

射血分数保留性心力衰竭动物模型的研究进展

高可 杨蕾 姚新叶 郑小璞

(西安交通大学第一附属医院心血管内科, 陕西 西安 710061)

【摘要】近年来,射血分数保留性心力衰竭(HFpEF)成为严重威胁人类健康的重要疾病。HFpEF 患者约占总心力衰竭人数的 50% 以上,且病死率高,预后差。目前关于 HFpEF 的机制并不清楚,且缺乏有效的治疗药物。对 HFpEF 病理生理机制的理解既受到人体心肌活检的限制,也受到缺乏完整模拟人类病理的动物模型的限制。因此,建立合适的动物模型有助于深入了解 HFpEF 的病理生理机制及分子信号通路,并为潜在治疗的临床前研究提供新思路。现综述目前可用于研究 HFpEF 的动物模型及其优缺点。

【关键词】射血分数保留性心力衰竭;动物模型;舒张功能障碍;高血压

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.08.013

Animal Models of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction

GAO Ke, YANG Lei, YAO Xinye, ZHENG Xiaopu

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi, China)

【Abstract】In recent years, heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) has become an important issue that poses a serious threat to human health. HFpEF patients account for more than 50% of the total number of heart failure patients, with high mortality and poor prognosis. At present, the mechanism of HFpEF is not clear, and there are no effective treatment drugs. Understanding the pathophysiology of HFpEF has been restricted both by human myocardial biopsies and by the lack of animal models that fully mimic human pathology. Therefore, the establishment of appropriate animal models can help us understand the pathophysiology mechanism and molecular signaling pathway of HFpEF, and provide new ideas for the preclinical investigation of potential therapies. In this review, we will provide an overview of the currently available models to study HFpEF as well as present advantages and disadvantages of these models.

【Key words】Heart failure with preserved ejection fraction; Animal models; Diastolic dysfunction; Hypertension

射血分数保留性心力衰竭 (heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF) 是世界范围内一个主要且日益严重的临床问题,由于人口老龄化中肥胖、高血压和糖尿病等危险因素的日益普遍, HFpEF 的患病率显著增加^[1-2]。流行病学显示 HFpEF 患者约占心力衰竭(心衰)总人数的一半以上,且 HFpEF 患者的再住院率及死亡率高^[3]。HFpEF 的机制并不明确,可能机制是心肌纤维化、微血管炎症、内皮功能障碍和能量代谢异常等^[4],导致左心室舒张功能障碍、左心室舒张末压(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)增加,进展为 HFpEF。2019 年欧洲心脏病学会心衰协会最新推荐 HFA-PEFF 算法用于诊断 HFpEF^[5]。HFpEF 的防治形势并不乐观,临床上缺乏基于证据对 HFpEF 的治疗策略,且传统治疗射血分数降低性心力衰竭 (heart failure with reduced ejection

fraction, HFrEF) 药物在 HFpEF 中的部分试验宣告无效^[6-7],这迫切需要深入了解 HFpEF 的病理生理机制。然而由于缺乏合适的动物模型,阻碍了 HFpEF 有效治疗策略的发展。HFpEF 的高危因素包括高血压、糖尿病和高龄等^[8],这些危险因素引起 HFpEF 的主要机制不同。根据 HFpEF 的危险因素,现将具有代表性的啮齿动物模型分组为高血压组、糖尿病组、高血压合并糖尿病组和衰老组,现综述目前可用于 HFpEF 研究的啮齿动物模型,并讨论其优缺点。

1 高血压模型

高血压是心脑血管疾病和肾衰竭等疾病的重要危险因素,是导致 HFpEF 的重要原因。HFpEF 患者中,高血压患病率为 55% ~ 86%^[9]。高血压患者心脏后负荷增加,伴有交感神经、肾素-血管紧张素系统激活和氧化应激增强,可引起心肌肥厚和心脏纤维化,

导致左心室舒张功能障碍,引起舒张性心衰^[10]。该 HFpEF 动物模型的主要机制是心肌肥厚和心脏纤维化,特别适用于 HFpEF 心室重塑的机制研究。目前 HFpEF 的许多模型建立都涉及到诱导后负荷增加和左心室重塑,其中包括高血压、主动脉缩窄和促肥厚激动剂等^[9]。

