

冠状动脉堵闭法建立猪心肌梗死模型

卢新政¹, 王连生¹, 黄峻¹, 张晓文², 徐顺霖¹, 朱品军¹, 杨志健¹, 马根山¹, 曹克将¹

(南京医科大学 1. 附属第一医院心内科, 2. 药理学教研室, 江苏省南京市 210029)

[关键词] 医学实验动物学; 急性心肌梗死动物模型的建立; 冠状动脉堵闭法; 心肌梗死; 经皮腔内冠状动脉成形术; 球囊; 猪

[摘要] 探讨运用经皮腔内冠状动脉成形术球囊堵闭猪冠状动脉建立急性心肌梗死动物模型的实验方法。选用苏中幼猪 11 只, 麻醉后经股动脉或颈总动脉置入经皮腔内冠状动脉成形术球囊至冠状动脉左前降支远端, 堵闭血流 120 min。观察心电图、心肌酶、心脏二维超声检查及冠状动脉和左心室造影。结果发现, 存活 7 只猪均完成冠状动脉左前降支远端的封堵, 心电图显示急性心肌梗死典型图形变化, 血浆肌钙蛋白明显升高并呈动态演变; 术后 1 h 超声检查出现间隔上部及前壁局部运动异常; 术后 2 至 4 周造影复查显示左心室前壁、心尖部心室壁异常运动; 存活 7 只猪均成功地建立急性心肌梗死模型。另 4 只猪分别在堵闭 60~100 min 因心室纤颤死亡。结果提示, 运用经皮腔内冠状动脉成形术球囊封堵冠状动脉可成功建立猪急性心肌梗死模型, 并保持封堵冠状动脉通畅; 与开胸法相比更接近人体状态, 具有创伤小、动物生存时间长并易于术后饲养等优点。

[中图分类号] R-332

[文献标识码] A

Establishment of Swine Model of Acute Myocardial Infarction by Coronary Occlusion

LU Xin Zheng¹, WANG Lian Sheng¹, HUANG Jun¹, ZHANG Xiao Wen², XU Shun Lin¹, Zhu Pin Jun¹, YANG Zhi Jian¹, MA Gen Shan¹, and Cao Ke Jiang¹

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Pharmacology, First affiliated Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing, 210029, China)

[KEY WORDS] Myocardial Infarction; Percutaneous Translaminar Coronary Angioplasty; Balloon; Swine; Electrocadiography; Ultrasoundography

[ABSTRACT] **Aim** To explore and develop a swine model of acute myocardial infarction (AMI) by coronary occlusion with angioplasty balloon. **Methods** After anesthesia, 20 mm or 25 mm angioplasty balloon was positioned in the mid-distal left anterior descending (LAD). The balloon was inflated and occluded the LAD for 120 min. Electrocadiography and blood pressure were monitored. Ultrasoundography, cTn iv and coronary angiography were also investigated to confirm AMI. **Results** Seven out of eleven pigs underwent successful induction of AMI. Four pigs died of ventricular fibrillation. AMI were confirmed by dynamic changes of electrocadiography, cTn iv and further pathology. Regional wall motion abnormalities were found by two dimensional echocardiography one hour after AMI and two weeks late in all pigs. **Conclusions** A closed chest swine model of AMI is feasible and relatively effective. Some technique problems should be noted.

猪的循环与人类相似, 堵闭冠状动脉分支后形成的心肌梗死模型与人心肌梗死病变有很大相似性, 对临床研究心肌梗死的病理生理、治疗方法有重要意义。随着介入技术的普及开展, 运用经皮腔内冠状动脉成形术(percutaneous translaminar coronary angioplasty, PTCA)球囊堵闭冠状动脉造成心肌梗死已成为可能。本研究采用 PTCA 球囊堵闭冠状动脉左前降支(left anterior descending, LAD)建立猪急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物

苏中幼猪, 体重 35~55 kg, 雌雄不拘, 购自江苏省农科院实验动物场。

1.2 实验材料

各种导丝(长、短导丝及球囊导丝)、动脉鞘、各种导管(冠状动脉造影导管、猪尾导管及 7F 鞘管)及压力泵等均为 Medtronic 公司产品。

1.3 麻醉过程

禁食 8 h 后, 肌肉注射氯胺酮 200~300 mg。在猪耳后肌肉注射异丙嗪 25~30 mg、氯胺酮(10 mg/kg)、阿托品(25 μg/kg)和安定 5~10 mg。约 3~5 min 后猪站立不稳而卧倒。将猪仰卧固定于操作台, 迅速用套管针在猪耳静脉建立静脉通路, 静脉注射戊巴比妥(60 mg/kg)麻醉后施行手术。术中根据

