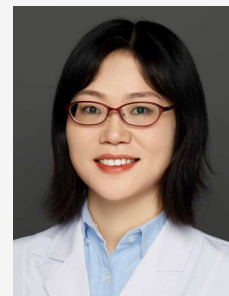




王庆慧, 昆明市延安医院超声医学科副主任, 主任医师, 现担任卫生部海峡两岸医药卫生交流协会超声医学青年委员, 中国医师协会青年委员会委员, 中国医师协会云南超声分会委员, 中国医药生物技术协会心血管外科技术与工程分会委员, 云南省超声医学学会委员, 云南省超声医学工程学会理事、秘书长, 云南省超声医学工程学会第一届超声心动图专委会主任委员, 云南女医师超声分会委员, 云南省医师协会女医师分会超声心动图专业副主任委员, 昆明医学会超声分会副主任委员, 昆明市第七批中青年学术和技术后备人才。擅长疑难复杂先天性心脏病、胎儿心血管病的超声诊断, 2008年到德国柏林心脏中心学习深造。目前有9项在研课题, 其中1项为国家自然科学基金资助项目, 5项为云南省科技厅项目, 2010年来10余项科研项目获省市级科技进步奖。

罗庆祎, 昆明医科大学附属延安医院超声医学科副主任医师, 博士, 中华医学会超声医学分会第十届委员会青委会委员, 中国医药教育协会超声医学青年专委会委员, 云南省超声医学工程学会超声心动图专委会委员, 昆明市卫生科技人才“千”工程人选, 昆明市延安医院第四批中青年学术和技术后备人才, 从事心血管超声工作十余年, 具备较丰富的临床诊断经验, 擅长各类复杂先天性心脏病、瓣膜病、冠心病、心肌病及高血压等疾病的超声诊断。主要研究方向为超声心动图新技术的基础及临床应用。主持及参与国家及省市级课题十余项, 曾获云南省科技进步三等奖、云南省卫生科技成果奖、昆明市科技进步奖, 发表学术论文20余篇, 其中第一作者发表SCI论文3篇。



横向主动脉缩窄术致兔心力衰竭模型的建立

罗庆祎^{1,2,3}, 章体玲^{2,3,4}, 丁云川^{1,2,3}, 陈 剑^{1,2,3}, 赵 丽^{1,2,3}, 王庆慧^{1,2,3}

(1. 昆明市延安医院超声医学科, 昆明 650200; 2. 云南省心血管疾病重点实验室, 昆明 650200; 3. 云南省心脏疾病临床医学中心, 昆明 650200; 4. 昆明市延安医院心内科, 昆明 650200)

[摘要] 目的 探讨应用横向主动脉缩窄 (transverse aortic constriction, TAC) 术建立兔心力衰竭模型的方法及可行性。**方法** 25只普通级健康雄性日本大耳兔, 随机分为手术组 ($n=15$) 和假手术组 ($n=10$)。手术组动物行TAC术, 建立兔心力衰竭模型; 假手术组行开胸手术但不进行缩窄操作。术后4周和8周超声检查心脏功能, 术后8周检测降主动脉流速; 结合分子生物学指标及病理学观察, 评估TAC术建立兔心力衰竭模型的可行性和稳定性。**结果** TAC术后8周, 手术组兔存活13只, 假手术组兔存活10只, 手术组主动脉弓缩窄处血流速度均大于2.20 m/s。与假手术组比较, 手术组心率、升主动脉内径、左房舒张末期内径、左室舒张末期内径和左室收缩末期内径均明显增加 ($P<0.05$), 左室射血分数明显降低 ($P<0.05$); 与假手术组相比, 手术组左心室组织中NT-proBNP和 β -MHC含量明显升高 ($P<0.05$)。病理切片显示, TAC术后8周, 手术组心肌细胞肥大且排列紊乱, 心肌纤维束增宽。TAC术后4周, 与假手术组相比, 手术组左室舒张末期室间隔厚度和左室后壁舒张末期厚度均显著增加 ($P<0.05$)。**结论** 应用TAC术建立实验兔心力衰竭模型是有效且可行的。心脏超声是评估主动脉弓缩窄程度及心力衰竭建模成功与否的有效手段。手术组实验兔在TAC术后8周时心肌出现失代偿反应, 形成不可逆的心力衰竭。

[关键词] 超声; 横向主动脉缩窄术; 心力衰竭; 兔

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)05-0401-08

Establishment of a Rabbit Heart-failure Model Using Transverse Aortic Constriction

LUO Qingyi^{1,2,3}, ZHANG Tiling^{2,3,4}, DING Yunchuan^{1,2,3}, CHEN Jian^{1,2,3}, ZHAO Li^{1,2,3}, WANG Qinghui^{1,2,3}

(1. Department of Ultrasound Medicine, Yan'an Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming

[基金项目] 云南省科技厅科技计划项目“围术期多模态超声心动图在冠状动脉旁路移植术中的应用研究”(2019FE001-266)

[第一作者] 罗庆祎(1981—), 女, 副主任医师, 博士, 研究方向: 心血管疾病超声诊断及基础研究。E-mail: 1481215034@qq.com

[通信作者] 王庆慧(1977—), 女, 主任医师, 研究方向: 心血管疾病超声诊断。E-mail: wqh962099@163.com。ORCID: 0000-0001-6360-9508

