文章编号:1000-5404(2008)04-0329-04

论著

提高大鼠心肌梗死模型成功率及存活率的研究

向 平[1],宋银子[2],陈 沅[1],涂 柳[3],朱高慧[1] (重庆医科大学:[1]儿童医院心血管内科,重庆 400014,[3]基础医学院生理学教研室,重庆 400016;[2]香港中文大学儿科系,香港)

摘 要:目的 探讨结扎位置、冠状静脉变异等因素对大鼠心肌梗死(myocardial infarction, MI)模型建立的成功率以及利多卡因的使用对模型的死亡率的影响。**方法** 120 只雄性 SD 大鼠按随机排列表法分为 4 组:低位结扎且冠状静脉不明显组(30 只)、低位结扎且冠状静脉明显组(30 只)、高位结扎组(30 只)以及高位结扎且使用利多卡因组(30 只),计算建模后各组死亡率,测定各组心功能及梗死面积。**结果** 结扎位置较高时模型成功率为 93.0%,而结扎位置较低时的成功率为 67.3%;高位结扎不加利多卡因大鼠死亡率为 43.3%,加用利多卡因后大鼠死亡率则降为 13.3%。**结论** 高位结扎时能明显提高模型成功率,加用利多卡因后死亡率明显下降。

关键词:冠脉结扎;心肌梗死;利多卡因;成功率
中图法分类号:R-332;R542.22;R971.2 **文献标识码**:A

Methods on enhancing success rate and survival rate of rat model of myocardial infarction

XIANG Ping[1], SONG Yin-zi[2], CHEN Yuan[1], TU Liu[3], ZHU Gao-hui[1] ([1]Department of Cardiology, Children's Hospital, [3]Department of Physiology, Chongqing Medical University, Chongqing 400014; [2]Department of Pediatrics, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of different ligation position, vena coronaria variation and lidocaine on myocardial infarction size and mortality in rats. Methods Totally 120 male SD rats were divided into four groups with 30 rats in each group: low ligation with invisible vena coronaria, low ligation with visible vena coronaria, high ligation, and high ligation plus lidocaine. Results MI was successfully created in 93.0% rats of high ligation groups and in 67.3% rats of low ligation groups. The mortality was 43.3% in rats of high ligation groups, only 13.3% in rats when lidocaine in use. Conclusion High ligation increases the success rate of rat model of myocardial infarction and the application of lidocaine decreases the mortality of the rat model.

Key words: coronary artery ligation; myocardial infraction; lidocaine; success rate

大鼠心肌梗死(myocardial infarction, MI)模型运用于实验心脏病学的研究已有几十年的历史[1,2]。它与临床 MI 和充血性心力衰竭(congestive heart failure, CHF)的病理生理过程非常相似,同时具有良好的可重复性,因而在科研中运用广泛。但此模型仍有一些问题尚无定论,例如冠状动脉前降支结扎位置不同[3-5]、冠状静脉变异、利多卡因的使用等是否会对模型造成影响,从而影响整个试验的结果,值得深入探讨与分析。本研究拟对上述因素进行探讨,以求能尽量提高 MI 模型的成功率,降低其死亡率,从而获得更稳定一致的 MI 模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

正常雄性 SD 大鼠 120 只,体质量(290±10)g,由香港中文大学实验动物中心提供。按随机排列表法进行实验分组:Ⅰ组,低位(距离冠脉起始处约 5 mm)结扎且冠状静脉不明显(无明显主干,分支>2 支),30 只;Ⅱ组,低位结扎且冠状静脉明显(主干明显,分支≤2 支),30 只;Ⅲ组,高位(距离冠脉起始处 2~3 mm)结扎,30 只;Ⅳ组,高位结扎且使用利多卡因,30 只。

1.2 试剂与仪器

Masson's 三色染色试剂盒(Sigma,美国),动物用呼吸机(Havard 683,美国),Sonos7500 彩色多普勒超声仪(Philip,荷

作者简介:向 平,男,四川省仁寿县人,博士,主要从事心脏功能损伤与修复方面的研究。电话:(023)63631938
通信作者:陈 沅,电话:(023)63631938
收稿日期:2007-09-30;修回日期:2007-12-05

