维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2005)02－0173－04

正常和肥厚兔离体心肌僵硬度的比较

苟怀宇，黄　晶，张春晓，邓昌明，刘地川，江永红，杨　刚

(重庆医科大学第二临床学院心内科,重庆　400010)

【摘　要】目的:应用自行研制的负荷－形变实验装置,分析正常和肥厚兔离体心肌应力—应变关系,比较两者心肌僵硬度的差异,探讨在心肌用印压方法检测其僵硬度的可行性。方法:通过"两肾一夹"方法建立心肌肥厚模型,45 只兔随机分成三组:组Ⅰ－正常对照组(N,15 只)、组Ⅱ－术后两月组(2M,15 只)、组Ⅲ－术后三月组(3M,15 只)。利用自行研制的负载—位移实验装置,测定兔离体心肌局部游离壁承受不同负载时的厚度变化,通过应力－应变关系的研究,比较三组心肌僵硬度的差异。结果:兔离体心肌游离壁应力—应变关系呈指数曲线:$Y = Ae^{BX}$($r = 0.874 \sim 0.912$)。但当应力在一定范围时,其应力—应变关系可拟合成直线方程:$Y = AX \pm B$($r = AX \pm B$($r = 0.912 \sim 0.939$))。三组方程的斜率:组Ⅰ＜组Ⅱ＜组Ⅲ,有显著差异($P < 0.05$)。结论:兔肥厚心肌僵硬度大于正常心肌,印压方法可比较两者僵硬度的差异。

【关键词】兔,离体心肌;僵硬度;印压实验

【中国图书分类法分类号】R541.6^{+}1　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2004－07－05

Comparison of stiffness between normal and hypertrophic isolated myocardial wall in rabbits

GOU Huaiyu, et al

(*Department of Cardiology, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To compare the difference in stiffness between the normal and hypertrophic isolated myocardium in rabbits by analyzing the stress－strain relationship of free wall with our prototype load－deformation experimental device, and to explore the feasibility of detecting myocardiial stiffness by indentation test. *Methods*: The animal model of left ventricular hypertrophy was established with the method of "two－kidney, one clip" hypertension in rabbits. Forty－five rabbits were divided into three groups: Group Ⅰ－control group(N, $n = 15$); Group Ⅱ－two—month group after operation(2M, $n = 15$); Group Ⅲ－three—month group after operation(3M, $n = 15$). To assess myocardial stiffness, the stress－strain relationsips of the normal and hypertrophic isolated myocardial free wall were analysed by utilizing our prototype load－deformation experimental device when the different forces were exerted perpendicularly. *Results*: The stress－strain relationship of the normal and hypertrophic isolated myocardial free wall could be fitted to a typical exponential equations: $Y = Ae^{BX}$($r = 0.874 \sim 0.912$). The stress－strain relationships was linear within the scope of a certain stress. The slopes of the linear equation in Group Ⅲ were maximum. The slopes of the linear equation in Group Ⅰ were minimum. There were significant differences among the three groups($P < 0.05$). *Conclusion*: These data suggest that the stiffness of the hypertrophic myocardium induced by the two－kidney, one－clip renal hypertension in rabbit is greater than that of the normal myocardium. The difference between the stiffness of them could be detected by indentation test.

【Key words】Rabbit; Isolated myocardium; Stiffness; Indentation test

舒张性心力衰竭(diastolic heart failure, DHF)是以主动心肌松驰障碍和/或被动心肌僵硬度增加为主要特征的慢性充血性心力衰竭[1]。被动僵硬度主要取决于心肌自身内部因素,心肌僵硬度的改变会对心脏舒张功能产生重要影响,目前仍缺乏有效评估舒张功能的方法。印压方法是对组织施加一定应力,组织产生一定形变,通过研究它们之间的关系对组织生物特性进行评估的方法。本实验通过自行研究的印压装置对正常和肥厚兔离体心肌游离壁进行垂直单轴加载实验,分析其应力—应变关系,研究印压方法检测心肌僵硬度的可行性。

作者介绍:苟怀宇(1975－　),男,住院医师,硕士,主要研究方向:介入心脏病学基础与临床。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371361)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 材料与方法

