

手术引发应激导致心律失常大鼠模型的创建

庄儒麟 李 梅 李华伟 王莹莹 郝清涛 胡京剑 杨 超 戴梅清 马 行

摘 要 **目的** 初步创建手术创伤引发应激反应导致心律失常的大鼠模型,探讨在不同方法下建立的大鼠心律失常模型是否存在差别,为今后临床药物筛选和药效评价提供新的研究依据。**方法** 选择 SD 大鼠 30 只,分别采用探查腹腔暴露肠道法(9 只)、夹闭肠系膜上动脉法(14 只),以及单侧颈总动脉结扎法(7 只)进行手术,采用 Powerlab 生物功能实验系统监测动物心电图的方法,观察、比较并记录大鼠整个手术过程的心电图。**结果** 采用探查腹腔暴露肠道法进行手术,大鼠心率明显减慢,手术组和对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。采用夹闭肠系膜上动脉法进行手术,大鼠肠系膜上动脉夹闭 15min 后,心电图显示心肌缺血,夹闭 20min 后,心电图可见 QRS 波群增宽,手术组和对照组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。采用单侧颈总动脉结扎法进行手术,大鼠单侧颈总动脉结扎 15min 后,心电图呈现 QRS 波群增宽,心率明显减慢,手术组和对照组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 相比于探查腹腔暴露肠道法和夹闭肠系膜上动脉法,单侧颈总动脉结扎法在上述 3 种方法中较为稳定,在结扎 15min 后,大鼠出现心律失常,即为造模成功。

关键词 动物模型 大鼠 手术应激 心律失常 心肌缺血

中图分类号 R965.1, R972.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.09.023

Establishment of Arrhythmia Models in Rats Based on the Stress Response Caused by Surgical Trauma. Zhuang Rulin, Li Mei, Li Hua-wei. Department of Clinical Medicine, Department of Pharmacology, School of Pharmacy, School of Public Health, Xuzhou Medical University, Jiangsu 221004, China

Abstract Objective To establish arrhythmia models in rats based on the stress response caused by surgical trauma preliminarily, to discuss whether there is a difference between the arrhythmia models in rat based on different methods, in order to provide new experimental evidence for clinical drug screening and pharmacodynamics evaluating in the future. **Methods** Firstly, we selected the SD rats and then did some operation on them respectively using three methods: exploring the exposure abdominal, occluding superior mesenteric artery and ligating common carotid artery unilaterally. Finally, we observed and compared the ECG recorded by the Power lab. **Results** Exploring the exposure abdominal in rats can result in decreasing of heart rate significantly, but there was no difference between operation group and control group. Occluding superior mesenteric artery in rats can result in myocardial ischemia after 15min and wide QRS after 20min in ECG. And there was a significant difference between the operation group and the control group. Ligating common carotid artery unilaterally can result in wide QRS and heart rate decreasing significantly after 15min. And there was a significant difference between the operation group and the control group, too. **Conclusion** Compared with exploring the exposure abdominal and occluding superior mesenteric artery in rats, ligating common carotid artery unilaterally is the most stable. Arrhythmia was observed in all of rats after ligating 15min, which testified the success of the model.

Key words Animal model; Rats; Surgical trauma; Arrhythmia; Myocardial ischemia

心律失常(arrhythmia)是指心脏电活动的传导速度、频率以及激动次序出现异常^[1]。以往研究发现多种药物对实验性心律失常动物模型有效,

但临床上使用疗效并不理想^[2]。多因动物模型和人类相关疾病有一定的差异所致^[3]。强烈而持久的应激反应(stress)作为一种病理现象,将会对机体靶器官造成一定程度的损害。而心脏作为应激反应的重要靶器官,当应激反应过强时则会诱发心律失常^[4]。

本研究的实验模型根植于国内外专家模仿临床条件建立的多种应激反应模型,并在此基础上进行改进,模仿临床各种手术,引发较为强烈而持久的应激反应,从而完成心律失常大鼠模型的初建。

基金项目:江苏省高等学校大学生创新创业训练计划省级重点项目(201410313015Z)

作者单位:221004 徐州医科大学临床医学系(庄儒麟、李华伟、郝清涛、胡京剑、杨超、戴梅清),药学院药理学教研室(李梅、马行),公共卫生学院(王莹莹)

