

孙然,许关振,刘越,等. 病态窦房结综合征动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(9): 1198–1206.
SUN R, XU G Z, LIU Y, et al. Progress in animal models of sick sinus syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(9): 1198–1206.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.09.011

病态窦房结综合征动物模型的研究进展

孙然¹, 许关振¹, 刘越², 孙莹莹¹, 张淑涵¹, 薄慧赢¹, 武妍彤¹, 侯平^{3*}

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110033; 2. 沈阳医学院, 沈阳 110032; 3. 辽宁中医药大学附属医院, 沈阳 110033)

【摘要】 病态窦房结综合征(sick sinus syndrome, SSS)是窦房结及其周边组织发生了损伤,使窦房结发生了兴奋、传导功能紊乱,从而引起了一系列的心律失常疾病。为更好地探索 SSS 发病机制,并为其治疗研究提供依据,建立出能够模拟人类窦房结功能紊乱的动物模型具有重要价值。本文从动物选择、造模原理及方法、模型评价方法及检测指标等方面进行综述,希望能够为更加深入研究 SSS 致病机制提供基础和依据。

【关键词】 病态窦房结综合征; 动物模型; 造模原理; 心率; 研究进展

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 09-1198-09

Progress in animal models of sick sinus syndrome

SUN Ran¹, XU Guanzhen¹, LIU Yue², SUN Yingying¹, ZHANG Shuhan¹,
BO Huiying¹, WU Yantong¹, HOU Ping^{3*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110033, China; 2. Shenyang Medical College, Shenyang 110032, China; 3. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110033, China)

Corresponding author: HOU Ping. E-mail: houpings7@126.com

【Abstract】 Sick sinus syndrome (SSS) refers to damage to the sinoatrial node and its surrounding tissues, which leads to excitation and conduction dysfunction of the sinoatrial node, Resultsing in arrhythmia diseases. A better understanding of the pathogenesis of SSS is required to provide a basis for its treatment, including establishing an animal model that can simulate human sinus node dysfunction. In this paper, we review the animal selection, the principles and method of modeling, and the evaluation method and detection indicators of the models, to provide a basis for further studies of the pathogenesis of SSS.

【Keywords】 sick sinus syndrome; animal model; modeling principle; heart rate; research progress

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

病态窦房结综合征(sick sinus syndrome, SSS)又称窦房结功能障碍(sinus node dysfunction, SND),冲动形成障碍或者冲动传导障碍引起一系列异常节律。SSS 患者有心悸、乏力、头昏眼花、反应迟钝等症状,严重者可引起短暂黑蒙、晕厥甚至死亡^[1-2]。美国流行病学研究预测表明,窦房结功能紊乱病例数量将从 2012 年的 78 000 例可能增加到

2060 年的 172 000 例^[3]。目前常规的构建 SSS 动物模型的方法主要分为促衰老法、促纤维化法、促炎、氧化应激法、刺激自主神经法以及基因突变法。但是在构建 SSS 模型的过程中,动物种类的选择以及模型评价指标的确定也是尤为重要。下面就 SSS 模型动物的选择、造模原理以及方法、评价指标的选择进行综述,以期建立更符合临床病证特点的 SSS 动物模型,

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81874403),辽宁省“兴辽英才计划”项目(XLYC1802099)。

Funded by General Project of National Natural Science Foundation of China (81874403), Liaoning Province “Xingliao Talents” Program (XLYC1802099)。

【作者简介】 孙然,女,硕士,研究方向:缓慢性心律失常的中药干预。Email:2938252313@qq.com

【通信作者】 侯平,女,硕士,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:缓慢性心律失常的中药干预。Email:houpings7@126.com

旨在为科研及临床相关研究提供进一步的指导。

1 动物模型选择

小鼠^[3-4]、大鼠^[5]、斑马鱼^[6-7]、兔^[8-11]、犬^[12]等是常用于制作 SSS 模型的动物,小鼠的品系主要是选择 C57BL/6 小鼠,大鼠品系主要选择 Wistar 大鼠和 SD 大鼠。大小鼠等虽然在人类种属同源性和生理生化特性的接近程度上略差于大动物(如猴、猪等),但是由于心率较快,心电图图形较为稳定,变异性小,造模后心率变化也更加明显,日常饲养易管理,成为目前最常用的造模动物。但啮齿类动物体积较小,对于窦房结(sinus node, SAN)的观察存在一定的难度,而兔、犬心脏体积较大,对于 SAN 的观察也较为清晰明了,但饲养管理较小型啮齿类相对困难、价格高昂,实验应用较啮齿类少。斑马鱼模型是近期应用较为广泛的实验动物,并且斑马鱼有成功构建 SSS 模型的报告^[6],由于斑马鱼的胚胎和成人心率以及动作电位的形状、持续时间非常相似,使用吗啡寡核苷酸还可以实现快速有效的基因特异性敲除,适合大规模遗传研究,能够快速发现新的遗传致病因素^[6]。斑马鱼在心脏研究中另外一个主要优势是其胚胎是透明的,可以高效的评估心脏发育、心率分析和表型表征。但斑马鱼心脏形态为两腔,且为冷血动物,心率随着所处环境温度的变化而产生巨大差异,因此斑马鱼作为 SSS 模型有较大争议。综合饲养环境、经济成本、种属以及造模后特征等因素,目前相对最优的 SSS 模型候选仍为啮齿类动物。

