

刘景艳,朱亮,蔡月琴,等. 不同因素对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥大模型建立影响的比较研究[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(5): 651-658.

Liu JY, Zhu L, Cai YQ, et al. A comparative study on the effects of different factors on isoproterenol-induced myocardial hypertrophy model in rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(5): 651-658.

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2020.05.010

不同因素对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥大模型建立影响的比较研究

刘景艳,朱亮,蔡月琴,张利棕,富丹婷,蔡兆伟*,王德军*

(浙江中医药大学动物实验研究中心/比较医学研究所,杭州 310053)

【摘要】 目的 观察和比较不同性别和注射剂量对异丙肾上腺素(ISO)诱导的大鼠心肌肥大模型建立的影响。**方法** 分别取雌性和雄性SD大鼠,随机分为三组,正常组、低剂量组(1.25 mg/kg)和高剂量组(5 mg/kg)。ISO皮下注射10 d后,比较超声心动图、血流动力学、组织病理学和实时荧光定量PCR等结果在不同因素影响下的差异。**结果** (1)高、低剂量ISO处理后,大鼠心脏重量各参数、室间隔厚度、心肌细胞面积、心肌纤维化程度以及肥大基因(ANP、BNP)mRNA表达水平均显著增大($P < 0.01$),而左室心功能均显著降低($P < 0.01$);(2)雌性大鼠左室重量/体重,室间隔厚度,左室收缩末压(LVESP),左心室最大舒张速率(-dp/dtmax)以及ANP基因表达水平变化呈明显的剂量依赖关系($P < 0.01$),雌性大鼠仅左室收缩末压(LVEDP),左心室最大舒张速率(dp/dtmax)变化与剂量相关,即雌性低剂量组心功能降低更为明显($P < 0.01$);(3)注射低剂量ISO时,雌性大鼠心功能降低比雄性大鼠更为明显($P < 0.01$);而注射高剂量ISO时,雄性大鼠左室重量/体重以及ANP基因表达增加比雌性大鼠更为显著($P < 0.01$);(4)雄性大鼠低、高剂量组存活率分别为63.6%、81.8%,雌性低、高剂量存活率则分别为63.6%、55.0%,正常组动物均无死亡。**结论** ISO注射剂量不同对雄性大鼠心肌肥大程度影响较大,但对雌性大鼠影响较小。造模时雄性大鼠选择5 mg/kg剂量、雌性大鼠选择1.25 mg/kg剂量,建立ISO诱导的大鼠心肌肥大模型效果相对较好。

【关键词】 异丙肾上腺素;剂量;性别;心肌肥大;大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)05-0650-08

A comparative study on the effects of different factors on isoproterenol-induced myocardial hypertrophy model in rats

LIU Jingyan, ZHU Liang, CAI Yueqin, ZHANG Lizong, FU Danting, CAI Zhaowei*, WANG Dejun*

(Laboratory Animal Research Center/Institute of Comparative Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Corresponding author: CAI Zhaowei. E-mail: zwc ai@zcmu.edu.cn; WANG Dejun. E-mail: wdj0369@126.com

【Abstract】 Objective To observe and compare the effects of gender and injection doses on isoproterenol (ISO) induced cardiac hypertrophy model in rats. **Methods** Male and female SD rats were randomly divided into three groups as follows: normal control group, low dose of group (1.25 mg/kg) and high dose of group (5 mg/kg). Ten days after the subcutaneous injection of ISO, the differences in the parameters from echocardiography, hemodynamics, histopathology and

【基金项目】浙江省基础公益技术应用研究计划项目(LGD20C040005),浙江省医药卫生科技计划项目(2019KY467)。

Funded by Zhejiang Provincial Basic Public Welfare Technology Application and Research Plan Project (LGD20C040005), Zhejiang Provincial Medicine Science and Technology Plan Project (2019KY467).

【作者简介】刘景艳(1995—),女,在读硕士研究生,研究方向:实验动物与比较药理。Email: 13588813062@163.com

【通信作者】王德军(1975—),男,正高级实验师,研究方向:实验动物与比较药理。Email: wdj0369@126.com;

蔡兆伟(1983—),男,副研究员,研究方向:实验动物与比较药理。Email: zwc ai@zcmu.edu.cn。

* 共同通信作者

Real-time PCR were compared. **Results** (1) After treatment with two doses of ISO, various parameters of heart weight, interventricular septum thickness, myocardial cell area, myocardial fibrosis and mRNA expression levels of ANP and BNP were significantly increased ($P < 0.01$), while left ventricular function was significantly reduced in rats ($P < 0.01$). (2) The changes of left ventricular weight/body weight, interventricular septum thickness, left ventricular end-systolic pressure (LVESP), left ventricular pressure maximal rate of fall (-dp/dtmax) and ANP mRNA expression were significantly increased or decreased in a dose-dependent manner in male rats ($P < 0.01$). However, only the left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP), left ventricular pressure maximal rate of fall (dp/dtmax) was decreased in a dose-dependent manner in female rats. (3) Female rats exhibit a severe reduction in cardiac function than male rats when injected with low-dose of ISO ($P < 0.01$). In contrast, male rats exhibited a significant increase in left ventricular weight/body weight and ANP mRNA expression than female rats when injected with high-dose of ISO ($P < 0.01$). (4) In male rats, the survival rate of low- and high- dose of groups of ISO were 63.6% and 81.8%, respectively. The survival rate of low- and high- dose of groups in female rats were 63.6% and 55.0%, respectively. Moreover, no rats died in the normal group. **Conclusions** The dose of injection has a greater effect on the degree of cardiac hypertrophy in male rats induced by ISO. It is best to choose a dose of 5 mg/kg for male rats and 1.25 mg/kg for female rats to establish an ISO-induced cardiac hypertrophy model.

