维普资讯 http://www.cqvip.com

论著 文章编号:0253-3626(2007)07-0718-04

呋喃唑酮诱导大鼠扩张性心肌病模型的实验研究

丁 乐[1],钟家蓉[1],白永虹[2],张小萍[3]

(重庆医科大学附属儿童医院 1.心血管内科;2.心脏彩超声室;3.儿科研究所,重庆 400014)

【摘 要】目的:应用呋喃唑酮诱导大鼠扩张性心肌病(DCM)模型的建立。方法:用呋喃唑酮长期喂饲 Wistar 大鼠建立扩张性心肌病模型,超声心动图检测大鼠左室舒张末内径(LVDD)、左室收缩末内径(LVSD)、左室舒张末容积(LVDV)、左室收缩末容积(LVSV)、左室内径缩短率(FS)及左室射血分数(LVEF),病理组织切片检查心肌的形态学变化。结果:与正常对照组相比,DCM 组大鼠体重明显减轻,心脏重量/体重比值增加,心脏呈球形扩大,LVSD 明显增大,FS(%)和 LVEF(%)均明显下降。HE 和 VG 染色分别显示 DCM 组大鼠心肌细胞肥大、变性,间质胶原纤维明显增多。结论:呋喃唑酮长期喂养可成功建立大鼠扩张型心肌病模型,方法简单,死亡率低,成功率高。经胸超声心动图可以用来检测评估模型的建立和效果。

【关键词】扩张性心肌病;呋喃唑酮;超声心动图;大鼠;动物模型

【中国图书分类法分类号】R542.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-10-31

Empirical study of furazolidone-induced dilated cardiomyopathy model in rats

DING Le, et al

(*Department of Cardiology, the Children's Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To determine the efficacy and reliability of furozolidone-induced dilated cardiomyopathy model in rats and to evaluate it by transthoracic echocardiography. *Methods*: Wistar rats were fed with furazolidone for eight weeks. Left ventricular end-diastolic diameter (LVDD), left ventricular end-systolic diameter(LVSD), fraction shortening(FS)and left ventricular ejection fraction (LVEF)were determined by echocardiogram. Myocardial cell morphology was observed by histopathologic slides. *Results*: Compared with the normal control group, the body weights, FS and LVEF were decreased obviously, whereas the ratios of heart weight and body weight and LVSD were increased significantly. The HE and VG staining displayed that Myocardial cells developed hypertrophy and degeneration, whereas the interstitial collagen fibers got hyperplasia. *Conclusion*: The DCM rats model can be established successfully by feeding with furozolidone for long time. This method is simple with high success rate and low death rate. The transthoracic echocardiography can be applied in monitoring the animal model's formation and effect.

【Key words】Dilated cardiomyopathy; Furozolidone; Echocardiography; Rat; Animal model

扩张性心肌病 (Dilated cardiomyopathy, DCM)是一种病因尚不明确的心肌疾病,以心肌细胞坏死,间质纤维化、胶原增生为主要病理特征,以心室扩张收缩功能下降,心律失常和心力衰竭为主要临床表现。临床治疗主要包括药物治疗、手术治疗及心脏移植等综合治疗措施,但均不能明显降低此类疾病的死亡率。目前已成为严重威胁人类生命的心血管疾病之一。由于其病因和发病机制不清,目前药物治疗主要为对症治疗,其预后往往不佳。因此建立一个能较好模仿人类 DCM 的动物模型将为人们研究 DCM 的病因和发病机制提供实验基础。本实验借鉴呋喃唑酮诱导的火鸡扩张性心肌病动物模型,采用呋喃唑酮长期喂饲 Wistar 大鼠建立稳定的 DCM 模型,应用超声心动图评价模型的建立效果,为人们提供一种简单的可靠的建立 DCM 的方法。

作者介绍:丁 乐(1980-),女,硕士生,
主要研究方向:心肌炎心肌病的免疫机制。

1 材料和方法

1.1 研究对象

母乳喂养至两周龄的近交系 Wistar 大鼠共 40 只,雌雄不分,体重 25~35g,由重庆医科大学实验动物中心提供。随机

维普资讯 http://www.cqvip.com

分为扩张性心肌病(DCM)组 30 只和正常对照组(C)组 10 只。

1.2 主要试剂及仪器

呋喃唑酮(Furazolidone,成都市前江制药厂,国药准字 H51020009),羧甲基纤维素钠(C-4888,Sigma),10%水合氯醛,苏木素、伊红等 HE 染色常规试剂均为国产分析纯试剂,VG 染色试剂盒(MST-8001,福州迈新生物技术开发有限公司),石蜡切片机(英国 Thermo Shandon 公司),日本 AlokaSSD-5000 彩色多普勒超声诊断仪。

