

- strongly overlapping two-way multi-component data by means of heuristic evolving latent projections [J]. *J Chemom*, 1993, 18(7):15-43.
- [7] Wu J F, Lu X, Tang W Y, *et al.* Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry in the analysis of volatile oil of traditional Chinese medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 10(4): 199-204.
- [8] Liang Y Z, Kvalheim O M, Rahmani A, *et al.* A two-way procedure for background correction of chromatographic/spectroscopic data by congruence analysis and least-squares fit of the zero-component regions: comparison with double-centering [J]. *Chemometr Intell Lab Syst*, 1993, 18: 265-279.
- [9] 龚 范, 彭源贵, 崔 卉, 等. HELP法在中草药分析中的应用研究 [J]. *高等学校化学学报*, 1999, 20(2): 199-203.
- (收稿日期 2009-10-19)

清醒比格犬心肌梗死超急性期缺血模型研究

王维亭, 徐向伟, 赵专友*, 何小云, 汤立达*

(天津药物研究院 天津药代与药效动力学国家重点实验室, 天津 300193)

摘要:目的 建立心肌梗死超急性期心肌缺血模型。方法 用清醒比格犬与遥控实时检测技术,测定冠脉前降支气囊压迫狭窄后心肌缺血的电生理特征与血压变化。结果 随冠脉流量的下降,ST段电压先出现压低(压低相),再呈现电压幅度升高(缓抬相、急抬相),并伴随T波、R波电压不同程度地升高;ST段、T波、R波电压在不同时相变化率不同,提示其敏感性不同,且T波、R波电压在不同时相与ST段电压变化相关性不同;Q波电压与时程,以及心率(HR)、血压(BP)无明显变化。结论 采用清醒比格犬与遥控实时检测技术建立的心肌梗死超急性期缺血模型,其特点与临床一致,方法科学、可靠。

关键词:清醒犬;心肌梗死;心肌缺血;超急性期;动物模型

中图分类号:R965.1

文献标识码:A

文章编号:1674-5515(2010)01-0035-06

Ischemia model for hyperacute-phase myocardial infarction in conscious Beagle Dogs

WANG Wei-ting, XU Xiang-wei, ZHAO Zhuan-you*, HE Xiao-yun, TANG Li-da

(State Key Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Abstract: Objective To establish the ischemia model for hyperacute-phase myocardial infarction. **Methods** Conscious Beagle dogs were chosen as the experimental animals. Remote real-time detection technology was applied to measure the electrophysiological characteristics of myocardial ischemia and changes in blood pressure after anterior descending coronary artery stenosis with balloon tamponade. **Results** With the decline in coronary blood flow, voltage of ST segment was depressed firstly (depressed stage), and then elevated (slow lift stage, acute lift stage), accompanied with T and R wave voltage increasing in different degrees. The variation rates of ST, T and R-wave voltage were various in different stage, suggesting a characteristic sensitivity of electrophysiological wave. In addition, there was difference in the relevance of change between T or R-wave and ST segment in different stage. However, in this model, there was no significant change in Q-wave voltage, heart rate and blood pressure. **Conclusion** It is scientific and

基金项目 国家科技支撑计划项目(NO. 2007BAI41B02);系列化、国际化的国家生物医药国际创新园新药研发综合性大平台建设项目(2009ZX09301-008)

作者简介 王维亭(1974—),男,医学硕士,副研究员,主要从事心脑血管药理与新药评价研究。
Tel: 022-23006858, E-mail: 23006858@163.com

* **通讯作者** 赵专友 022-23006859, zhaozy@tjipr.com
汤立达 022-23006908, tangld@tjipr.com

reliable to use conscious Beagle dogs and remote real-time detection technology to establish the ischemia model for hyperacute-phase myocardial infarction.

