论著

文章编号:1000-5404(2010)15-1642-03

大鼠左全肺切除致右心室重塑的研究

罗 锋[1],向小勇[2],赵兴吉[3] (400013 重庆,重庆市中山医院胸外科[1];400042 重庆,重庆医科大学附属第一医院胸心外科[2];400014 重庆,重庆市急救医疗中心胸心外科[3])

【摘要】 目的 探讨大鼠左全肺切除术后余肺高血流量及缺氧是否导致肺动脉高压发生,进而导致右心室重塑,以及其可能的发生机制。方法 健康雄性SD大鼠24只,分为2组:实验组($n=12$)大鼠行左全肺切除术,对照组($n=12$)大鼠行假手术。术后饲养12周后用右心导管法测定平均肺动脉压(mPAP);检测大鼠动脉血氧分压;检测右心室肥大指数即右心室/(左心室+室间隔)[right ventricle/left ventricle+septum, RV/(LV+S)]比值;光镜下观察及测量心肌细胞及小动脉形态学变化。结果 实验组大鼠mPAP及RV/(LV+S)明显高于对照组[mPAP:(31.91±1.98) mmHg *vs* (17.82±1.94) mmHg, RV/(LV+S):(0.249±0.024) *vs* (0.225±0.015), $P<0.01$],血氧分压明显低于对照组[(77.46±5.36) mmHg *vs* (90.39±6.02) mmHg, $P<0.01$],心肌细胞直径明显大于对照组[(25.55±1.95) μm *vs* (15.55±1.75) μm, $P<0.01$],心肌小动脉管壁厚度占外径的百分率、心肌小动脉管壁面积占血管总面积的百分率均明显高于对照组($P<0.01$);实验组大鼠RV/(LV+S)与mPAP呈正直线相关($r=0.879$, $P<0.01$),mPAP与血氧分压呈负直线相关($r=-0.862$, $P<0.01$)。结论 大鼠左全肺切除术后余肺高血流量及缺氧可使肺动脉压力升高,进而导致心肌小动脉增生、右心室肥大。

【关键词】 心室重塑;血管重塑;肺动脉高压;全肺切除术;大鼠
【中图法分类号】 R541.9;R655.3 【文献标志码】 A

Right ventricular remodeling induced by left total pneumonectomy in rats

Luo Feng[1], Xiang Xiaoyong[2], Zhao Xingji[3] ([1]Department of Thoracic Surgery, Chongqing Zhongshan Hospital, Chongqing, 400013; [2]Department of Thoracic and Cardiac Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400042; [3]Department of Thoracic and Cardiac Surgery, Chongqing First Aid Medical Center, Chongqing, 400014, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of high pulmonary blood flow and hypoxia in right ventricular remodeling induced by left total pneumonectomy in rats and its mechanism. Methods Twenty-four male SD rats were randomly divided into experimental group (left pneumonectomy, $n=12$) and control group (sham operation, $n=12$). After 12 weeks of feeding, mean pulmonary arterial pressure (mPAP) of each rat was evaluated using a right cardiac catheterization procedure. Partial artery oxygen pressure was measured. The Ratio of Right ventricular mass/left ventricle plus septum (RV/LV+S) ratio was calculated. Changes in myocardial cells and arterioles were observed. Results The mPAP and RV/(LV+S) were obviously higher in experimental group than in control group ($P<0.01$). The partial artery oxygen pressure was lower in experimental group than in control group ($P<0.01$). The diameter of myocardial cells was significantly larger in experimental group than in control group ($P<0.01$). The ratio of myocardial arteriolar medial thickness, external diameter and medial area to total arteriole area was obviously higher in experimental group than in control group ($P<0.01$). The RV/(LV+S) was positively correlated with mPAP. mPAP was negatively correlated with partial artery oxygen pressure. Conclusion After left total pneumonectomy, high pulmonary blood flow in residual lung and hypoxia can increase pulmonary artery pressure, thus inducing hyperplasia of myocardial arteriole and hypertrophy, *i.e*, right ventricular remodeling.