1.1 印压实验装置

印压实验装置由重庆医科大学与重庆交通学院共同研究研制(见图 1)。其主要设备包括数显千分表(分辨率 0.001mm,测量范围 0～12mm,成都远恒精密测控技术有限公司)和三种不同直径的圆柱形的探头:8F(2.66mm)、6F(2mm)、4F(1.33mm)。千分表内部有一弹簧沿金属杆缠绕,刚好能对抗漏斗、金属杆等自身重量。其工作原理:该实验装置测定负荷—位移关系服从 Hook 定律,用以测定在心室壁垂直方向的应力和应变关系。在漏斗中加载砝码(从 5g 砝码开始,每 3s 增加 5g 砝码,至 80g 砝码为止),心肌所得到的力为砝码所给的力减去实验装置内部弹力,而心肌发生的形变可由数显千分直接显示。

1.2 "两肾一夹"方法建立肾性高血压动物模型及分组

随机选择健康新西兰兔 45 只,雌雄不分,体重 2.0～3.0kg,由重庆医科大学动物中心提供。用"两肾一夹"(2K1C)方法建立肾性高血压动物模型。新西兰兔予以速眠新注射液(0.2～0.3ml/kg)肌注麻醉,按无菌操作程序,行腹正中切口,分离左肾动脉,放入直径为 0.41mm 细钢丝,并与肾动脉紧贴平行放置,用细丝线扎紧肾动脉和细钢后,抽出钢丝[2]。术后 3 天予以流质并肌注青霉素(3×10^4U/d),饲养 2～3 个月。45 只兔随机分成三组:组Ⅰ－正常对照组(15 只)、组Ⅱ－肾动脉缩窄术后 2 月组(2M,15 只)、组Ⅲ－肾动脉缩窄术后 3 月组(3M,15 只)。

1.3 兔离体心肌活性保持的建立及实验方法

新西兰兔用速眠新注射液肌注麻醉后,行胸骨正中切口开胸,迅速剪下心脏,在数个盛有 4℃ 生理盐水冰浴中浸泡清洗,左冠状动脉插管,并将其缝合固定,用 95%O_2－5%CO_2 充分氧合约 37℃ Krebs－Henseleit 缓冲液(K－H 氏液,Sigma 公司)灌注,然后将左房左室游壁包括主动脉根部左冠状动脉开口部位剪下。浸浴在盛有约 37℃ 的 K－H 氏液培养皿中,并用 95%O_2－5%CO_2 气体持续氧合[3]。使用印压实验装置,在心肌游离壁上选择数个部位,分别用 8F、6F、4F 探头,在刚好垂直接触心肌壁时进行载荷,开始加载数个较小的的 1～2g 砝码,不计入载荷的重量内,然后,每次加载 5g 砝码,并记录心肌发生的形变(图 2)。最后,转换成应力—应变关系。

1.4 心脏重量指数的测定

完成上述操作之后,去除左心房、脂肪组织和右心室,保留左室及室间隔,滤纸吸干水分,用电子天平准确称量左心室重量包括室间隔(LVW),计算心脏重量指数(左心室重量/体重,LVW/BW),以定量心肌肥厚程度。

1.5 数据处理

应用 SPSS11.0 统计软件对数据进行统计学处理(结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示)及曲线似合。三组均数间比较采用单因素方差分析,$P<0.05$ 被认定有统计学意义。

