



# 糖尿病动物模型心功能评价方法

孟哲颖, 申锴

(上海交通大学附属第六人民医院超声医学科/上海超声医学研究所, 上海 200233)

**【摘要】** 糖尿病心血管并发症 (cardiovascular complications of diabetes, CCD) 是糖尿病患者最主要的死亡原因, 其中糖尿病心肌病 (diabetic cardiomyopathy, DC) 是心力衰竭的主要原因。对于分析糖尿病心肌病的机制、早期诊断以及改进和优化治疗, 心脏功能评估起到重要桥梁作用, 而糖尿病动物模型直接或间接反映糖尿病的发生和发展过程, 是一个良好的研究载体。本文旨在综述国内外糖尿病动物模型心脏功能评价的重要方法。

**【关键词】** 糖尿病心血管并发症; 糖尿病心肌病; 心脏功能; 模型; 动物

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 04-0086-04

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.04.019

## Evaluation of cardiac function in diabetic animal models

MENG Zhe-ying, SHEN E

(Department of Medical Ultrasonics, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital;  
Shanghai Institute of Ultrasound in Medicine, Shanghai 200233, China)

**【Abstract】** Cardiovascular complication of diabetes (CCD) is a leading cause of mortality in diabetic patients, and diabetic cardiomyopathy (DC) vastly accounts for heart failure in those CCD patients. In the research of pathogenesis, early diagnosis and better treatment of DC, cardiac function evaluation plays a key bridging role. Additionally, animal models may well simulate the development of diabetes. The purpose of this article is to review the important methods in evaluating heart function of diabetes animal models.

**【Key words】** Cardiovascular complications; Diabetes mellitus; Diabetic cardiomyopathy; Cardiac function; Models, animal

糖尿病心血管并发症 (cardiovascular complications of diabetes, CCD)<sup>[1]</sup> 主要侵犯全身的大中血管、微血管及心肌等, 造成心血管系统结构和功能的损害。其中糖尿病患者心力衰竭的主要原因是独立于冠状动脉病变、高血压之外的心肌病变—糖尿病心肌病 (diabetic cardiomyopathy, DC)<sup>[2]</sup>。本文复习国内外文献, 从糖尿病动物模型的心功能评价的视角进行综述, 期望为糖尿病心肌病的发病机制研究和临床早期诊断及寻找新治疗靶点提供依据。

## 1 常见糖尿病动物模型

糖尿病动物模型主要可分为诱发性模型 (化学

药物诱导法、饮食诱导法、手术切除胰腺法)、自发性糖尿病模型、转基因及基因敲除模型<sup>[3]</sup>。

啮齿类动物与人类基因同源性高, 是近年来糖尿病模型首选的动物种类。由于啮齿类动物对动脉粥样硬化的先天免疫性, 可有效排除冠状动脉疾病的干扰, 直接观察血糖、肥胖、胰岛素等对心脏的作用<sup>[4][5]</sup>。尽管有糖尿病兔模型、糖尿病猪模型甚至糖尿病猕猴、猕猴、食蟹猴和树鼯模型, 但糖尿病小鼠、大鼠模型仍是目前临床及基础研究首选的动物模型。小鼠相对于大鼠的优势在于更易制作基因缺陷模型或转基因模型, 而大鼠体型较大的优势更易于进行心功能评价。近来影像学等技术的日臻成熟,

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (NO. 81270208)。

[作者简介] 孟哲颖 (1990-), 女, 硕士研究生在读, 主要研究方向: 糖尿病心肌病的基础与临床。E-mail: doubao1223@sjtu.edu.cn。

[通讯作者] 申锴, 女, 医学博士, 副主任医师, 主要研究方向: 糖尿病心肌病的基础与临床。E-mail: sjlyzcs@163.com。

可有效评估小鼠甚至胎鼠的心功能<sup>[6]</sup>。Leibel 等<sup>[7]</sup>首次描述肥胖且具有胰岛素抵抗的 db/db 鼠 2 型糖尿病模型。Tomlinson 等<sup>[8]</sup>首次报到了 STZ 诱导的糖尿病大鼠的心血管并发症。

## 2 糖尿病动物模型心脏功能的评估方法

糖尿病心脏病变可导致心脏收缩功能及舒张功能甚至心肌灌注受损,因此准确评价心脏功能至关重要,可在在体和离体两方面进行评价。超声心动图、核磁共振等无创检查及心导管等侵入性检查都可对动物进行在体心功能评估。对离体动物心脏功能评价,主要有 Langendorff 模型及工作心脏 (working heart) 模型 2 种方式。

