

不同剂量异丙肾上腺素致小鼠慢性心肌缺血模型的制备及评价标准的建立^{*}

朱竟赫¹ 刘 驰² 刘 禾¹ 武晓琳¹ 乔菊久¹ 李 森¹
范英兰¹ 包玉龙¹ 齐 越¹ 胡丽萍²

(1. 辽宁省中医药研究院, 沈阳 110034) (2. 辽宁中医药大学, 沈阳 110847)

摘要:目的 颈部皮下注射不同剂量异丙肾上腺素(ISO)建立小鼠慢性心肌缺血模型,通过比较确定最佳造模剂量,寻求较为客观可靠的指标,为相关模型制备及药效评价提供参考。**方法** 3个模型组分别皮下注射 ISO 32 mg/kg、16 mg/kg 和 8 mg/kg 体质量,连续3 d,描记造模后24 h、8 d 和 15 d 心电图(ECG);第8天和第15天时分别检测各组血液心肌损伤标志物并心脏取材,观察各组心肌形态学病理变化。**结果** ISO 32 mg/kg 和 ISO 16 mg/kg 剂量组在造模后的8 d 及 15 d 心电图 T 波均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);心肌损伤标志物显著改变($P<0.05$ 或 $P<0.01$),其中 ISO 32 mg/kg 组产生病理改变,死亡率为42.5%,较适用于抗慢性心肌缺血药物较长期治疗给药的药效评价。ISO 16 mg/kg 的剂量死亡率为25%,相对较低,并且未导致心肌病理性损伤。**结论** 可根据不同试验预期选择性地采用 ISO 16 或 32 mg/kg 造模剂量建立小鼠慢性心肌缺血模型。

关键词:小鼠;异丙肾上腺素;慢性心肌缺血;评价标准

中图分类号: R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)01-0041-07

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.01.009

大、小鼠皮下大剂量注射异丙肾上腺素(ISO)能导致心肌缺血,与人的心肌缺血症状较为接近,是常用的、经典的抗心肌缺血作用评价模型,例如谭文明等^[1]和焦淑萍等^[2]分别利用 ISO 对大鼠和小鼠进行了心肌缺血模型的制备。但采用此法建立慢性心肌缺血模型的造模方法、造模剂量及评价指标尚缺少系统的试验研究,文献报道的方法繁多但无统一的、客观的标准和依据。

ISO 为 β 受体激动剂,可使心肌剧烈收缩而缺血缺氧,产生大量的 ONOO⁻ 和氧自由基,对心肌细胞造成损伤^[3]。Prabhu 等^[4]发现大剂量 ISO 可导致心肌线粒体组织蛋白酶-D 和 β 葡萄糖醛酸酶活性显著降低,心肌线粒体膜稳定性下降。当心脏负担过重时也可导致心肌微循环障碍,引发缺血性病变^[5]。大剂量注射 ISO 使肾素-血管紧张素-醛固酮系统被高度激活,可导致心功能进行性恶化并形成恶性循环^[6]。因此,ISO 成为使用频率较高的经典

的心肌缺血模型造模药物之一。

本文采用不同剂量 ISO 对小鼠进行颈部皮下注射,建立小鼠慢性心肌缺血模型,观测各模型组两周内的 心电图、生化指标及病理指标的改变。通过比较确定最佳造模剂量,建立较为客观、可靠的慢性心肌缺血模型的评价标准,为相关模型制备及药效评价研究提供依据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂:ISO:上海禾丰制药有限公司,产品批号:101101,规格:2 mL:1mg;水合氯醛:国药集团化学试剂有限公司,产品批号:20081120。

1.1.2 仪器:ML785 多导生理记录仪:澳大利亚 AD;AU5800 型全自动生化分析仪:美国 BECKMAN COULTER。

收稿日期:2018-04-30

^{*} 基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(No. 2015020708)

作者简介:朱竟赫(1981—),男,硕士,副研究员,研究方向:中药药理与实验动物.E-mail: zjh-1981@163.com

通信作者:胡丽萍(1965—),女,研究员,研究方向:中药药理.E-mail: huliping705@163.com

1.1.3 动物:SPF 级雄性 KM 小鼠,体质量 18 ~ 22 g,购于辽宁长生生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(辽)2015-0001

