

$\beta 1$  调节 ASMCs 增殖和凋亡的一条重要途径<sup>[14]</sup>。本实验通过 ERK 特异性抑制剂干预后, TGF- $\beta 1$  诱导的细胞增殖是明显减少的, 同时 Western blot 法检测发现胆固醇剔除剂  $\beta$ -环糊精破坏微囊后, 使 p-ERK 明显增加, 促进了细胞的增殖, 且在 TGF- $\beta 1$  促进 ASMCs 增殖过程中, caveolin-1 蛋白表达量是明显下降的。这些都表明 caveolin-1 在 TGF- $\beta 1$  诱导 ASMC 增殖过程中发挥着负性调控作用。

此外, 实验中用透射电镜观察到哮喘大鼠 ASMCs 上的微囊较正常组含量匮乏, 结构破坏严重, Western blot 法检测到哮喘大鼠 ASMCs 上的 caveolin-1 表达量明显减少, 说明 caveolin-1 在维持了正常 ASMCs 细胞膜的完整性。

综上所述, caveolin-1 可以抑制 TGF- $\beta 1$  刺激 ASMCs 的增殖过程, ERK 通路介导了该过程。这将有助于阐明 caveolin-1 在 ASMCs 中的生理功能, 为进一步明确 TGF- $\beta 1$  的信号转导途径提供新的切入点。

#### 参考文献

- 1 Rybin VO, Xu X, Steinberg SF. Activated protein kinase C isoforms target to cardiomyocyte caveolae: stimulation of local protein phosphorylation[J]. Circ Res, 1999, 84(9): 980-988
- 2 Palmans E, Kips JC, Pauwels RA. Prolonged allergen exposure induces structural airway changes in sensitized rats[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2000, 161(2): 627-635
- 3 Munakata M. Airway remodeling and airway smooth muscle in asthma[J]. Allergol Int, 2006, 55(3): 235-243
- 4 Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanism of disease persistence and progression[J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22(1): 789-

- 815
- 5 Halayko AJ, Tran T, Gosens R. Phenotype and functional plasticity of airway smooth muscle: role of caveolae and caveolin-1[J]. Proc Am Thorac Soc, 2008, 5(1): 80-88
- 6 Miyasato SK, Loeffler J, Shohet R, et al. Caveolin-1 modulates TGF- $\beta 1$  signaling in cardiac remodeling[J]. Matrix Biol, 2011, 30(5-6): 318-329
- 7 Miyazono K, Dijke PT, Heldin CH, et al. TGF- $\beta$  signaling by smad protein[J]. Adv Immunol, 2000, 75(1): 115-157
- 8 Cohell P, Rajah R, Rosenbloom J, et al. IGFBP23 mediates TGF- $\beta$ -induced cell growth in human airway smooth muscle cells[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2000, 278(3): 545-551
- 9 Puddicombe SM, Richter A, Richter H, et al. Increased expression of P21(waf) cyclin2 dependent kinase inhibitor in asthmatic bronchial epithelium[J]. Am J Respir Cell Mol, 2003, 28(1): 61-68
- 10 Ward KR, Crew GM, Kenyon NJ, et al. TGF- $\beta$  causes airway fibrosis and increased collagen I and II mRNA in mice[J]. Thorax, 2003, 58(9): 772-777
- 11 Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF- $\beta$  family signaling[J]. Nature, 2003, 425(6958): 577-584
- 12 Schmierer BM, Hill CS. TGF $\beta$ -SMAD signal transduction: molecular specificity and function flexibility[J]. Nat Mol Cell Biol, 2007, 8(12): 970-982
- 13 Zhao B, Wang Q, Du J, et al. PICK1 promotes caveolin-dependent degradation of TGF- $\beta$  type I receptor[J]. Cell Res, 2012, 22(10): 1467-1478
- 14 Bai J, Liu XS, Xu YJ, et al. Regulation of cell proliferation and apoptosis by ERK signaling pathway in airway smooth muscle cells of rats[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biol, 2007, 23(1): 38-44

(收稿日期: 2014-01-22)

(修回日期: 2014-03-18)

