

• 试验研究 •

## 狭窄冠脉致犬心肌缺血模型在清醒与麻醉状态下的比较

徐向伟, 王维亭, 赵专友, 何小云, 汤立达

天津药代动力学与药效动力学省部共建国家重点实验室, 天津 300193

**摘要** **目的:** 比较狭窄冠状动脉导致心肌缺血模型犬在麻醉和清醒状态下的差异, 及药物治疗的差异。**方法:** 在无菌条件下给犬心外膜安置心电电极、血压导管、信号发射器并分离冠状动脉前降支, 放置动脉压迫环。手术恢复期后, 动物按正交设计给予处置: 分别在清醒与麻醉状态下狭窄冠状动脉, 进行模型组和硝酸甘油治疗组的观察。主要监测心外膜心电图 ST 段、血压、心率、体温。**结果与结论:** 麻醉犬心率明显高于清醒犬, 冠脉狭窄后麻醉及清醒犬心电图 ST 段均明显升高; 硝酸甘油治疗的效果, 清醒犬较麻醉犬起效快, 维持时间长。

**关键词** 麻醉; 清醒; 冠状动脉狭窄; 心肌缺血

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2010) 01-0046-05

## Comparison on difference of myocardial ischemic models induced by coronary artery stenosis between conscious and anesthetic dogs

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

Tianjin State Key Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Tianjin 300193, China

**Abstract Objective:** Using model of myocardial ischemia by coronary artery stenosis with artery rings, the difference between anesthetized and conscious dogs, as well as drug treatment, was compared. **Methods:** Under sterile conditions, electrode of epicardial ECG, catheter of blood pressure, and the signal transmitter were imbedded in Beagle dogs, and the artery rings were placed on anterior descending coronary artery. After surgery, the coronary artery stenosis was made in anesthetized or conscious state according to orthogonal design, the therapeutic effect of nitroglycerin or vehicle was observed. Data of epicardial ECG ST-segment, blood pressure, heart rate, and body temperature were acquired and analyzed. **Results and Conclusion:** Heart rate was higher in anesthetic dogs than that in conscious dogs. Epicardial ECG ST-segment was increased both in conscious and anesthetic dogs significantly after coronary artery stenosis. Therapeutic effects of nitroglycerin provide faster onset of action and longer time in conscious dogs compared with anesthetic dogs.

**Keywords** anesthetic; conscious; coronary artery stenosis; myocardial ischemia

心肌缺血是多种心血管疾病的主要病理基础, 也是主要致死因素之一。在心血管疾病研究中, 心肌缺血的动物模型被广泛用于发病机制和药物治疗研究。复制动物心肌缺血模型的方法主要是结扎冠状动脉法; 20 世纪 90 年代初, 建立了体外可控式的心肌缺血模型<sup>[1]</sup>, 将梗阻器安装在冠状动脉分支上, 通过导管充气或充水时, 梗阻器膨胀, 压迫冠状动脉分支, 形成缺血, 抽气或抽水后, 缺血缓解。根据本实验室以往资料, 结扎冠状动脉主干死亡率高, 尤其在大动物的长期实验中必须增加动物的使

用量, 以保证每组获得足够的样本量, 所以每组样本数不易控制, 组间差异过大; 而且受条件所限, 只能在麻醉条件下进行抗心肌缺血评价, 因此麻醉剂量、呼吸机的使用、创伤刺激等都成了影响药效评价的因素。而清醒动物并不受这些因素的干扰。本实验室参考上述体外可控式的心肌缺血模型方法结合应用遥控生理信号采集系统, 用 Beagle 犬建立了可控冠脉狭窄程度的清醒自由活动心肌缺血模型。试验结束后解除冠状动脉狭窄, 动物又可恢复正常状态, 药物代谢完全后还可进行下一轮实验。本实

收稿日期: 2010-01-20

基金项目: 国家科技支撑计划项目(N0. 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: 徐向伟(1971—)男, 天津人, 副研究员, 学士学位, 主要从事心血管药理方面的研究。联系电话: (022)23006858, E-mail: xuxw@tjipr.com

验目的是通过对比用该方法形成的心肌缺血模型在麻醉和清醒状态下的差异,探讨清醒动物模型的优势,对该模型的应用提供实验资料。

## 1 材料

### 1.1 试验动物

Beagle 犬,安徽省阜阳市维光实验动物中心提供,许可证号 SCXK(皖)06-001 号,饲养在由中央空调系统调控的 2.5 m×1.5 m 的单间饲养室内,室温(26±2)℃,观察两周以上备用。

