

基于超声心动图技术评价食蟹猴急性心肌梗死模型左室结构和功能的变化

王成舟^{1,2}, 杨倩³, 张才乔^{4*}

(1. 浙江大学, 杭州 310009; 2. 浙江大学医学院附属第二医院科研部, 杭州 310009;
3. 浙江大学医学院附属第二医院心血管内科, 杭州 310009; 4. 浙江大学动物科学学院, 杭州 310029)

【摘要】 目的 利用超声心动图技术观察急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 食蟹猴的左心室功能的变化, 为食蟹猴 AMI 模型的应用提供参考。**方法** 分别对食蟹猴 AMI 模型建模前、建模后 3 天及建模后 1 个月进行超声心动图检查, 观察左心室形态学、血流动力学、二尖瓣口血流速度和瓣环组织运动速度等的变化。**结果** 与建模前相比, 建模后 3 天食蟹猴左心室舒张末期后壁厚度 (LV posterior wall thickness at end-diastole, LVPWd) 显著增加 ($P < 0.05$), 左心室收缩末期内径 (LV internal diameter at end-systole, LVIDs) 建模 1 个月后显著增加 ($P < 0.05$), 同时, 食蟹猴建模后 3 d 和 1 个月时左心室射血分数 (LV ejection fraction, LVEF)、每搏输出量 (stroke volume, SV)、左心室短轴缩短分数 (LV fractional shortening, LVFS) 均有显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 建模后 1 个月心排量 (cardiac output, CO) 明显降低 ($P < 0.05$), 而建模 3 d 时心率 (heart rate, HR) 明显升高 ($P < 0.05$)。**结论** 超声心动图技术可以应用于食蟹猴 AMI 模型左心室功能的评价; 尤其是 LVEF、SV、LVFS 指标能反映 AMI 程度; 食蟹猴 AMI 模型超声心动图评价结果与人类的 AMI 疾病超声心动图检查结果相类似。

【关键词】 食蟹猴; 急性心肌梗死; 超声心动图; 动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018)12-0084-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.12.014

Evaluation of the left ventricular structure and function in cynomolgus monkeys with acute myocardial infarction based on echocardiography

WANG Chengzhou^{1,2}, YANG Qian³, ZHANG Caiqiao^{4*}

(1. Zhejiang University, Hangzhou 310009, China; 2. Department of Scientific Research, Second Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009; 3. Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009; 4. College of Animal Sciences Zhejiang University, Hangzhou 310029)

【Abstract】 Objective Echocardiographic techniques were used to study the changes in left ventricular (LV) function of cynomolgus monkeys with acute myocardial infarction (AMI), providing a reference for application of the cynomolgus monkey AMI model. **Methods** Cynomolgus monkeys were subjected to echocardiography before surgery, and the changes in LV morphology, LV hemodynamics, transmitral peak inflow velocity, and mitral annulus velocity were determined at 3 days and 1 month after modeling. **Results** Compared with that before modeling, the LVPWd of cynomolgus monkeys was increased significantly at 3 days after modeling ($P < 0.05$), and LVIDs were significantly

[作者简介] 王成舟 (1973—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 动物兽医学。E-mail: wcz_z2@126.com

[通信作者] 张才乔 (1965—), 男, 教授, 研究方向: 动物生理学。E-mail: cqzhang@zju.edu.cn

increased at 1 month after modeling ($P < 0.05$). LVEF, SV, and LVFS indexes of the cynomolgus monkeys were significantly decreased at 3 days and 1 month after modeling ($P < 0.05$, $P < 0.01$). CO was significantly decreased at 1 month after modeling ($P < 0.05$), whereas HR was significantly increased at 3 days after modeling ($P < 0.05$).

Conclusions Echocardiographic techniques can be applied to LV cardiac function evaluation in the cynomolgus monkey AMI model. In particular, the indexes of LVEF, SV, and LVFS reflect the extent of AMI. The results of echocardiographic evaluation in the cynomolgus monkey AMI model are similar to those of human AMI.

