

Tissue Doppler echocardiographic evaluation of early myocardial contraction abnormality in rabbits with adriamycin-induced cardiomyopathy

FEI Hong-wen¹, WANG Xin-fang^{2*}, XIE Ming-xing², HE Ya-le¹

(1. Department of Cardiology, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510100, China; 2. Department of Ultrasound, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the use of tissue Doppler echocardiography (TDE) in evaluating the temporal changes of left ventricular (LV) myocardial function in rabbits with adriamycin-induced cardiomyopathy. **Methods** Twenty-eight Japanese rabbits were divided into two groups. Adriamycin was intravenously administered at a dose of 2 mg/kg once a week for 8 weeks (total dose 16 mg/kg) in 20 rabbits to induce the cardiomyopathy model. 8 rabbits served as controls receiving the same amount of saline once a week for a total of 8 weeks. Conventional and tissue Doppler echocardiography were performed at baseline, 4th, 6th week, 8th week, 10th week and 12th week. 2 rabbits from each group were sacrificed for histological study in the 12th week. **Results** In adriamycin-treated group, LV chamber diameter significantly increased, while ejection fraction and fraction shortening decreased significantly in 10th and 12th week ($P < 0.05$). The significant changes were firstly found in 10th week. Mitral annulus systolic velocity by TDE decreased significantly in 8th, 10th and 12th week ($P < 0.05$). The significant changes were firstly found in 8th week. The significant change with characteristics of adriamycin cardiotoxicity in human patients such as cardiomyocytes degeneration, mitochondrial and sarcoplasmic reticular edema, numerous intracellular vacuoles were found in the adriamycin-treated group in histological study. In control group, no significant changes were found in histological study and all parameter by tissue Doppler, conventional echocardiography ($P > 0.05$). **Conclusion** Myocardial contraction function was reduced in adriamycin-induced rabbit model of dilated cardiomyopathy. The parameters by tissue Doppler echocardiography detected myocardial contraction abnormality earlier than those by conventional echocardiography in adriamycin-induced cardiomyopathy rabbits, which provide a new sensitive method to evaluate LV function.

[Key words] Echocardiography; Adriamycin; Cardiomyopathy; Tissue Doppler imaging

组织多普勒超声评价阿霉素诱导兔心肌病早期收缩功能改变的实验研究

费洪文¹, 王新房^{2*}, 谢明星², 何亚乐¹

(1. 广东省人民医院暨广东省心血管病研究所内科, 广东 广州 510100;

2. 华中科技大学同济医学院协和医院超声科, 湖北 武汉 430022)

[摘要] **目的** 利用组织多普勒超声心动图评价阿霉素所致兔心肌病心肌功能的连续变化情况。**方法** 28只日本白兔分为两组,阿霉素组20只,每周静脉注射阿霉素2 mg/kg,8周共计16 mg/kg以期形成心肌病模型。对照组8只,每周注射相同剂量的生理盐水。分别在第0,4,6,8,10,12周进行常规和组织多普勒超声心动图检查。第12周阿霉素组和对照组各取2只处死进行组织学检查。**结果** 阿霉素组,在10、12周左室内径显著扩大,左室射血分数和短轴缩短率显著下降($P < 0.05$)。显著变化最早发现在第10周。二尖瓣环处心肌组织收缩峰值速度在8、10、12周显著降低($P < 0.05$)。显著变化最早发现在第8周。病理结果显示了与人类阿霉素心肌毒性相似的改变,心肌细胞变性、线粒体和肌浆网水肿、细胞内空泡增多。对照组组织学无改变,常规和组织多普勒超声指标均未发现显著变化($P > 0.05$)。**结论** 在阿霉素所致兔心肌病模型中心肌收缩功能降低。组织多普勒指标能早期发现这一变化,早于常规超声心动图指标,为评价左室功能提供了一个敏感的新手段。

[关键词] 超声心动描记术; 阿霉素; 心肌病; 组织多普勒成像

[中图分类号] R445.1; Q95-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2005)08-1165-04

[作者简介] 费洪文(1974—),男,黑龙江省哈尔滨人,博士,主治医师。研究方向:心血管疾病的超声诊断。

[通讯作者] 王新房,华中科技大学同济医学院协和医院超声科,430022。E-mail: wangxf@public.wh.hb.cn

[收稿日期] 2005-05-07 **[修回日期]** 2005-07-10

组织多普勒超声心动图可用来准确评价病人和动物模型的局部心肌功能^[1-4],但连续跟踪性的研究甚少。本研究利用常规和组织多普勒超声心动图连续跟踪评估阿霉素所致兔心肌病模型,观察左室功能的动态变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物 中等大小成年日本大耳白兔,体重(2.0±0.2)kg,本实验经华中科技大学同济医学院伦理委员会备案批准。