Key words: conscious dog; myocardial infarction; myocardial ischemia; hyperacute-phase; animal model

心肌梗死是指心肌的缺血性坏死,是在冠状动脉病变的基础上,冠状动脉血流急剧减少或中断,使相应的心肌出现严重而持久的缺血,最终导致心肌缺血性坏死;也可并发心律失常、休克或心力衰竭,属冠心病的严重类型。心肌梗死电生理改变可分为4个时期,即超急性期(早期)、急性期、亚急性期(近期)、陈旧期(愈合期)^[1]。超急性期电生理变化大多由于临床持续时间太短而不易记录到,病人在该期若得到及时、合理治疗,有可能避免心肌梗死。因此,对心肌梗死早期病理生理特点的了解、干预(尤其超急性期的可逆性)与相应药物的研发意义重大。科学、合理的动物模型,是研究疾病机制与新药研发的前提,动物模型建立的基础与人类疾病特征越接近,该模型利用的价值就越大。探索与人类心肌梗死成因、病理生理特点更相似的动物模型,对研发治疗心肌梗死类药物和防治该疾病较为关键。清醒动物心肌梗死超急性期的缺血动物模型尚未见报道,本研究采用清醒比格犬与遥控实时检测技术,建立心肌梗死超急性期缺血模型,以了解心肌梗死早期电生理特点、病程变化规律及转归,为新药研发与评价提供方法学依据。

1 材料

1.1 动物

比格犬,4只,体质量(10.8 ± 1.0) kg(10~12 kg),雌雄兼用,安徽阜阳维光实验动物中心提供,许可证号:SCXK 06-001。

1.2 仪器

DATA Exchange Matrix 信号转换系统, TLM3-CCTP 信号发射植入子, RPC-1 信号接收器, DATAquest A. R. T. (Version 4.2) 信号采集与分析软件,均为美国 DATA Sciences International(DSI)产品。RM6300 型多导生理记录仪, MFV-3200 电磁血液流量计,均为日本光电工业株式会社产品。MP100 多导生物信号采集系统,美国 BIOPAC Systems Inc. 产品。SC-5 型电动呼吸机,上海医疗设备厂生产。

2 方法

2.1 心肌梗死超急性期心肌缺血模型的建立

给比格犬 iv 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉,并按需补充麻醉药以维持麻醉。动物麻醉后,经喉气管插管,接 SC-5 电动呼吸机,行人工正压呼吸。沿腹正中中线切开腹部,将植入子置于腹腔并固定于腹壁上,将压力导管经皮下穿至腹股沟处并经股动脉测定血压。沿左侧第4肋间隙开胸,暴露心脏,沿冠脉左旋支位置与方向切开心包,分离冠脉左旋支约2~3 cm,近心端放置合适的电磁流量计探头(2.0~2.5 mm),连接 MFV-3200 电磁流量计,用于测量冠脉流量;远心端血管下放置气囊(周长 9 mm,长度 20 mm)并固定于心外膜上,气囊另一端经三通与压力换能器相接。向气囊内注入生理盐水(NS),观察气囊内压力、冠脉血流变化,并根据邵耕等^[2]提出的血管流量与血管半径四次方成正比的关系计算血管狭窄程度。沿冠脉前降支位置与方向切开心包,在前降支第一、二分支之间血管段分离约 5 mm,将气囊置于血管下并固定。心尖与心底部固定电极测定心外膜心电图,常规位置皮下固定电极测定 II 导联心电图。缝合犬肌肉筋膜及皮肤切口,待动物清醒后回笼饲养,每天 im 青霉素 1.6×10^6 U,连给 7 d。

比格犬完全恢复后置饲养笼中自由活动,打开植入子开关,经接收器接收信号,测定心电图(ECG)与血压(BP),并将数字信号储存在计算机中。向冠脉前降支部位的气囊注入不同体积的 NS 进行加压,可不同程度地阻断冠脉血流,造成前降支供应区域的急性心肌缺血,通过心外膜电极测定缺血心肌的电生理变化。

2.2 统计方法

实验数据计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;以 t 检验比较造模后与造模前均数差异的显著性。

3 结果

3.1 气囊加压体积对气囊内压力、冠脉流量及冠脉血管直径的影响

实验结果表明,随气囊内加压体积(mL)的增加,气囊内压力(mmHg, 1 mmHg = 0.133 kPa)增加,二者不成线性关系,而是呈多项式关系(方程为

$Y = -0.0008 X^6 + 0.0334 X^5 - 0.5781 X^4 + 4.961 X^3 - 21.491 X^2 + 46.987 X - 29.86$; X 为加压体积, Y 为气囊内压力), 二者相关性较高 ($R^2 = 0.9989$), 见图 1-A; 气囊内压力 (mmHg) 与冠脉流量下降百分数 (%) 亦成多项式关系 (方程为 $Y = -0.0047 X^6 + 0.1752 X^5 - 2.4796 X^4 + 16.419$

