

电凝烧灼冠状动脉制作大鼠心肌梗死动物模型

陆英¹, 陈运贤¹, 钟雪云², 赵洪云³, 管慧红¹, 欧瑞明¹

(1. 中山大学附属第一医院血液内科, 广东 广州 510080; 2. 暨南大学医学院病理教研室, 广东 广州 510630;
3. 中山大学附属肿瘤医院, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】探讨一种新的大鼠心肌梗死模型制作方法。【方法】大鼠麻醉后,经口腔插管连通动物呼吸机,切开胸廓暴露心脏,电凝烧灼其左冠状动脉前降支。然后于12 h,2 d和2周后将大鼠处死,取出心脏,显微镜下观察其病理变化。对照组使用冠状动脉结扎法制作心肌梗死模型。【结果】在电凝烧灼大鼠冠状动脉后,大鼠心肌组织出现凝固性坏死,继而有肉芽组织长入梗死灶内,最后形成疤痕。用电凝烧灼法可成功复制心肌梗死大鼠动物模型。与冠状动脉结扎法相比较,操作简单,手术时间短,死亡率低。【结论】电凝烧灼法作为一种复制心肌梗死模型的新方法,有其自身的优势,可用于心肌梗死发生机制和治疗等方面的研究。

关键词: 大鼠; 疾病模型, 动物; 心肌梗死; 电凝法

中图分类号: R364.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)01-0052-03

Animal model of myocardial infarction in rat by electrocoagulation

LU Ying¹, CHEN Yun-xian¹, ZHONG Xue-yun², ZHAO Hong-yun³, GUAN Hui-hong¹, OU Rui-ming¹

(1. Department of Hematology Internal Medicine, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Department of Pathology, Medical College of Jinan University, Guangzhou 510630, China;
3. The Affiliated Cancer Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To make animal model of myocardial infarction in rats. 【Methods】Wistar rats were connected with animal breathing machine through mouth cavity intubation. After anaesthetized the heart was exposed by thoracotomy. Left anterior descending coronary artery occlusion was performed by electrocoagulation using a electrocoagulation knife. Rats were divided into three groups, each was respectively sacrificed at 12 h, 2 days, and 2 weeks post- electrocoagulation. Then take out the heart and observe pathology change of the tissue section. Control rats were operated by ligating left anterior descending coronary artery. 【Result】During 2 weeks post- electrocoagulation, we can observe coagulative necrosis, then growth of granulation tissue into infarct area and at last formation of scar. 【Conclusion】Electrocoagulation has its own advantages as a new technology of making animal model of myocardial infarction. It can be applied to research in mechanism and treatment of myocardial infarction.

Key words: rats; disease models, animal; myocardial infarction; electrocoagulation

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2004, 25(1): 52-54]

心肌梗死动物模型在心肌梗死发生机理及其治疗方法的研究中有着难以替代的作用。心肌梗死模型的制作目前主要采用药物^[1,2]和冠状动脉结扎^[3,4],这两种方法均有其不足之处。我们在研究干

细胞修复损伤心肌的实验中采用电凝烧灼法制作大鼠心肌梗死动物模型,取得很好的效果,现报告如下。

收稿日期: 2003-09-04

基金项目: 国家攀登专项计划基金资助项目(95-专-10); 广东省科技厅社会发展攻关基金资助项目(2002C30604)

作者简介: 陆英(1978-),女,浙江舟山人,硕士生; 陈运贤,硕士生导师,通讯作者. E-mail: cyx1228@21cn.com

1 材料与方 法

1.1 动 物

Wistar 大鼠 60 只, 购自中山大学北校区实验动物中心。体质量 150 ~ 250 g, 雌雄不拘, 混合饲料喂养, 自由饮水。室温 20 ~ 30 °C, 自然采光。