【Keywords】 isoproterenol; dose; gender; cardiac hypertrophy; rat

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

心血管疾病死亡率居于疾病死亡构成的首位,是威胁我国居民健康的头号杀手^[1]。心肌肥大(cardiac hypertrophy, CH)是多种心血管疾病共有的病理特征,指心脏应对持续增加的心脏负荷的一种适应性代偿反应,主要表现为心肌细胞体积增大、心脏重量增加、间质细胞增生以及心肌重构等^[2]。当长期负荷过重时,心脏会失代偿,心脏收缩功能衰退最终会导致心力衰竭,增加猝死发生率。虽然心肌肥大是最终导致心衰和死亡的主要原因,但由于其发生机制复杂,迄今没有有效防治心肌肥大的方法。因此,深入探讨影响心肌肥大发病的因素及其机制对防治心衰等心血管疾病显得极为重要。

建立稳定、可靠的动物模型是深入研究心肌肥大发病机制的关键环节。异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)是一种构建心肌肥大模型的常用药物,可导致大鼠心肌损伤坏死、纤维化及心室重构,同时伴随着心脏功能下降,表现出许多与人类心肌肥大相似的代谢和形态学异常^[3-5]。目前皮下注射 ISO 诱导建立心肌肥大动物模型相关的研究较多,但使用的注射剂量差别很大,1 ~ 10 mg/kg 范围均有报道。剂量过高或低对模型影响如何、动物存活率或死亡率之间是否有差异并不是十分清楚,缺乏客观有效的实验依据。另外,性别差异是近年来心血管疾病研究中容易忽视的科研盲点,并且也是导致很多动物实验结果难以重复的重要原因之一。研究发现,在容量负荷性大鼠和压力负荷性小鼠模型中,雌鼠多发生向心性肥大而雄鼠倾向于离

心性肥大,并且雌鼠具有更高的室壁厚度^[6-7]。Fliegner 等^[8]在慢性压力负荷引起的 CH 小鼠实验中发现,雄性小鼠相比雌鼠具有更多的心肌纤维化和凋亡。这些研究表明,注射剂量或性别不同对动物心肌肥大模型的建立都有显著影响,但 ISO 注射剂量高低对不同性别大鼠心肌肥大模型建立的影响如何却仍未见报道。

本项目采用不同剂量 ISO 进行颈背部皮下注射,建立雌性和雄性 SD 大鼠心肌肥大模型,观测超声心动图、血流动力学、心脏指数及组织病理学指标以及肥大基因(ANP、BNP) mRNA 表达水平的改变,通过比较不同性别和注射剂量因素对大鼠心肌肥大模型建立影响的差异,为探索和优化大鼠心肌肥大模型的建立方法以及进一步研究心肌肥大的发病机制提供依据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性和雌性 SD 大鼠 56 只,6 ~ 8 周龄,体重 200 ~ 220 g,由中国科学院上海实验动物中心/上海斯莱克实验动物有限公司提供【SCXK(沪)2017-0005】。饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心【SYXK(浙)2018-0012】,环境温度(22 ± 2)℃,相对湿度 50% ~ 60%,光照:12 h/12 h 明暗交替,噪声 < 50 dB;在 IVC 笼内饲养,自由饮食。所有实验步骤均按照中国关于实验动物使用和护

理的立法进行,并经浙江中医药大学动物福利与伦理审查委员会批准(编号: IACUC-20190826-09)。

1.1.2 实验试剂

异氟烷(江苏恒丰强生物技术有限公司, 20190801),乌拉坦(上海国药集团化学试剂有限公司, 20130609), ISO(SIGMA 公司, I5627-5G) Masson 三色染色液(珠海贝索生物技术有限公司, 20181026), 苏木色精(上海伯奥生物科技有限公司, 180701), 曙红 Y(国药集团化学试剂有限公司, 20171112), DEPC 处理水(生工生物工程(上海)股份有限公司, E625BA0016), 逆转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司, RR036A), 荧光定量试剂盒(日本 TaKaRa 公司, RR820A)。

1.1.3 实验仪器

Vevo2100 小动物超声影像系统(Visual Sonics, 加拿大); ALC-NIBP(8 道)无创血压测定系统(上海奥尔科特生物科技有限公司, 中国); ASP200S 封闭式组织脱水机(Microm, 德国); 包埋机(Microm, 德国); 半自动石蜡切片机(Microm, 德国); 自动染色机(Microm, 德国); 数字病理切片(荧光)扫描分析仪(VS120-S6-W, Olympus, 日本); iQ5 型 RT-PCR 仪和 PTC-200 型 PCR 仪(美国 BIO-Rad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及实验干预