1.1 主动脉缩窄模型

主动脉缩窄(transverse aortic constriction, TAC)作为一种压力超负荷模型,1991年由 Rockman 等首次在小鼠中描述,目前是一种成熟且常用的手术技术,可诱导啮齿类动物左心室压力超负荷和左心室肥厚,进而导致心衰^[11]。TAC 结扎部位主要见于主动脉根部、主动脉弓以及肾上腹主动脉等。早期对大鼠(3~4周)进行 TAC,随着大鼠年龄增加,主动脉流出道阻力增加,逐渐出现左心室代偿性收缩功能增强、向心性肥厚和舒张期充盈异常,术后6周呈现“限制性”充盈模式,即舒张早期经二尖瓣血流速度(E波)增加,舒张晚期经二尖瓣血流速度(A波)降低,舒张早期经二尖瓣血流速度/二尖瓣环运动速度比值(E/E')增大, LVEDP 增加等舒张功能障碍特点,且大鼠伴有呼吸困难、食欲差、活动减少和水肿等心衰症状,因此是研究 HFpEF 的重要模型^[12-14]。

TAC 具体手术方法不再描述^[11]。目前进行 TAC 的时间不定,早期进行 TAC 需借助显微外科手术,操作难度高,但其更符合 HFpEF 的疾病进展;晚期进行 TAC 不需借助显微外科手术,可操作性高,但临床相关性较差。TAC 存在一定缺陷,在 16~18 周时随着左心室扩张、收缩功能下降,出现 HFrEF^[13-14]。TAC 优点在于心衰的刺激是逐渐的,即压力负荷是逐渐进展的,从代偿性心室肥大到失代偿性心衰的进展也是如此,因此,该模型可能与人类心衰进展的临床相关性更大^[14]。另外,C57BL/6 亚系小鼠面对压力负荷的心脏反应不同,选择时应谨慎。Garcia-Menendez 等^[15]研究发现,对 C57BL/6Ncr1 和 C57BL/6NTac 亚系小鼠进行 TAC 术后,其心脏功能差、存活率低,左心室出现明显的扩张,而 C57BL/6J 小鼠 TAC 术后出现左心室壁厚度增加,未见其左室扩张。

1.2 Dahl 盐敏感大鼠模型

Dahl 盐敏感大鼠(Dahl salt-sensitive rats, DSSR)是由 John Rapp 等从 Sprague-Dawley 大鼠选育出的,特点是对盐高度敏感,高盐饮食可导致高血压和肾衰竭,DSSR 大鼠是研究 HFpEF 最常用的动物模型^[16-18]。大量研究显示,DSSR 在第 7 周时给予高盐饮食(8% NaCl),第 13 周左右出现左心室肥厚伴纤维化和左心室舒张异常,如 LVEDP-容积曲线左上移位

和舒张末容积下降等;第 17 周时左心室纤维化加重,心肌僵硬明显增加,于第 19 周出现舒张性心衰。此时大鼠多表现活动减少、呼吸困难,同时 LVEDP 明显增高,伴有明显肺淤血,故可作为 HFpEF 模型^[16,18]。近 10 年来,大量研究者选用 DSSR 作为 HFpEF 的模型,高盐饮食多始于第 7 周,结束于第 19~21 周左右,建立 HFpEF 模型需干预 13 周^[17,19-20]。该模型后期可出现 HFrEF,Doi 等^[16]发现 DSSR 在第 7 周给予高盐干预,约在第 26 周时出现 HFrEF。因此在选择该模型时应注意干预周期,部分研究者也可使用 DSSR 作为 HFrEF 模型。该模型存在一定不足:首先,干预周期长、成本高;其次,该模型是由水钠潴留引起的,在转化为人类高血压驱动的 HFpEF 时存在一定局限性。