650200, China; 2. Key Laboratory of Cardiovascular Diseases of Yunnan Province, Kunming 650200, China; 3. Medical Center of Heart Disease of Yunnan Province, Kunming 650200, China; 4. Department of Cardiology Medicine, Yan'an Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming 650200, China)

Correspondence to: WANG Qinghui (ORCID: 0000-0001-6360-9508), E-mail: wqh962099@163.com

[ABSTRACT] Objective To investigate the method and feasibility of establishing a rabbit heart-failure model using transverse aortic constriction (TAC). **Methods** Twenty-five healthy male Japanese white rabbits were randomly divided into an operation group ($n=15$) and a sham-operation group ($n=10$). The animals in the operation group underwent TAC to establish the rabbit model of heart failure. The sham-operation group underwent thoracotomy but no narrowing operation. Cardiac function was evaluated using ultrasound at 4 and 8 weeks after operation. Eight weeks after operation, the descending aortic flow velocity was detected using cardiac ultrasound, combined with molecular biological indexes and pathological observations to verify the feasibility and stability of TAC in establishing the rabbit heart-failure model. **Results** Eight weeks after operation, 13 rabbits in the operation group and 10 in the sham-operation group survived. The blood flow velocities at the constriction in the operation group were > 2.20 m/s. Compared with the sham-operation group, the following outcomes in the operation group increased significantly ($P<0.05$): heart rate, ascending aortic diameter, left atrial end-diastolic diameter, left ventricular end-diastolic diameter, and left ventricular end-systolic diameter. Left ventricular ejection fraction decreased significantly ($P<0.05$). Compared with the sham-operation group, the contents of left ventricular N-terminal pro B type natriuretic peptide (NT-proBNP) and β -myosin heavy chain (β -MHC) significantly increased in the operation group ($P<0.05$). Pathological sections showed that 8 weeks after TAC, cardiomyocytes in the operation group were hypertrophic and disordered, and myocardial fiber bundles widened. Interventricular septal end-diastolic thickness and left ventricular posterior wall end-diastolic thickness significantly increased in the operation group ($P<0.05$), compared to those in the sham-operation group at 4 weeks. **Conclusion** It is effective and feasible to establish an experimental rabbit heart-failure model using TAC. Cardiac ultrasound is an effective method to evaluate and determine the degree of aortic arch constriction and the success of heart-failure modeling. Rabbits in the operation group showed myocardial decompensation at 8 weeks after TAC, resulting in irreversible heart failure.

[Key words] Ultrasound; Transverse aortic constriction; Heart failure; Rabbits

心力衰竭是一种影响人类全身器官的复杂性临床综合征,是几乎所有心血管疾病的最终阶段,对人类健康产生极大威胁^[1-2]。为深入研究人类心力衰竭的发生和发展机制,建立稳定可靠的动物模型显得很有必要。既往研究多采用小型实验动物建立心力衰竭模型,但由于小型动物体型较小,该类模型在一些实验应用中受到了限制^[3-5]。兔作为一种常用的医学实验动物,体型中等,其心力衰竭的病理过程与人类相似,因此可以作为研究人类心力衰竭的理想模型动物^[6]。本研究通过横向主动脉缩窄(transverse aortic constriction, TAC)术致使实验兔主动脉弓缩窄,建立兔心力衰竭模型,然后使用超声评估实验兔的主动脉弓缩窄程度及心功能指标,并与分子生物学及病理学指标相印证,从而探讨TAC术建立实验兔心衰模型的可行性和有效性。

1 材料与方法

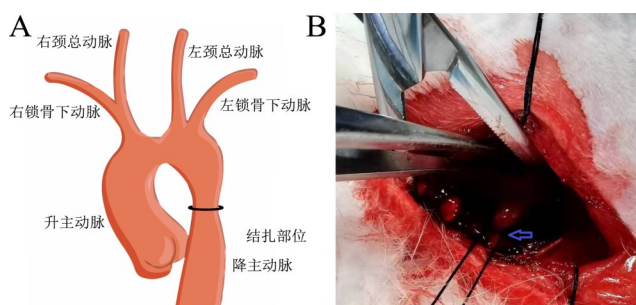
1.1 实验动物

普通级健康雄性日本大耳兔25只,体质量2.0~3.0 kg,由昆明医科大学动物实验中心[SCXK(滇)K2020-0004]提供,动物合格证编号为kmmu210012。实验兔饲养于昆明市延安医院中心实验室动物房[SYXK(滇)K2020-0006],在清洁环境下饲养,保证兔自由饮食,12 h明/暗循环。正常的动物饲料为协同生物出品实验用兔维持饲料,动物饮用水为反渗透净化水,饲料容器及饮水装置经高温高压灭菌冷却后使用。

本研究动物实验经昆明市延安医院实验动物伦理委员会审查批准,受理编号为2020002,批准文号为2014117。所有动物实验操作符合实验动物3R原则及国内外相关的实验动物福利伦理标准要求。

