

心血管药药效学 实验方法

<=>

中国药学会心血管药理分会 编印
国家医药管理局新药研究管理中心

一九九一年四月

目 录

降压药规范实验操作步骤及技术方法	(1)
抗心肌缺血药物规范实验的操作步骤及技术方法	(10)
抗心律失常药实验操作及方法	(36)
调血脂药实验的操作步骤及技术方法	(57)
抗动脉粥样硬化药物的实验操作步骤和技术方法	(71)

降压药规范实验操作步骤及技术方法

国 内 外 方 法 概 况

血压的测定：分插管直接测压法和非插管间接测压法两种，前者多用于各种动物的急性实验，后者多用于慢性实验治疗。直接测压法是将心导管或口径不等的塑料管插入颈动脉或股动脉内，另一端与压力换能器相连，能敏感准确地连续测定和记录给药前后的血压，这是国内外普遍采用的方法，方法简单，已经规范化。国内已有多种压力换能器可供应用，设备已不困难。个别实验室没有此种设备时，也可以应用经典的U型水银检压计。此种方法所测得的血压值接近平均压。

非插管的间接测压法主要用于大鼠和犬，大鼠是研究降压药常用的动物，测定大鼠血压的方法有不少文献报道，但所有方法都不够理想，最常用的方法是用尾动脉袖带加压法，加压到超过收缩压后，压力逐渐降低到等于或稍低于收缩压时，出现脉搏波或声音或容积改变，用相应测定装置可监测到收缩压。此种测压法常需加温，加温温度和时间对血压值有影响。现在国内外有多种大鼠尾动脉测压仪出售，也可自制尾动脉容积测压器。

犬是研究降压药较理想的动物，但由于饲养条件的要求，限制了其广泛应用，加之筛选药物时用药量大，也是限制应用的另一因素。测定犬的血压常采用颈动脉皮鞘听诊法。方法简便快速，能很好的反映药物的作用。

高血压病理模型：已有不少的病理模型可用来评价降压药的药效。

(1) 遗传性高血压：选择血压高于160mmHg以上大鼠进行同系近亲繁殖，多代繁殖后可以获得自发性高血压大鼠(SHR)，血压一般在200mmHg)，此种高血压大鼠首先由日本Okamoto等培育成功，以后他们又培育成功一些亚种，如脑卒中易感型自发性高血压大鼠SHR₁，糖尿病型和肥胖型SHR等，此外还有Smirk

等培育成功的新西兰种高血压大鼠(GHR)，由Bianchi等培养成功的米兰高血压种大白鼠(MHR)。此外Daht还培育成功盐敏感性高血压大鼠。此种大鼠服用1%盐水后形成慢性高血压，盐不敏感的大鼠在饮用盐水后血压不升高。此种大鼠也是研究降压药常用的病理模型。

(2) 肾型高血压：其中包括狭窄肾动脉引起的Goldblatt肾血管型高血压和肾实质型高血压，这也是常用的动物模型。

(3) 内分泌型高血压大鼠，常用的有DOCA盐型高血压大鼠。

(4) 神经型（刺激血管运动中枢或去减压神经）和神经精神型高血压动物：由于所形成的高血压不够稳定或形成较困难，故较少用于评价降压药的药效，主要用于病理生理研究。

规范化实验操作步骤和方法技术

(一) 大鼠插管直接测定血压的方法

原理

塑料管插入动脉后，血液进入插管，心脏收缩驱动血液流动的压力（血压）可以从插管所连接的压力换能器上准确地反映出来。

操作步骤

(1) 麻醉大鼠血压测定：大鼠，体重180-300克，但同批实验体重相差不要太大，雌雄不限，腹腔注射戊巴比妥钠40-45mg/kg，或乌拉坦1-1.2g/kg，仰卧位固定于鼠台上，剪去颈部或腹股沟的毛，用水或酒精擦净手术野，从颈正中线剪开皮肤，分离出气管，插入气管插管（玻璃或塑料管），从胸锁乳头肌内缘分开，暴露颈总动脉和迷走神经，细心游离出一段动脉，用手术线结扎外周端，动脉夹夹住近心端，眼科剪剪一小口，将充满肝素生理盐水的细塑料插管插入，用线结扎，并固定之，在插动脉管前需先将插管与压力换能器相连。并在记录仪上校准零点和100mmHg点(2cm)，放开动脉夹之前，先将压力打到