SD 大鼠分为 6 组: 雄性正常组(M C 组, $n=6$)、雄性 1.25 mg/kg(M 1.25 mg/kg 组, $n=11$)、雄性 5 mg/kg(M 5 mg/kg 组, $n=11$)、雌性正常组(F C 组, $n=6$)、雌性 1.25 mg/kg(F 1.25 mg/kg, $n=11$)、雌性 5 mg/kg(F 5 mg/kg, $n=11$) 模型组颈背部皮下注射 ISO, 正常组注射等量生理盐水, ISO 干粉用生理盐水配置(2.5 mg/mL), 连续注射 10 d, 期间大鼠自由饮食。每组随机选取仍存活大鼠各 6 只, 进行相关统计学数据分析。

1.2.2 大鼠的一般情况观察

每天观察记录大鼠体重, 注射 ISO 后饮食, 活动, 毛色, 粪便, 死亡等情况。

1.2.3 心脏重量参数测定

检测结束后, 处死动物并迅速剖开胸腔取出心脏, 剪去心房及周围结缔组织后用预冷的生理盐水冲洗心脏后用滤纸吸干, 肉眼观察心脏大小并拍照, 称重, 电子天平准确称量全心重量(heart weight, HW), 去除游离右心室后, 称取左心室的重量(left ventricular weight, LVW), 计算游离右心室重量

(right ventricular weight, RVW)、全心重量/体重的比值(HW/BW)、左心室重量/体重的比值(LVW/BW)、游离右心室重量/体重的比值(RVW/BW)。

1.2.4 大鼠超声心动图测定

用高分辨率小动物超声影像系统, 在二尖瓣腱索水平记录 M 型超声心动图, 分别测量左室舒张末期室间隔厚度(left ventricular end-diastolic interventricular septal thickness, IVSd)、左室收缩末期室间隔厚度(left ventricular end-systolic interventricular septal thickness, IVSs)、左室后壁舒张末期厚度(left ventricular end-diastolic posterior wall thickness, LVPWd)、左室后壁收缩末期厚度(left ventricular end-systolic posterior wall thickness, LVPWs)连续 3 个心动周期的指标并取平均值。

1.2.5 大鼠心肌组织 ANP 和 BNP 基因 mRNA 表达水平

TRIzol 法提取大鼠心肌组织总 RNA, 用逆转录试剂盒 Prime Script™ RT reagent 逆转录为 cDNA, 使用表 1 列出的引物将 cDNA 用实时荧光定量 PCR 仪进行 Real time PCR 扩增, 所有反应信息资料由 ABI StepOnePlus PCR 仪收集, 以 GAPDH 基因作为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算各组大鼠心肌组织 ANP 和 BNP 基因 mRNA 相对表达量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 1 Real-time PCR primer sequences	
引物 Primer	引物序列 Primer sequences
ANP	F:5'-TGGGGAAGTCAACCCGCTCAG-3' R:5'-GCCAGCAGAGCCCTCACTTG-3'
BNP	F:5'-GATCTCCAGAAGGTGCTGCC-5' R:5'-GCAGCTTCTGCATCGTGA-3'
GAPDH	F:5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3' R:5'-ATGGTGTGAAGACGCCAGTA-3'

1.2.6 大鼠血流动力学测定

20% 乌拉坦麻醉大鼠(5 mg/kg), 自颈中线切开皮肤, 将微型导管经右颈总动脉插入直至左心室。稳定 5 min 后, 测量大鼠心率(heart rate, HR)、左室收缩末压(left ventricular end-systolic pressure, LVESP)、左室舒张末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、左心室最大收缩速率(left ventricular pressure maximal rate of rise, dp/dtmax)、左心室最大舒张速率(left ventricular pressure maximal rate of fall, -dp/dtmax)等血流动力学指标。

1.2.7 大鼠心脏病理学观察

取心脏非心尖部分进行常规 H&E 和 Masson 染色后于光学显微镜下行心脏组织病理学观察。测量室间隔侧心内膜下层心肌细胞面积(选取近圆形细胞 40 个)、纤维化程度(计算纤维化区域 10 个镜头下的纤维化程度),取其平均值作为应测指标。

1.3 统计学分析

实验数据及图片使用 GraphPad Prism 8 和 Image-Pro Plus 6 软件处理,结果均采用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 One-way ANOVA 方差分析,存活率采用 log-rank 检验, $P < 0.05$ 表明差异具有显著性。

2 结果

2.1 大鼠一般情况观察

实验中发现,皮下注射 ISO 后,大鼠出现气喘,活动减少,饮水量增加,呼吸加快,口、鼻处有血性分泌物,猝死一般发生在注射 ISO 后 15 ~ 35 min 内,解剖可见肺部明显水肿和出血。由图 1 可见,正常组无死亡情况,雄性低、高剂量组存活率分别为 63.6%、81.8%,雌性低、高剂量存活率分别为 63.6%、55.0%。结果表明,雄性大鼠高剂量组存活率高,而雌性大鼠低剂量组存活率高,但各 ISO 处理

组存活率之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

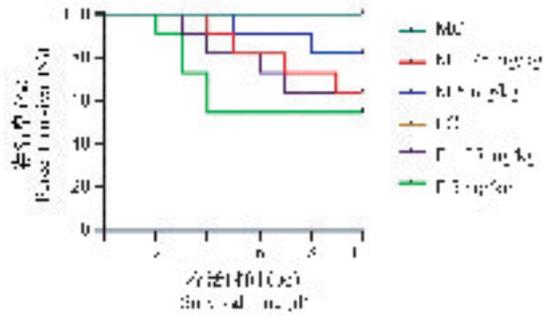


图 1 ISO 对大鼠存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Figure 1 Effect of ISO on rat survival rate ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