1.1.4 饲养环境:小鼠饲养于辽宁省中医药研究院(辽宁中医药大学附属第二医院)实验动物中心[实验动物使用许可证号:SYXK(辽)2012-0003],屏障环境,温度:21~25℃,湿度 45%~60%;动物自由采食和饮水,垫料每 3 日更换一次。颗粒饲料及玉米芯垫料,均由北京科澳协力饲料有限公司提供[实验动物饲料生产许可证号:SCXK(京)2014-0010]。

1.2 方法

SPF 级雄性 KM 小鼠 160 只,随机分为 4 组,每组 40 只,分别为空白组(生理盐水)、高剂量组(ISO, 32 mg/kg 体质量)、模型中剂量组(ISO, 16 mg/kg体质量)、模型低剂量组(ISO, 8 mg/kg 体质量)。适应性饲养 5 d 后,腹腔注射 4%水合氯醛,按每千克体质量 0.4 g 麻醉,Ⅱ导联描记各组小鼠造模前心电图。恢复性饲养 3 d。各组按每千克体质量 10 mL 给药,颈部皮下注射相应浓度的 ISO (0.32%、0.16%和 0.08%),每日 8:30 定时注射,每日一次,连续造模 3 d。末次注射 ISO 当晚禁食不禁水 16 h,第二天麻醉前统计小鼠死亡率,末次注射 ISO 后 24 h,每只小鼠腹腔注射 4%水合氯醛麻醉,Ⅱ导联描记造模 24 h 后心电图。恢复性饲养待到末次注射 ISO 后第 8 天,每只小鼠腹腔注射 4%水合氯醛麻醉,Ⅱ导联描记造模后 8 d 心电图,每组取 10 只小鼠眼眶采血 1 mL,3 000 r/min 离心 10 min,吸取血清,AU5800 型全自动生化分析仪检测肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肌钙蛋白 T(CTN-T)。引颈法处死后,摘取心脏甲醛固定,HE 染色,光学显微镜观察各组心肌形态学改变并拍照。其余小鼠恢复性饲养待到末次注射 ISO 后第 15 天,每只小鼠腹腔注射 4%水合氯醛麻醉,Ⅱ导联描记

造模后 15 d 心电图,每只小鼠眼眶采血检测生化指标;引颈法处死后,心脏 HE 染色并观察病变情况。

记录每只小鼠各个时间点的心电图,采用 LabChart8 读取 T 波高度,每只小鼠每个时间点连续 4 个波为 1 段取一个平均 T 波高度值,取 3 段的平均值作为该鼠该时间点的 T 波高度数值。

采用造模后 24 h、8d 及 15 d 心电图的 T 波高度分别与该鼠造模前心电图的 T 波高度做差并取其绝对值,得出造模后各时间点的 T 波变化量;然后以 T 波变化量除以该鼠造模前心电图的 T 波高度,得出造模后各时间点的 T 波变化率^[7]。

1.3 统计方法

数据采用 SPSS12.0 统计软件进行处理,试验数据用平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 心电图

四组小鼠造模前、造模后 24 h、造模后 8 d 及造模后 15 d 心电图见图 1~4。各时间点 T 波高度、T 波变化量及 T 波变化率见表 1。

由表 1 可知,造模后各时间点 T 波高度均以自身造模前 T 波高度作为参照得出变化量及变化率,结果如下:各组造模后 24 h、8d 及 15 d 的 T 波高度较造模前均有所降低;中剂量组造模后 24 h 的 T 波高度显著低于空白组($P<0.05$)。高剂量组造模后 15 d 的 T 波变化量显著高于空白组($P<0.01$);中剂量组造模后 24 h、8d 及 15 d 的 T 波变化量显著高于空白组($P<0.01$)。高剂量组造模后 15 d 的 T 波变化率显著高于空白组($P<0.05$);中剂量组造模后 24 h、8d 的 T 波变化率显著高于空白组($P<0.01$);中剂量组造模后 15 d 的 T 波变化率显著高于空白组($P<0.05$)。