160-180mmHg。以避免血液进入压力换能器内。

为避免呼吸对血压影响，可以进行人工呼吸，气管内若有分泌物时，要及时用棉花棒擦净，欲测呼吸，可安置呼吸测量仪。

在四肢皮下（或右上及下，左下肢）插入针形电极，记录二导ECG。

手术结束后，启动生理记录仪，慢速(10mm/min)记录各项指标，血压稳定后，加快纸速(25-50mm/s)记录血压波和心电5个波形以上，在给药后一定时间（根据药物作用性质而定）开动一次快速记录。用此法可连续记录出给药前后的平均压(MAP)、收缩压(SP)、舒张压(DP)和ECG。

(2) 清醒大鼠血压测定：分两个阶段进行。

① 在麻醉下作动、静脉插管

取大白鼠一只，体重在 200g 左右，雌雄均可。腹腔注射戊巴比妥钠40-45 mg/kg，待麻醉后，仰卧固定大白鼠于鼠台上，剪毛，用1%碘酒酒精消毒腹部皮肤，沿髂嵴连线中点腹正中线切开皮肤约2cm，剪开肌肉，小心钝性分离腹主A和V，于腹主动、静脉下穿二条线，以便提取血管防止血液外流，在腹主A、V旁无血管的腰肌上穿一长通针经背部皮下穿出颈背皮肤，分别将二条U型有小圈的特制小塑料管（见图1）的长端，从腹部通过通针引出颈背皮肤，并从外口端将小管充满生理盐水，作动、静脉插管用。并用止血钳暂时夹紧插管管口。用4号弯针头在动、静脉上各穿一小孔，分别将塑料管的短、细端沿向心方向插入腹主A和V约2cm。用线将塑料管固定于背肌上，以免小管滑出。由塑料管的另一端注入小量含肝素10 U/ml的生理盐水，使管口不受血液堵塞，烧灼密封颈背部塑料管口。缝合肌肉和皮肤。用碘酒酒精消毒伤口，待动物清醒后，小心单只饲养数天，即可测量血压。所有器械可用75%乙醇消毒。此外也可从颈总动脉、髂动脉、尾动脉和外颈静脉插A及V插管，测定清醒大鼠的血压。

②清醒大白鼠血压的描记

将上述手术后留有动静脉插管的清醒大白鼠放在鼠盒中任其自由活动，用

小止血钳夹住颈部动脉插管，剪开密封端连接在与血压换能器相连充满肝素生理盐水(10U/ml)的塑料管上，血压换能器连接记录仪即可描记大白鼠血压。静脉插管外口可作静脉给药用。

(二) 大鼠非插管间接测压法

原理

心脏收缩产生压力，驱动血液在血管内运行的同时，压力对血管壁也产生压力，此压力可以经过皮下组织传至皮肤。在大鼠尾根部套上加压袖口，当压力加大到超过收缩压时，血流中断，压力逐渐降低到等于或稍低于收缩压时，心脏收缩，血流通过，出现血压搏动，此时可以用微音器听出搏动声，用脉搏描记仪描记出脉搏搏动图。出现脉搏振动声或搏动图的起点即为收缩压。另一方面由于此时的压力大于静脉压，血回流受阻，造成尾容积加大，因此也可以根据容积的突然增加来确定尾动脉收缩压。