1.2 实验分组 28只日本大耳白兔被分为两组,阿霉素组(20只)和对照组(8只),阿霉素组,每周耳缘静脉注射2mg/kg盐酸阿霉素,共计8周,总剂量16mg/kg。对照组,同样疗程同等剂量的生理盐水静脉注射。注射时将兔放置于固定架内。

1.3 经胸超声心动图检查 28只兔在第一次注射药物前,以及4、6、8、10、12周时分别进行经胸超声心动图检查。检查前剪去胸前绒毛并肌肉注射安定2mg镇静,左侧卧位。GE Vivid 7彩色多普勒超声仪,8MHz的小儿心脏探头。检查深度设置在4cm。

1.3.1 常规超声指标 从胸骨旁长轴切面乳头肌水平下测量左室舒张期末(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、收缩期末内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)。在舒张末期测量室间隔(septal thickness, IVST)和左室后壁厚度(left ventricular posterior wall thickness, PWT)。利用 Simpson's 法计算出左室射血分数(ejection fraction, EF)和短轴缩短率(fractional shortening, FS)。

1.3.2 组织多普勒指标 组织多普勒在原始彩色显示条件下,可以多点分析任意位置心肌的组织速度参数^[5]。在常规的长轴/短轴切面均进行定性视觉分析,但心肌运动定量主要在心尖四腔心切面选取二尖瓣环的室间隔和左室侧壁处分析其组织速度。收缩期峰值速度,被认为是反映长轴收缩运动的良好指标^[6]。

所有超声记录均存在磁光盘里,用于检查后重复分析。每次检查时间不超过10min,之后等待兔苏醒,该次超声检查结束。

1.4 组织学检查 12周取阿霉素组2只,对照组2只兔左心室游离壁心肌标本,一部分作HE染色光镜观察,一部分柠檬酸铅-醋凝铀双重染色行透射电镜观察。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 11.0 统计分析软件,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。将基础状态与各周参数行 ANOVA 方差分析或 Student *t* 分析, $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 生存状况 20只阿霉素组兔死亡4只,分别在第2、3、8、11周。死亡率为20%。对照组均存活。

2.2 实验终点超声指标对比 与基础状态(注药前)下对比,阿霉素组12周时左室舒张末/收缩末内径明显扩大,而射血分数/短轴缩短率明显降低($P<0.05$)。组织多普勒测量的

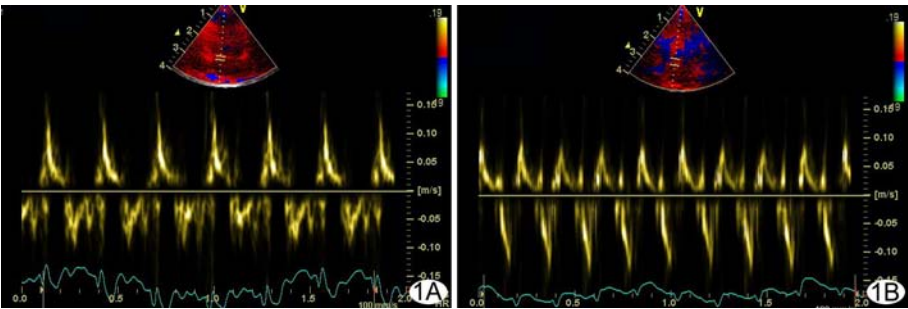


图1 阿霉素组基础状态与8周时二尖瓣环室间隔侧组织多普勒收缩期速度(Sm)对比图 A. 基础状态下二尖瓣环组织多普勒收缩期速度; B. 8周时二尖瓣环组织多普勒收缩期速度明显降低

二尖瓣环收缩期峰值速度明显减低($P<0.05$)。而室间隔和左室后壁厚度未见明显变化($P>0.05$)。对照组,12周与基础状态对比,各个超声指标均未见明显差异($P>0.05$)(表1,图1)。