2 造模原理及方法

SSS 的发生既有退行性特发性纤维化、心脏重构等内在因素,也有药物治疗、代谢异常等外在因素,因此明确 SSS 的病理生理特征有助于更好的构建 SSS 动物模型。

2.1 衰老

流行病学调查显示,人类 SSS 的平均发病年龄在 73 ~ 76 岁之间,且发病率会随着年龄的增长逐渐提高,衰老诱导的 SAN 退化是 SSS 产生的一个重要风险因素^[13]。研究使用衰弱指数(frailty index, FI)对年轻和老年小鼠进行量化,发现 FI 的变化与 SAN 恢复时间、传导速度、间质纤维化和基质金属蛋白酶的表达密切相关^[14-15]。衰老导致的起搏速度减慢是由多种机制组合引起的,包括起搏细胞、

通道蛋白(HCN4、Cav1.2 和 Nav1.5 等)的减少以及组织纤维化的增加等^[4]。随着年龄的增长,SAN 的功能会逐渐受损,从而影响心脏的正常搏动,心率下降^[16]。*Klotho* 具有抗衰老的特性,随着年龄的增加,其表达水平也随之下降,基因多态性会影响并预测心血管疾病的风险^[17],小鼠 *Klotho* 基因的表达缺陷类似人类的衰老,TAKESHITA 等^[18]研究发现 *Klotho* 基因敲除导致的 SAN 功能异常,并且该基因只在相应的 SAN 区域表达,*Klotho* 敲除基因小鼠在 3 周龄前发育正常,3 周龄后机体活跃度下降,并在 8、9 周过早死亡^[19],临床症状与人 SSS 一致,符合衰老导致的 SSS 模型。基于此可以初步判定与年龄相关的功能和形态变化会影响 SAN 功能^[14]。此外就是从自然衰老的动物中筛选心率显著降低的个体作为研究 SSS 的动物模型,但是由于该方法获得的合格动物数量较少,无法用于大规模实验。

2.2 纤维化

纤维组织在维持 SAN 的正常起搏以及传导功能方面发挥着至关重要的作用,纤维组织的存在保证了 SAN 功能的完整性^[20]。但当 SAN 组织过度纤维化时,会损害动作电位的产生和传导,导致 SND^[21]。纤维化的病理变化主要涉及成纤维细胞的激活和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过度分泌,SSS 的发病机制可能与 SAN 纤维化过程中胶原纤维束破坏心肌细胞之间的连接有关,射频消融、化学损伤、促纤维化分子以及炎症的激活等许多因素都可以达到此类的损伤,从而导致功能和电生理异常^[21-22]。

射频消融法是通过向 SAN 区(上腔静脉与右心耳交界处)发放射频电流,提升 SAN 周边组织温度,局部的心肌细胞发生脱水、凝结、蛋白变性,形成一个边界清晰的坏死灶,从而建立 SSS 模型^[23]。化学损伤是利用甲醛^[5]、氢氧化钠^[24-25]等化学物质腐蚀 SAN,使 SAN 周围组织发生纤维化的改变,从而延长电传导时间。化学损伤法处理大鼠以及小鼠相对难度较大,因为大鼠和小鼠体积较小,且 SAN 的解剖位置处于肺叶和胸腺覆盖之下,用化学试剂处理过程中不可避免的会损伤到右肺叶和胸腺,导致造模完成撤下呼吸机后表现出较高的死亡率。ZHONG 等^[26]在应用化学损伤法的时候,优化了小动物在化学试剂损伤 SAN 时对右肺叶和胸腺的损伤,进行精确按压渗透法,通过心率、存活率以及病理染色证明 SAN 损伤后心率降低 31% ~ 40% 的大

鼠 SSS 模型是可持续和稳定的,具有指导意义。相较于大鼠和小鼠,化学损伤法在兔和犬的实验中,成功率则能大大提高,因此在选用化学损伤造模的时候,应该注意造模动物的选择。

促纤维化分子以及炎症的激活主要是通过应用血管紧张素(angiotensin II, Ang II)来实现。目前已有研究证明,注射 Ang II 可以通过激活 AKT/mTOR 信号通路的磷酸化来抑制自噬,从而激活成纤维细胞并诱导 ECM 过度分泌^[27],注射 Ang II 还可以激活 NADPH 氧化酶,活化的 NADPH 氧化酶催化产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)在许多生理学过程中都起着重要作用,ROS 参与细胞的氧化还原信号传导、细胞生长和死亡等生物过程的调控,从而导致 SAN 细胞氧化、凋亡,发生 SND^[28]。虽然这种方法可以成功诱导心率减慢,模拟 SAN 变性,但该方法已被发现会引起高血压及心力衰竭^[29]。皮下微量渗透泵注射 Ang II 较直接破坏 SAN 是一种更好的方法,但 ALZET 皮下微量渗透泵的高成本也限制了其应用,特别是对于一些资金不足的研究小组。

2.3 炎症和氧化应激

炎症和氧化应激会破坏 SAN 的稳定性,并导致不可逆转的功能损害^[30]。对于 SAN 细胞而言,炎症和氧化应激可以通过缺血、缺氧和细胞毒性刺激实现^[31]。CHANG 等^[32]研究发现氧化应激可能导致离子通道的变化,导致心律失常和 SND。ROS 在 SAN 细胞中积累也是 SSS 的一个重要机制^[3],高水平的 ROS 介导能显著降低细胞的离子通量和膜离子泵功能,从而严重影响 SAN 的功能^[33]。基于炎症以及氧化应激原理建立 SSS 模型方法主要是 SAN 动脉结扎法以及皮下注射 D-半乳糖法。

