维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)02-0153-03

慢性心肌梗塞大鼠实验模型

刘元生，陈运贞
（重庆医科大学临床学院心内科 重庆 400016）

【摘 要】目的：建立慢性心肌梗塞大鼠实验模型。方法：Wistar大鼠用氯胺酮、戊巴比妥钠、阿托品和利多卡因复合麻醉，气管切开插管，经左胸第3、4肋间钝性分离开胸，结扎左冠状动脉前降支。结果：本法术后72h内大鼠死亡率仅为6.67%；存活3周以上大鼠可达78.1%。结论：本技术操作简单、创伤轻、成功率高、结果可靠。

【关键词】心肌梗塞；大鼠；动物模型
【中国图书分类法分类号】R541.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-12-01

Experiment model of chronic myocardial infarction in rats

LIU Yuansheng, et al
(Department of Cardiology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medcial University)

【Abstract】*Objective*: To make animal model of chronic myocardial infarction in rats. *Methods*: Wistar rats were anaesthetized with ketamine, sodium phenobarbital, atropine and lidocaine. Tracheotomy intubation and left anterior thoracotomy through 3,4 intercostal region were performed. Left anterior descending coronary artery was ligated. *Results*: Rat mortality was 6.67% in 72 hours after operation. The survival rate was 78.1% beyond 3 weeks. *Conclusion*: This showed that the operation procedure was easy to perform with slight damage and high survival rate.

【Key words】Myocardial infarction; Rats;Animal model

鼠心肌梗塞模型可提供研究心肌梗塞后心脏重构和心力衰竭的分子生物学、细胞学、生理和病理学方面的丰富资料。近年来通过基因打靶和转基因鼠的模型建立使进一步分析心力衰竭的机制成为可能。鼠作为研究心血管疾病的动物模型已得到公认[1]。用鼠心模型研究短期心肌缺血和再灌注已有报道，而研究慢性心肌梗塞结构和功能变化的资料尚少。本文旨在应用Wistar大鼠建立3周以上慢性心肌梗塞模型，以研究心脏重构和发病机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

Wistar大鼠108只，由重庆医科大学动物中心提供、雌雄不拘，3－4月龄，体重为240±30g。

1.2 动物模型复制

Wistar大鼠用氯胺酮75mg/kg、戊巴比妥钠6.8mg/kg、阿托品1mg/kg和利多卡因10mg/kg复合腹腔麻醉，手术部位脱毛。在第3、4气管软骨环间行气管切开插管，连通动物呼吸机(浙江医科大学产品)，潮气量约3ml/100g，频率为70/min。沿左侧胸骨旁斜行切口，上界为两前肢后缘连线，下界为第5肋间，依次切开皮肤、浅筋膜和深筋膜，并用止血钳钝性分离胸大肌和前锯肌交界处，在靠胸骨缘处用止血钳钝性分离第3、4肋间进胸(为暴露清楚可剪断第3肋软骨)，撑开肋间暴露心脏，再用两个套橡皮圈的小拉钩分别拉开肺组织和胸骨以扩大术野，还可防止损伤肺组织。用镊子提起心包壁层，再用小剪刀小心剪开心包，棉签棒向上推开胸腺就可清楚找到左冠状静脉，在左心耳下缘与肺动脉圆椎间距主动脉根部约3mm处，以左冠状静脉为标志，用7-0眼科无创缝合针穿过左冠状动脉前降支深部，进针深度为0.3~0.5mm，小心打结并观察心电图动态变化，如在两个以上肢体导联上出现ST段上抬0.2mV以上并伴对应导联改变，同时肉眼观结扎区域变白，术后每隔10min复查一次心电图，如连续三次ST段继续抬高为结扎成功。仔细检查心脏无出血时关胸，用0号丝线先间断缝合肌肉（包括胸大肌、前锯肌和肋间肌同时缝合），最后一针先穿针打虚结，通过此间隙插入5ml去针头注射器用于胸腔抽吸，边抽吸边打结使胸腔恢复负压，然后缝合皮肤。待大鼠出现吞咽动作时，拔除气管插管，用注射器抽尽气管内血块和分泌物，用7-0眼科无创缝合针缝合一针将相邻两个气管软骨环拉拢使气管切口闭合，但不能缝合过紧以免气道狭窄，观察5min如大鼠无呼吸困难就可缝合皮肤。术毕肌肉注射青霉素40万单位以预防感