### 2.1 在体心功能评价

#### 2.1.1 超声心动图及其新技术

常规经胸超声心动图结合多普勒成像可无创观察糖尿病动物模型心脏形态结构和功能<sup>[9]</sup>。

左心整体收缩功能通过从胸骨旁左心长轴及乳头肌水平短轴切面探查,利用 M 型超声测量心室收缩期内径,舒张期内径,可得到左室射血分数 EF 及左室短轴收缩率 FS 进行评估<sup>[10]</sup>。但左室 EF 值具有负荷依赖性,在静息状态下作为评价心肌收缩力的指标不够敏感;高血糖所致弥漫性心肌损害时,左室壁各节段的收缩功能受损程度并非呈完全同步发展。

速度向量成像技术 (velocity vector imaging, VVI) 在评价局部心肌收缩功能和检测室壁运动异常方面无角度依赖性,应变和应变率测量相对不受呼吸影响,较常规超声心动图敏感性更高。蒋涛<sup>[11]</sup>等利用糖尿病兔模型测量左室心肌各节段长轴和短轴方向上的 VVI 参数:收缩期峰值运动速度 (systolic velocity, Vs)、舒张期峰值运动速度 (diastolic velocity, Vd)、收缩期峰值应变 (systolic strain, Ss)、收缩期峰值应变率 (systolic strain rate, SRs)、舒张期峰值应变率 (diastolic strain rate, SRd),发现 DM 兔模型早期仅左室壁心肌切向应变及应变率出现统计学意义的异常改变,认为左室短轴切面的 VVI 参数 Ss、SRs、SRd 代表心肌沿圆周方向的形变,可消除整个心脏移位的影响,在评价心肌功能早期损伤时较长轴方向参数的敏感性更高。

Tei 指数是综合评价心脏整体功能的一个指标。Tei 指数测量二尖瓣开放至关闭时间间隔 (a)、主动脉瓣开放至关闭时间间隔 (b),用公式  $Tei = (a - b) / b$  来计算 Tei 指数,其不受超声条件、心脏几何

形态及心室压的影响。研究提示 Tei 指数可早于左房室内径值、舒张早期、晚期二尖瓣口血流峰值流速比值、射血分数及左室短轴收缩率值的变化敏感发现糖尿病兔模型早期已出现心功能损害<sup>[12]</sup>。

左心舒张功能评价有多种方法,目前尚未统一。然而糖尿病小鼠模型心率快,心脏体积小,二尖瓣口血流频谱的获取难度较大,因此小鼠的舒张功能评价对超声心动图仪器及探头要求较高<sup>[13]</sup>。许迪等<sup>[14]</sup>曾利用 GE Vivid7 型彩色超声诊断仪 (线阵探头频率为 14.0 MHz) 评价正常 6~8 周龄 BALB/c 小鼠的舒张功能,二尖瓣多普勒血流频谱舒张早期血流速度 E 峰、舒张晚期血流速度 A 峰及 E/A 比值,肺静脉血流频谱,彩色 M 型超声舒张早期左心室二尖瓣瓣口血流传播速度 Vp,组织多普勒 DTI 测量二尖瓣前叶瓣环舒张早期运动速度 Ea、舒张晚期运动速度 Aa、收缩期运动速度 Sa、认为二尖瓣口血流传播速度 Vp 较 E/A 比值受心率影响较小。

近来出现的小动物用高分辨超声仪 (高频,  $\geq 20$  兆赫)、高分辨力,可达 30  $\mu\text{m}$  更适合实验小鼠心脏小、心率快的特点,大大提高了图像质量和实验效率,但一般要求动物在麻醉的安静状态下进行检查<sup>[15]</sup>。赵静等<sup>[16]</sup>对比小动物用高分辨超声仪 (Vevo770) 和临床用 Sequoia 512 的高频 15L8 探头,发现 Vevo770 的高分辨率能获得优质二尖瓣前向血流频谱;异氟烷吸入麻醉小鼠的心率和左室短轴缩短率显著降低 ( $P < 0.001$ )、左室内径显著增加,提示在实验过程中需要考虑麻醉因素对实验数据的影响。Vinhas 等<sup>[10]</sup>利用小动物用高分辨超声仪 (Vevo2100) 评价 3 周龄及 8 周龄时 129/Sv mice 小鼠左室收缩功能,同时可获得各瓣口前向血流的优质频谱,不同鼠龄小鼠左室 EF、FS 值及二尖瓣、三尖瓣前向血流频谱参数无明显差异,但左室内径、主动脉瓣、肺动脉瓣血流频谱相关参数出现明显变化。