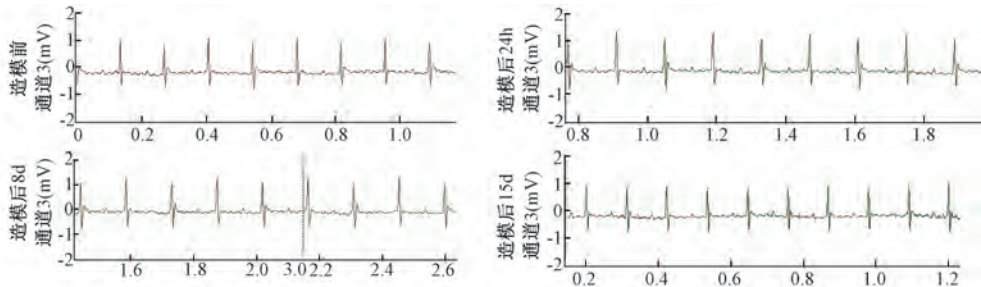


图 1 空白组心电图

Fig.1 Electrocardiogram of control group

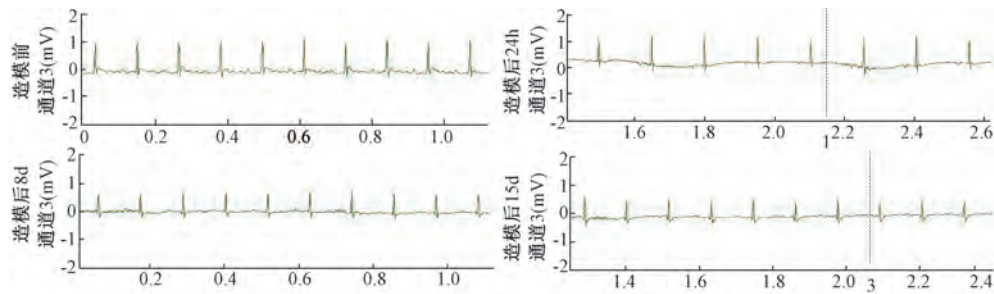


图 2 高剂量组心电图

Fig.2 Electrocardiogram of high dose group

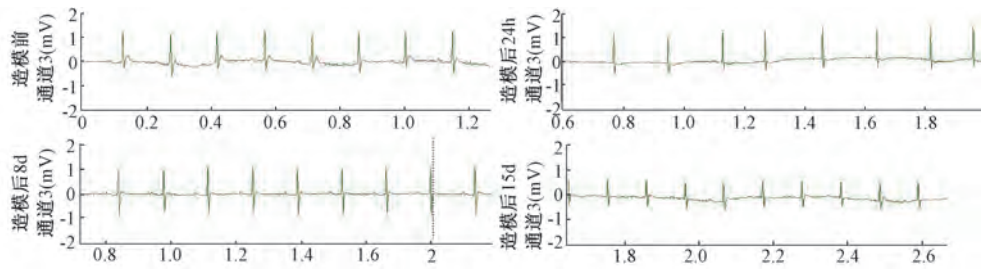


图 3 中剂量组心电图

Fig.3 Electrocardiogram of middle dose group

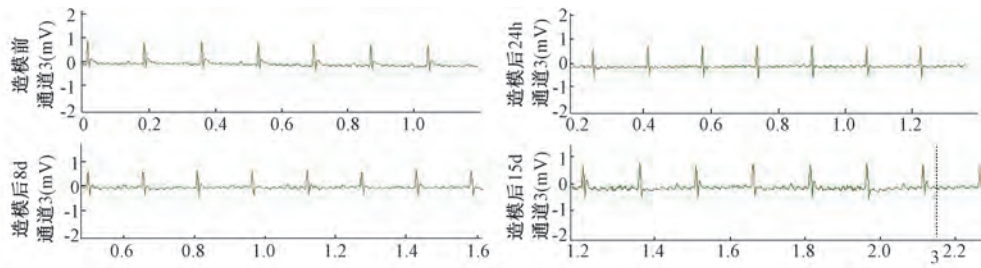


图 4 低剂量组心电图

Fig.4 Electrocardiogram of low dose group

表 1 造模前、造模后 24 h、8 d 及 15 d 心电图 (ECG) T 波高度、变化量及变化率

Table 1 The T Wave height、variation and change rate in ECG before/after 24 h、8d and 15 d of animal models					
项目		空白组	高剂量组	中剂量组	低剂量组
造模前	动物数/n	40	40	40	40
	T 波高度/mV	0.19±0.08	0.20±0.03	0.21±0.06	0.21±0.06
造模后 24 h	动物数/n	40	23	30	35
	T 波高度/mV	0.14±0.06	0.11±0.10	0.05±0.13 *	0.10±0.11
	T 波变化量/mV	0.07±0.06	0.10±0.06	0.17±0.11 **	0.13±0.09
	T 波变化率/%	36.89±23.00	53.67±35.99	84.31±54.73 **	64.94±39.19
造模后 8 d	动物数/n	40	23	30	35
	T 波高度/mV	0.13±0.05	0.09±0.13	0.09±0.10	0.11±0.07
	T 波变化量/mV	0.06±0.06	0.12±0.07	0.15±0.10 **	0.11±0.06
	T 波变化率/%	34.19±22.64	62.53±42.16	77.02±51.92 **	48.69±26.50
造模后 15 d	动物数/n	30	13	20	25
	T 波高度/mV	0.09±0.05	0.04±0.07	0.07±0.11	0.12±0.07
	T 波变化量/mV	0.06±0.04	0.15±0.09 **	0.15±0.08 **	0.09±0.07
	T 波变化率/%	38.57±28.22	82.10±55.46 *	71.55±37.00 *	40.20±23.89

注:与空白组相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$

Note: Compared with the control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

2.2 心肌损伤标志物

造模小鼠分别于造模后 8 d、15 d 进行眼眶采血,血清中心肌损伤标志物的检测结果见表 2、表 3。

表 2 造模后 8 d 的 AST、CK、CK-MB、LDH 及 CTN-T 数据