1.3 醋酸去氧皮质酮-盐高血压模型

醋酸去氧皮质酮(deoxycorticosterone acetate, DOCA)-盐诱导的大鼠模型是一种药理学诱导的高血压模型,在单侧肾切除术后,通过腹腔注射或皮下给予 DOCA,并喂以高盐饮食(1% NaCl 饮用水)可诱导 HFpEF^[21-23]。肾切除术通常在 6~10 周龄时进行,在慢性 DOCA 治疗的 4~5 周内,这种结合可导致高血压、心肌肥厚和血管周围纤维化^[24]。DOCA-盐高血压大鼠多伴有心肌炎症、氧化应激、纤维化和舒张功能障碍。舒张功能障碍表现为 E/E' 升高、左心室等容舒张时间延长和 LVEDP-容积曲线左上移位等^[21]。Silberman 等^[23]发现 DOCA-盐小鼠在肾切除术后 11~13 d 出现舒张功能障碍,出现 E' 下降, E/E' 增大,且侵入性血流动力学评估提示 LVEDP 增高,左心室等容舒张时间延长,而左心室收缩功能得以保留,提示舒张功能障碍。活性自由基和炎症介导的氧化应激,以及随之的免疫炎症细胞浸润,均可通过诱导高血压、心脏肥大、纤维化和内皮功能障碍等方式参与人类和动物心衰发生^[25]。DOCA-盐诱导的高血压大鼠是将氧化应激、炎症与心血管疾病关系连接起来的可靠 HFpEF 模型。由于 DOCA-盐诱导的高血压大鼠模型疾病进展迅速,故造模周期短,应用于慢性病的动物模型时存在一定不足^[22]。

1.4 自发性高血压大鼠模型

自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)易出现高血压、左心室向心性肥厚,进而引起心衰^[22]。SHR 是建立 HFpEF 的常用模型,其诱导 HFpEF 所需时间不定,多为 16~32 周^[22,26]。Sun 等^[26]发现,8 周的雄性 SHR 在给予标准饮食等条件下,于 32 周时出现左心室等容舒张期明显延长、E 波增快、A 波速度下降, E/A 明显增加且 >2,但收缩功能

正常, 出现 HFpEF。尽管大鼠的心衰症状很难确定, Kuoppala 等^[27]发现 SHR 在 2 周时处于高血压前期, 3 周时出现高血压和心室肥厚早期阶段; 同时发现与 12 月的 SHR 相比, 20 月龄的 SHR 其 E/A 明显增加, 伴有胸腔和心包积液、心室后壁及室间隔明显增厚等特点, 但其射血分数值无明显下降。SHR 展现出与人类原发性高血压相同的高血压进展阶段, 均先后出现高血压前期、持续的高血压阶段, 伴随着进展性左心室肥厚, 后期发展为左心室舒张功能障碍和心衰, 因此 SHR 是研究 HFpEF 的良好模型^[14, 22, 27]。其存在一个显著的缺点: 实验周期长, 维持 SHR 直到其出现心衰表型所需成本较高。

1.5 肥厚激动剂模型

血管紧张素和异丙肾上腺素等肥厚激动剂已被用于建立心室收缩、舒张功能障碍以及左心室肥厚的动物模型中, 其可引起 HFpEF^[22, 28-30]。Regan 等^[28]对 8 周龄的雄性小鼠进行血管紧张素 II 0.2 mg/(kg·d) 皮下注射 28 d, 4 周后血管紧张素 II 治疗组出现高血压、左心室肥厚、心肌纤维化和利钠肽的表达增加, 同时 E/A 降低、E/E' 增大, 且左心室等容舒张期延长和 LVEDP 增加, 而左心室的内径和射血分数值无明显改变, 提示出现 HFpEF。同样, 异丙肾上腺素皮下注射也可导致心肌肥厚、心肌纤维化和舒张功能障碍^[22, 30-31]。该模型具有良好的重复性、周期短且无创, 但高浓度可能增加动物死亡风险^[22]。

1.6 转基因模型

TGR(mRen2)27 大鼠是一种携带小鼠 Ren2 基因的转基因大鼠, Mullins 等 1990 年通过在 Sprague-Dawley 大鼠添加小鼠 Ren2 基因而形成血管紧张素 II 依赖的高血压转基因 TGR(mRen2)27 大鼠^[22, 32]。TGR(mRen2)27 大鼠表现为血管紧张素 II 依赖的血压升高和心肌肥厚, 而在 10 周龄左右则出现明显的舒张功能障碍^[32]。此外, 去卵巢的 mRen2. Lewis 大鼠是模拟绝经后女性 HFpEF 的良好动物模型。Zhao 等^[33]发现早期(4~5 周龄)双侧卵巢切除的 mRen2. Lewis 雌性大鼠表现为收缩压升高、左心室重塑明显和舒张期顺应性下降等特点, 心脏超声提示左心室灌注压增加, E/E' 增大, 而收缩功能保留。目前大量研究者选用去卵巢的 mRen2. Lewis 大鼠来研究雌激素与左心室心肌重塑、舒张功能障碍和 HFpEF 的关系^[33-35]。转基因模型的缺陷是大多数舒张功能障碍和 HFpEF 的患者伴有多基因疾病或多种情况, 如高血压、糖尿病和肥胖等, 因此不能完全模拟 HFpEF 患者的特点^[22]; 而且 mRen2. Lewis 大鼠是一个肾素过度表达的动物模型, 不能准确地模拟 HFpEF 患者的肾素-血管紧张

