

放射性心脏损伤动物模型的研究进展

张洪明 李险峰

【摘要】 目前我国肿瘤发病率已超越心血管疾病跃居第一位,随着外科及放化疗技术的提升与发展,肿瘤患者的生存周期已得到大幅度提高。与之相反的是肿瘤在治疗过程中所引起的近期和远期并发症却已成为影响患者生存质量的主要因素,尤其是胸廓、胸壁及纵隔肿瘤(如霍奇金淋巴瘤、乳腺癌等)在进行放疗时所引起的心脏的近期及远期不良反应,成为该类肿瘤患者死亡的重要原因之一。而稳定的动物模型是临床前研究放射性心脏损伤的基础,为放射性心脏损伤的预防和治疗提供大量实验依据。为此该文对历年来研究者常用建立放射性心脏损伤模型的造模动物及其特点、造模方法的改进与发展、模型的具体应用进行综述。

【关键词】 辐射损伤;心脏损伤;模型,动物

Progress in animal model of radiation-induced heart disease Zhang Hongming, Li Xianfeng. Department of Radiotherapy, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: Li Xianfeng, Email: lixianfeng-lxf@263.net

【Abstract】 The incidence of cancer has surpassed the cardiovascular disease as the first one in China. With the improvement and development of surgical techniques and chemo-radiotherapy, the patient's survival time has been prolonged greatly. On the contrary, long-term and recent complications caused during the tumors treatment process have become one of the main factors which severely influence the quality of life of the patients. Cardiovascular recent and long-term adverse reaction caused by radiation has become the major cause of death in cancer patients especially for thoracic, chest wall and mediastinal tumor (such as Hodgkin's lymphoma, breast cancer, etc.). And stable animal model is the basis of clinical research of radioactive heart damage which can provide a large number of experiments for the prevention and treatment of radioactive heart damage. For this purpose, the article reviewed the animal model of radioactive heart damage and its characteristics, the improvement and development of the modelling methods, and the concrete application of the model.

【Key words】 Radiation injuries; Heart injuries; Models, animal

放射性心脏损伤(radiation-induced heart disease, RIHD)是指对胸廓、胸壁及纵隔肿瘤进行放射治疗时对心脏造成的损伤,这种损伤往往导致心脏出现病理变化及相应的临床表现,包括急性心包炎、心肌和心包纤维化、心脏传导功能异常等^[1-3],尤其是伴有心脏衰竭、冠心病等心血管基础疾病的患者,放疗会加重原有心脏疾病^[4],严重降低了晚期肿瘤患者的生活质量^[2]。这类患者在行放疗时心脏不可避免地会受到照射,Stewart等^[5]研究显示,RIHD的发病率与心脏所受照射剂量和体积相

关,随照射剂量和体积的增加,RIHD的发病率明显升高,Darby等^[6]研究认为,当心脏体积V45为60%时,放射性心包炎的发病率为1%~5%;当V55>60%时其发病率可达25%~50%。何宏涛等^[7]研究发现,全心V60≥5.04%时,急性RIHD的发病率为93.33%,当V60<5.04%时,急性RIHD的发病率降为70.3%。遗憾的是目前还没有有效的方法阻止RIHD的发生和进展^[3]。因此,阐明RIHD发生的生理、病理机制,对RIHD的治疗及预防起着重要作用,稳定的RIHD动物模型,对进行其相关研究起着关键作用,为了更好地选择适合RIHD模型造模的动物及方法,本文对RIHD造模动物的特点、造模方法及模型的具体应用作以下综述。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2014.06.015

基金项目:国家自然科学基金(81371600);山西医科大学科技创新基金(057279)

作者单位:030001太原,山西医科大学第一医院放疗科

通信作者:李险峰(Email:lixianfeng-lxf@263.net)

1 大鼠的 RIHD 模型

在科学实验研究中,大鼠是应用最广泛的一种模型动物,其成本较为低廉、抵抗力强、易于大批繁殖和饲养管理;大鼠模型具有重复性和稳定性好、易于造模及控制各项实验条件、取材方便且可满足大量指标的检测等优点,常作为 RIHD 造模动物的首选。常用的大鼠品种主要有 SD 大鼠、Wistar 大鼠等。

1.1 大鼠 RIHD 动物模型的造模方法

早期国内外造模方法大致相同^[8-9]:取雄性成年健康 SD 大鼠或 Wistar 大鼠,体质量(200±30)g,常用 2%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉后,将其仰卧位固定于木板上。进行 ⁶⁰Co γ 射线或直线加速器 X 线照射时,在大鼠上方用 5 cm 厚铅块屏蔽,铅块上留有与大鼠心脏大小对等的穿透孔,调整位置使大鼠心前区正对穿透孔。另一种方法是直接进行全胸照射,照射野上界在胸骨角下,下界为上界向剑突方向 2 cm,左右界以中线为轴向左旁开 3 cm,向右旁开 1.5 cm,照射野大小为 4.5 cm×3 cm,用铅块屏蔽大鼠其余部分,照射剂量范围为 20~60 Gy,分次照射,2 Gy/次,每周 5 次,1 次/d,照射时间连续 3~6 周。也可以单次照射,剂量率 2~5 Gy/min,持续照射 5~10 min,照射距离为 1 m^[10]。

