

· 基础研究 ·

异丙肾上腺素诱导慢性心力衰竭大鼠模型的建立*

罗时珂, 李萍[△], 程晓曙

(南昌大学附属第二医院心血管内科 330006)

摘要:目的 建立异丙肾上腺素(ISO)诱导 SD 大鼠慢性心力衰竭(CHF)模型,并对其进行评估。方法 将 SD 雄性大鼠分为 4 组,ISO 组每组 20 只均腹腔注射 ISO 各 1 次,剂量分别为 2、2.5、3 mg·kg⁻¹·d⁻¹,建立大鼠 CHF 模型,并用等量生理盐水制备对照组(n=10),分别在用药后 4 周进行心脏超声检测左室舒张末内径(LVEDD)、左室收缩末内径(LVESD)、左室射血分数(LVEF)、左室缩短分数(LVFS),4 周末测血清 B 型钠尿肽(BNP)值、计算心脏质量指数。结果 注射剂量为 3.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹组 4 周末大鼠死亡 14 只,注射剂量为 2.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹无大鼠死亡,2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹组 4 周末大鼠死亡 2 只,大、中、小剂量组存活率分别为 30%、90%及 100%。ISO 组 LVEDD、LVESD、BNP 及心脏质量指数均高于对照组(P<0.01),LVEF、FS 低于对照组(P<0.01)。ISO 组 LVEDD、LVESD、BNP 及心脏质量指数随着 ISO 剂量的增加而增大,组间比较差异有统计学意义(P<0.01),LVEF、FS 随着 ISO 剂量的增加而降低,组间比较差异有统计学意义(P<0.05)。结论 皮下注射 ISO 诱导建立大鼠 CHF 模型的方法简便、可靠;心衰模型的成功建立以 ISO 皮下注射剂量为 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹较为适宜。

关键词:异丙肾上腺素;心力衰竭;心衰动物模型;心功能

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.04.015

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)04-0352-03

Establishment of model of isoprenaline-induced chronic heart failure in rats*

Luo Shike, Li Ping[△], Cheng Xiaoshu

(Department of Cardiovascular Medicine, Second Affiliated Hospital,

Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

Abstract: **Objective** To establish the model of isoprenaline(ISO)-induced chronic heart failure(CHF) in rats and to perform its evaluation. **Methods** 70 male SD rats were divided into four groups, normal group (n=10), 2.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹ group (n=20), 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ group (n=20) and 3.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹ group (n=20). HF was induced by subcutaneous injections of ISO with different doses for 4 weeks. Meanwhile, the control group was established by subcutaneous injecting same volume of normal saline. Four weeks later, the rat survival rates were compared, the cardiac function tests were performed by using Doppler echocardiography procedures and detected BNP, the heart weight/body weight ratio. **Results** The survival rates of high to low dose injection group were 30%, 90% and 100%. Compared with control group, the LVEDD, LVESD, BNP and heart weight/body weight ratio were significantly increased (P<0.01), LVEF and FS were decreased (P<0.05). In the control group, the more ISO was injected, the higher were LVEDD, LVESD, BNP and heart weight/body weight ratio (P<0.01), meanwhile the lower were LVEF, FS (P<0.05). **Conclusion** The CHF model induced by subcutaneous injecting ISO is a simple and convenient method. Although the cardiac function is much worse in 3 mg·kg⁻¹·d⁻¹, the survival rate is also lower than other groups. 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ ISO is a reliable dose for establishing the CHF model.

Key words: isopreterenol; heart failure; animal models of heart failure; cardiac function

心血管疾病在我国发病率逐年增加,严重威胁着人们的健康,而慢性心力衰竭(CHF)是各种心血管疾病的共同转归,是心脏病的攻坚战场。动物实验是临床研究的基础,建立稳定的动物心衰模型是研究心衰的发病机制、病理改变及新的治疗策略的重要前提。目前存在多种方案构建大鼠 CHF 模型,比如缩窄腹主动脉法、结扎冠状动脉法、药物诱导以及快速起搏等^[1],其中的药物诱导主要以皮下注射异丙肾上腺素(isoprenaline, ISO)为主,大鼠注射异丙肾上腺素后心肌出现弥漫性坏死和纤维化,心肌细胞收缩幅度及速度均降低,出现 CHF 表现。但是目前制作 CHF 模型所用的 ISO 有效剂量仍有多种报道,且不同剂量下的动物存活率也需进一步研究,本实验通