表1 阿霉素组与对照组基础状态和12周时超声参数对比

参数	阿霉素组		对照组	
	基础状态	12周	基础状态	12周
LVEDD (mm)	10.5±1.3	15.8±2.1*	10.6±1.2	10.7±1.4
LVESD (mm)	8.7±1.0	10.3±1.1*	8.6±1.1	8.7±1.2
IVST (mm)	1.8±0.3	1.7±0.2	1.9±0.4	1.8±0.3
PWT (mm)	1.7±0.3	1.5±0.2	1.8±0.3	1.7±0.2
EF (%)	63.4±8.4	38.8±7.6*	63.0±8.0	63.5±8.3
FS (%)	37.6±7.6	21.2±6.7*	37.8±7.8	37.4±8.0
IVS Sm (cm/s)	8.8±1.8	3.8±1.0*	8.7±1.7	8.8±1.8
LW Sm (cm/s)	10.6±2.0	5.2±1.1*	9.7±1.5	7.6±1.6

与基础状态相比,*: $P<0.05$ LVEDD左室舒张末内径;LVESD左室收缩末内径;IVST室间隔厚度;PWT左室后壁厚度;EF左室射血分数;FS短轴缩短率,IVS Sm二尖瓣环室间隔处组织多普勒收缩期峰值速度,LW Sm二尖瓣环左室侧壁处组织多普勒收缩期峰值速度

2.3 不同系列时间点超声指标对比 与基础状态(注药前)下对比,阿霉素组,第10和12周左室舒张末/收缩末内径显著扩大,射血分数/短轴缩短率显著降低($P<0.05$)(表2),发生统计学意义变化最早发生在第10周(图2)。第8、10、12周组织多普勒的二尖瓣环收缩期峰值速度明显减低($P<0.05$)(表2),发生统计学意义变化最早发生在第8周(图2)。

2.4 组织学检查 12周时在2只阿霉素组兔心肌,部分细胞变性,细胞内空泡增多,线粒体和肌浆网肿胀,而对照组兔心肌表现为正常心肌结构。

表 2 阿霉素组各周超声参数变化

参数	注药前	4 周	6 周	8 周	10 周	12 周
LVEDD(mm)	10.5±1.3	10.9±1.4	11.2±1.5	12.4±1.6	14.9±1.8*	15.8±2.1*
LVESD(mm)	8.7±1.0	8.9±1.0	9.2±1.1	9.4±1.1	9.9±1.1*	10.3±1.1*
EF(%)	63.4/8.4	59.8/8.2	51.2/8.4	48.9/8.1	42.1/7.8*	38.8/7.6*
FS(%)	37.6/7.6	34.3/7.4	31.6/7.2	29.3/7.0	25.1/6.7*	21.2/6.7*
LW Sm(cm/s)	10.6/2.0	10.2/1.9	9.8/1.8	7.2/1.6*	6.4/1.5*	5.2/1.1*
IVS Sm(cm/s)	8.8/1.8	8.4/1.7	7.6/1.6	5.8/1.5*	4.6/1.4*	3.8/1.0*

与基础状态 0 周相比, *: $P < 0.05$ LVEDD 左室舒张末内径; LVESD; 左室收缩末内径; EF 左室射血分数; FS: 短周缩短率, IVS Sm; 二尖瓣环室间隔处组织多普勒收缩期峰值速度; LW Sm; 二尖瓣环左室侧壁处组织多普勒收缩期峰值速度

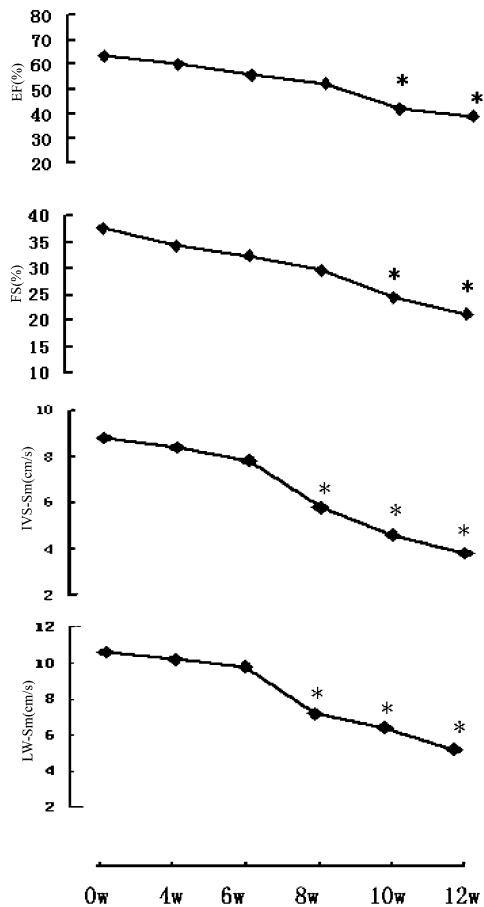


图 2 阿霉素各周常规超声和组织峰值速度变化对比趋势图 * 与基础状态 0 周相比 $P < 0.05$; EF: 左室射血分数; FS 短轴缩短率; IVS Sm; 二尖瓣环室间隔处组织多普勒收缩期峰值速度; LW Sm; 二尖瓣环左室侧壁处组织多普勒收缩期峰值速度