【Key words】 ventricular remodeling; vascular remodeling; pulmonary hypertension pneumonectomy; rats

Corresponding author: Xiang Xiaoyong, E-mail: charliexiang@sina.com; Zhao Xingji, E-mail: zxj60918@sina.com

随着人口老龄化和环境污染的加重,肺癌的发病率不断上升。而大多数肺癌患者就诊时已经达到中晚期,肺癌的治疗原则是以手术为主的综合治疗。肺癌手术的方式主要为肺叶切除术,但全肺切除术仍占有相当大的比例,可达到16.3%~30.0%[1]。随着综合治疗方法的进步,肺癌患者术后生存率得以提高,生存时间延长,这就使患者对提高生存质量的要求尤为迫

【通信作者】 向小勇,E-mail:charliexiang@sina.com
赵兴吉,E-mail:zxj60918@sina.com

切。肺叶切除特别是全肺切除术损伤重,对机体干扰大,术后患者的通气和换气功能都相对降低,存在着不同程度的低氧血症和余肺高血流灌注及心肌损伤,影响心功能特别是右心功能[2]。本研究通过切除大鼠左全肺,制成大鼠低氧和右肺高血流量的动物模型,以模拟临床全肺切除术后的病理生理改变,揭示低氧和高肺血流量所致右心室重塑的部分形成机制,这对深化全肺切除术后肺动脉高压和心功能改变的认识,研究可能的干预措施,提高肺切除术后生存率和生活质量具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康雄性 SD 大鼠 24 只(重庆医科大学实验动物中心提供),6 周龄,体质量 200 ~ 250 g,分为 2 组。实验组(n = 12):行左全肺切除;对照组(n = 12):行假手术。2 组大鼠的常规饲养与饮食条件相同。自术后共饲养 12 周。

1.2 实验动物模型制作

麻醉及气管插管建立人工通气成功后,左胸消毒,沿第五肋间切开皮肤,切开胸前肌及肋间肌,进入胸腔后,减小潮气量,左肺根部上两把止血钳,切除整个左肺。注意不要损伤对侧胸膜。4 号丝线结扎近端肺门,缝合胸部切口。手术历时 8 ~ 10 min。清醒后拔除气管插管,缝合颈部切口。正常对照组麻醉同前,切口至壁胸膜后,保持其完整,不入胸腔,缝合切口。

1.3 大鼠肺动脉压力测定

大鼠饲养 12 周分别称量,麻醉后经右颈外静脉采用右心导管法测定大鼠肺动脉压力,待出现肺动脉压力波形后开始描记肺动脉压力曲线,测定肺动脉平均压。撤出导管,结扎颈外静脉,迅速开胸,留取标本。

1.4 动脉血氧分压检测

肺动脉压测定结束后,从大鼠左心室抽血 1 ml 进行动脉血氧分压检测。

1.5 右心室肥厚的检测

测定平均肺动脉压(mean pulmonary arterial pressure, mPAP)结束后,立即开胸取出大鼠心脏,充分吸去血迹,分离出右心室(right ventricle, RV)和左心室 + 室间隔(left ventricle + septum, LV + S),用滤纸吸干水分后分别用分析天平称量。计算右心室/(左心室 + 室间隔)[right ventricle/left ventricle + septum, RV/(LV + S)]比值,确定有无右心室肥厚。

1.6 心脏组织光镜标本制备及观察

右心室肥大形态学指标的观测:光镜下观测各组心肌细胞及心肌小动脉形态并拍照。定量测定心肌细胞直径。定量测定心肌小动脉外径、管壁厚度、管壁面积及血管总面积,分别计算管壁厚度占心肌小动脉外径的百分率(MT),管壁面积占血管总面积的百分率(MA),作为心肌血管重塑的指标分析。

1.7 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,行独立样本 t 检验;相关关系的判定行直线相关分析的 Pearson 相关系数检验。

2 结果

2.1 肺动脉压力及动脉血氧分压

实验组大鼠 mPAP 明显高于对照组(P < 0.01),动脉血氧分压明显低于对照组(P < 0.01)(表 1)。实验组大鼠 mPAP 与动脉血氧分压呈负直线相关(r = −0.862, P < 0.01)。

表 1 实验组与对照组大鼠动脉血氧分压、mPAP、RV、LV + S、RV/(LV + S)及右心室 MD 的比较(n = 12, $\bar{x} \pm s$)

组别	动脉血氧分压(mmHg)	mPAP(mmHg)	RV(g)	LV + S(g)	RV/(LV + S)	右心室心肌直径(μm)
对照组	90.39 ± 6.02	17.82 ± 1.94	0.128 ± 0.014	0.569 ± 0.030	0.225 ± 0.015	15.55 ± 1.75
实验组	77.46 ± 5.36[a]	31.91 ± 1.98[a]	0.149 ± 0.024[a]	0.596 ± 0.044	0.249 ± 0.024[a]	25.55 ± 1.95[a]

a:P < 0.01, 与对照组比较

2.2 右心室肥大指标

实验组大鼠右心室质量(RV)及右心室肥大指数 RV/(LV + S)明显高于对照组(P < 0.01),两组大鼠 LV + S 比较无显著性差异(P > 0.05)(表 1)。实验组大鼠 RV/(LV + S)与 mPAP 呈正直线相关(r = 0.879, P < 0.01)。