## 经胸腔镜建立巴马小型猪慢性心肌缺血模型

张波 陈保富 马德华 王益兵 叶敏华 夏利龙 陈宇 王斌 王铮 朱成楚

**摘要** 目的 本研究目的在于探索采用胸腔镜微创技术建立小型猪慢性心肌缺血模型。**方法** 选用实验用巴马小型猪, 采用胸腔镜技术, 在左冠状动脉回旋支(left circumflex coronary artery)主干放置 Ameroid 缩窄环, 术后第 6 周经选择性冠状动脉造影, 了解冠脉狭窄程度及侧支循环形成并行心脏核素显像了解心肌缺血情况, 以对胸腔镜下建立小型猪慢性心肌缺血模型进行评估。**结果** 造模成功率 80% (8/10), 手术时间  $45.3 \pm 7.1$  min, 术中出血量  $32.5 \pm 11.3$  ml。术后第 6 周造影显示 6 头左回旋支完全闭塞, 见侧支循环形成, 2 头狭窄程度大于 70%。心肌灌注显像见左后下壁明显缺损。**结论** 采用胸腔镜方式应用 Ameroid

基金项目: 浙江省实验动物科技计划项目(2011C37083)

作者单位: 317000 浙江省台州医院心胸外科(张波、陈保富、马德华、叶敏华、夏利龙、陈宇、朱成楚), 麻醉科(王益兵), 心内科(王斌), 核医学科(王铮)

通讯作者: 朱成楚, 电子信箱: zhucc669266@163.com

缩窄环建立小型猪慢性心肌缺血模型技术微创、可行,模型均一、稳定,适用于慢性心肌缺血模型相关实验研究。

**关键词** 慢性心肌缺血 小型猪 胸腔镜

[中图分类号] R33 [文献标识码] A

**Establishment of a Bama Miniature Swine Model of Chronic Myocardial Ischemic Models by Thoracoscopy.** Zhang Bo, Chen Baofu, Ma Dehua, et al. Taizhou Hospital of Zhejiang Province, Zhejiang 317000, China

**Abstract Objective** To explore the method to establish miniature swine model of chronic myocardial ischemia using thoracoscopic minimally invasive techniques. **Methods** A ameroid constrictor was placed around the proximal of left circumflex coronary artery (LCX) in Bama miniature swine by thoracoscopy. The chronic myocardial ischemia was formed by gradual occlusion of the LCX. Six weeks later, coronary artery angiography (CAG) was performed to evaluate the degree of stenosis. Single - Photon Emission Computed Tomography was used to assess myocardial perfusion. **Results** The success rate of modeling was 80 % (8/10). The operation time was  $45.3 \pm 7.1$  min, and the amount of bleeding was  $32.5 \pm 11.3$  ml. Six weeks later, the CAG analysis showed the total occlusion of the LCX in 6 swines, stenosis degree  $>70\%$  in 2 swines. SPECT showed the obvious myocardial perfusion defects in the left rear wall. **Conclusion** Thoracoscopic minimally invasive techniquesh can be successfully used to construct miniature swines chronic myocardial ischemic models with less injury. This way represents a useful tool for the chronic myocardial ischemia model relevant experimental study.

**Key words** Chronic myocardial ischemia; Miniature swine; Thoracoscopy

小型猪慢性心肌缺血模型是冠状动脉粥样硬化性心脏病实验研究的重要工具。既往国内外常用慢性心肌缺血动物模型有动脉粥样硬化动物模型、机械性心肌缺血模型<sup>[1]</sup>。前者存在模型不稳定不确切等问题,后者多采用正中胸骨劈开或左侧第 3、4 肋间开胸手术方式放置 Ameroid 缩窄环的方法,存在动物福利、手术成功率低、创伤反应大、再次进胸操作困难等问题<sup>[2,3]</sup>。本研究采用胸腔镜微创技术在左回旋支放置 Ameroid 缩窄环建立小型猪慢性心肌缺血模型,提高动物福利、增加模型建立成功率、再次进胸实验性研究可行性,为冠心病的病理生理机制和防治手段等研究提供稳定、有效的动物模型。

### 对象与方法

1. 实验动物:清洁级健康巴马小型猪 10 只,体重  $25.2 \pm 3.5$  kg,由中国泰州实验用小型猪培育基地提供[实验动物许可证号:SCXK(苏)2011-0002]。本研究获浙江省台州医院实验动物伦理委员会批准。

2. 材料与设备:Ameroid 缩窄环 (Ameroid constrictor, Research Instrument SW, USA, 图 1), OEC9800 数字减影机 (美国 GE 公司); Narkomed 2C 麻醉机 (德国 Draeger 公司); 心电图监护仪 (HP, 美国); 造影导管 (6FJR 3.5, 美国 Metronic 公司)。