兰),图像分析系统(ZEISS/SPOT Camera Imaging System,德国)。

1.3 MI 模型制备

按照文献[3]的方法略加修改进行 MI 模型的建立。进行结扎时分为距冠脉起始处 2 ~ 3 mm 或是约 5 mm 处进针。Ⅳ组大鼠分别在结扎时及结扎后 2 h 肌肉注射 1% 利多卡因(Jean-Marie,香港)10 mg/kg。模型建立成功标准:病理切片提示发生透壁性心肌梗死。

存活率(%) = (存活数量/动物总数) × 100%

成功率(%) = (成功数量/存活数量) × 100%

1.4 大鼠心脏功能的检测

在 MI 模型建立前及建模后 2 周,对所有大鼠进行经胸超声心动图,使用探头频率为 12 MHz。在左心室乳头肌水平短轴切面测量左室舒张末期内径(LVIDd)及收缩末期内径(LVIDs),左室短轴缩短率(fractional shortening, FS),并计算左心室射血分数(LVEF)。各组原始数据均取自 3 个连续心动周期的平均值。

$FS(\%) = (LVIDd - LVIDs)/LVIDd \times 100\%$

$LVEF(\%) = [(LVIDd^3 - LVIDs^3)/LVDd^3] \times 100\%$

1.5 梗死面积(infarct size)的测定[6]

大鼠颈椎离断处死,摘取心脏,生理盐水洗尽血液后迅速放入 4% 的多聚甲醛过夜固定,再将心脏从顶部至底部平均切为 5 部分,分别常规脱水、浸蜡包埋,4 μm 组织切片备用。每个蜡块选取 2 张切片,Masson's 染色显示梗死部位。梗死面积测定用计算机图像分析软件完成。每张切片梗死面积(%) = [(梗死部位心内膜长度/总心内膜长度)/2 + (梗死部位心外膜长度/总心外膜长度)/2] × 100%;整个心脏左心室梗死面积为 5 张切片梗死面积之和的平均值。

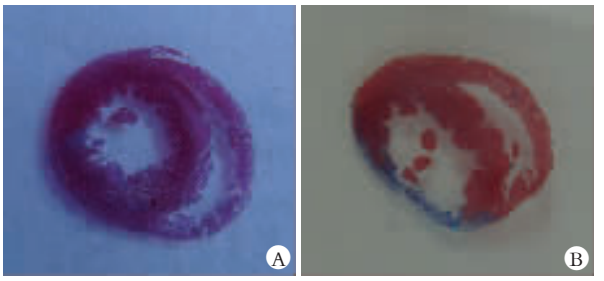
1.6 统计学分析

采用 SPSS 12.0 统计软件,各组 MI 模型心功能及梗死面积以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较行方差分析,各组大鼠死亡率、模型成功率的比较用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 大鼠 MI 模型的建立及鉴定

Masson's 染色法可以将胶原纤维染成蓝色,肌纤维染成红色。如果建立模型没有成功,可见心肌组织染成均匀红色(图 1A),同时可见前壁的厚度较一致;如果建模成功大鼠左心室前壁从心内膜至心外膜可见广泛染成蓝色的胶原纤维(图 1B),同时可见前壁变薄,提示透壁性心梗的发生。



A:建模失败大鼠; B:建模成功大鼠

图 1 大鼠心脏切片 Masson's 染色结果

2.2 不同结扎位置以及利多卡因的使用对 MI 模型死亡率以及成功率的影响

结果显示:Ⅰ组共存活 27 只,建模成功 15 只;Ⅱ组存活 25 只,模型成功 20 只;Ⅲ组存活 17 只,模型成功 16 只;Ⅳ组存活 26 只,模型成功 24 只。低位结扎组(Ⅰ、Ⅱ组)总体死亡率为 13.3%,低于高位结扎组(Ⅲ、Ⅳ组总体死亡率为 28.3%),但其模型成功率仅 67.3%,而高位结扎组成功率达 93.0%($P < 0.01$);同时发现,在高位结扎时(Ⅲ、Ⅳ组),使用利多卡因可以明显降低大鼠死亡率,Ⅲ组为 43.3%, Ⅳ组为 13.3%,二者比较,差异显著($P < 0.05$),而对成功率没有明显影响($P > 0.05$)。在低位结扎时,冠状静脉明显组(Ⅱ组)的死亡率及成功率(16.7%、80.0%)均高于不明显组(Ⅰ组)(10.0%、55.6%),但无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 不同结扎位置以及利多卡因的使用对 MI 大鼠心功能以及梗死面积的影响