操作步骤

- 1、取200克左右大鼠，先适应加温环境。
- 2、测定大鼠血压的实验室温度应保持在20℃以上。
- 3、实验前在动物笼外用灯加温，然后放入鼠筒。并固定在舒适位置，尾部露出筒外，将鼠尾引入加压袖口内。
- 4、加温，可将大鼠放在固定温度的温箱内进行全身加温，也可用灯泡或局部加热器，使尾部局部加温。
- 5、充气加压，压力加大到超过该动物收缩压约30mmHg，然后逐渐减压，减压速度与所测血压值的准确性有明显关系。现在的大鼠测压仪是以一定速度自动加压和减压。
- 6、血压显示，有的仪器可自动显示血压和心率。有的从描记仪上描记出血压搏动或血流改变，有的用听诊法听声音，或从毛细血管上看出尾容积的突

然增加，后两种方法的可靠性较差。一般要隔30s-1min测一次，连续测3-4次，以3次近似值的平均值作为所测血压值。

注意事项和方法评价

1、插管直接测压方法简单，准确，能连续观察给药前后的血压和心率，心律，ECG，了解一次给药后药物出现作用和作用消失时间、作用强度，并与已知药比较，作出科学评价。其缺点是不能进行长期慢性实验。

2、麻醉动物实验受麻醉药影响，戊巴比妥麻醉在麻醉浅时血压偏高，麻醉深时血压下降，过深容易引起大鼠死亡。乌拉坦麻醉较平稳，血压偏低，麻醉维持时间很长（24小时以上）。在麻醉情况下反射消失，难以看出降压引起心率加速反应。

3、清醒动物测压时受环境因素、尾部加压刺激及加温刺激等的影响。应注意这些影响血压的因素。

4、测压时所用仪器的准确性和敏感性也影响血压值，实验应注明所用方法和仪器。

5、正常动物的MAP超过100mmHg, SP超过110-120mmHg才能供评价药物药效用。

(三) 狗的血压间接测量法

1、颈动脉皮鞘手术

手术为无菌操作，一切消毒方法与进行人手术相同，静脉注射戊巴比妥钠30mg/kg，背位固定于手术台上，剃去颈部毛，肥皂水洗净手术野后，用碘酒和酒精消毒。以锁乳头肌内缘为中线作二平行皮肤切线，宽了3-4cm，内切线从胸骨柄上端开始，长7-8cm，外切线比内切线短0.5-1.0cm，使皮鞘有较多的血液供应，以利于伤口愈合，然后分离两切线之间的皮下组织，结扎出血点，作成皮片。沿胸锁乳头肌内缘分开筋膜，暴露颈总动脉，将其从血管神经束中

分离出来，长度约7-8cm。将分离出的颈总动脉置于皮片下，以皮片包绕之。依次间断缝合皮片的皮下组织和皮肤，制成皮鞘。然后依次间断缝合颈部的肌肉，皮下组织和皮肤。在皮鞘两端与其下颈部皮肤交界处做荷包缝合，即4片皮肤各缝一针，拉紧，使方形缺口封闭。缝合后的皮鞘长短以能在皮鞘下放入3-4横指为宜。皮鞘内的颈总动脉搏动不能减弱，若减弱或摸不到搏动，说明颈总动脉受压迫，其原因为切线位置不当或所分离的动脉长度不够，需重新分离和缝合。手术完毕后，用无菌纱布包好皮鞘，皮鞘两侧垫以纱布棉花条，然后再用特制的包扎带包好，这样就不致压迫颈总动脉。

该手术由于皮片的移出，颈部形成一大缺口，缝合时牵引力较大，伤口愈合较慢。且皮鞘两端较易感染，故拆线时间在术后8-10天。伤口完全痊愈后才能测定血压。

注意事项

(1) 严格皮肤和手术消毒，局部可以撒磺胺粉，防止感染，必要时肌注青霉素3天，若有感染，狗就会抓伤口，此时立即换药，注意护理。否则引起皮鞘化脓裂口，动脉出血，一旦出现此种情况，结扎动脉。