$X^3 - 51.331 X^2 + 83.82 X - 46.747$, X 为气囊内压力, Y 为冠脉流量下降百分数), 二者相关性也较高 ($R^2 = 0.9993$), 见图 1-B; 随血管直径缩小, 流量下降, 直径缩小 13% 时, 流量下降达 40%, 而直径缩小 56% 时, 流量下降可达 96%。结果见图 1-C。

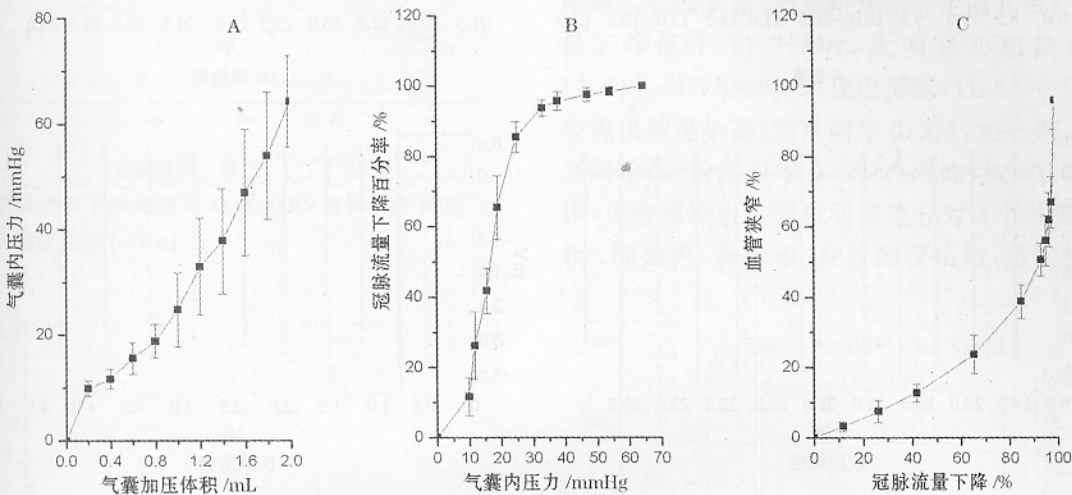


图 1 气囊加压体积对气囊内压力(A)、冠脉流量(B)及冠脉血管直径(C)的影响 ($n=4$)

3.2 冠脉流量下降程度对 ST 段、T 波、R 波电压的影响

随冠脉流量的下降, ST 段电压幅度出现变化, 先出现电压降低 (流量降低小于 41.8% 时), 再呈现电压幅度升高 (流量降低大于 65.4%); T 波电压随

冠脉流量的下降, 电压升高, 流量下降超过 41.8% 时, 电压升高与造模前有明显差异; 当流量下降超过 65.4% 时 R 波电压明显升高, 结果见图 2。ST 段在各时相形态演变见图 3。

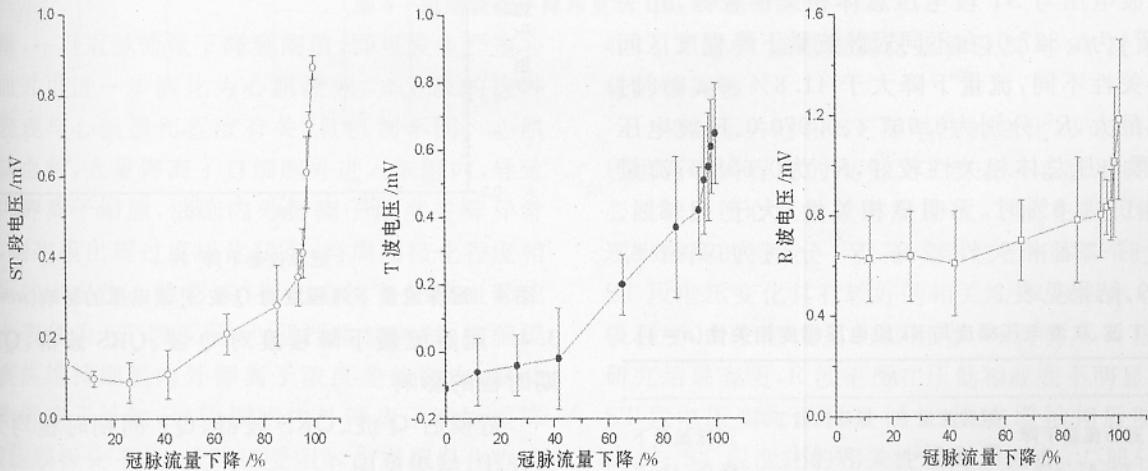


图 2 冠脉流量下降程度对 ST 段、T 波、R 波电压的影响 ($n=4$)