作者介绍：刘元生（1959- ），男，副教授，博士生。
主要研究方向：高血压，冠心病。

维普资讯 http://www.cqvip.com

染，并在30℃条件下苏醒。全手术过程为无菌操作，术后不需拆线。

1.3 心脏重量/体重比率测量

鼠心肌梗死后21天处死前测量体重后开胸取出心脏，在冰生理盐水中洗去血液，用滤纸吸去水分后测量心脏总重量。

1.4 免疫组化染色

(1)心肌组织块常规福尔马林固定，石蜡包埋切片，切片厚度为3 μm，常规脱蜡至水；(2)新鲜配制的3%过氧化氢孵育10min，蒸馏水冲洗5min × 3；(3)抗原修复：I型、III型胶原染色用胃蛋白酶消化2h，蒸馏水冲洗5min × 3；(4)正常山羊血清室温下孵育20min，甩掉多余血清；(5)加入兔抗鼠I型、III型胶原抗原一抗，4℃冰箱过夜，PBS冲洗5min × 3；(6)滴加羊抗兔IgG二抗，37℃孵育30min，PBS冲洗5min × 3；(7)滴加SABC液37℃孵育30min，PBS冲洗15min × 3；(8)DAB显色试剂盒显色8min，苏木素复染3min，脱水透明、中性树胶封片。免疫组化染色结果用北京航空航天大学研制的彩色病理图象分析系统进行分析。统计分析中不包括血管自身胶原。每张切片任意选5个视野进行统计分析，求得平均值。

1.5 统计学处理

测量数据以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较采用 t 检验，当$P<0.05$时为有显著性差异。

2 结 果

2.1 慢性心肌梗塞大鼠的存活情况

大鼠复合麻醉效果满意，术后即刻苏醒，呼吸道分泌物少，无麻醉意外发生。108只Wistar大鼠，手术中因窦性停搏和失血性休克死亡3只；术后72h内因心力衰竭和呼吸道阻塞死亡7只，死亡率为6.67%；术后1~2周死亡5只（死因为心力衰竭3只，肺部感染1只，气道周围感染致狭窄1只）；后2周以上不足3周死亡11只（死因为心力衰竭3只，管饲灌药误入肺致死4只，肺部感染4只），存活3周以上慢性心肌梗塞大鼠82只，成活率为78.1%。

3周以上慢性心肌梗塞大鼠在处死前复查心电图显示，相应导联呈QS波型，ST段回到基线水平。

2.2 心脏重量/体重比率的变化

鼠心肌梗死后21天时，肉眼观察梗死区由瘢痕组织替代而变薄、苍白，非梗死区心肌肥厚，左心室腔扩张，心脏重量/体重比率增加，与假手术组比较有非常显著性差异（$P<0.01$）（见表1）。

2.3 I型、III型胶原蛋白的表达变化

由表2、表3所见，心肌梗死后21天时，梗死区和非梗死区I型、III型胶原蛋白表达与假手术组比较均有非常显著性差异（$P<0.01$）。而且梗死区比非梗死区明显，邻近梗死区的非梗死心肌比远离梗死区的非梗死心肌明显，这表明心肌梗死后病理形态学改变以梗死区最为显著。

3 讨 论

文献报道用体重为200 ~ 300g大鼠建立心肌梗死模型，采用乙醚或其他药物麻醉，气管插管，经第4肋间开胸暴露心脏，在距主动脉根部2 ~ 3mm处结扎左冠状动脉前降支，术后24h内雄鼠死亡率高达38%，雌鼠死亡率为12%，且随着时间的延长死亡率不断增加[2]，而未见3周以上慢性心肌梗死大鼠存活率的报道。

本实验中大鼠用氯胺酮、戊巴比妥钠、阿托品和利多卡因进行腹腔复合麻醉，麻醉效果满意，术后苏醒快，呼吸道分泌物少，无麻醉意外。氯胺酮

表1 心肌梗死后心脏重量/体重比率的变化（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	心脏重量（mg）	体重(g)	心脏重量/体重（mg/g）
假手术组	736.6667 ± 80.4156	284.3333 ± 27.2666	2.6273 ± 0.5271
梗死后21天组	1150.2774 ± 54.7723	273.1958 ± 40.3088	4.2825 ± 0.6132*

*$P<0.01$(与假手术组比较)

表2 各组心肌梗死区和非梗死区Ⅰ型、Ⅲ型胶原蛋白表达的变化（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	心肌梗死区		非梗死区	
	Ⅰ型胶原（面密度）	Ⅲ型胶原（面密度）	Ⅰ型胶原（面密度）	Ⅲ型胶原（面密度）
假手术组	0.0547 ± 0.0010	0.0331 ± 0.0010	0.0547 ± 0.0010	0.0331 ± 0.0010
梗死后21天组	0.2487 ± 0.0458*	0.2800 ± 0.0151*	0.1290 ± 0.0240*	0.1062 ± 0.0192*

*$P<0.01$(与假手术组比较)

维普资讯 http://www.cqvip.com

是镇痛和意识分离药物、具有有效的镇痛作用，抑制呼吸轻；戊巴比妥钠可起镇静作用；利多卡因可有效预防恶性室性心律失常发生而降低死亡率，并不影响心肌梗塞范围[3]；阿托品可减少呼吸道分泌物以防止气道阻塞。