缺血再灌注损伤 SAN 区域符合临床病理改变,尤其是与心肌梗死或冠心病后心动过缓患者发生的病理改变一致^[34-35]。由于 SAN 的血液主要是右冠状动脉提供,结扎 SAN 动脉期间,能够激活大量中性粒细胞, SAN 动脉结扎解除后,炎症级联激活会加重梗死的损伤,最终导致 SAN 细胞凋亡^[5]。ZHANG 等^[5]研究发现用缺血再灌注方法的模型中发现 HCN4 和 SCN5A 表达下降,这表明 SAN 动脉结扎法可能通过损害离子通道蛋白表达以降低起搏速度。但是在复现模型时,彭杰等^[11]发现在解除 SAN 动脉结扎 1 周后,心率恢复至正常,病理可见 SAN 区域新生血管形成,未见间质增生^[11,36]。为解

决此类情况,ZHANG 等^[5]在缺血再灌注后给予动物连续服用了 2 周的普萘洛尔,从而避免模型动物自我修复。由此可知通过延长 SAN 动脉结扎时间以及给予药物维持低心率或许可以提高 SSS 模型的成功率。

氧化应激是 D-半乳糖(D-galactose, D-Gal)诱导 SAN 退化的重要机制,过量的 ROS 还会导致相关离子通道功能障碍,导致 SND。D-Gal 水平过高会改变氧化酶活性并产生氧化产物,导致细胞代谢紊乱。过量的 D-Gal 与蛋白质或肽的游离氨基酸基团形成晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs),从而导致机体衰老^[37]。张恒等^[4]研究发现 D-Gal 的应用不仅成功的导致人诱导多能干细胞来源的心肌细胞(human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, hiPSC-CMs)搏动功能障碍,而且还诱导机体衰老从而导致 C57BL/6 小鼠 SAN 变性。ZHANG 等^[3]研究发现 D-Gal 能够降低心脏收缩能力和器官灌注量,提高 B 型钠尿肽(B-type natriuretic peptide, BNP)水平,且导致心率下降,这种现象类似于变时性功能障碍,表明可能已经发生了 SND。通过 Masson 染色发现 D-Gal 导致 SAN 和心肌的显著纤维化,这表明 D-Gal 诱导心脏退行性病变,导致 SAN 和心脏功能障碍。此外 D-Gal 能够显著下调 SAN 中环化核苷酸调控阳离子通道蛋白亚型 4(hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated cation channels 4, HCN4)的表达,这种现象与超极化激活的阳离子通道(hyperpolarization-activated cation channel, I_h)通道的损害有关,这被认为是 SND 的主要原因。氧化应激指标和二氢乙锭(dihydroethidium, DHE)染色结果表明,D-Gal 不仅诱导小鼠产生氧化应激,还会导致 ROS 在 SAN 中显著积累。综上,D-Gal 诱导的 SSS 模型与衰老导致的 SSS 机制相符,通过诱导窦房结衰老模拟退行性病变,符合人源化疾病模型标准,具有模型可靠、成功率高、费用低廉、易于获取、成模周期短的特点,是目前较为科学也是最新的造模方法,成功突破该领域动物模型复制的诸多门槛与限制。

2.4 自主神经功能障碍

自主神经系统通过神经纤维与 SAN 相连,与心率有密切的关系。心率变异性(heart rate variability, HRV)受到自主神经系统的影响,代表逐次心跳周期差异的变化情况,HRV 的降低反映自主神经功能紊乱^[15,38]。临床研究表明,不仅 SSS 患者

的 HRV 下降,通常与衰老相关的心房颤动和心力衰竭等疾病也会导致 HRV 的下降^[39]。HRV 指标随年龄增长而下降,对于评估心血管系统的健康很重要,反映了心脏活动自主调节功能的减弱^[40]。对于因迷走神经张力过大引起的严重症状性心动过缓的成年人,心脏神经消融术被认为是一种有前途的治疗选择^[41]。通过进行心脏神经节丛消融可以改善症状性窦性心动过缓患者的长期窦性窦率增加并改善生活质量^[42-43]。基于此原理建立的 SSS 动物模型为刺激迷走神经法。迷走神经受到刺激释放乙酰胆碱作用于心肌细胞膜的 M 型胆碱能受体,激活 SAN 细胞的钾通道,抑制四相的内向电流 I_t 以及钙通道,导致 SAN 功能异常,心率减慢,房室传导速度减慢^[12,14]。用迷走神经刺激法制作慢性心律失常的动物模型虽然比较困难,但费用低、易于控制、较适用于大型的动物。

2.5 其他

此外越来越多的研究表明 SSS 的发生与其所编码的离子通道发生的基因变异有关,又称为“离子通道病”^[6,19,44-49]。目前临床上发现由于基因突变导致的 SSS 的相关基因有 *SCN5A*、*HCN4*、*HCN1*、*KLOTHO*、*MFN2*、*AKAP10*、*CASDQ2*、*MYH6*、*GNB2* 等,通过基因突变等方法建立 SSS 模型也逐渐增加。*SCN5A* 突变斑马鱼具有 SSS 表型特征,如心动过缓、QRS/P 比值增加以及变时功能不全^[3,46-47]。FENSKE 等^[49]研究发现 *HCN1* 敲除后小鼠心率下降,窦房结恢复时间延长,心率变异性增加。ZHENG 等^[50]用他莫昔芬诱导心脏传导系统(*Hcn4*^{CreERT2})特异性敲除 *Lats1/2* (*Lats1/2* *CKO*),*Lats1/2* *CKO* 小鼠表现出心率降低的症状,出现严重的 SND;病理发现 SAN 成纤维细胞大量增殖,纤维化明显。还有研究将两种基因工程小鼠系 ROSA-eGFP-DTA 和 *HCN4*-*KiT*-Cre 杂交,以实现心脏起搏和传导系统中细胞的可诱导性缺失。这种缺失导致 SAN 组织退行性纤维化,这种病理学特征正是 SSS 的病理表现^[51]。赵允梓^[44]通过构建 *AKAP10* 基因突变,在斑马鱼中成功模拟出窦性停搏样表型。ZHANG 等^[52]研究发现 *miR-1976* 转基因小鼠中 Cav1.2 和 Cav1.3 蛋白表达减弱,抑制了 L 型钙离子通道,从而导致窦房结功能障碍。SHI 等^[53]研究发现心肌特异性敲除 *Cfp1* 的杂合小鼠(*Cfp1*^{+/-})的 *HCN4* 启动子区激活基因转录因子 H3K4me3、H3K9ac 和 H3K27ac 修饰减少,*HCN4* 表达减少影响