随冠脉流量下降程度的不同, ST 段电压变化率也不同, 在流量下降大于 95.8% 时, 变化率最大, 斜率为 0.75; 而 T 波电压在流量下降为 41.8% ~

95.8% 时变化率最大, 斜率为 0.64; R 波电压在流量下降大于 95.8% 时, 变化率最大, 斜率为 0.61。结果见表 1。

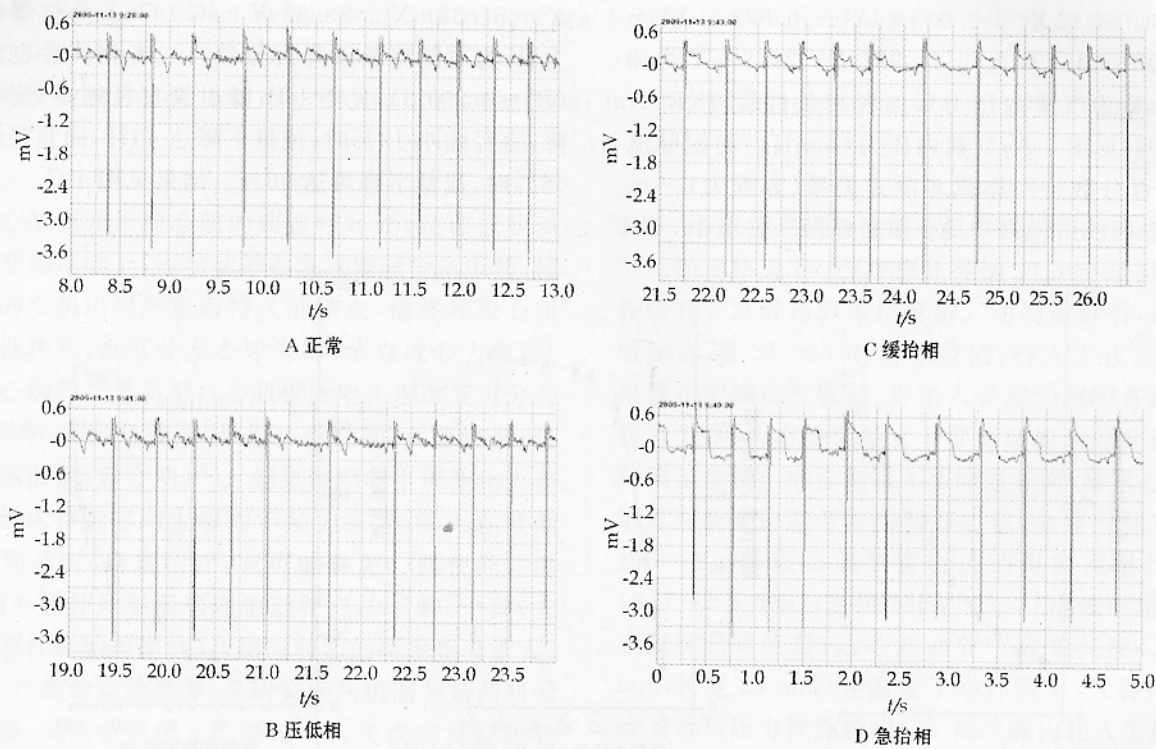


图 3 ST 段电压在各时相的演变

表 1 ST 段、T 波、R 波电压幅度变化斜率(n=4)

波形	电压幅度变化斜率		
	冠脉流量下降 0~41.8%	冠脉流量下降 41.8%~95.8%	冠脉流量下降 95.8%~100%
ST	-0.05	0.37	0.75
T	0.15	0.64	0.24
R	-0.04	0.27	0.61

T 波电压与 ST 段电压总体相关性较好, 相关系数(R^2)为 0.827 0; 在不同冠脉流量下降程度区间二者相关性不同, 流量下降大于 41.8%、95.8% 时相关性最大, R^2 分别为 0.967 4、0.970 0。R 波电压与 ST 段电压总体相关性较好, R^2 为 0.938 0; 流量下降小于 41.8% 时, 无明显相关性, 大于 41.8%、95.8% 时二者相关性较高, R^2 分别为 0.956 8、0.833 9。结果见表 2。

