

二维应变成像评估小鼠急性心肌梗死后局部心肌功能不全

褚明¹,姚静²,雍永宏²,王小艳¹,许迪¹,许健^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院老年心内科,²心内科,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨基于斑点追踪的二维应变成像技术评估小鼠急性心肌梗死后局部心肌功能不全的应用价值。方法:20只C57/B6小鼠随机分成两组:急性心肌梗死组(10只)和假手术组(10只)。所有小鼠均于术后3d行超声心动图检查。应用EchoPac工作站分析左室乳头肌短轴切面高帧频图像,测量各节段收缩期峰值径向应变(peak radial strain, PRS)及应变率(peak radial strain rate, PRSR),并用解剖M型超声测量左室舒张末期内径(LVIDd)及收缩末期内径(LVIDs)、左室舒张末容积(LVVd)、左室收缩末容积(LVV)、射血分数(EF)和左室缩短率(FS)。结果:与假手术组相比,小鼠心肌梗死组LVIDd、LVIDs、LVVd、LVV、EF、FS测值升高,EF、FS测值下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);与假手术组相比,小鼠心肌梗死组各节段心肌PRS测值及PRSR测值均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);心肌梗死手术组前间隔、前壁、侧壁PRSR较其他节段心肌明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:二维超声应变成像技术可以准确量化评估小鼠急性心肌梗死后局部心肌功能不全。

[关键词] 二维应变;斑点追踪;心肌梗死

[中图分类号] R445.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)04-519-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20140426

Evaluation of two-dimension strain imaging on regional myocardial dysfunction of mouse models after acute myocardial infarction

Chu Ming¹, Yao Jing², Yong Yonghong², Wang Xiaoyan¹, Xu Di¹, Xu Jian^{1*}

(¹Department of Geratology, ²Department of Cardiology the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the value of two-dimensional speckle tracking imaging in assessing regional myocardial dysfunction in a mouse model of acute myocardial infarction. **Methods:** Twenty C57/B6 mice were randomly divided into two groups: acute myocardial infarction (MI) group ($n = 10$) and sham-operation (SO) group ($n = 10$). Echocardiography was performed three days after surgery. High frame rate two dimensional images were recorded in the left ventricular short axis views at the papillary muscle level and analysed at EchoPac workstation. Peak radical strain (PRS) and peak radical strain rate (PRSR) of each segment were measured at systolic period. Left ventricular internal diameter at diastole (LVIDd) and systole (LVIDs), left ventricular volume at diastole (LVVd) and systole (LVVs), ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS) were measured with anatomical M-model echocardiography. **Results:** Compared with those of SO group, LVIDd, LVIDs, LVVd and LVVs of MI group increased significantly ($P < 0.01$) while FS and EF reduced ($P < 0.01$); PRS and PRSR decreased significantly in all segments of MI group ($P < 0.01$), compared with those of SO group; PRSR of anteroseptal, anterior and lateral segments in MI group decreased significantly than other segments ($P < 0.05$). **Conclusion:** Two-dimensional strain imaging could accurately quantify regional myocardial function in a mouse model of acute myocardial infarction.

[Key words] two-dimensional strain; speckle tracking; myocardial infarction

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(4): 519-523]

在心血管疾病研究领域,小鼠是被广泛应用的动物模型之一。尽管现代医学成像技术日益成熟,

但因为小鼠体型小且心室率快(麻醉状态下400~600次/min,自然觉醒状态下550~700次/min),故小鼠心脏收缩功能的量化仍然比较困难。基于斑点追踪的二维应变成像技术作为心脏超声新技术,通过实时追踪心肌运动轨迹,可定量评价整体及局部

[基金项目] 国家自然科学基金资助(81271589)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: di-hsu@126.com

心肌功能。研究表明,20%的70岁以上的心肌梗死患者5年内会发生心功能衰竭^[1]。所以,心肌梗死后心功能衰竭严重危及人类健康,尤其对于老年人。本研究主要有两个目的:一是验证基于斑点追踪的二维应变成像技术对于小鼠心功能评估的可行性;二是利用该技术量化心肌梗死后局部心肌功能不全。