【Keywords】 cynomolgus monkey; AMI; echocardiography; animal model

随着社会的高速发展和竞争力的不断增加,人们在生活、工作和情感等各方面的压力也逐渐陡升,促使心肌梗死的发病逐渐增加,并趋于年轻化。心肌梗死是由于心肌严重缺血二导致心肌部分坏死,该病具有发病率高、预后差和死亡率高等特点,已严重威胁患者的生命健康。超声心动图作为急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)的检查方法之一,具有无创、准确、廉价、操作简便、快速、可重复性好等特点^[1],可准确预测缺血性左心室(left ventricular, LV)功能状态^[2],利用不同超声模式及方法能够实现心脏的几何形态学结构、二尖瓣口血流信息、瓣环组织的运动信息的显示与测量,常规的二维及 M 型超声就能检查出心功能的主要常用指标,频谱多普勒通过其血流频谱曲线能掌握血流的方向、性质及流速,组织多普勒利用高通滤波器,滤过血流信息,只显示心肌运动,而不显示血流,能显示瓣环组织运动情况等,能提供较为全面的心血管信息,对 AMI 的诊断具有重要的参考价值。

近来,超声心动图检测在实验动物心脏生理结构和疾病模型评价中也体现出较高的应用价值,如王蕾等^[3]基于超声心动图筛选和早期评价大鼠心肌梗模型。食蟹猴(cynomolgus monkeys)作为非人灵长类动物,在脑出血、干细胞移植、器官移植、神经系统及病毒等研究方面应用较广^[4],而在 AMI 模型研究中研究甚少。因此,本文利用左前冠脉结扎术建立食蟹猴急性心肌梗死模型,并基于超声心动图技术评价该模型左室结构和功能的变化,为食蟹猴 AMI 模型评价提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

取健康成年雄性食蟹猴 6 只,年龄 5~6 岁,体重 5~7 kg,来源于苏州西山中科实验动物有限公司[SCXK(苏)(2012-0009)],动物质量合格号:0000694,饲养于浙江大学医学院附属第二医院动物

实验中心普通环境中[SYXK(浙)2014-0004]。单笼饲养,自由饮水、采食。饲养室温度(21 ± 3)℃,相对湿度(55 ± 15)%,猴维持饲料(由北京科奥协力饲料有限公司提供)一日二餐饲喂,中间一餐水果,实验动物使用按照 3R 原则给予人道的关怀照顾。

1.2 主要仪器

采用 PHILIPS IE Elite 彩色超声诊断仪,选用 X7-2 探头(频谱范围 2~7 MHz)。

1.3 实验方法

1.3.1 AMI 模型的制备

术前禁食不禁水 12 h 后,肌肉注射 0.2 mg/kg 米达唑仑、0.04 mg/kg 硫酸阿托品注射液和 5 mg/kg 盐酸氯胺酮注射液联合诱导镇静麻醉,然后行气管插管,连接呼吸麻醉机,用 1.5%~2.5% 异氟烷气体维持麻醉,并用监护仪进行生命体征监护。胸部术区消毒后,于左胸第 4 肋处逐层开胸,用开胸器扩开,尽量暴露心脏,于左前降支第一对角支与第二对角支之间结扎,以达到心尖区心尖变白及 II 导联心电图 ST 段抬起为标准。手术结束后注射盐酸吗啡注射液 1 mg/kg 皮下注射,防止心梗带来的剧痛。术后每天进行笼前观察行为状态,并且每天用碘伏对创口进行消毒,同时肌注 80 万单位青霉素钠,每天 2 次,连续 3 d。

1.3.2 超声心动图采集节点

分别于建模前、建模后 3 d 及建模后 1 个月进行超声心动图检查。

1.3.3 超声心动图采集前的准备

给予盐酸赛拉嗪注射液 0.75 mg/kg 肌注,10 min 后给予盐酸氯胺酮注射 10 mg/kg 肌注。麻醉后贴电极部位被毛剃干净,连接电极同步记录 II 导联心电图。

1.3.4 超声心动图采集方法

检测探头放置在食蟹猴胸骨旁,调整探头扫查方向,同时调节增益,使显示屏上显示清晰的左心室外轮廓,分别采集以下图像:胸骨旁左室长轴

切面、胸骨旁短轴切面(二尖瓣水平、腱索乳头肌水平及心尖水平)、心尖部位心尖四腔心切面、心尖两腔心切面及心尖三腔心切面,在心率稳定时记录连续 3 个完整的心动周期二维动态图像。在心尖 4 腔心切面多普勒模式下将 PWD 取样容积置于二尖瓣口处测取血流频谱速度,记录二尖瓣口血流频谱图像。在心尖 4 腔心切面组织多普勒(DTI)模式下将 PWD 取样容积置于二尖瓣环间隔、侧壁,记录二尖瓣环组织运动速度图像,以上图像存入硬盘,脱机离线分析。

1.4 统计学分析

实验数据以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用 IBM SPSS Statistics 19 软件进行统计分析,采用 ANOVA 单因素方差分析和两两比较采用 L-S-D 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 左室几何形态学的变化

