

用微创的心导管技术制作兔心肌梗死模型

周志文¹, 汪毓诚², 赵莉芳¹, 曹佳齐¹, 丁跃有¹, 刘惠东¹, 侯磊³, 昌薇¹

(上海市徐汇区中心医院/复旦大学附属中山医院徐汇医院,

1. 心内科, 2. 营养科, 上海 200031;

3. 上海交通大学医学院附属同仁医院心内科, 上海 200050)

[摘要] 目的 探讨应用心脏导管技术堵塞冠状动脉制作兔心肌梗死(MI)模型。方法 25只兔经全身麻醉后分离颈动脉, 穿刺颈动脉, 置入5F血管鞘并固定。从血管鞘送入指引导管至主动脉根部的窦底, 利用微导丝将微导管送入左前降支中或远段, 沿微导管向左前降支中注入明胶海绵颗粒栓塞剂或弹簧圈, 使左前降支闭塞, 从而制作MI模型。1个月后取出心脏, 行病理检测MI面积。结果 25只兔共19只成功送入微导丝及微导管至左前降支。弹簧圈组兔10只, MI制作成功7只, 饲养中死亡2只。明胶海绵颗粒栓塞剂组兔9只, MI制作成功7只, 饲养中死亡1只。两组兔MI成功率及兔MI面积差异无统计学意义。结论 通过心导管介入方法可制备兔MI模型, 成功率高, MI特征稳定, 可避免开胸损伤, 更符合临床MI的病理特点。

[关键词] 心肌梗死(MI); 模型; 兔; 微创; 心导管技术

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)01-0009-06

心肌梗死(myocardial infarction, MI)动物模型制作是探索冠心病、心力衰竭等心血管疾病病理生理机制和治疗方法的重要环节。虽然猪、犬等大型动物MI模型有很多优点, 但对操作技能要求高, 且购买、饲养等成本高, 难以常规开展大规模的实验, 因而限制了其在科研中的应用, 而体型较小的动物如鼠类等MI模型, 与人体差异较大, 研究成果不利于向临床转化^[1,2]。

兔作为中小体型动物, 大小适中, 价格相对较低, 容易饲养与操作, 且与人的生理特征较相似, 较多应用于心血管疾病的研究^[2-4]。有关兔MI模型制作, 国内绝大多数仍是使用开胸法

制作, 极少有像猪、犬等大型动物一样利用心脏导管微创技术制作MI模型^[5]。

为此, 本研究拟利用临床常用的心脏导管微创技术及器械制作兔MI模型, 利用临床最常用的明胶海绵和弹簧圈作为小血管栓塞材料, 旨在为研究MI等疾病的发病机制和治疗方法等提供更多可选择的科学实验模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物及材料

普通级新西兰白兔20只, 雌雄不限, 5~6月龄, 体质量2.0~2.5 kg, 由上海市松江区松联实验动物场提供[SCXK(沪)2017-0008]; 在上海交通大学医学院附属新华医院动物实验室进行实验[SYXK(沪)2013-0106]。本研究得到上海市徐汇区中心医院医学伦理委员会的批准(编号: 201516)。小型DSA设备(ARCADIS Varic)购自德国Siemens公司, 多导联心电图机(NIHON KOHDEN cardiofax ECG-1250)购自上海光电医用

[收稿日期] 2019-05-05

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81570229, 81570768);
上海市徐汇区卫计委面上项目(SHXXH201401);
上海市徐汇区卫计委临床专业系统人才培养项目