1.2 动物模型建立

随机将实验兔分为手术组 ($n=15$) 和假手术组 ($n=10$)。参照既往研究方法改良进行操作, 手术方法如下: 以 20% 乌拉坦 10 mL/kg 腹腔麻醉动物后, 取右侧卧位, 固定于手术台上, 通过呼吸机控制兔的呼吸频率、潮气量并维持其正常生命体征, 常规连接并记录标准导联心电图。备皮后, 碘伏消毒胸部术区, 在胸骨左缘第二肋间隙水平, 剪开皮肤, 钝性分离肋间肌, 胸腺和组织后暴露主动脉弓远心端, 用 27 G 针头垫在左锁骨下动脉下方约 2 cm 处, 剥离主动脉鞘, 以 0-5 丝线结扎主动脉弓远心端, 然后缓慢抽出针头, 逐层关闭胸腔, 消毒切口, 完成手术^[7-9]。术前及术后使用卡洛芬进行镇痛, 术前 2 h 按 4 mg/kg 的剂量皮下注射给药, 术后视动物情况继续给药。术后 3 d 每天肌肉注射 100 000 U 青霉素抗感染, 观察动物体征。假手术组除未结扎外, 其余操作相同。手术结扎部位如图 1 所示, 术后正常饲养。



注: A, TAC 术主动脉缩窄部位示意图, 黑色线圈所示为结扎部位。B, TAC 术中操作图, 箭头所示为结扎部位。

Note: A, Schematic diagram of the site of coarctation of the aorta in TAC; the black circle indicates the ligation site. B, Intraoperative operation diagram of TAC; the arrow shows the ligation site.

图1 实验兔横向主动脉缩窄术结扎部位图

Figure 1 Sites of surgical ligation of the transverse aortic constriction (TAC) in rabbits

1.3 超声评估心功能

采用美国 GE 公司 Vivid E9 彩色多普勒超声诊断仪, 并配有 6 S 探头, 频率 4.4~11.4 MHz。术后 4 周及 8 周, 使用多普勒超声检测手术组和假手术组兔心功能指标。于术后 8 周使用多普勒超声评估主动脉弓缩窄程度, 以 6 S 探头于胸骨上窝切面检测实验兔主动脉弓缩窄处血流速度以评估狭窄程度^[10-11]。

取左胸骨旁的短轴切面, 在二尖瓣腱索水平记录 M 型超声心动图, 分别测量升主动脉内径 (ascending

aortic diameter, AAOd)、左房舒张末期内径 (left atrial end-diastolic diameter, LADd)、左室舒张末期内径 (left ventricular end-diastolic diameter, LVEDd)、左室收缩末期内径 (left ventricular end-systolic diameter, LVEDs)、左室舒张末期室间隔厚度 (interventricular septal end-diastolic thickness, IVSd)、左室后壁舒张末期厚度 (left ventricular posterior wall end-diastolic thickness, LVPWd), 计算左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)。以上超声数据均由两位经验丰富的超声科医师通过双盲法在连续 3 个心动周期上测量完成, 各指标取其平均值。

1.4 RNA 检测

术后 8 周完成超声检查后, 麻醉后采用空气栓塞法处死实验兔, 取心脏组织, 使用 TRIzol 法提取左心室总 RNA。应用实时荧光定量 PCR 法测定 N-末端脑钠肽前体 (N-terminal pro B type natriuretic peptide, NT-proBNP) 和 β -重链球蛋白 (β -myosin heavy chain, β -MHC) 的 mRNA 相对表达量 (以管家基因 GAPDH 为内参)^[12-13]。

1.5 病理组织学检查

TAC 术后 8 周, 超声检查结束后, 处死动物并开胸取出心脏。左心室经质量分数 4% 的甲醛溶液固定, 常规脱水, 组织采用石蜡包埋, 切片, 进行 HE 染色和 Masson 染色, 光学显微镜下观察病理变化。使用 Olympus 电子显微镜观察和拍摄 HE 染色和 Masson 染色切片, 同一切片摄取 5 个不同视野的照片。

1.6 统计方法

计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 先通过 Shapiro-Wilk 法检验数据是否为正态分布, 若数据为正态分布, 则两组比较采用 t 检验; 若数据为非正态分布, 则进行秩和检验。使用 GraphPad Prism 8 进行统计分析及制图, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

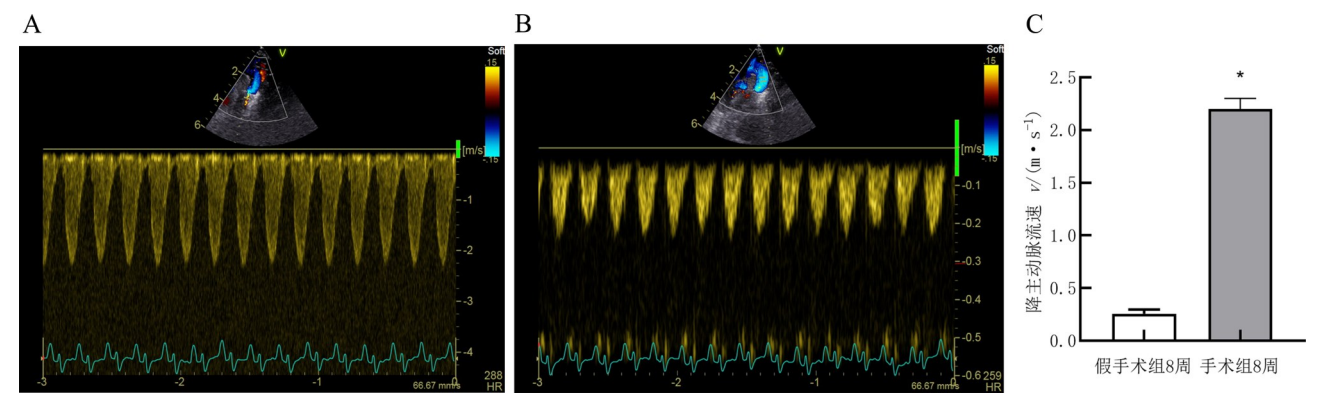
2.1 实验动物基本情况

实验组 2 只兔在 7 周时因心力衰竭症状较重, 抢救无效死亡。第 8 周时, 共存活 23 只实验兔, 其中手术组 13 只, 假手术组 10 只。13 只存活手术组实验兔在术后 8 周均有显著的不同程度的心衰表现, 主要表现为充血性心力衰竭。23 只实验兔在术后 4 周和 8 周时的超声检查中, 透声条件良好, 均获得了满意的超声结果。