通讯作者:马行,电子信箱:moxzone@163.com;庄儒麟,电子信箱:zrl_henry@163.com

对象与方法

1. 对象:选用SD大鼠30只,体重160~280g,雌雄各半,由徐州医科大学实验动物中心提供。

2. 方法:(1)探查腹腔暴露肠道法:切开全层皮肤、肌肉和腹膜并探查,并暴露近十二指肠末端至腹腔外。探查方法:参照的方法,带无菌手套,右手食指深入腹腔,先环行探查腹腔一圈,再用拇指和食指探查肠管,提出靠近十二指肠末端长约10cm的一段小肠至腹腔外,放在生理盐水打湿的无菌纱布上,一直探查肠管2min。探查完毕后观察5min,再按循序回纳肠管至腹腔^[5]。(2)夹闭肠系膜上动脉法:切开全层皮肤、肌肉和腹膜并探查,寻找到肠系膜上动脉并夹闭,参照的所述的以大鼠ECG S-T段抬高($\geq 0.1\text{mV}$),和(或)T波高耸或倒置作为心肌缺血造模成功的标志^[6-8]。其他特征还包括S-T段压低($\geq 0.1\text{mV}$)或抬高($\geq 0.1\text{mV}$),短暂的R波波峰异常增高^[9,10]。(3)单侧颈总动脉结扎+抽血^[11]:切开颈部皮肤、肌肉,暴露右侧颈部皮肤,使用安尔碘消毒皮肤然后切开,钝性分离皮下组织,显露颈动脉鞘,分离右侧颈总动脉与迷走神经,结扎右侧颈总动脉远心端,动脉夹夹住颈总动脉近心端后,进行插管,为后期抽血所用。逐层缝合组织及皮肤并消毒。

3. 统计学方法:采用SPSS 19.0统计软件进行处理分析,定量资料均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。自身配对设计实验采用配对 t 检验进行分析;重复测量设计实验采用单因素方差分析及LSD(none)法进行检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 探查腹腔暴露肠道法对模型建立的影响:实验中,参照文献^[5]的方法,进行手术探查时,可见大鼠ECG出现心率减慢,减慢比达10%以上,个别(22%)大鼠出现ST段上抬的心急缺陷表现。探查腹腔暴露肠道法对模型建立的影响见图1。对照组的心率最高,为 459.75 ± 47.993 次/分,手术组心率最低,为 426.75 ± 30.160 次/分。手术组与对照组比较,差异无统计学意义($t = 1.718, P = 0.130$)。

2. 夹闭肠系膜上动脉法对模型建立的影响:夹闭肠系膜上动脉之后,记录大鼠心电图可见,夹闭15min后,绝大多数(71.43%)的大鼠ECG S-T段抬高($\geq 0.1\text{mV}$),和(或)T波高耸或倒置,参照文献^[6]所述的大鼠ECG心肌缺血造模成功的标志,说明大鼠已达到心肌缺血的标准,同时在剩下的大鼠中有75%的ECG出现短暂的R波波峰异常增高,符合

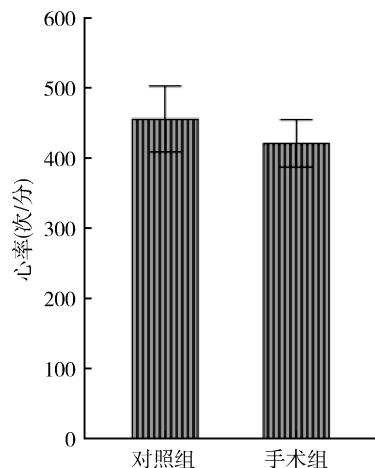


图1 探查腹腔暴露肠道法对照组和手术组心率的比较

参照^[6]中所述心肌缺血造模成功的其他特征。夹闭20min后,绝大多数(85.71%)的大鼠ECG出现QRS波群增宽,出现明显心律失常波形。夹闭肠系膜上动脉法对模型建立的影响见图2。对照组(夹闭0min)的心率最高为 445.714 ± 9.167 次/分,夹闭15min心率次之为 421.714 ± 10.535 次/分,夹闭20min心率最低 399.857 ± 10.308 次/分。不同夹闭时间比较,差异有统计学意义($F = 14.323, P = 0.000$)。使用LSD(none)法对3组分别进行两两比较,对照组(夹闭0min)和夹闭15min之间、对照组(夹闭0min)和夹闭20min之间、夹闭15min和夹闭20min比较,差异均有统计学意义($P = 0.023, P = 0.000, P = 0.007$)。

