

冠脉结扎和介入两种方法制备 犬心肌梗死模型比较

刘素蕊, 赵春生, 王更银, 李振奇, 李俊峡

(解放军白求恩国际和平医院, 石家庄 050082)

【摘要】 目的 观察开胸结扎冠状动脉与闭胸明胶海绵栓塞法制备急性心肌梗死(AMI)动物模型的特点。方法 分别经开胸结扎犬冠状动脉左前降支主干及闭胸冠脉栓塞的方法阻断冠脉血流;采用单级肢体导联和胸导联方式,在阻断前后监测心电图波形变化;造模72 h后取心肌组织行病理切片染色。结果 经心电图和病理验证,两种方法均可成功制备犬心肌梗模型,开胸冠脉结扎犬死亡率较高,而冠脉栓塞成活率高。结论 相较开胸冠脉结扎法,闭胸栓塞法制备心肌梗模型对动物损伤小,成活率高,具推广价值。

【关键词】 急性心肌梗死;模型;冠脉结扎;犬

【中图分类号】R33 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1671-7856(2011)12-0038-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2011.12.010

Comparison of Two Canine Models of Acute Myocardial Infarction Established by Coronary Artery Ligation and Coronary Embolism

LIU Su-rui, WANG Geng-yin, ZHAO Chun-sheng, LI Zhen-qi, LI Jun-xia

(Department of Cardiology, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, China)

【Abstract】 Objective To observe the characteristics of coronary artery ligation and coronary embolism for preparation of acute myocardial infarction (AMI) models in canine. **Methods** The left main anterior descending coronary artery was obstructed by either open thoracotomy ligation or closed-chest coronary embolism. The electrocardiogram changes were recorded before and after blocking coronary blood flow. At 72 hours after the acute myocardium infarction model preparation, the dogs were sacrificed and specimens of the myocardium were taken for histopathological examination. **Results** Both electrocardiogram and histopathology confirmed that both methods could establish AMI models successfully. Compared with open-chest coronary artery ligation, the closed-chest coronary embolism had a higher survival rate. **Conclusion** Closed-chest coronary artery embolism deserves recommendation due to the advantages such as safety and convenience in the preparation of dog models of acute myocardial infarction.

【Key words】 Acute myocardial infarction; coronary artery ligation; Model; canine

心肌梗死是心血管病死亡的重要原因之一,严重危害着人类健康,其在发展中国家的发病率和死亡率居高不下^[1]。心肌梗死特征是心肌细胞坏死并被纤维组织所取代从而影响整个心脏功能和患

者预后^[2]。伴随对心肌梗死研究的不断深入,如何建立更贴近临床的动物模型成为关键之一。心肌梗死模型作为疾病研究的重要手段,其应用不但可以研究心肌梗死的发病机制,而且能够为心肌梗死

[作者简介]刘素蕊(1982-),女,硕士,研究方向:间充质干细胞移植心肌梗动物模型;赵春生(1983-),男,研究方向:冠心病的发病机制。并列为第一位者。

[通讯作者]李俊峡, E-mail: Ljx182@yahoo.com.cn。

的预防和新治疗方案的建立提供理论及实验依据。本实验比较了两种不同的构建犬心梗模型的方法, 以期为更好地制备模型提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

杂种犬 16 只, 开胸冠脉结扎与闭胸冠脉栓塞各 8 只, 雌雄不拘, 体重(15~20) kg; 小型动物呼吸机(成都泰盟科技有限公司); PTCA 所需材料包括各种穿刺针、动脉鞘、导丝(短导丝及长导丝)、导管(造影导管、Guiding 造影导管、PTCA 球囊导管均为 Cordis 公司产品); 数字剪影血管造影机(荷兰飞利浦)。

1.2 实验方法

1.2.1 麻醉犬: 术前 12 h 禁食, 6 h 禁水, 经肌内注射速眠新(846 合剂, 0.15~0.20 mL/kg 体重) 进行麻醉, 胸部及双侧腹股沟部备皮, 建立静脉通道, 进行心电监测。术中根据肢体运动情况每隔 1 h 左右重复肌内注射速眠新 1.5 mL, 使犬保持麻醉状态, 并观察犬的呼吸、血压、心律及心率情况。