过注射不同剂量的 ISO 来制备大鼠 CHF 模型,观察有效的 ISO 剂量,为进一步的动物实验打下坚实基础。

1 材料与方法

1.1 动物 雄性 Sprague-Dawley 大鼠 70 只(体质量 180~210 g),江西省中医学院提供[动物合格证号:SCXK(赣)2005-0001],随机分为 4 组,即对照组(n=10)、小剂量 ISO 损伤组(n=20)、中剂量 ISO 损伤组(n=20)、大剂量 ISO 损伤组(n=20)。

1.2 方法

1.2.1 模型制作 小剂量组皮下缓慢注射 ISO 2.0 mg/kg,每日 1 次,连续 4 周;中剂量组:皮下缓慢注射 ISO 2.5 mg/kg,

* 基金项目:江西省卫生厅课题(20091101);南昌市科技支撑计划项目(49-10)。 △ 通讯作者, E-mail:lipingsydney@163.com。

表 1 4 周末对照组与用药前大鼠二维超声心动图比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEF(%)	LVFS(%)
对照组	10	4.46±0.23	2.43±0.30	81.87±4.28	49.12±4.21
用药前组	70	4.52±0.48*	2.45±0.29*	83.20±6.40*	47.80±3.05*

*: $P > 0.05$, 与对照组比较。

表 2 4 周末各组大鼠二维超声心动图比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEF(mm)	LVFS(mm)
对照组	10	4.62±0.38	2.62±0.07	81.00±3.87	48.00±3.16
小剂量 ISO 组	20	5.74±0.15*	3.92±0.14*	71.20±2.58*	36.20±3.03*
中剂量 ISO 组	18	6.37±0.29*▲	4.67±0.15*▲	56.40±3.84*▲	30.60±2.41*☆
大剂量 ISO 组	6	7.96±0.23*▲■	5.28±0.26*▲■	46.00±3.16*▲■	23.40±2.42*▲■

*: $P < 0.01$, 与对照组比较; ▲: $P < 0.01$, ☆: $P < 0.05$, 与小剂量组比较; ■: $P < 0.01$, 与中剂量组比较。

每日 1 次, 连续 4 周; 大剂量组: 皮下缓慢注射 ISO 3.0 mg/kg, 每日 1 次, 连续 4 周; 对照组: 同样方法注射 2.0 mg/kg 生理盐水。

1.2.2 心脏超声检查评价心功能 4 周末 4 组大鼠以 0.3% 戊巴比妥钠溶液(10.0 mL/kg)腹腔注射麻醉后备皮, 应用超声心动仪(西门子 ACUSON Sequoia512)及 5~12 MHz 高频线控探头(西门子公司)进行超声检测, 检测左室舒张末内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDD)、左室收缩末内径(left ventricular end-systolic dimension, LVESD)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室缩短分数(left ventricular shortening fraction, LVFS)。

1.2.3 大鼠心脏质量指数测定 用预冷的生理盐水洗去心脏残留血液, 剪去周围结缔组织和血管, 滤纸吸干水分称量心脏湿质量。心脏质量指数 = 心脏湿质量/体质量。

1.2.4 大鼠血清 B 型钠尿肽(BNP)测定 从各组每只大鼠眼球取血 4 mL, 4 °C, 3 000 r/min, 离心 10 min, 分离血清, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定 BNP 含量, 均严格按照说明书操作。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件完成统计学分析。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析, 组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般性状比较 与对照组大鼠相比, 不同剂量 ISO 组大鼠普遍出现毛色暗黄, 纳食减少, 体质量增加缓慢, 出现呼吸伴有气喘、活动减少等心衰表现。

2.2 各组大鼠存活率比较 大剂量 ISO 组大鼠 4 周后死亡 14 只, 存活率 30%; 中剂量 ISO 组大鼠 4 周后死亡 2 只, 存活率 90%; 小剂量 ISO 组大鼠及对照组大鼠未见死亡, 存活率均为 100%。

2.3 各组大鼠心脏结构及心功能比较 4 周末对照组大鼠($n = 10$)与用药前大鼠($n = 70$)LVEDD、LVESD、LVEF、FS 等结果比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

大、中、小剂量 ISO 组大鼠心脏 LVEDD、LVESD 较对照组有所增大, LVEF、FS 较对照组有所降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 2。