3. 模型制作方法:术前 12h 禁食禁水,氯胺酮针  $35\text{mg/kg}$  联合地西洋针  $1.5\text{mg/kg}$  为基础麻醉;麻醉生效后,将小型猪固定于手术台上,建立耳缘静脉,纤维支气管镜引导下气管插管,接呼吸机,吸入  $2\% \sim 3\%$  异氟醚,呼吸频率 18 次/分,潮气量  $10\text{ml/kg}$ ,术中丙泊酚针  $2\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ 、枸橼酸芬太尼针  $2\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{h})$  静脉给药维持麻醉。

将小型猪置于平卧位,抬高左侧约  $45^\circ$ , 固定。于左侧腋中线第 4 肋间做一约 2cm 切口插入 Throca 及胸腔镜,分别于

左侧锁骨中线偏前第 2 肋间和左侧锁骨中线第 4 肋间做长约 2cm 的操作孔 (图 1)。膈神经前方打开心包,丝线悬吊牵引心包暴露心脏。丝线结扎左心耳尖部,从第 2 肋间操作孔引出结扎线,暴露左心耳根部房室沟。艾司洛尔控制心率在 70 次/分左右。在房室沟处钝性游离左冠状动脉回旋支 (LCX) 主干近端约  $1.5 \sim 2.0\text{cm}$ 。7 号线轻柔牵拉 LCX,用血管钳夹持 Ameroid 缩窄环 (内径 3.5mm, 外径 9mm, 厚 5mm), 确切将 LCX 套入环内并调整缩窄环侧口的位置,确保放置稳妥,以防止 Ameroid 环的滑脱。切口确切止血,相应切口肋间注射利多卡因行肋间神经阻滞,预留引流管,关胸、鼓肺、排尽胸腔积气,拔除引流管封闭切口。肌内注射长效青霉素 120 万 U。完全清醒,恢复自主呼吸,拔除气管插管,送回动物房,给予标准饮食饲养。

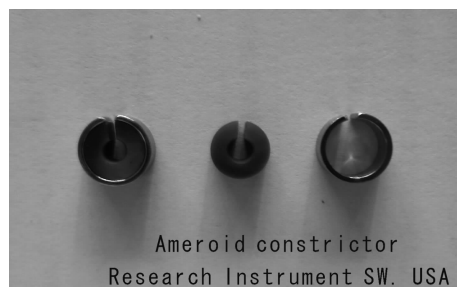


图 1 Ameroid 缩窄环,内圈为酪蛋白材料,外环为钛合金

4. 冠状动脉造影:造模前以及造模后第 6 周行冠状动脉造影,观察血管狭窄及侧支血管生成的程度。采用外科手术方法暴露股动脉,喷洒利多卡因,置入 6F 鞘管,置入 6F JR 3.5 造影导管至左冠状动脉窦,注入碘帕醇,左前斜位投影角度,采用连续电影法观察左回旋支狭窄情况。术后拔除导管及鞘管,穿刺点压迫止血 15min。

5. 心脏核素显像:造模前以及造模后第 6 周行单光子发

射计算机断层扫描(single-photon emission computed tomography, SPECT)检查。静息状态下静脉注射 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI 15mCi,约1h后行左心室心肌血流灌注显像,并重建HSA、HLA及VLA断层,获得心肌灌注显像以及极坐标靶心图。

## 结 果

1. 造模总体情况:巴马小型猪10头,8头造模成功,成功率80%。气管插管窒息死亡1头,手术操作中因心室颤动抢救无效死亡1头。8头手术顺利完成,被成功地制作成慢性心肌缺血模型并长时间存活,手术时间 $45.3 \pm 7.1\text{min}$ 。术中出血量 $32.5 \pm 11.3\text{ml}$ 。术后顺利拔除气管插管,苏醒顺利,3h后完全苏醒,恢复正常。

2. 冠状动脉造影:造模前冠脉造影提示LM、LAD、LCX、RA未见明显狭窄,造影剂通过顺畅(图2A)。造模后第6周行选择性冠状动脉造影术。造影中可见左回旋支近端Amemid缩窄环随心脏节律跳动。造影显示Amemid环处造成血管明显狭窄,造影剂向前缓慢进入,血管显影延迟,变淡,部分见造影剂明显中断,可见前降支或右冠多个细小分支伸向缺血区形成侧支循环。第6周造影显示6头(75.0%)左回旋支完全闭塞(图2B),2头(25.0%)狭窄程度>70%。