I_t 电流,从而导致小鼠心率减慢,SAN 功能异常。然而,由于纯合类敲除小鼠的胚胎致死性和杂合子小鼠缺乏表型,导致小鼠敲除模型的实用性受到限制。当今医学时代,将基因测试纳入临床实践已成为常态,相信基因突变模型也会逐渐完善,成为以后的趋势。

3 模型评价方法

目前 SSS 模型检测指标众多,如表观指标、心电图检测、病理指标检测等,但检验模型是否建立成功,心电图的指标检测最为重要。但针对不同动物的特征,心电图判定 SSS 的标准也有所差异。大鼠 SSS 模型成功为造模 1、2 周后心率都明显减慢且心率低于造模前 30%^[36];小鼠 SSS 模型成功标准为静息心率显著下降,RR 间期延长,但是文中未提及心率下降的具体标准^[4]。常见的兔 SSS 模型成功标准为心率下降 30%以上或出现窦性停搏、窦房阻滞或交界性逸搏且在 2 h 内不发生反复,有时可见心动过缓心动过速综合症,逸搏心律与房性心动过速交替出现^[23,54];斑马鱼 SSS 造模成功标准为 PP 或 RR 间期超过 1.5 s,由于温度对于斑马鱼心率的变化影响巨大,因此在心电图时应将斑马鱼控制在相同的温度^[6]。

有研究认为 SSS 患者常出现乏力、头晕等症状,因此在评估 SSS 模型时应加上了表观指标,如精神、行动、皮毛色泽、食欲等,当模型出现精神萎靡、行动迟缓、皮毛干枯易脱落、食欲欠佳,合并心率下降的表现则为 SSS 模型成功^[3,55]。针对体重的问題,出现了争议,程佳新^[55]主张体重下降更加符合 SSS 模型的特征,而 ZHANG 等^[3]则主张肥胖更加符合衰老导致 SSS 的特征,但是由于两人造模方式有所差异,因此体重的差异也是一个值得讨论的问题。还有研究加入了窦房结功能测定^[54],使构建 SSS 模型更加严谨。

病理指标主要涉及苏木素-伊红(HE)染色、马松(Masson)染色、天狼星红染色等,可以直接反应 SAN 形态变化、炎症浸润以及纤维化程度等。此外 SSS 发病与 ROS 蛋白水平及相关基因表达变化密切相关,检测这些指标有助于探索药物干预靶点。目前大多数研究的评价指标只观察心电图,较为单一,同时也没有明确的心率下降标准,多为造模前后对比或者模型组与空白对照组对比,当出现统计学差异变化后,便认为造模成功。现将动物模型的诱导方法及检测指标整理见表 1。