大鼠完成照射后 4 个月在麻醉下取心脏组织,在光镜及电镜下出现组织病理学改变^[10-12],如弥散的局灶性心肌细胞变性、纤维组织增生、纤维斑块形成、血管壁增厚坏死、血管腔阻塞等改变,与 Sridharan 等^[18]、顾文东和冯炎^[13]的研究病理结果相似。

1.2 大鼠造模方法的改进

一直以来,国内外在建立 RIHD 动物模型时,通常是采用治疗患者的 ⁶⁰Co γ 机或是医用直线加速器,由于 ⁶⁰Co γ 机照射深度远,几何半影大,易于损伤心脏周围组织,医用加速器虽然几何半影小,射野剂量较均匀,相比 ⁶⁰Co γ 机对心脏组织损伤小,但由于大鼠心脏本身太小不能做到心脏完全适形,也不能选择对心脏局部 ROI 进行照射,这给相关研究带来了困难。

美国阿肯色州大学医学科学院研究人员近年来开发出了一款更加精确适形小动物心脏的放疗设备,即具有影像引导小动物局部心脏适形放疗设备

(image-guided small animal conformal radiation therapy device, SACRTD)^[14],它允许对大鼠心脏局部进行照射,从而避开对心脏周围组织的照射,避免周围组织对研究结果产生的影响,完全弥补了早期建立 RIHD 模型方面的缺点。

SACRTD 由 X 射线源(225 kV, 13 mA)、一个安装有机人定位臂的平台和电子射野影像系统及一个定制的圆柱形鼠固定器组成。此系统具有高分辨率锥型束 CT 作影像引导并完成图像重建,自行设计的计算机软件控制机械手臂可在 6 个方向上自由转动,对大鼠心脏多角度多射野完成三维适形,提高了照射的准确率和精准度。该系统能够将肺脏等周围组织和心脏完全分开,同时它允许选择心脏局部 ROI 照射,照射时可将心脏分为照射区和非照射区,照射完成后对比照射区和非照射区组织病理结构差异,可确定造模是否成功。

造模时将大鼠垂直固定于圆柱形鼠固定器内(一个定制的圆柱形树脂玻璃夹,长 26.6 cm、内直径 5.71 cm、壁厚 3 mm,可以完整地 360° 旋转)。用异氟烷吸入麻醉后给予总量 21 Gy,3 个直径 19 mm 的射野照射心脏局部(一条前后野和两条侧野),每个射野 7 Gy 单次照射,照射之前用电子射野影像系统验证是否与心脏局部适形^[13]。在国外这种方法被证明是可行的并得到了广泛应用^[14-17],SACRTD 是用于 RIHD 研究极好的工具。

大鼠 RIHD 模型已广泛用于放射诱导冠心病相关研究中,如放射线造成心绞痛发生的分子机制,冠状动脉损伤的表现及冠状动脉狭窄放射治疗的临床价值;也用于放射所致的心肌损伤的具体生化过程、超微结构的变化及临床药物保护的药理机理等研究。

2 试验犬(比格犬)RIHD 模型

比格犬被国际医学、生物学界公认为较理想的实验用犬。造模成功后 RIHD 模型遗传性能稳定,体温恒定且器官功能一致性较好,尤其是心脏解剖结构与人相似,在 RIHD 相关研究中较大鼠更能模拟人 RIHD 生理生化各项指标及组织病理学的变化,同时可以直接应用大型影像学设备,如:CT 定位机及医用直线加速器进行定位、放疗计划的制定及照射^[19],心脏彩超检查可直接观察心脏结构和功能的改变^[20]。

实验犬常用造模方法：取成年健康雄性比格犬，体质量(12±2) kg，用3%戊巴比妥钠(1 ml/kg)腹腔注射麻醉后，取仰卧位真空垫体位固定，CT模拟定位扫描并将图像传至三维治疗计划系统勾画目标靶区（常选择心脏左室为靶区），制定放疗计划，以相同体位在直线加速器上进行摆位固定，锥形束CT扫描进行位置验证，验证合格后给予单次20 Gy剂量照射，从而完成了放射性心脏局部损伤模型的构建^[9]。照射后行心脏彩超检查，查看是否有急性心包积液或照射4个月后出现心脏功能异常等^[21]，也可麻醉后取心脏受照射区和非受照射区组织比较病理变化差异，结合两者结果确定造模是否成功。也可通过¹⁸F-FDG心肌代谢显像无创性评价RIHD模型构建是否成功^[9]。

