

心房颤动物模型的制备及应用进展

石慧丽 钟光珍

【摘要】 心房颤动(房颤)是最常见的心律失常,该文介绍常用房颤模型的建立方法,其中快速起搏法最常用,实验动物以犬和兔为主。房颤的疾病模型和基因模型也在逐渐丰富。

【关键词】 心房颤动;动物模型;制备方法;快速起搏

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.03.006

心房颤动(房颤)是一种常见的心律失常,为研究其发生机制及治疗方法,建立合适的房颤动物模型是非常重要的。目前用于房颤模型制备的动物有犬、兔、鼠、猪、羊等;制备方法有快速起搏、模拟疾病状态、基因工程等。

1 快速起搏模型

心房快速起搏可通过引起心肌电重构、结构重构而导致房颤,是目前最常用的方法。根据不同实验目的可将电极置于心耳、神经、肺静脉等处,可单独起搏也可多位点联合起搏。心房快速起搏可建立急性房颤模型和慢性房颤模型,前者相对来说起搏控制因素较少。急性房颤模型起搏时间从数小时至 24 h 不等,常用于观察心肌电重构、多位点刺激起搏、神经消融等相关的短期影响。慢性房颤模型需长期刺激,从数天到数月不等,常用于观察心肌结构功能改变、慢性纤维化、脂肪浸润、神经慢性影响、药物的慢性作用等。

1.1 犬快速起搏房颤模型

犬的心率约为 90~160 次/min,心脏较大,是快速起搏模型中最常用的动物。犬的起搏频率大多在 400~600 次/min,起搏电压多为 2 倍阈值。

1.1.1 慢性房颤模型 该模型有心内膜起搏和心外膜起搏两种。心内膜起搏时,起搏器的电极一般经颈静脉置入心脏。根据单独心房起搏和心房心室同时起搏的原理,电极有几种不同的设计。其中,Y 型电极的两个电极片可分别进入心房和心

室,同时进行电刺激;J 型电极可用于单独心房起搏。有学者将起搏器的电极分别放在右心室尖端和右心耳,起搏频率分别为 80 次/min 和 400 次/min,1 周左右可成功诱导房颤^[1]。

心外膜起搏频率与心内膜起搏参数无明显差别。Wang 等^[2]从第四肋间进胸,在右心房置入电极,以 600 次/min 的频率起搏 4 周,房颤的诱导率为 83.3%,持续时间为(934.17±191.71) s。有学者通过实验提出,刺激左心房诱导房颤的成功率比刺激右心房更高,心房有效不应期的缩短程度更明显,且离散度更大^[3]。而右心房起搏大都用于心内膜起搏,此方法对动物的损伤较小^[4]。

犬的心房快速起搏会导致心室率加快,心室射血分数降低,心衰风险增大,因此在该模型中控制心室率是有必要的。通过对房室结射频消融,造成房室阻滞控制心率^[5]。单独心房起搏时,常给予犬地高辛 0.25 mg/d 控制心室率^[6]。

1.1.2 急性房颤模型 有学者在犬的左、右心房,左上、下肺静脉,右上、下肺静脉等 6 个部位分别缝上电极,对左心房给予 1 200 次/min,2 倍阈值的刺激 6 h,期间用 S1S1 模式刺激 6 个位点以诱导房颤^[7]。对犬用 2~4 V 电压、20 Hz 频率、0.1 ms 脉宽分别刺激左右迷走神经干,期间在心房和肺静脉处用 S1S1 刺激可成功诱导房颤^[8]。Lu 等^[9]对犬左心耳给予 12 h 快速起搏,亦可诱发房颤。

1.2 兔快速起搏房颤模型

兔的心率约为 180~300 次/min,房颤模型通常采用单独心房起搏,起搏频率为 600~1 200 次/min。

1.2.1 慢性房颤模型 心内膜起搏时,对兔行颈部正中切口,将兔子血气 pH 值维持在 7.35~

基金项目:国家自然科学基金(81300148);北京市卫生系统高层次卫生技术人才队伍建设-学科骨干(2011)