素-醛固酮系统激活情况, 特别是在绝经后女性患者中^[33]。

2 糖尿病模型

HFpEF 中约 1/3 的患者伴有 2 型糖尿病^[22, 36], 糖尿病患者发生心衰的风险明显增加, 阻止或延迟 2 型糖尿病的发生是防治心血管疾病的重要策略^[37-38]。胰岛素抵抗、2 型糖尿病和高胰岛素血症对心肌具有多重效应, 包括刺激心肌肥厚、增加氧化应激、促炎症和促纤维效应, 可导致心肌细胞功能改变和胶原纤维沉积, 促进舒张功能障碍和 HFpEF^[22, 38-40]。舒张功能障碍是糖尿病患者的早期心脏损害表现, 研究发现年轻糖尿病患者心脏损害的主要表现为舒张功能异常, 且糖尿病患者在中老年之前很少出现 HFpEF^[38-39, 41]。该模型特别适用于糖尿病伴 HFpEF 患者心肌细胞能量代谢异常、氧化应激和内皮功能障碍的机制研究, 其对理解 HFpEF 的机制同等重要^[42-43]。

2.1 链脲霉素诱导的糖尿病模型

链脲霉素(streptozotocin, STZ)是一种对胰岛 β 细胞有毒性作用的化学物质, 高剂量的 STZ 可导致 1 型糖尿病, 而多次低剂量注射可导致 2 型糖尿病^[22]。Wistar 大鼠经 STZ 注射后可出现不伴左心室肥厚的舒张性心衰^[44]。Sprague-Dawley 雌性大鼠经注射 STZ 10 周后, 出现离心性肥厚、舒张功能障碍和左心室收缩功能保留等特性, 心脏超声以左心室舒张和充盈受损为主, E/A 下降, 表现为 HFpEF^[22]。目前该模型应用较少, 但仍是研究糖尿病合并 HFpEF 患者、糖尿病心肌病的有效模型。

2.2 转基因糖尿病模型

许多转基因糖尿病模型均概括了 HFpEF 的特点, 其中包括瘦素缺陷的 ob/ob 小鼠和瘦素受体缺陷的 db/db 小鼠^[42]。ob/ob 小鼠和 db/db 小鼠使机体瘦素稳态失衡, 引起肥胖、胰岛素抵抗和糖尿病。Mori 等^[43]发现 5 月龄的 db/db 小鼠心肌明显纤维化、氧化应激加重, 出现左心室舒张功能异常而收缩功能保留的舒张性心衰。ob/ob 小鼠是一种肥胖和糖尿病动物模型, 研究表明 12 周龄的雌性 ob/ob 小鼠出现左心室舒张功能障碍而射血分数保持正常^[45]。然而需要注意的是, 随着年龄增大这些模型均逐渐出现 HFpEF^[42]。

3 高血压合并糖尿病模型

高血压合并糖尿病大鼠模型也是研究 HFpEF 的有效动物模型, 其模拟了 HFpEF 患者代谢综合征的特点, 主要机制是心脏重构、氧化应激和内皮功能障碍等, 特别适用于 HFpEF 患者心脏重构和能量代谢异常的机制研究。常用模型包括 Zucker 肥胖大鼠、Zucker 自发性高血压肥胖大鼠、STZ-SHR、STZ-TGR(mRen2)

27 糖尿病大鼠和肥胖 DSSR 等^[22,42]。Zucker 大鼠是具有肥胖和高血压的遗传模型,研究发现 Zucker 肥胖大鼠的左心室质量明显增加,早期便出现舒张功能障碍^[46]。同样,Zucker 肥胖糖尿病大鼠表现为轻度高血压和舒张功能障碍,但其左心室质量无明显增加^[42]。Zucker 自发性高血压肥胖大鼠是雌性 Zucker 肥胖糖尿病大鼠与雄性自发性高血压心衰大鼠的杂交后代,Zucker 自发性高血压肥胖大鼠在 10 周龄出现高血压和左心室肥厚,14~18 周时出现明显的舒张性心衰,表现为左心室充盈明显受限、E/E' 增大,心脏超声和侵入性血流动力学均提示左心室收缩功能正常,后于 20 周时出现 HFpEF 伴肺淤血^[22,47]。