3 讨论

阿霉素诱导扩张型心肌病模型表现为进行性左室心腔变大、左室收缩功能减低,与人类的扩张型心肌病表现类似。我们对该模型的无创评估也证实了收缩功能严重受损,左室腔径变大、整体和局部心肌收缩功能降低这一特征性表现。而且在评估进行性左室功能不全时组织多普勒超声指标较常规超声指标更早,更具优势。

3.1 模型评估方法 充血性心力衰竭作为一种临床常见的综合征,是大多数心脏疾病终末期的表现,尤其在老年人中有较高的致残率和死亡率。在研究临床新药物、新的手术方式以及未来细胞/基因治疗时,缺少不了心力衰竭动物模型这个有效平台。而简便而有效的实验动物模型十分重要。另外也需要有效的方法来确定和评估心力衰竭动物模型的制备^[7,8]。

人类心肌损害的评价有很多有效的方法。这些方法对于心衰动物模型来说有很多借鉴意义。心内膜心肌病理活检是临床诊断心肌病的古老而有效的方法。它可以确定心肌病不同阶段心肌损害的存在与否以及程度,被当作诊断心肌病的金标准。当其他诊断结果还是阴性的时候,病理结果就可以显示心肌细胞减少、空泡增多等心肌损害的征象。可不幸的是心肌活检在人类应用最大的缺点就是其创伤性,它需要在心导管下进行,不可能成为临床的常规检查。而在动物实验中,尽管可以有效地评价心室结构及功能变化,但通常也仅仅在实验结束、动物处死后才进行病理组织学检查,限制其广泛应用。本实验中,12 周时阿霉素组兔的病理组织学结果显示严重的左室心肌损害——细胞变性、线粒体和肌浆网肿胀,这都与人类阿霉素导致的心肌毒性损害相类似。

有创的导管血流动力学检查,在小动物实验中可用来准确评估心脏功能。导管测量心腔压力被用来评价心力衰竭动物模型的心脏泵功能。左室收缩功能的损害导致心输出量减少,表现为压力-容积环的宽度变窄,收缩末容积增加,压力时间斜率(dp/dt)降低^[9]。但因其有创性,限制了其连续多次应用。

无创性诊断方法,如磁共振或核素显像可用来测量左室重量和左室射血分数,评估左室形状变化^[10]。核素显像还用来评估冠状动脉阻塞后的心肌血流灌注减低^[11]。但目前临床上应用的磁共振或核素显像的缺点在于时间分辨率较低,不能进行实时图像采集。另外价格昂贵,不能进行床边连续追踪检查。

作为无创性的超声心动图,是临床检测左室功能的常规手段,可用来测量左室心腔大小和左室射血分数。在动物实验中可在模型制备过程中以及实验结束前准确评估心脏的收缩功能^[12]。本实验中,随着阿霉素蓄积量增多,进行性的左室心腔变大/左室射血分数降低可利用常规超声心动图来检测。

3.2 组织多普勒超声的优势 在评价左室局部心肌功能时,超声心动图可进行定性或定量的分析。常规超声心动图分析

方法,往往借助于肉眼观察短轴室壁的内膜位移变化,加以M型测量短轴增厚/缩短比率。但是这种分析方法往往是主观性很强,至多是个半定量方法。组织多普勒超声心动图是近年来发展的一种新型多普勒技术,它可用来观察高振幅、低频率的室壁运动,而过滤掉低振幅、高频率的常规血流信号。组织多普谱超声心动图已发展成为临床定量评估局部心肌功能的新手段,较常规灰阶超声心动图更客观准确^[13]。

本研究在阿霉素左室扩张型心肌病形成过程中,利用组织多普勒的二尖瓣环收缩期峰值速度指标可用来评估左室心肌收缩功能的系列变化,在第8周即可发现局部功能有统计学意义的异常。这个指标在评价进行性左室功能不全时较常规超声心动图指标更敏感,有效。其他研究亦证实组织多普勒测量的二尖瓣环速度参数有良好的重复性^[14]。可以看出,在实验性兔心脏模型研究中无创的组织多普勒方法可用来准确评估左室功能变化,且与人类相关心脏疾病的变化类似^[15]。