作者单位:100020 首都医科大学附属北京朝阳医院心脏中心

通信作者:钟光珍,Email:zhongguangzhen@hotmail.com

7.45, 在 X 线指引下, 电极从右侧颈静脉置入右心房, 以 600 次/min 的频率起搏, 进行持续 1 周的刺激后, 6 只兔中有 2 只发生房颤^[10]。

采用心外膜起搏, 可从肋间或胸骨正中切开暴露心脏。He 等^[11]将电极缝在左心房, 起搏 4 周(刺激电压 6 V、脉宽 1.0 ms、频率 1 000 次/min)能成功诱导房颤; 电极也可缝在右心房, 以 600 次/min 的频率起搏 1 周, 8 只兔中有 6 只出现房颤^[12]。

1.2.2 急性房颤模型 兔在急性房颤模型中的应用较多。用 2 倍阈值, 2 ms 脉宽, 500 ~ 600 次/min 的快速起搏刺激 3 h, 房颤的诱导成功率为 66.7%^[13]。邓贵智等^[14]采用程序期前刺激和短阵快速脉冲(burst)刺激相结合的方法也取得较高的诱导成功率。

1.3 羊快速起搏房颤模型

羊的正常心率约为 70~80 次/min。可从颈静脉将电极置入心房, 以 50 Hz 频率, 2~3 倍阈值, 间隔 1 s 的刺激进行起搏, 诱发房颤^[15]。Doddall 等^[16]对比了犬、猪、羊的快速起搏, 发现猪不适合制作房颤模型, 犬的房颤会发展成心力衰竭或者左心室纤维化, 而羊的房颤不会出现心室功能紊乱。羊急性房颤模型较少, 用 2 倍阈值, 900 次/min 的刺激起搏 4 h, 可观察到心房有效不应期缩短^[17]。

1.4 猪快速起搏房颤模型

中年猪的心率约 80~90 次/min, 与人类较为接近。猪体型较肥胖, 可在荧光镜下通过颈静脉将电极置入心房, 心内膜起搏应用较多。2015 年, 有学者采用刺激 2 s 停 2 s 的 42 Hz burst 刺激进行起搏, 在第 7 天时可观察到房颤发生^[18]。从手术当天开始给予猪口服地高辛 0.25 mg/d, 当地高辛血药浓度达 0.5~2 ng/mL 时, 以 400 次/min 的刺激起搏 2~6 周, 大部分猪可诱发出房颤^[19]。

1.5 鼠快速起搏房颤模型

将电极放入鼠食管进行食管调搏, 可诱导出房颤。有学者用此方法进行 2 s 的 burst 刺激来诱发房颤, 周期从 40 ms 开始, 每次递减 2 ms, 直至 10 ms, 能诱导出超过 1 s 的房颤或者心房扑动^[20]。

2 其他房颤模型

2.1 疾病相关的房颤动物模型

某些疾病可能与房颤发生相关, 由此建立了多种以疾病为基础的房颤模型, 或者在疾病的基础上以心房 burst 刺激来诱发房颤, 诱发成功率较高。

2.1.1 心血管疾病相关房颤模型 犬的心力衰竭

模型较为成熟。对犬的心室以 240 次/min 的刺激起搏 2 周后, 再对心房进行以 10 Hz、10 V 的 burst 刺激能诱导房颤^[21]。结扎犬的冠状动脉, 可制备心肌梗死致房颤模型^[22]。部分结扎鼠的主动脉弓, 可制备主动脉狭窄相关的房颤模型, 有学者认为主动脉结扎可造成心室持续超负荷, 从而导致心房肥大、扩张、炎症等^[23]。在鼠主动脉结扎基础上进行脾切除, 可以加快主动脉结扎导致的心房纤维化的进程, 增加房颤的易感性^[24]。Kuklik 等^[25]利用羊“一肾一夹”方法, 即一侧肾切除, 另一侧肾动脉部分结扎, 只允许 60% 的血流通过, 可制作高血压模型, 再加上电刺激可诱导出房颤。