国内福州大学研制的 LEJ-2 型全方向 M 型超声心动图系统通过对 M 型曲线进行微积分等方法处理,实现对左室局部心肌瞬时运动速度的提取。结合心电图计算每个心动周期从 ORS 波起点达最大收缩速度和舒张速度的时间,间接反映出局部心肌运动的顺应性,可准确敏感反映糖尿病性心肌病各个阶段的心肌运动异常。利用 LEJ-2 型全方向 M 型超声心动图检测 1 型糖尿病兔模型收缩速度达峰时间 TS、舒张速度达峰时间 TD,和常规超声心动图测量值比较,结果发现 TS 较 EF、FS 更早期更敏感检出左室收缩功能障碍,TD 较 Vp、E 峰、A 峰、E/A 比值更早发现糖尿病左室舒张功能改变,同时 TD

的异常改变早于 TS<sup>[17]</sup>。

心肌声学造影 (myocardial contrast echocardiography, MCE) 是近年来评价心肌微循环功能状态的新方法, 可有效评价心肌血流量 (MBF)。对啮齿类动物模型进行 MCE 检查需要高频探头、在基波频率进行成像以获得足够的空间分辨率。Cosyns 等<sup>[18]</sup> 首次利用 MCE 技术评价糖尿病大鼠在基础状态及双嘧达莫负荷下心肌灌注情况, 结果发现糖尿病组大鼠在两种状态下造影剂灌注速率 ( $\beta$ ) 均高于对照组, 同时发现对照组大鼠心肌相对血流量 (relative blood volume, rBV) 变化更明显, 糖尿病组大鼠心肌血流储备 (myocardial flow reserve, MFR) 低于对照组, 证实糖尿病大鼠早期心肌微循环功能障碍。国内学者<sup>[19]</sup> 结合 MCE 及 VVI 技术研究 DM 大鼠左室心肌微循环障碍与心肌收缩功能损伤的相关性, 发现静息状态下, 心肌血流量的降低并不是圆周应变率降低的主要决定因素, 而双嘧达莫负荷后, 心肌血流储备的降低可能是心肌圆周应变率储备降低的主要决定因素。

心肌背向散射积分 (integrated backscatter, IBS) 技术<sup>[20]</sup> 可以早期、无创评价糖尿病大鼠心肌组织学密度特征, 常用指标包括背向散射积分标化值 (IB%) = 心肌层的 IBS 值/心腔 IBS 值、IBS 周期变异幅度 (cyclic variation of IBS, CVIB)。糖尿病大鼠 IB% 明显高于同期健康大鼠, 可以反映糖尿病心肌组织纤维化程度, 其可能比 DTI 更早发现糖尿病心肌病变; 而 CVIB 可以反映糖尿病中晚期心肌收缩功能的变化<sup>[21]</sup>。

### 2.1.2 磁共振

磁共振可以不依赖心室形态的几何学假设提供心脏结构的三维图像和功能, 且动物不需要麻醉, 优于超声心动图评估心室形态、局部及整体收缩功能。近来 Stuckey 等<sup>[22]</sup> 通过高帧频 (每心动周期大于 60 帧) 心脏磁共振动态电影显像敏感发现 db/db-2 型糖尿病大鼠早期 E 峰减低, A 峰增加, 峰值射血率 (peak ejection rate, PER) 降低。Coolen 等<sup>[23]</sup> 引入回顾触发模式, 可通过后处理达到帧频和空间分辨率同时满意的要求, 如 25 min 内可完成每心动周期 80 帧的高空间分辨率的小鼠心功能检查, 得到半自动左室容积-时间曲线, 可敏感发现糖尿病小鼠早期左室舒张早期充盈速度 E 减低所致的 E/A 比值增加, 峰值射血率降低的心脏舒张功能轻微受损。

### 2.1.3 心导管检查

虽然心导管检查属于有创检查, 但是能够准确测量左室压变化、平均收缩压及舒张末压, 压力时间

变化  $\pm dp/dt$  可以代表心脏收缩及舒张功能变化<sup>[24]</sup>。Kajstura 等<sup>[25]</sup> 首次用心导管评估糖尿病小鼠左室舒张末压力升高、左室收缩压力减低,  $\pm dp/dt$  减低。糖尿病大鼠心肌病模型<sup>[26]</sup> 左室舒张末压 (LVEDP) 显著升高 ( $P < 0.05$ ), 左室收缩压 (LVSP)、左室最大收缩速率 ( $+ dp/dt_{max}$ ) 和最大舒张速率 ( $-dp/dt_{max}$ ) 值明显降低。