结果显示,建模未成功大鼠与建模成功大鼠之间 LVIDd、LVIDs、FS 以及 LVEF 存在明显的差异($P < 0.01$)。Ⅰ组 FS 及 LVEF 相对Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组值更高($P < 0.01$),提示Ⅰ组大鼠心脏收缩功能相对较好;Ⅲ、Ⅳ组在各项指标上都没有显著性差异($P > 0.05$),提示利多卡因的使用不会对模型心功能造成明显影响。

另外,未成功组的梗死面积为 0;Ⅰ组梗死面积均低于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组,且与Ⅲ组具有统计学差异($P < 0.05$),提示位置靠下且血管不明显时引起的梗死面积更小。Ⅲ组与Ⅳ组梗死面积比较,无统计学差异($P > 0.05$),提示利多卡因的使用不会对大鼠梗死面积造成明显的影响。用随机数字表法从Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组及建模失败大鼠中选取 9 ~ 11 只进行心功能及梗死面积的观察,见表 1。

表 1 各组大鼠 MI 模型心功能及梗死面积比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVIDd(cm)	LVIDs(cm)	HR(次/min)	FS(%)	LVEF(%)	梗死面积(%)
建模前	50	0.67 ± 0.03^a	0.36 ± 0.03^a	284 ± 20	46 ± 4^a	82 ± 4^a	0
Ⅰ组	10	0.83 ± 0.05^a	0.60 ± 0.03^a	280 ± 19	27 ± 3^a	58 ± 4^a	22 ± 4^c
Ⅱ组	10	0.85 ± 0.05^a	0.66 ± 0.04^a	283 ± 24	22 ± 2^{ab}	50 ± 4^{ab}	32 ± 4
Ⅲ组	10	0.86 ± 0.07^a	0.67 ± 0.09^a	287 ± 22	22 ± 5^{ab}	48 ± 10^{ab}	35 ± 9
Ⅳ组	11	0.90 ± 0.08^a	0.72 ± 0.08^a	279 ± 17	20 ± 2^{ab}	46 ± 4^{ab}	34 ± 12
建模失败大鼠	9	0.67 ± 0.04	0.39 ± 0.06	288 ± 21	43 ± 7	80 ± 6	0

a:$P < 0.01$,与未成功组比较;b:$P < 0.01$, 与Ⅰ组比较;c:$P < 0.05$, 与Ⅲ组比较

3　讨论

MI 模型制备方法较多,以结扎冠脉造成梗死的方法最为常用。在以结扎法建立 MI 模型的过程中,如何得到一个成功率高、结果稳定且一致的模型是每位研究者密切关注的问题。有研究认为麻醉剂选择、插管方式、进针深浅、肺损伤等因素都可能对模型造成影响。但还有一些重要因素,如结扎点位置的不同、冠状静脉的变异以及利多卡因的使用与否等是否会对模型产生影响,目前尚少见报道,值得深入研究。

MI 建模过程中,在冠脉结扎位置的选择上,报道不一。Miyahara 等[3] 选择距离冠脉起始处 2 ~ 3 mm 结扎, Vakev 等[4] 选择在冠脉起始处 3 ~ 4 mm 结扎,而 Prunier 等[5] 却在距离冠脉起始约 5 mm 处结扎,位置不同,是否会对建模结果产生影响? 由于 2 ~ 3 mm 与 5 mm 差距较大,我们选择这两种结扎位置进行比较,结果显示,当结扎位置较低时(距离起始处5 mm), MI 建模成功率是 67.3%;而结扎位置较高时(距离起始处 2 ~ 3 mm)建模成功率可达到 93.0%。分析差异产生的原因,可能是因为冠状动脉左前降支(LAD)在距离其起始处 2 ~ 3 mm 时位置比较固定而且表浅,而在距其起始处 5 mm 左右时,可能一部分 LAD 已经发出分支或深入到心肌深层,使部分血管未能结扎到,从而导致建模失败。同时我们也不难理解,由于结扎的位置靠下,梗死的血管偏少,因而此模型组的心功能损害程度与梗死面积均都比高位结扎组轻微。