左侧第3、4肋间开胸、可不剪断肋骨、胸大肌和前锯肌，创伤轻；术后经缝合胸大肌和前锯肌关胸，保持了大鼠胸部正常解剖结构，不影响呼吸功能有利于大鼠长期存活。关胸前用注射器抽吸胸腔，可清除胸腔内血块和快速恢复胸腔负压，有利于自主呼吸的恢复。

本实验结果显示，鼠心肌梗死后21天时，肉眼观察梗死区由瘢痕组织替代而变薄、苍白、非梗死区心肌肥厚，左心室腔扩张，心脏重量/体重比率增加；组织学上有梗死区和非梗死区I型、III型胶原蛋白表达增加，与假手术组比较均有非常显著性差异（$P<0.01$）。而且梗死区比非梗死区明显，邻近梗死区的非梗死心肌比远离梗死区的非梗死心肌明显，这表明鼠心肌梗死后出现了相应的病理形态学改变。

采用本技术复制的慢性心肌梗塞大鼠模型，术后72h内的死亡率仅为6.67%，3周以上存活率可达到78.1%。术中用体表心电图记录较其他指标能更早反映心肌损伤变化，且可活体动态观察，其结果与心脏病理形态学结果相符，而且与文献报道的结果一致[4]。

本项实验技术操作简单，创伤轻，成功率高，结果可靠。

参 考 文 献

[1] Esther Lutgens, Mat J.A.P.Daemen, Ebo D.de Muinck, et al. Chronic myocardial infarction in the mouse: cardiac structural and functional changes[J]. Cardiovasc Res,1999;41:586-593.

[2] 苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 第1版，北京：中国中医药出版社，1997;193-194.

[3] 赵 学，富维骏，袁文俊，等. 清醒大鼠冠状动脉阻断再通技术及其应用[J]. 第二军医大学学报，1996;17(5):415-418.

[4] 黄 坚，郭兆贵. 豚鼠心肌梗塞的实验模型[J]. 湖南医科大学学报，1991;16(1):19-22.

（上接第152页）

道较少。我们根据本校条件，探讨了培养大鼠脑微血管内皮细胞的方法、成功进行了Wistar 乳鼠大脑皮质微血管内皮细胞的体外培养。根据我们的体会，培养时应注意以下几点：(1)仔细剥离软脑膜、去除脑干、大血管、小脑和大脑髓质后，吹打成匀浆的脑组织经过 170 μm和75 μm两种孔径滤网过滤，这样既可去除较大组织块和大血管，又可达到收集微血管段的目的，因据Brendel等[4]研究发现鼠脑微血管的直径在6～80 μm之间，分离脑微血管多选直径80 μm左右的滤网筛选。(2)胶原酶充分消化。我们用0.1‰的Ⅶ胶原酶在37℃恒温摇床振荡消化20min即可。酶充分消化有助于内皮细胞的迁移、去除周皮细胞。消化时间的长短因胶原酶的类型与不同的浓度而有所不同。(3)原代培养时需收集到足够量的微血管，否则培养难以成功。(4) 原代培养2h后，翻转培养瓶以去除先贴壁的成纤维细胞，24h后换液一次以去除未贴壁的杂质，净化培养环境。开始培养的2～5d，在倒置显微镜下用机械方法(细胞刮刀)刮去可疑的细胞或细胞群落。(5)传代培养时，只收集最先脱落的细胞进行培养，这是因为内皮细胞具有贴壁早，而在酶消化时易脱落的特性[5]。(6)培养内皮细胞最好选用含15%胎牛血清的M199培养液来培养，这样有利于内皮细胞的生长、逐渐淘汰混杂的神经元和胶质细胞。

参 考 文 献

[1] Chi OZ, Wei NM, Sinha AK, et al. Effects of inhibition of nitric oxide synthase on blood-brain barrier transport in focal cerebral ischemia[J]. Pharmacology,1994;48:367-373.

[2] Inagami T, Naruse M, Richard H. Endothelium as an endocrine organ[J]. Annu Rev Physiol,1995;57:171-189.

[3] Gordon EL, Danielsson PE, Hguyen TS, et al. A comparision of primary cultures of rat cerebral microvascular endothelial cells to rat aortic endothelial cells[J]. In Vitro Cell Dev Biol,1991;27A:312-326.

[4] Brendel K, Meezan E, Carlson EC. Isolated brain microvessels: a purified, metabolically active preparation from bovine cerebral cortex[J]. Science, 1974;185:953-955.

[5] Browman PD, Betz AL, Diane AR,et al. Primary culture of capillary endothelium from rat brain[J]. In Vitro,1981;17(4):253-262.