[收稿日期] 2003-09-20 [修回日期] 2004-02-20

[基金项目] 国家自然科学基金(30370575)和江苏省自然科学基金(BK2001161)资助

[作者简介] 卢新政, 医学博士, 现在南京大学生命科学院做博士后工作, 主要从事心血管疾病的诊断及治疗, E-mail 为 xzlu@njmu.edu.cn。王连生, 医学博士, 主要从事冠心病的诊断及治疗。黄峻, 教授, 博士研究生导师, 本文通讯作者, E-mail 为 huangj@njmu.edu.cn。

肢体运动情况每 20~30 min 重复静脉注射氯胺酮 100 mg, 保持麻醉状态, 并注意其生命体征情况。

1.4 球囊堵闭冠状动脉过程^[1]

常规消毒铺巾, 分离右侧股动脉或颈总动脉, 结扎远心端。经右侧股动脉($n=9$)和颈总动脉($n=2$)置入 7F 动脉鞘管。弹丸式静脉注入肝素 5 ku, 以后每隔 1 h 追加注射肝素 1 ku。经动脉鞘置入 5F 猪尾导管至左心室, 行左心室造影。从颈动脉途径以 5F 35 L 右冠状动脉造影导管、或从股动脉径路以 5F 30 L 左冠状动脉造影导管分别行左、右冠状动脉造影, 观察猪冠状动脉的分布情况。继将 7F 35 L 右冠大腔指引导管(颈动脉途径)或 7F 30 L 的左冠大腔指引导管(股动脉径路)置于左冠状动脉开口, 造影后置入 PTCA 球囊导丝, 在导丝指引下置入 20 mm 或 25 mm 球囊至冠状动脉 LAD 第一对角支远端, 预适应 3~4 次, 每次球囊充盈 20 s, 间隔 3~5 min。以 3~4 atm 打开球囊堵闭 LAD, 造影示球囊远端血流中断。120 min 后撤除球囊及鞘管。术中予连续心电图监护以及动脉内压力监测。术后每天肌肉注射青霉素 800 ku, 持续三天。术前、术中及术后取血清标本作肌钙蛋白 iv(cTn iv)检测。

1.5 术后护理

术后将猪移至特制笼内 2 天左右, 保持干净, 限制活动。第 2 天开始进食, 维持静脉输液 1~3 天, 肌注青霉素 2 400 ku, 2 次/天。

1.6 急性心肌梗死形成情况的评估

术前及术后 1 h、2 周及 4 周行心脏二维超声检查, 观察心脏结构、室壁运动及功能变化。

1.7 猪心肌梗死面积的测定

术后 4 周收集心脏标本。静脉注射 10% 氯化钾 20 mL 将猪处死, 取出心脏, 以 N-BT 染色。生理盐水冲洗, 沥干水后称重, 再将缺血区心肌剪下称重。用缺血区重量 $\div$ 全心重量 $\times 100\%$ 作为心肌梗死范围指标^[2]。从心肌梗死区、边缘区和非梗死区切取标本, 用甲醛固定或用液氮速冻后 -70°C 保存。

1.8 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以自身对照 t 检验。

2 结果

2.1 球囊堵闭情况

11 只猪均成功完成左心室及冠状动脉造影, PTCA 球囊成功导入 LAD 第一对角支远端(图 1, Figure 1)。7 只猪堵闭 100~120 min, 另 4 只分别在堵闭 60~100 min 后因诱发心室纤颤死亡。

