维普资讯 http://www.cqvip.com

116-117

中国局解手术学杂志 2000年第9卷第2期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2000, Vol.9, No.2

R 65-4.2

同种异位鼠心移植模型在心肌保护研究中的应用

骆铁波* 敖定椿* 李继良* 金钟兴* 战福斌*

【摘 要】 目的 通过对脂质过氧化物和心肌高能磷酸化合物的测定，评价同种异位鼠心移植模型做为缺血/再灌注损伤研究模型的可行性。方法 取SD大鼠随机分为两组（$n=10$），组Ⅰ：为缺血心肌组，供心缺血40分钟。组Ⅱ：为缺血再灌注心肌组，供心主动脉及肺动脉分别与受体腹主动脉和下腔静脉吻合，取复跳后40分钟的供心。结果 组Ⅱ的MDA含量高于组Ⅰ而SOD活性低于组Ⅰ（$P<0.05$），组Ⅰ的ATP、CP含量高于组Ⅱ（$P<0.05$）。结论 同种异位鼠心移植模型与临床体外循环手术过程相接近，能够真实反映心肌缺血再灌注损伤的病理生理过程，可做为心肌保护的研究模型，而且该模型具有人力需求少，设备简单，模型制做方便，节约经费等优点。

【关键词】 同种异位鼠心移植 缺血再灌注损伤

Application of heterotopic allografted rat heart model in cardiac protection research *Luo Tiebo, Ao Dingchun, Li Jiliang, et al. The first Affiliated Hospital, Dalian Medical University, Dalian Liaoning, 116011*

【Abstract】 **Objective** To study whether the heterotopic allografted rat heart model can be used as animal experiment model in ischemia/reperfusion injury research, the model is evaluated by studying the change of peroxidation products and high-energy phosphate. **Method** Sprague Dowly rats are divided into two groups randomly. Group Ⅰ: ischemic hearts ($n=10$), after being infused with cardioplegia, donor hearts are reserved in hypothermia (4°C) for 40 minutes. Group Ⅱ: ischemic/reperfusion hearts ($n=10$), donor hearts are cut off after having being transplanted for 40 minutes. **Result** The data show that the malondialdehyde (MDA) of group Ⅱ is higher than group Ⅰ and the activity of superoxide dismutase (SOD) of group Ⅱ is lower than group Ⅰ ($P<0.05$). Both adenosine triphosphate (ATP) and creatine phosphate (CP) of group Ⅱ is lower than group Ⅰ ($P<0.05$). **Conclusion** The heterotopic allografted rat heart model can be used as a animal experiment model in cardiac protection research for it reflect the pathophysiological process of ischemic/reperfusion injury and is similar to extracorpreal operation. It is also need less manpower and equipment, in addition, it is economical and is easy to be mastered.

【Key words】 Heterotopic allografted rat heart Ischemic/reperfusion

在心肌缺血再灌注损伤的研究中有许多种实验模型，然而大多数模型设备要求复杂，而且费用高。本实验目的在于找一种方便可行且接近缺血再灌注损伤病理生理过程的实验模型。

材料与方法

取纯系SD大鼠（大连医科大学动物实验室提供），体重250～350 g，雌雄不限，随机分组。组Ⅰ：缺血心肌组（$n=10$），供心灌停跳液后，取下低温（4°C）保存40分钟，置液氮中。组Ⅱ：缺血再灌注心肌组（$n=10$），供心灌停跳液后，取下低温（4°C）保存40分钟，移植到受体腹腔，计时，缺血40分钟，开放，心脏复跳，40分钟后取下置入液氮中。

手术前随机取两只SD大鼠，雌雄不限，称重，以2.5%戊巴比妥钠（25mg/kg）腹腔注射，麻醉生效后，固定于手术台上，选体重大者为受体。受体鼠做颈动脉插管接动脉压力表，监测平均动脉压；颈静脉插管，建立输液通道，接电子蠕动泵，输液速度≤10ml/h。正中切开受体鼠腹部，上至剑突下1.0cm，下至耻骨联合上1.0cm，显露并游离腹主动脉及下腔静脉，上至肾动脉水平，下至髂动脉分叉。以3/0丝线结扎下腔静脉的侧支及穿支。供体鼠做气管切开，接小动物呼吸机。呼吸频率55次/分，潮气量15ml/kg，吸、呼比1:3。由剑突沿肋弓向两侧剪至腋中线，沿两侧腋中线剪开胸壁至锁骨，将前胸壁翻向头侧，游离主动脉、肺动脉、上腔静脉、左上腔静脉和下腔静脉。经下腔静脉注射肝素1ml（4mg/ml）。结扎上腔静脉，集团结扎左上腔静脉、下腔静脉和左、右肺静脉。于近肺动脉分叉处剪断肺动脉。主动脉插管，灌注晶体停跳液（5ml/kg/min），灌注3分钟，灌注压8.82Pa（90cmH20），记时间。于无名动脉前切断主动脉，于集团结扎线外将心脏取下，置入4°C林格氏液中。在受体腹主动脉并下腔静脉的上、下方各置一枚血管夹，在两血管夹的中点处，在腹主动脉和下腔静脉前壁同一水平各做一小切口，约3mm将供心由林格氏液中取出，低温保护（4°C）。供心主动脉与受体腹主动脉做端-侧吻合，以8/0尼龙线吻