4 衰老动物模型

Meta 分析^[1]显示 60 岁以上老年患者中 HFpEF 的患病率增高,明显高于 HFrEF。老年心衰患者中,女性更容易出现 HFpEF,而老年男性多为 HFrEF^[1,22]。高龄是 HFpEF 的危险因素,该模型模拟了 HFpEF 高龄患者的基本特点,主要机制涉及到随年龄增加而出现的左心室和血管顺应性下降、心室重塑和慢性氧化应激增强等,因此衰老模型是研究衰老相关 HFpEF 机制的重要模型。常用的衰老模型包括自发性易衰老小鼠、FVB/N 小鼠和 Fischer 344 老龄大鼠等^[22,42]。

自发性易衰老小鼠是研究衰老相关舒张功能障碍的良好模型,Reed 等^[48]发现与衰老抵抗组小鼠相比,6 月龄自发性易衰老小鼠的 E/A 和 E' 明显下降,侵入性血流动力学提示 LVEDP 增高,而心脏收缩功能和平均动脉压无明显改变,出现 HFpEF。FVB/N 小鼠和 Fischer 344 老龄大鼠是研究 HFpEF 年龄和性别差异的良好模型。Koch 等^[49]发现在 12 月龄时,雄性 FVB/N 小鼠出现舒张功能障碍,而雌性 FVB/N 小鼠无明显改变。相反,24 月龄的雌性 Fischer 344 大鼠出现伴左心室肥厚的舒张性心衰,其左心室等容舒张时间延长和 E' 明显下降,而同龄雄性 Fischer 344 大鼠则出现明显的心肌纤维化和收缩功能下降^[42]。这些模型是研究衰老相关的 HFpEF 的良好模型,但其研究周期长,成本较高,且衰老明显增加氧化应激和肾脏病变风险。

5 展望

近年来 HFpEF 的患病率不断增加,其患病率、病死率高于 HFrEF 患者,目前临床上缺乏基于证据对 HFpEF 的治疗药物,明确其病理生理机制对于未来 HFpEF 的药物研发和治疗起着重要作用。有效治疗方法的缺乏推动了日益增长的 HFpEF 临床前研究。目前各研究建立的 HFpEF 动物模型仅概括了 HFpEF 患者的部分特征,极大地限制了研究者理解 HFpEF 机

制和开发新药物的进展。选择合适的动物模型至关重要,本研究综述了目前国内外可用于 HFpEF 研究的动物模型的进展,为科研人员提供了更多的模型选择空间。然而许多遗传和环境因素驱动了舒张功能障碍和 HFpEF 的发生、发展,一个包含所有病因的非人类动物模型是不现实的。根据研究目的,研究人员需确定何种危险因素或危险因素组合应该包括在其研究方案中,这可促进更好的理解 HFpEF 的机制和发现新的治疗策略。