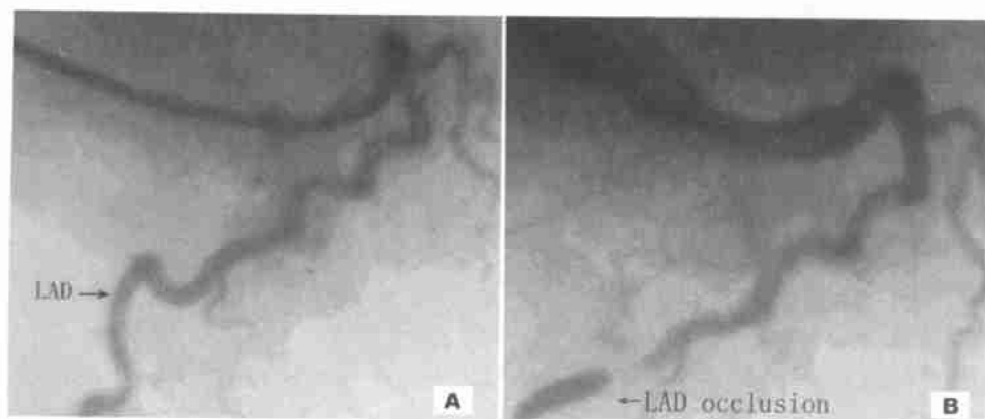


图 1. 猪冠状动脉左前降支堵闭造影结果 A 为堵闭前; B 为堵闭后。

Figure 1. Image of left anterior descending coronary artery occluded by angioplasty balloon

2.2 心电图演变及肌钙蛋白 iv 改变

LAD 堵闭 3~5 min, 在 iv、aVL、V1~V5 导联出现 ST 段抬高。随堵闭时间的延长 ST 段逐渐升高, 1 h 左右到达最高点($4.2 \pm 0.8 \text{ mV}$)。堵闭 1.5~2 h 后这些导联上出现坏死性 Q 波, 并在其后 4 周中持续存在。ST 段约在 2 周后降至基线。LAD 堵闭 90 min 后 cTn iv 开始升高, 平均 12 h 达到峰值, 72 h 后基本恢复至术前水平。

2.3 超声心动图检查

术前心脏二维超声检查均正常。术后 1 h, 局部室壁运动减弱发生在心室前间隔(3.5)、心尖(2.5)、左心室前壁和心尖(3.5)。术后 2 周可见左心室心肌节段性减弱, 运动异常。术后 4 周发现 3 例有室壁瘤形成, 分布于左心室前壁、心尖和前间隔部。

2.4 病理改变

7 只猪梗死部位基本一致, 分别位于心尖、左心室前壁和前间隔部, 梗死区颜色变白。经 B-ET 染色后正常心肌变蓝、梗死区浅染, 境界分明。缺血区心

肌重量占全心重量 25.68% $\pm$ 4.67%。

3 讨论

以往实验主要通过开胸结扎不同部位冠状动脉建立心肌梗死模型^[3-5],此法沿用多年,动物创伤大、死亡率高、术后难于饲养、恢复较慢,且实验的学习过程较长。随着冠心病介入治疗的开展和普及、冠状动脉造影及 PTCA 等技术日臻成熟,废弃导管、导丝和球囊等仍可用于动物实验,降低实验成本^[6,7]。运用介入方法堵闭冠状动脉建立大型动物心肌梗死模型可以保持梗死部位冠状动脉通畅,有利于进一步的研究^[8]。

本研究结果发现,猪冠状动脉包括左侧和右侧冠状动脉,左冠状动脉又分为前降支和回旋支;堵闭左前降支后,心电图 iv、aVL 及 V1~V5 导联 ST 段抬高,有病理性 Q 波形成。心电图和心肌 cTn iv 演变过程与人心肌梗死过程基本一致。7 只猪的梗死部位基本一致,分别位于心尖、左心室前壁和前间隔部,梗死区颜色变白、境界分明。

应当注意的是,由于健康猪冠状动脉侧枝少,心肌、心脏传导系统对缺血耐受性差,堵闭主要冠状动脉分支尤其是前降支后极易引起大范围心肌梗死和各种恶性心律失常,死亡率较高,最常见的死因为心室纤颤。采取下列措施可提高制作心肌梗死模型的成功率:(1)选用猪大小适当,一般 35~50 kg 较为合适。体重较轻时,股动脉分离、导管穿刺等操作困难,且难以寻找到合适球囊导管;体重过大时,搬动操作难度加大。(2)通常选用右侧股动脉径路,当股动脉途径困难时,可改用颈动脉途径,采用右冠状动脉大腔指引导管可很快将球囊置入 LAD。动脉结扎很少引起功能障碍,即使结扎了两侧股动脉猪仍能正常活动。结扎一侧颈动脉,猪仍能很快清醒,不影响成活时间。在本试验中,无 1 例因为球囊不能置入导致实验失败。(3)球囊堵闭前降支位置不易过高,以中远 1/3 处为适。由于猪的冠状动脉侧枝较少,前降支是冠状动脉三大主干中的一支,其支配范围广,支配区内有重要传导束通过,高位阻断冠状动脉前降支虽可造成大面积心肌梗死,但死亡率极高,有报道高达 85%。这与冠状动脉结扎法制作心肌梗死模型时有相似的报道^[3]。(4)在实施球囊持续性堵闭之前进行适当缺血预适应,可以减少室颤动发生,提高实验动物存活率。有人认为会影响心肌梗死模型制作效果,但为了提高实验成功率,适当缺血预适应是必要的。预适应时间可根据堵闭后室