表 1 SSS 动物模型造模方法及评价标准

Table 1 SSS animal model establishment methods and evaluation indicators

造模对象 Modeling object	造模方法 Modeling method	表现 Performance
SD 大鼠 ^[11] SD rats ^[11]	自然衰老 Natural aging	1. 病理表现为 SAN 纤维化改变; 2. 纤维化蛋白:转化生长因子-β (transforming growth factor-β, TGF-β)、含不育 α 基元域 3 (sterile alpha motif domain containing 3, Samd3)、α-平滑肌肌动蛋白 (alpha-smooth muscle actin, α-SMA) 表达水平升高; 3. 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平下降, 超氧化物歧化酶 (super oxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽 (glutathione, r-glutamyl cysteinyl + glycine, GSH) 水平升高 1. Pathological manifestations were SAN fibrosis; 2. Increased expression of fibrosis proteins TGF-β, Samd3 and α-SMA; 3. MDA levels decreased and SOD and GSH levels increased
斑马鱼 ^[6] Zebrafish ^[6]	自然衰老 Natural aging	1. PP 间隔超过 1.5 s, 较低的心率 (heart rate, HR), 相邻正常心动周期差值的均方根 (root mean square of successive differences, RMSSD) 增加, QRS/P 比增加, P 波振幅减少; 2. 阿托品给药未使衰老斑马鱼的 HR 增加到正常斑马鱼的水平; 3. 轻微心脏功能障碍 1. PP interval of more than 1.5 s, lower HR, increased RMSSD, increased QRS/P ratio, and decreased P-wave amplitude; 2. Atropine administration did not increase the HR of aged zebrafish to the level of normal zebrafish; 3. Mild cardiac dysfunction
实验兔 ^[54] Experimental rabbits ^[54]	40% 甲醛湿敷法 40% formaldehyde wet compress method	1. 心率逐渐降低, 下降 30%; 2. SAN 病理见纤维化改变; 3. 窦房结恢复时间 (sinus node recovery time, SNRT)、校正窦房结恢复时间 (correct sinus node recovery time, SNRTc) 和窦房传导时间 (sinoatrial conduction time, SACT) 上升; 4. HCN4 表达下降 1. HR gradually decreased by 30%; 2. SAN pathology showed fibrotic changes; 3. SNRT, SNRTc and SACT increased; 4. Decreased HCN4 expression
SD 大鼠 ^[36] SD rats ^[36]	10% 氢氧化钠静脉注射 10% sodium hydroxide was administered intravenously	1. HR 下降 30% 及以上; 2. SAN 病理见细胞减少, 结构模糊, 间质组织增生, 并有空泡形成, 胶原水平升高; 3. SAN 组织 HCN4 蛋白表达下降 1. HR decreased by 30% or more; 2. Pathology of SAN showed that the cells decreased, the structure was fuzzy, the interstitial tissue proliferated, and there was vacuolization, and the collagen level increased; 3. Decreased HCN4 protein expression in SAN tissue
C57BL/6 小鼠 ^[3] C57BL/6 mice ^[3]	D-半乳糖皮下注射 200 mg/(kg·d), 持续 8 周 D-galactose was administered subcutaneously at 200 mg/(kg·d) for 8 weeks	1. 行动迟缓, 精神萎靡, 背部毛发无光泽并伴随脱落, 体重增加; 2. HR 明显低于正常小鼠; 3. 左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室短轴缩短率 (left ventricular fraction shortening, LVFS)、血清 BNP 以及脑血容量下降; 4. SAN 和心肌组织病理可见胶原容积分数上升, 纤维化水平升高; 5. SAN 中 HCN4 表达水平下降, ROS 水平升高 1. Slow movement, listless spirit, dull back hair and loss, weight gain; 2. HR was significantly lower than that of normal mice; 3. LVEF, LVFS, serum BNP and cerebral blood volume decreased; 4. Increased collagen volume fraction and fibrosis were observed in sinoatrial node and myocardial tissue pathology; 5. HCN4 expression level in SAN, elevated ROS in SAN
C57BL/6 雄性小鼠 ^[55] C57BL/6 male mice ^[55]	皮下微量渗透泵注射血管紧张素 II 3 mg/(kg·d), 持续 28 d Angiotensin II 3 mg/(kg·d) was administered by subcutaneous microosmotic pump for 28 days	1. HR 逐渐降低, 28 d 后 HR 较术前小鼠 HR 减慢大于 30% 2. 小鼠精神渐渐萎靡、行动欠佳、皮毛干枯竖立易脱落, 体重逐渐下降、食欲欠佳, 极少部分小鼠还出现了呼吸低微的表现 1. HR gradually decreased, and after 28 days the heart rate decreased by more than 30% compared with the preoperative heart rate of the mice 2. Spirit of the mice gradually droop, poor action, dry and erect fur easy to fall off, weight loss, poor appetite, a small number of mice also showed low breathing performance

续表 1

造模对象 Modeling object	造模方法 Modeling method	表现 Performance
SD 大鼠 ^[36] SD rats ^[36]	缺血再灌注法 Ischemia-reperfusion	1. HR 下降 30% 及以上; 2. SAN 病理见细胞减少, 结构模糊, 间质组织增生, 并有空泡形成, 胶原水平升高; 3. SAN 组织 HCN4 蛋白表达下降 1. HR decreased by 30% or more; 2. Pathology of SAN showed that the cells decreased, the structure was fuzzy, the interstitial tissue proliferated, and there was vacuolization, and the collagen level increased; 3. Decreased HCN4 protein expression in SAN tissue
健康大耳白兔 ^[23] Healthy big-eared white rabbits ^[23]	射频消融法 Radiofrequency ablation method	1. HR 下降 50% ~ 60%; 2. SNRT 明显延长, 且时间大于 110 ms 1. HR decreased by 50% ~ 60%; 2. SNRT was significantly prolonged, and the time was more than 110 ms
成年犬 ^[12] Adult dogs ^[12]	刺激迷走神经干 Stimulating the vagus nerve	心率减慢, 发生窦性停搏 HR slowed, and sinus arrest occurred
斑马鱼 ^[6] Zebrafish ^[6]	SCN5A 突变 SCN5A mutation	1. PP 间隔超过 1.5 s, 较低的 HR, RMSSD 增加, P 波振幅减少; 2. 阿托品给药未使衰老斑马鱼的 HR 增加到正常斑马鱼的水平 1. PP interval of more than 1.5 seconds, lower HR, RMSSD increase, and P-wave amplitude decrease; 2. Atropine administration did not increase the HR of aged zebrafish to the level of normal zebrafish
斑马鱼 ^[7] Zebrafish ^[7]	ABCC9 敲除 Knockout of ABCC9	1. 斑马鱼 HR 显著降低; 2. 斑马鱼心输出量、舒张末期心室容积、收缩末期心室容积显著降低, 射血分数显著升高 1. Zebrafish HR was significantly reduced; 2. Cardiac output, end-diastolic ventricular volume and end-systolic ventricular volume of zebrafish were significantly decreased, and the ejection fraction was significantly increased
小鼠(未提及品系) ^[49-50] Mice(strain was not mentioned) ^[49-50]	HCN4 突变 HCN4 mutation HCN1 敲除 Knockout of HCN1	1. HR 降低、窦房结恢复时间延长, HR 变异性增加; 2. SAN 病理表现为纤维化明显 1. Decreased HR, prolonged sinus node recovery time, and increased HR variability; 2. SAN pathology showed obvious fibrosis
小鼠(未提及品系) ^[18] Mice(strain was not mentioned) ^[18]	KLOTHO 敲除 Knockout of KLOTHO	RR 间期延长, HR 下降 RR interval was prolonged and the heart HR

