

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.36.006

常用麻醉剂对麻醉小鼠超声心功能的影响*

付鹤玲¹ 仝欣² 郑媛¹ 李蕾² 李建民²

(1 南京医科大学医药动物实验基地 江苏 南京 210029; 2 南京医科大学细胞生物学系 江苏 南京 210029)

摘要 目的:比较常见的多种麻醉剂对小鼠心脏超声结果的影响。**方法:**C57BL/6 小鼠 25 只,随机分 5 组,每组 5 只。首先在清醒状态下,借助小动物高频超声系统(Vevo2100)评价小鼠心功能,然后分别用戊巴比妥钠、水合氯醛、三溴乙醇、氯胺酮/地西泮及异氟烷麻醉,再次对心功能进行评价。比较 6 种不同处理情况下,超声反映的小鼠心功能的差异。**结果:**与清醒状态相比,5 种麻醉方式下,小鼠的心率及心功能均有不同程度降低。其中,戊巴比妥钠、水合氯醛、三溴乙醇及异氟烷麻醉组的左心收缩功能显著降低($P < 0.01$),而氯胺酮/地西泮麻醉的小鼠与清醒组相比,收缩功能无明显差异($P > 0.05$),但其余参数也有显著差异($P < 0.01$)。**结论:**不论何种麻醉方式,都会对小鼠心率及心功能造成一定影响,但其同组内仍具有可比性;因此应根据现实条件及实验需要选择麻醉剂,并贯彻始终,保持试验中麻醉条件的一致性。

关键词:麻醉;小动物高频心脏超声;心功能

中图分类号:Q95-3;R541 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)36-7025-05

Effects of Common Anesthetic Agents on Cardiac Function during Echocardiography in Mice*

FU He-ling¹, TONG Xin², ZHENG Yuan¹, LI Le², LI Jian-min²

(1 Laboratory animal center of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210029, China;

2 Dept. of Cell Biology, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210029, China)

ABSTRACT Objective: To compare the effects of various anesthetic agents on cardiac function in mice undergoing high-resolution echocardiography. **Methods:** 25 mice (C57BL/6) were randomly divided into 5 groups ($n=5$), and anesthetized with intraperitoneal thioethamyl (TA), chloral hydrate (CH), tribromoethanol (TBE), ketamine- diazepine (KD), or inhaled isoflurane (Isf). The cardiac function of conscious mice and anesthetic mice was evaluated by echocardiography using a high-resolution ultrasonic system for small animals (Vevo2100). **Results:** Compared with the conscious mice, all anesthetic mice of 5 different groups showed decrease of cardiac function in varying degrees. Mice from TA, CH, TBE and Isf group showed significant decreased left ventricular systolic function ($P < 0.01$). The EF and FS values of KD group showed little difference from the conscious ones ($P > 0.05$), but differences of other parameters were great ($P < 0.01$). **Conclusions:** Common anesthetic agents always depressed the HR and cardiac function of mice, but mice which underwent the same anesthesia condition had comparability. In echocardiography experiments, we should choose proper anesthetic agents according to the demand, and keep consistent during the whole experiment.

Key words: Anesthetic; High-resolution echocardiography; Cardiac function

Chinese Library Classification: Q95-3; R541 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)36-7025-05

前言

近年来,多种手术造模技术及基因修饰技术的发展促使越来越多的研究者选择小鼠作为心血管研究的模型。小动物高频超声的应用为安全无创动态的观察小鼠的心血管提供了理想工具^[1-4]。有研究表明,小鼠的心功能受到麻醉剂、麻醉方式及麻醉深度的影响;不同麻醉剂可能对心功能造成不同影响^[5-8]。目前国内常用麻醉剂品类较多,而之前的研究仅选择两三种麻醉剂为研究对象^[9-14]。因此本文汇总了常见的五种麻醉方式,采用 Vevo2100 高频小动物超声系统检测各组小鼠心功能,观察不

同麻醉方式对心功能的影响,并与清醒状态下获得的小鼠心功能进行比较,借此为小动物心脏超声实验中麻醉剂的选择提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂

实验中所用 25 只 C57BL/6 小鼠(6-8 周龄,体重 19-22 g,雄性,SPF 级)来自南京医科大学动物中心,所有操作程序符合南京医科大学动物伦理及使用指南。参考文献及实际经验总结,所用麻醉剂剂量分别为:戊巴比妥钠(thioethamyl),1%水