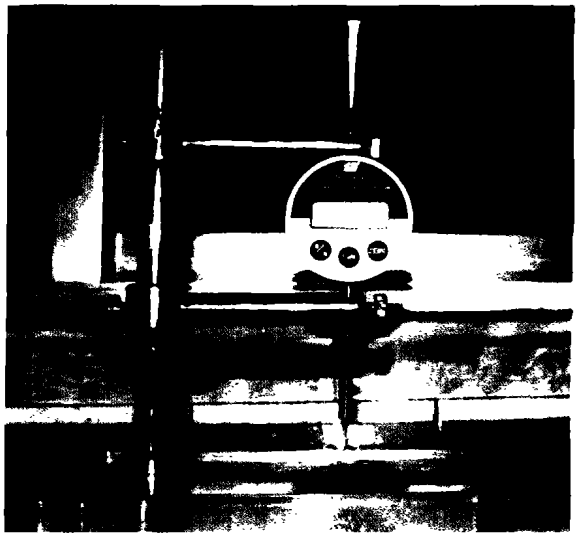


图 1 印压实验装置

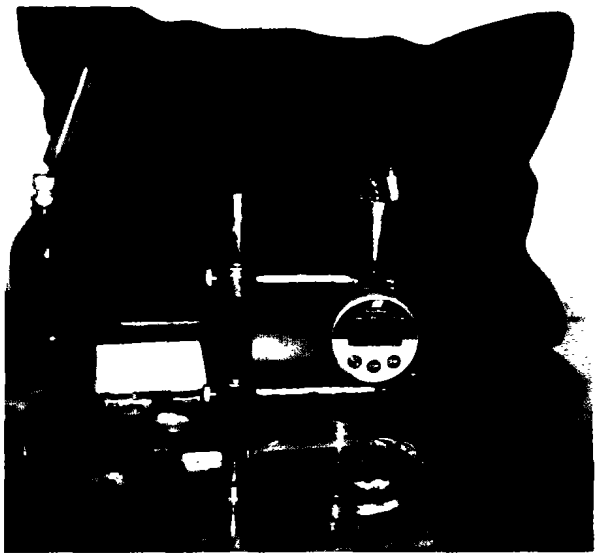


图 2 应力－应变关系实验检测

2 结 果

2.1 "两肾一夹"对兔心脏重量影响

从表 1 可见,组Ⅱ和组Ⅲ的 LVW 和 LVW/BW 明显高于组Ⅰ,组Ⅱ分别增加 15.26% 和 8.7%($P<0.05$),组Ⅲ分别增加 23.71% 和 12.7%($P<0.05$)。

表 1 肾动脉缩窄对兔心脏重量的影响($\bar{x}\pm s$, $n=40$)

	组Ⅰ(N)	组Ⅱ(2M)	组Ⅲ(3M)
LVW(g)	4.26±0.16	4.91±0.42	5.27±0.51
BW(kg)	2.84±0.94	3.01±0.24	3.12±0.19
LVW/BW(10^{-3})	1.50±0.01	1.63±0.03	1.69±0.09