2.1.2 呼吸睡眠相关房颤模型 呼吸睡眠暂停综合征可引起低氧血症、高碳酸血症、血压升高等一系列的问题, 这些因素均可增加房颤的易感性。Linz 等^[26]将猪的气管切开, 暴露在负压装置中 4 h, 成功制备了阻塞性呼吸睡眠暂停的疾病模型, 自发房颤率为 80%。

2.1.3 炎症相关房颤模型 在羊的心房表面撒上滑石粉造成无菌性心包炎, 诱导房颤发生率为 6.7%^[27]。此外, Yu 等^[28]用 2-0 号丝线在犬的第二前磨牙处结扎, 形成牙周炎, 再以起搏刺激诱导房颤。

2.1.4 心肌离子流改变致房颤模型 乙酰胆碱(Ach)可作用于心肌 M 受体, 引起钾离子外流增加, 心肌复极化加快, 心房有效不应期缩短, 心房易损性增加; 同时氯化钙(CaCl_2)可使心肌钙负荷加重, 心房有效不应期缩短, 促进房颤的发生和持续。陈春林等^[29]研究发现, 大鼠尾静脉注射 CaCl_2 210 mg/mL + Ach 66 $\mu\text{g/mL}$ 混合液 0.1 mL/100 g (鼠体质量), 1 次/d, 给药 7 d, 用此方法处理的 10 只大鼠均诱发房颤, 且死亡率低。

2.1.5 甲状腺功能亢进与减弱相关房颤模型 甲状腺素功能紊乱, 会直接或间接导致心血管疾病。熊斌等^[30]对兔腹腔注射 50 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 甲状腺素 4 周, 之后给予右心房心内膜刺激, 可诱发房颤。将鼠的甲状腺切除后给予不同剂量的甲状腺素 2 周, 甲状腺功能亢进或减退都能诱导房颤发生^[31]。

2.2 基因模型

鼠的体型小, 其基因研究相对清楚, 是制作基因模型的良好物种, 可用于研究基因表达与酶、蛋白质、离子通道等相关的问题。目前可通过转基因、基因敲除、基因敲入等多种方式, 使与研究因素

相关的基因表达或不表达,从而观察该因素对房颤发生的影响。

2.2.1 对房颤有促进作用的基因模型 利阿诺定 2 型受体(Ryr2)分布于心肌肌浆网,是一种与 Ca^{2+} 释放有关的受体。RyR2-S2808D^{+/+} 转基因鼠随着年龄增加而钙漏增加,经食管调搏刺激可诱发房颤^[32]。CREM-IbΔC-X 转基因鼠(CREM)-mice,亦与钙漏有关,随年龄增大其心房扩大,传导功能紊乱^[33]。FKBP12.6 敲除小鼠可抑制 Ryr2 上的钙调蛋白激酶 II 的磷酸化,从而降低房颤发生率^[34]。

对房颤有促进作用的因素还有:CD11b/CD18(炎症相关)、miR-21(与 Spry1 的蛋白表达下调和结缔组织生长因子表达增多有关)、转化生长因子-β1(与心房纤维化相关)等。

2.2.2 对房颤有抑制作用的基因模型 肝激酶 B 是一种具有保护作用的酶,肝激酶 B1 基因敲除小鼠 12 周自发房颤率为 95%^[35]。热休克蛋白 70 转基因鼠可以过量表达热休克蛋白,在急性疾病中保护心脏,在慢性疾病中作用不明显^[36]。

对房颤有抑制作用的因素还有:隐钙素(与肌浆网 Ca^{2+} 释放有关)、G-蛋白信号转导调节子 4(与 Ca^{2+} 释放有关)、有丝分裂原活化蛋白激酶(与 TGF-β1 负相关)、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、Pitx2-microRNA、缝隙连接蛋白 Cx40、钠肽受体-C(NPR-C)等。