1.3 扩张性心肌病动物模型的建立

DCM 组:将呋喃唑酮用羧甲基纤维素钠配成 20mg/ml 的溶液,按 0.2mg/g 体重灌胃,每日 1 次,每周按体重调整用药剂量,共喂饲 8 周。C 组:非用药组。其它喂饲条件相同。

1.4 心功能的超声检测

采用日本 Aloka SSD-5000 超声诊断仪,探头频率 10MHz,由经验丰富的医师专人专机操作。10%水合氯醛 0.3ml/100g 麻醉大鼠,仰卧固定于操作台上,8%硫化钠脱去胸部毛发,取左室长轴切面和左乳头肌水平测量 M 型曲线,连续测 3 个心动周期的左室 LVDD、LVSD、LVDV、LVSV,取其平均值,经 Simpson 法换算 LVEF、LVFS。

1.5 心肌组织病理学检测

喂饲 8 周后处死大鼠,迅速取出跳动的心脏,用滤纸吸净血液,称重,取左室心肌组织 2~3mm 厚,经 10%甲醛固定,常规石蜡包埋、切片,HE 及 VG 染色,光镜观察。

1.6 统计方法

数据采用 SPSS13.0 软件包处理,均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)示,用 t 检验,$P<0.05$ 表示差异有显著性。

2 结 果

2.1 一般情况

造模 8 周后,总的 DCM 组大鼠死亡率为 13.33%(4/30),而 C 组死亡率为 0。其中造模成功率为 83.33%(25/30)。本实验研究在造模第六周后开始出现大鼠呋喃唑酮中毒症状,表现为精神沉郁、站立不稳,不食,继而出现一些典型的神经症状,跛在地上头转圈,两腿伸直作游泳姿势,有时表现为角弓反张状。大体尸解发现口腔、消化道粘膜均呈黄染,肠道浆膜呈黄褐色。心肌变性、发硬、心脏扩张。而最后有一只大鼠模型未建成功,心功能良好,可能与大鼠个体差异以及耐受量有关。

2.2 体重

实验开始时两组无差异,实验结束时 DCM 组体重较正常组明显减少,为(186.69±59.56)g 和(251.40±55.99)g,($P<0.05$)差异有显著性。

2.3 心脏重量/体重(HW/BW)

因两组体重差异显著,心脏重量无可比性,故以 HW/BW 衡量心脏重量,DCM 组较正常组增大,为(0.0033±0.00026)和(0.0028±0.00057),$P<0.05$。

2.4 超声心动图检查

与正常组比较,DCM 组表现为心腔扩大,左室

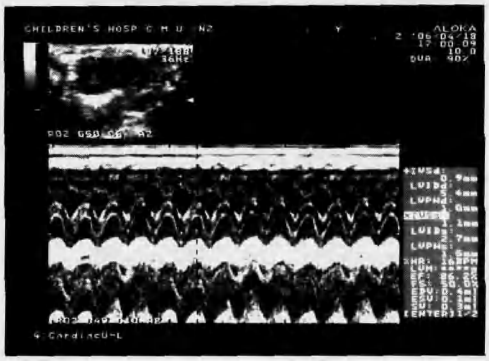


图 1 正常鼠 M 型超声心动图

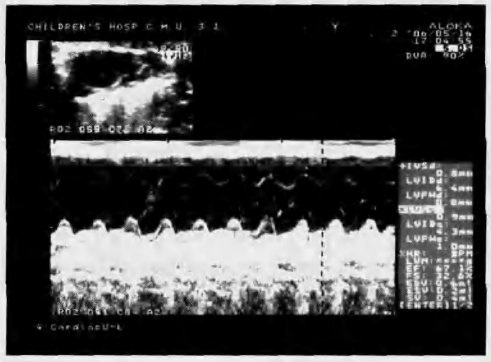


图 2 DCM 鼠 M 型超声心动图

后壁动度明显减弱。如图 1、2 所示。

心功能参数显示,LVSD 升高,LVEF、FS 明显降低,差异有显著性。而 LVDD 与正常组比较差异无显著性,但 LVDD/BW 比正常组升高,差异有显著性。如表 1。