1 材料和方法

1.1 材料

20只10周龄雄性C57/B6L小鼠,体重(25.0±1.5)g,由南京大学模式动物研究中心提供。所有动物按照随机原则分成2组:急性心肌梗死组(MI组,10只)和假手术组(SO组,10只)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物模型建立

所有实验小鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉。心肌梗死组小鼠术前行超声心动图检查。检查完后行气管插管术,给小鼠接小动物呼吸机(MINITYPE,美国),置于37°保温手术台上,随后行第5肋间隙开胸术,暴露心脏左侧冠脉前降支并结扎,然后根据冠脉结扎处下方心肌颜色的变化和局部收缩异常判定心肌梗死模型是否成功。待小鼠自然苏醒后可以拔除气管套管停用呼吸机,术后保证供水及食物,注意保暖。所有小鼠术后3d行超声心动图检查。

1.2.2 二维超声成像

采用GE Vivid 7 Dimension彩色多普勒超声诊断仪,配备i13L探头,频率在5.6~14.0 MHz。所采集的高频图像运用EchoPac工作站及二维应变成像软件分析。

心肌梗死组小鼠于术前,另外所有小鼠于术后3d行超声心动图检查。检查前戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,仰卧位固定在检查台上面,予以胸前脱毛,同步记录心电图。调整增益及探头位置,获取小鼠胸骨旁左室乳头肌短轴切面最佳清晰图像,同时获取小鼠左室胸骨旁长轴切面最佳清晰图像。应用M型超声于左室胸骨旁长轴切面,测量左室舒张末期内径(LVIDd)及收缩末期内径(LVIDs)、

左室舒张末容积(LVVd)、左室收缩末容积(LVV_s),系统自动计算并给出射血分数(EF)和左室缩短率(FS)。所有测量值均取3次测量的平均值。

连续获取3个心动周期的标准左室乳头肌短轴切面二维动态灰阶图像(120~200帧/s),图像采集后予以导入EchoPac工作站,由两个研究人员独立分析。选取采集的原始图像中心内膜最清晰的1帧图像冻结,然后手动勾画心内膜,软件可以自动生成包含心内膜、中层和心外膜解剖结构的圆环感兴趣区域,并自动跟踪心肌组织的运动轨迹。获得理想的追踪节段之后,软件可以自动显示出左室乳头肌短轴切面6个节段的应变曲线图。室壁径向应变反映心室壁收缩期的增厚程度,局部心肌增厚时为正值,变薄时为负值。根据ASE指南将左室乳头肌短轴切面分为6个节段,分别记录各节段的收缩期峰值径向应变(peak radial strain, PRS)及收缩期峰值径向应变率(peak radial strain rate, PRSR)。各项测值结果进行比较时均采用绝对值。

1.3 统计学方法

采用SPSS13.0软件进行统计学分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,偏态分布资料采用中位数(四分位间距)[M(P₂₅, P₇₅)]表示,两组间参数比较采用两个独立样本t检验或Kruskal Wallis H非参数检验。参数间用Pearson相关性分析。重复性检测用Bland-Altman分析法,观察者之间和同一观察者自身测值的变异性以相关系数、差值和均数表示。P≤0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 常规超声心动图测值比较

与假手术组比较,心肌梗死组的LVIDd、LVIDs、LVVd、LVVs测值明显升高,EF、FS测值明显下降,差异有统计学意义(P<0.01,表1)。

2.2 二维超声应变及应变率测值变化

与假手术组及心梗组术前参数相比,小鼠心肌梗死组术后各节段心肌PRS测值及PRSR测值均明显降低(P<0.01,表2,图1)。在心肌梗死手术组

表1 小鼠心肌梗死模型组和假手术组常规超声心动图测值

Table 1 Echocardiographic results in sham-operation (SO) group and myocardial infarction (MI) group