2.2 降主动脉流速

TAC 术后 8 周，于胸骨上窝切面探查显示，手术组实验兔降主动脉缩窄处探及高速湍流血流信号，该处平均流速为（2.20±0.56）m/s；而假手术

组降主动脉平均流速为（0.20±0.03）m/s；手术组的降主动脉流速较假手术组显著加快，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。两组实验兔的降主动脉流速及对比如图 2 所示。



注：A，手术组兔术后8周时，于胸骨上窝切面测量降主动脉缩窄处流速为2.25 m/s（ $n=13$ ）。B，假手术组兔术后8周时，于胸骨上窝切面测量降主动脉流速为0.22 m/s（ $n=10$ ）。C，两组实验兔降主动脉流速对比柱形图， $^*P < 0.05$ 。
Note：A, The flow velocity at the coarctation of the descending aorta measured in the suprasternal fossa was 2.25 m/s at 8 weeks after transverse aortic constriction operation ($n=13$); B, The velocity of the descending aorta measured in the suprasternal fossa section was 0.22 m/s ($n=10$) at 8 weeks after operation in rabbits in the sham-operated group; C, Bar graph comparing the descending aortic flow velocity between the two groups, $^*P < 0.05$.

图2 多普勒超声检测实验兔降主动脉流速
Figure 2 Flow velocity of the descending aorta in rabbits

2.3 心脏彩超指标对比

TAC 术后 4 周，与假手术组比较，实验兔的心率、AAOd、LADd、LVEDd、LVEDs 和 LVEF 未见明显差异（ $P > 0.05$ ），而 IVSd 和 LVPWd 显著增加（ $P < 0.05$ ）。TAC 术后 8 周，与假手术组比较，实验兔的心率、

AAOd、LADd、LVEDd 和 LVEDs 明显增加，LVEF 明显降低，差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；其中 LVEDs 增加最为明显，假手术组 LVEDs 为（4.89±0.68）mm，手术组 LVEDs 为（8.83±0.72）mm；而 IVSd 和 LVPWd 在 8 周时两组间差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ，表 1）。

表 1 术后 4 周及 8 周实验兔心脏彩超指标变化
Table 1 Changes in cardiac ultrasound parameters at 4 and 8 weeks after operation

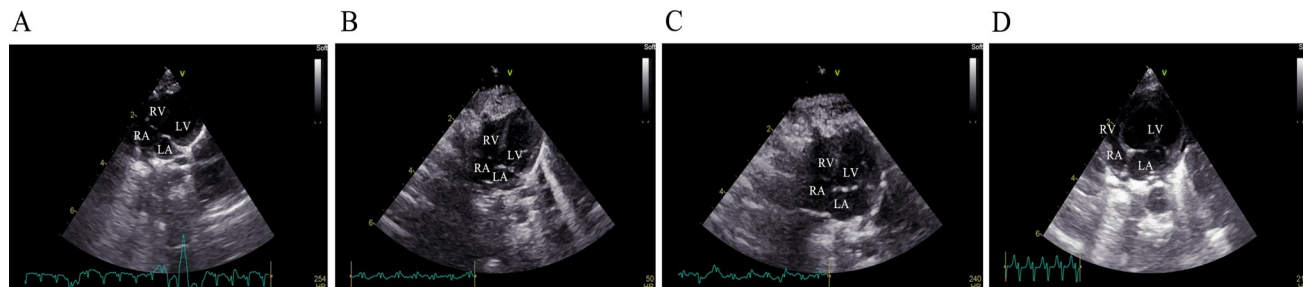
项目 Items	假手术组 Sham-operation group				TAC 手术组 TAC operation group			
	4 周 4 weeks	8 周 8 weeks	4 周 4 weeks	8 周 8 weeks	4 周 4 weeks	8 周 8 weeks	4 周 4 weeks	8 周 8 weeks
心率 HR/(次·min ⁻¹)	218.00±18.00	225.00±15.00	251.00±15.00	300.00±20.00 [*]				
升主动脉内径 AAOd/mm	4.31±0.74	4.52±0.91	4.72±0.77	7.57±0.88 [*]				
左房舒张末期内径 LADd/mm	3.56±0.84	3.75±0.55	3.84±0.92	4.94±0.42 [*]				
左室舒张末期内径 LVEDd/mm	11.04±1.70	12.15±1.51	12.55±1.84	15.45±1.66 [*]				
左室收缩末期内径 LVEDs/mm	4.64±0.75	4.89±0.68	5.14±0.92	8.83±0.72 [*]				
左室舒张末期室间隔厚度 IVSd/mm	1.73±0.34	1.87±0.26	2.95±0.41 [*]	1.51±0.32				
左室后壁舒张末期厚度 LVPWd/mm	1.55±0.32	1.76±0.24	2.65±0.56 [*]	1.23±0.41				
左室射血分数 LVEF/%	57.33±7.24	60.16±11.97	58.31±8.74	40.29±7.62 [*]				