表 1 正常 Wistar 大鼠心功能参数与 DCM 组比较表($\bar{x} \pm s$)

	n	LVEF(%)	LVFS(%)	LVDD(mm)	LVSD(mm)	LVDD/BW
正常组	10	82.38±2.94	44.99±2.78	5.27±0.46	2.91±0.27	0.0219±0.0049
DCM 组	25	68.15±3.68*	33.21±2.65*	5.43±0.53	3.62±0.37*	0.0374±0.0072*
t 值		9.99	10.34	0.76	5.1	5.801

* 与正常组比较 $P<0.05$,其统计图如见图 3、4

维普资讯 http://www.cqvip.com

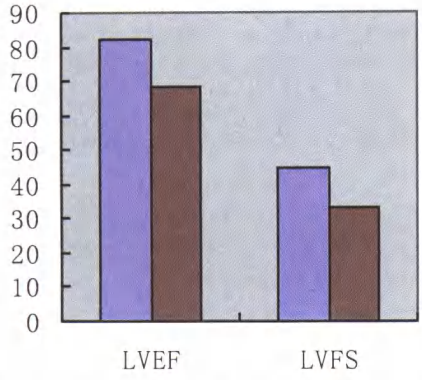


图 3 正常鼠级和 DCM 组大鼠 LVEF、LVFS 比较图

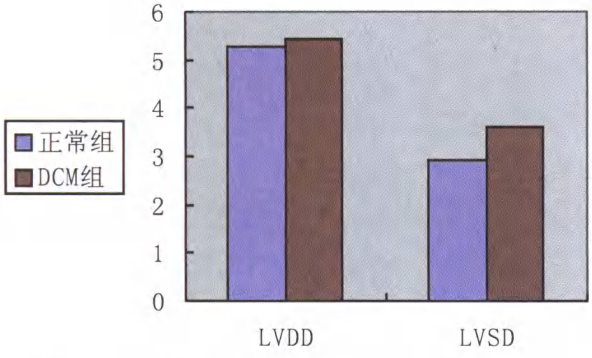


图 4 正常鼠级和 DCM 组大鼠 LVDD、LVSD 比较图

2.5 心肌病理学改变

光镜下 HE 和 VG 染色见 DCM 组大鼠心肌细胞灶性溶解断裂，部分呈波浪状，有不同程度的颗粒变性和空泡变性，心肌细胞胞核大，淡染。心肌胶原纤维增生明显，心肌细胞间质可见大量染成红色的丝状胶原纤维。正常组大鼠显示心肌细胞排列整齐规则，染色均匀，胞核结构清晰，大小均一，心肌纤维横纹清楚，只在心肌纤维间或血管周围见少量的胶原纤维。见图 5~10(×400 倍)。