4 总结与讨论

综上,为充分模拟临床症状、贴合临床发病机制,近年来国内外研究者从病理生理入手,建立了各种各样、不同机理的 SSS 动物模型。主要方法包括:促衰老法、促纤维化法、促炎以及氧化应激法、刺激自主神经法以及基因突变法。现多种造模方法已经用于 SSS 机制研究、治疗以及药物开发中,推动 SSS 的研究进展。但 SSS 造模仍然存在以下问题:(1)缺乏统一的造模评价标准。目前 SSS 动物模型建立成功的标准主要依据统计学方法进行自主评价,且大部分研究评价指标单一,仅考察心率变化。(2)人 SSS 发病因素多样且复杂,多因素交互作用,采用联合造模方法,模拟导致 SSS 发生的危险因素以及治病条件的可行性也有待进一步研究。(3)不同造模方法在不同实验室、不同动物种属间、

不同操作细节、不同环境条件可能存在较大的差异,导致模型的稳定性和可重复性不足。

由于 SSS 发病机制复杂且多样,因此在造模的时候需根据研究的情况进行选择,如研究心衰后导致 SAN 功能紊乱,可以选择缺血再灌注加普萘洛尔维持低心率模型;若是研究离子通道相关蛋白的话,可以选择特定基因突变模型;若是研究衰老型 SSS,则可以选择 D-Gal 诱导或者从自然衰老的动物中筛选心率较低的。因此根据研究类型进行特定的模型选定尤为重要。科学稳定可靠的造模方法应该是基于疾病的发病机制,综合多因素考虑,在结合既往造模方法上,根据研究内容进行科学的造模方法选择,建立符合特殊人群的 SSS 动物模型。因此未来需要更加注重模拟 SSS 的发病机制和过程,协同多基因和其他因素的模型,更好的为 SSS 的防治研究提供基础。

参 考 文 献(References)

- [1] CHOI S, VIVAS O, BAUDOT M, et al. Aging alters the formation and functionality of signaling microdomains between L-type calcium channels and β_2 -adrenergic receptors in cardiac pacemaker cells [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 805909.
- [2] SATHNUR N, EBIN E, BENDITT D G. Sinus node dysfunction [J]. *Cardiol Clin*, 2023, 41(3): 349–367.
- [3] ZHANG H, CHEN C, LIU Y, et al. D-galactose causes sinoatrial node dysfunction: from phenotype to mechanism [J]. *Aging*, 2023, 15(21): 12551–12569.
- [4] 张恒. 益心复脉颗粒改善增龄性窦房结功能减退机制研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学; 2023.
ZHANG H. Study on the mechanism of Yixin-Fumai granules in improving age-related sinoatrial node dysfunction [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine; 2023.
- [5] ZHANG W, ZHU B, REN J, et al. Two methods for modeling of sick sinus syndrome in rats: Ischemia reperfusion and sodium hydroxide induced injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 111: 778–784.
- [6] YAN J, LI H, BU H, et al. Aging-associated sinus arrest and sick sinus syndrome in adult zebrafish [J]. *PLoS One*, 2020, 15(5): e0232457.
- [7] 闫鲁仪. 病态窦房结综合征相关 ABCC9 基因突变在斑马鱼体内的功能验证 [D]. 济南: 山东大学; 2023.
YAN L Y. Functional verification of sick sinus syndrom-related ABCC9 gene mutation in zebrafish [D]. Jinan: Shandong University; 2023.
- [8] 张晓华, 赵宏宇, 钱锋, 等. 增率复脉颗粒对病态窦房结综合征兔模型心肌细胞钙离子通道蛋白及 mRNA 表达的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2022, 17(12): 2345–2349, 2360.
ZHANG X H, ZHAO H Y, QIAN F, et al. Effect of Zenglv Fumai Granules on the expression of calcium channel protein and mRNA in myocardial cells of rabbits with sick sinus syndrome [J]. *World J Integr Tradit West Med*, 2022, 17(12): 2345–2349, 2360.
- [9] 刘学武, 王小青, 赵丞, 等. 甲醛致兔窦房结损伤模型的建立 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(11): 21–27.
LIU X W, WANG X Q, ZHAO C, et al. Establishment of rabbit sinoatrial node injury model induced by formaldehyde [J]. *Chin J Comp Med*, 2015, 25(11): 21–27.
- [10] 刘如秀, 李汇博, 王妮娜, 等. 益阳活血方对兔病窦综合征心阳虚血瘀证模型中医证候及血液流变学的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(9): 2065–2068.
LIU R X, LI H B, WANG N N, et al. Effect of Yiyang Huoxue Recipe on TCM syndrome and hemorheology of rabbit model combined sick sinus syndrome with heart-yang deficiency and blood-stasis syndrome [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2011, 26(9): 2065–2068.
- [11] 彭杰, 刘如秀, 刘宇. 通阳活血方对兔缺血再灌注窦房结细胞骨架微管蛋白 β -tubulin 的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2014, 21(11): 45–47.
- [12] 尹军祥, 郭继鸿. 迷走神经干刺激建立缓慢型心律失常动物模型的研究 [J]. *临床心电图杂志*, 2008, 17(2): 134–137.
- [13] YIN J X, GUO J H. Establishment of an animal model of bradyarrhythmia by vagus nerve trunk stimulation [J]. *J Clinical Electrophysiol*, 2008, 17(2): 134–137.
- [14] MONFREDI O, BOYETT M R. Sick sinus syndrome and atrial fibrillation in older persons-A view from the sinoatrial nodal myocyte [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 83: 88–100.
- [15] WEISER-BITOUN I, MORI H, NABESHIMA T, et al. Age-dependent contribution of intrinsic mechanisms to sinoatrial node function in humans [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 18875.
- [16] DOREY T W, JANSEN H J, MOGHTADAEI M, et al. Impacts of frailty on heart rate variability in aging mice: Roles of the autonomic nervous system and sinoatrial node [J]. *Heart Rhythm*, 2021, 18(11): 1999–2008.
- [17] PETERS C H, SHARPE E J, PROENZA C. Cardiac pacemaker activity and aging [J]. *Annu Rev Physiol*, 2020, 82: 21–43.
- [18] PRUD'HOMME G J, KURT M, WANG Q. Pathobiology of the klotho antiaging protein and therapeutic considerations [J]. *Front Aging*, 2022, 3: 931331.
- [19] TAKESHITA K, FUJIMORI T, KUROTAKI Y, et al. Sinoatrial node dysfunction and early unexpected death of mice with a defect of klotho gene expression [J]. *Circulation*, 2004, 109(14): 1776–1782.
- [20] 房晨鹏, 蔡盈盈, 邓珏琳. Klotho 基因多态性与病态窦房结综合征的关系 [J]. *现代预防医学*, 2013, 40(2): 372–375.
- [21] FANG C L, CAI Y Y, DENG J L. Study on the association between Klotho gene polymorphism and sick sinus syndrome [J]. *Mod Prev Med*, 2013, 40(2): 372–375.
- [22] LURJE I, GAISA N T, WEISKIRCHEN R, et al. Mechanisms of organ fibrosis: Emerging concepts and implications for novel treatment strategies [J]. *Mol Aspects Med*, 2023, 92: 101191.
- [23] WANG H F, DU X J, ZHANG Y Y, et al. New perspective on the mechanisms of cardiac fibrosis [J]. *Sci Bull*, 2023, 68(22): 2704–2708.
- [24] CHEN M, WU Q. Roles and mechanisms of natural drugs on sinus node dysfunction [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 164: 114777.
- [25] 骆峰. 窦房结功能障碍时心房电活动变化的实验研究 [D]. 汕头: 汕头大学; 2004.
- [26] LUO F. Electrophysiologic characteristic of the atrium in rabbits with sinus node dysfunction [D]. Shantou: Shantou University; 2004.
- [27] YANG K, LI X, ZHOU B, et al. Sodium hydroxide-induced esophageal stricture *via* an endoscopic injection needle: a novel rabbit model of corrosive injury [J]. *J Interv Med*, 2018, 1(1):