1.2 仪 器

BL-420 生物机能实验系统; 动物人工呼吸机 DH-140, 浙江医科大学医学仪器厂; 1 411 小高频刀, 上海医疗器械高技术公司。

1.3 电凝烧灼法制作大鼠心肌梗死模型

Wistar 大鼠用氯胺酮 100 mg/kg 腹腔注射麻醉, 口腔插管连通动物呼吸机, 呼吸比 1:1, 频率 80/min, 潮气量约 14 ~ 16 mL/kg。沿左侧胸骨旁斜行切口, 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 肋间隙进胸, 撑开肋间隙暴露心脏。用镊子提起心包壁层, 然后用小剪刀小心剪开心包, 棉签棒向上推开胸腺, 在左心耳下缘与肺动脉圆锥间距主动脉根部约 3 mm 处找到左冠状静脉, 以此为标志, 把 1 411 小高频刀的电灼电极置于左冠状动脉前降支深部, 电凝 1 ~ 2 s。用 BL-420 生物机能实验系统观察心电图动态变化, 在两个以上肢体导联出现 ST 段上抬 0.2 mV 以上并伴对应导联改变, 肉眼观电凝区域变灰白, 可初步判断手术成功。仔细检查心脏, 如无出血即可关胸。术后肌肉注射青霉素 40 万 U 以预防感染。将大鼠随机分成 3 组, 分别在手术后 12 h、2 d 和 2 周后脱颈处死, 取出心脏。在左心室游离壁正中沿心脏长轴切成两半, 以 100 mL/L 甲醛固定, 乙醇脱水, 石蜡包埋。每隔 100 μm 切取 3 μm 厚的全心脏长轴面切片 1 张, 共 4 张, HE 染色, 显微镜观察病理变化。

1.4 冠状动脉结扎法制作大鼠心肌梗死模型

麻醉与连接呼吸机同上。切开胸廓充分暴露心脏, 以左冠状静脉为标志, 用医用无损伤缝合针穿过左冠状动脉前降支深部, 进针深度为 0.3 ~ 0.5 mm, 小心打结, 观察心电图及结扎区域的变化。余同电凝烧灼法。组织学检查同电凝烧灼法。

2 结 果

2.1 电凝烧灼法制作的大鼠心肌梗死模型

2.1.1 死亡情况 我们用此法制作了 30 只大鼠的心肌梗死模型。术中死亡 2 只(7%), 术后死亡 1 只(3%)。

2.1.2 病理变化 术后 12 h 心肌坏死区组织切片, 见细胞轮廓仍保持完整, 细胞浆呈明显嗜伊红性, 横纹消失, 可见核固缩、破碎和核溶解, 梗死区周围有嗜中性粒细胞浸润, 呈典型的凝固性坏死改变。在正常心肌组织切片, 可见心肌细胞形态完整, 界限分明, 细胞浆中横纹清晰可见, 细胞核呈椭圆形。术后 2 d 可见肉芽组织从周围长入梗死灶内, 病灶周围有白细胞和巨噬细胞渗出。术后 2 周梗死灶被肉芽组织组织取代变为疤痕(图 1A - C)。

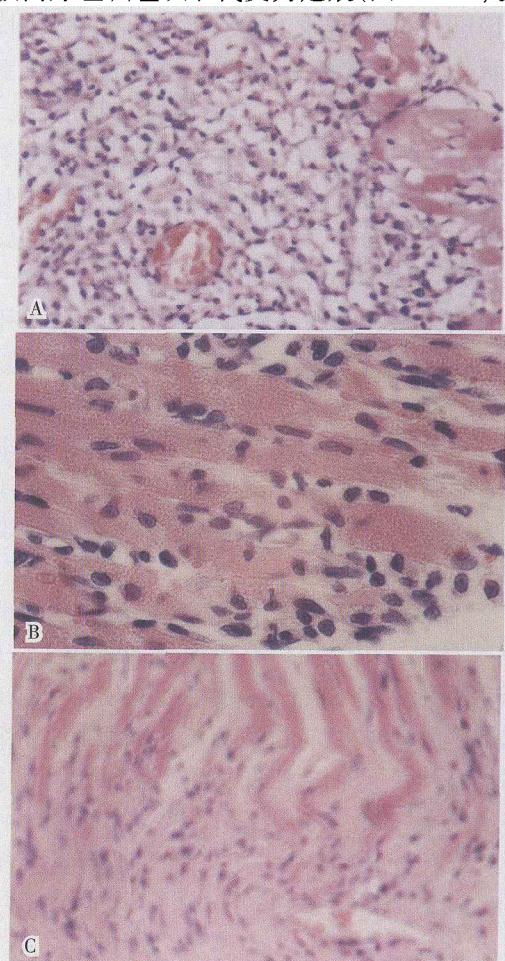


图 1 电凝烧灼冠状动脉后 12 h、2 d 和 2 周的心肌病理变化
Fig. 1 Myocardial pathological change at 12 hours, 2 days and 2 weeks after electrocoagulation

A. There were a great number of inflammatory cells infiltration around the infarct zone and majority of them were neutrophil at 12 hours after electrocoagulation; B. There were some granulation tissues in the infarct zone with some leucocytes and macrophages around; C. The granulation tissues were replaced by scar