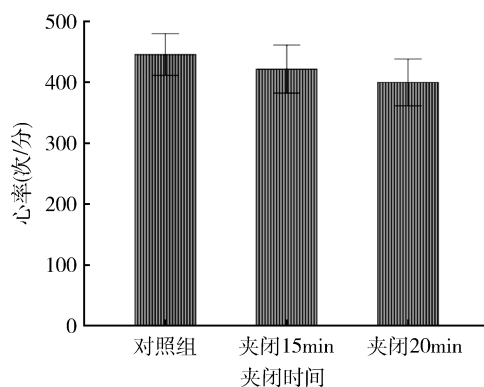


图2 夹闭肠系膜上动脉法对照组和手术组心率的比较

3. 单侧颈总动脉结扎法对模型建立的影响:夹闭单侧颈总动脉之后,记录大鼠心电图可见,夹闭15min后,全部(100%)的大鼠ECG出现明显的QRS波增宽,出现明显心律失常波形。夹闭20min后,抽血,在之前QRS波群增宽的基础上可见P波倒置

(57.14%)、T波高耸(42.86%)等。单侧颈总动脉结扎法对模型建立的影响见图3。对照组(夹闭0min)的心率最高为 409.714 ± 11.088 次/分,夹闭15min心率次之为 358.286 ± 19.758 次/分,夹闭20min心率最低为 280.857 ± 23.081 次/分。不同结扎时间比较,差异有统计学意义($F = 19.372, P = 0.000$)。使用LSD(none)法对3组分别进行两两比较,对照组(夹闭0min)和夹闭15min之间、对照组(夹闭0min)和夹闭20min之间、夹闭15min和夹闭20min比较,差异有统计学意义($P = 0.010, P = 0.001, P = 0.023$)。

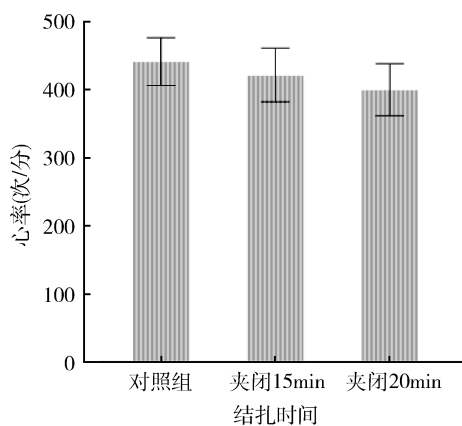


图3 单侧颈总动脉结扎法对照组和手术组心率的比较

讨 论

心律失常动物模型有化学法(如氯化钡、氯化钙、乌头碱等致心律失常)和机械法(单纯左冠状动脉结扎致心律失常)^[12]。理想的动物模型应该对临床的有效药物及方法有较高的特异性,无假阳性,具有药效预测性,行为表现的模拟性,药物作用时间(约2周左右)接近临床,受其他药物干扰少,有合理的理论基础,行为学改变和内分泌改变持续时间足够长的特点^[13]。

运用化学法(如氯化钡、氯化钙、乌头碱等致心律失常)诱发的心律失常动物模型一方面不能完全排除所运用的诱发药物的干扰,另一方面诱导出的动物模型与人类相关疾病存在一定的差异,并不利于临床上所使用的抗心律失常药的药效评价。运用机械法(单纯左冠状动脉结扎致心律失常)造模也存在一定的问题,主要表现为大鼠冠状动脉前降支变异较大,结扎部位难于每次均在同一位置,结扎的速度也影响心律失常发生的严重程度,同时该模型发生心律失常的数目较少,室性心动过速发生率低,成模率低,

这些因素对于初级研究者难于把控^[14]。

本项目的实验模型考虑到现如今手术治疗越来越多,而手术是围术期最常见的一种应激原,手术刺激机体会引起应激反应的发生,手术所引起的应激反应多是由于手术刺激的疼痛、失血和缺氧等原因,同时手术也会引起炎症反应和免疫反应,从而加强应激反应^[1]。手术操作引发的应激反应增加交感神经活性和儿茶酚胺的释放,儿茶酚胺作用于心脏进而影响心脏传导系统,而过度的应激反应则会诱发心律失常。