注：TAC 即横向主动脉缩窄术。与假手术组比较， $^*P < 0.05$ 。
Note: TAC: Transverse aortic constriction. HR: Heart rate; AAOd: Ascending aortic diameter; LADd: Left atrial end-diastolic diameter; LVEDd: Left ventricular end-diastolic diameter; LVEDs: Left ventricular end-systolic diameter; IVSd: Interventricular septal end-diastolic thickness; LVPWd: Left ventricular posterior wall end-diastolic thickness; LVEF: Left ventricular injection fraction. Compared to the sham-operation group, $^*P < 0.05$.

2.4 二维超声心动图对比

TAC术后4周, 心尖四腔心切面显示, 较假手术组对比, 手术组左心房、左心室内径轻度增大, IVSd及LVPWd均明显增加, 呈向心性肥厚改变; 术后8周

手术组左心房、左心室内径明显增大, 左室壁变薄, 呈离心性肥厚改变。以上超声声像图改变均能直观反映手术组和假手术组兔因左心室负荷过重所引起的心脏结构变化(图3)。



注: A, 假手术组术后4周时心尖四腔切面图; B, 假手术组术后8周时心尖四腔切面图; C, 手术组4周时心尖四腔切面图; D, 手术组8周时心尖四腔切面图。

Note: A, Apical four-chamber view of the sham-operation group 4 weeks after operation; B, Apical four-chamber view of the sham-operation group 8 weeks after operation; C, Apical four-chamber view of the operation group 4 weeks after transverse aortic constriction operation; D, Apical four-chamber view of the operation group 8 weeks after transverse aortic constriction operation.

图3 心脏彩超显示各组实验兔心尖四腔心切面图

Figure 3 Doppler echocardiography shows the apical four-chamber view of each group

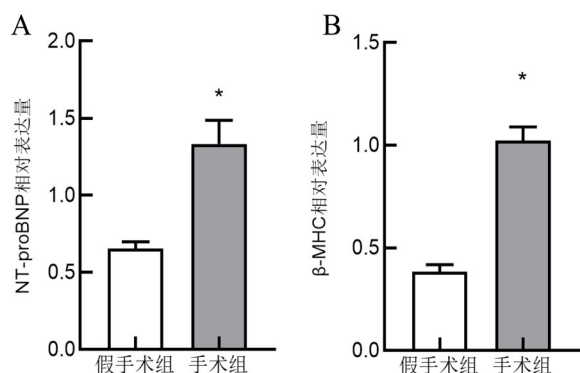
2.5 左心室心衰标志物水平变化

TAC术后8周, 通过实时荧光定量PCR检测手术组和假手术组实验兔左心室心衰标志物mRNA的转录水平。手术组NT-proBNP和 β -MHC mRNA相对表达量分别为 (1.33 ± 0.15) 和 (1.02 ± 0.07) , 假手术组分别为 (0.65 ± 0.04) 和 (0.38 ± 0.03) 。手术组和假手术组相比, NT-proBNP和 β -MHC mRNA相对表达量均显著升高($P < 0.05$, 图4)。

2.6 病理组织学结果

HE染色结果显示, TAC术后8周, 假手术组实验兔的心肌细胞排列规则整齐, 细胞大小正常, 较少存在细胞外间质; 手术组实验兔的心肌细胞排列松散, 细胞横径增加, 间隙增宽(图5A)。

同时, Masson染色结果显示, 假手术组实验兔仅见少量胶原纤维存在于血管周围和心肌细胞之间; 手术组实验兔心肌纤维疏松, 胶原纤维含量增加, 心肌大面积呈现蓝色(图5B)。



注: A为术后8周NT-proBNP含量对比; B为术后8周 β -MHC含量对比。与假手术组相比, $^*P < 0.05$; $n=3$ 。

Note: A, NT-proBNP content at 8 weeks after operation; B, β -MHC content at 8 weeks after operation. Compared with the sham-operation, $^*P < 0.05$; $n=3$.