2.3 计算机模型

计算机建模大多以动物心脏电活动为基础,通过程序设计模拟心脏活动,目前有羊、兔、犬等模型,研究制备人类房颤计算机模型是重要方向^[37]。

总之,可根据研究目的选择合适的动物,高效合理地制备房颤动物模型。

参 考 文 献

- [1] Kato T, Iwasaki Y K, Duker G, et al. Inefficacy of a highly selective T-Type calcium channel blocker in preventing atrial fibrillation related remodeling[J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2014, 25(5):531-536.
- [2] Wang X, Wang R, Liu G, et al. The β3 adrenergic receptor agonist BRL37344 exacerbates atrial structural remodeling through iNOS uncoupling in canine models of atrial fibrillation[J]. Cell Physiol Biochem, 2016;38(2):514-530.
- [3] Niwano S, Kojima J, Fukaya H, et al. Arrhythmogenic difference between the left and right atria during rapid atrial activation in a canine model of atrial fibrillation[J]. Circ J, 2007, 71(10):1629-1635.
- [4] 陈雯雯, 罗章源, 陈颖敏. 心房颤动物模型建立的方法学

- [J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2010, 24(5):390-393.
- [5] Bacsko I, Liknes D, Yang W, et al. Characterization of a novel multifunctional resveratrol derivative for the treatment of atrial fibrillation[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(1):92-106.
- [6] Yu Y, Liu L, Jiang JY, et al. Parasympathetic and substance P-immunoreactive nerve denervation in atrial fibrillation models[J]. Cardiovasc Pathol, 2012, 21(1):39-45.
- [7] Lu Y, Sun J, Zhou X, et al. Atrial fibrillation electrical remodelling via ablation of the epicardial neural networks and suprathreshold stimulation of vagosympathetic nerve[J]. Med Sci Monit, 2015, 21: 82-89.
- [8] Zhou Q, Zhang L, Wang K, et al. Effect of interconnection between cervical vagus trunk, epicardial fat pad on sinus node function, and atrial fibrillation[J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2014, 37(3):356-363.
- [9] Lu Y, Sun J, Zhou X, et al. Effect of low-level vagus nerve stimulation on cardiac remodeling in a rapid atrial pacing-induced canine model of atrial fibrillation[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2016, 67(3):218-224.
- [10] Jia X, Zheng S, Xie X, et al. MicroRNA-1 accelerates the shortening of atrial effective refractory period by regulating KCNE1 and KCNB2 expression; an atrial tachypacing rabbit model[J]. PLoS One, 2013, 8(12):e85639.
- [11] He X, Zhang K, Gao X, et al. Rapid atrial pacing induces myocardial fibrosis by down-regulating Smad7 via microRNA-21 in rabbit[J]. Heart Vessels, 2016, 31(10):1696-1708.
- [12] Liu Y, Geng J, Li Y, et al. β3-adrenoceptor mediates metabolic protein remodeling in a rabbit model of tachypacing-induced atrial fibrillation[J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 32(6):1631-1642.
- [13] Zhang DX, Ren K, Guan Y, et al. Protective effects of apocynin on atrial electrical remodeling and oxidative stress in a rabbit rapid atrial pacing model[J]. Chin J Physiol, 2014, 57(2):76-82.
- [14] 邓贵智, 胡建新. 兔急性房颤时心房肌钙通道 α1C、β1 及钾通道 Ikr 的表达和药物干预[J]. 中国医药科学, 2013, 3(5):30-33.
- [15] Angel N, Li L, Macleod RS, et al. Diverse fibrosis architecture and premature stimulation facilitate initiation of reentrant activity following chronic atrial fibrillation[J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2015, 26(12):1352-1360.
- [16] Dossdall DJ, Ranjan R, Higuchi K, et al. Chronic atrial fibrillation causes left ventricular dysfunction in dogs but not goats; experience with dogs, goats, and pigs[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013, 305(5):H725-H731.
- [17] Lenaerts I, Holemans P, Pokreis P, et al. Nitric oxide delays atrial tachycardia-induced electrical remodelling in a sheep model[J]. Europace, 2011, 13(5):747-754.
- [18] Lugenbiel P, Wenz F, Govorov K, et al. Atrial fibrillation complicated by heart failure induces distinct remodeling of calcium cycling proteins[J]. PLoS One, 2015, 10