### 1.2 药品与试剂

硝酸甘油片,北京益民药业有限公司生产,每片质量约 50 mg,含硝酸甘油 0.5 mg,批准文号:国药准字 H11021022,临用前将药片研碎,按动物体重称取药物,置于舌下含服。

### 1.3 仪器

大动物植入子及 RMC-1 型无线信号接收器均由美国 DSI(Data Sciences International)公司生产。

## 2 方法

### 2.1 手术制备

成年健康 Beagle 犬 5 只,雌雄兼用,体质量(9.4±0.7) kg(8.5~10 kg),iv 3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉。无菌条件下,延腹中线切开皮肤,打开腹腔,将发射装置置于腹壁上;在腹股沟处切开皮肤,分离股动脉,将发射装置的动脉插管经皮下引至腹股沟处,插入股动脉,以测量血压。气管插管接 SC-5 型电动呼吸机,行人工正压呼吸。左侧第四肋间开胸,暴露心脏,剪开心包,分离冠状动脉前降支一段血管,于其下放置乳胶制血管压迫环(周长 9 mm,长 20 mm);将发射装置的心电电极经皮下引入胸腔,一个固定在拟缺血心肌表面,一个固定在心底部,测定心外膜心电图;然后缝合心包,闭合胸腔,将压迫环的连接管从胸腔经皮下引至背部肩胛骨之间,以备狭窄。皮下埋置体温电极,最后将发射装置固定在腹腔壁上,缝合肌腱,关闭腹腔。回笼饲养。

术后犬每天 im 青霉素 8×10<sup>5</sup> U/只,连续 10 d,第 10 天后拆线,开始第一次实验。实验时将动物(或麻醉动物)置于安装有接收器的 80 cm×80 cm×80 cm 特制观察笼中,30 min 后采样做正常对照,然后在 5 min 内向血管压迫环的连接管中缓慢注射 1.6 mL 生理盐水,以狭窄冠脉(约狭窄 60%)<sup>[2]</sup>,注射结束 5 min 后给予不同的药物或对照,药后观察 30

min。正常观察组不狭窄冠脉,只采集数据。麻醉方法为 iv 戊巴比妥钠 30 mg/kg。

### 2.2 实验分组和给药方案

实验分 5 组,5 只动物按 5×5 完全正交拉丁方安排给予动物处置,见表 1。

表 1 动物处置方法正交试验设计

Table 1 Orthogonal design of the experiment

| 动物号 | 第一次 | 第二次 | 第三次 | 第四次 | 第五次 |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1   | A   | E   | D   | C   | B   |
| 2   | B   | A   | E   | D   | C   |
| 3   | C   | B   | A   | E   | D   |
| 4   | D   | C   | B   | A   | E   |
| 5   | E   | D   | C   | B   | A   |

A、正常观察:做正常对照 10 min 后观察 30 min;

B、清醒模型:做正常对照后狭窄冠脉,10 min 后再观察 30 min;

C、清醒治疗:做正常对照后狭窄冠脉,10 min 后舌下含服硝酸甘油 50 μg/kg 观察 30 min;

D、麻醉模型:将动物麻醉,采集正常对照数据后狭窄冠脉,10 min 后再观察 30 min;

E、麻醉治疗:将动物麻醉,采集正常对照数据后狭窄冠脉,10 min 后舌下含服硝酸甘油 50 μg/kg 观察 30 min。

记录开始给药后不同时间点的心外膜心电图、平均动脉压(MAP)及心率(HR)。实验结束后将血管压迫环内的水抽出,使冠脉血流恢复,动物回饲养室饲养。两次实验间隔一周。

### 2.3 数据处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,以  $t$  检验比较给药前后和组间均数差异的显著性。

## 3 结果

### 3.1 清醒犬狭窄冠脉后的变化

冠脉狭窄后,动物自主活动明显减少,有的甚至蜷卧不动,心电图 ST 段明显上升,血压心率有不同程度的波动。见表 2。

### 3.2 狭窄冠脉导致心肌缺血清醒犬与麻醉犬的比较

清醒组血压和心率在冠脉狭窄后有所波动,但与正常值无明显差异,体温无明显变化;动物在麻醉后与清醒组比较,心率明显加快,血压有上升的趋势,麻醉组血压和心率在冠脉狭窄后无明显变化,体温逐渐下降,见表 3。