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31171443)

作者简介:付鹤玲(1986-),女,硕士,助理实验师,主要研究方向:小动物影像学,

电话:025-86862102, E-mail: fuheling@njmu.edu.cn

(收稿日期:2014-09-08 接受日期:2014-09-30)

溶液,用量 70 mg/Kg;水合氯醛(chloral hydrate),3 %水溶液,用量 400 mg/Kg;三溴乙醇(tribromoethanol),1.2 %水溶液,用量 150 mg/Kg;氯胺酮(ketamine)100 mg/Kg + 地西洋(diazepam)5 mg/Kg;异氟烷(isoflurane),4.5 %诱导麻醉,1.5 %维持麻醉。

1.2 超声心动图测定小鼠心功能

1.2.1 固定小鼠 使用加拿大 VisualSonics 公司所产 Vevo 2100 高分辨率小动物超声成像系统,探头 MS400 (频率 30 MHz)。清醒状态测量时,由一人手持小鼠使其胸腹面向上,左胸前脱毛后,另一人手持探头行经胸壁超声。麻醉实验中,小鼠分别经腹腔注射麻醉或口鼻吸入气体麻醉,待其后肢反射消失后,仰卧位固定于 39 °C 恒温生理信息监测台上,四肢涂抹少量耦合剂后分别固定于金属探测片上,左胸前脱毛后进行经胸壁超声探测。

1.2.2 B-Mode 及 M-Mode 超声心动图 探头置于小鼠左侧胸前,向小鼠右肩旋转 30-45 度,B-Mode 可见左心室长轴切面;探头顺时针旋转 90 度,显示左心室短轴切面,在乳头肌最大切面应用 M-Mode 超声记录左心室运动情况,记录心率(HR),测量舒张期左室前壁厚度(LVAWd),舒张期左室后壁厚度(LVPWd),左室舒张末内径(LVEDd)和左室收缩末内径(LVESd);每只小鼠做 6 次测量,取 6 个心动周期的平均值。按照表 1 公式计算左室舒张末容积(LVEDv),左室收缩末容积(LVESv),左室射血分数(EF),左室缩短分数(FS),左室校正后质量(LV MASS corrected),每搏输出量(SV)。

表 1 心脏超声参数的计算公式

Table 1 The formulas for parameters of echocardiography

Parameter	Formulas
LVEDv (μL)	$LVEDv = [7.0 / (2.4 + LVEDd)] \times LVEDd^3$
LVESv (μL)	$LVESv = [7.0 / (2.4 + LVESd)] \times LVESd^3$
EF (%)	$\%EF = 100 \times [(LVEDv - LVESv) / LVEDv]$
FS (%)	$\%FS = 100 \times [(LVEDd - LVESd) / LVEDd]$
LV MASS (mg)	$LV\ MASS = 1.053 \times [(LVEDd + LVPWd + LVAWd)^3 - LVEDd^3]$
LV MASS corrected (mg)	$LV\ MASS\ corrected = LV\ MASS \times 0.8$
SV (μL)	$SV = LVEDv - LVESv$

1.3 实验方案

从全部 25 只小鼠中随机抽取 13 只,在其清醒状态下进行心脏超声检查;随后将 25 只小鼠随机分为 5 组,每组 5 只,分别采用腹腔注射戊巴比妥钠(TA 组)、水合氯醛(CH 组)、三溴乙醇(TBE 组)或氯胺酮/地西洋(KD 组)麻醉,或口鼻吸入异氟烷(Isf 组)麻醉。比较六种状态下小鼠的心脏超声参数的变化,及各参数的组内组间离散度。

1.4 统计学分析

实验数据以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,离散度以变异系数(标准差/平均数)表示;采用非配对 t 检验比较各组间的差异。P < 0.05 为差异有统计学意义,P < 0.01 为差异有显著统计