2.2 大鼠心肌肥大情况

由图 2 可见,各正常组大鼠心脏形态、大小无异常,而 ISO 处理组心脏体积均有不同程度的增大,且心尖外观局部可见灰白色。无论性别如何,两种剂量模型组大鼠 HW/BW、LVW/BW、RVW/BW 均显著高于正常组 ($P < 0.01$);雄性高剂量组大鼠 HW/BW 和 LVW/BW 值显著高于低剂量组 ($P < 0.01$),雌性大鼠高、低剂量组之间无统计学差异 ($P > 0.05$)。比较性别之间差异时,高剂量雄性大鼠 LVW/BW 值显著高于相同剂量雌性大鼠 ($P < 0.01$),而低剂量组雌雄大鼠之间无显著差异 ($P > 0.05$)。所以,剂量因素对雄性大鼠 HW/BW、LVW/

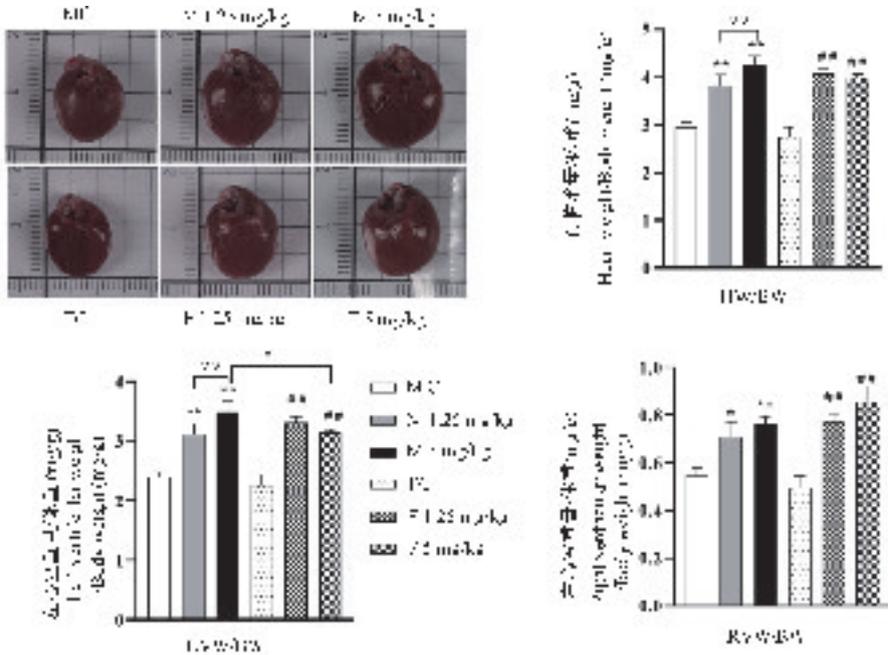


图 2 大鼠心脏形态及重量参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

注:与雄性正常组相比, ** $P < 0.01$; 与雌性正常组相比, ## $P < 0.01$; ^{vv} $P < 0.01$ 。(下图同)

Note. Compared with male normal group, ** $P < 0.01$; Compared with female normal group, ## $P < 0.01$; ^{vv} $P < 0.01$. (The same in the following Figures)

Figure 2 Rat heart morphology and weight parameters ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

BW 的影响呈剂量依赖关系,对雌性大鼠影响较小。

2.3 大鼠心脏超声指标变化

不同性别和剂量因素对大鼠心脏超声指标的影响见图 3。雄性高剂量组心室壁 (IVSd、IVSs、LVPWd) 显著高于正常组 ($P < 0.01$),但雄性低剂量组心室壁厚度无显著变化 ($P < 0.05$)。雌性各剂量组心室壁 (IVSd、IVSs、LVPWd、LVPWs) 均显著高于正常组 ($P < 0.01, P < 0.05$)。无论性别如何,上述指标在不同剂量之间均无显著性差异 ($P > 0.05$)。比较性别之间差异时,相同剂量下雌、雄大鼠心室壁厚度无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.4 大鼠心肌组织肥大基因 ANP、BNP mRNA 表达水平变化

如图 4 所示,无论性别如何,两种剂量模型组动物心肌组织 ANP、BNP 基因 mRNA 表达水平均显著高于各正常组 ($P < 0.05, P < 0.01$),且雄性高剂量组 ANP 基因 mRNA 表达水平显著高于雄性低剂量组和雌性高剂量组 ($P < 0.01$),但雌性各剂量组之间 ANP、BNP 基因 mRNA 表达水平无显著性差异 ($P > 0.01$)。

2.5 大鼠血流动力学参数变化

由图 5 可知,雄性高剂量组动物 HR、LVESP ($P < 0.05$)、LVEDP、dp/dpmax、-dp/dpmax 绝对值显著低于正常组动物 ($P < 0.01$),而低剂量组 LVESP 却显著增加 ($P < 0.01$),且雄性高剂量组 LVESP、-dp/dpmax 绝对值也显著低于低剂量组 ($P < 0.01$)。雌