表 2 T 波、R 波电压幅度与 ST 段电压幅度相关性(n=4)

波形	R^2			
	冠脉流量下降 0~41.8%	冠脉流量下 降 41.8%~ 95.8%	冠脉流量下降 95.8%~ 100%	冠脉流量下 降 0~100%
T 与 ST	0.576 2	0.967 4	0.970 0	0.827 0
R 与 ST	0.011 9	0.956 8	0.833 9	0.938 0

3.3 冠脉流量下降程度对 Q 波、P 波电压幅度的影响

在冠脉流量下降 65.4% 后, P 波电压值增加,

与造模前比较差异显著; Q 波电压有增加趋势, 但无统计学差异。结果见图 4。

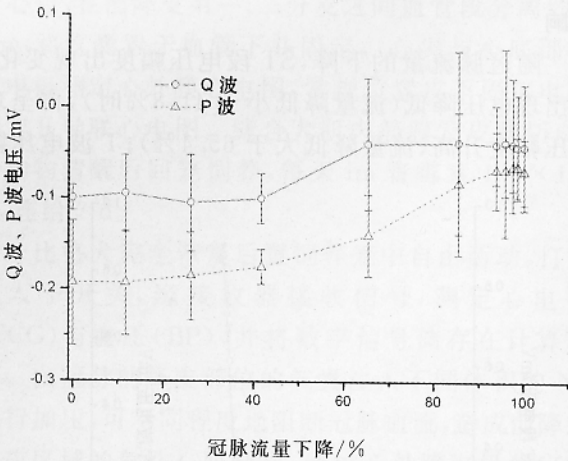


图 4 冠脉流量下降程度对 Q 波、P 波电压的影响(n=4)

3.4 冠脉流量下降程度对 Q 波、QRS 波群、QT 间期时程的影响

造模后 Q 波、QRS 波群, QT 间期时程均无明显变化, 结果见图 5。

3.5 冠脉流量下降程度对心率、BP 的影响

造模后动物心率(HR)有轻微减慢的趋势, 但无统计学差异; 收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、平均动脉压(MABP)均无明显变化。结果见图 6。

4 讨论

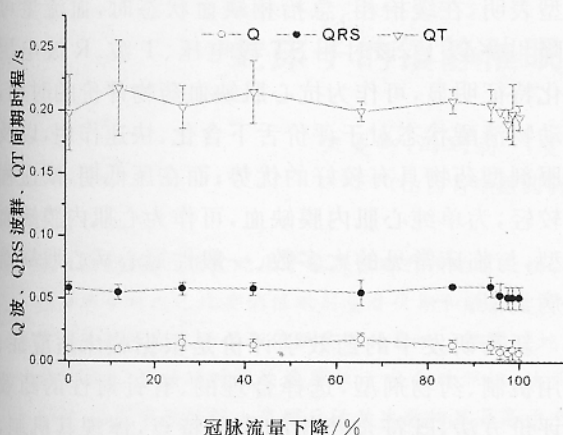


图5 冠脉流量下降程度对Q波、QRS波群、QT间期时程的影响($n=4$)

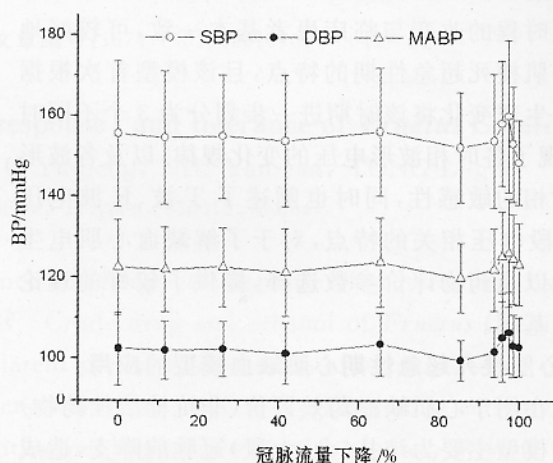
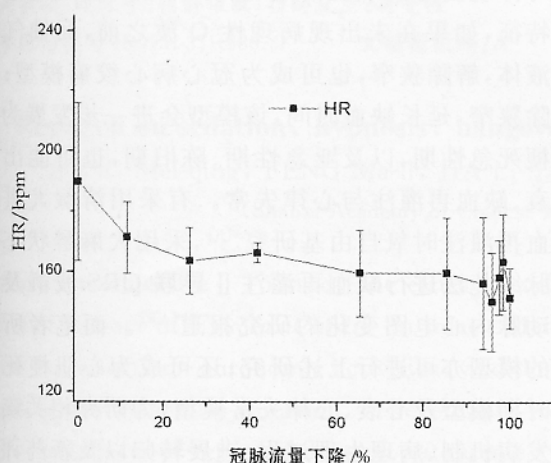