1.2.2 开胸冠脉结扎方法制备犬心梗模型: 将犬固定于实验手术台上, 右侧卧位, 气管插管, 接呼吸机辅助呼吸, 静脉预防性使用抗生素。常规消毒铺巾, 左前胸心脏搏动最明显之肋间(约 4~5 肋间) 作横切口, 约 5~7 cm, 逐层分离, 暴露心脏, 表面最粗大的横向走行的血管即为左前降支(LAD)。先结扎供应预缺血区大的侧支血管, 左前降支第一对角支下距左主干 1.5 cm 处结扎前降支主干, 观察 3~5 min。术中有心律失常者用利多卡因 5~10 mg/kg 静注, 关闭胸腔, 逐层缝合肌肉, 用青霉素粉剂敷于肌肉和皮肤内层防止感染, 并插引流管进行肺部排气。关胸后用 50 mL 注射器抽尽胸腔内积气, 避免术后气胸。待犬自主呼吸恢复去掉呼吸机, 拔出引流管, 保温至完全苏醒。

1.2.3 闭胸冠脉栓塞制备犬心梗模型: 常规手术消毒铺巾, 经皮穿刺右股动脉, 穿刺成功后, 置入 5F 血管鞘。此时经股动脉注入肝素钠 2500 U, 此后每隔 1 h 追加肝素钠 1250 U。插入 Cobra 造影导管, 在透视监视下置入冠状窦, 插入左冠状动脉主干行冠状动脉造影, 造影成功后将导丝送入前降支远端, 沿钢丝送入微导管, 撤除钢丝保留微导管于前降支中段, 经微导管注入细颗粒状明胶海绵(注入

前无菌状态下用手术刀将其切割成直径 1 mm 左右的细颗粒状), 行冠状动脉造影显示左前降支远端血流中断, 拔除造影导管。拔除血管鞘, 动物清醒后送回动物饲养中心。

1.2.4 犬心梗模型鉴定: (1) 心电图检查: 造模前及 30 min 后采用单级肢体导联和胸导联方式, 观察心电图波形变化; (2) 病理分析: 两组动物均于术后 72 h, 静脉注射 10% KCl 20 mL 将犬处死, 迅速取出心脏, 用生理盐水将残余血液冲洗干净, 置入 10% 福尔马林固定液中, 固定后行组织修整、洗涤、酒精逐级脱水, 二甲苯置换出组织中的酒精。石蜡包埋, 切片机切成 4 μ m 的薄片, HE 染色封片, 光镜观察。

2 结果

2.1 开胸冠脉结扎法

5 min 后可观察到结扎部位变苍白。本组 4 只犬死亡(死因分别为气胸和麻醉过深), 4 只存活; 闭胸冠脉栓塞法, 1 只死亡, 7 只存活。开胸对实验动物的创伤较大, 故死亡率较高。

2.2 犬心梗模型的鉴定

开胸冠脉结扎过程中, 结扎左前降支 3~5 min 后可见结扎部位以下及心尖部心肌颜色变暗, 搏动减弱(图 1); 闭胸冠脉栓塞注入明胶海绵后造影显示左前降支远端血流中断(图 2)。(1) 较造模前正常心电图波形, 两种方法造模后的心电图均显示 ST-T 改变和/或室性心律失常出现, 符合心肌梗心电图特点(图 3); (2) 造模后 72 h KCl 处死实验犬, 造模前正常心肌样本为砖红色, 梗死心肌颜色暗淡, 呈白色或灰色; 梗死部位主要位于左心室前壁。光镜下梗死心肌细胞变性深染, 核固缩、消失, 肌纤维肿胀, 间质血浆渗出、出血, 并可见大量白细胞浸



图 1 开胸冠脉结扎左前降支。

Fig. 1 The left anterior descending coronary artery was obstructed by open thoracotomy ligation

润(图 4 B、C 图 4 见封三)。心电图和病理结果提示两种方法均可成功制作心梗模型。

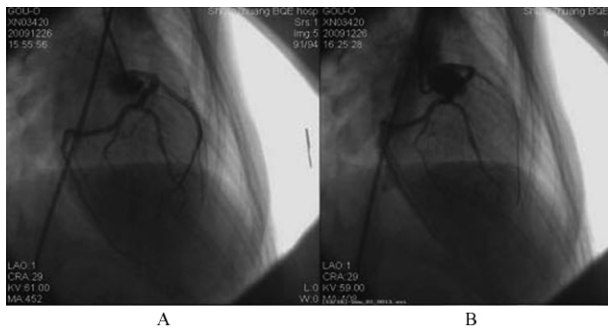


图 2 造影显示闭胸冠脉栓塞过程。

A, 冠脉造影栓塞前; B, 栓塞组显影。

Fig. 2 Coronary angiography showing the close chest embolism. A. Before embolism; B. After embolism