性高、低剂量组动物 HR、LVESP、LVEDP、dp/dpmax、-dp/dpmax 绝对值均显著性低于正常组动物 ($P < 0.01$),且低剂量组 LVEDP、dp/dpmax 绝对值显著低于高剂量组 ($P < 0.01$)。比较同一剂量下性别差异时发现,雄性低剂量组动物 LVESP、-dp/dpmax 绝对值显著高于雌性低剂量组动物 ($P < 0.01$),但高剂量下雌、雄动物之间无显著性差异。

2.6 大鼠心肌细胞形态学表现

2.6.1 心肌组织 H&E 染色结果

H&E 染色结果发现,雌、雄正常组心肌细胞排列整齐,间隙清晰,细胞核椭圆且位于细胞正中;各 ISO 处理组心肌细胞均排列紊乱,间隙增宽,心肌细胞面积增大,细胞核变形;左心室心内膜下层局部组织有散在小灶性及条索状坏死,心肌细胞水肿,有大量炎症细胞浸润及胶原纤维增生,局灶性坏死病理改变明显 (图 6)。

2.6.2 心肌组织 Masson 染色结果

图 7 结果显示,与各正常组相比,ISO 处理组左心室心内膜下层局部组织有大量胶原纤维增生,心肌纤维染色阳性区域增多,在内皮下区域的肌内膜中有大量的条索状及斑片状纤维组织沉积,且室间隔侧心肌细胞横截面积和心肌组织纤维化程度均显著增大 ($P < 0.01$)。同性别高、低剂量比较和同剂量不同性别比较时,大鼠室间隔侧心肌细胞肥大和纤维化程度均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

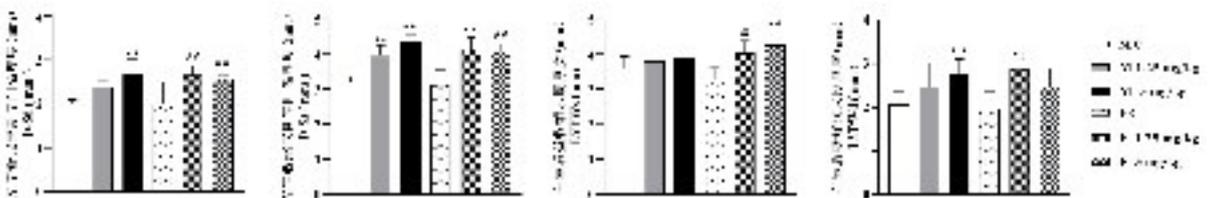


图 3 ISO 对大鼠左心室壁厚度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Figure 3 Effect of ISO on the left ventricular wall thickness in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

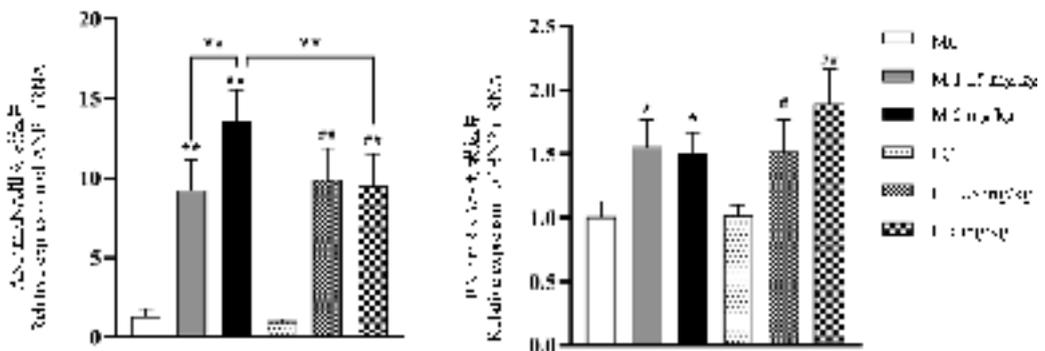


图 4 大鼠心肌组织 ANP、BNP mRNA 表达水平变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Figure 4 Changes of mRNA expression levels of ANP and BNP in myocardial tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