[作者简介] 周志文(1973-), 博士, 副主任医师, 从事心血管内科临床诊疗及相关研究。

E-mail: zhouzhiwen@foxmail.com

电子仪器有限公司;装有 ECG Viewer II 软件的电脑。

1.2 冠状动脉操作前准备

用质量分数 3% 戊巴比妥溶液按 1~1.5 mL/kg, 用注射器多点肌肉内注射将兔全身麻醉后, 从耳缘静脉建立静脉通道。按 200 U/kg 从静脉注入肝素。将 4 个别针分别刺入四肢, 并与心电图肢体导联相连, 以记录术中 MI 前后的心电图。心电图仪与装有 ECG 软件的个人电脑相连(动物的体表心电图可输入电脑, 以备分析)^[6]。将颗粒直径 710~1 000 μm 明胶海绵颗粒栓塞剂(杭州艾力康医药科技有限公司, 中国)混入 2~3 mL 造影剂[碘克沙醇注射液, 16 g(I)/50 mL, 杨子江药业集团有限公司]中。

将颈部手术区的兔毛递净后, 常规消毒铺巾。沿正中切开皮肤, 分离出左或右侧颈动脉。利用临床用的桡动脉穿刺针, 采用 Seldinger 技术穿刺颈动脉, 置入 5F 血管鞘并固定^[6]。和临床冠状动脉造影一样, 体外将三联三通分别连造影剂泛影葡胺、生理盐水、及压力监测系统。选用临床常用的 5F 右冠状动脉指引导管, 并与三通管连接。

1.3 送微导管至冠状动脉

将指引导管的头端送入血管鞘。从指引导管内送入超滑导丝。在 X 线的透视下, 在超滑导丝指引下, 缓慢将指引导管的头端送至主动脉根部的窦底; 其后撤出超滑导丝。

利用临床常用的 0.014 英寸-180 cm 的微导丝头端塑型成一小弯, 再送入大小为 1.8 F 的 Finecross 微导管(Terumo 公司, 日本)至其头端; 沿指引导管将微导管送至指引导管的头端。在排完空气后, 经三通管向指引导管推注少许造影剂, 显示指引导管的头端在主动脉窦底。缓慢调整指引导管, 使其头端靠近主动脉根部的左侧。在注射造影剂的指引下, 缓慢调整指引导管头端, 使导管头端靠近左冠状动脉开口, 造影显示清晰的左冠状动脉及左前降支^[7,8]。缓慢送微导丝至左前降支远端。其后固定指引导管和微导丝, 沿微导丝缓慢推送微导管至左前降支近段或中段(视需求的 MI 程度而定)(图 1); 本研究为提高兔存活率, 故微导管头端均放置至左前降支的中段(第

二对角支远端)。

撤出微导丝, 从微导管缓慢注射少许造影剂, 行选择性冠状动脉造影, 显示出将要堵塞的目标血管(图 2)。

1.4 实验分组及制作 MI

将实验分成 2 组: 第一组从微导管注入明胶海绵颗粒栓塞剂混悬液 1 mL, 后利用微导管造影显示左前降支闭塞无血流, 或血流明显减少(图 3); 第二组沿微导管送入直径 0.018 英寸长为 0.5 cm 的弹簧圈(COOK Medical, 丹麦), 在 X 线下可见弹簧圈送出微导管, 至左前降支中段^[8](图 4); 心电图显示 2 组较 MI 前 ST 明显缺血性改变(图 5), MI 模型制作成功。拨出微导管、指引导管及血管鞘。结扎颈动脉, 止血后缝合皮肤。手术结束后送动物回笼, 继续饲养 1 个月。术后每日肌肉内注射青霉素 40 万单位, 连续 3 d。

1.5 病理学观察

术后饲养 1 个月后, 全身麻醉后处死动物, 取出心脏, 观察大体形态。标本置于体积分数 10% 甲醛溶液中固定, 石蜡包埋, 沿心脏长轴中点横切取材, 切片 4 μm 厚, 用 HE、Masson、天狼猩红染色, 光学显微镜下观察病理组织学改变, 以及梗死区与正常供血区心肌染色, 并测量 MI 面积^[5]。梗死区与正常供血区心肌染色用全景扫描仪扫描整体切片, 截取整体图片保存用作分析。用 IPP6.0 软件进行分析, 并用此软件读取蓝色颗粒所占面积, 然后再读取整体心脏面积, 最后计算面积百分比, 即可获得 MI 面积。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 计数资料采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 建模情况