本实验运用探查腹腔暴露肠道法、夹闭肠系膜上动脉法,以及单侧颈总动脉结扎法后,实验结果发现,探查腹腔暴露肠道法导致大鼠心律失常的可能性较低,但可以诱导出,这与相关文献报道一致;夹闭肠系膜上动脉法以及单侧颈总动脉结扎法均可以建立出心律失常模型。而单侧颈总动脉结扎法证实是上述3种方法中建模最为稳定的一种。

采用单侧颈总动脉结扎法建模,首先,和目前临床上手术疗法诱发应激导致心律失常的情况类似;其次,操作较机械法(左冠状动脉结扎致心律失常)较为简单,利于研究初学者进行操作;且动物成本低,大鼠是制造心律失常模型常用的动物之一,下一步将针对这一动物模型进行临床常用药物的药效评价,来验证并逐步完善这一大鼠心律失常的模型。

心律失常的发病机制和临床表现非常复杂,目前的动物模型,只能表现心律失常的某一方面的症状,因此进行抗心律失常药的药效评价时,往往要求多个动物模型来进行验证。相信随着新技术(特别是分子生物学)的发展,必将会出现越来越多的更符合人类心律失常症状的动物模型。

参考文献

- 1 Vaporciyan AA, Correa AM, Rice DC, et al. Risk factors associated with atrial fibrillation after noncardiac thoracic surgery: analysis of 2588 patients[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2004, 127(3): 779 - 786
- 2 Sanguinetti MC, Bennett PB. Antiarrhythmic drug target choices and screening[J]. Circ Res, 2003, 93(6): 491 - 499
- 3 潘振伟,王志勇,杜智敏,等. 一种新心律失常大鼠模型的建立[J]. 药学报, 2005, 40(7): 659 - 662
- 4 刘幼硕,屈晓冰,胡敏,等. 慢性多相性应激对老龄鼠心肌脂质过氧化和超微结构的影响[J]. 中国心理卫生杂志, 2000, 14(4): 251 - 253
- 5 Roughan JV, Flecknell PA. Behavioural effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats[J]. PNAS, 2001, 90(1-2): 65 - 74

(转第87页)

脂代谢异常与中青年急性心肌梗死相关。中青年急性心肌梗死患者冠脉病变单支或双支病变较常见。

众所周知,心血管疾病的主要危险因素是年龄、性别、吸烟、肥胖、高血压、糖尿病、高胆固醇血症,缺乏运动、不合理的膳食结构。然而,中青年急性心肌梗死与老年急性心肌梗死比较,两者临床特点、冠脉病变的病理特征不尽相同。多项研究显示:吸烟是青年冠心病发病的重要危险因素,而且吸烟与青年冠心病的危险相关性较老年更明显^[1-7]。这与本研究结果一致。高胆固醇血症与冠心病发生、发展密切相关得到医学公认。

近年来,甘油三酯与冠心病关系日益受到重视。在他汀类药物干预使低密度脂蛋白胆固醇达标后,心血管病残留风险中重要组分是甘油三酯增高。甘油三酯的浓度越高,脂质交换越活跃,这导致血浆小而密的低密度脂蛋白(sLDL)浓度升高,sLDL 具有强致动脉粥样硬化作用。甘油三酯水平与血小板活性呈正相关^[8]。此外高甘油三酯血症患者炎性反应激活、凝血活性增加,纤溶活性下降,容易促发血栓形成^[9]。蕾茹等^[4]、李志立等^[5]及孙娜等^[2]的研究均显示高甘油三酯血症是青年(≤ 45 岁)冠心病的危险因素。董华等^[6]的研究提示高甘油三酯血症是 60 岁以下冠心病的危险因素。本研究结果也显示,中青年心肌梗死组甘油三酯水平明显高于正常值且明显高于老年急性心肌梗死组,高甘油三酯水平与中青年急性心肌梗死独立相关。对于中青年人来说,甘油三酯可能与急性心肌梗死的发生、发展相关性更强。因此,对于中青年人的血脂管理除了保证 LDL-C 达标外,应该加强对甘油三酯的控制。