Table 2 The data of AST、CK、CK-MB、LDH and CTN-T after 8 d of animal models

动物数/(n)		AST/(U/L)	CK/(U/L)	CK-MB/(U/L)	LDH/(U/L)	CTN-T/(ng/L)
空白组	10	65. 97±13. 34	238. 86± 72. 94	213. 00± 39. 27	456. 86±154. 49	18. 77±12. 57
高剂量组	10	109. 03±41. 11 *	436. 40±185. 71 **	410. 70±175. 03 **	765. 62±174. 36 **	15. 18± 8. 59
中剂量组	10	130. 68±42. 26 **	1307. 11±653. 31 **	452. 78± 98. 04 **	782. 80±174. 73 **	27. 33±14. 08
低剂量组	10	86. 29±16. 38 *	234. 90± 74. 44	271. 80± 72. 77 *	617. 38±133. 62	11. 68± 5. 90

注:与空白组相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$
Note: Compared with the blank control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

高剂量组、低剂量组 AST 显著高于空白组 ($P<0.05$);中剂量组 AST 极显著高于空白组 ($P<0.01$)。中剂量组 CK 极显著高于空白组 ($P<0.01$)。高剂量组、中剂量组 CK-MB 极显著高于空白组 ($P<0.01$);低剂量组 CK-MB 显著高于空白组 ($P<0.05$)。高剂量组、中剂量组 LDH 极显著高于空白组 ($P<0.01$)。

表 3 造模后 15 d 的 AST、CK、CK-MB、LDH 及 CTN-T 数据 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 The data of AST、CK、CK-MB、LDH and CTN-T after 15 d of animal models ($\bar{x}\pm s$)

动物数(n)		AST/(U/L)	CK/(U/L)	CK-MB/(U/L)	LDH/(U/L)	CTN-T/(ng/L)
空白组	30	102. 16± 26. 17	369. 78±209. 13	216. 40± 52. 33	992. 40±252. 16	18. 72± 14. 14
高剂量组	13	157. 20± 87. 31	343. 08±153. 20	319. 31±319. 31 **	1351. 91±181. 18 **	14. 62± 10. 20
中剂量组	20	260. 63±142. 17 **	762. 53±473. 90 **	383. 68± 80. 86 **	1616. 50±438. 99 **	19. 63± 10. 38
低剂量组	25	149. 80± 40. 49 **	556. 15±216. 35	325. 94± 57. 73 **	1242. 31±198. 21 *	19. 88±198. 21