本实验 6 只食蟹猴,其中 1 只在术后第 5 天发现死亡,剩余 5 只造模成功,存活至 1 个月,故剔除术后 5 d 死亡的动物数据。与建模前相比,建模后 3 天食蟹猴 LVPWd 显著增加($P < 0.05$),LVIDs 建模 1 个月后显著增加($P < 0.05$),而 LVIDd、LVPWs、LVEDV、LVESV 和 LVM 均有所增加,但与建模前比

均无显著性差异($P > 0.05$)(表 1)。

2.2 左室血流动力学结果

与建模前相比,食蟹猴建模后 3 d 和 1 个月时 LVEF、SV、LVFS 均有显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);同时,建模后 1 个月 CO 明显降低($P < 0.05$),而建模 3 d 时 HR 明显升高($P < 0.05$)(表 2)。

2.3 二尖瓣口血流峰速及瓣环组织运动速度结果

与建模前比,建模后 1 个月食蟹猴二尖瓣口血流峰速及瓣环组织运动速度指标对比均无统计学差异($P > 0.05$)(表 3)。

3 讨论

食蟹猴体型大小与人类婴幼儿相当,通过左胸骨旁及心尖体表能有较好的超声视窗,同时使用高频率超声探头测得的超声心动图像比较清晰,为心超图像的可靠采集和分析提供了检查基础。由于正常雄性食蟹猴平均心率在(162 ± 21) bpm^[5],根据心超检测的要求心率一般控制在 120 bpm 以下,能得到最佳图像采集。盐酸赛拉嗪具有降低心率、镇痛镇静和肌松的作用^[6],因此,本研究采用盐酸赛拉嗪和盐酸氯胺酮复合麻醉能满足检测所需时长的要求。故在 3 次心超检测中同麻醉剂量条件下,发现术前和术后 1 个月的检测心率均能够降到检测

表 1 左心室几何形态学指标比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)
Table 1 Comparison of the LV geometric morphology indexes

指标 Index	建模前 Before modeling	建模后 3 天 3 days after modeling	建模后 1 个月 1 month after modeling
舒张末期室间隔厚度(cm), IVSd Inter ventricular septum thickness at end-diastole	0.39 ± 0.02	0.37 ± 0.04	0.37 ± 0.04
左心室舒张末期内径(cm), LVIDd LV internal diameter at end-diastole	2.05 ± 0.15	2.06 ± 0.22	2.20 ± 0.08
左心室舒张末期后壁厚度(cm), LVPWd LV posterior wall thickness at end-diastole	0.35 ± 0.03	0.40 ± 0.04 *	0.39 ± 0.04
收缩末期室间隔厚度(cm), IVSs Inter ventricular septal thickness at end-systole	0.46 ± 0.04	0.48 ± 0.11	0.45 ± 0.07
左心室收缩末期内径(cm), LVIDs LV internal diameter at end-systole	1.49 ± 0.11	1.68 ± 0.25	1.73 ± 0.15 *
左心室收缩末期后壁厚度(cm), LVPWs LV posterior wall thickness at end-systole	0.50 ± 0.05	0.55 ± 0.05	0.54 ± 0.08
左心室舒张期末容积(mL), LVEDV LV end-diastolic Volume	6.50 ± 0.50	6.40 ± 1.67	7.20 ± 1.64
左心室收缩期末容积(mL), LVESV LV end-systolic Volume	3.42 ± 1.07	4.00 ± 1.00	4.20 ± 1.30
左心室心肌质量(g), LVM LV mass	11.27 ± 1.91	12.58 ± 3.12	13.70 ± 1.63

注:与建模前相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。
Note. Compared with that before modeling, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 左心室血流动力学指标比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)
Table 2 Comparison of the LV hemodynamics indexes

指标 Index	建模前 Before modeling	建模后 3 天 3 days after modeling	建模后 1 个月 1 month after modeling
左心室射血分数(%) , LVEF (LV ejection fraction)	58. 80 $\pm$ 5. 02	37. 20 $\pm$ 6. 06 **	42. 60 $\pm$ 10. 48 **
每搏输出量(ml) , SV (stroke volume)	4. 98 $\pm$ 1. 05	2. 40 $\pm$ 0. 89 **	3. 00 $\pm$ 0. 71 **
心排血量(ml) , CO (cardiac output)	549 $\pm$ 165	375 $\pm$ 171	322 $\pm$ 74 *
左室短轴缩短分数(%) , LVFS LV fractional shortening	29. 32 $\pm$ 2. 70	17. 68 $\pm$ 4. 99 **	22. 90 $\pm$ 4. 75 **
心率(bpm) , HR (heart rate)	101. 75 $\pm$ 10. 87	153. 60 $\pm$ 12. 78 **	108. 60 $\pm$ 14. 47

注:与建模前相比, * $P < 0. 05$, ** $P < 0. 01$ 。
Note. Compared with that before modeling, * $P < 0. 05$, ** $P < 0. 01$.