图6 冠脉流量下降程度对HR、BP的影响

阈流量,一旦冠脉流量下降到阈值,即可发生严重心肌缺血并可进一步演化为心肌梗死。ST段的这种不同表现与心肌损伤程度有关,且机制不同。心肌轻度缺血时,大量钾离子自细胞外进入细胞内,导致细胞内钾离子增加,细胞内外钾离子浓度差异异常增高,细胞膜出现过度极化状态,与周围极化程度相对较低的未损伤心肌形成“损伤电流”,使缺血部位导联上表现为ST段压低;心肌严重缺血时,细胞膜部分丧失维持细胞内外钾离子浓度差的能力,使缺血细胞钾离子外溢,导致细胞内外钾离子浓度差降低,细胞膜极化不足(或除极受阻),与周围极化程度相对较高的未损伤心肌形成损伤电流,使缺血部位导联上表现为ST段抬高。心内膜较心外膜更容易缺血,这与心内膜冠脉血管分布特点与受到的室壁压力较大有关^[2]。当冠脉供血不足时,首先心内膜缺血,这种缺血为一般性缺血,程度较轻,随着缺血的进一步加剧,外膜也开始缺血,成为严重缺血。

4.1 ST段电压幅度变化特点

在心肌梗死动物模型的效应评价中,ST段电压幅度常作为主要的评判指标。ST段表示心室缓慢复极的过程,ST段抬高程度与抬高点数可作为心肌梗死范围的间接判断指标。本研究结果表明,冠脉流量下降程度与缺血心肌的ST段电生理变化不成简单的直线关系,而是呈现出一定的非线性特征,流量降低于11.7%时,无明显心肌缺血,而于11.7%~41.8%时,表现出压低,41.8%~95.8%时表现出缓慢抬高(抬高斜率0.37),大于95.8%时则急剧抬高(抬高斜率0.75)。因此,从ST段变化规律,可将该缺血过程较明显地分为3个时相,即压低相、缓抬相、急抬相。发展到缓抬相、急抬相均需要

4.2 T波、R波电压变化规律及其与ST段电压变化的相关性

相对于各时相ST段电压的变化,T波、R波电压也有不同程度的改变。T波表示心脏复极程度,心肌缺血使心肌复极时间延长,T波在压低相即表现出抬高的特点,一直持续到急抬相,整个过程与ST段电压变化具有较好的相关性;R波表示心脏除极程度,由于急性损伤型阻滞,可出现高R波。本研究结果表明,R波电压在压低相改变不明显,并与ST段电压变化无明显相关性;在缓抬相后明显升高,与ST段变化的相关性较好。因此,心肌轻度缺血状态时,ST段、T波电压更加敏感,更具有优势,在缓抬相、急抬相,R波电压同样可作为疗效评价指标。同时ST段电压在急抬相、T波电压在缓抬相、R波电压在急抬相变化率最大,提示该指标在该时期敏感性更高。II导联心电图ST段、T波受呼吸、体位、精神状态、神经兴奋程度等诸多因素的影响可

表现出正负、双向等不同特点,因此缺血后表现可不一致,其偏移程度也可作为判断指标之一,但偏移幅度较小,不利于模型及效应评价(资料未公开)。Q波表示室间隔的除极,该模型中Q波电压与时程在各时相无明显变化,提示未发生心肌梗死,同时QRS波群,QT间期时程在各时相无明显变化。

4.3 心肌梗死超急性期心肌缺血模型与临床心肌梗死疾病的相似性

临床患者急性心肌梗死可分为4个时期:超急性期、急性期、亚急性期(近期)、陈旧期。超急性期具有T波高大、ST段电压抬高,QRS波群振幅增加,无病理性Q波的特点,患者在该期如果得到及时治疗可不发生心肌梗死。本研究建立的心肌梗死超急性期心肌缺血模型ST段电压、T波电压、Q波电压及时程的改变与临床患者基本一致,可较好地反应心肌梗死超急性期的特点,且该模型首次根据心肌电生理变化将该时期进一步划分为3个不同时相,发现了各时相波形电压的变化规律,以及各波形在各时相的敏感性,同时也阐述了T波、R波电压与ST段电压相关的特点,对于了解缺血心肌电生理变化以及药物评价参数选择,提供了较好的理论与实验基础。