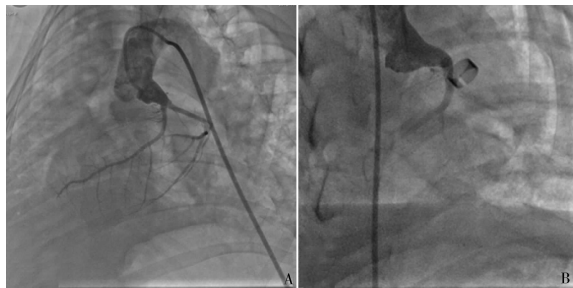


图2 冠状动脉造影结果

A. 造模前检查正常冠脉; B. 造模后第6周检查左回旋支完全闭塞

3. 心脏核素显像:在本实验中小型猪心脏解剖成像方位与人不一致。造模前行心肌灌注SPECT显像见图像清晰,各节段心肌核素分布均匀,未见明显缺血征象(图3A)。造模第6周心肌SPECT显像提示左心室后壁及下壁心肌有不同程度的缺血甚至完全缺血(图3B),部分缺血区域累及后侧壁。

## 讨 论

近年来冠状动脉粥样硬化性心脏病的病理生理机制,以及治疗、新药研发等试验成为研究热点。但是由于其发生发展的复杂性,心肌缺血的缓慢进程,许多研究不能直接在人体上实验。因此,用动物复制

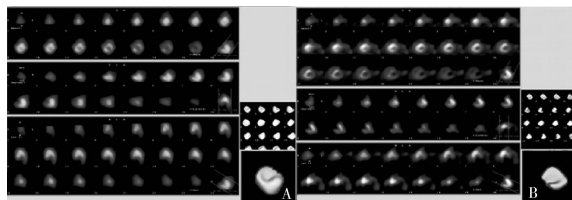


图3 单光子发射计算机断层扫描

A. 造模前检查各心肌核素分布正常,未见明显缺损; B. 造模后第6周见左心室后壁及下壁缺损

出人类心肌缺血工程,建立实验性心肌缺血动物模型是十分必要的<sup>[4]</sup>。当前实验研究多以制备急性心肌缺血动物模型为主,常见方法为冠脉结扎法,这种模型它造成的是心肌急性缺血后的病理过程,应是一种急性反应,而非心肌因慢性缺血而发生的病理改变<sup>[5]</sup>。而慢性心肌缺血动物模型是冠状动脉渐进性阻塞或狭窄,逐渐导致心肌缺血,并由此形成缺血性心肌病变,更加符合缺血性心肌病的临床病理生理过程,适宜各种临床前期研究试验。既往建立慢性心肌缺血动物模型的方法主要有动脉粥样硬化动物模型、机械性心肌缺血模型。但前者存在不可控性、不稳定性、不确定性等问题,后者是在胸骨劈开或左侧第3、4肋间开胸下放置机械性收缩环法。但此方法成功率较低、二次开胸实验困难,严重影响了模型建立以及后续实验研究,而且开胸方法创伤大。

近年胸腔镜技术在临床应用较为广泛,具有操作视野清晰、创伤小、术后恢复快等优点。张海涛等<sup>[6]</sup>应用胸腔镜下丝线环扎法成功地制作不同程度的冠脉狭窄动物模型。为此,笔者将胸腔镜技术引用至小型猪慢性心肌缺血模型的建立。采用胸腔镜微创技术对巴马小型猪左冠状动脉回旋支起始处放置Ameroid缩窄器,利用Ameroid缩窄环内层的酪蛋白遇湿后逐渐膨胀原理,进而逐渐增加对套扎在其中的冠脉的压迫,使得冠脉逐渐缩窄,因而可以很好地模拟临床冠心病患者冠脉逐渐狭窄的慢性进程及缺血引起的病理改变。

本实验建立慢性心肌缺血模型成功率80%,明显高于传统开胸方式造模。术后第6周选择性冠状动脉造影显示LCX明显狭窄,部分完全闭塞。心肌灌注显像见左后下壁,乃至侧壁缺血明显。手术操作时间较传统开放手术长,术中出血量少。但该技术需熟练掌握胸腔镜技术的人员进行操作,技术水平要求较高。在操作方面,首先保证动物麻醉状态稳定,最好采用静吸复合麻醉,条件允许可插双腔管,但操作

难度大,术中维持尽可能低潮气量,控制好心率。其次手术切口选择对操作舒适度影响较大,某种程度决定手术成败,必要可采用四洞法。寻找和分离回旋支是手术成功关键,可提起左心耳房室沟间寻找,暴露后喷射利多卡因或罂粟碱等避免痉挛,注意避免电凝对心肌损伤易造成心室颤动难以抢救。置环过程要轻柔避免损伤冠脉或造成急性心肌梗死,置环成功后可纱布轻压迫创面止血,视情况缝合心包。最后留置输液管,关闭切口后,麻醉师鼓肺排尽积气拔出引流管。