在冠脉狭窄 60%后 10 min 内动物 ST 段明显上升,10 min 后维持在一个较高的水平并缓缓下降,动物均表现出相同的变化趋势,变化的幅度无明显差异,见图 1。

表 2 清醒犬狭窄冠脉前降支后心电、血压、心率和体温的变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 2 Effect of anterior descending coronary artery stenosis on ECG, blood pressure and body temperature in conscious dogs ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

| 组别    |     | ST/mV       | MAP/mmHg | HR/bpm | 体温/℃     |
|-------|-----|-------------|----------|--------|----------|
| 正常对照组 | 正常值 | 0.27±0.07   | 94± 3    | 111± 7 | 38.8±0.3 |
|       | 给药前 | 0.25±0.08   | 94± 5    | 112± 5 | 38.8±0.3 |
| 清醒模型组 | 正常值 | 0.25±0.14   | 94±11    | 112±15 | 38.7±0.2 |
|       | 给药前 | 1.11±0.45** | 93±10    | 113±17 | 38.7±0.2 |

与正常值配对比较: \*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs normal pair

表 3 犬狭窄冠脉前降支对血压、心率和体温的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 3 Effect of anterior descending coronary artery stenosis on blood pressure, heart rate and body temperature in dogs ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

| 狭窄后的时间/min | MBP/ mmHg |       | HR/ bpm |        | 体温/℃     |            |
|------------|-----------|-------|---------|--------|----------|------------|
|            | 清醒组       | 麻醉组   | 清醒组     | 麻醉组    | 清醒组      | 麻醉组        |
| 正常值        | 94±11     | 104±9 | 112±15  | 167±13 | 38.7±0.2 | 38.3±0.3   |
| 5          | 93±10     | 103±9 | 113±17  | 164± 8 | 38.7±0.3 | 38.1±0.7   |
| 10         | 94±12     | 104±9 | 118±19  | 166± 5 | 38.8±0.1 | 37.7±0.4** |
| 15         | 91± 8     | 103±9 | 114±14  | 165± 5 | 38.7±0.2 | 37.2±0.4** |
| 20         | 90± 9     | 102±7 | 116±25  | 165± 4 | 38.7±0.1 | 37.2±0.6** |
| 25         | 92±10     | 101±9 | 118±22  | 167± 1 | 38.6±0.2 | 36.9±0.4** |
| 30         | 92± 9     | 99±7  | 114±23  | 164± 5 | 38.6±0.2 | 36.7±0.5** |

与正常值配对比较: \*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs normal pair

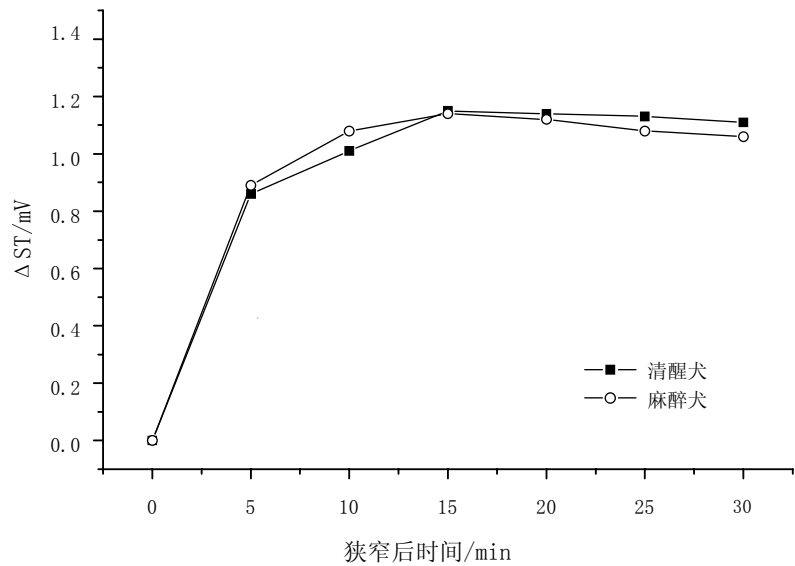


图 1 清醒与麻醉犬狭窄冠状动脉前降支后心外膜心电图 ST 段的变化

Fig. 1 Comparison on changes of epicardial ECG ST-segment of anterior descending coronary artery stenosis between conscious dogs and anesthetic dogs