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs 空白组
Note: Compared with the blank control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

由表 3 可知,中剂量组、低剂量组 AST 极显著高于空白组 ($P<0.01$)。中剂量组 CK 极显著高于空白组 ($P<0.01$)。高剂量组、中剂量组、低剂量组 CK-MB 极显著高于空白组 ($P<0.01$)。高剂量组、中剂量组 LDH 极显著高于空白组 ($P<0.01$);低剂量组 LDH 显著高于空白组 ($P<0.05$)。

2.3 病理

小鼠心肌 HE 染色切片结果见图 5~8。空白组小鼠心肌纤维粗细均匀,排列整齐,横纹清楚,未见变性坏死,心肌间质亦无炎症反应(图 5);模型高剂量组各只小鼠心肌纤维大范围变性,表现为心肌细胞界限不清,胞浆溶解成粉染颗粒状,细胞核分布不均,核增大,可见核仁(图 6);其中 8 d 小鼠心肌纤维出现点灶状坏死,较多淋巴细胞为主的炎性细胞浸润(图 7);其中 15 d 小鼠心肌间散在多灶性坏死区,间质水肿,血管充血,较多淋巴细胞为主的炎性细胞浸润(图 8)。

2.4 死亡率

各组小鼠按相应剂量皮下连续 3 d 注射 ISO 后剩余动物数及死亡率见表 4。

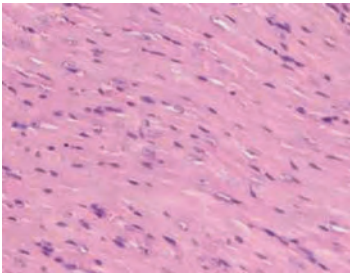


图 5 空白组小鼠心肌组织 (HE,×400)
Fig.5 The cardiac tissue in mice of black comparison group (HE,×400)

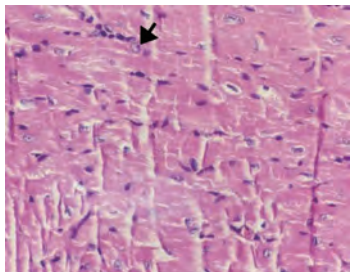


图 6 模型高剂量组小鼠心肌组织 (HE,×400)
Fig.6 The cardiac tissue in mice of high dose group (HE,×400)

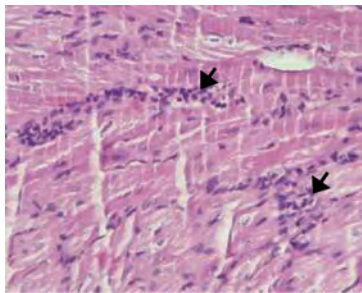


图 7 模型高剂量组造模后 8 d 小鼠心肌组织 (HE,×400)
Fig.7 The cardiac tissue in mice of high dose group after 8 days(HE,×400)

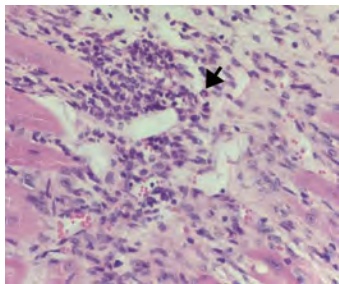


图 8 模型高剂量组造模后 15 d 小鼠心肌组织 (HE,×400)
Fig.8 The cardiac tissue in mice of high dose group after 15 days(HE,×400)

表 4 造模前后动物的剩余数量及死亡率
Table 4 The Remaining number and death rate of animals before/after animal models

	造模前动物数(只)	造模后剩余动物数(只)	死亡率(%)
空白组	40	40	0
高剂量组	40	23	42.5
中剂量组	40	30	25
低剂量组	40	35	12.5

由表 4 可知造模后高剂量组剩余动物 23 只,死亡率为 42.5%;中剂量组剩余动物 30 只,死亡率为 25%;低剂量组剩余动物 35 只,死亡率为 12.5%。

