

本文引用:朱晓晴,吴琼,李甜,王聪聪,张晨晨,李武,李铁浪. 不同方式注射垂体后叶素对大鼠心肌缺血模型影响的研究[J]. 湖南中医药大学学报,2022,42(7): 1087-1090.

# 不同方式注射垂体后叶素对大鼠心肌缺血模型影响的研究

朱晓晴,吴琼,李甜,王聪聪,张晨晨,李武\*,李铁浪\*  
(湖南中医药大学中医学国内一流建设学科,湖南长沙 410208)

**[摘要]** **目的** 比较腹腔注射、尾静脉注射以及股静脉注射3种注射方式注射垂体后叶素诱导急性心肌缺血大鼠模型的差异。**方法** 32只SD雄性大鼠随机分为4组:正常组、腹腔注射组、尾静脉注射组和股静脉注射组( $n=8$ )。正常组注射生理盐水,其余3组分别采用不同注射方式注射垂体后叶素诱导心肌缺血。通过观察心电图上J点位置,血清血清肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTn-I)、肌酸激酶同工酶MB(creatine kinase isoenzyme-MB, CK-MB)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)含量变化和HE染色心肌组织病理变化来对比模型差异。**结果** (1)与正常组相比,各模型组均出现J点位移变化,差异有统计学意义( $P<0.01$ );股静脉注射组J点位移变化值大于腹腔注射组和尾静脉注射组。重复测量方差分析结果显示:各组大鼠心电图J点位移值在不同时间之间有差异( $P<0.001$ );时间与组间有交互效应,不同注射方式之间有差异( $P<0.001$ )。(2)与正常组相比,各模型组血清cTn-I、CK-MB、LDH含量均升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ );尾静脉注射组与腹腔注射组效应相当;股静脉注射组血清cTn-I、CK-MB含量高于腹腔注射组,血清LDH含量高于腹腔注射组和尾静脉注射组( $P<0.05$ )。(3)与正常组相比,各模型组心肌组织均出现心肌损伤性病理改变,以股静脉注射组病理表现最明显。**结论** 股静脉注射垂体后叶素建立的急性心肌缺血大鼠动物模型病理和临床表现比腹腔注射和尾静脉注射建立的模型更明显。

**[关键词]** 垂体后叶素;心肌缺血;尾静脉注射;腹腔注射;股静脉注射;大鼠模型

**[中图分类号]**R259 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.07.006

## Effect of different injection methods of pituitrin on myocardial ischemia in rats

ZHU Xiaoqing, WU Qiong, LI Tian, WANG Congcong, ZHANG Chenchen, LI Wu\*, LI Tielang\*  
(The Domestic First-class Discipline Construction Project of Chinese Medicine of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**[Abstract]** **Objective** To compare the difference of acute myocardial ischemia models induced by pituitrin in rats by intraperitoneal injection, caudal vein injection and femoral vein injection. **Methods** A total of 32 male SD rats were randomly divided into four groups: normal group, intraperitoneal injection group, caudal vein injection group and femoral vein injection group ( $n=8$ ). The normal group was injected with normal saline, and the other three groups were injected with pituitrin in different ways to induce myocardial ischemia. The difference of the model was compared by observing the location of J-point on electrocardiogram, the changes of serum cardiac troponin I (cTn-I), creatine kinase isoenzyme-MB (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH) and the pathological changes of myocardial tissue stained by HE. **Results** (1) Compared with the normal group, there were J-point displacement changes in each model group, and the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ), and the J-point displacement of the femoral vein injection group was larger than that of the intraperitoneal injection group and the caudal vein injection group. The results of repeated measures analysis of variance showed that the displacement of J-point in electrocardiogram of each group was different at

**[收稿日期]**2021-11-22

**[基金项目]**国家自然科学基金青年项目(81804216);湖南中医药大学研究生创新课题(2020CX26)。

**[第一作者]**朱晓晴,女,硕士研究生,研究方向:针灸推拿治病机制研究。

**[通信作者]**\*李武,男,博士,副教授,E-mail:272434694@qq.com;李铁浪,男,博士,教授,E-mail:litielang810@163.com。

different time ( $P<0.001$ ); there was an interactive effect between time and groups, and there was a difference between different injection methods ( $P<0.001$ ). (2) Compared with the normal group, the levels of serum cTn-I, CK-MB and LDH in the model groups were significantly increased, the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ); the effect of caudal vein injection group was similar to that of intraperitoneal injection group; the levels of serum cTn-I and CK-MB in the femoral vein injection group were higher than those in the intraperitoneal injection group, and the level of serum LDH in the femoral vein injection group was higher than that in the intraperitoneal injection group and the caudal vein injection group ( $P<0.05$ ). (3) Compared with the normal group, myocardial injury pathological changes were found in all model groups, and the most obvious pathological changes were found in the femoral vein injection group. **Conclusion** The animal model of acute myocardial ischemia induced by injection of pituitrin via femoral vein injection has more obvious pathological and clinical manifestations than that induced by injection of pituitrin intraperitoneal injection or caudal vein injection.