学意义。

2 结果

2.1 麻醉剂的麻醉效果及对心脏超声效果的影响的比较

不同麻醉剂的诱导时间和维持时间不同;其中吸入异氟烷的诱导时间最短,小鼠 10-15 sec 即可进入镇静麻醉状态;腹腔注射的麻醉剂中,三溴乙醇和氯胺酮/地西洋的诱导速度较快,1-1.5 min 可进入镇静全麻状态,戊巴比妥钠和水合氯醛诱导时间稍长,约 2 min 也可进入镇静全麻状态。麻醉剂的维持效果中,异氟烷由于是短效麻醉,需要持续接口鼻吸入,因此麻醉维持时间可由人为控制,脱离麻醉面罩后 10-30 sec 内可苏醒;腹腔注射的麻醉剂中,氯胺酮/地西洋的维持时间最短,20-30 min 小鼠即可活动,而戊巴比妥钠的维持时间最长,可达 40-60 min(表 2)。经腹腔注射麻醉或口鼻吸入气体麻醉,均能达到良好的镇静麻醉效果,小鼠呼吸心跳平稳,超声采集效果良好,能得到清晰的 2D 及 M 超图像,左心室壁边界清晰可辨(图 1)。清醒状态的小鼠,由于小鼠应激挣扎及操作人手持的误差,同时心跳较快,图像质量略差于麻醉状态的小鼠,但仍能满足图像采集及测量。

表 2 五种麻醉剂的麻醉时效比较

Table 2 Prescription of five anesthetic agents

Anesthetic	Induced (min)	Maintenance(min)
Thioethamyl	1.5 - 2	40 - 60
Tribromoethanol	1 - 1.5	20 - 40
Chloral hydrate	1.8 - 2	30 - 40
Isoflurane	0.17 - 0.25	Persistent anesthesia
Ketamine-Diazepam	1 - 1.5	20 - 30

2.2 麻醉的小鼠与清醒状态相比,心率及心功能都有不同程度下降

与清醒组相比,麻醉小鼠的心率都有不同程度下降,其中除水合氯醛与氯胺酮/地西洋组,其余三组的心率均显著降低(P < 0.01)。与心率变化一致的是,氯胺酮/地西洋组小鼠的两项反映心脏收缩功能的指标 EF 值和 FS 值,与清醒组相比差异不大;而其余四组麻醉小鼠的 EF 值和 FS 值则均显著下降(P < 0.01)。左心室每搏输出量 SV 值,五组麻醉小鼠相比清醒组则均有显著上升(P < 0.01)。麻醉组小鼠的左心室舒张末内径 LVEDd 和校正质量 LV MASS corrected 显著上升(P < 0.01)。左心室前壁厚度 LVAWd 是唯一基本未受影响的指标,麻醉组与清醒组相比无显著差异(P > 0.05)(图 2)(表 3)。

2.3 评估不同麻醉方式对小鼠心脏超声结果的影响

不同麻醉方式对心功能的影响程度不同。各麻醉组之间比较,戊巴比妥钠与三溴乙醇组间差异不明显(P > 0.05),其余组差异均较大(P < 0.05)。戊巴比妥钠与三溴乙醇组对心功能抑制最明显,EF 及 FS 值为麻醉组内最低;氯胺酮/地西洋组对心功能抑制最轻,EF 与 FS 值基本与清醒组持平(P > 0.05)。LVEDd 和 LV MASS 的变化与心率相关,心率较低的三组:戊巴比妥钠、三溴乙醇与异氟烷组,其 LVEDd 及 LV MASS 均较