表 3 二尖瓣口血流峰速及瓣环组织运动速度指标比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)
Table 3 Comparison of transmitral peak inflow and mitral annulus velocities

指标 Index	建模前 Before modeling	建模后 1 个月 1 month after modeling
二尖瓣舒张早期血流峰速(cm/s) ,E peak Transmitral diastolic early peak inflow velocity	74. 76 $\pm$ 15. 33	78. 82 $\pm$ 10. 51
二尖瓣舒张晚期血流峰速(cm/s) ,A peak Transmitral diastolic late peak inflow velocity	34. 78 $\pm$ 7. 89	32. 00 $\pm$ 8. 13
二尖瓣舒张早期与舒张晚期血流峰速比,E/A Ratio of transmitral diastolic early and late peak inflow velocity	2. 26 $\pm$ 0. 68	2. 58 $\pm$ 0. 64
E 波减速时间(ms) ,E DT E wave deceleration Time	91. 00 $\pm$ 8. 04	79. 80 $\pm$ 9. 55
等容舒张期时间(ms) ,IVRT Isovolumic relaxation Time	69. 40 $\pm$ 19. 73	84. 80 $\pm$ 25. 09
等容收缩期时间(ms) ,IVCT Isovolumic contraction Time	52. 00 $\pm$ 21. 64	67. 60 $\pm$ 13. 16
二尖瓣瓣环舒张早期运动速度(cm/s) ,Ea Early diastolic velocities of mitral annulus	7. 70 $\pm$ 2. 34	7. 94 $\pm$ 2. 99
二尖瓣瓣环舒张晚期运动速度(cm/s) ,Aa Late diastolic velocities of mitral annulus	4. 65 $\pm$ 1. 00	7. 07 $\pm$ 5. 96
舒张早期二尖瓣血流峰速与瓣环运动速度比,E/Ea Ratio of mitral velocity to early diastolic velocity of mitral annulus	10. 21 $\pm$ 2. 41	11. 14 $\pm$ 4. 49

要求,而术后 3 天的心率仍处于较高水平;这可能与急性心梗发作期心率过快^[7-8],且易并发心律失常,而术后 1 个月后心率略高于造模前,这可能与心肌代偿和缺血预适应有关,究其机理还需要进一步研究。

众所周知,心肌梗死后心脏功能性的代偿机制被激活,使得心室负荷加重,同时在非梗死区的心肌细胞和细胞外基质均会出现相应的改变,即心室重构^[9]。在本研究中,利用超声心动图检测了食蟹猴心梗前后心脏几何形态学的结构变化,结果显示 AMI 后食蟹猴 LVPWd 显著增加,且建模后 1 个月 LVIDs 亦明显减少,同时 LVIDd、LVPWs、LVEDV、LVESV 和 LVM 指标与建模前比均有所增加,证实

了食蟹猴在心梗后也同样发生了心室重构,这与临床显示心梗患者发生心室重构较为一致^[9]。

另外,心肌梗死后泵血功能的强弱是诱发心力衰竭的危险因素。射血分数(LVEF)不仅反映左室泵血能力,也是预测 AMI 后心脏猝死发生的独立危险因子,LVEF 降低则会导致心脏负荷增加,引起心功能不全,加剧心源性猝死;另外,左室短轴缩短率(LVFS)的降低也提示了冠脉供血不足^[10]。在本研究中也观察到 AMI 食蟹猴的 LVEF 和 LVFS 指标均出现明显降低,提示食蟹猴心梗后心脏负荷明显增加,并伴随着冠脉供血不足,加剧心肌缺血缺氧,导致心功能不全或加剧心力衰竭发生。此外,心排出量(CO)和每搏输出量(SV)也

是反映心脏泵血功能的重要指标,CO 在心梗后表现为血流动力学的改变,而 SV 则受心肌收缩力和心脏前后负荷的影响,其变化程度与心肌受损程度密切相关。研究发现心梗后食蟹猴术后 3 d 其 CO 下降了 31.7%,并在术后 1 个月时继续下降至 41.3%,同时 SV 在术后均呈现出明显的降低,进一步证实了 AMI 后食蟹猴的心脏功能发生明显的紊乱,并致心功能恶化,这与前面的 LVEF 和 LVFS 指标改变较为一致。