2.3 右心室心肌细胞肥大指标

实验组大鼠右心室心肌直径(MD)明显高于对照组(P < 0.01)(表 1)。HE 染色镜下可见心肌细胞明显肥大,细胞肿胀,排列紊乱,细胞外间质明显增多,细胞间隙明显变窄,并可见散在的局灶性坏死和小的出血点。而对照组心肌细胞形态正常,排列整齐,细胞间隙较宽。见图 1。

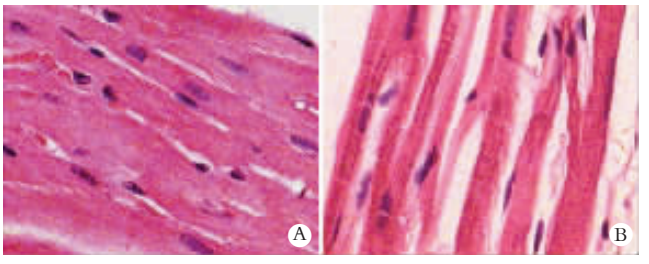


图 1 实验组(A)和对照组(B)心肌组织病理学观察 (HE ×400)

2.4 右心室心肌小动脉重塑指标

从 HE 切片可见,对照组的心肌小动脉管壁菲薄,管腔较大。实验组大鼠右心室心肌小动脉管壁明显增厚,管腔狭窄,有些管腔近于闭塞,内皮细胞增生明显,平滑肌细胞排列更加紊乱,平滑肌肌层增厚。图像分析表明,实验组大鼠心肌小动脉管壁厚度、管壁面积、MT 和 MA 明显高于对照组(P < 0.01)。见图 2,表 2。

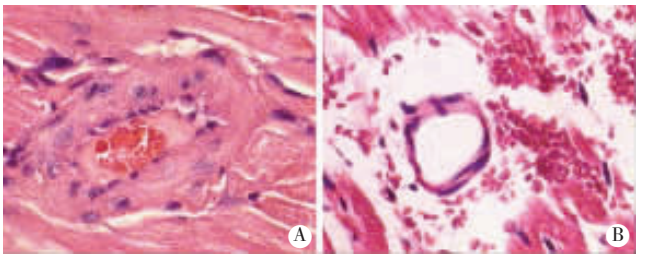


图 2 实验组(A)和对照组(B)心肌小动脉病理学观察 (HE ×400)

表2 实验组与对照组大鼠心肌小动脉外径、管壁厚度、MT、血管总面积、管壁面积及MA的比较($n=12, \bar{x}\pm s$)

组别	外径(μm)	管壁厚度(μm)	MT(%)	管壁面积(μm²)	血管总面积(μm²)	MA(%)
对照组	103.23±18.87	8.11±1.93	7.88±1.27	230.10±47.96	1 086.49±171.71	21.12±2.16
实验组	100.30±15.97	11.15±2.17[a]	11.19±1.78[a]	406.71±69.93[a]	1 123.30±195.85	36.34±3.23[a]

a：$P<0.01$，与对照组比较

3 讨论

大鼠左全肺切除后，低氧血症及余肺的高肺血流量导致了肺动脉高压的产生，说明全肺切除也能成为复制肺动脉高压的很好的动物模型[3]。肺血管结构的改建是高肺血流量及缺氧性肺动脉高压形成的基础[4,5]。本研究表明大鼠左全肺切除术后，动脉血氧分压明显低于对照组，处于缺氧状态，大鼠mPAP与动脉血氧分压呈负的直线相关，也证明了缺氧在肺动脉高压形成中的作用。

本研究结果表明，右心室肥大指数与mPAP呈正相关($r=0.879$)，也证明了这一点。压力负荷一方面直接刺激细胞生长，另一方面可刺激心肌组织产生各种分泌因子来诱导特异性的心肌细胞肥大。最近不少相关研究表明成熟心肌细胞具有分裂增殖能力，可以重回细胞周期，分裂产生新细胞以适应负荷改变[6]。因此，心肌肥大应包括细胞增殖和细胞体积的增大两个方面。大鼠左全肺切除后，右心室心肌小动脉发生重塑。心肌小动脉重塑使动脉管壁增厚，管腔变窄，造成血流阻力增大，血流量减少而影响心室功能。既往有学者用多种动物和不同的方法制作出了缺氧性肺动脉高压模型[7]。但是这些模型中低氧所致肺高压多为一过性，不能模拟终末期肺高压的组织学病变，且低氧是由于直接吸入低氧气体所致而不是继发于肺的换气功能障碍。