3 讨论

目前,大、小鼠慢性心肌缺血模型的造模方法、造模剂量及评价指标尚缺少系统的试验研究,文献报道的方法繁多但无统一的、客观的标准和依据。本文认为,慢性心肌缺血模型的是否成模标准,应根据其所应用的试验时间而定,此模型若能在受试药物较长的给药期间内维持稳定即可判断此模型成功。通过查阅文献^[8-10]很大一部分治疗心肌缺血的药效学试验给药时间均不超过 15 d,本试验针对此

情况设计观察 8 d 和 15 d,这个时间长度基本可以满足大部分治疗给药试验周期的需求。指标选择上采用 ECG、心肌酶谱、肌钙蛋白及病理观察,涵盖了很大一部分试验的常规需求^[11-14]。

本实验以小鼠作为试验对象,一般小鼠 ECG 特点为无明显 ST 段,S 波与 T 波直接平滑相连,人工测量 ST 段及 J 点主观性较强。故以 T 高度作为考察指标,影响因素较少,准确度较高,更加客观。结果显示连续 3 d 皮下注射 ISO 16 mg/kg 的剂量组在造模后 24 h、8 d、15 d ECG 的 T 波高度均发生较为显著的变化;连续 3 d 皮下注射 ISO 32 mg/kg 的剂量组在造模 15 d 时 T 波高度变化较为显著;而连续 3 d 皮下注射 ISO 8 mg/kg 的剂量组各个时间 T 波高度均无显著变化。这说明连续 3 d 皮下注射 ISO 32 mg/kg 和 16 mg/kg 的剂量都能造成小鼠较持久的心肌缺血症状。而 8 mg/kg 的剂量效果不显著。ISO 16 mg/kg 剂量组的 ECG 在 24 h、8 d 时 T 波高度变化较为显著,而 ISO 32 mg/kg 剂量组在 24 h、8 d 时 T 波高度变化反而不显著,可能是由于 ISO 32 mg/kg 剂量组死亡率较高,一些症状严重的个体死亡了,而 ISO 16 mg/kg 剂量组反而保留下一些症状严重的个体,导致 ECG 变化显著。三个剂量组在造模后 8 d、15 d 时,心肌酶谱相对空白组均有显著性差异,如果单纯考察心肌酶谱,这三个剂量均可使用;只有 ISO 32 mg/kg 的剂量组在造模后 8 d、15 d 出现可见的心肌病理变化。本试验采用 16 mg/kg 剂量的死亡率为 25%,8 mg/kg 剂量的死亡率仅为 12.5%,而相比其他文献报道^[15]使用 8 mg/kg 剂量的死亡率就已达到 33.3%。原因可能和操作有关。

目前常见一些实验采用大鼠尾静脉注射 ISO 或垂体后叶素(PIT)造成急性心肌缺血模型^[16-17],本实验旨在制备慢性心肌缺血模型,不追求使药物第一时间达到最大血药浓度,短时间血药浓度过高亦可以造成动物死亡率过高,因而未采用静脉注射,而是采用皮下注射的方式。大鼠皮下多点注射 ISO 是制备慢性心肌缺血的常用方法,但根据预实验发现,大鼠对 ISO 的耐受程度远低于小鼠,死亡率较高,有关大鼠的研究情况将在后续文章中进行报道。

心肌缺血的表现不仅在于 ECG 的异常,还涉及到一些酶学指标的变化。传统的心肌酶谱包括 AST(生物半衰期 20 h,18~36 h 达峰,3~4 d 恢复正常)、CK(生物半衰期 17 h,12~24 h 达峰,3~4 d 恢复正常)、CK-MB(生物半衰期 13 h,12~24 h 达峰,