[**Keywords**] pituitrin; myocardial ischemia; caudal vein injection; intraperitoneal injection; femoral vein injection; rat model

心肌缺血是由于心脏血液供需不平衡引起的病理状态,主要表现为心绞痛、心律失常等,严重者可引起心肌梗死,甚至心力衰竭等多种心血管疾病<sup>[1-2]</sup>。对个人和医疗资源造成很大的负担,严重危害人类的生命健康<sup>[3]</sup>。心肌缺血机制的研究一直是心血管方面和科研领域的热点问题。其中,构建心肌缺血动物模型是研究的基础,探讨有效制备心肌缺血动物模型显得尤为必要。

垂体后叶素可改善血流动力学,对血管平滑肌有强烈的收缩作用,尤其对冠状动脉近端作用明显<sup>[4]</sup>。垂体后叶素起效快而维持时间短,且收缩冠状动脉引起的供血不足导致心肌缺血与临床上患者的病理状态比较接近。腹腔和静脉注射垂体后叶素制备心肌缺血模型,造模方法成熟,在科研实验中广泛使用。腹腔注射给药简便微创,利用腹膜及其丰富的血管,具有吸收面积大、能力强等特征,使其快速入血,进入心脏,发挥药效<sup>[5-6]</sup>;静脉注射给药,药物直接进入心脏,通过体循环到达心脏,起效迅速<sup>[7]</sup>。本实验欲探索不同给药方式对急性心肌缺血大鼠模型的影响,采用不同的注射给药方式,包括腹腔注射给药、尾静脉注射给药、股静脉注射给药,通过观察心电图变化、心肌损伤标志物和心肌组织形态学的改变,评估垂体后叶素不同给药方式对心肌缺血模型的影响,为动物模型的制备提供参考数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物与分组

选择 SPF 级 SD 雄性大鼠 32 只,鼠龄 8~10 周,体质量为 250~280 g。购自北京维通利华实验动物技术有限公司[动物许可证号:SYXK(湘)2019-0009;伦理审查批准号:LL2020102301],实验动物饲养于湖南中医药大学动物实验中心,同等条件下分笼,每笼 3 只,室温 24~26℃,相对湿度 50%~70%,适应性喂养 1 周。采用随机数字表法将大鼠随

机分为 4 组:正常组、腹腔注射组、尾静脉注射组、股静脉注射组,每组 8 只。实验过程中对动物的处理严格按照《关于善待实验动物的指导性意见》中的相关动物伦理学规定<sup>[8]</sup>。

### 1.2 主要仪器与试剂

ECG-2303B 型数字心电图机(广州市三锐电子科技有限公司);R500 型瑞沃德通用型呼吸麻醉机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);IF50 型多功能酶标分析仪(瑞士帝肯有限公司);DK-8D 型电热恒温水浴锅(生物科技有限公司);TDZ4-WS 型低速离心机[大龙兴创实验仪器(北京)股份公司]。

垂体后叶素注射液(H34022977,6 U/mL,安徽宏业药业有限公司);异氟烷(R510-22-16,深圳市瑞沃德生命科技有限公司);钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTn-I, 210218R19)、肌酸激酶同工酶 MB(creatinase isoenzyme-MB, CK-MB, 210218R23)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH, 210218R27)均购自江苏菲亚生物科技有限公司。

### 1.3 各组处理方法

正常组:正常饲养,不做任何处理;腹腔注射组:腹腔注射垂体后叶素 20 U/kg;尾静脉注射组:尾静脉注射垂体后叶素 15 U/kg(5 s 恒速注射完毕);股静脉注射组:解剖并分离股静脉,注入垂体后叶素 10 U/kg。各组每 24 h 注射 1 次,连续注射 3 次。以上操作均在呼吸麻醉下进行(异氟烷麻醉:诱导浓度 4%,维持浓度 2%)。