2.4 各组大鼠心脏质量指数比较 大、中、小剂量 ISO 组大

鼠心脏质量指数较对照组增大, 其中大剂量 ISO 组大鼠心脏质量指数大于中、小剂量 ISO 组, 中剂量 ISO 组大鼠心脏质量指数大于小剂量 ISO 组, 差异均有统计学意义($P < 0.01$), 见表 3。

2.5 各组大鼠血清 BNP 比较 大、中、小剂量 ISO 组大鼠血清 BNP 较对照组增大, 其中大剂量 ISO 组大鼠血清 BNP 大于中、小剂量 ISO 组, 中剂量 ISO 组大鼠血清 BNP 大于小剂量 ISO 组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 3。

表 3 4 周末各组大鼠心脏质量指数、血清 BNP 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	心脏质量指数(mg/g)	血清 BNP(ng/mL)
对照组	10	2.13±0.25	0.39±0.03
小剂量 ISO 组	20	3.16±0.12*	3.50±0.32
中剂量 ISO 组	18	3.58±0.08*▲	4.86±0.12
大剂量 ISO 组	6	3.96±0.11*▲☆	5.54±0.29

*: $P < 0.01$, 与对照组比较; ▲: $P < 0.01$, 与小剂量 ISO 组比较; ☆: $P < 0.01$, 与中剂量 ISO 组比较。

3 讨论

建立确切的动物模型是动物实验的关键, 目前建立动物 CHF 模型的方法主要有缩窄腹主动脉法、结扎冠状动脉法、药物诱导及快速起搏法等, 其中 ISO 诱导具有无创、操作简便、无需呼吸机支持、可重复性高、仅需保温等特点^[2]。本实验制作动物模型的具体机制主要是通过皮下注射 ISO 后, 加快大鼠心率, 心肌收缩力持续增强, 心肌细胞出现坏死、纤维化, 导致心室重构, 最终引发心力衰竭^[3-6]。应用儿茶酚胺类药物能使心肌出现多发性灶性坏死造成心肌弥散性坏死和纤维化^[7-9]。目前关于 ISO 建立 CHF 模型存在多种报道, 既有注射方式的不同, 如大鼠皮下注射及腹腔注射, 又有注射剂量上的差异, 还存在 ISO 注射天数上的长短等^[10-13], CHF 模型的成功建立不仅要求 ISO 注射剂量的合理, 同时需要密切观察 CHF 发生所需的合理时间, 从而保证动物模型较高的存活率。本实验为进一步明确 ISO 的有效剂量, 采用皮下注射的方式, 在 CHF 模型制备的过程中密切观察大鼠的性状、行为、体征的改变, 对比不同 ISO 剂量下各组大鼠的心功能的改变及存

活率。4 周末,对照组无大鼠死亡,大、中、小剂量 ISO 组大鼠的存活率分别为 30%、90% 及 100%,大剂量 ISO 组的大鼠存活率明显低于后两组,小剂量 ISO 组的大鼠存活率最高,但是对比中、小剂量 ISO 组大鼠的心脏结构、心功能改变及心脏指数、血清 BNP 值的变化,可以发现中剂量 ISO 组大鼠 LVEDD、LVESD 均较小剂量 ISO 组明显增大,较小剂量 ISO 组 LVEF、LVFS 则明显下降,心脏质量指数及 BNP 中剂量 ISO 组较小剂量 ISO 组明显增高,因此综合大鼠存活率及心功能等相关指标,ISO 皮下注射剂量为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 是诱导大鼠 CHF 模型最为合适的剂量,本实验同时密切观察了建立 CHF 动物模型适宜的时间,主要以大鼠的一般性状的变化、相应的心脏彩超变化及血清 BNP 改变作为衡量标准,得出大鼠 ISO 皮下注射 4 周是较为适宜的时间。