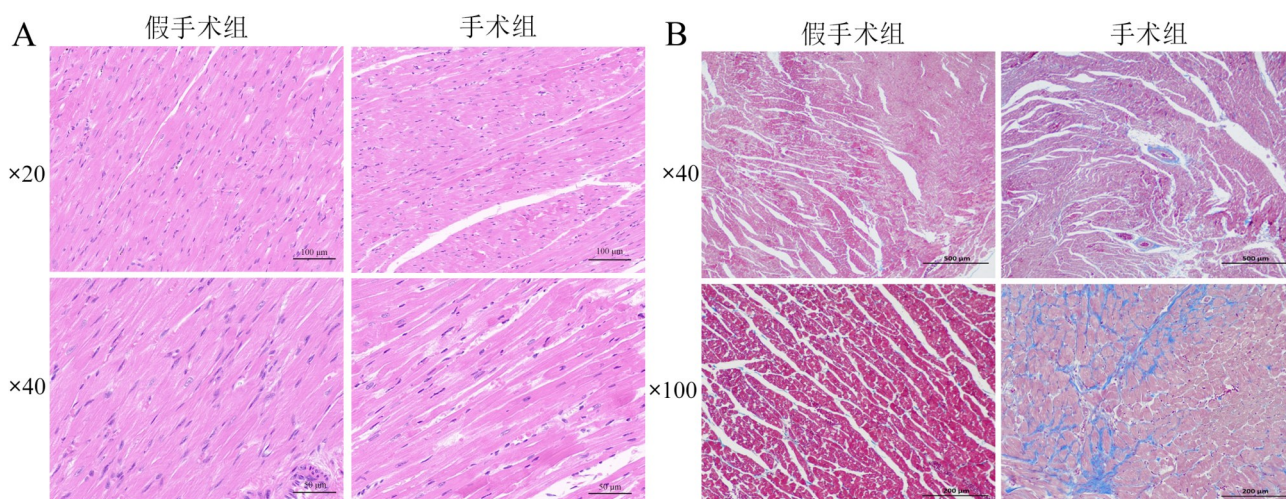
图4 横向主动脉缩窄(TAC)术后8周实时荧光定量PCR测定实验兔左心室心衰标志物水平变化

Figure 4 Changes in the contents of left ventricular heart failure markets 8 weeks after TAC detected by real-time quantitative PCR

3 讨论

本实验通过TAC术致兔主动脉弓缩窄, 成功建立了兔心力衰竭模型。手术组实验兔在TAC术后8周出现明显的不可逆的充血性心力衰竭, 符合临床上后负荷增加所致充血性心力衰竭的病理表现^[14-15]。应用心脏超声检测降主动脉缩窄处血流速度, 发现手术组降主动脉流速较假手术组明显升高, 手术组实验兔存在明显的主动脉弓缩窄。通过超声检测证明, TAC术成功造成了实验兔降主动脉缩窄, 结果准确且重复性好。

通过超声观察到手术组的升主动脉弓内径和室壁厚度相较于假手术组明显增加, 符合由于降主动脉缩窄所致心脏后负荷增加的病理生理改变。TAC术后4周及8周时的心脏超声指标显示, 较假手术组相比, 手术组实验兔均表现出明显的心脏扩大。具体表现在



注：A，假手术组和横向主动脉缩窄（TAC）手术组术后8周的HE染色切片，上下图分别放大20倍和40倍；B，假手术组和手术组术后8周的Masson染色切片，上下图分别放大40倍和100倍。

Note: A, HE stained sections of the sham-operation group and the transverse aortic constriction (TAC) operation group at 8 weeks after operation (upper, $\times 20$; lower, $\times 40$); B, Masson's trichrome stained sections of the sham-operation group and the TAC operation group at 8 weeks after operation (upper, $\times 40$; lower, $\times 100$).

图5 手术组及假手术组实验兔心肌组织的HE染色与Masson染色

Figure 5 HE staining and Masson staining of experimental rabbit myocardial tissues in the operation and sham-operation groups

以下方面：衡量心脏功能的指标LADd、LVEDd、LVEDs均明显升高，反映了实验兔心力衰竭时存在心脏扩大。二维超声心动图也证实实验兔心力衰竭中存在心脏扩大。手术组中反映心脏收缩功能的超声指标LVEF则明显下降，表明实验兔存在心脏因后负荷过重导致的心功能下降。之前的研究中，通过结扎兔腹主动脉发现，8周时出现心肌肥厚和心力衰竭^[16]。综上所述，心脏超声能够完整准确地采集心力衰竭兔的心脏扩大指标和心功能指标，为诊断实验兔心力衰竭提供了可靠的依据。

有研究通过兔腹主动脉缩窄联合静脉肾上腺素输注，成功诱导了充血性心力衰竭模型，于术后8周观察到手术组兔超声心动图发生明显异常^[17]。腹主动脉是主动脉弓血液的主要流出道，腹主动脉缩窄也能导致充血性心力衰竭的发生；这与本研究结果一致。有研究表明，小鼠主动脉缩窄所致的心力衰竭模型中，通过超声观察到的心力衰竭指标LVEDd仅在第18天以后出现明显升高，而第9天并未出现明显升高^[18]，即在术后第3周左右开始出现明显的心力衰竭改变。但在本研究中，术后4周时超声心动图指标改变不明显，术后8周才出现明显的心力衰竭改变；这或许与小鼠属于小型动物，其心脏对后负荷耐受较差有关。

研究表明，NT-proBNP的来源主要是心室，心室扩张和压力负荷的增加是促进NT-proBNP释放的主要因素，因此NT-proBNP常被用作评价心功能不全的标志物，用于心力衰竭的临床诊断及疗效评价^[19]。 β -MHC表达的增加会加重心肌病理性重构，导致心力衰竭的进展^[20]。本研究用NT-proBNP和 β -MHC评价实验兔主动脉弓缩窄所致心力衰竭的可靠性。结果显示，相较于假手术组，手术组实验兔的T-proBNP和 β -MHC水平在手术后8周时明显升高，证实部分TAC致实验兔心力衰竭的模型是可靠的。同时，手术组实验兔心脏病理学组织切片显示：TAC术后8周心肌细胞横径增加，肌纤维疏松，胶原纤维含量增加，与超声心动图中心肌回声增强、心腔呈离心性扩大的结果相一致，也进一步证实了TAC术能够通过增加实验兔心脏后负荷诱导其产生心力衰竭。

