17] Kemecei P, Miklós Z, Biró T, et al. Hearts of surviving MLP-KO mice show transient changes of intracellular calcium[J]. *Mol Cell Biochem*, 2010, 342(1-2):251-260.
- [18] Luo J, Wu S, Liu J, et al. Conditional PPAR γ knockout from cardiomyocytes of adult mice impairs myocardial fatty acid utilization and cardiac function[J]. *Am J Transl Res*, 2010, 3(1):61-72.
- [19] Dybkova N, Sedej S, Napolitano C, et al. Overexpression of CaMKII δ in RyR2R4496C +/- knock-in mice leads to altered intracellular Ca $^{2+}$ handling and increased mortality[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(4):469-479.
- [20] Respress JL, Van Oort RJ, Li N, et al. Role of RyR2 phosphorylation at S2814 during heart failure progression[J]. *Circ Res*, 2012, 110(11):1474-1483.
- [21] 刘新宾, 李力, 张红超. 心力衰竭动物模型研究进展[J]. *医学综述*, 2011, 17(11):1601-1604.
- [22] Toko H, Takahashi H, Kayama Y, et al. Ca $^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II δ causes heart failure by accumulation of p53 in dilated cardiomyopathy[J]. *Circulation*, 2010, 122(9):891-899.
- [23] Kalsotra A, Wang K, Li PF, et al. MicroRNAs coordinate an alternative splicing network during mouse postnatal heart development[J]. *Genes Dev*, 2010, 24(7):653-658.
- [24] Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure[J]. *Circ Res*, 2010, 106(6):1035-1039.
- [25] Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, et al. Assessment of plasma miRNAs in congestive heart failure[J]. *Circ J*, 2011, 75(2):336-340.

(收稿日期 2012-10-11)

(上接第 429 页)系统的次数。定时对尿道口和导尿管进行消毒,并加强观察及护理,尽早拔除尿管以减少尿管留置时间。此外,做好基础护理,加强口腔和皮肤的护理,加强康复知识宣教。

总之,妇产科的医院感染因素是复杂的,通过积极有效的护理措施是可以控制的。加强护理人员的无菌意识、对病房进行规范管理、严格执行消毒隔离制度和无菌操作技术,减少外源性感染的几率^[7]。在实施临床路径的基础上实行整体化护理,加强对老龄患者的关注,提高患者的体质和免疫力,增强其抗感染的能力。以更细致、更优质、更人性化的护理服务降低和控制医院感染的发生。

参考文献:

[1] 黄红桃. 妇产科患者院内感染分析与护理对策[J]. *中国当代*

医药, 2011, 2, 18(6):109-110.

[2] 倪颖, 王良凤. 综合性医院妇产科医院感染的危险因素分析与护理对策[J]. *解放军护理杂志*, 2006, 23(11):34-35.

[3] Peterson AM, Walker PH. Hospital-acquired infections as patientsafety indicators[J]. *Annu Rev Nurs Res*, 2006, 24:75-99.

[4] 顾红红, 应群芳. 妇产科住院患者医院感染特点及相关因素分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(6):1125-1127.

[5] 郑冬燕, 于莹, 王丽芹, 等. 妇科恶性肿瘤患者心理状态及影响因素分析与对策[J]. *现代护理*, 2006, 12(1):56-58.

[6] 杨彩霞. 妇产科护理过程中感染相关因素及护理分析[J]. *护理实践与研究*, 2011, 8(12):63-64.

[7] 万娜, 游惠馨, 谭秀华. 妇产科手术感染患者的原因分析及防护对策[J]. *护理实践与研究*, 2010, 7(18):43-44.

(收稿日期 2012-11-15)