尾静脉注射组和股静脉注射组造模中各脱落 1 只,考虑静脉注射过快,控制药物推注速度。

### 1.4 指标检测

1.4.1 心电图检测 异氟烷维持麻醉下,连接数字心电图机,对应肢体连接导联,在造模前和第 3 次注射垂体后叶素 2、5、10 min 后分别测心电图,记录 II 导联 ST 段中 J 点的变化幅度。J 点的变化幅度值在计算时以 PR 段为基线,取 5 个连续波形变化的平

均值。

1.4.2 血清指标检测 第3次给药前禁食24 h,给药后30 min,异氟烷维持麻醉下腹主动脉取血,血液样本静置30 min后,3500 r/min,离心10 min,取上清液,按照试剂盒说明书检测血清cTn-I、CK-MB、LDH的含量。

1.4.3 组织形态学检测 处死大鼠后取出心脏,剪去其他不需要的血管和组织,生理盐水冲洗干净,放入4%多聚甲醛中固定。24 h后制备心肌组织的石蜡切片,进行HE染色常规操作,显微镜下观察心肌组织染色情况。

### 1.5 统计学方法

采用SPSS 25.0统计软件进行统计分析,所有统计数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。数据符合正态性分布和方差齐性者,用单因素方差分析比较组间差异,多重比较用LSD/SNK法;不符合方差齐性,则采用dunnett T3或Tamhane's T2法;不满足正态性者,用非参数Kruskal-Wallis H检验;重复测量数据采用重复测量计量资料方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组心电图J点位移变化幅度值比较

单因素方差分析结果显示:(1)腹腔注射组、尾静脉注射组和股静脉注射组的J点位移变化值在2、5、10 min均高于正常组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );(2)尾静脉注射组的J点位移变化值在5 min高于腹腔注射组,股静脉注射组的J点位移变化值在2、5、10 min均高于腹腔注射组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。尾静脉注射组与股静脉注射组差异无统计学意义( $P>0.05$ )。重复测量计量资料方差分析结果显示:(1)造模后J点位移值不同时间之间存在显著差异( $F=36.513, P<0.001$ );(2)时间与组间存在交互效应( $F=4.611, P=0.001$ );(3)不同注射方式之间存在显著差异( $F=44.816, P<0.001$ )。垂体后叶素注射后出现J点位移变化,其幅度变化与心肌缺血程度呈正相关,而以股静脉注射组的变化值最明显,提示心肌损伤程度最高。详见表1。

表1 各组心电图J点位移的变化幅度值比较( $\bar{x}\pm s, mV$ )

组别	n	2 min	5 min	10 min
正常组	8	0.010±0.007	0.013±0.009	0.017±0.010
腹腔注射组	8	0.086±0.028**	0.111±0.028***	0.128±0.031***
尾静脉注射组	7	0.111±0.039**	0.177±0.040*** <sup>#</sup>	0.160±0.071***
股静脉注射组	7	0.147±0.086*** <sup>#</sup>	0.184±0.076*** <sup>#</sup>	0.211±0.087*** <sup>#</sup>

注:与正常组相比,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ ;与腹腔注射组相比,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>#</sup> $P<0.01$ ,<sup>#</sup> $P<0.001$ 。

### 2.2 各组血清cTn-I、CK-MB、LDH含量比较

腹腔注射组、尾静脉注射组和股静脉注射组的血清cTn-I、CK-MB、LDH值均高于正常组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );而尾静脉注射组的血清cTn-I、CK-MB、LDH含量与腹腔注射组相当,差异无统计学意义( $P>0.05$ );股静脉注射组的值均高于腹腔注射组,其中股静脉注射组的血清LDH含量值高于尾静脉组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。详见表2。

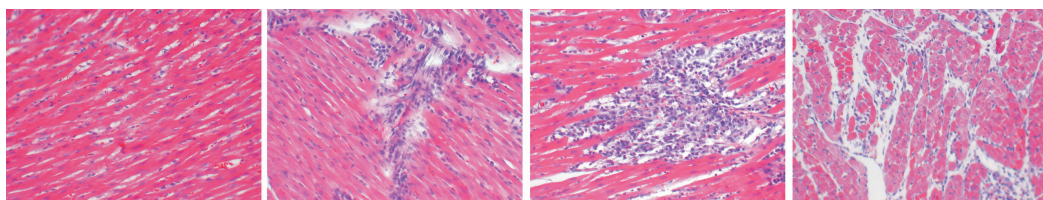
表2 各组大鼠血清cTn-I、CK-MB、LDH含量比较( $\bar{x}\pm s, pg/mL$ )