2.2 兔离体心肌应力－应变关系

2.2.1 三种探头测定同一组心肌所得的应力－应变关系比较

维普资讯 http://www.cqvip.com

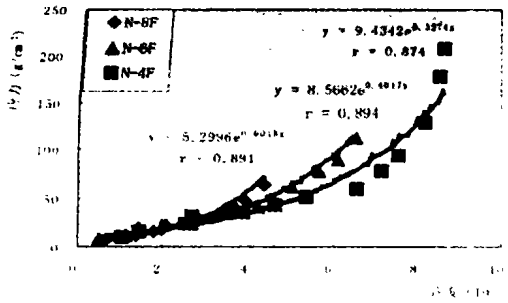


图 3 正常组各探头应力—应变关系比较

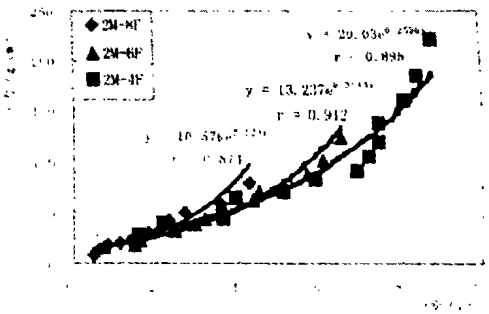


图 4 术后两月组各探头应力—应变关系比较

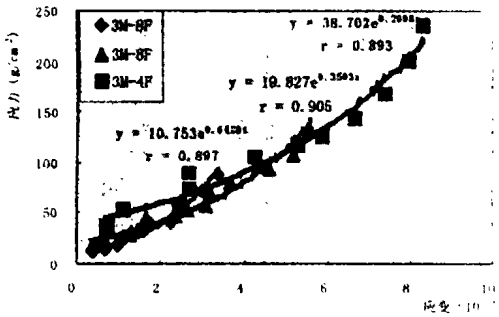


图 5 术后三月组各探头应力—应变关系比较

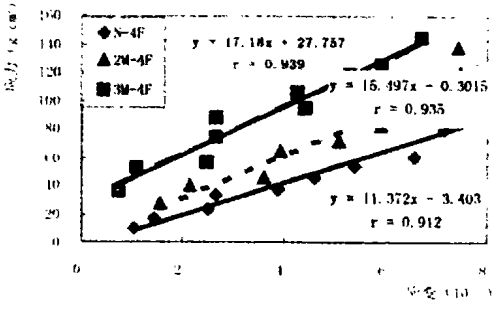


图 6 正常组各探头应力—应变关系比较

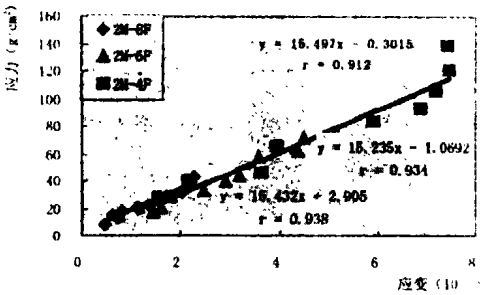


图 7 术后两月组各探头应力—应变关系比较

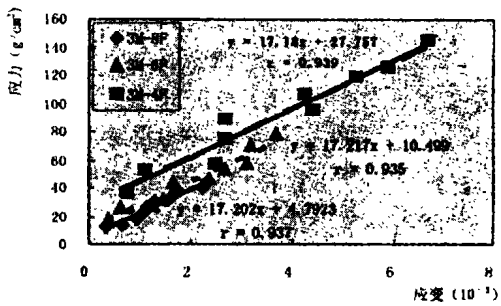


图 8 术后三月组各探头应力—应变关系比较

当用各探头测定三组心肌所得的应力与应变进行曲线拟合，发现其它们之间关系可以拟合呈指数曲线 $Y=Ae^{BX}$（$r=0.874\sim0.912$）（见图 3 至图 5）。

2.2.2 应力在一定范围内时，三种直径探头测定相同组所得的应力－应变关系曲线

当把较大的应力值去掉，即当应力在一定范围内时（8F：5.127±0.416～42.083±0.416g/cm^2；6F：7.150±0.658～71.357±0.622g/cm^2；4F：9.188±0.423～137.623±0.453g/cm^2），再进曲线拟合，发现它们之间的关系可以拟合成直线（$r=0.912\sim0.938$）（见图 6 到图 8）。从图中可见相同组的三条直线近乎平行。组Ⅰ分别用 8F、6F、4F 探头测定应力－应变关系所得直线方程为别是 $Y=11.095X-1.415$（$r=0.935$）；$Y=11.329X-0.174$（$r=0.937$）；$Y=11.372X-3.403$（$r=0.935$），直线斜率间无显著差别（$P>0.05$）；组Ⅱ分别用 8F、6F、4F 探头测定应力－应变关系所得直线方程为别是 $Y=15.432X+2.905$（$r=0.938$）；$Y=15.535X-1.019$（$r=0.934$）；$Y=15.497X-0.301$（$r=0.912$），直线斜率间无显著差别（$P>0.05$）；组Ⅲ分别用 8F、6F、4F 探头测定应力－应变关系所得直线方程为别是 $Y=17.202X+4.792$（$r=0.937$）；$Y=17.21X+10.499$（$r=0.935$）；$Y=17.180X\pm27.757$（$r=0.939$），直线斜率间无显著别（$P>0.05$）。

2.2.3 应力在一定范围内时，相同直径探头测定三组心肌所得的应力－应变关系比较

在上述应力范围内时，对相同直径探头测定三组心肌所得的应力－应变关系进行曲线拟合，发现可得三条斜率不同的直线方程（见图 9 至图 11）。从图 9 可见，组Ⅲ，组Ⅱ，组Ⅰ的直线斜率分别是：17.202，15.432，11.095（$P<0.05$）；从图 10 可见，组Ⅲ，组Ⅱ，组Ⅰ的直线斜率分别是：17.217，15.235，11.329（P

维普资讯 http://www.cqvip.com

<0.05);从图 11 可见,组Ⅲ,组Ⅱ,组Ⅰ的直线斜率分别是:17.180,15.974,11.372($P<0.05$)。所以,用相同直径的探头测定三组心肌所得的直线斜大小:组Ⅲ>组Ⅱ>组Ⅰ。