(2) 缝合皮下组织十分重要，特别是两端，在缝合皮下组织后，注意细看颈动脉是否露出。皮肤缝合也要特别注意，皮肤对好，不可内翻，荷包缝合时线不能拉得太紧或太松，以不露空隙为宜。若注意消毒、手术和护理，则皮鞘愈合良好。若皮鞘两端感染，易造成皮鞘过短，给测定血压造成困难。

2、测压方法

包括听诊法，触诊法和描记法，不论采取那种方法，动物均需先经训练，使之适应环境和测压操作，测压环境要保持安静。

(1) 听诊法：与测人的血压方法相似。狗取立位，坐位或卧位，将加压袖带包在皮鞘近心端，加压袖带用导尿管放在妇科用橡皮指套内束紧，放入绸

制的套内，导尿管另一端与汞检压计（人用）相连。将听诊器放在加压袖带远心端，听诊器可用测人血压听诊器（去掉大喇叭），加压袖带充气加压约超过收缩压30mmHg，然后逐渐放气（不可过快，过快血压偏低，若太慢，舒张压不易听清），当出现声音时为收缩压，变音时为舒张压。

（2）触诊法：操作同上，加压袖带内的压力达收缩压终点时，可触及脉搏搏动，搏动减弱时为舒张压（不一定所有动物均能测出舒张压）。当动物健康较差，脉搏搏动无力或当给降压药血压下降过低时，用听诊法难以测出血压。此时采用触诊法，用此法测得的血压值略低于听诊法。

用听诊法和触诊法测量血压方便、快速，若注意环境和动物安静，所测血压值较可靠，若动物兴奋，则血压升高，心率加快。在筛选和评价降压药降压疗效时，为避免主观误差，可采用盲法，即测压者不知所用何药。

（3）描记法：为了防止主观评定血压，采用描记脉搏搏动出现时的血压值。由于手续麻烦，一般不采用。

（四） 肾动脉狭窄性高血压病理模型

原理

狭窄肾动脉造成肾缺血，导致肾生成肾素增加，肾素作用于循环血液中的血管紧张素原，引起血液中血管紧张素 I 和 II 含量增加。血管紧张素 II 是体内最强的缩血管物质，同时还激活肾上腺皮质分泌醛固酮，引起水盐代谢障碍。此外，血管紧张素 II 对交感神经系统还有作用。因此肾动脉狭窄引起肾缺血后肾素—血管紧张素—醛固酮系统的改变，造成稳定持续和明显的血压升高，成为评价降压药药效的良好病理模型。

操作步骤

大鼠，200克左右，腹腔注射戊巴比妥钠40-45mg/kg，俯卧位固定于鼠台上，剪去背部毛，碘酒和酒精消毒，盖上开孔消毒手术巾，在脊柱左侧，从肋骨下

缘往下切开（或剪开）皮肤，长约3cm。用分析钳从腰肌和腹肌交界处分开，即可暴露肾脏，细心将肾动脉分离，将内径为0.2mm的银夹套上，依次缝合肌内和皮肤，酒精消毒后，伤口上覆盖一小块消毒纱布，将其四角缝在皮肤上，放回动物笼。此为二肾一夹型肾型高血压大鼠，若要形成一肾一夹型高血压大鼠，则在一周后将另侧肾切除。

犬：戊巴比妥钠(30mg/Kg iv)麻醉，腹向下半卧位固定，腹部下肾区垫一棉垫，将肾托起，便于手术，剃去手术区的毛，热肥皂水洗净皮肤，碘酒酒精消毒，在无菌条件下进行手术。从脊柱旁约2cm处，沿肋骨下缘向下切一长约5cm的切口。切开皮下组织和腰背筋膜，在腹斜肌与腰大肌连接处切开腹斜肌，即可看见肾周围组织，用手摸到肾脏及肾盂部位的肾动脉，细心分离肾总动脉，套上7号手术线，在血管上放一个外径约相当于肾动脉 $1/2-1/3$ 的铁丝，连同铁丝一齐结扎，然后迅速取出铁丝。观察肾脏颜色，以不变紫为宜，结扎肾动脉的离心端脉搏搏动变弱，但不能消失。一般使血管狭窄 $1/2-1/3$ 即可形成稳定的高血压，结扎完成后，依次缝合肌肉，皮下组织和皮肤，皮肤用碘酒酒精消毒，撒上磺胺粉，覆盖消毒纱布，将纱布四个角缝在皮肤上，外面再用纱布垫包好，7天后即可拆线。一般不会感染。若有感染，可换药和肌注青霉素。手术后血压可逐渐升高。多数动物结扎一侧肾动脉即可引起血压升高，若切除另侧肾脏，血压升高更明显。结扎一侧肾动脉后，若血压升高不持久，也可在血压恢复到接近正常时再狭窄另侧肾动脉。