采用胸腔镜方式应用 Ameroid 缩窄环建立小型猪慢性心肌缺血模型技术微创、可行。该方法制备慢性心肌缺血模型成功率高、创伤小、恢复快,术后成活率高,减少胸腔粘连,为二次开胸实验提供可能,且制备模型稳定可靠、结果均一,很好地模拟慢性心肌缺血的发生过程,是研究冠心病病理生理机制和防治手段的有效工具。但该方法需要实验人员具备熟练腔镜技术,实验室具备腔镜设备,因此实验人员根据自己的实验需要和实验条件,量力而行地选择造模

方法。

## 参考文献

- 1 Ammirati E, Cianflone D, Vecchio V, *et al.* Effector memory T cells are associated with atherosclerosis in humans and animal models[J]. *J Am Heart Assoc*, 2012, 1(1): 27-41
- 2 Robich MP, Osipov RM, Chu LM, *et al.* Temporal and spatial changes in collateral formation and function during chronic myocardial ischemia [J]. *J Am Coll Surg*, 2010, 211(4): 470-480
- 3 沈伟, 施海明, 范维琥, 等. 小型猪实验性慢性心肌缺血模型的建立[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(10): 2078-2080
- 4 Horvath KA, Lu CY, Robert E. Improvement of myocardial contractility in a porcine model of chronic ischemia using a combined transmyocardial revascularization and gene therapy approach[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 129(5): 1071-1077
- 5 滕小梅, 贺继刚, 沈振亚. 直视下冠状动脉结扎法制作大鼠心肌缺血模型初步探讨[J]. *浙江临床医学*, 2013 (2): 184-186
- 6 张海涛, 罗惠兰, 朴龙松, 等. 经胸腔镜建立巴马小型猪冠状动脉狭窄模型[J]. *中国实验动物学报*, 2012, 20(3): 22-24

(收稿日期: 2014-01-14)

(修回日期: 2014-02-01)

# 阿罗洛尔对比 RAS 阻断剂对中青年高血压患者 动脉僵硬度影响的初步研究

王宇玫 熊敏俊 马永江 黄党生 袁先进

**摘要** 目的 不同的降压药物对血管的影响不同,本研究试图探讨具有血管扩张作用的  $\beta$  受体阻滞剂阿罗洛尔 (Arotinolol) 对中青年高血压患者动脉僵硬度的影响。**方法** 选中青年高血压无合并症和靶器官损害初诊患者 87 例,分为普通治疗组 (RAS 阻断剂或联用钙拮抗剂) (42 例) 和阿罗洛尔组 (阿罗洛尔或联合钙拮抗剂) (45 例),进行降压治疗,并控制血压达标,分别在治疗前、治疗后 3 个月、6 个月检查患者的血压、心率、肱踝脉搏波传导速度 (baPWV) 和踝臂指数 (ABI),比较治疗前后的变化情况。**结果** 阿罗洛尔组较非阿罗洛尔组相比,能够明显降低患者心率 ( $P < 0.05$ ) 和舒张压 ( $P < 0.05$ )。两组血压控制达标后,肱踝脉搏波传导速度 (baPWV) 均较治疗前明显降低 ( $P < 0.05$ ),随着血压的稳定,baPWV 未再有进一步的变化,而两组之间的 baPWV 之间相比无统计学差异,治疗前后 ABI 变化不明显。**结论** 阿罗洛尔有更好的降低舒张压的作用,控制血压可以使 baPWV 降低,但不影响 ABI;以阿罗洛尔为主的降压治疗与 CCB 加 RAS 阻断剂组相比动脉僵硬度改变相似。

**关键词** 高血压 动脉僵硬度 脉搏波传导速度 踝臂指数

[中图分类号] R544.1 [文献标识码] A

**Preliminary Study of Arotinolol vs RAS Inhibitors on the Arterial Rigidity of Young and Middle Aged Hypertensives.** Wang Yumei, Xiong Minjun, Ma Yongjiang, *et al.* Department of Cardiology, The First Affiliate Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

**Abstract Objective** Various antihypertensive drugs have different effects on blood vessel, which is the important target organ damaged by hypertension. The present report elucidates the effect of Arotinolol (a vasodilating beta-blocker) on conductive arteries in young hypertensives. **Methods** Totally 87 young patients without target-organ damage and concomitant disease were divided to 2 treat-

作者单位: 100048 北京, 中国人民解放军总医院第一附属医院心内科

通讯作者: 王宇玫, 电子信箱: rose64304@gmail.com