3.3 研究不足 首先,由于本实验的无创性特征,本研究未观察左房或左室压力变化,主要是为了避免反复多次麻醉与创伤性检查。但其他研究已证实左房或左室压力变化与超声指标变化相关性良好^[9]。其次,在测量左室射血分数和左心腔容量时,虽然实时三维超声心动图可能较二维超声更准确,但目前的三维超声时间分辨率还较低,探头频率较低,不能满足实验兔的心脏检查。另外在左室心腔没有严重形状改变时二维超声测量准确性与三维测量差别不是很大。

在阿霉素所致兔心肌病模型中心肌收缩功能降低。组织多普勒指标能早期发现这一变化,早于常规超声心动图指标,为评价左室功能提供了一个敏感的新手段。

[参考文献]

[1] Towbin JA, Bowles NE. The failing heart[J]. Nature, 2002, 415 (6868):227-233.

[2] Hasenfuss G. Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy[J]. Cardiovasc Res, 1998, 39(1):60-76.

[3] Astra LI, Hammond R, Tarakji K, et al. Doxorubicin-induced canine CHF: advantages and disadvantage[J]. J Card Surg, 2003, 18 (4):301-306.

[4] Schwarz ER, Pollick C, Dow J, et al. A small animal model of non-ischemic cardiomyopathy and its evaluation by transthoracic echocardiography[J]. Cardiovasc Res, 1998, 39(1):216-223.

[5] Sengupta PP, Mohan JC, Pandian NG. Tissue Doppler echocardiography: principles and applications[J]. Indian Heart J, 2002, 54 (4):368-378.

[6] Tabatu T, Cardon LA, Armstrong GP, et al. An evaluation of the use of new Doppler methods for detecting longitudinal function abnormalities in a pacing-induced heart failure model[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2003, 16(5):424-431.

[7] Yarbrough WM, Spinale FG. Large animal models of congestive heart failure: a critical step in translating basic observations into clinical applications[J]. J Nucl Cardiol, 2003, 10(1):77-86.

[8] Tang GH, Fedak PW, Yau TM, et al. Cell transplantation to improve ventricular function in the failing heart[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2003, 23(6):907-916.

[9] Hasnat AK, van der Velde ET, Hon JK, et al. Reproducible model of post-infarction left ventricular dysfunction: haemodynamic characterization by conductance catheter[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2003, 24(1):98-104.

[10] Nahrendorf M, Hiller KH, Hu K, et al. Cardiac magnetic resonance imaging in small animal models of human heart failure[J]. Med Image Anal, 2003, 7(3):369-375.

[11] St Louis JD, Hughes GC, Kypson AP, et al. An experimental model of chronic myocardial hibernation[J]. Ann Thorac Surg, 2000, 69(5):1351-1357.

[12] Simunek T, Klimtova I, Kaplanova J, et al. Rabbit model for in vivo study of anthracycline-induced heart failure and for the evaluation of protective agents[J]. Eur J Heart Fail, 2004, 6(4):377-387.

[13] Nikitin NP, Witte KK. Application of tissue Doppler imaging in cardiology[J]. Cardiology, 2004, 101(4):170-184.

[14] Gan LM, Wikstrom J, Brandt-Eliasson U, et al. Amplitude and velocity of mitral annulus motion in rabbits [J]. Echocardiography, 2004, 21(4):313-317.

[15] Nikitin NP, Witte KK, Thackray SD, et al. Longitudinal ventricular function: normal values of atrioventricular annular and myocardial velocities measured with quantitative two-dimensional color Doppler tissue imaging[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2003, 16 (9):906-921.



刊讯

论文质量高、信息量大、发表周期短是本刊多年的优势,也是吸引大量优秀论文的法宝。2003年,本刊共出版463万字,论文发表周期4.2~5.9个月,平均5.2个月;2004年共出版522万字,论文发表周期3.9~5.3个月,平均4.6个月。

随着医学的发展和杂志学术水平的提高,本刊将进一步注重提高学术质量和缩短发表周期,尤其是博士研究生课题和省部级以上基金资助项目优秀论文。从2005年起,力争做到基金论文平均定稿时间在1.5个月内,发表周期在4个月以内。电子邮件收稿、送审和退修是缩短论文发表周期的关键,非常感谢审稿专家的支持与指导,也希望得到作者的积极配合。