利用 25 只兔实施本研究。早期由于操作缺乏经验, 在送导管及注射造影剂时用力过大, 有 3 只兔在术中出现疑似主动脉撕裂及心包积液而死亡。后期改进, 导管在兔体内操作时缓慢细致, 死亡明显减少。3 只兔因未能找到合适的左冠口, 或

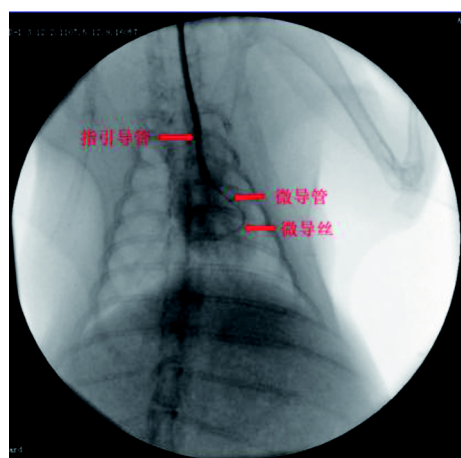


图1 指引导管、微导管及微导丝在左前降支

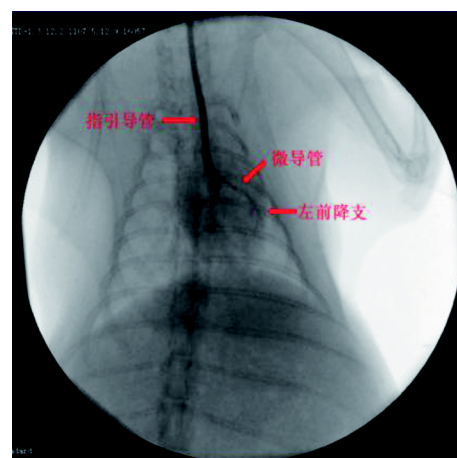


图2 经微导管行左前降支造影

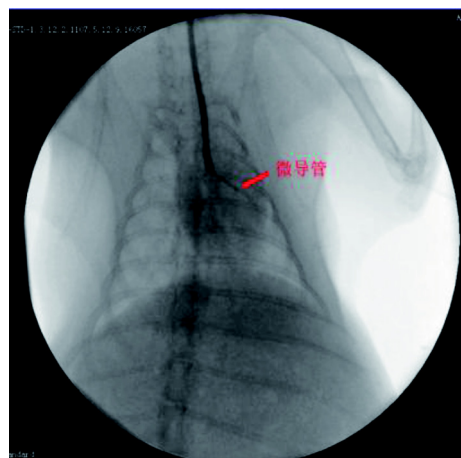


图3 经微导管注入明胶海绵栓塞剂后再次造影

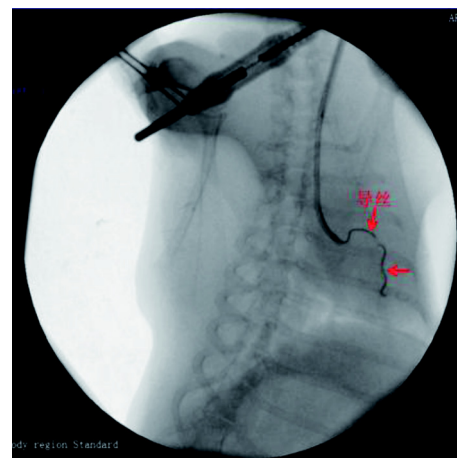
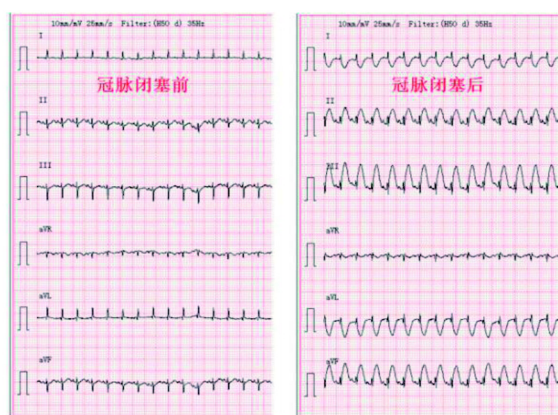