此外,心肌梗死后舒张早期最大峰值速度 E 峰可反映心室舒张情况,舒张晚期最大峰值速度 A 峰则反映心房收缩。据吴玮^[11]等研究显示在 AMI 患者中二尖瓣舒张早期最大流速 E 峰上升,A 峰下降,E/A 值上升,EDT 值变短。同样在本研究食蟹猴 AMI 模型中观察到类似的结果,表现为二尖瓣 E 峰上升,A 峰下降,E/A 值上升和 E DT 值变短,表明食蟹猴的心室舒张功能和顺应性明显降低。郭江鸿^[12]研究发现心肌缺血患者 IVRT 明显延长;同时当主动脉压增高或心肌收缩力降低时,等容收缩期 IVCT 延长。在本研究也发现食蟹猴 AMI 后 IVRT 和 IVCT 均出现延长的趋势,分别延长了 22.2% 和 30.0%,进一步表明 AMI 食蟹猴出现心肌收缩力的下降。Ea 是反映舒张功能的舒张早期速度,而 Aa 是反映舒张晚期速度,且二尖瓣后血流 E/A 比值可判定左心室舒张功能,其比值与左室舒张末期压相关。本研究结果显示,AMI 后食蟹猴 Ea 未见明显的变化,而 Aa 和 E/Ea 比值均出现升高趋势,说明食蟹猴 AMI 后心室舒张功能降低,这与临床心力衰竭患者表现较为一致^[13]。

通过超声心动图测定食蟹猴急性心肌梗死后左心室室壁腔径几何形态、血流动力学、二尖瓣口血流及瓣环运动的演变规律,有利于这一模型的超声量化规律应用及指导非临床实践中。虽然本研究的不足之处由于食蟹猴价格昂贵,使得食蟹猴 AMI 造模及心超检测数量不足,然而总体而言,该研究的检查结果基本符合人类的急性心肌梗死事

件中心功能指标变化规律,间接也证实了食蟹猴心功能与人类的相似性及该模型的应用价值。

参考文献:

- [1] Park Y, Lee M, Kim M H, et al. Analysis of semantic relations between multimodal medical images based on coronary anatomy for acute myocardial infarction [J]. J Inf Process Syst, 2016, 12 (1):129-148.
- [2] Altiok E, Tiemann S, Becker M, et al. Myocardial deformation imaging by two-dimensional speckle-tracking echocardiography for prediction of global and segmental functional changes after acute myocardial infarction: A comparison with late gadolinium enhancement cardiac magnetic resonance [J]. J Am Soc Echocardiogr, 2014, 27(3):249-257.
- [3] 王蕾,赵明镜,杨涛,等. 从心电图和超声心动图相关性分析研究心肌梗死后心衰模型的早期评价和筛选方法[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2017,15(22):2816-2820.
- [4] 石巧娟,李巍,萨晓婴. 食蟹猴在医学研究中的应用进展[J]. 实验动物与比较医学, 2012,32(4):358-365.
- [5] 李岩,何君,孙井江,等. 实验用食蟹猴生物学指标的研究[J]. 现代预防医学,2010,37(13):2503-2505.
- [6] 何菡旦,屠世忠. 静脉麻醉药-赛拉唑类似物的合成及其构效关系[J]. 中国医药工业杂志,1992,(5):208-211.
- [7] 冯芸,陈世伟. 心率与急性心肌梗死预后的关系[J]. 医药前沿,2013,(25):203-204.
- [8] 王淑斐,许金成,陈紫平,等. 静息心率与急性心肌梗死关系的临床探讨[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志,2008,(3):232-234.
- [9] 刘涛,张敏,徐栋,等. 运动促进慢性心衰大鼠心肌线粒体生物合成与心肌重构[J]. 中国运动医学杂志,2011,30(3):250-256.
- [10] 王奕,贾卫东. 超声心动图左室短轴缩短率减低与冠状动脉不足具有直关性[J]. 中国医药咨询, 2011,3(6):329-329.
- [11] 吴玮. 多普勒超声心动图对急性心肌梗死患者左室舒张功能的评价[J]. 中国临床医学影像杂志,2003,14(1):21-23.
- [12] 郭江鸿. 组织多普勒显像对心肌缺血的价值分析[J]. 中国实用医药,2011,6(2):121-122.
- [13] 胡喜田,张国茹,计承,等. 冠心病患者舒张早期左室舒张末压与二尖瓣血流速度/二尖瓣环运动速度比值的相关性[J]. 山东医药, 2009, 49(41):7-9.

[收稿日期]2018-05-22