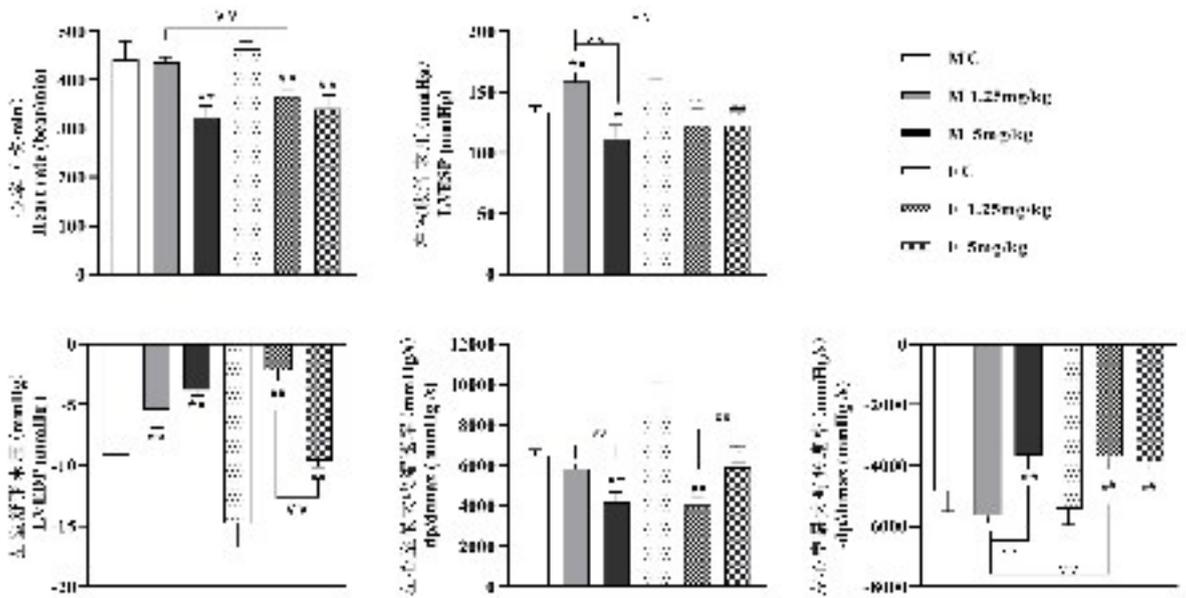


图5 大鼠左心室心功能指标变化($\bar{x} \pm s, n=6$)

Figure 5 Changes of left ventricular function indexes in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3 讨论

神经内分泌系统的激活在心肌肥厚的形成机制中扮演重要角色^[9-10]。已有许多研究证实,高肾上腺素活性与心肌肥厚的发生相关^[11-12]。ISO 是一种非选择性 β -肾上腺素受体激动剂,其诱发心室重构的作用得到研究者广泛认可和应用,采用此法诱导心肌肥大操作简单、模型稳定、成本低,已成为大鼠心肌肥大动物模型造模的常用方案之一。但该造模方法存在注射剂量、部位以及诱导时间不统一以至难以复制或评价的缺点。不仅如此,人和动物实验研究均已证实,心肌肥大发生存在明显的性别差异^[13-14]。为探讨不同剂量以及性别因素对大鼠心肌肥大模型建立的影响,本研究通过采用皮下注射不同剂量 ISO (5 mg/kg 和 1.25 mg/kg) 的方法同时诱导建立雌性和雄性 SD 大鼠心肌肥大模型。结果发现,两种剂量 ISO 处理后,雌、雄大鼠心脏均呈现不同程度的病理性肥大,但雄性大鼠多个心肌肥大指标变化呈现明显的剂量依赖关系,并且高剂量组雄性大鼠存活率高些。雌性大鼠心肌肥大指标变化对剂量依赖关系不如雄性,并且低剂量组雌性大鼠存活率高于高剂量组。

目前有关多因素影响动物心肌肥大模型建立的报道较少。王晓燕等^[15]研究了 ISO 注射剂量和时间对雄性 Wistar 大鼠心力衰竭模型的影响,发现高剂量 ISO (10 mg/kg) 注射对大鼠心脏功能损伤指

标和存活率影响优于中、低剂量 (5 mg/kg 和 2.5 mg/kg)。虽然结果和本研究中剂量因素对雄性大鼠的影响有相似的地方,但不同之处是他们只研究了单一性别的雄性大鼠,并且 ISO 处理时间不一样,主要是因为他们研究的是心力衰竭而非心肌肥大模型。最近,朱竟赫等^[16]也采用皮下注射不同剂量 ISO 的方法建立雄性小鼠慢性心肌缺血模型,结果发现高剂量 ISO (32 mg/kg) 注射对小鼠心肌缺血指标的影响优于中、低剂量 (16 mg/kg 和 8 mg/kg),并且死亡率低,这和我们的部分结果部分一致。

我们的结果还发现,不同剂量条件下 ISO 诱发的雌性和雄性大鼠心肌肥大发病存在明显差异。例如,高剂量组雌性大鼠 LVW/BW、LVESP 和 ANP mRNA 表达水平低于同剂量雄性大鼠,这种差异在低剂量时较小。有关大、小鼠心肌肥大模型性别差异的研究前期已有报道。例如,在压力负荷诱导的 SD 大鼠心肌肥大模型中,雌鼠具有更高的心室壁厚度和心肌细胞直径,但心肌纤维化程度却低于雄鼠^[17]。但在自发性高血压 SHR 大鼠模型中,雄鼠比雌鼠具有更严重的左心室肥大以及心肌纤维化^[18]。不仅如此,皮下注射 ISO (10 mg/kg) 引起的心脏重塑在不同性别小鼠间也存在差异,雌性小鼠心室壁厚度、心肌面积和胶原蛋白沉积增加的程度小于雄性小鼠,但血压、心率和心功能指标之间性别差异不大^[19]。上述研究结果表明,性别因素对大、小鼠心肌肥大模型都有重要影响,不过这些研