方法评价和注意事项

1、用狭窄肾动脉的方法能形成稳定持久的高血压，相当于人的肾血管型高血压，能反映现有降压药的降压效力，是用于评价降压药药效的良好病理模型。

2、狭窄肾血管引起的高血压有二肾一狭窄型，其另一肾的肾功能保持，一肾一狭窄型，则切除健康肾，肾脏排水功能受到损害。

3、大量研究表明，200克左右大鼠所用银夹的内径以0.2mm为宜，银夹可以定做，也可以买手饰用银丝压成银片，制成内径合适的银夹。

4、犬的肾动脉粗细的个体差异大，用手术线结扎很方便，结扎松紧是形成高血压的关键。太紧（肾变色，结扎远端脉搏太弱或消失）则形成恶性高血压而死亡，若太松（远端脉搏搏动减弱不多）则血压升高不明显。不论大鼠和犬收缩压上升到160mmHg以上才能认为形成了高血压。实际上血压往往上升到200/130mmHg左右。

5、动物服用高盐饮水或食物中加盐，可使血压升高程度加重。

（五）DOCA盐性高血压大鼠

大鼠，体重200克左右，用间接测压法测定血压正常值后，每周皮下注射去氧皮质酮(DOCA)30mg/kg或一次皮下注射100mg/kg，可一只大鼠皮下埋藏50-100mg DOCA片，服用1%盐水。

参 考 文 献

曾贵云：药理学进展 药理学进展心血管药理分册 中国药理学会编
人民卫生出版社 北京 1980,36-57.

抗心肌缺血药物规范实验的

操作步骤及技术方法

- 一、阻断冠状动脉引起心肌缺血实验方法
- 二、药物诱发心肌缺血实验方法
- 三、离体心脏心肌缺血实验方法
- 四、冠脉循环实验方法
- 五、心肌氧代谢实验方法
- 六、心脏功能及血流动力学实验方法（见另章）

一、阻断冠状动脉引起心肌缺血实验法

国内外方法概况¹⁻³：

评价抗心肌缺血药物疗效的实验方法中，阻断动物的冠状动脉实验法应用较早，是目前国内外应用最广泛的方法。阻断或狭窄冠脉的方法有如下几种²：

（1）冠状动脉结扎法；（2）冠状动脉气囊压迫法；（3）冠状动脉内栓塞法；（4）冠状动脉逐渐闭塞法，包括酪蛋白或Ameroid缩窄环法及冠状动脉内血栓形成法（电刺激法、血管内异物法、注入凝血酶或ADP法等）。

方法模型原理：

通过狭窄或完全闭塞冠状动脉（前降支或左旋支），使其供应区的血流减少或缺无，造成心肌缺血，心肌缺血缺氧而发生代谢紊乱，以致发生凝固性坏死。其发病过程和机制接近人体发病的基本情况。评价抗心肌缺血药物疗效的观测指标有如下几种：¹、直接测定心肌梗塞范围的方法：（1）标本活体染色的方法（N-BT或TTC染色法）；（2）病理切片显微镜检查；（3）电子显微镜超微结构变化；（4）四环素荧光法，利用四环素能与心肌坏死细胞中的钙螯合的特性，在切片上进行荧光照相，以测定梗死面积。²、间接测定心肌梗塞范围的方法：（1）心外膜电图标测法；（2）酶学指标：测量血中磷酸肌