2.2 冠状动脉结扎法制作的大鼠心肌梗死模型

2.2.1 死亡情况 我们用此法制作了 30 只大鼠的心肌梗死模型。术中死亡 4 只(13%),术后死亡 1 只(3%)。

2.2.2 病理变化 与电凝烧灼法制作的大鼠心肌梗死模型的病理变化基本相同。

3 讨 论

动物心肌梗死模型的制作是研究心肌梗死的发生发展机制及治疗的重要手段。目前应用较广泛的制作方法是冠状动脉结扎。此法虽然理论上讲方法简单,而且不需要特别仪器,但是实际操作起来非常困难。它除了要求术者掌握心脏的解剖结构以及冠状动脉的走向外,还要求具备熟练而精湛手术操作能力,难度很大。加上动脉结扎过程历时长,易出血,容易造成动物死亡,所以实验成功率并不尽人意。我们在最初用冠状动脉结扎术制作大鼠心肌梗死模型时,死亡率为 100%。经过近 1 年的反复练习,才逐渐掌握方法,减少死亡率。

应用异丙肾上腺素能够成功复制心肌梗死模型,而且操作非常简单。其机制与心肌细胞钙超载、氧自由基损伤^[5]及血小板功能和代谢增强有一定关系。陈运贤等^[1]用此模型成功研究了 CD34⁺细胞分化为心肌细胞的潜能。此方法的不足之处在于不能人为的控制心肌梗死的部位,使得一些要求准确定位的研究难以进行。

近年来,有研究者用液氮冷冻法复制大鼠心肌梗死模型,用于探讨心肌梗死的新疗法。Kim E J 等^[6]用此方法研究了心肌梗死部位接受内皮细胞移植后血管再生情况。冷冻法的机理是心肌细胞在超低温条件下冻伤坏死,而不是阻断血管后引起的心肌缺血坏死,与心肌梗死自然发病过程有较大差异。当实验动物的冠状动脉细小以至于无法结扎时,液氮冷冻法不失为好方法,因而更多地应用于

小鼠心肌梗死模型中。

本实验采用 1411 小高频刀通过电凝法复制心肌梗死模型。该仪器使用脚踏开关控制输出,不仅操作方便,而且可以准确定位到待阻塞的血管,真实地模拟了心肌梗死的自然发生过程。手术时间短,对实验动物的损伤小,只要操作者熟练掌握方法和控制好时间,实验动物的死亡率非常低。在心电图的监测下,电凝效果可靠,术后并发症少。在电凝后的两周内,我们可以观察到心肌组织从核固缩、破碎和核溶解等典型的凝固性坏死,到肉芽组织长入梗死灶内,到最后疤痕形成的动态过程。我们的实验表明,电凝烧灼法作为一种复制心肌梗死模型的新方法,有其自身的优势,可用于心肌梗死发生机制和治疗等方面的研究。

参考文献:

- [1] 陈运贤,钟雪云,欧瑞明,等. CD34⁺细胞的心肌细胞分化潜能研究[J]. 中国病理生理杂志, 2002, 18(2): 117-9.
- [2] 刘晓岩,王银叶,陈世忠,等. 实验性心肌缺血时内源性 ET, CGRP 和 NO 水平的变化及心舒平的调节作用[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(7):534-7.
- [3] Saito T, Kuang J Q, Bittira B, et al. Xenotransplant cardiac chimera: immune tolerance of adult stem cells[J]. Ann Thorac Surg, 2002, 74(1): 19-24.
- [4] Morales C, Rodriguez M, Gonzalez G E, et al. Time course of the myocardial infarction in the rabbit[J]. Medicina (B Aires), 2001, 61(6): 830-6.
- [5] Singal P K, Kapur N, Dhillon, K S, et al. Role of free radicals in catecholamine-induced cardiomyopathy[J]. Can J Physiol Pharmacol, 1982, 60(10): 1390-7.
- [6] Kim E J, Li R K, Weisel R D, et al. Angiogenesis by endothelial cell transplantation[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2001, 122(5): 963-71.

(编辑 黄小廷)

· 简 讯 ·

本刊影响因子在医学类高校学报中首次排名第一

根据中国科学技术信息研究所 2003 年版《中国科技期刊引证报告》资料显示:我校医科版学报,即本刊原刊名:《中山医科大学学报》,总被引频次为 280 次,影响因子 0.385。在医学类高等学校学报名单中,总被引频次排名第 9;影响因子继 2001-2002 年连续两年排名第二之后,首次排名位居第一。

(学 讯)