心肌梗死后白细胞会应激性增高。本研究中中青年急性心肌梗死组白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞绝对值明显高于老年急性心肌梗死组,这可能是中青年人

患急性心肌梗死后应激反应更剧烈的表现。

本研究中中青年急性心肌梗死组冠脉单支病变比例较高,老年急性心肌梗死组 3 支或左主干病变比例较高。此结果与刘芳等^[10]及王海平等^[11]的研究结果基本一致。一方面可能是由于老年急性心肌梗死组冠心病病史较长,受累冠脉较多。另一方面提示中青年急性心肌梗死和老年急性心肌梗死可能发病机制不完全相同。

参考文献

- 杨惠月,边云飞,李小雷,等.青年冠心病患者临床危险因素分析[J].山西医科大学学报,2015,46(5):396-399
- 孙娜,徐燕,孔令恒.青年冠心病临床特征及预后分析[J].陕西医学杂志,2015,4(9):1182-1183
- 杨伟宪,杨铮,窦克非,等.217 例青年冠心病患者临床特点分析[J].中国循环杂志,2014,29(5):339-342
- 蕾茹,江小青,薛新海,等.青年和老年冠心病患者的危险因素分析[J].长江大学学报自然科学版:医学,2013,10(15):91-92
- 李志立,王洪涛,张薇,等.青年冠心病患者危险因素及冠状动脉病变的临床分析[J].中国心血管病研究杂志,2013,11(2):92-94
- 董华,翟凤燕.中青年与老年冠心病的危险因素和冠脉造影的比较研究[J].实用心脑血管病杂志,2012,20(4):678-680
- Bhardwaj R, Kandoria A, Sharma R. Myocardial infarction in young adults - risk factors and pattern of coronary artery involvement[J]. Niger Med J,2014,55(1):44-47
- Osmancik PP, Bednar F, Móciková H. Glycemia, triglycerides and disease severity are best associated with higher platelet activity in patients with stable coronary artery disease[J]. J Thromb Thrombol, 2007, 24(2):105-107
- 林旻洁,赵水平.甘油三酯与冠心病发病关系及机制的研究进展[J].中国动脉硬化杂志,2011,19(12):1043-1046
- 刘芳,王立中,马彩云,等.青年与中老年急性心肌梗死的特点分析[J].中国医药导刊,2015,17(3):248-249
- 王海平,梁振洋,韩雅玲,等.早发 ST 段抬高急性心肌梗死患者的临床特点及预后分析[J].解放军医学杂志,2015,40(4):279-284
(收稿日期:2016-01-16)
(修回日期:2016-02-11)
- 王砚青,江时森,刘平,等.大鼠心肌缺血-再灌注模型心电图变化分析[J].医学研究生学报,2006,19(8):700-702
- 张辉,郑荣琴.超声观察单侧颈总动脉结扎前后心血管指标变化的实验研究[J].生物医学工程与临床,2012,16(4):322-326
- 仇君,杨利,李青,等.丹参水提物对缺血一再灌注心律失常大鼠的保护作用及机制[J].疑难病杂志,2014,13(12):1286-1288,1291,1333
- 童妍,党万太,苗维纳.心律失常动物模型研究进展[J].现代临床医学,2012,38(1):7-8
- 杨宝峰,单宏丽,周宇宏,等.一种筛选抗心律失常药物新模型的建立[J].中国药理学通报,2003,19(2):217-221
(收稿日期:2016-03-06)
(修回日期:2016-03-14)

(接第 90 页)

- 刘丹妮,马芹芹,黄秀兰,等.健康大鼠及急性心肌缺血大鼠心电图表现[J].医学研究杂志,2010,39(3):11-13
- 陈业农,周逸平,汪克明,等.急性心肌缺血再灌注损伤大鼠模型制备方法的改进与评价[J].中国中医急症,2008,17(3):359-363
- Georg H, Oliver B, Axel H, et al. Surgical procedure affects physiological parameters in rat myocardial ischemia: need for mechanical ventilation[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 1999, 276(2): H472-H479
- Ren B, Lukas A, Shao Q, et al. Electrocardiographic changes and mortality due to myocardial infarction in rats with or without timolol treatment[J]. J Cardiovasc Pharm, 1998, 3(1):11-21