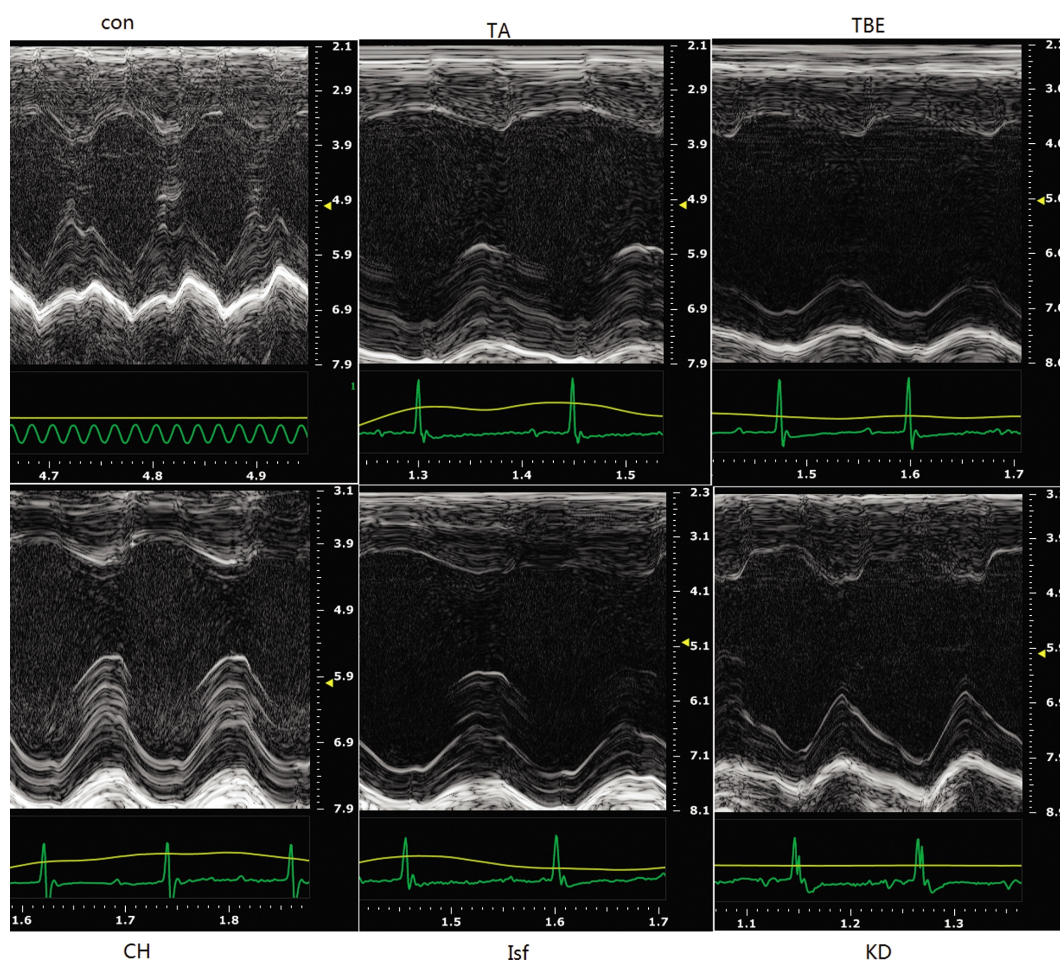


图1 清醒状态及麻醉状态小鼠的心脏短轴 M 超图像

Fig.1 M-Mode echocardiography images of conscious and anesthetic mice

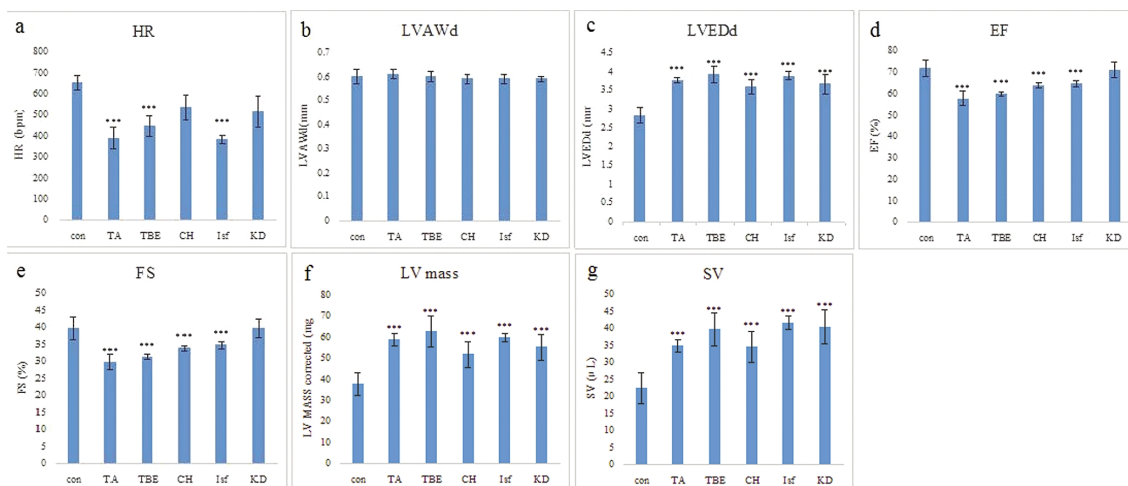


图2 各组麻醉小鼠与清醒小鼠的超声心功能参数比较

Fig.2 Comparisons of echocardiography measurements between conscious and anesthetic mice

Note: *** $P < 0.01$, compared with control group (con).