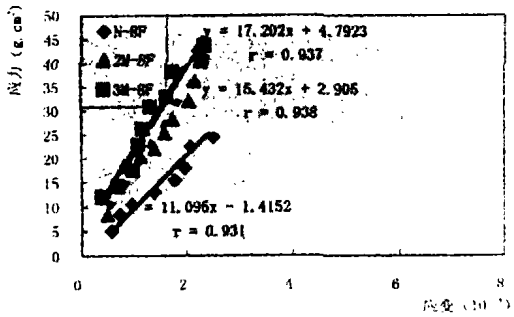


图 9 8F 探头测定三组所得的应力－应变关系比较

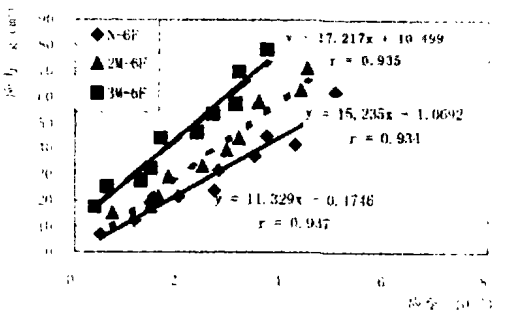


图 10 6F 探头测定三组所得的应力－应变关系比较

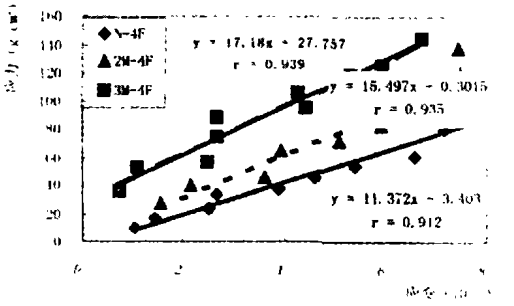


图 11 三组各探头应力－应变关系比较

3 讨 论

舒张性心力衰竭占心力衰竭的三分之一,且与收缩性心力衰竭治疗和预后均不同[1],日益受到人们广泛重视。但目前缺乏有效的诊断,主要在于缺乏有效的方法对舒张功能进行评估。心肌被动僵硬度增加是舒张功能障碍重要特征之一,对其准确地评估具较大的临床意义。目前,非侵入性影像技术对 LV 舒张功能评估的结果却受心肌负荷、心率、收缩功能的影响;活体状态下的心肌僵硬度主要是通过心导管术测出心室腔内的压力－容积(P－V),通过其关系曲线对心室僵硬度进行比较,但这受左室腔的形态、右室负荷状态、心包和胸膜压力等影响,且不能对心肌局部被动僵硬度等物理属性进行评估[4,5],如室壁瘤引起的心肌局部僵硬度改变。大量实验研究发现,印压方法成功可用于关节软骨、牙本质、软组织、骨松质等僵硬度的评估,所以印压实验可能是一种对心肌被动僵硬度进行评估更加有效的方法,应用适当的技术有可能在活体状态下应用。

通过应力(stress,σ)－应变(strain,ε)关系来评估心肌僵硬度是常用的精典的方法。心肌僵硬度可用心肌在舒张末期时的应力—应变关系曲线的正切斜率($d\sigma/d\varepsilon$)来评估[1]。在本实验中,[6]应力为心肌单位面积上所受的作用力。在生物力学里,尤其是软组织力学里,常用 Lagrange(拉格朗日)应力,$\sigma=F/A$。F 为作用力,A。为各探头面积。应变是心肌发生形变的相对度量即 $\varepsilon=dL/L$。(乩是心肌发生形变,L。是左室中壁平均厚度)。

本研究发现,组Ⅱ、组Ⅲ的心脏重量指数(LVW/BW)较组Ⅰ明显增加。表明本实验成功建立了左室肥厚的动物模型。"两肾一夹"方法是通过肾素血管紧张素系统的激活,产生肾性高血压,继而产生左室肥厚的动物模型[7]。

本研究发现,通过印压方法所得的离体心肌游离壁应力与应变关系,可以拟合呈指数曲线。心肌组织具有粘弹性特性(Viscoelastic properties),其应力－应变关系应为非线型的[8]。但当应力在一定范围内时,再对其应力与应变关系进行曲线拟合,发现其应力－应变关系呈线性($r=0.912\sim0.938$)。表明在一定应力范围内,离体心肌游离壁通过印压方法所得的应力与应变关系可呈线性。其可能原因:根据原有研究,非线性材料在某一平衡状态附近,微小的应力增量与应变增量之间可呈线性相关[9]。用三种不同的直径探头测定同一组心肌所得的应力－应变关系,拟合呈三条近乎平行的直线,三条直线斜率间差异无显著性($P>0.05$),表明本实验中三种直径探头对评估心肌僵硬度无明显影响,可能因探头直径相对于心肌壁厚度较小有关[10];当用相同直径的探头测定三组心肌所得的应力－应变关系,拟合所得的三条直线中,组Ⅲ的直线斜率最大即单位面积发生相同形变所给的力最大,组Ⅰ的直线斜率最小即单位面积发生相同形变所给的力最小。可用直线斜率较直观地表示心肌游离壁的僵硬度大小:组Ⅰ<组Ⅱ<组Ⅲ。表明通过