酸激酶 (CPK) 及乳酸脱氢酶 (LDH) 的变化, 动态观察心肌损伤情况, 定量分析心肌缺血程度; (3) 核示踪法: 此法是将对心缺坏死物质有亲和力的物质进行核素标记来观察梗死情况, 常用的有^{99m}Tc-四环素和^{99m}Tc-焦磷酸亚锡; (4) 心肌轻链放射免疫法。3、缺血区测量指标: (1) 染料及荧光素法: 通过从冠脉注入染料或荧光素, 然后进行心肌切片观察心脏血流灌注情况, 从而计算无染料 (或荧光) 的面积 (即缺血面积), 如合并应用N-BT做活体双重染色法可计算梗死面积与缺血面积的比值; (2) 核示踪法: 利用放射性核素²⁰¹Tl依靠钠泵进行转运而不能进入缺血或坏死细胞的特点, 通过闪烁照相来分析缺血区情况。(3)放射自显影法观察缺血区;(4)心表面荧光法: 用表面荧光照相来分析缺血区情况。4、冠脉血流量、冠脉返流量及返流压的测定。5、心肌区域血流量的测定。6、心脏功能及血流动力学指标。7、心肌代谢指标, 如心肌氧代谢, 其它物质及能量代谢, 如FFA、ATP、PGI₂、TXA₂、cAMP/cGMP、SOD、K⁺、乳酸等测定。

在药物评价中可采用上述形态、电生理、生化、放免、核示踪、荧光等指标综合分析。

材料与试剂:

动物 (可选用犬、猫、兔、大鼠、豚鼠、猪等。)

人工呼吸机、微量输液泵、左心室插管、心外膜心电图电极、压力换能器、电磁流量计、多道生理记录仪等。

(一) 犬实验法

操作步骤

1、健康成年犬, 性别不拘, 体重10-20Kg以戊巴比妥钠30mg/kg静脉缓慢注射麻醉。气管切开, 行正压人工呼吸, 潮气量通常为250-450ML左右, 动脉氧分压维持90-100mmHG, 血pH在正常范围。颈动脉或股动脉插管以

测量动脉血压，股静脉插管给药。

2、沿左侧第4肋间开胸，剪开心包，将心包缘缝于胸壁，注意使心脏位置适中，不要造成心脏过度移位，以免影响血流动力学。

3、分离冠状动脉。一般在左前降支中1/3（相当于第三分支根部）处分离出一段血管0.5cm长。

4、可用以下方法阻断冠动脉，形成心肌缺血：

(1) 结扎法：在分离血管段下方穿以3号或4号丝线，备扎，或用动脉夹临时关闭。

(2) 冠状动脉气囊压迫法⁴：压迫环由有机玻璃外套和可膨胀的乳胶气囊构成，外套长5mm，侧面有一宽1mm的缝隙，血管由此进入腔内，气囊长3-4mm，一端密闭，一端与直径1mm、长40cm的塑料管相连，并充满蒸馏水，经塑料管注水30-40 μ l，使气囊膨胀以压迫套内的血管，当压力去除时，注入的水自行退出，气囊恢复原状，冠状动脉重新通畅。可进行血流再灌注实验。

(3) Ameroid缩窄环：为了形成慢性冠脉闭塞、心肌缺血或观察冠脉侧支循环的变化，可将一具有吸水性塑料环（Ameriod环）套在冠状动脉左旋支根部。关闭胸腔后，由于塑料环吸收组织水份膨胀，环外壳系硬质材料做成，又限制环的外展，结果压迫冠脉，造成心肌缺血。环植入4-6周，血管内径可缩小80-90%。

5、清醒狗心肌缺血实验⁴，可将气囊压迫环适当固定，然后缝合心包，放置心包膜电极，气囊压迫环的导管和电极的导线分别穿过胸壁引出皮外，逐层缝合闭胸。实验时可注入蒸馏水，使气囊膨胀，压迫冠状动脉造成心肌缺血，同时测量心外膜心电图或其它观察指标，本法可反复阻断冠脉，进行多次心肌缺血实验及再灌注损伤实验。