2~3 d 恢复正常)、LDH(生物半衰期 110 h, 48~72 h 达峰, 7~14 d 恢复正常)用以评估心肌细胞性损伤, 其中 AST 和 LDH 广泛存在于全身各组织中, 单独的 AST 或 LDH 升高并不能确认为心肌损伤, 必须结合心电图以及 CK、CK-MB 等指标联合判断; CK 是心肌细胞中重要的能力调节酶, 由 M 和 B 两个亚基组成, 形成 CK-MM、CK-MB 和 CK-BB 三种同工酶; 其中 CK-BB 主要存在于脑组织中, CK-MM 主要存在于骨骼肌中, 而 CK-MB 主要存在于心肌中, 故 CK-MB 特异性最高^[18]。CTN-T(生物半衰期 2 h, 12~96 h 达峰, 7~14 d 恢复正常)是收缩蛋白中调节蛋白的重要部分, 是 CTN 与原肌球蛋白结合的部分, 其在我心肌中的含量较高, 而正常人的血液中几乎检测不到 CTN-T, 对急性心肌梗死有较高的分辨能力^[19]。本试验设计的考察时间为 8 d 和 15 d, 其中 8 d 超过了 AST、CK、CK-MB 的恢复时间, 15 d 超过了上述所有标志物的恢复时间。皮下注射 ISO 32 mg/kg、16 mg/kg 及 8 mg/kg, 8 d 及 15 d 后动物血液中的 CK-MB 较空白组均有显著性差异, 无论是 8 d 还是 15 d 均远超过了 CK-MB 的恢复时间, 这说明这三个造模剂量均能造成心肌的持续损伤。而皮下注射 ISO 16 mg/kg 剂量组在 15 d 仍能够保持 AST、CK、CK-MB、LDH 显著升高, 说明该剂量持续造成心肌损伤效果较好。

从心电图及心肌损伤标志物的结果来看, 中剂量组的心电图改变和心肌损伤均比高剂量组严重, 但其死亡率仅为 25%, 较高剂量组的死亡率 42.5% 大幅降低。我们推测是由于高剂量组一些小鼠无法耐受而死亡, 中剂量组则因为剂量相对较低死亡率大幅降低, 因而保留的一部分症状较重的小鼠。中剂量组死亡率与心电图及心肌损伤标志物改变达到了相对较好的平衡。

从病理结果来看, 高剂量组造模后 8 d 及 15 d 的小鼠心肌均出现明显病理变化, 可见以 ISO 32 mg/kg 造模可在 8 d、15 d 内造成病理性损伤, 形成心肌的坏死性炎症反应。中剂量组、低剂量组镜下均未发现明显病理改变。

综上所述, 小鼠连续 3 d 皮下注射 ISO 32 mg/kg 或 ISO 16 mg/kg 均能造成慢性心肌缺血模型, 可在心电图、心肌损伤标志物及病理形态三方面均产生显著改变。此模型造模方法简便, 维持时间长, 适合抗慢性心肌缺血药物较长期治疗给药的药效评价。而 ISO 16 mg/kg 的造模剂量死亡率较低并且

在心电图与心肌损伤标志物的指标上优于 ISO 32 mg/kg, 但并未造成心脏明显病理性损伤。提示可根据不同试验预期选择性地采用 2 个不同造模剂量建立小鼠慢性心肌缺血模型。