参考文献

- [1] van Riet EE, Hoes AW, Wagenaar KP, et al. Epidemiology of heart failure: the prevalence of heart failure and ventricular dysfunction in older adults over time. A systematic review [J]. *Eur J Heart Fail*, 2016, 18(3): 242-252.
- [2] Seferovi PM, Petrie MC, Filippatos GS, et al. Type 2 diabetes mellitus and heart failure: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology [J]. *Eur J Heart Fail*, 2018, 20(5): 853-872.
- [3] Upadhyay B, Pisani B, Kitzman DW. Evolution of a geriatric syndrome: pathophysiology and treatment of heart failure with preserved ejection fraction [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2017, 65(11): 2431-2440.
- [4] Borlaug BA. The pathophysiology of heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2014, 11(9): 507-515.
- [5] Pieske B, Tschöpe C, de Boer RA, et al. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2019, 40(40): 3297-3317.
- [6] Zheng SL, Chan FT, Nabebaccus AA, et al. Drug treatment effects on outcomes in heart failure with preserved ejection fraction: a systematic review and meta-analysis [J]. *Heart*, 2018, 104(5): 407-415.
- [7] 朱文彤, 姚亚丽. 射血分数保留的心力衰竭的发病机制及最新治疗研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(4): 557-560.
- [8] Vaduganathan M, Michel A, Hall K, et al. Spectrum of epidemiological and clinical findings in patients with heart failure with preserved ejection fraction stratified by study design: a systematic review [J]. *Eur J Heart Fail*, 2016, 18(1): 54-65.
- [9] Oktay AA, Shah SJ. Current perspectives on systemic hypertension in heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2014, 16(12): 545.
- [10] Tadic M, Cuspidi C, Frydas A, et al. The role of arterial hypertension in development heart failure with preserved ejection fraction: just a risk factor or something more? [J]. *Heart Fail Rev*, 2018, 23(5): 631-639.
- [11] de Almeida AC, van Oort RJ, Wehrens XH. Transverse aortic constriction in mice [J]. *J Vis Exp*, 2010, 38: 1729.
- [12] Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, et al. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure [J]. *Circulation*, 1995, 91(10): 2642-2654.
- [13] Respress JL, van Oort RJ, Li N, et al. Role of RyR2 phosphorylation at S2814 during heart failure progression [J]. *Circ Res*, 2012, 110(11): 1474-1483.
- [14] Patten RD, Hall-Porter MR. Small animal models of heart failure: development of novel therapies, past and present [J]. *Circ Heart Fail*, 2009, 2(2): 138-144.
- [15] Garcia-Menendez L, Karamanlidis G, Kolwicz S, et al. Substrain specific response to cardiac pressure overload in C57BL/6 mice [J]. *Am J Physiol Heart*