另外经常使用的还有左向右分流动物模型。其制备多数是利用猪、羊和狗等大动物建立体－肺分流：采用左锁骨下动脉与左肺动脉、左肺动脉分支与降主动脉行端侧吻合或者左锁骨下动脉与左下叶肺动脉行端端吻合或者在主动脉与肺动脉之间放置移植物行侧侧吻合。由于花费大、开胸手术难度较大、死亡率较高，因此限制了这些模型的进一步推广。有研究[8]通过将兔的颈部动静脉血管吻合建立左向右分流肺动脉高压模型；也有研究[9]通过探针将大鼠的腹主动脉向下腔静脉侧穿破形成血肿并使血肿与下腔静脉相贴，然后穿破下腔静脉而建立了左向右分流肺动脉高压模型，但这些模型动物死亡率高，分流处血管的通畅率低，实验结果容易出现偏差。也有学者用注射野百合碱(MCT)对大鼠造成直接的肺血管损伤，导致肺动脉压升高。但雌激素能抑制MCT的作用，雌性鼠对MCT较不敏感，且雌激素血浓度有周期性变化，将会影响病理模型的稳定。并且野百合碱导致肺动脉各级血管内皮细胞广泛、不可逆的损伤，不利于进行干预措施的研究[10]。

本研究以SD大鼠为实验对象，采取整个左肺切除的方法，成功的建立了肺动脉高压、右心室重塑的动物模型。有研究表明，压力超负荷的持续时间与右心室肥大有明显相关性[11,12]。本研究在术后12周采用右心导管法测得肺动脉压力明显升高，RV/(LV＋S)比值明显增加，提示肺动脉高压形成并导致右心室肥厚。整个手术过程相对简单，实验重复性好，动物存活率高，为进一步明确高肺血流量所致肺动脉高压的发病机制进而探索干预途径提供了实验基础。本研究对大鼠施行左全肺切除术，模拟了胸外科临床实践中肺切除术后对患者造成的解剖上的损伤和病理生理改变，进而为研究其损伤机制，探讨干预措施提供了一个很好的实验动物模型。

参考文献：

[1] 张德超，毛友生，黄国俊. 中国肺癌外科治疗概况与进展[J]. 中国肺癌杂志，2005，8(6)：557－562.

[2] 聂军，葛建军，杨小龙，等. 肺切除术影响围手术期右心功能[J]. 中华胸心血管外科杂志，2009，25(3)：172－174.

[3] 刘斌，王献民，魏丽，等. 4种肺动脉高压动物模型肺血管重构模式的差异研究[J]. 中国病理生理杂志，2008，24(2)：289－293.

[4] 齐建光，杜军保，李简，等. 左向右分流所致肺动脉高压大鼠模型的建立及其肺血管结构的变化[J]. 中华实验外科杂志，2002，19(3)：199－200.

[5] 王培勇，刘健，曾强，等. 缺氧时培养的肺动脉平滑肌细胞的增殖与内皮素自分泌关系的探讨[J]. 第三军医大学学报，2000，22(1)：85－88.

[6] 刘进军，王晓虹，苏兴利，等. 压力超负荷致心肌细胞增殖细胞核抗原和周期素D1的表达变化及其与心肌肥大的关系[J]. 中国动脉硬化杂志，2005，13(4)：467－470.

[7] 杨晓静，毛宝玲，钱桂生，等. 肺动脉高压大鼠模型的复制[J]. 上海实验动物科学，1997，17(4)：199－202.

[8] Miyamoto T, Takeishi Y, Shishido T, *et al*. Role of nitric oxide in the progression of cardiovascular remodeling induced by carotid arterio-venous shunt in rabbits[J]. Jpn Heart J, 2003, 44(1): 127-137.

[9] van-Albada M E, Schoemaker R G, Kemna M S, *et al*. The role of increased pulmonary blood flow in pulmonary arterial hypertension[J]. Eur Respir J, 2005, 26(3): 487－493.

[10] 熊迈，姚尖平，徐颖琦，等. 两种大鼠肺动脉高压模型肺血管重塑的血流动力学、组织学和体视学指标变化[J]. 中华实验外科杂志，2009，26(8)：1043－1045.

[11] 赵永辉，崔长琮，王康君. 压力超负荷兔左心室结构和功能的动态改变及其意义[J]. 中国心血管病研究，2009，7(4)：301－304.

[12] 秦强，李福海，冯进波，等. 压力容量超负荷大鼠模型右心室重塑过程中细胞间质的改变[J]. 山东大学学报：医学版，2006，44(8)：810－814.

(收稿 2010-03-03 修回 2010-05-10)

(编辑 王小宴)