3.3 硝酸甘油对心肌缺血清醒犬与麻醉犬治疗作用的比较

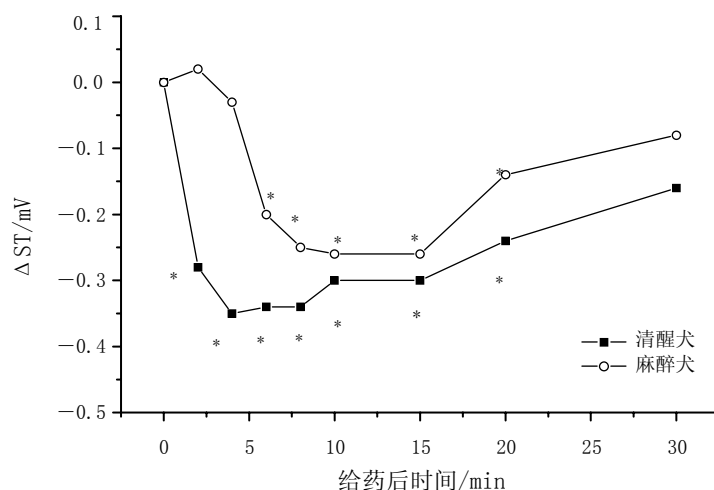
在冠脉狭窄 60% 5 min 后给予舌下含服硝酸

甘油 50 μg/kg 治疗, 在麻醉组和清醒组有明显的不同。清醒组给药后 2min 与给药前比较, ST 段即明显降低, 4~6 min 左右降至最低, 最大平均降

低 0.35 mV, 作用维持至给药后 20 min; 在麻醉模型组, 硝酸甘油则在给药后 6 min ST 段才明显降低, 10~15 min 左右降至最低, 最大平均降低 0.26 mV, 作用维持至给药后 20 min。清醒与麻醉动物比较, 硝酸甘油的起效更快, 维持时间也有更长的趋势,

作用强度无显著性差异, 见图 2。

清醒模型犬舌下含服硝酸甘油后血压明显下降, 心率明显加快, 体温无明显变化; 麻醉犬含服硝酸甘油后血压明显下降, 体温变化与模型组同样明显降低, 心率变化不大, 见表 4。



与给药前配对比较, \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs pair before administration

图 2 硝酸甘油对清醒与麻醉犬心肌缺血犬心外膜心电图 ST 段的影响

Fig. 2 Comparison on effect of nitroglycerin on epicardial ECG ST-segment in myocardial ischemia between conscious and anesthetic dogs

表 4 硝酸甘油对清醒与麻醉犬心肌缺血犬血压、心率和体温的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 4 Effect of nitroglycerin on blood pressure, heart rate, and body temperature in myocardial ischemia of conscious and anesthetic dogs ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

| 硝酸甘油<br>药后时间/min | MBP/ mmHg |          | HR/ bpm    |          | 体温/℃       |              |
|------------------|-----------|----------|------------|----------|------------|--------------|
|                  | 清醒组       | 麻醉组      | 清醒组        | 麻醉组      | 清醒组        | 麻醉组          |
| 正常值              | 95 ± 4    | 100 ± 7  | 115 ± 12   | 166 ± 20 | 38.7 ± 0.1 | 37.7 ± 0.5   |
| 给药前              | 93 ± 6    | 101 ± 6  | 114 ± 12   | 170 ± 16 | 38.7 ± 0.1 | 37.5 ± 0.4   |
| 2                | 87 ± 12   | 94 ± 10  | 116 ± 12   | 167 ± 17 | 38.6 ± 0.1 | 37.5 ± 0.4   |
| 4                | 83 ± 11*  | 92 ± 4*  | 120 ± 12** | 169 ± 19 | 38.7 ± 0.1 | 37.5 ± 0.4   |
| 6                | 81 ± 12*  | 93 ± 4*  | 123 ± 15*  | 170 ± 18 | 38.7 ± 0.1 | 37.4 ± 0.4*  |
| 8                | 82 ± 8*   | 91 ± 3*  | 122 ± 12*  | 168 ± 18 | 38.6 ± 0.1 | 37.3 ± 0.3*  |
| 10               | 88 ± 9    | 93 ± 5** | 123 ± 12** | 169 ± 17 | 38.6 ± 0.1 | 37.2 ± 0.3** |
| 15               | 91 ± 7    | 96 ± 5*  | 124 ± 21   | 163 ± 25 | 38.7 ± 0.1 | 37.1 ± 0.3** |
| 20               | 94 ± 6    | 100 ± 6  | 123 ± 17   | 169 ± 17 | 38.7 ± 0.2 | 36.9 ± 0.5** |
| 30               | 94 ± 6    | 99 ± 6   | 117 ± 11   | 169 ± 17 | 38.6 ± 0.2 | 36.7 ± 0.6** |