组别	HR(次/min)	LVIDd(mm)	LVIDs(mm)	LVVd(μl)	LVVs(μl)	EF(%)	FS(%)
SO组	473.50±51.38	3.10±0.35	1.86±0.21	87.00±25.45	21.00±7.47	76.88±1.58	41.12±1.18
MI组	456.58±48.95	4.88±0.58*	3.96±0.51*	286.00±89.01*	161.00±56.83*	44.37±1.97*	18.63±0.92*

与SO组比较,*P<0.01。

内可以观察到,前间隔、前壁、侧壁心肌分别与后壁、下壁、间隔心肌比较,PRSR 测值明显降低,差异均

有统计学意义($P < 0.05$),PRS 测值降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

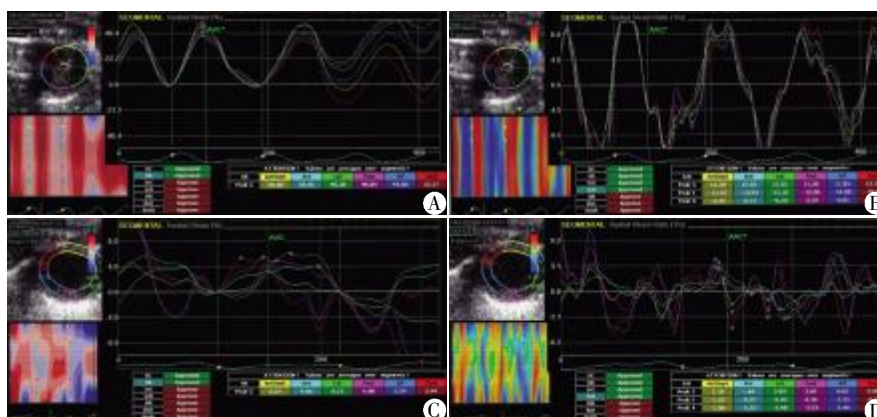
表 2 小鼠心肌梗死模型组及假手术组左心室短轴乳头肌平面各节段心肌的二维收缩期峰值径向应变及应变率测值

Table 2 Comparison of peak radial strain and strain rate in the left ventricular short axis views at the papillary muscle level of sham-operation group and myocardial infarction group of mouse models [M(P₂₅, P₇₅)]

组别	PRS					
	前间隔	前壁	侧壁	后壁	下壁	间隔
SO	29.33(23.81, 41.57)	34.23(24.18, 45.34)	33.79(25.78, 46.52)	34.85(22.51, 48.26)	32.76(20.67, 44.41)	29.58(22.44, 39.77)
MI (术前)	30.25(22.51, 39.57)	31.35(23.65, 44.67)	35.61(23.91, 42.57)	35.61(23.80, 49.43)	31.98(21.89, 43.50)	31.97(24.57, 42.39)
MI (术后)	3.26(1.99, 5.01)*	3.86(2.09, 5.39)*	4.43(2.23, 6.01)*	5.06(4.50, 5.42)*	5.31(4.22, 7.56)*	5.37(4.59, 5.68)*

组别	PRSR					
	前间隔	前壁	侧壁	后壁	下壁	间隔
SO	8.12(6.75, 11.37)	9.62(8.62, 11.10)	10.31(8.37, 11.51)	11.31(6.75, 11.49)	11.16(7.28, 12.75)	28.79(6.54, 12.35)
MI (术前)	30.25(22.51, 39.57)	10.45(8.65, 12.67)	11.08(8.91, 12.57)	11.78(7.80, 13.43)	10.98(7.89, 13.50)	9.97(7.57, 13.39)
MI (术后)	1.34(1.28, 1.58)**	1.29(1.11, 1.65)**	1.21(1.07, 1.61)**	3.26(2.61, 3.69)*	3.56(2.74, 5.39)*	3.34(3.04, 5.54)*