由于比格犬易行大型医学设备检查，心脏体积较大，易于对局部ROI照射，RIHD模型主要用于对放射诱导心肌损伤及心肌纤维化过程的研究，并可取组织行病理学检查探究心肌损伤和纤维化是否是微血管内皮细胞受照射后损伤所致，也可探索心肌损伤可逆的照射剂量范围，心肌损伤后心肌酶和肌钙蛋白升高程度和照射剂量之间的因果关系。

3 新西兰兔 RIHD 模型

20世纪70年代，Stewart等^[22-23]用新西兰兔建立起与人体相似的RIHD实验模型，基本揭示了RIHD发病的病理学变化，说明人心脏放射诱导损伤之后在兔机体内也可产生类似病变，同时兔也方便行医学仪器的检查，也可直接应用医用直线加速器进行照射，故常作为RIHD模型动物。

造模方法：取健康雄性新西兰兔，体质量2.5~3.5 kg，仰卧位，用4~5 ml/kg水合氯醛腹腔麻醉后，将兔固定于固定板上，CT模拟机定位后在三维治疗计划系统下勾画目标靶区（以心脏或心脏局部为靶区）、制定三维适形放疗计划，要求心脏被95%等剂量曲线所覆盖，一般采用医用直线加速器X线单次照射，给予30 Gy照射^[24]，以往认为心脏放射线照射单次剂量<30 Gy是不会产生RIHD，当>40 Gy时发病率才逐渐升高，有学者发现小剂量照射也会使心脏产生一些非特异性改变^[10]。麻醉后处死兔观察其心脏病理学的改变，或行心脏彩超显示兔心脏结构和功能的改变，与放疗前超声结果对比即可证明造模是否成功。

造模成功的兔RIHD模型可用于各类心脏损伤模型的研究，如探究不同剂量射线照射心脏局部引起急性心包炎发病率的变化以指导RIHD晚期已发生的不可逆的心脏结构损伤的治疗等。

4 小型猪 RIHD 模型

小型猪遗传稳定，与人的基因纯和度达95%，并且存在很大的相似性，在心血管疾病模型建立方面有重要的应用价值。猪在循环系统、心脏解剖结构、动脉粥样硬化及脂蛋白代谢方面与人类相似，病理学上从脂质沉积到纤维细胞增生等完全与人类相同^[25]，能够尽可能地模拟人心脏的RIHD，且易行影像学方面的检查，相比其他动物更能反映人的生理生化指标的变化，同时小型猪体积小、饲养方便、易管理，近年来广泛应用于心肌梗死模型、动脉粥样硬化及心衰模型的造模中^[26-28]，但在RIHD模型造模中尚未得到应用，将来可能在RIHD动物模型造模中具有实际的应用价值。由于小型猪各方面和人相似性较高，其模型可广泛应用于放射引起的冠心病、心肌梗死等的预防和治疗的基础研究中。

5 小结

建立合理且实用的RIHD模型，在模型动物的选择上，首先要考虑造模动物的解剖结构、生理功能、病理变化等，应尽可能与人类相似，并能较准确地反映人类心脏受放疗后的各种变化，为人类RIHD的治疗和预防提供思路；其次造模动物应较容易饲养、取材方便、生理生化指标检测和影像学检查简便易行；此外还应充分考虑实验目的、实验条件、实验经费等客观条件。

大鼠作为一种经典的RIHD模型动物，无论是在常规造模方法的实施还是在造模放疗设备的改进上，都取得了较大进展。尤其是开发出的SACRTD，能够对感兴趣的目标进行精确影像引导放疗，使得大鼠局部心脏放射损伤造模技术得到了大幅度提升，因此，大鼠RIHD模型动物应作为首选造模动物，而实验犬和新西兰兔，能够运用三维适形放疗技术进行心脏局部照射，且易行影像学检查，也可获得较满意的RIHD模型。