3 讨论

心肌梗死模型的制备原理是采用各种手段使目的冠状动脉闭塞,从而造成该冠脉供血区的心肌细胞发生缺血坏死。心肌缺血使心肌细胞数目减少,心肌收缩力下降^[3],从而为心肌梗死的研究提供条件。考虑到犬个体较大,观察与操作方便,且犬在心脏解剖、生理特性方面与人类也较为接近,相关研究较少,所以选择犬作为实验模型。

当前,冠脉结扎法和介入法是两种最常用的制备心梗模型的方法。有研究报道,结扎左冠脉前降支及冠脉介入均能够成功建立心梗模型^[4,5]。本实验我们以犬为模型对这两种造模方法进行比较,发

现这两种方法均能成功制备犬的急性心肌梗死模型,且可被心电图和病理检测所证实,同已有实验结论一致。其中开胸结扎法手术操作难度高,创伤大,易造成气胸,且必须有呼吸机辅助呼吸,术后恢复较慢,难以饲养且死亡率高。该组的 8 只动物中,死亡 4 例,死亡率高达 50%,我们总结手术过程中的经验和教训如下:(1)良好的麻醉至关重要。戊巴比妥钠是文献中最常报道的全麻药物,但其对呼吸的抑制较重,如不能良好掌握输注速度及剂量,易致动物麻醉过量而死亡。我们所选用的麻醉药物速眠新(846 合剂),对呼吸的抑制程度较轻,以(0.15~0.20) mL/kg 肌内注射,可以达到理想的麻醉效果;(2)气胸是导致犬死亡的重要原因。因犬的纵膈胸膜极薄,在打开心包膜时易被撕破而形成右侧气胸。此外,因犬无法使用胸腔闭式引流,所以术后关胸时要尽量抽尽胸腔内气体,术后发现气胸要及时抽气;(3)呼吸机必不可少。在以开胸结扎法制备心梗模型的过程中,呼吸机的应用可大大提高动物的存活率,简易人工呼吸气囊不容易掌握潮气量的大小和频率,死亡率很高;(4)室颤的预防及处理。室颤的发生率与冠脉结扎的位置和心梗的面积密切相关^[6],因此,掌握好结扎部位是预防室颤及造模成功的关键。结扎前的缺血预适应对预防室颤的发生也很重要,一般采用先结扎较大的侧支血管,再结扎前降支主干的方法,即可以达到很好的室颤预防效果。此外,预防性应用利多卡因,可以提高室颤的阈值,从而减少室颤的发生。一旦出现室颤,应立即给予除颤器电击除颤,犬的

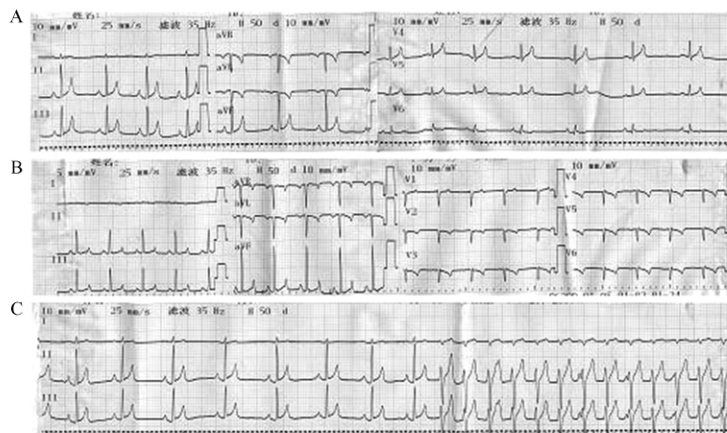


图 3 两种方法造模前后的心电图波形变化。A, 正常犬的心电图波形;

B, 开胸冠脉结扎组心电图; C, 闭胸冠脉栓塞组心电图。

Fig. 3 Electrocardiograms of the dogs before and after the model establishment. A. Electrocardiogram before the model establishment; B. Coronary ligation group; C. Close chest embolism group

侧支循环比较丰富,一般均可复律。相比之下,介入法制备过程比较顺利,除一例因微导管进的位置太深导致室颤死亡外,其余几例均成功存活,在制备过程中应注意:(1)导管不宜在冠状动脉内停留时间太久,微导管位置不宜进的太深,否则均易诱发室颤,增加死亡率;(2)栓塞前降支位置不宜过高,以第2对角支远端最为合适^[7],高位阻断后,梗死面积过大,术后易并发急性左心衰而致动物死亡,死亡率可高达85%^[8]。