与 SO 组及 MI(术前)组比较, * $P < 0.01$; 与 MI(术后)组后壁、下壁、间隔比较, ** $P < 0.05$ 。



A:假手术组小鼠径向应变曲线;B:假手术组小鼠应变率曲线;C:心肌梗死模型组小鼠径向应变曲线;D:心肌梗死模型组小鼠应变率曲线。

图 1 假手术组和心肌梗死组小鼠左室短轴乳头肌切面径向应变曲线及应变率曲线

Figure 1 Segmental waveforms of radial strain and strain rate in the left ventricular short axis views at the papillary muscle level of sham-operation group and myocardial infarction group

2.3 重复性检验

随机抽取 8 只心肌梗死手术组小鼠,重复测量左室短轴乳头肌切面前间隔的 PRS 及 PRSR 进行重复性检验。二维斑点追踪技术测量 PRS 测值的组间及组内比较具有高度一致性 [组间: $r = 0.81, P < 0.01$, 平均差异(2.10 ± 3.60)%;组内: $r = 0.92, P < 0.01$, 平均差异(1.00 ± 2.20)%]。应变率参数 PRSR 测值的组间及组内比较亦具有高度一致性[组间: $r = 0.78, P < 0.01$, 平均差异(0.10 ± 0.18)s⁻¹;组内: $r = 0.87, P < 0.01$, 平均差异(0.06 ± 0.13)s⁻¹]。Bland-Altman 分析法显示重复测量二维应变差值与均值呈一致性的变化趋势。

3 讨论

当前,随着转基因技术及基因靶向治疗研究的不断进展,小鼠模型被广泛应用于研究单一基因在心血管疾病病理过程中的作用。多项研究利用转基因或基因敲除小鼠鉴定特定基因在心肌梗死病理生理机制中的作用^[2-3]。为了鉴定小鼠的基因型,评估心血管疾病新治疗手段的有效性,以及评价有潜在心脏不良反应药物的安全性,评估小鼠心功能的方法显得尤为重要。然而,当前评估小鼠心功能的方法仍然有限。传统的评估心功能的方法分辨率有限,对于心脏损伤疾病的早期或者恢复过程中的心功能的微弱变化无法检测。尽管近年来多种心肌成像方法

的可行性均得以证实,但尚无比较可靠、高度敏感的快速评价心功能的方法。心肌核素显像技术对于评估局部心肌功能缺乏空间分辨率,心脏CT及MR对于评估整体心功能变化缺乏时间分辨率^[4-5]。而且,这些方法应用于小鼠,需要较昂贵的器械设备,且评估过程耗时。因此,超声心动图仍为心血管疾病小鼠模型的心功能评估的标准方法。它是非侵入性、普遍可行、且采图和分析图像时间相对较短的一种方法。在众多心脏成像方法中,超声心动图可实时评估心脏收缩功能且操作相对容易,故有不可替代的作用。另外,与心脏CT及MR相比,超声心动图的花费只有它们的10%~20%。

近年,超声高频探头相关技术研究的不断发展,大大提高超声心动图对于小鼠心功能评估的价值。Foster等^[6]将高频探头(15~50 MHz)用于小鼠的实验研究中,获取高分辨率图像,在实时观察小鼠胎盘血流,肿瘤新生血管血流及乳鼠至成年小鼠心脏发育或疾病中表现出良好的应用前景。但是,目前大多数的心血管病实验室仍然利用临床常见的超声设备评估小鼠功能。本研究基于临床常用超声设备,利用二维超声应变成像新技术评估小鼠心功能,对于心血管病实验室研究领域有技术推广价值。本研究利用传统方法量化整体心功能,无法量化评估局部心肌功能,但是利用二维斑点追踪技术测量应变参数可定量评估各节段心肌功能,重复性较好。表明利用常规临床超声设备进行二维斑点追踪技术分析小鼠局部心肌功能是可行的。