本研究的局限性在于未对兔主动脉弓缩窄程度做分级，也未采用不同的术式进行对比，故未能观察到不同主动脉弓缩窄程度对疾病进展程度的影响。另外，实验中超声只观察了术后4周及8周时（即心力衰竭中晚期）的心功能指标，未能完整地观察到实验兔从TAC术后到心力衰竭整个过程的变化。因此，后续的研究有必要观察实验兔TAC术后早期的指标（如1周、

2周),并选择不同程度的缩窄术式,以便更严谨地探讨主动脉弓缩窄程度与心力衰竭发生的关系,明确TAC术建立兔心力衰竭模型的可行性及心脏超声的评估作用。

常规TAC术式在无名动脉和左侧颈总动脉之间结扎。本研究采用的TAC术式为非常规术式,即在主动脉弓向降主动脉延续的位置结扎。由于主动脉弓发出的分支血管较多,在分离血管时难度较大,虽然在预实验时尽量分离主动脉鞘,但是最终实验效果未达到预期。另外,在预实验中发现,选择在无名动脉和左侧颈总动脉之间结扎的方式,兔的死亡率较高。因此,为了更好地剥离主动脉鞘和分离结扎血管,本研究选择在主动脉弓向降主动脉延续的位置进行结扎。两种结扎方式在兔心力衰竭模型构建中的差别,以及对结果有无影响,还需在后续研究中加以探讨。

综上所述,本研究应用TAC术建立实验兔心力衰竭模型是有效且可行的,在TAC术后8周时兔心肌出现失代偿反应,形成不可逆的心力衰竭。TAC术后通过心脏超声评价实验兔心功能及主动脉弓缩窄程度,可以准确判断心力衰竭模型是否成功,并能观察其发展过程中的心脏形态学及心功能变化。

[医学伦理声明 Medical Ethics Statement]

本研究涉及的所有动物实验均已通过昆明市延安医院实验动物伦理委员会审查批准(No. 2014117)。所有实验过程均遵照中国实验动物相关法律法规条例要求进行。

All animal experiments involved in this study have been reviewed and approved by the Experimental Animal Ethics Committee of Kunming Yan'an Hospital (Approval Letter No. 2014117). All experimental procedures were performed in accordance with the requirements of laws and regulations in China related to experimental animals, including the guidelines such as *Animal Management Regulations* (01/03/2017), *Laboratory Animal: Guideline for Ethical Review of Animal Welfare* (GB/T 35892-2018), and so on.

[作者贡献 Author Contribution]

罗庆祯负责实验设计及论文写作;章体玲参与动物实验及数据采集;丁云川参与动物实验及数据采集;陈剑参与数据采集与数据分析;赵丽参与动物实验;王庆慧负责课题和本论文的审核及把关。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] KANNEL W B, BELANGER A J. Epidemiology of heart failure [J]. *Am Heart J*, 1991, 121(3):951-957. DOI:10.1016/0002-8703(91)90225-7.
- [2] CONRAD N, JUDGE A, TRAN J, et al. Temporal trends and patterns in heart failure incidence: a population-based study of 4 million individuals[J]. *Lancet*, 2018, 391(10120): 572-580. DOI:10.1016/S0140-6736(17)32520-5.
- [3] DEALMEIDA A C, VAN OORT R J, WEHRENS X H. Transverse aortic constriction in mice[J]. *J Vis Exp*, 2010(38): 1729. DOI: 10.3791/1729.
- [4] WEINBERG E O, SCHOEN F J, GEORGE D, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure in rats with pressure overload hypertrophy due to ascending aortic stenosis[J]. *Circulation*, 1994, 90(3):1410-1422. DOI:10.1161/01.cir.90.3.1410.
- [5] 黄明,熊可,李霄,等.心力衰竭动物模型的研究进展[J]. *天津中医药大学学报*, 2019, 38(6):534-540. DOI:10.11656/j.issn.1673-9043.2019.06.05.
HUANG M, XIONG K, LI X, et al. Advances in animal models of heart failure[J]. *J Tianjin Univ Tradit Chin Med*, 2019, 38(6): 534-540. DOI:10.11656/j.issn.1673-9043.2019.06.05.
- [6] HU P, ZHANG D F, 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-H1269. DOI: 10.1152/ajpheart.00108.2003.
- [7] GROSS D R. *Animal models in cardiovascular research*[M]. 3rd ed. New York: Springer Science Business, 2009
- [8] 廉洪建,冯玄超,啜文静,等.创伤较小的小鼠主动脉弓缩窄术的建立[J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(2):42-45, 79. DOI:10.3969/j.issn.1671.7856.2015.002.011.
LIAN H J, FENG X C, CHUAI Wenjing, et al. Establishment of a mouse model of transverse aortic constriction with less invasive injury[J]. *Chin J Comp Med*, 2015, 25(2):42-45, 79. DOI: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.002.011.
- [9] 李柱锡,徐利军,贺行巍,等.高频超声在主动脉弓缩窄术诱导小鼠心力衰竭模型中的早期应用评估[J]. *中华实验外科杂志*, 2016(6):1611-1613.
LI Z X, XU L J, HE X W, et al. High frequency Doppler echocardiography in early evaluation of transverse aortic constriction in-duced heart failure mice[J]. *Chin J Exp Surg*, 2016(6):1611-1613.
- [10] GIRALDO A, TALAVERA LÓPEZ J, BROOKS G, et al. Transthoracic echocardiographic examination in the rabbit model[J]. *J Vis Exp*, 2019(148): e59457. DOI:10.3791/59457.
- [11] 徐洪,臧旺福.微创建立主动脉弓缩窄动物模型及超声评价[J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2012, 28(9):544-548. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-4497.2012.09.010.
XU H, ZANG W F. Establishment of mouse model of transverse aortic constriction in a minimally invasive way and echocardiographic assessment[J]. *Chin J Thorac Cardiovasc Surg*, 2012, 28(9): 544-548. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-4497.