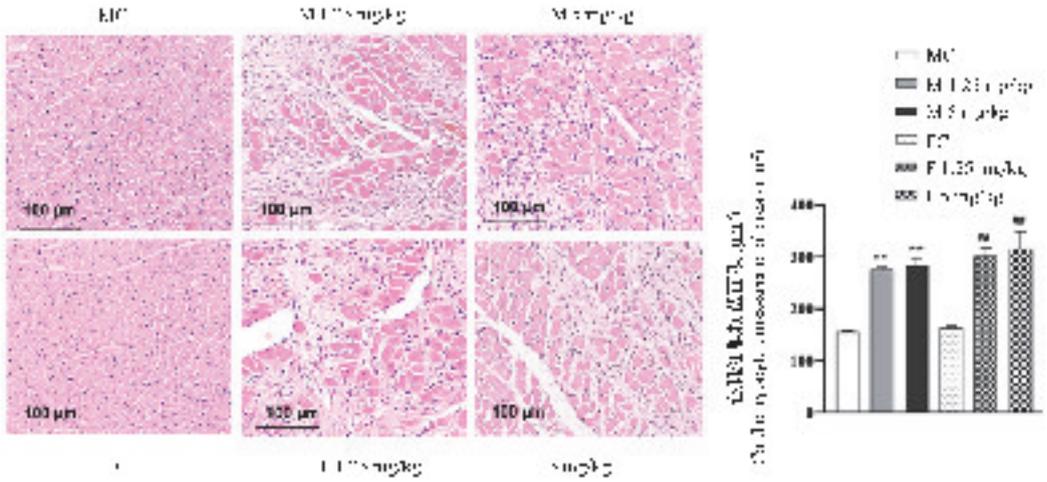
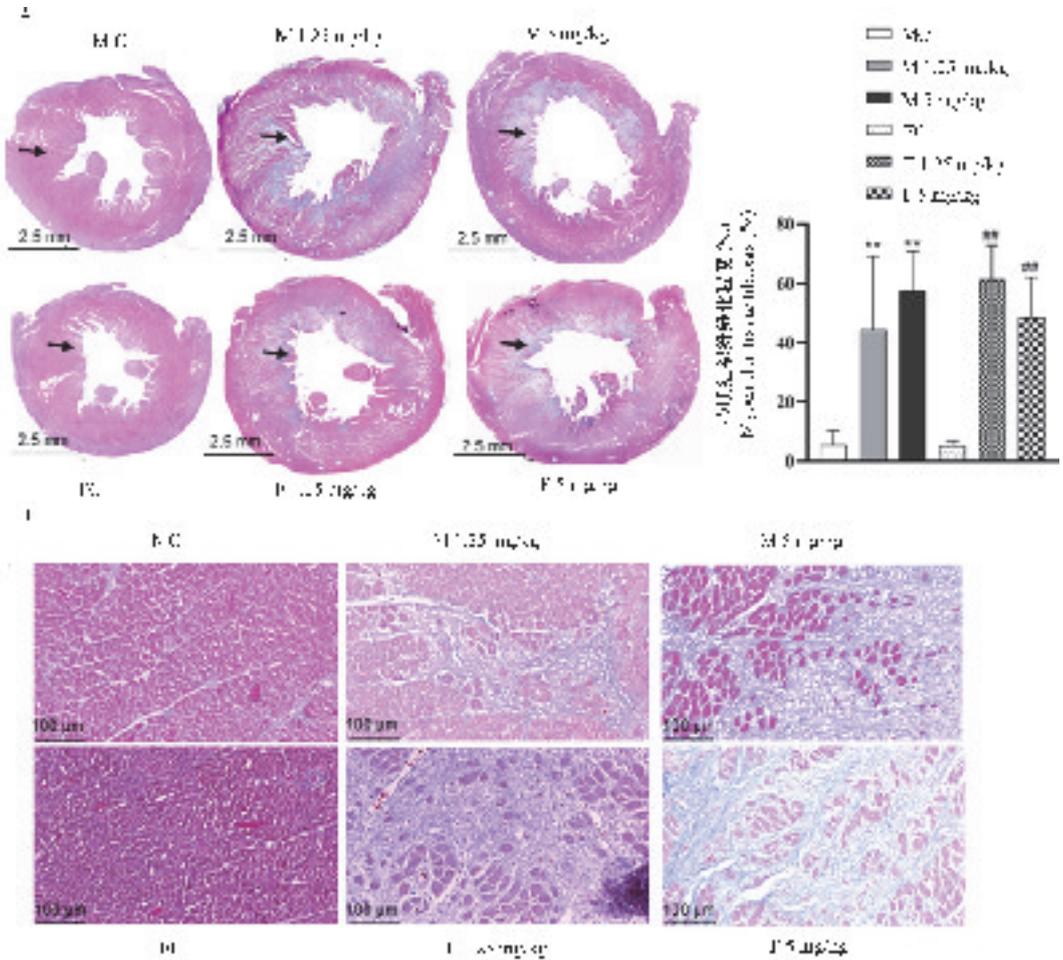


图 6 大鼠心肌组织 H&E 染色

Figure 6 H&E staining of rat myocardial tissue



注:A: 大鼠心肌组织 Masson 染色;B:图 A 箭头处局部放大图。

图 7 大鼠心肌组织 Masson 染色

Note. A, Masson staining of rat myocardial tissue. B, Partially enlarged view of Figure A at the arrow.