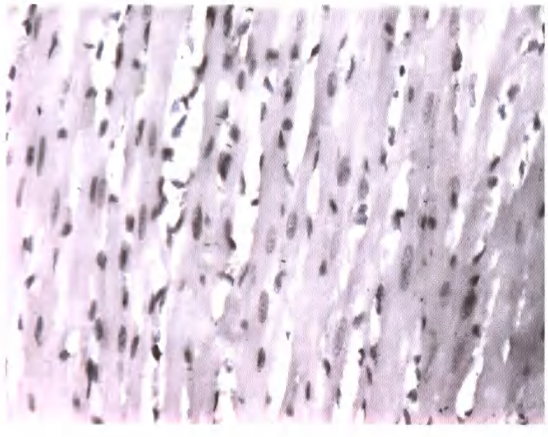


图 5 正常鼠心肌 HE 染色

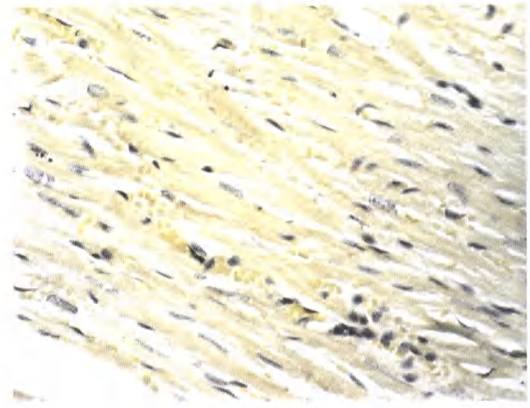


图 6 正常鼠心肌 VG 染色

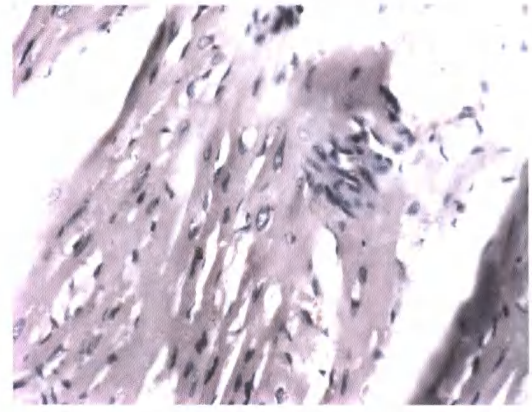


图 7 DCM 鼠心肌 HE 染色

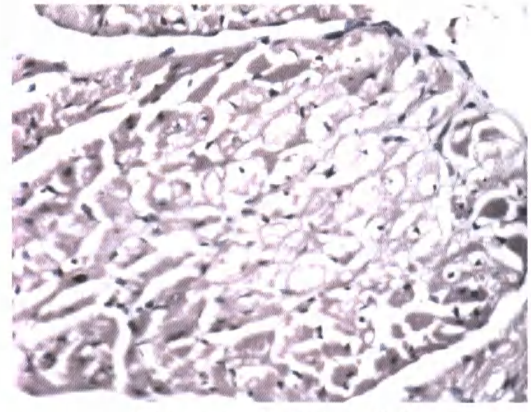


图 8 DCM 鼠心肌 HE 染色

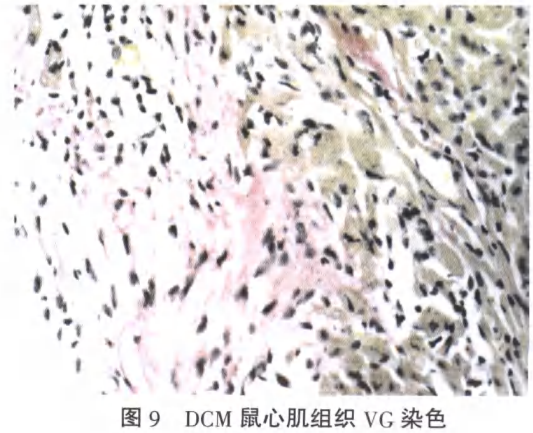


图 9 DCM 鼠心肌组织 VG 染色

维普资讯 http://www.cqvip.com

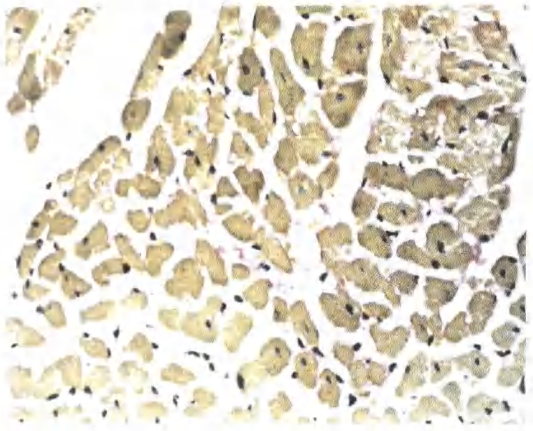


图 10 DCM 鼠心肌组织 VG 染色

3 讨 论

人类扩张性心肌病主要表现为进行性心脏肥大、心腔扩大、心脏收缩功能减退，伴或不伴有充血性心力衰竭。本病的心脏显微镜下检查可以见到心肌细胞不均匀性肥大、伸长，核大而深染，核形不整，出现沟裂、迂曲或皱褶。心肌胞浆发生空泡变性、嗜碱性变及小灶状液化性肌溶解。内膜下及心肌间质(心肌细胞间和血管周围)纤维化，可见多数小瘢痕。肉柱间隐窝内常可见小的附壁血栓[1]。本实验研究从开始时体重无差异的 Wister 大鼠在实验结束时，DCM 组均比正常组明显降低，而心脏重量/体重比正常组明显增大，这与人类 DCM 心肌细胞肥大、间质纤维化引起心脏重量增加相符。超声心动图测定心功能参数显示 LVSD 明显高于正常组，虽然 LVDD 与正常组比较无显著差异，但是 LVDD/BW 则有明显差异，DCM 组 LVEF、FS 较正常组明显降低，这些都与人类 DCM 时心腔明显扩大和心脏收缩功能明显降低的特征一致。