与给药前配对比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs pair before administration

#### 4 讨论

复制心肌梗死模型所选用的动物最常用的是犬。狗的体积大小适中, 性情温顺易于训练。但狗的冠状动脉变异多, 侧支吻合丰富, 室间隔动脉特别发达。因此通过开胸结扎不同部位冠状动脉建立

急性心肌梗死模型沿用了多年, 这种方法可以通过目测将流经拟缺血区的血管全部结扎, 但这样也只能保证每个样本的缺血区大体相同, 个体间仍存在很大差异, 而且死亡率高, 增加了动物的使用数量; 另外在麻醉开胸状态下采集的血流动力学数据也只

能作参考,对临床的指导意义不大。

Popovsky 等<sup>[3]</sup>使用了一种 Ameroid 缩窄器,这是一种遇水膨胀的纤维素环,这种纤维素环套在预期闭塞的冠状动脉上,环外边以金属圈(如不锈钢)固定起来,手术后两周或更长的时间内可将冠状动脉逐渐闭塞。这种模型制造较易,动物生存率高。但该模型仍存在缺血区差异大的问题。为此有学者建立了体外可控式的心肌缺血模型,将气囊式或者液压式梗阻器安装在分离出来的冠状动脉分支上,连接在梗阻器上的导管则通过皮下引至肩胛骨之间固定。通过导管充气或充水时,梗阻器膨胀,压迫冠状动脉分支,形成缺血;抽气或抽水后,血管再通,缺血缓解<sup>[1,4]</sup>。

本研究参照上述可控式的心肌缺血模型,结合遥控生理信号采集系统的应用复制出清醒自由活动可控式心肌缺血模型,并通过正交设计的给药方式实现了在同一动物体内,同一冠脉位置及同样大小的缺血心肌上评价不同的治疗方法或药物,最大限度减少了个体差异给实验结果带来的影响。在此平台上,对麻醉和清醒动物的一些生理指标进行了初步的比较。

在清醒动物模型上,狭窄冠脉后可观察到与临床类似的症状:疲倦少动,心电图的改变,心率血压的波动等等。给予硝酸甘油后,也与临床效果一致:可降低心电图 ST 段电位,降低血压,由于血压下降的反射性作用,心率通常稍增快;舌下给药约 1~3 min 起效、5 min 达到最大效应,作用持续 10~30 min。

动物麻醉后表现出心率加快,体温降低,与文献报道<sup>[5]</sup>基本一致,这与麻醉初期反射性交感神经

兴奋及麻醉后新陈代谢减缓有关。因此硝酸甘油给药后血压明显下降,麻醉组并未像清醒组那样有明显的反射性心率加快;且与清醒组比较,硝酸甘油的起效时间慢,药效维持时间短。

综上所述,清醒心肌缺血动物模型与麻醉模型相比,与临床拟合度更高,更能反映出药物的作用特点;该平台可对清醒自由活动的模型动物进行药物评价工作,提高动物的使用效率,并最大限度减少了个体差异给实验结果带来的影响。目前,临床上大多数用药,尤其是抗心肌缺血的中药制剂,均以口服为主,该模型却仅能应用于心肌缺血急救性给药的研究,应在此模型的基础上,延长冠脉狭窄时间,对冠脉长期狭窄造成的影响进行观察,扩大该模型的评价范围。

#### 参考文献:

- [1] Wynsen J C, Kenny D, Brooks H L, *et al.* Regional myocardial function after repetitive brief episodes of ischemia: effect of altering the duration of the reperfusion period [J]. *Am Heart J*, 1991; 121(5): 1331-1338.
- [2] 王维亭, 徐向伟, 赵专友, 等. 清醒 Beagle 犬心肌梗死超急性期缺血模型研究[J]. *现代药物与临床*, 2010, 25(1):60-64.
- [3] Popovsky J. Gradual occlusion of mesenteric vessels with ameroid clamp [J]. *Arch Surg*, 1966, 92(2):202-205.
- [4] Lee B H, Kim W H, Choi M J, *et al.* Chronic heart failure model in rabbits based on the concept of the Bifurcation/Trifurcation coronary artery branching pattern [J]. *Artif Organs*, 2002, 26(4):360-365.
- [5] 蒋文燕, 易 勇, 等. 戊巴比妥钠麻醉持续时间对犬血压、体温、呼吸和心电的影响[J]. *四川生理科学杂志*, 2008, 30(1):15-17.