维普资讯 http://www.cqvip.com

"2K1C"所致的兔离体肥厚心肌的僵硬度比正常离体心肌僵硬度大,且肾动脉缩窄时间越长,兔心脏脏壁越厚,其僵硬度越大。"2KIC"所致的心肌僵硬度度增加,主要是因为肾素血管紧张素醛固酮系统的激活引起Ⅰ型和Ⅲ型胶原水平增生[11]。

然而,离体心肌僵硬度和活体心肌僵硬度是存在一定差异,所以更有价值的结果还需进一步在活体状态下进行实验获得。

总之,印压方法对离体心肌僵硬度进行评估,是一种较直接且有效的可行方法。为活体状态下通过心导管术应用印压装置对舒张末期心肌的被动僵硬度进行评估,提供了理论基础和实验依据。

参 考 文 献

[1] Zile Mr, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part I: diagnosis, prognosis, and measurements of diastolicfunction[J]. Circulation, 2002; 105: 1387 - 1393.

[2] Haines DE, Watson DD, Verow AF. Electrode radius predicts lesion radius during radiofrequency energy hearting. Validation of a proposed thermodynamic model[J]. Circ Res, 1990; 67:124 - 129.

[3] Ranch AL, Campbell WG. Adrenal and Vascular tyrosine hydroxylase activity in Goldblatt Hypertension[J]. Hypertension, 1988;12:434 - 442.

[4] Mann T, Golders S, Mudge GH, et al. Factors contributing to altered left ventricular diastolic properties during antgina pectoris[J]. Circulation, 1979;56:14 - 20.

[5] Krayenbuehl HP, turina J, hess OM, et al. Left ventricular function in chronic pulmonary hypetension[J]. Am J Cardiol, 1978;41:1150 - 1158.

[6] 陶祖莱. 生物力学导论[M]. 天津科技翻译出版社公司, 2000:23 - 31.

[7] Maxwell Mh, Lupu AN, Viskoper RJ, et al. Mechanisms of hypertension during the acute and intermediate phases of the one - clip, two - kidney model in the dog[J]. Circ Res, 1977; 40:124 - 128.

[8] Rankin JS, Arentzen CE, McHale PA, et al. Viscoelastic properities of the diastolic left ventricle in the conscious dog[J]. Circ Res, 1977;41:37 - 45.

[9] 陶祖莱. 生物力学导论[M]. 天津科技翻译出版社公司, 2000:16.

[10] Zheng YP, Mak AF, Lue B. Objective assessment of limb tissue elasticity: development of a manual indentation procedure [J]. Rehabil Res Dev, 1999;36:71 - 85.

[11] Brilla CG, Rupp H, Funck R, et al. The renin - angiotensin - aldosterone system and myocardial collagen matrix remodeling in congestive heart failure[J]. Eur Heart J, 1995; 16:107 - 109.

(上接第 165 页)

参 考 文 献

[1] Kroegmer. G. Mitochondrial control of apoptosis[J]. Biochem. Soc. Symp, 1999;66:1 - 15.

[2] Thress, K., Kornbluth, S. & Smith. J. J. mitochondria at the crossroad of apoptotic cell death[J]. J. Bioenerg. Biomembr., 1999;31:321 - 326.

[3] Mukesh Verma, Jacob Kagan, David Sidransky, et al. Proteomic analysis of cancer - cell mitochondria[J]. Nature Reviews cancer, 2003;3:789 - 795.

[4] John M. Graham, Jane K. Sandall. Thissue - culture cell fractionation[J]. Biochem. J., 1979;182:157 - 164.

[5] D. L. 斯佩克物, R. D. 戈德曼, L. A. 来因万德著. 细胞实验指南[M]. 北京:科学出版社, 2001;356 - 361.

[6] J. M. Graham, J. A. Higgins. Biomembrane Protocols I. Isolation and Analysis[M]. Methods in Molecular Biology, Vol. 19. Totowa: Humana Press Inc., 1993;100 - 102.

[7] 潘 卫, 王应雄, 杨 戎. 小鼠胚泡黏附时已黏附侧与未黏附侧子宫内膜蛋白质组差异的研究[J]. 重庆医科大学学报, 2004;29(5):572 - 575.

[8] 沈 薇, 吴显才. 肝癌细胞表达差异 cDNA 克隆的研究[J]. 重庆医科大学学报, 2003;28(1):1 - 3.