图4 经微导管送弹簧圈至左前降支



左: 闭塞前; 右: 闭塞后(ST段明显抬高)

图5 冠状动脉闭塞前后心电图

无法将微导管或微导丝送至左前降支, 未获成功。

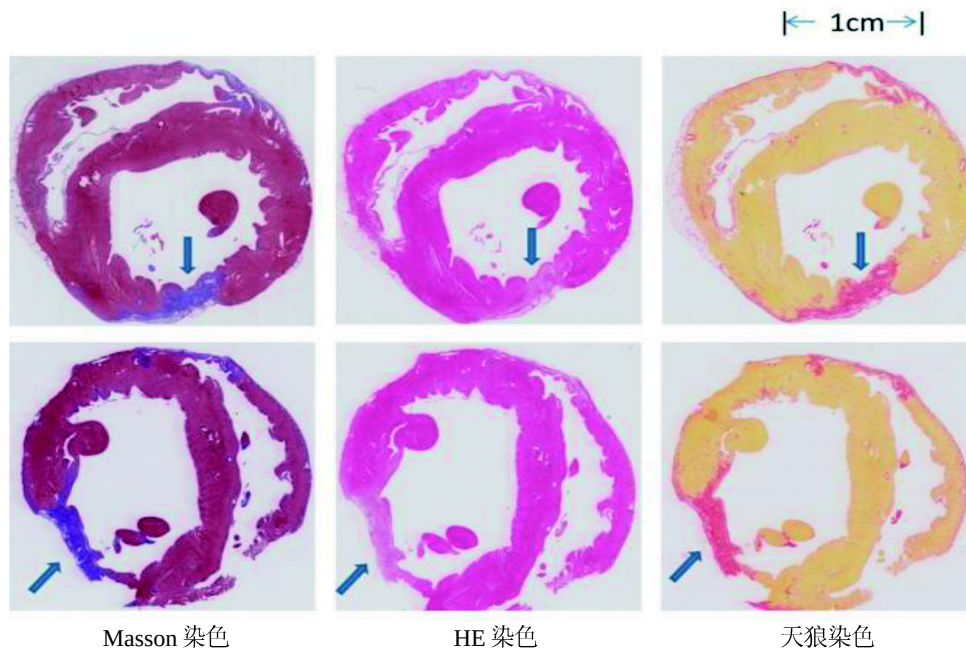
共19只兔成功送入微导丝及微导管至左前降支。弹簧圈组10只, 其中1只在送入弹簧圈时微

导管弹出, 弹簧圈释放在主动脉窦底及左主干使兔死亡, 另2只在术中因室颤而死亡。因此, 弹簧圈组兔获7只MI制作成功, 但术后饲养中死亡2只。明胶海绵颗粒栓塞剂组兔9只, 其中1只术中因室颤死亡, 1只术后约1 h死亡, 因此, MI制作成功7只, 但随后饲养中死亡1只。2组实验操作成功率相似且均较高(表1)。

所有兔在MI制作中, 在冠状动脉闭塞操作半小时内均有ST段抬高(图5)。术后兔恢复迅速, 并正常饲养。

2.2 病理学检查

饲养中死亡3只兔, 取出所有死亡兔心脏, 肉眼均看到明显MI区。2组存活的兔在饲养1个月全麻取出心脏行病理检查。三种染色均发现左心室有明显的MI区, 2组兔MI面积差异均无统计学意义(图6, 表1)。