大。LVAWd 基本不受麻醉剂的影响,各组间无显著差异($P > 0.05$)(表 3)。

各麻醉组对不同参数的影响程度不同,但比较多项参数的组内变异系数,三溴乙醇、水合氯醛和异氟烷组其 EF 和 FS 的变异系数最低,其余参数的变异系数均是异氟烷组最低。综合

考虑各参数,则异氟烷麻醉的组内均一性最好,离散度最低(表 4)。清醒组内各参数的变异系数均较大。

2.4 麻醉对多种心脏超声参数的不同影响

麻醉对心超各项参数均有一定影响,综合五组数据比较各参数的变异系数可发现:LVAWd 的变异系数最小,其余参数的

变异系数均较大,HR、SV 和 LV MASS 受影响程度最大(表4)。

表 3 清醒状态及 5 组麻醉小鼠的心脏超声参数的比较($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of echocardiography measurements between conscious and anesthetic mice ($\bar{x} \pm s$)

Parameter	Con (n = 13)	TA (n = 5)	TBE (n = 5)	CH (n = 5)	Isf (n = 5)	KD (n = 5)
HR (bpm)	652± 36.11	388± 49.51*	447± 49.81*	536± 58.20	381± 21.67*	515± 71.87*
LVAWd (mm)	0.60± 0.03	0.61± 0.02	0.60± 0.02	0.59± 0.02	0.59± 0.02	0.59± 0.01
LVEDd (mm)	2.84± 0.21	3.76± 0.06*	3.91± 0.22*	3.59± 0.19*	3.88± 0.10*	3.66± 0.25*
EF (%)	71.90± 3.87	57.64± 3.40*	59.72± 1.11*	63.60± 1.12*	64.64± 1.47*	71.02± 3.57
FS (%)	39.72± 3.42	29.82± 2.29*	31.27± 0.69*	33.80± 0.83*	34.75± 1.13*	39.69± 2.76
LV MASS (mg)	37.70± 5.36	58.79± 2.78*	62.51± 7.50*	51.66± 6.26*	59.75± 2.12*	54.98± 6.16*
SV (μL)	22.42± 4.40	34.87± 1.92*	39.82± 4.85*	34.66± 4.62*	41.61± 1.92*	40.36± 5.06*

Note: *P < 0.01, compared with control group (con).

表 4 麻醉组和清醒组小鼠各心超参数的变异系数
Table 4 Coefficient of variation of conscious and anesthetic mice

Parameter	CV (%)					
	Con(n = 13)	TA(n = 5)	TBE (n = 5)	CH (n = 5)	Isf (n = 5)	KD (n = 5)
HR (bpm)	5.6*	12.8	11.2	10.9	5.7	14.0
LVAWd (mm)	5.3	3.8	3.5	2.7	1.6*	2.5
LVEDd (mm)	7.4	1.6	5.5	5.3	2.5*	7.0
EF (%)	5.4	5.9	1.9	1.8*	2.2	5.0
FS (%)	8.6	7.7	2.2*	2.5	3.2	7.0
LV MASS (mg)	14.2	4.8	12.0	12.1	3.6*	11.2
SV (μL)	19.6	5.5	12.2	13.3	4.6*	12.5
CV in group	28.34	18.05	21.62	22.07	9.55 ^b	24.62

Note: * represents the group which has the smallest CV of the corresponding parameter; a represents parameter which has the smallest CV between groups; b represents group which has the smallest CV within-group.

3 讨论

小动物高频超声是一种安全无创的研究小鼠心血管功能的技术,具有操作便捷,帧频高,分辨率高,重复性好,可做长期多次观察等优点^[1-4]。为了规范及最优化小动物超声的结果,提高可信度,已有许多研究超声检查中各项影响因素的文章。其中是否使用麻醉剂及麻醉剂的影响,各研究差异较大^[5-15]。本文选择了 5 种麻醉剂研究,均为国内小动物心脏超声中常用的麻醉剂。