参考文献

- [1] 谭文明, 陈俊威, 林卓辉, 等. 舒血宁注射液(银杏提取物)对异丙肾肾上腺素诱导大鼠心肌缺血大鼠的影响[J]. 中医临床研究, 2017, **9**(24): 27-29.
- [2] 焦淑萍, 周玮, 杜培革. 野生山葡萄多酚对异丙肾肾上腺素诱发的小鼠心肌缺血的保护作用[J]. 中国地方病防治杂志, 2006, **21**(3): 146-147.
- [3] Ribeiro D A, Buttros J B, Oshima C T, *et al*. Ascorbic acid prevents acutemyocardial infarction induced by isoproterenol in rats: role of inducible nitric oxide synthase production [J]. MolHistol, 2009, **40**(2): 99-105.
- [4] Prabhu S, Narayan S, Devi C S. Mechanism of protective action of mangiferin on suppression of inflammatory response and lysosomal instability in rat model of myocardial infarction [J]. PhytotherRes, 2009, **23**(6): 756-760.
- [5] Kubavat J B, Asdaq S M. Role of Sida cordifolia L leaves on biochemical and antioxidant profile during myocardial injury [J]. Ethnopharmacol, 2009, **124**(1): 162-165.
- [6] 修春江, 刘凤岐, 王怀泉, 等. 组织多普勒超声评价交感神经阻滞对扩张型心脏病左心室心肌收缩力的影响[J]. 中华超声影像学杂志, 2005, **14**(5): 338-341.
- [7] 徐叔云. 药理学实验方法[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 897.
- [8] 常厦云, 朱凌鹏, 王秋娟, 等. 红景天苷对异丙肾肾上腺素诱发的小鼠心肌缺血的影响[J]. 中药药理与临床, 2016, **32**(2): 67-70.
- [9] 石孟琼, 白彩虹, 孙桂林, 等. 开口箭不同提取部位对异丙肾肾上腺素致小鼠心肌缺血损伤的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2013, **18**(12): 1344-1352.
- [10] 余保瑞, 龙超良, 夏云峰, 等. 哌罗安他对异丙肾肾上腺素诱发的小鼠心肌缺血的保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, (6): 637-640.
- [11] 王治宝, 杨辉, 闫早婴, 等. 蒙古口蘑水提物对异丙肾肾上腺素致小鼠心肌缺血小鼠的心肌保护作用[J]. 食用菌学报, 2014, **21**(1): 47-50.
- [12] 王宇卿, 朱丹妮, 张洁琼, 等. 生脉冻干粉口服对异丙肾肾上腺素致小鼠心肌缺血损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2013, **29**(3): 15-17.
- [13] 吕建英. 曲马多对异丙肾肾上腺素所致小鼠心肌缺血损伤的抑制作用[J]. 华北煤炭医学院学报, 2010, **12**(5): 609-610.
- [14] 范英兰, 胡丽萍, 朱竟赫, 等. 心肌缺血动物模型实验研究进展[J]. 实验动物科学, 2018, **35**(1): 72-75.
- [15] 牛子冉, 徐晓娜, 陈俞材, 等. 丹酚酸 A 对异丙肾肾上腺素致小鼠心肌缺血的保护作用及其机制[J]. 中国药理学通报,

- 2015, (12):1667-1674.
- [16] 冷雪, 贾连群, 王莹, 等. 人参皂苷素 Rb1 预处理对异丙肾上腺素诱导大鼠急性心肌缺血心肌凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2017, (1):184-186.
- [17] 雷健, 陶光利. 血脉灵组方对急性心肌缺血大鼠的保护[J]. 医药导报, 2017, 36(12):1359-1362.
- [18] 吴阿兰, 苏伟青, 胡荣权, 等. 心肌梗死及其预后与心肌酶谱、红细胞参数的相关性研究[J]. 临床医学工程, 2017, 24(1):75-76.
- [19] 胡娟娟, 郝晓柯, 周铁城, 等. 心肌损伤标志物联合检测在急性心肌梗死早期诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(11):1545-1547.

Preparation and Evaluation of Chronic Myocardial Ischemia Model Induced by Different Doses of Isoproterenol in Mice

ZHU Jinghe¹, LIU Chi², LIU He¹, WU Xiaolin¹, QIAO Jujiu¹, LI Miao¹,
FAN Yinglan¹, BAO Yulong¹, QI Yue¹, HU Liping²

(1. Liaoning Institute of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China)

(2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China)

Abstract: Objective To prepare chronic myocardial ischemia models in mice and determine the best molding dose, and to discuss the evaluation indexes of the model which could provide reference for the preparation of related models and the evaluation of their efficacy. **Method** Three model groups of different doses were treated with subcutaneous injection of isoproterenol (32 mg/kg, 16 mg/kg, 8 mg/kg) for three consecutive days, after 24 hours, 8 days and 15 days ECG were recorded. On the eighth day and the fifteenth day, markers of myocardial injury in the blood were detected and the morphological changes of myocardium were observed. **Result** The ECG, markers of myocardial injury and pathology were all markedly changed in the group of 32 mg/kg isoproterenol ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the mortality rate was in the acceptable range. The result could be used for evaluating the efficacy of the medicine for long-term treatment of chronic myocardial ischemia. The mortality rate of the group of 16 mg/kg isoproterenol was low, and indexes of ECG and markers of myocardial injury were better than that of the group of 32 mg/kg isoproterenol, and the dose did not cause irreversible pathological damage to the heart muscle. **Conclusion** The result showed that the chronic myocardial ischemia models in mice can be established by using two different molding dose according to different test expectation.

Key words: mice; chronic myocardial ischemia; isoproterenol; evaluation criterion