## 2.2 离体心功能评价

离体检测心脏功能模式主要分为两种: 主动脉逆行灌注 (Langendorff) 模型和工作心脏模型 (working heart)。

### 2.2.1 Langendorff 灌注-心脏模型

德国生理学家 Oskar Langendorff 于 1895<sup>[27]</sup> 首次介绍将离体动物心脏在恒温恒压条件下, 将心脏套管插入主动脉、逆行灌注含氧的 Krebs-Henseleit 灌注液, 由冠状动脉灌注心肌, 可记录心肌收缩力及左室内压 (LVP)、左室舒张末期压力 (LVEDP)、左室内压变化速率 ( $dp/dt$ ) 及心率 (HR) 等指标。Mourmoura 等<sup>[28]</sup> 通过 Langendorff-灌注大鼠心脏模型发现糖尿病早期心脏功能及冠状动脉血流灌注减低。

### 2.2.2 工作心脏模型

1967 年, James Neely<sup>[29]</sup> 等建立了离体工作心脏模型, 不同于 Langendorff 模型, 工作心脏模型是一种双灌注装置, 它不仅具有主动脉灌注系统, 而且还有左房灌注系统, 前负荷和后负荷都可控制, 测定心排量、得到与在体模型一致的心功能曲线。但是此模型要保证足够的氧供应, 制作要求高, 稳定性欠佳。

Belke 等<sup>[30]</sup> 首次用工作心脏模型证实 db/db2 型糖尿病小鼠的左室舒张末期压力升高、心输出量减低。近来, Huisamen 等<sup>[31]</sup> 利用独立灌注心脏模型评估糖尿病亚临床阶段大鼠心脏收缩功能, 发现在糖尿亚临床阶段即可检测心脏收缩功能的变化。