- Circ Physiol, 2013, 305(3): H397-H402.
- [16] Doi R, Masuyama T, Yamamoto K, et al. Development of different phenotypes of hypertensive heart failure; systolic versus diastolic failure in Dahl salt-sensitive rats[J]. *J Hypertens*, 2000, 18(1): 111-120.
 - [17] Esposito G, Cappetta D, Russo R, et al. Sitagliptin reduces inflammation, fibrosis and preserves diastolic function in a rat model of heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(22): 4070-4086.
 - [18] Kamimura D, Ohtani T, Sakata Y, et al. Ca^{2+} entry mode of $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger as a new therapeutic target for heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(11): 1408-1416.
 - [19] Omori Y, Ohtani T, Sakata Y, et al. L-Carnitine prevents the development of ventricular fibrosis and heart failure with preserved ejection fraction in hypertensive heart disease[J]. *J Hypertens*, 2012, 30(9): 1834-1844.
 - [20] Tamaki S, Mano T, Sakata Y, et al. Interleukin-16 promotes cardiac fibrosis and myocardial stiffening in heart failure with preserved ejection fraction[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68893.
 - [21] Lovelock JD, Monasky MM, Jeong EM, et al. Ranolazine improves cardiac diastolic dysfunction through modulation of myofilament calcium sensitivity[J]. *Circ Res*, 2012, 110(6): 841-850.
 - [22] Horgan S, Watson C, Glezeva N, et al. Murine models of diastolic dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction[J]. *J Card Fail*, 2014, 20(12): 984-995.
 - [23] Silberman GA, Fan TH, Liu H, et al. Uncoupled cardiac nitric oxide synthase mediates diastolic dysfunction[J]. *Circulation*, 2010, 121(4): 519-528.
 - [24] Grobe JL, Mecca AP, Mao H, et al. Chronic angiotensin-(1-7) prevents cardiac fibrosis in DOCA-salt model of hypertension[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290(6): H2417-H2423.
 - [25] Iyer A, Chan V, Brown L. The DOCA-salt hypertensive rat as a model of cardiovascular oxidative and inflammatory stress[J]. *Curr Cardiol Rev*, 2010, 6(4): 291-297.
 - [26] Sun Y, Liu G, Song T, et al. Upregulation of GRP78 and caspase-12 in diastolic failing heart[J]. *Acta Biochim Pol*, 2008, 55(3): 511-516.
 - [27] Kuoppala A, Shiota N, Lindstedt KA, et al. Expression of bradykinin receptors in the left ventricles of rats with pressure overload hypertrophy and heart failure[J]. *J Hypertens*, 2003, 21(9): 1729-1736.
 - [28] Regan JA, Mauro AG, Carbone S, et al. A mouse model of heart failure with preserved ejection fraction due to chronic infusion of a low subpressor dose of angiotensin II[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 309(5): H771-H778.
 - [29] Deneke T, Shin DI, Balta O, et al. Postablation asymptomatic cerebral lesions: long-term follow-up using magnetic resonance imaging[J]. *Heart Rhythm*, 2011, 8(11): 1705-1711.
 - [30] Takaki M. Cardiac mechanoenergetics for understanding isoproterenol-induced rat heart failure[J]. *Pathophysiology*, 2012, 19(3): 163-170.
 - [31] Ma X, Song Y, Chen C, et al. Distinct actions of intermittent and sustained beta-adrenoceptor stimulation on cardiac remodeling[J]. *Sci China Life Sci*, 2011, 54(6): 493-501.
 - [32] Rothermund L, Kreutz R, Kossmehl P, et al. Early onset of chondroitin sulfate and osteopontin expression in angiotensin II-dependent left ventricular hypertrophy[J]. *Am J Hypertens*, 2002, 15(7 Pt 1): 644-652.
 - [33] Zhao Z, Wang H, Jessup JA, et al. Role of estrogen in diastolic dysfunction[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 306(5): H628-H640.
 - [34] Jessup JA, Wang H, MacNamara LM, et al. Estrogen therapy, independent of timing, improves cardiac structure and function in oophorectomized mRen2. Lewis rats[J]. *Menopause*, 2013, 20(8): 860-868.
 - [35] Wang H, Jessup JA, Lin MS, et al. Activation of GPR30 attenuates diastolic dysfunction and left ventricle remodeling in oophorectomized mRen2. Lewis rats[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(1): 96-104.
 - [36] Paulus WJ, Tschoepe C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction; comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(4): 263-271.
 - [37] Kenny HC, Abel ED. Heart failure in type 2 diabetes mellitus[J]. *Circ Res*, 2019, 124(1): 121-141.
 - [38] Dunlay SM, Givertz MM, Aguilar D, et al. Type 2 diabetes mellitus and heart failure, a scientific statement from the American Heart Association and Heart Failure Society of America[J]. *J Card Fail*, 2019, 25(8): 584-619.
 - [39] Aon MA, Foster DB. Diabetic cardiomyopathy and the role of mitochondrial dysfunction; novel insights, mechanisms, and therapeutic strategies[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22(17): 1499-1501.
 - [40] Schilling JD, Mann DL. Diabetic cardiomyopathy: bench to bedside[J]. *Heart Fail Clin*, 2012, 8(4): 619-631.
 - [41] Paolillo S, Marsico F, Prastaro M, et al. Diabetic cardiomyopathy: definition, diagnosis, and therapeutic implications[J]. *Heart Fail Clin*, 2019, 15(3): 341-347.
 - [42] Conceição G, Heinonen I, Lourenço AP, et al. Animal models of heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Neth Heart J*, 2016, 24(4): 275-286.
 - [43] Mori J, Patel VB, Abo Alrob O, et al. Angiotensin 1-7 ameliorates diabetic cardiomyopathy and diastolic dysfunction in db/db mice by reducing lipotoxicity and inflammation[J]. *Circ Heart Fail*, 2014, 7(2): 327-339.
 - [44] Wei M, Ong L, Smith MT, et al. The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes[J]. *Heart Lung Circ*, 2003, 12(1): 44-50.
 - [45] Sartori M, Conti FF, Dias DDS, et al. Association between diastolic dysfunction with inflammation and oxidative stress in females ob/ob mice[J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 572.
 - [46] Zhou X, Ma L, Habibi J, et al. Nebivolol improves diastolic dysfunction and myocardial remodeling through reductions in oxidative stress in the Zucker obese rat[J]. *Hypertension*, 2010, 55(4): 880-888.
 - [47] Hamdani N, Franssen C, Lourenço A, et al. Myocardial titin hypophosphorylation importantly contributes to heart failure with preserved ejection fraction in a rat metabolic risk model[J]. *Circ Heart Fail*, 2013, 6(6): 1239-1249.
 - [48] Reed AL, Tanaka A, Sorescu D, et al. Diastolic dysfunction is associated with cardiac fibrosis in the senescence-accelerated mouse[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(3): H824-H831.
 - [49] Koch SE, Haworth KJ, Robbins N, et al. Age- and gender-related changes in ventricular performance in wild-type FVB/N mice as evaluated by conventional and vector velocity echocardiography imaging: a retrospective study[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2013, 39(11): 2034-2043.

收稿日期: 2019-12-09