- 5–8.
- [25] RAO W, LIU J, ZHOU Y X, et al. Anti-tumor effect of sodium-induced thermochemical ablation therapy [J]. Int J Hyperthermia, 2008, 24(8): 675–681.
 - [26] ZHONG H B, WANG T J, LIAN G L, et al. Development of a rat model of sick sinus syndrome using pinpoint press permeation [J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 7487324.
 - [27] CHEN C, ZHANG H, HOU S, et al. Shenxian-Shengmai oral liquid evoke autophagy of fibroblast to attenuate sinoatrial node fibrosis in sick sinus syndrome mice via the AKT/mTOR pathway [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 5219277.
 - [28] VERMOT A, PETIT-HÄRTLEIN I, SMITH S M E, et al. NADPH oxidases (NOX): an overview from discovery, molecular mechanisms to physiology and pathology [J]. Antioxidants, 2021, 10(6): 890.
 - [29] MURTADA S I, KAWAMURA Y, WEISS D, et al. Differential biomechanical responses of elastic and muscular arteries to angiotensin II-induced hypertension [J]. J Biomech, 2021, 119: 110297.
 - [30] KONDO H, KIRA S, ONIKI T, et al. Interleukin-10 treatment attenuates sinus node dysfunction caused by streptozotocin-induced hyperglycaemia in mice [J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(1): 57–70.
 - [31] 姚辉. 参仙升脉口服液激活 Nrf2/HO-1 通路抑制内质网应激改善 SSS 小鼠窦房结纤维化 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学; 2020.
 - YAO H. Shenxian Shengmai oral liquid activates Nrf2/HO-1 pathway, inhibits endoplasmic reticulum stress and improves sinoatrial node fibrosis in SSS mice [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine; 2020.
 - [32] CHANG X, LIU J, WANG Y, et al. Mitochondrial disorder and treatment of ischemic cardiomyopathy: Potential and advantages of Chinese herbal medicine [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 159: 114171.
 - [33] ZHANG H, CHEN C, LIU Y, et al. NRF-2/HO-1 pathway-mediated SHOX2 activation is a key switch for heart rate acceleration by Yixin-Fumai Granules [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 8488269.
 - [34] WANG Y, WU Q, LIU J, et al. The effect of the Tongyang Huoxue recipe (TYHX) on the I_{to}/I_{Kur} in ischemia/reperfusion sinoatrial node cells [J]. Cardiovasc Ther, 2022, 2022: 4114817.
 - [35] LIU R, LI J, LIU Y, et al. The effect of astragaloside on pacemaker current and the cytoskeleton in rabbit sinoatrial node cells under the ischemia and reperfusion condition [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 551.
 - [36] 蒋礼祥. 大鼠病态窦房结综合征的模型对比研究 [D]. 遵义: 遵义医科大学; 2021.
 - JIANG L X. Comparative study on models of sick sinus syndrome in rats [D]. Zunyi: Zunyi Medical University; 2021.
 - [37] CHU W, WANG P, MA Z, et al. Ultrasonic treatment of *Dendrobium officinale* polysaccharide enhances antioxidant and anti-inflammatory activity in a mouse D-galactose-induced aging model [J]. Food Sci Nutr, 2022, 10(8): 2620–2630.
 - [38] TIWARI R, KUMAR R, MALIK S, et al. Analysis of heart rate variability and implication of different factors on heart rate variability [J]. Curr Cardiol Rev, 2021, 17(5): e160721189770.
 - [39] SHAFFER F, GINSBERG J P. An overview of heart rate variability metrics and norms [J]. Front Public Health, 2017, 5: 258.
 - [40] MOGHTADAEI M, DOREY T W, ROSE R A. Evaluation of non-linear heart rate variability using multi-scale multi-fractal detrended fluctuation analysis in mice: Roles of the autonomic nervous system and sinoatrial node [J]. Front Physiol, 2022, 13: 970393.
 - [41] XU X, HE S, LIU Q, et al. Cardioneuroablation for successful treatment of symptomatic bradycardia in a 12-year-old child after a 6-month follow-up [J]. Front Cardiovasc Med, 2023, 10: 1290482.
 - [42] QIN M, CHEN X W, LIU X. Reply: atrial ganglionated plexus modification: a novel approach to treat symptomatic sinus bradycardia [J]. JACC Clin Electrophysiol, 2018, 4(2): 288–289.
 - [43] CHEN W, LIU Z, XIAO P, et al. Extracardiac vagal stimulation-assisted cardioneuroablation: dynamically evaluating the impact of sequential ganglionated plexus ablation on vagal control of SAN and AVN in patients with sinoatrial node dysfunction [J]. J Cardiovasc Dev Dis, 2022, 9(6): 188.
 - [44] 赵允梓. AKAP10 与汉族人群病窦综合征的关联研究及其新的突变型致病窦的机制研究 [D]. 北京: 北京协和医学院; 2014.
 - ZHAO Y Z. Association study of AKAP10 with sinus node dysfunction in Han Chinese population and the mechanism of novel mutations of AKAP10 associated with sinus node dysfunction [D]. Beijing: Peking Union Medical College; 2014.
 - [45] 马芳芳, 李敏, 郑明奇, 等. SCN5A 基因突变与心律失常的研究进展 [J]. 中华全科医学, 2019, 17(11): 1902–1906, 1978.
 - MA F F, LI M, ZHENG M Q, et al. Advances in research on SCN5A gene mutation and arrhythmia [J]. Chin J Gen Pract, 2019, 17(11): 1902–1906, 1978.
 - [46] WILDE A A M, AMIN A S. Clinical spectrum of SCN5A mutations: long QT syndrome, brugada syndrome, and cardiomyopathy [J]. JACC Clin Electrophysiol, 2018, 4(5): 569–579.
 - [47] ALKORASHY M, AL-GHAMDI B, TULBAH S, et al. A novel homozygous SCN5A variant detected in sick sinus syndrome [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2021, 44(2): 380–384.
 - [48] VERKERK A O, REMME C A. Zebrafish: a novel research tool for cardiac (patho) electrophysiology and ion channel disorders [J]. Front Physiol, 2012, 3: 255.
 - [49] FENSKE S, KRAUSE S C, HASSAN S I, et al. Sick sinus