组别	n	cTn-I	CK-MB	LDH
正常组	8	110.100±13.750	26.803±4.602	13.247±2.234
腹腔注射组	8	140.450±12.312**	39.670±4.892***	20.928±4.540***
尾静脉注射组	7	155.200±27.905***	42.015±4.650***	23.910±2.056***
股静脉注射组	7	167.900±14.794*** <sup>#</sup>	46.364±4.345*** <sup>#</sup>	28.915±3.959*** <sup>#</sup> <sup>△</sup>

注:与正常组相比,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ ;与腹腔注射组相比,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>#</sup> $P<0.01$ ,<sup>#</sup> $P<0.001$ ;与尾静脉注射组相比,<sup>△</sup> $P<0.05$ 。

### 2.3 各组心肌组织病理切片染色情况比较

各组大鼠心肌组织病理切片染色如图1所示,正常组心肌组织形态基本正常,细胞核完整,横纹清楚,心肌纤维排列整齐,心肌结构无明显病理改变。与正常组对比,各模型组均出现心肌组织结构被破坏的现象。腹腔注射组的心肌组织内可见局灶性炎性细胞;尾静脉注射组表现为心肌细胞界限不清,炎性细胞成团浸润明显;股静脉注射组的心肌纤维明显排列紊乱、扭曲、断裂,甚至部分溶解,心肌组织可见炎性细胞浸润、水肿明显。



正常组

腹腔注射组

尾静脉注射组

股静脉注射组

图1 各组大鼠心肌组织病理切片染色情况比较(HE染色,×200)



### 3 讨论

心肌缺血是心脏的一种病理状态,表现为心脏的血液供应减少而导致缺氧,持续缺氧会引起心肌组织坏死,激活炎症反应,产生大量炎症因子,影响心脏的正常功能<sup>[9]</sup>。垂体后叶素作用于血管加压素受体,引起全身血管平滑肌收缩,特别是小血管,使外周阻力增加,加重心脏负荷,也可引起冠状动脉痉挛、心肌缺血缺氧,加剧心肌损伤,导致心肌缺血<sup>[10]</sup>。心肌缺血模型制备主要分为手术造模和药物造模两种,手术造模通过开胸结扎冠状动脉,阻断血流,造成心肌组织缺血坏死;药物造模经常使用异丙肾上腺素和垂体后叶素,静脉注射、腹腔注射或者皮下注射引起心肌强烈收缩,导致心肌损伤<sup>[11]</sup>。本实验采用垂体后叶素制备心肌缺血模型,垂体后叶素为注射剂,可采用多种注射方式给药。腹腔注射存在首过效应以及腹膜、肠系膜吸收的个体差异等问题,腹腔注射模型稳定性不明确;尾静脉注射由于大鼠尾部皮肤紧,尾静脉细小难以暴露清楚,一次性注射成功率不高;股静脉位置固定,分离肌肉即清晰可见,且管径较粗,注射成功率高<sup>[12]</sup>。

ST段代表心室肌除极完成,细胞之间没有电位差,复极还未开始的一段时间。当心室仍存在电位差,导致心电图上ST发生偏移时,提示某部位的心肌缺血或坏死<sup>[13-15]</sup>。心电图中心电图J点位移变化的幅度,引起ST段改变,反应出心肌缺血性损伤的程度<sup>[16]</sup>。3种注射方式皆引起心电图心肌缺血样改变,以股静脉注射组J点位移变化幅度值最大,心肌缺血性损伤程度最高。cTn-I在心肌损伤时释放到血循环中,与心肌损伤程度呈正相关,是心肌损伤特异性指标之一<sup>[17-18]</sup>。CK-MB主要存在于心肌组织中,当心肌组织损伤严重时,CK-MB被释放入血,是心肌组织损伤的敏感指标之一<sup>[19]</sup>。LDH广泛存在于人体组织中,以肾脏含量最高,其次是心肌和骨骼肌,也可作为心肌损伤的指标之一<sup>[20]</sup>。3种注射方式模型大鼠血清中cTn-I、CK-MB、LDH含量均升高,心肌损伤存在,造模成功,以股静脉注射组升高最明显,说明该组造成的心肌缺血效果较好。从病理结果来看,各模型组心肌组织皆出现病理性改变,以股静脉注射组引起的心肌缺血性损伤病理变化最明显。