* 作者单位：116011 辽宁省大连医科大学附属第一医院心胸外科

维普资讯 http://www.cqvip.com

合，由吻合口上角开始，连续外翻缝合；供心肺动脉与受体下腔静脉做端-侧吻合，由下角开始，内缘做内翻缝合，外缘做外翻缝合，吻合结束。从灌停跳液开始计时间，40分钟时开放血管夹，心脏自动复跳，吻合时间22～25分钟。心脏复跳后40分钟，迅速取下供心，放入液氮中保存。即全心缺血40分钟，再灌注40分钟。

用硫代巴比妥荧光法测定心肌丙二醛（MDA）含量[1]。用高效液相色谱法测定心肌三磷酸腺苷（ATP）磷酸肌酸（CP）含量[2]。用邻苯三酚自氧化法测定心肌超氧化物歧化酶（SOD）的活性[3]。

结　果

表1为各组心肌MDA含量及SOD活性。再灌注40分钟心肌MDA显著高于缺血40分钟心肌（$P<0.05$），同时SOD活性下降（$P<0.05$）。

表1　为各组心肌MDA含量及SOD活性

	MDA(nmol/mg·pr)	SOD(U/mg·pr)
组Ⅰ	1.38±0.35	316.5±38.7*
组Ⅱ	2.46±0.94	222.6±31.7**

*：$P<0.05$，**：$P<0.05$

表2为各组心肌高能磷酸化合物含量，显示心脏复跳后，再灌注40分钟心肌高能磷酸化合物ATP、CP含量均低于缺血心肌（$P<0.05$），说明高能磷酸化合物水平不但未能恢复，反而进一步下降。

表2　心肌ATP、CP含量（μmol/mg·dry·w）

	ATP	CP
组Ⅰ	4.81±1.64	10.52±2.69*
组Ⅱ	2.62±0.96	6.30±1.86**

*：$P<0.05$，**：$P<0.05$

讨　论

在心肌保护的研究中有许多不同的动物实验模型，其中较为常用的是体外循环模型、离体鼠心模型和冠状动脉结扎模型，以上模型多较为复杂，条件苛刻，且费用较高。本文认为，同种异位鼠心移植模型亦可成为心肌保护的实验模型。本实验通过几组常用的指标评价其作为心肌缺血/再灌注损伤模型的可行性。

目前广泛认为，心肌缺血/再灌注损伤的主要机制是：再灌注过程中产生的氧自由基能迅速与心肌细胞脂类、蛋白质及DNA等发生反应，使细胞的脂质发生过氧化反应，生成过氧化脂质（LPO）[4,5]，过氧化脂质继续使脂质发生过氧化反应，形成连锁反应造成心肌细胞膜系统的广泛损伤，最终产生丙二醛（MDA）[6]，导致心肌细胞结构、形态及功能严重损害心功能损害。本实验数据表明，同种异位鼠心移植模型符合缺血再灌注损伤这一病理生理特点，再灌注40分钟较缺血40分钟心肌MDA含量升高，表明有氧自由基生成，发生了脂质过氧化反应。同时，心肌内源性氧自由基清除酶——超氧化物歧化酶（SOD）也受到破坏，其活性下降。

心肌缺血时，发生无氧酵解，仅合成极少量的ATP，同时为了满足心肌细胞的生理需求，ATP、CP大量分解，使心肌ATP、CP含量大幅下降。再灌注虽然改善了心肌缺氧，但未有改善心肌ATP、CP的合成代谢，Hasin等在游离鼠心实验中发现[7]，心肌缺血再灌注早期ATP、CP先是缓慢恢复，然后迅速下降。本实验发现再灌注早期心肌ATP、CP含量较缺血心肌低，说明再灌注损伤了心肌高能磷酸化合物的合成代谢。本实验从心肌能量代谢水平反映了心肌缺血/再灌注损伤的过程。

总之，在心肌保护的研究中，同种异位鼠心移植作为心肌缺血再灌注模型是可行的。该模型能够真正反映缺血再灌注损伤的病理生理过程，与临床体外循环手术过程非常相似，且需要的人力和设备条件少，操做方便，技术易于掌握，节约经费。

参 考 文 献

1. Hiroshi Ohkawa, NobukoOhishi, Kunio Yagi. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry, 1979, 95: 351.
2. 马丽英，张乃忠等. 快速等浓度洗脱高效液相色谱法测定心肌组织中的能量物质. 中国病理生理杂志，1992，8(2)：140.
3. 袁勤生等. 邻苯三分自氧化法测定超氧化物歧化酶活性. 医药工业，1983，1：16.
4. Romaschi AD, Rebegka I, Wilson GJ, et al. Conjugate dense in ischemic and reperfused myocardium, an in vivo chemical signature of oxygen free radical mediated injury. J MOL Cell Cardiol, 1987, 1987, 19: 289.
5. Kramer JY, Arroyo CM, Dickens BF. Spin-trapping evidence that myocardial ischemia alters post-ischemia superoxide production. Free Rad Biol Med, 1987, 3: 153.
6. Meerson F, Kagan V, Kozlov Y. The role of lipid peroxidant in pathogenesis of ischemic damage and antioxidant protection for the heart. Basic Res Cardiol, 1982, 77: 456.
7. Hasin Y, Kneen MM, Craik Dj, et al. Relationship between ATP synthesis and calium accumulation in the reperfused heart. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1992, 19(2): 79.

（收稿：2000-01-18）