- (3);e0116395.
- [19] Kazui T, Henn MC, Watanabe Y, et al. The impact of 6 weeks of atrial fibrillation on left atrial and ventricular structure and function[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2015, 150(6):1602-1608.
- [20] Guo X, Yuan S, Liu Z, et al. Oxidation and CaMKII-mediated sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} leak triggers atrial fibrillation in aging[J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2014, 25(6):645-652.
- [21] Aguilar M, Qi XY, Huang H, et al. Fibroblast electrical remodeling in heart failure and potential effects on atrial fibrillation[J]. Biophys J, 2014, 107(10):2444-2455.
- [22] 祖克拉·吐尔洪, 周祁娜, 王红丽, 等. 犬急性心肌梗死后新发心房颤动与交感神经重构的关系[J]. 中华心血管病杂志, 2015, 43(11):975-981.
- [23] De Jong AM, Van Gelder IC, Vreesswijk-Baudoin I, et al. Atrial remodeling is directly related to end-diastolic left ventricular pressure in a mouse model of ventricular pressure overload[J]. PloS One, 2013, 8(9):e72651.
- [24] Kondo H, Takahashi N, Gotoh K, et al. Splenectomy exacerbates atrial inflammatory fibrosis and vulnerability to atrial fibrillation induced by pressure overload in rats; Possible role of spleen-derived interleukin-10 [J]. Heart Rhythm, 2016, 13(1):241-250.
- [25] Kuklik P, Lau DH, Ganesan AN, et al. High-density mapping of atrial fibrillation in a chronic substrate; evidence for distinct modes of repetitive wavefront propagation[J]. Int J Cardiol, 2015, 199:407-414.
- [26] Linz D, Hohl M, Nickel A, et al. Effect of renal denervation on neurohumoral activation triggering atrial fibrillation in obstructive sleep apnea[J]. Hypertension, 2013, 62(4):767-774.
- [27] Zhang Y, Wang YT, Shan ZL, et al. Role of inflammation in the initiation and maintenance of atrial fibrillation and the protective effect of atorvastatin in a goat model of aseptic pericarditis[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(4):2615-2623.
- [28] Yu G, Yu Y, Li YN, et al. Effect of periodontitis on susceptibility to atrial fibrillation in an animal model[J]. J Electrocardiol, 2010, 43(4):359-366.
- [29] 陈春林, 巩甜甜, 汤依群, 等. SD 大鼠房颤模型的建立[J]. 实验动物科学, 2009, 26(3):1-4.
- [30] 熊 斌, 景金金, 苏 立. 螺内酯对高甲状腺素诱导的兔心房颤动和心房重构的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(8):1376-1383.
- [31] Zhang Y, Dedkov EI, Teplitsky D, et al. Both hypothyroidism and hyperthyroidism increase atrial fibrillation inducibility in rats [J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2013, 6(5):952-959.
- [32] Xie W, Santulli G, Reiken SR, et al. Mitochondrial oxidative stress promotes atrial fibrillation[J]. Sci Rep, 2015, 14, 5:11427.
- [33] Li N, Chiang DY, Wang S, et al. Ryanodine receptor-mediated calcium leak drives progressive development of an atrial fibrillation substrate in a transgenic mouse model[J]. Circulation, 2014, 129(12):1276-1285.
- [34] Li N, Wang T, Wang W, et al. Inhibition of CaMKII phosphorylation of RyR2 prevents induction of atrial fibrillation in FKBP12.6 knockout mice[J]. Cir Res, 2012, 110(3):465-470.
- [35] Ozcan C, Battaglia E, Young R, et al. LKB1 knockout mouse develops spontaneous atrial fibrillation and provides mechanistic insights into human disease process[J]. J Am Heart Assoc, 2015, 4(3):e001733.
- [36] Bernardo BC, Sapra G, Patterson NL, et al. Long-term overexpression of HSP70 does not protect against cardiac dysfunction and adverse remodeling in a MURC transgenic mouse model with chronic heart failure and atrial fibrillation [J]. PLoS One, 2015, 10(12):e0145173.
- [37] Trayanova NA. Mathematical approaches to understanding and imaging atrial fibrillation significance for mechanisms and management[J]. Cir Res, 2014, 114(9):1516-1531.

(收稿:2016-10-28 修回:2017-02-05)

(本文编辑:丁媛媛)