本实验中选用的 5 种麻醉剂效果良好,均能使小鼠达到良好的镇静麻醉状态。虽然各麻醉剂组之间的 HR 差异较大,但除氯胺酮 / 地西洋组外,其余四组的组内均一性均很好;在整个超声检查期间,各麻醉组小鼠的 HR 均能保持平稳,10 分钟内 6 次取样得到的各项心脏指标的一致性良好。在五组麻醉剂中,异氟烷的使用最为便捷,其麻醉诱导时间短,仅需 10-15 sec 即可进入镇静状态;脱离麻醉面罩后,0.5-1 min 内即能完全清醒,安全性高。同时,戊巴比妥钠等四种腹腔注射麻醉剂,在体内都会进入循环系统,麻醉剂的代谢会不可避免的引起肝药酶系统的变化。异氟烷则是由肺脏呼吸系统代谢,很少进入体内循环,因此对小鼠的生理指标影响较小^[16]。

目前常用所有的各种麻醉剂对小鼠心脏功能都有一定影响,基本均为抑制心功能影响,不同麻醉剂的抑制程度不同。此前数项研究中,研究者同样选用清醒小鼠作为对照,同样得出麻醉剂抑制心功能的结果^[6,13],但也有研究认为清醒状态下直接抓持小鼠,对小鼠刺激较大,引起交感神经兴奋,导致小鼠心率过快,得到的同样并不是小鼠的真实静息心功能^[17,18]。本次研究中也发现,部分小鼠在清醒状态下心率和心功能变化较大,稳定性较差。同时清醒状态超声探测也受操作人的影响,实验中有数次因小鼠挣扎较大,导致抓持的人用力压迫小鼠,小鼠出现心动过缓现象,需要放开待其恢复平静后重新抓捕并测量。与此前发表的结果不同的是,本次实验中氯胺酮 / 地西洋组小鼠虽然经过麻醉,其心脏收缩功能与清醒组相比并无显著降低。考虑此前 Roth DM 和 Jian W 的结果,麻醉状态下高心率的小鼠其心功能受抑制程度较低^[6,8],而氯胺酮 / 地西洋组小鼠的心率较高,与清醒组接近,可一定程度上解释以上结果;但同为 HR > 500 的水合氯醛组,其心功能则显著低于清醒组,说明除了通过影响心率而导致心功能降低外,同心率情况下,不同麻醉剂本身也会对心功能产生不同影响。5 组麻醉小鼠之间比较,除戊巴比妥钠组与三溴乙醇组之间差异不大之外,其余各

组的多项参数之间都有显著差异。

本次实验中同样发现心脏超声的不同参数受麻醉的影响程度不同。将清醒组与麻醉组综合,比较各组参数的变异系数,可以发现左心室的室壁厚度基本不受麻醉影响,清醒组和5组麻醉组小鼠测得的LVAWd无统计学差异。而LVEDd、LVMASS和SV受麻醉影响最大,相比清醒组小鼠,5组麻醉小鼠的上述指标均有显著升高,麻醉抑制了心肌收缩力,扩张左心室。直接反应心室收缩功能的EF与FS同样受麻醉影响较大。我们选择的5种麻醉剂,其使用剂量为参考文献及总结实验经验之后确定的^[9-15]。实际操作中,各麻醉剂都有一定的有效剂量范围,为了达到不同的麻醉深度和实验要求也可能选择不同的使用剂量。我们在日常实验中也观察到,即使对于同一种麻醉剂,不同的操作者及不同的使用剂量也可能得到有差异的结果。因此此次实验仅为选定剂量情况下的研究,后续还应该针对同种麻醉剂的梯度剂量产生的影响做深入研究,以便确定不同麻醉剂的影响,并选出最优的使用剂量。

由于清醒状态的超声检查有不易固定,结果稳定性较差,必须要熟练操作者及潜在的应激心动过缓或过速等缺点,实际实验中,仍建议选择麻醉状态下进行超声检查。在已发表的研究中有多项认为异氟烷更适于用于心脏超声研究中^[19,21],而在我们研究的5种麻醉剂中也发现:异氟烷使用便捷,不易诱导耐药性,同时参数稳定性最好,因此更适于用在同批样本的长期心脏超声研究中。由于不同麻醉剂对心功能影响程度不同,对多种心超参数的影响程度也不同,因此实际操作时应根据实验需要谨慎选择麻醉剂,并在同一实验中保持前后麻醉剂选择一致,麻醉剂量及条件一致,最大程度避免因麻醉剂而产生的实验误差。