上图为左心室近心尖部平面;下图为左心室中段平面。箭头所指向的区域为 MI 区

图 6 兔左心室 MI 病理学观察

表 1 两组实验操作中兔存活及术后病理检查情况对比

项 目	弹簧圈组	明胶海绵栓塞剂组
总例数(只)	10	9
手术成功(只)	7	7
术后饲养中死亡(只)	2	1
存活一个月行	5	6
病理检查数(只)		
心梗面积(%)	17.9 ± 4.0	17.6 ± 3.3

注: 两组数据在实验操作成功率及 MI 面积方面均无显著性差异

3 讨论

兔冠状动脉结构特性与人基本相似, 是制作 MI 模型的常用动物^[2-4]。有关兔 MI 模型制作, 传统的开胸制作 MI 模型, 常需要气管插管及人工通气供氧帮助^[9]。开胸制作 MI 模型对动物创伤大, 动物恢复慢, 也容易造成心包粘连等, 更不利于第二次开胸实验。更为重要的是, 开胸制作 MI 模型可能因为创伤大, 不但干扰了病理生理代谢, 也常因为心包粘连影响心肌重构等病理生理, 因此不利于 MI 及其后心衰等相关研究^[7,10-12]。

Katsanos 等^[13]在无气管插管、人工通气供氧

的情况下, 利用导管技术制作 MI 实验动物模型, 观察其心电图、心脏彩超的变化及心肌组织学特征, 发现与开胸死亡无差别, 证明了这种微创 MI 模型制作方法的可行性及有效性。而相比传统的开胸法, 非开胸的导管法制作兔 MI 模型有如下优点: (1)较好地模拟人体内冠状动脉急性闭塞的情景, 相比大多用开胸制作 MI, 非开胸法更贴近急性 MI 病理生理过程的特点; (2)操作简单方便, 无须开胸, 创伤小, 也减轻对家兔的损伤, 利于动物的恢复; (3)由于不会致胸腔粘连, 为第二次实验手术提供极佳的 MI 模型, 如干细胞注射等^[7,8,13]。

本研究成功利用心脏导管临床常用技术制作稳定的兔 MI 模型, 同时也发现, 在左前降支内, 无论是放置弹簧圈, 还是注射明胶海绵栓塞剂, 用两种方法制作兔 MI 模型成功率均较高, MI 面积稳定, 且无明显差异。此外, 本研究仅为了制作 MI, 如需要制作心衰模型, 则可将堵塞血管的部位升高, 使 MI 面积更大, 可明显提高心衰制作成功率, 但动物死亡率也可能更高。

在实验操作方面,整体难度不大,大部分指引导管容易到达左冠状动脉开口,但有些需反复耐心调整指引导管,方能达左冠状动脉开口。同指引导管一样,大部分微导丝容易到达左前降支,但有部分也需要耐心,反复缓慢调整导管与微导丝方能成功。只有小部分可能因冠状动脉变异等原因,微导丝无法送至左冠状动脉。微导管送入冠状动脉后,操作应尽量迅速,否则因微导管堵塞冠状动脉血流时间过长,出现大面积心肌缺血,易出现室性心律失常甚至死亡。因此,在送入弹簧圈或栓塞剂后,应尽快将微导管撤出。另外,模型制作过程中应尽量少用造影剂,以提高兔存活率。

总之,本研究探索的兔MI模型制作的微创技术和方法,操作简单,使用方便,实用性强,对将来涉及心肌缺血、心衰疾病研究均有很大的科研及社会价值。

参考文献:

- [1] 李厚怀,沈振亚,惠杰,等.应用明胶海绵栓塞法建立猪的心肌梗死模型[J].中华医学杂志,2005,85(9):599-601.
- [2] Milani-Nejad N, Janssen PM. Small and large animal models in cardiac contraction research: advantages and disadvantages [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 141(3):235-249.
- [3] 孙全文,杜建华,常宝.家兔在生物医学研究中的应用[J].中国养兔杂志,2004(2):35-37.
- [4] Peng X. Transgenic rabbit models for studying human cardiovascular diseases [J]. *Comp Med*, 2012, 62(6):472-479.
- [5] 杨永辉,李彤,赵越.一种简易兔心肌梗死模型的建立[J].中国医学创新,2012,9(10):1-3.
- [6] 周志文,赵莉芳,曹佳齐,等.兔心内电生理检查与多种心律失常效应的微创方法初探[J].实验动物与比较医学,2018,38(5):365-371.
- [7] Edwards R, Yousef Z, Rakhit R, et al. A model of closed chest regional myocardial infarction in the rabbit: a clinically relevant *in vivo* assay system of post-infarction remodeling [J]. *Basic Res Cardiol*, 2002, 97(5):374-383.
- [8] Ziv O, Schofield L, Lau E, et al. A novel, minimally invasive, segmental myocardial infarction with a clear healed infarct borderzone in rabbits [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 302(11):H2321-H2330.
- [9] 戴淑芳,龙晓凤,纪丽丽,等.建立一种家兔心肌梗死模型的新方法[J].大连医科大学学报,2012,34(1):97-100.
- [10] Lavine SJ, Campbell CA, Kloner RA, et al. Diastolic filling in acute left ventricular dysfunction: role of the pericardium [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1988, 12(5):1326-1333.
- [11] Wang SY, Sheldon RS, Bergman DW, et al. Effects of pericardial constraint on left ventricular mechanoreceptor activity in cats [J]. *Circulation*, 1995, 92(11):3331-3336.
- [12] Hamilton DR, Dani RS, Semlacher RA, et al. Right atrial and right ventricular transmural pressures in dogs and humans. Effects of the pericardium [J]. *Circulation*, 1994, 90(5):2492-2500.
- [13] Katsanos K, Mitsos S, Koletsis E, et al. Transauricular embolization of the rabbit coronary artery for experimental myocardial infarction: comparison of a minimally invasive closed-chest model with open-chest surgery [J]. *J Cardiothorac Surg*, 2012, 7(16):1-9.

A Rabbit Model of Myocardial Infarction by Using Minimally Invasive Cardiac Catheter Technique

ZHOU Zhiwen¹, WANG Yucheng², ZHAO Lifang¹, CAO Jiaqi¹,

DING Yueyou¹, LIU Huidong¹, HOU Lei³, CHANG Wei¹

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Nutrition, Shanghai Xuhui Central Hospital/Zhongshan-Xuhui Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200031, China;

3. Department of Cardiology, Tongren Hospital, School of Medicine, Shanghai JiaoTong University, Shanghai 200050, China)

[Abstract] **Objective** To establish a rabbit model of myocardial infarction (MI) by occluding coronary artery with cardiac catheter technique. **Methods** After general anesthesia, rabbit's carotid artery was isolated, and 5 F arterial sheath was inserted in carotid artery using Seldinger's method. Guiding catheter was sent to the sinus at the root of the aorta through the arterial sheath. The microcatheter was inserted into the middle or distal left of anterior descending (LAD) by using a micro-guide wire. The middle or distal of LAD was occluded by injection of gelatin sponge embolic agent or spring coil through the microcatheter. After 1 month, the rabbit's heart was removed and the MI area was examined by pathology. **Results** Nineteen of 25 rabbits were successfully transported microcatheter into LAD. 10 rabbits were completed by using the spring coil for MI model, the other 9 rabbits were completed by using the embolic agent. In the spring coil group, 7 of them were successfully produced of MI model, 2 of them died in feeding. In the embolic agent group, 7 of them were successfully produced for MI models, one of them died in feeding. There was no significant difference in MI area and success rate between the two groups. **Conclusions** The rabbit MI model can be made by minimally invasive cardiac catheter technique with high success rate. It can avoid thoracotomy injury and be more similar with the pathological characteristics of clinical MI.

[Key words] Myocardial infarction (MI); Animal model; Rabbit; Minimally invasive; Cardiac catheter technique