冠状动脉阻塞会引起心肌缺血和梗死,影响心肌收缩力,从而导致局部心肌运动障碍。定量评价局部心肌功能不全,对于心肌梗死的诊断及心衰的评估有重要价值。当前心脏超声应变及应变率成像技术已经被用来定量评估局部心肌形变^[7-8]。组织多普勒技术和斑点追踪技术是两种主要的评估心肌形变的超声方法。组织多普勒成像是角度依赖性的,而斑点追踪技术可以明显减少角度依赖性问题带来的诊断影响。多项动物实验以及临床研究均证明斑点追踪技术临床应用的可行性^[9-11]。研究证实,和传统超声心动图相比,基于斑点追踪的应变成像技术可以检测出心梗后心功能的微弱变化,也可以评估多种改善心肌梗死预后相关治疗手段的疗效^[12-13]。本研究发现,小鼠在急性心肌梗死3d后各节段心肌应变及应变率参数均下降,和整体心功能的下降趋势一致。Ferferieva等^[14]发现应变率参数较应变参数更能反映心肌收缩力的变化,应变参

数受心脏结构及后负荷变化的影响较大。本研究中,小鼠心梗术后前间隔,前壁及侧壁心肌的PRSR测值的下降尤为明显,有统计学意义,这与结扎前降支后引起前间隔,前壁及侧壁心肌的急性缺血梗死相关,但心肌各节段PRS测值却没有统计学差异,说明应变率参数较应变参数在评估急性心肌梗死局部心肌功能差异上可能更敏感,可以用来评估局部心肌间梗死程度的差异。

本研究的结论有一定的局限性。首先,研究的样本数较小,但是采图及参数的脱机分析采用盲法及标准流程,一定程度上提高了结果的可靠性。另外,心肌变形实际上为三维空间上的形态改变。而本研究获得的应变及应变率参数仍为二维成像参数,无法做到三维检测。

综上所述,二维超声应变成像技术可准确量化评估小鼠急性心肌梗死后局部心肌功能不全,收缩期峰值径向应变率在评估小鼠局部心肌功能不全方面较收缩期峰值径向应变敏感,对于间接评估小鼠局部心肌梗死损伤程度有一定应用前景。

[参考文献]

- [1] Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2010, 121(7): e46-e215
- [2] Yang Z, Zingarelli B, Szabo C. Effect of genetic disruption of poly (ADP-ribose) synthetase on delayed production of inflammatory mediators and delayed necrosis during myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Shock*, 2000, 13(1): 60-66
- [3] Spurney C, Yu Q, Nagaraju K. Speckle tracking analysis of the left ventricular anterior wall shows significantly decreased relative radial strain patterns in dystrophin deficient mice after 9 months of age [J]. *PLoS Curr*, 2011, 3: RRN1273
- [4] Li Y, Garson CD, Xu Y, et al. Quantification and MRI validation of regional contractile dysfunction in mice post myocardial infarction using high resolution ultrasound [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2007, 33(6): 894-904
- [5] Marwick TH, Raman SV, Carro I, et al. Recent developments in heart failure imaging [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2010, 3(4): 429-439
- [6] Foster FS, Mehi J, Lukacs M, et al. A new 15-50 MHz array-based micro-ultrasound scanner for preclinical imaging [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2009, 35(10): 1700-1708
- [7] Sutherland GR, Di Salvo G, Claus P, et al. Strain and strain rate imaging: a new clinical approach to quantifying re-