参考文献(References)

- [1] Ram R, Mickelsen DM, Theodoropoulos C, et al. New approaches in small animal echocardiography: imaging the sounds of silence[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(5): H1765-1780
- [2] Stypmann J, Engelen MA, Troatz C, et al. Echocardiographic assessment of global left ventricular function in mice [J]. *Lab Anim*, 2009, 43(2): 127-137
- [3] Gao S, David Ho, Dorothy EV, et al. Echocardiography in Mice[J]. *Curr Protoc Mouse Biol*, 2011, 1(1): 71-83
- [4] Yuan L, Wang T, Liu F, et al. An evaluation of transmitral and pulmonary venous Doppler indices for assessing murine left ventricular diastolic function[J]. *J Am Soc Echocardiogr*, 2010, 23(8): 887-897
- [5] Jeffrey N, Geminni R, Brown M. Echocardiographic Evaluation of Ventricular Function in Mice[J]. *Echocardiography*, 2007, 24(1): 83-89
- [6] Roth DM, Swaney JS, Dalton ND, et al. Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 282(6): H2134-2140
- [7] Redfors B, Shao Y, Omerovic E. Influence of anesthetic agent, depth of anesthesia and body temperature on cardiovascular functional parameters in the rat[J]. *Lab Anim*, 2014, 48(1): 6-14
- [8] Wu J, Bu LP, Gong H, et al. Effects of heart rate and anesthetic timing on high-resolution echocardiographic assessment under Isoflurane anesthesia in mice[J]. *J Ultrasound Med*, 2010, 29(12): 1771-1778
- [9] Kawahara Y, Tanonaka K, Daicho T, et al. Preferable anesthetic conditions for echocardiographic determination of murine cardiac function[J]. *J Pharmacol Sci*, 2005, 99(1): 95-104
- [10] Buitrago S, Martin TE, Tetens-Woodring J, et al. Safety and efficacy of various combinations of injectable anesthetics in BALB/c mice[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2008, 47(1): 11-17
- [11] Sabatini CF, O'Sullivan ML, Valcour JE, et al. Effects of injectable anesthetic combinations on left ventricular function and cardiac morphology in Sprague-Dawley rats [J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2013, 52(1): 34-43
- [12] Wellington D, Mikaelian I, Singer L. Comparison of ketamine-xylazine and ketamine-dexmedetomidine anesthesia and intraperitoneal tolerance in rats[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2013, 52(4): 481-487
- [13] Kawai S, Takagi Y, Kaneko S, et al. Effect of three types of mixed anesthetic agents alternate to ketamine in mice [J]. *Exp Anim*, 2011, 60(5): 481-487
- [14] 黄伟哲, 肖大伟, 张保亭, 等. 比较麻醉和清醒状态对高频超声心动图评价小鼠心功能影响的研究 [J]. *中华超声影像学杂志*, 2006, 15(2): 128-131
- [15] 詹红微, 邱泽文, 李慧玲, 等. 三种麻醉药物对小鼠麻醉效果的比较[J]. *实验动物科学*, 2012, 29(4): 19-23
- [16] 邓小明, 朱科明. 常用实验动物麻醉 [M]. 第二军医大学出版社, 2001
- [17] Tan TP, Gao XM, Krawczynszyn M, et al. Assessment of cardiac function by echocardiography in conscious and anesthetized mice: importance of the autonomic nervous system and disease state [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2003, 42(2): 182-190
- [18] Lujan HL, Janbair H, Feng HZ, et al. Ventricular function during exercise in mice and rats [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2012, 302(1): R68-74
- [19] Constantinides C, Mean R, Janssen BJ. Effects of isoflurane anesthesia on the cardiovascular function of the C57BL/6 mouse[J]. *ILAR J*, 2011, 52: e21-31
- [20] Oh SS, Hayes JM, Sims-Robinson C, et al. The effects of anesthesia on measures of nerve conduction velocity in male C57Bl6/J mice[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 483(2): 127-131
- [21] Morgan EE, Casabianca AB, Khouri SJ, et al. In vivo assessment of arterial stiffness in the isoflurane anesthetized spontaneously hypertensive rat[J]. *Cardiovasc Ultrasound*, 2014, 12(1): 37