综上所述,从心电图、心肌损伤标志物及心肌组织形态学3方面改变说明垂体后叶素可制备急性心肌缺血大鼠动物模型,而股静脉注射组在这3方面的指标变化优于尾静脉注射组和腹腔注射组,显示股静脉注射垂体后叶素建立的急性心肌缺血大鼠动物模型的心肌缺血病理和临床表现最为严重,提示采用股静脉注射垂体后叶素制备心肌缺血大鼠模型更为合适。

### 参考文献

- [1] ARAS K, BURTON B, SWENSON D, et al. Spatial organization of acute myocardial ischemia [J]. *Journal of Electrocardiology*, 2016, 49(3): 323-336.
- [2] KASKI J C, CREA F, GERSH B J, et al. Reappraisal of ischemic heart disease [J]. *Circulation*, 2018, 138(14): 1463-1480.
- [3] SEVERINO P, D'AMATO A, PUCCI M, et al. Ischemic heart disease pathophysiology paradigms overview: From plaque activation to microvascular dysfunction [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(21): 8118.
- [4] ZHANG Z, SHI H W, SUN J H, et al. Use of hypophysin in hypotensive patients with low systemic vascular resistance following cardiopulmonary bypass [J]. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2013, 51(8): 615-619.
- [5] 陈毅飞,高华,卢珺,等.大鼠、小鼠腹腔注射的操作方法 [J]. *科技视界*, 2020(6): 192-193.
- [6] 谢晓.术前卡铂不同途径单次给药对肿瘤组织药物聚集浓度与化疗效果的影响 [J]. *中国药房*, 2016, 27(21): 2913-2915.
- [7] 房绍英,马河,侯重文,等.人参多糖3种给药途径大鼠体内药动学特征比较 [J]. *食品与药品*, 2018, 20(4): 253-256.
- [8] 史晓萍,宗阿南,陶钧,等.《关于善待实验动物的指导性意见》的研究 [J]. *中国医科大学学报*, 2007, 36(4): 493.
- [9] JANUZZI J, MCCARTHY C. Untangling myocardial injury: Moving from consequence to cause [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2021, 78(8): 791-793.
- [10] 辛玉虎,郭忻.在体动物心肌损伤模型述评 [J]. *心血管病学进展*, 2009, 30(S1): 38-41.
- [11] 刘宇,杨娟,韦婷,等.改良冠脉结扎法大鼠心肌缺血模型的制备 [J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(6): 202-205.
- [12] 黄汉超,吴永刚.股静脉置管注射垂体后叶素制作大鼠心肌缺血模型 [J]. *贵阳医学院学报*, 2010, 35(6): 584-586.
- [13] 谢玲玲,李仁杰.山丹颗粒对垂体后叶素致大鼠急性心肌缺血的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2020, 18(6): 894-898.
- [14] 柴晶美,李欣,杜金,等.二参颗粒对垂体后叶素诱导冠心病心肌缺血大鼠血液流变学及血脂的影响 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2020, 26(6): 753-755, 787.
- [15] 李志坤,王希柱,宋巧凤.基于Nrf2/HO-1通路探讨藏红花酸对高血脂合并冠心病大鼠心肌损伤的改善作用及对心电图的影响 [J]. *中医药导报*, 2021, 27(7): 22-26.
- [16] 邹平平,衡先培,李亮,等.丹瓜方对糖尿病大鼠离体心脏垂体后叶素所致心肌缺血模型的影响 [J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(6): 1300-1303.
- [17] 杨何花.血清心肌酶谱与肌钙蛋白检测的临床意义 [J]. *医疗装备*, 2021, 34(12): 31-32.
- [18] 党璋,吴琼,王娟,等. GDF-15、sST2及cTnI在急性心肌梗死患者中的表达及其对预后的预测价值研究 [J]. *临床误诊误治*, 2021, 34(2): 49-53.
- [19] 康孟杰,李想,韩朝霞,等.急性冠脉综合征患者CK-MB、cTnT及CRP水平变化与临床意义 [J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2021, 21(2): 3827-3830.
- [20] 任耀龙,郑刚,赵明君,等.丹参饮预处理对缺血/再灌注损伤大鼠心肌细胞的保护作用及对血浆氧化三甲胺水平的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(12): 1996-1999.