- syndrome in HCN1-deficient mice [J]. *Circulation*, 2013, 128 (24): 2585–2594.
- [50] ZHENG M, LI R G, SONG J, et al. Hippo-Yap signaling maintains sinoatrial node homeostasis [J]. *Circulation*, 2022, 146(22): 1694–1711.
- [51] CHO H C, MARBÁN E. Biological therapies for cardiac arrhythmias: can genes and cells replace drugs and devices? [J]. *Circ Res*, 2010, 106(4): 674–685.
- [52] ZHANG J, WEI F, DING L, et al. MicroRNA-1976 regulates degeneration of the sinoatrial node by targeting $Ca_v1.2$ and $Ca_v1.3$ ion channels [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 134: 74–85.
- [53] SHI L, SHEN J, JIN X, et al. Deficiency of CXXC finger protein 1 leads to small changes in heart rate but moderate epigenetic alterations and significant protein downregulation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated 4 (HCN4) ion channels in mice [J]. *Heart Rhythm*, 2021, 18(10): 1780–1789.
- [54] 毕路甲. 不同病态窦房结综合征造模方法对起搏相关离子通道功能的影响及强心复脉颗粒的治疗效果分析 [D]. 新乡: 新乡医学院; 2022.
- BI L J. Effect of different modeling methods on pacing-related ion channel function and therapeutic effect of Qiangxin-Fumai granules in sick sinus syndrome [D]. Xinxiang: Xinxiang Medical College; 2022.
- [55] 程佳新. 基于网络药理学研究益心复脉颗粒治疗病态窦房结综合征的作用机制 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学; 2022.
- CHENG J X. Study on the mechanism of Yixin-Fumai granules in the treatment of sick sinus syndrome based on network pharmacology [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine; 2022.

[收稿日期] 2024-03-04

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11-2986/Q 国际刊号 ISSN 1005-4847 邮局代号 2-748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》(北大核心)等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/>

期待您的来稿!