性心律失常及心电图 ST 段抬高情况而定,若堵闭后的室性心律失常发作明显,伴 ST 段上抬升幅较快,即给予适当预适应。(5)常规使用肝素,猪的血液粘稠度大,血小板 $10^9/L$ 左右^[9]。当血流状态改变时,血液极易凝集形成血栓,从而扩大心肌梗死范围,滴注肝素会减少逆行性血栓发生率,增加制备模型成功的概率。(6)常规静脉滴注氯化钾、硫酸镁、利多卡因以预防室颤。阻断冠状动脉前静脉推注利多卡因会降低心肌细胞的应激性,减少恶性心律失常的发生率。(7)术中准备电击除颤设备,实验动物一旦出现室颤,及时电击除颤,电击能量视猪大小而定,首次除颤能量为 250~300 W·s(胸外)。(8)良好麻醉是完成实验的重要保障。用氯胺酮做诱导麻醉,再加安定和异丙嗪后,方法简便且容易掌握麻醉深度,一般 20 min 左右即可开始手术,麻醉效果满意。术中酌情使用阿托品可减少呼吸道分泌物,保持呼吸道通畅,多数情况下可不使用呼吸机。手术过程中的心电监护、呼吸监护及血气分析等有助于实验顺利完成。在操作中,成功与否与操作熟练程度及集体配合密切相关。

本实验表明,运用 PTCA 球囊堵闭冠状动脉可成功建立 AMI 动物模型,动物存活率相对高,生存时间长达数月。与开胸法相比具有接近人体生理状态、创伤小、可重复进行冠状动脉造影和电生理检查等优点,为进一步研究缺血再灌注、缺血心肌的保护、心肌梗死后心电和心室重构等提供较好的动物模型。

[参考文献]

- [1] 朱莉,曹克将,马根山,杨志健,王连生,陈明龙. 非开胸法建立室壁瘤动物模型的实验研究. 中国介入心脏病学杂志, 2002, 10 (2): 103-106
- [2] Reek S, Bicknell JL, Walcott GP, Bishop SP, Smith WM, Kay GN. Inducibility of sustained ventricular tachycardia in a closed chest ovine model of myocardial infarction. PACE, 1999, 22: 605-614
- [3] Murasato Y, Nagamoto Y, Urabe T, Kuraoka F, Nakashima Y, Kuroiwa A. Effects of lidocaine and diltiazem on recovery of electrophysiologic activity during partial reperfusion following severe myocardial ischemia canine hearts. J Electrocardiol, 1997, 30: 113-125
- [4] 李醒三,曾志羽,易忠,杨靖. 急性心肌梗死逆行冠状静脉灌注猪动物模型制作. 广西医科大学学报, 1999, 16 (6): 746-748
- [5] 肖践明,张敏,王中明. 猪心肌梗死模型的建立. 云南医药, 2001, 22 (2): 82-85
- [6] 李永秋,徐明,姚绍鑫,张志勇. 实验性家兔颈动脉球囊扩张动脉狭窄动物模型的建立. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11 (3): 263-266
- [7] 吴建秋. 腹主动脉瘤动物模型研究进展. 中国动脉硬化杂志, 2001, 9 (3): 264-267
- [8] Odenstedt J, Mansson C, Jansson SO, Grip L. Endocardial electromechanical mapping in a porcine acute infarct and reperfusion model evaluating the extent of myocardial ischemia. J Invasive Cardiol, 2003, 15: 497-501
- [9] Eldar M, Ohad D, Bor A, Vardar-Bloom N, Swanson DK, Battler A. A closed chest pig model of sustained ventricular tachycardia. Pacing Clin Electrophysiol, 1994, 17: 1 603-609

(此文编辑 文玉珊)