在结扎时,由于左冠状动脉肉眼难以见到,手术中通常以左冠状静脉主干为标志,但冠状静脉的变异客观存在,我们在术中观察到其有的主干清楚,分支较少;有的主干较短,很快分成几条粗大分支或较多细小分支;极少部分大鼠甚至没有明显的冠状静脉。对于血管的生理变异是否会影响 MI 建模,我们进行了初步探讨,将低位结扎组(位置较高时左冠状静脉位置相对固定,分支较少,所以不进行讨论)分为静脉明显(Ⅱ组)与不明显(Ⅰ组)两个组进行比较,发现二者的成功率区别较大,前者的成功率为 80.0%,后者的成功率仅为 55.6%;并且血管明显组(Ⅱ组)较之血管不明显组(Ⅰ组),心功能更差,梗死面积更大。究其原因,可能是当静脉明显时,其伴行的动脉相对粗大且分支较少,因而更容易被扎到,成功的概率高,引起的损伤也较大。上述结果提示,低位结扎时,即使固定结扎位置,由于冠状静脉变异也会对模型的成功率及稳定性产生较大影响,可能在后续研究中易对研究者造成误导;而高位结扎时,容易扎到冠脉主干,MI 模型成功率高且相对稳定,因而在较高位置结扎冠脉,建模效果较好。

然而,结扎位置提高后,动物死亡率也明显提高,这和许多研究者得到的数据一致。死亡时间集中在术后 24 ~ 48 h,尤以 24 h 内最多,是发生突然死亡最关键的一段时间。引起动物死亡的主要原因是 MI 后所致的室性心律失常,包括室性心动过速及心室颤动。利多卡因是一种抗室性心律失常药物,肌肉注射后能有效预防 MI 急性期室性心律失常的发生。Ohara 等[7] 报道,利多卡因能降低缺血 5 min 再灌注模型大鼠室性心动过速以及心室颤动的发生率,分别从对照的 100% 降低到 29%,77% 降到 0,并且能将死亡率从 62% 降到 0。在本研究中,我们在冠脉结扎前及结扎后 2 h 肌肉注射利多卡因,发现 MI 动物死亡率可从 43.3% 降至 13.3%,与 Kompa 等[8] 报道从 50% 降至 15% 比较接近,说明利多卡因确能明显降低 MI 后大鼠死亡率。另外,部分研究者认为利多卡因除降低死亡率外,还能减小梗死面积,但我们发现使用利多卡因对梗死面积没有显著影响,与 Canyon 等[9] 的报道一致。

MI 模型是否建立成功是每个研究者所关注的问题,如果判断有误,将会影响整个实验结果。目前以病理切片提示透壁性心梗的发生为鉴定的金标准,但此法以处死动物为前提,而实验中经常需要在动物存活时作出是否发生梗死的判断,关于此,目前仍没有一个统一标准。有些学者[10] 以心电图出现心肌损伤或坏死作为建模成功的依据,但却存在一定假阴性或假阳性结果。近年来部分学者使用磁共振及核素显像技术进行模型鉴定,并同时进行梗死面积的测量[11]。这一技术虽然准确率很高,但费用昂贵,且需要先进的仪器,因而较难推广。本实验采用超声心动图仪,在 2D 图像上观察左心室收缩及舒张情况,以左室前壁和(或)侧壁出现不运动、反向运动或矛盾运动为建模成功的标志。结果显示,凡经过超声心动图鉴定为模型成功的样本,在做 Masson's 染色时均出现透壁性心肌梗死。在超声心动图测量心功能的各项指标中,心室短轴缩短率(FS)是衡量心脏收缩功能的重要指标。我们的结果显示,MI 后 FS 显著下降,各成功组 FS 值大部分为 10 ~ 30,只有 1 例的 FS 值达到 32.3,而未成功组的 FS 均值为 43,最低值为 36.7。因此我们认为可以将 FS 作为一个初步判断建模是否成功的指标。

综上所述,我们倾向于选择高位(距离起始处 2 ~ 3 mm)结扎冠脉制备 MI 模型;另外,利多卡因能明显降低动物的死亡率,而对心功能及梗死面积则没有显著影响,可以在实验中使用。

参考文献:

[1] Pfeffer M A, Pfeffer J M, Fishbein M C, *et al*. Myocardial infarct size

and ventricular function in rats[J]. Circ Res, 1979, 44(4): 503 – 512.

[2] 王红勇, 何作云, 于长青, 等. 自体骨骼肌卫星细胞移植对心肌梗死大鼠心功能的影响[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(24): 2444 – 2447.

[3] Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, *et al*. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction[J]. Nat Med, 2006, 12(4): 459 – 465.