由于大鼠、兔、犬等本身的局限，在心脏的解剖结构、疾病发生机理等方面与人类存在较大差异，不能真实地反映人类RIHD病理生理变化过

程,而小型猪正好弥补了这个缺陷,如能建立小型猪 RIHD 模型,或许能为临床治疗和预防 RIHD 提供有力的依据和思路。

参 考 文 献

- [1] Adams MJ, Hardenbergh PH, Constine LS, et al. Radiation-associated cardiovascular disease[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2003, 45(1): 55-75.
- [2] Heidenreich PA, Hancock SL, Vagelos RH, et al. Diastolic dysfunction after mediastinal irradiation[J]. *Am Heart J*, 2005, 150(5): 977-882.
- [3] Filopei J, Frishman W. Radiation-induced heart disease[J]. *Cardiol Rev*, 2012, 20(4): 184-188.
- [4] 王洁, 陆克义, 周军涛, 等. X线照射增加大鼠心肌对缺血/再灌注损伤的敏感性[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(3): 419-422.
- [5] Stewart FA, Seemann I, Hoving S, et al. Understanding radiation-induced cardiovascular damage and strategies for intervention[J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2013, 25(10): 617-624.
- [6] Darby S, McGale P, Peto R, et al. Mortality from cardiovascular disease more than 10 years after radiotherapy for breast cancer: nationwide cohort study of 90 000 Swedish women[J]. *BMJ*, 2003, 326(7383): 256-257.
- [7] 何宏涛, 王军, 刘青, 等. 急性放射性心脏损伤剂量体积因素分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2014, 21(10): 767-770.
- [8] Lauk S, Kizel Z, Buschmann J, et al. Radiation-induced heart disease in rats[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1985, 11(4): 801-808.
- [9] 胡舜英, 苏畅, 马兰, 等. ^{60}Co γ 射线心脏局部照射对大鼠离体心脏功能的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2007, 32(6): 571-573.
- [10] Fajardo LF, Stewart JR. Pathogenesis of radiation-induced myocardial fibrosis[J]. *Lab Invest*, 1973, 29(2): 244-257.
- [11] Fajardo LF, Stewart JR. Experimental radiation-induced heart disease. I. Light microscopic studies[J]. *Am J Pathol*, 1970, 59(2): 299-316.
- [12] Schultz-Hector S. Radiation-induced heart disease: review of experimental data on dose response and pathogenesis[J]. *Int J Radiat Biol*, 1992, 61(2): 149-160.
- [13] 顾文东, 冯炎. 放射线诱发心脏损伤的病理学机制[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2004, 13(2): 110-112.
- [14] Sharma S, Moros EG, Boerma M, et al. A novel technique for image-guided local heart irradiation in the rat[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2014, 13(6): 593-603.
- [15] Milani-Nejad N, Janssen PM. Small and large animal models in cardiac contraction research: advantages and disadvantages[J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 141(3): 235-249.
- [16] Sridharan V, Aykin-Burns N, Tripathi P, et al. Radiation-induced alterations in mitochondria of the rat heart[J]. *Radiat Res*, 2014, 181(3): 324-334.
- [17] Sharma S, V Sridharan, M Boerma, et al. Development of a rat model of radiation induced heart disease using SACRTD[J]. *Med Phys*, 2011, 38(6): 351-360.
- [18] Sridharan V, Tripathi P, Sharma SK, et al. Cardiac inflammation after local irradiation is influenced by the kallikrein-kinin system[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(19): 4984-4992.
- [19] 宋建波, 闫蕊, 侯彦杰, 等. 实验犬放射性心脏损伤模型建立与评价[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(4): 463-464.
- [20] 冉海涛, 王志刚, 邹建中, 等. 心脏超声组织定征研究: 急性缺血与再灌注过程中心肌组织回声强度变化及其与心肌收缩力的关系[J]. *中国超声医学杂志*, 1999, 15(4): 251-253.
- [21] 张娜, 张连仲. 超声心动图评价胸部放疗对心脏损伤的研究进展[J]. *临床超声医学杂志*, 2013, 15(2): 111-113.
- [22] Stewart JR, Fajardo LF, Cohn KE, et al. Experimental radiation-induced heart disease in rabbits[J]. *Radiology*, 1968, 91(4): 814-817.
- [23] Stewart JR, Fajardo LF, Gillette SM, et al. Radiation injury to the heart[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1995, 31(5): 1205-1211.
- [24] 周卫兵, 罗全勇, 冯炎, 等. 兔心脏单次照射损伤的检测与观察[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2007, 16(3): 230-234.
- [25] 张贺, 王承利, 王洋. 小型猪动物模型在医学领域中的应用[J]. *中国畜牧兽医*, 2012, 39(7): 263-266.
- [26] 陈华, 谢忠忱, 黄广勇, 等. 五指山小型猪动脉粥样硬化模型的建立[J]. *实验动物科学*, 2007, 24(6): 39-43.
- [27] 郭淑贞, 王伟, 刘涛, 等. 小型猪冠心病(心肌缺血)血瘀证模型血液流变学及超声评价[J]. *中华中医药学刊*, 2007, 25(4): 702-705.
- [28] 傅向华, 刘晓坤, 谷新顺, 等. 经导管法冠脉内微球灌注建立小型猪慢性缺血性心力衰竭模型研究[J]. *中华医学杂志*, 2006, 86(16): 1129-1132.

(收稿日期: 2014-06-18)