- 2012.09.010.
- [12] MUKOYAMA M, NAKAO K, HOSODA K, et al. Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans. Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide[J]. J Clin Invest, 1991, 87(4):1402-1412. DOI:10.1172/JCI115146.
- [13] NAKAO K, MINOBE W, RODEN R, et al. Myosin heavy chain gene expression in human heart failure[J]. J Clin Invest, 1997, 100(9):2362-2370. DOI:10.1172/JCI119776.
- [14] BOZKURT B, COATS A J S, TSUTSUI H, et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association[J]. Eur J Heart Fail, 2021, 23(3): 352-380. DOI:10.1002/ehf.2115.
- [15] BAUMGARTNER H, HUNG J, BERMEJO J, et al. Echocardiographic assessment of valve stenosis: EAE/ASE recommendations for clinical practice[J]. Eur J Echocardiogr, 2009, 10(1): 1-25. DOI:10.1093/ejechocard/jen303.
- [16] 贺莉, 肖建民, 付晖, 等. 心肌梗厚心力衰竭兔室性心律失常与氧化应激[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2012, 26(5):427-430. DOI:10.13333/j.cnki.cjcpe.2012.05.016.
- HE L, XIAO J M, FU H, et al. Oxidative stress and ventricular arrhythmias in rabbits with myocardial hypertrophy or heart failure[J]. Chin J Cardiac Pacing Electrophysiol, 2012, 26(5): 427-430. DOI:10.13333/j.cnki.cjcpe.2012.05.016.
- [17] 张涛, 高长青, 李力兵. 兔慢性充血性心力衰竭模型的实验研究[J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(8):1946-1949.
- ZHANG T, GAO C Q, LI L B. Establishment of a rabbit model of congestive heart failure[J]. J South Med Univ, 2010, 30(8): 1946-1949.
- [18] HORTON J S, BUCKLEY C L, STOKES A J. Successful TRPV1 antagonist treatment for cardiac hypertrophy and heart failure in mice[J]. Channels (Austin), 2013, 7(1): 17-22. DOI: 10.4161/chan.23006.
- [19] MIRJAFARI H, WELSH P, VERSTAPPEN S M. N-terminal pro-brain-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) and mortality risk in early inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Registry (NOAR) [J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(4): 684-90. DOI:10.1136/annrheumdis-2012-202848.
- [20] REDA S M, GOLLAPUDI S K, CHANDRA M. Developmental increase in β -MHC enhances sarcomere length-dependent activation in the myocardium[J]. J Gen Physiol, 2019, 151(5): 635-644. DOI:10.1085/jgp.201812183.
- (收稿日期: 2022-02-24 修回日期: 2022-08-04)
(本文编辑: 丁宇菁, 富群华, 周烁)

《实验动物与比较医学》2023年征订启事

《实验动物与比较医学》(CN 31-1954/Q, ISSN 1674-5817)由上海科学院主管,上海市实验动物学会和上海实验动物研究中心联合主办,是我国实验动物科学及比较医学领域创刊最早的一本专业学术期刊。本刊目前是中国科技论文统计源期刊(即中国科技核心期刊),并被美国 Chemical Abstracts、美国 Ulrichsweb、英国 CAB Abstracts 和 Global Health、中国核心期刊数据库、中国科技期刊数据库、中国生物医学文献数据库、中国期刊全文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊网和万方医学网等收录,2020年入选中国医师协会发布的中国医药卫生“核心期刊”目录。

本刊兼顾理论与实践、普及与提高,刊登实验动物科学和比较医学领域的研究及应用新成果、新进展、新信息。期刊内容主要涉及人类疾病动物模型、实验动物资源开发与利用、实验动物管理、实验动物福利与伦理、动物实验技术与方法、实验动物医学、比较医学方法研究,以及以实验动物为基础的生物医药各领域基础与应用研究。设置栏目包括专家论坛、研究论著、综述、经验交流、实践与探索、技术与平台、政策与法规、标准与指南、人物、简报、动态与书讯等。读者对象为生物学、医学、药学、动物学和农学等各领域从事实验动物生产、繁育、检测和管理,以及应用实验动物进行比较医学研究的广大科技工作者、教育工作者和医学工作者。欢迎订阅!

本刊为双月刊,大16开,铜版纸,彩色印刷;全年出版6期,每期定价30元/本,全年定价180元/套。读者可在各地邮局订阅,邮发代号为4-789;也可以联系本刊编辑部购买,联系电话:021-50793657。E-mail:bjb50793657@163.com。编辑部地址:上海市浦东新区金科路3577号(邮编201203)。期刊官网地址: <http://www.slarc.org.cn/dwyx>。

《实验动物与比较医学》编辑部