Figure 7 Masson staining of rat myocardial tissue

究和本文发现的高剂量时雄性大鼠左心室相对重量显著高于雌性大鼠,但心肌细胞面积和纤维化程度之间没有明显差异的结果不太一致,导致这种差异的原因比较复杂,可能和造模方法、时间以及品种、品系不同有关。

综上所述,本研究通过比较不同剂量和性别因素对 ISO 诱导的大鼠心肌肥大模型建立的影响,发现 ISO 注射剂量高低对雄性大鼠心肌肥大程度影响较大,并且雄性大鼠高剂量组存活率高于低剂量组。虽然剂量因素对雌性大鼠模型肥大程度影响不明显,但雌性低剂量组存活率较高。所以在进行 ISO 诱导建立大鼠心肌肥大模型时,可根据具体实验设计和动物性别预期选择性的采用两个不同注射剂量。

参 考 文 献(References)

- [1] Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, et al. Heart disease and stroke statistics—2018 update: a report from the american heart association[J]. *Circulation*, 2018, 137(12): e67-e492.
- [2] 刘捡娣, 谢龙, 肖坤, 等. Tempol 对心肌肥厚大鼠 NF- κ B 信号通路的影响[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(1): 64-69.
Liu JD, Xie L, Xiao K, et al. Effect of tempol on NF- κ B signaling pathway in rats with myocardial hypertrophy[J]. *Chin J Comp Med*, 2018, 28(1): 64-69.
- [3] 王羽, 刘明洁, 付瑶, 等. 苏格木勒-3 汤对异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌肥厚 Caspase3/9 表达的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2017, 33(5): 390-392, 397.
Wang Y, Liu MJ, Fu Y, et al. Effects of sugmele-3 decoction on the expression of caspase3/9 in rats with iso-proterenol-induced cardiac hypertrophy[J]. *Chin J Appl Phys*, 2017, 33(5): 390-392, 397.
- [4] 程杰坤, 孙小慧, 高莉萍, 等. 法舒地尔对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥厚的干预作用及其机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2016, 32(5): 414-418.
Cheng JK, Sun XH, Gao LP, et al. Intervention of fasudil on isoprenaline induced cardiac hypertrophy in rats and its mechanism[J]. *Chin J Appl Phys*, 2016, 32(5): 414-418.
- [5] Nichtova Z, Novotova M, Kralova E, et al. Morphological and functional characteristics of models of experimental myocardial injury induced by isoproterenol [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2012, 31(2): 141-151.
- [6] Beaumont C, Walsh-Wilkinson E, Drolet MC, et al. Female rats with severe left ventricle volume overload exhibit more cardiac hypertrophy but fewer myocardial transcriptional changes than males[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 729.
- [7] Rider OJ, Lewandowski A, Nethononda R, et al. Gender-specific differences in left ventricular remodeling in obesity: insights from cardiovascular magnetic resonance imaging [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(4): 292-299.
- [8] Flieqner D, Schhubert C, Penkalla A, et al. Female sex and estrogen receptor-beta attenuate cardiac remodeling and apoptosis in pressure overload [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010, 298(6): R1579-R1606.
- [9] Brilla CG, Maisch B. Regulation of the structural remodeling of the myocardium: from hypertrophy to heart failure[J]. *Eur Heart J*, 1994, 15 Suppl D: 45-52.
- [10] Chalmers JA, Lin SY, Martino TA, et al. Diurnal profiling of neuroendocrine genes in murine heart, and shift in proopiomelanocortin gene expression with pressure-overload cardiac hypertrophy[J]. *J Mol Endocrinol*, 2008, 41(3): 117-124.
- [11] Cruz-Topete D, Myers PH, Foley JF, et al. Corticosteroids are essential for maintaining cardiovascular function in male mice [J]. *Endocrinology*, 2016, 157(7): 2759-2771.
- [12] Nash CA, Wei W, Irannejad R, et al. Golgi localized β 1-adrenergic receptors stimulate Golgi PI4P hydrolysis by PLC ϵ to regulate cardiac hypertrophy[J]. *Elife*, 2019, 8: e48167.
- [13] Okin PM, Roman MJ, Devereux RB, et al. Gender differences and the electrocardiogram in left ventricular hypertrophy [J]. *Hypertension*, 1995, 25(2): 242-249.
- [14] Crabbe DL, Dipla K, Ambati S, et al. Gender differences in post-infarction hypertrophy in end-stage failing hearts[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41(2): 300-306.
- [15] 王晓燕, 李七一, 严士海. 异丙肾上腺素诱导慢性心力衰竭大鼠模型实验研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(8): 31-34.
Wang XY, Li QY, Yan SH. Experimental study on rat model of chronic heart failure induced by isoproterenol [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2017, 19(8): 31-34.
- [16] 朱竟赫, 刘驰, 刘禾, 等. 不同剂量异丙肾上腺素致小鼠慢性心肌缺血模型的制备及评价标准的建立[J]. *实验动物科学*, 2019, 36(1): 41-47.
Zhu JH, Liu C, Liu H, et al. Preparation of different doses of isoproterenol induced chronic myocardial ischemia in mice and establishment of evaluation criteria[J]. *Lab Anim Sci*, 2019, 36(1): 41-47.
- [17] Ruppert M, Korkmaz-İcöz S, Loganathan S, et al. Pressure-volume analysis reveal characteristic sex-related differences in cardiac function in a rat model of aortic banding-induced myocardial hypertrophy[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 315(3): H502-H511.
- [18] Al-Ghuri S, Deussen AJ, Galli R, et al. Sex-specific differences in age-dependent progression of aortic dysfunction and related cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2017, 312(5): R835-R849.
- [19] Zhu B, Liu K, Yang C, et al. Gender-related differences in β -adrenergic receptor-mediated cardiac remodeling [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016, 94(12): 1349-1355.