## 3 总结

随着超声心动图新技术及核磁共振新技术的应用, 糖尿病动物模型的心功能评价近年来也取得极大进展, 多种无创检查方法可提供糖尿病动物模型甚至糖尿病前期和、或 IGT 阶段, IFG 阶段动物的心室收缩和舒张功能特别是早期心脏功能变化的丰富信息, 对于糖尿病心血管并发症的发病机制研究、临床早期诊断和治疗提供了重要途径。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Lau DCW. Cardiovascular complications of diabetes[J]. *Canad J Diabetes*, 2013, 37(5):279-281.
- [ 2 ] Rubler S, Dlugash J, Yuceoglu YZ, et al. New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis [J]. *Am J Cardiol*, 1972, 30(6):595-602.
- [ 3 ] 李勇, 章乐虹. 胰腺大部切除法制作大鼠高血糖模型的实验研究 [J]. *中国医药导报*, 2011, 08(17):37-40.
- [ 4 ] Poornima IG, Parikh P, Shannon RP. Diabetic cardiomyopathy: the search for a unifying hypothesis [J]. *Circ Res*, 2006, 98(5):596-605.
- [ 5 ] Ishibashi S, Goldstein JL, Brown MS, et al. Massive xanthomatosis and atherosclerosis in cholesterol-fed low density lipoprotein receptor-negative mice [J]. *J Clin Invest*, 1994, 93(5):1885-1893.
- [ 6 ] Severson DL. Diabetic cardiomyopathy: recent evidence from mouse models of type 1 and type 2 diabetes [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2004, 82(10):813-823.
- [ 7 ] Leibel RL, Chung WK, Chua SJ. The molecular genetics of rodent single gene obesities [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(51):31937-31940.
- [ 8 ] Tomlinson KC, Gardiner SM, Hebden RA, et al. Functional consequences of streptozotocin-induced diabetes mellitus, with particular reference to the cardiovascular system [J]. *Pharmacol Rev*, 1992, 44(1):103-150.
- [ 9 ] Tanaka N, Dalton N, Mao L, et al. Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse [J]. *Circulation*, 1996, 94(5):1109-1117.
- [ 10 ] Vinhas M, Araujo AC, Ribeiro S, et al. Transthoracic echocardiography reference values in juvenile and adult 129/Sv mice [J]. *Cardiovasc Ultrasound*, 2013, 11:12.
- [ 11 ] 蒋涛, 袁亮辉, 周启昌. 速度向量成像评价 1 型糖尿病兔模型心功能演变过程 [J]. *中国超声医学杂志*, 2013, 29(8):730-733.
- [ 12 ] Tei C, Ling LH, Hodge DO, et al. New index of combined systolic and diastolic myocardial performance; a simple and reproducible measure of cardiac function—a study in normals and dilated cardiomyopathy [J]. *J Cardiol*, 1995, 26(6):357-366.
- [ 13 ] Hoit BD, Walsh RA. In vivo echocardiographic assessment of left ventricular function in transgenic and gene-targeted mice [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 1997, 7(4):129-134.
- [ 14 ] 唐晓霞, 许迪, 陆凤翔, 等. 高分辨力超声对 Balb/c 小鼠心脏舒张功能的评价 [J]. *中华超声影像学杂志*, 2006, 15(7):546.
- [ 15 ] Respress JL, Wehrens XH. Transthoracic echocardiography in mice [J]. *J Vis Exp*, 2010 May 28;(39). pii: 1738. doi: 10.3791/1738
- [ 16 ] 赵静, 曾智, 颜亮, 等. 小动物超声仪与临床用超声仪评价小鼠心脏重构的对比分析 [J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(3):443-447.
- [ 17 ] 谢敏. 全方向 M 型超声心动图时间-运动曲线对 1 型糖尿病兔早期左室心功能改变的实验研究 [D]. 福建医科大学, 2010.
- [ 18 ] Cosyns B, Droogmans S, Hermot S, et al. Effect of streptozotocin-induced diabetes on myocardial blood flow reserve assessed by myocardial contrast echocardiography in rats [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2008, 7:26.
- [ 19 ] 卫张蕊, 施红, 张军, 等. 应用心肌造影超声心动图结合速度向量成像对糖尿病大鼠心肌微循环与收缩功能障碍的相关性研究 [J]. *中华超声影像学杂志*, 2012, 21(7):608-612.
- [ 20 ] Takiuchi S, Ito H, Iwakura K, et al. Ultrasonic tissue characterization predicts myocardial viability in early stage of reperfused acute myocardial infarction [J]. *Circulation*, 1998, 97(4):356-362.
- [ 21 ] 薛瑞凤, 孙冬梅, 郭淑香, 等. 大鼠糖尿病性心肌病的超声心动图研究 [J]. *中华超声影像学杂志*, 2008, 17(10):903-907.
- [ 22 ] Stuckey DJ, Carr CA, Tyler DJ, et al. Novel MRI method to detect altered left ventricular ejection and filling patterns in rodent models of disease [J]. *Magn Reson Med*, 2008, 60(3):582-587.
- [ 23 ] Coolen BF, Abdurrachim D, Motaal AG, et al. High frame rate retrospectively triggered Cine MRI for assessment of murine diastolic function [J]. *Magn Reson Med*, 2013, 69(3):648-656.
- [ 24 ] Georgakopoulos D, Kass DA. Protocols for hemodynamic assessment of transgenic mice in vivo [J]. *Methods Mol Biol*, 2003, 219:233-243.
- [ 25 ] Kajstura J, Fioraliso F, Andreoli AM, et al. IGF-1 overexpression inhibits the development of diabetic cardiomyopathy and angiotensin II-mediated oxidative stress [J]. *Diabetes*, 2001, 50(6):1414-1424.
- [ 26 ] Li CJ, Lv L, Li H, et al. Cardiac fibrosis and dysfunction in experimental diabetic cardiomyopathy are ameliorated by alpha-lipoic acid [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2012, 11:73.
- [ 27 ] Langendorff O. Untersuchungen am uberlebenden Saugthierherzen [J]. *Arch Gesante Physiol*. 1895, 61:291-332.
- [ 28 ] Mourmoura E, Vial G, Laillet B, et al. Preserved endothelium-dependent dilatation of the coronary microvasculature at the early phase of diabetes mellitus despite the increased oxidative stress and depressed cardiac mechanical function ex vivo [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, 12:49.
- [ 29 ] Neely JR, Liebermeister H, Battersby EJ, et al. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart [J]. *Am J Physiol*, 1967, 212(4):804-814.
- [ 30 ] Belke DD, Larsen TS, Gibbs EM, et al. Altered metabolism causes cardiac dysfunction in perfused hearts from diabetic (db/db) mice [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2000, 279(5):E1104-E1113.
- [ 31 ] Huisamen B, George C, Dietrich D, et al. Cardioprotective and anti-hypertensive effects of *Prosopis glandulosa* in rat models of pre-diabetes [J]. *Cardiovasc J Afr*, 2013, 24(2):10-16.

[ 收稿日期 ] 2014-04-10