4.4 心肌梗死超急性期心肌缺血模型的应用

现在用于心肌缺血药效评价(非抗栓溶栓药物)的动物模型主要为结扎(犬、大鼠)冠脉前降支,造成心肌缺血梗死的方法,但该方法实际上是心肌梗死模型,不能完全体现与代表冠心病、心绞痛,以及心肌梗死超早期的临床病症特征。常规冠心病、心绞痛、心肌梗死超早期为血管的不完全闭塞,而心肌梗死模型则为完全闭塞,药物难以通过,因此心肌梗死模型与临床慢性心肌缺血情况不符。而用药物诱发冠脉痉挛的方法,虽然冠脉未完全闭塞,但是该模型仅能反映变异性心绞痛的部分特点,且采用大鼠与犬进行电生理与血流动力学的研究,均需在麻醉状态下进行;采用兔进行研究,可不麻醉,但兔本身血压波动较大,难以反映疾病发生、发展过程的实际特征。采用遥控实时测定技术,可对实验犬进行清醒状态的电生理、血流动力学指标的连续测定,克服了上述缺点;同时清醒动物神经、精神状态及活动、机体器官功能与反射均处于正常,没有麻醉状态时的抑制。本研究中所用的心肌梗死超急性期心肌缺血

模型表明,在缓抬相、急抬相缺血状态时,血流量可下降40%以上,该时相ST段电压、T波、R波电压变化特征明显,可作为抗心肌缺血药物评价的时相,且动物清醒状态对于评价舌下含化、快速作用,以及口服剂型药物具有较好的优势;而在压低期,缺血程度较轻,为单纯心肌内膜缺血,可作为心肌内膜缺血模型,与临床常见的大多数、一般性冠心病心肌缺血疾病类似。

新药研发中的药效学评价是根据临床适应症、作用机制、药物剂型,选择合理的、有针对性的药效学评价方法,既符合药物的作用特点,体现其机制,又要针对临床适应症的要求,体现其有效性。在本研究中建立的心肌梗死超急性期心肌缺血动物模型可体现出心肌缺血的进程,体现心肌梗死超急性期特征,如果在未出现病理性Q波之前,回抽气囊内液体,解除狭窄,也可成为冠心病心绞痛模型;不解除狭窄,延长缺血时间,该模型会进一步发展为心肌梗死急性期,以及亚急性期、陈旧期,也可能出现心衰、缺血再灌注与心律失常。有采用清醒犬进行缺血再灌注时氧自由基研究^[3],采用犬麻醉状态或冠脉结扎法进行缺血再灌注II导联QRS波群及冠状动脉内心电图变化的研究报道^[4-5]。而笔者所建立的模型亦可进行上述研究;还可成为心肌梗死其他时期模型及心衰、心律失常模型,为研究相关疾病的发病机制、病理生理过程、进展转归以及新药评价方法等提供较好的研究基础。清醒动物心肌梗死超急性期的时限与恢复、心脏功能、血流动力学特点、生化特征、不同药物对各时相的作用特点与差异性,以及作为其他疾病模型的特点尚需进一步研究。

参考文献

- [1] 陈文彬, 王友赤. 诊断学[M]. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 509.
- [2] 邵耕, 林传骧, 汪丽蕙. 现代冠心病[M]. 第一版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1994: 25.
- [3] 李小鹰, McCay P B, Zughaib M, 等. 清醒犬心肌缺血再灌注损伤中的氧自由基假说评价[J]. 中华心血管病杂志, 1994, 22(3): 212-215.
- [4] 潘伟民, 叶红华, 蒋建设, 等. 犬急性心肌缺血冠状动脉内心电图的变化[J]. 心电图杂志, 2000, 19(3): 147-149.
- [5] 汪进益, 范慧敏, 刘中民. 犬心肌缺血再灌注损伤心电图II导联QRS波群的演变[J]. 中国实验动物学报, 2007, 15(2): 95-98.

(收稿日期 2009-12-14)