选择呋喃唑酮诱导大鼠 DCM 是参照国外呋喃唑酮诱发火鸡特发性 DCM，其在大体形态，心肌能量代谢，心肌纤维生理特征，Ca^{2+}代谢和 β-受体腺苷酸环化酶系统方面的变化与人类 DCM 相似[2]。国外学者研究表明[3]呋喃唑酮诱导的火鸡模型是目前发现的最接近人类心力衰竭的扩张型心肌病的实验动物模型。其收缩功能下降(主要是左室内径缩短率下降)和形态学改变(心脏容量增加、左心室扩张、心肌细胞肥大)是此模型的特征性改变。国内也有少数学者[4]研究呋喃唑酮诱导大鼠 DCM 的实验，结果表明呋喃唑酮诱导的 DCM 大鼠 血浆内皮素(ET)、血管紧张素(AngII)、心钠素(ANP)均明显升高，血浆血栓素 (TXB_2)、前列腺素 F_{1a} (PGF_{1a})与 PGF_{1a}/TXB_2 变化也与人类心衰时的变化相一致，证明了呋喃唑酮诱发的大鼠 DCM 模型不仅出现于人类相同的活体形态学改变、组织病理改变而且具有相同的神经内分泌变化，因此呋喃唑酮诱发的大鼠 DCM 模型是成功的。

目前对呋喃唑酮引起 DCM 的分子机理尚不清楚，而呋喃唑酮是一种单胺氧化酶抑制剂，可能对抗体内儿茶酚胺的清除，后者浓度过高具有强烈的心脏毒性，导致心肌细胞过度兴奋、变性、坏死[5]。本实验研究表明死亡大鼠均明显的出现了呋喃唑酮引起的心脏毒性，同时也表现为神经毒性，而心肌病理组织学检查证实了心肌细胞的变性、坏死、间质纤维化等特征。超声心动图显示 DCM 鼠出现左室球形化，但其具体机理尚未完全明确。可能与心脏胶原纤维网络的变化有关。胶原网络起着支持、维系心肌细胞，防止心肌细胞滑移、过度伸展、心肌断裂和传递力的作用。心脏胶原总量的增高导致心肌纤维化而增加心肌僵硬度引起舒张功能不全或心力衰竭[6]。同时 DCM 心肌胶原降解增强，胶原网络破坏性重构可引起胶原网络结构的破坏，心肌纤维及肌束间失去胶原的连接固定作用导致肌束肌纤维之间滑脱、错位、再排列，后者在心室扩大、球形化过程中有重要的作用[7]。

参 考 文 献

[1] 李甘地.病理学[M]北京：人民卫生出版社，2001.183-187.

[2] Genao A,Seth K,Schunidt U,et al. Dilated cardiomyopathy in the turkeys:an animal model for the study of human heart failure [J].Lab Anim Sci,1996;46(4):399-404.

[3] Hajjar RJ,Liao R,Young JB,et al.Pathophysiological and biochemical characterisation of an avian model of dilated cardiomyopathy:comparison to findings in human dilated cardiomyopathy[J].Cardiovasc Res,1993;27:2212-2221.

[4] 于 勤，朱 宁，吕 申，等.呋喃唑酮诱发 SD 大鼠扩张型心肌病病理及神经内分泌研究[J].中国临床医学，2004;(11):30-33.

[5] 李隆贵.现代心肌病学[M].成都：四川科学技术出版社，1998.97-123.

[6] Weber KT,Brilla CG,Janicki JS.Structural remodeling of myocardial collegen in systemic hypertension:functional conquences and potential therapy[J].Heart Failure,1990;6:129-137.

[7] Sisakian S,Avakian SA,Kamalov CG,et al. the role of quantitative determination of the volume fraction of interstitial collagen and fibronectin in the pathogenesis of myocardial remodeling in dilated cardiomyopathy[J].Klin Med[Mosk],2001;79:24-26.