- gional myocardial function[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2004,17(7):788-802
- [8] Bachner-Hinzenon N, Ertracht O, Leitman M, et al. Layer-specific strain analysis by speckle tracking echocardiography reveals differences in left ventricular function between rats and humans [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 299(3):H664-672
- [9] Szymczyk E, Lipiec P, Plewka M, et al. Feasibility of strain and strain rate evaluation by two-dimensional speckle tracking in murine model of myocardial infarction: comparison with tissue Doppler echocardiography[J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2013, 14(2):136-143
- [10] Kusunose K, Penn MS, Zhang Y, et al. How similar are the mice to men? Between-species comparison of left ventricular mechanics using strain imaging[J]. PLoS One, 2012, 7(6):e40061
- [11] 雍永宏, 庄燕, 姚静, 等. 二维斑点追踪技术评价房间隔封堵术前后右室应变及应变率的变化 [J]. 南京医科大学学报:自然科学版, 2009, 29(8):1128-1132
- [12] Bauer M, Cheng S, Jain M, et al. Echocardiographic speckle-tracking based strain imaging for rapid cardiovascular phenotyping in mice[J]. Circ Res, 2011, 108(8):908-916
- [13] Treguer F, Donal E, Tamareille S, et al. Speckle tracking imaging improves *in vivo* assessment of EPO-induced myocardial salvage early after ischemia-reperfusion in rats [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(6):H1679-1686
- [14] Ferferieva V, van den Bergh A, Claus P et al. The relative value of strain and strain rate for defining intrinsic myocardial function [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2012, 302(1):H188-195

[收稿日期] 2013-02-04

(上接第 508 页)

浮红细胞 2 U 次之, 输注悬浮红细胞 1 U 最少, 提示输入悬浮红细胞的量越多, 继续出血的量越多。这是因为, 肝硬化患者肝脏合成凝血因子功能差, 输入的悬浮红细胞不含血小板及凝血因子, 肝硬化大出血患者在早期若单纯输入悬浮红细胞, 凝血因子减少, 血小板因被稀释后水平也轻度下降, 引起继续出血, 而在输悬浮红细胞的同时输入血浆, 补充凝血因子^[7], 使患者的凝血功能改善, 加强凝血功能, 使继续出血的几率明显下降。Malone 等^[8]建议大量输血时输入的红细胞: 血浆: 血小板的比例为 1:1:1。悬浮红细胞中含有抗凝剂, 输注的悬浮红细胞的量越大, 输入的枸橼酸钠量也越多, 使患者的凝血功能会更差, 从而伤口不易愈合。未愈合的创口继续出血又可消耗大量凝血因子, 造成恶性循环, 出血不止, 使患者出血加重, 进而影响患者预后。

综上所述, 在肝硬化门静脉高压食管胃底静脉曲张破裂出血的早期治疗中, 静脉输注悬浮红细胞应予慎重, 输血时最好一个单位一个单位的输注^[9], 补充悬浮红细胞的同时及时补充血浆以防止机体凝血功能下降导致出血不止, 从而提高失代偿期肝硬化上消化道出血的抢救成功率。

[参考文献]

- [1] 河云, 袁凤仪. 肝病与全身系统疾病诊断治疗学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 78
- [2] 陈勤奋. 贫血患者的输血治疗[J]. 内科理论与实践, 2010, 5(4):301-305
- [3] 陈会友, 田兆嵩. 贫血的红细胞输注原则与方法[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(2):146-149
- [4] Reiss RF. Hemostatic defects in massive transfusion: rapid diagnosis and management [J]. Am J Crit Care, 2000, 9(3):158-165
- [5] Como JJ, Dutton RD, Scalea TM, et al. Blood transfusion rates in the care of acute trauma [J]. Transfusion, 2004, 44(6):809-813
- [6] Hearnshaw S, Brunskill S, Doree C, et al. Red cell transfusion for the management of upper gastrointestinal haemorrhage [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2009, 2: CD006613
- [7] Napolitano LM, Kurek S, Luchette FA, et al. Clinical practice guideline: Red blood cell transfusion in adult trauma and critical care [J]. Crit Care Med, 2009, 37(12):3124-3157
- [8] Malone DL, Hess JR, Fingerhut A. Massive transfusion practices around the globe and a suggestion for a common massive transfusion protocol [J]. J Trauma, 2006, 60(6 suppl):S91-S96
- [9] 徐晓玲. 评估危重患者限制性输血的临床结果 [J]. 成都医学院学报, 2012, 7(2):293-314

[收稿日期] 2013-07-09