建模过程中还应注意下列问题来减少大鼠的意外死亡,提高存活率:(1)造模过程中,掌握熟练抓取大鼠,减少注射、灌胃、行心脏彩超等过程中大鼠出现惊吓、挣扎等应激反应,减少大鼠的意外死亡;(2)大鼠腹部皮下注射药物过程中,需避免进针过深而损伤肝、脾等器官,引起大鼠死亡;(3)大鼠在行心脏超声、抽血测 BNP 等检查时,需先行麻醉,麻醉药的剂量很重要,需根据体质量来计算,麻醉过深易致大鼠死亡,过浅则达不到麻醉效果,影响操作;(4)每日关注大鼠皮下注射部位有无溃疡,若出现溃疡则及时用碘伏局部消毒,预防感染。心功能的检测对于评估大鼠心衰模型成功的建立具有重要意义,超声心动图因具有操作简便、便于动态观察、对动物模型损伤小等优势成为心功能的检测的首选手段^[14],此外本实验还采用了检测大鼠血清 BNP 来评估心功能。研究表明,BNP 是一种心血管肽类激素,是心、脑器官的重要内分泌因子,参与了 CHF 发生、发展的病理过程,可精确反映心力衰竭程度的重要指标,是评估大鼠 CHF 模型的重要手段^[15]。应用 ISO 皮下注射制备动物 CHF 模型具有操作简便、方法简单、模型确切的特点,实验过程中采用合理的用药剂量及用药时间,不断积累经验,可降低大鼠的死亡率,提高实验成功率。超声心动图及 BNP 是测定大鼠心功能的重要手段,并且可动态观察,对于成功建立 CHF 模型具有重要意义。

参考文献:

[1] Muders F, Elsner D. Animal models of chronic heart failure[J]. *Pharmacol Res*, 2000, 41(6): 605-612.

[2] 蒋正英,覃数,叶强,等.保温对大鼠心肌梗死模型存活率的影响[J]. *重庆医学*, 2007, 36(1): 68-69.

[3] Mori T, Hayashi T, Sohmiya K, et al. Mechanisms of combined treatment with celiprolol and candesartan for ventricular remodeling in experimental heart failure[J]. *Circ J*, 2005, 69(5): 596-602.

[4] Brooks WW, Conrad CH. Isoproterenol-induced myocardi-

al injur and diastolic dysfunction in mice; structural and functional correlates[J]. *Comp Med*, 2009, 59(4): 339-343.

- [5] Zhang GX, Ohmori K, Nagai Y, et al. Role of ATI receptor in isoproterenol induced cardiac hypertrophy and oxidative stress in mice[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007(42): 804-811.
- [6] Cicogna AC, Brooks WW, Hayes JA, et al. Effect of chronic colchicine administration on the myocardium of the aging spontaneously hypertensive rat[J]. *Mol Cell Biochem*, 1997, 166(1/2): 45-54.
- [7] Teerlink JR, Pfeffer JM, Pfeffer MA. Progressive ventricular remodeling response to diffuse isoproterenol-induced necrosis in rats[J]. *Circ Res*, 1994, 75(1): 105-113.
- [8] Rona G, Chappel CI, Balazs T, et al. An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat[J]. *AMA Arch Pathol*, 1959, 67(4): 443-455.
- [9] Rona G. Catecholamine cardiotoxicity[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1985(17): 291-306.
- [10] Krenek P, Kmecova J, Kucerova D, et al. Isoproterenol-induced heart failure in the rat is associated with nitric oxide-dependent functional alterations of cardiac function[J]. *Eur J Heart Fail*, 2009, 11(2): 140-146.
- [11] Kazachenko AA, Okovity SV, Kulikov AN, et al. Comparative characteristics of some pharmacological models of chronic heart failure[J]. *Eksp Klin Farmakol*, 2008, 71(6): 16-19.
- [12] Takeshita D, Shimizu J, Kitagawa C, et al. Isoproterenol-induced hypertrophied rat hearts; does short-term treatment correspond to long-term treatment[J]. *J Physiol Sci*, 2008, 58(3): 179-188.
- [13] 李为民,田颖,孔一慧,等.异丙肾上腺素致大鼠心力衰竭模型的实验研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2003, 37(5): 386-387.
- [14] 李卫虹,张少衡,李昭屏,等.利用超声心动图评定大鼠心脏功能的可行性研究[J]. *中国心血管杂志*, 2003, 8(3): 165-167.
- [15] Bettencourt P, Azevedo A, Pimenta J, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide predicts outcome after hospital discharge in heart failure patients[J]. *Circulation*, 2004, 110(15): 2168-2174.

(收稿日期:2011-04-09 修回日期:2011-06-22)

《重庆医学》——中国科技论文核心期刊, 欢迎投稿, 欢迎订阅!