[4] Vakev A P, Agah A, Rollins S A, *et al*. Myocardial infarction and apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion: role of the terminal complement components and inhibition by anti-C5 therapy[J]. Circulation, 1998, 97(22): 2259 – 2267.

[5] Prunier F, Pfister O, Hadri L, *et al*. Delayed erythropoietin therapy reduces post-MI cardiac remodeling only at a dose that mobilizes endothelial progenitor cells[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 292(1): H522 – H529.

[6] Shao Z Q, Takaji K, Katayama Y, *et al*. Effects of intramyocardial administration of slow-release basic fibroblast growth factor on angiogenesis and ventricular remodeling in a rat infarct model[J]. Circ J, 2006, 70(4): 471 – 477.

[7] Ohara F, Sugimoto T, Yamamoto N, *et al*. Protective effect of FR168888, a new Na^+/H^+ exchange inhibitor, on ischemia and reperfusion-induced arrhythmia and myocardial infarction in rats: in comparison with other cardioprotective compounds[J]. Jpn J Pharmacol, 1999, 80(4): 295 – 302.

[8] Kompa A R, Summers R J. Lidocaine and surgical modification reduces mortality in a rat model of cardiac failure induced by coronary artery ligation[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2000, 43(3): 199 – 203.

[9] Canyon S J, Dobson G P. Protection against ventricular arrhythmias and cardiac death using adenosine and lidocaine during regional ischemia in the *in vivo* rat[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004, 287(3): H1286 – H1295.

[10] Ramunddal T, Lorentzon M, Omerovic E. Decreased mortality in a rat model of acute postinfarction heart failure[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 341(2): 459 – 463.

[11] Hirai T, Nohara R, Hosokawa R, *et al*. Evaluation of myocardial infarct size in rat heart by pinhole SPECT[J]. J Nucl Cardiol, 2000, 7(2): 107 – 111.

(编辑 王小寒)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2008)04-0332-01

复杂眼内异物摘出联合玻璃体切割手术治疗的护理

唐 文,曾登芬,程华琳 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所眼科,重庆 400042)

复杂眼内异物摘除术是眼科疑难手术。玻璃体切除手术使复杂眼内异物摘除率明显提高[1,2],可减少其并发症,较好地保留或提高患者的视功能,但对患者的护理,特别是术前、术后护理及并发症的观察提出了更高的要求。我科于2003年8月至2007年6月共收治复杂眼内异物伤患者45例,治疗护理效果满意,现将护理体会报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

2003年8月至2007年6月收治的复杂眼内异物患者45例(45眼),男性42例,女性3例,年龄14~70岁,平均33岁,异物在眼内存留3 d至2个月。后嵴球壁23例,巨大异物11例,非磁性异物38例。异物性质:铁锈7例,铜屑1例,石块32例,玻璃3例,木屑2例。术前视力:光感至数指25例,0.01~0.1者11例,0.15~0.25者9例。术前并发角膜裂伤及外伤性白内障20眼,玻璃体积血2例,视网膜脱离18例,眼内炎4例,其中7眼曾在外院行巩膜切开术失败。

作者简介:唐 文,女,重庆市人,护师。电话:(023)66113015,E-mail:tangwenmm@126.com

收稿日期:2007-12-18;修回日期:2008-01-12

1.2 手术方法

采用平坦部闭合式三切口玻璃体切除术,先清除中轴部玻璃体,再切除基底部玻璃体,寻找到异物后将周围玻璃体及机化条索切断切除,异物有机化包裹时,先将异物包裹刺开,将其松动游离。据异物大小将平坦部切口扩大,入球内异物钳摘取异物,对视网膜上的异物巢及裂孔进行激光治疗。若有视网膜脱离先用重水或气液交换,使视网膜贴回脉络膜再作激光。根据眼内情况,进行不同的眼内充填,惰性气体(C_3F_8)及硅油注入。术后必要时进行激光补充治疗[1,2]。术后视力较术前提高者29眼(64%),不变者9眼(20%),下降者7眼(16%);45眼中42眼1次摘除成功,余3眼因术中大量出血,再次行玻璃体切除术摘除。

2 护理体会

2.1 术前护理

患者大部分为青壮年,突然受伤引起视力下降,担心视力不能提高;多数患者为外出打工者,经济条件差,担心医疗费用问题而情绪低落;患者急于通过手术提高视力,对手术产生畏惧心理,并担心预后视力。护理人员应做好心理护理,主动接近

(下转336页)