本实验所采用的两种造模方法均可成功制备犬的急性心肌梗死模型,并为心电图、病理组织切片的方法所证实。其中,开胸结扎法效果确实可靠,但操作难度高,创伤大,动物不容易存活;而介入法简便易行,创伤小,死亡率低,结果同已有报道一致,是一种有效的犬急性心肌梗死造模方法。

参考文献:

- [1] American Heart Association. Statistical Fact Sheet—Populations: 2009 Update. Available at: <http://www.americanheart.org/downloadable/heart/1236204012112INTL.pdf>.
- [2] Rota M, Padin-Iruegas E, Misao Y, et al. Local activation or implantation of cardiac progenitor cells rescues scarred infarcted

myocardium improving cardiac function [J]. *Circ Res*, 2008, 103: 107-116.

- [3] Sabbah HN, Sharov VG, Goldstein S. Cell death, tissue hypoxia and the progression of heart failure [J]. *Heart Fail Rev*, 2000, 5: 131-138.
- [4] 孙帅,郭涛. 冠状动脉堵塞法与栓塞法制备小型猪心肌梗死模型的对比 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13: 9913-9916.
- [5] 谢忠忱,尹明,荀鹏,等. 开胸与微创方法制备小型猪急性心肌梗死模型的对比研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2006, 16: 46-49.
- [6] Zhang WZ, Zha DG, Cheng GX, et al. Assessment of regional myocardial blood flow with myocardial contrast echocardiography: an experimental study [J]. *Echocardiography*, 2004, 21: 409-416.
- [7] 李可,刘卫金,邹利光,等. 闭胸式冠状动脉插管法建立犬急性心肌缺血模型 [J]. *第三军医大学学报*, 2007, 29: 1630-1631.
- [8] Murasato Y, Nagamoto Y, Urabe T, et al. Effects of lidocaine and diltiazem on recovery of electrophysiologic activity during partial reperfusion following severe myocardial ischemia in canine hearts [J]. *Electrocardiology*, 1997, 30: 113-125.

(修回日期)2011-07-11

(上接第33页)

由实验结果可以看到,相比间断吻合,连续吻合用时更短,出血更少,操作更简便。间断吻合一般打结剪线8~10次,而连续吻合2次;间断吻合开放后多需加针,找出血点加针不仅出血较多而且费时困难。但连续吻合比间断吻合对术者要求更高,吻合口容易被缝线缩窄。一般需先掌握间断吻合法再尝试连续吻合。连续吻合更易造成吻合口的狭窄,特别是初期对缝线松紧程度的把握不确切。以术者经验,一旦熟练后基本上较少发生吻合缩窄。开放后静脉桥充盈好、搏动好,但并不能排除吻合口狭窄。早期练习时可术后一周时观察一下桥血管,了解血管情况。

结果显示,两种方法4周后静脉血管的再狭窄程度类似,说明两法的造模效果类似。因此,采用任何一种方法对实验结果没有影响。吻合方法的选择,取决于实验的需要和术者的习惯。

参考文献:

- [1] 连锋,朱洪生,郑家豪,等. 冠状动脉旁路术后静脉桥狭窄

模型的建立 [J]. *上海实验动物科学*, 2002, 22: 89-91.

- [2] Favaloro RG. Saphenous vein graft in the surgical treatment of coronary artery disease. Operative technique. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1969, 58(2): 178-185.
- [3] Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ, et al. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1996, 28(3): 616-626.
- [4] 刘苏健,邓勇志,马捷. 大鼠血管移植模型的建立及改进 [J]. *山西医科大学学报*, 2007, 38(10): 955-957.
- [5] 刘立志,葛建军,林敏,等. 改良"cuff"法建立大鼠自体静脉移植动脉化模型 [J]. *安徽医药*, 2010, 14(5): 560-562.
- [6] 罗俊辉,邹良建. 静脉桥血管外支架的研究 [J]. *国际心血管病杂志*, 2006, 33(4): 223-225.
- [7] Kloppenburg GT, de Graaf R, Grauls GE, et al. Chlamydia pneumoniae aggravates vein graft intimal hyperplasia in a rat model. *BMC Microbiol*. 2007, 6(7): 111.

(修回日期)2011-08-18