6、再灌注损伤：在心肌缺血一定时间（例如1-3小时）造成心肌损伤后，再供血一定时间，可加重缺血损伤形成再灌注损伤，用此法可观察药物对

心肌再灌注损伤的保护作用。

药物治疗判断

1、心外膜电图标测：心外膜标测点的定位应包括缺血中心区、边缘区和非缺血区在内，标测方法有如下几种：（1）将心电极固定于一个具有一定弹性的无刺激性材料做成的片子上，该片四角缝于心外膜上，（多点固定式心外膜电极）⁸。（2）直接将每个电极分散地固定于心外膜表面。（3）用一个灯芯电极按顺序点测所有的标测点。（4）用一个电极沿心表面一定途径移行，描记出一个连续的心外膜心电图曲线。用浸泡生理盐水的烛蕊棉线或细毛笔尖等柔软材料作探查电极，并与心电图胸前导联相联，描记在普通心电图机或多导生理记录仪记录上。

确定心肌缺血范围和程度多以ST段抬高作为指标，以ST段抬高 $>2\text{mv}$ 的点数（NST）及各点ST段抬高的 mv 数之和（ ΣST ）代表心肌缺血的程度。记录阻断冠脉血流前后的变化及药物的影响。

实验时应严格控制心外膜电极的位置、压力、心脏表面的温度、湿度及位置。心外膜电极放置的位置、或反复测定的位置应准确固定，不应移位。电极对心脏表面不可压力过大，心脏表面的温度及湿度应稳定，其变化不应超过 0.5°C ，不可干燥。否则将影响实验的准确性。

2、生化指标：阻断冠状动脉前后定时抽取血液，测量血中磷酸肌酸激酶（CPK）及乳酸脱氢酶（LDH）的变化，分析心肌损伤情况，可用Shell公式计算，定量分析心肌梗塞范围⁹，为避免其它肌肉组织释放的酶干扰结果，可测同工酶CPK-MB。

同时可测定血中FFA、ATP、cAMP/cGMP、无机离子、能量代谢物质等，如需了解药物作用与前列腺素的关系，可观察 PGI^2 、 TXA^2 。如需了解药物与氧自由基关系，可测定超氧化物歧化酶（SOD）作为氧自由基产生多少的间接指标。

3、缺血区及梗塞区面积的测定：在阻断冠脉血流3小时后，经左心耳根部向左心房注入碳素墨水1.5ml/kg，20-30秒注完，迅速取下心脏，冰冻30-40分钟，在冠脉结扎线下，平行于冠状沟，等厚地将心室肌横切成5片，分别称重，再用求积仪测量每片心肌两面的墨水染色区与未染色区（缺血区），计算出心肌缺血区的重量及百分比。然后将5片心肌置于硝基四氮唑蓝（N-BT）染液中，振荡染色15分钟后取出，正常心肌染为暗蓝色，梗塞区心肌则不着色为浅黄色，用求积仪或数格求积法或落点法测量每片心肌两面的梗塞区和非梗塞区，并计算出每片心肌总面积、总重量；缺血区和梗塞区面积及重量；计算缺血区占心室百分比，及梗塞区占缺血区百分比。以评价药物的疗效。

硝基四氮唑蓝（N-BT）染色液的配制方法：根据梗塞心肌内脱氢酶及其底物已被释放，不能将N-BT氧化使心肌染色的原理，心肌梗塞部位不被染色，而正常心肌被N-BT染色，可以区分心肌梗塞范围。pH7.4的磷酸缓冲液新配成0.5%N-BT溶液，冰箱冷藏可用一周左右。

注意事项及方法评价：犬是建立心肌缺血模型最常用的动物，其体积大小适中，性情温顺，易于训练，其心脏解剖及生理特点与人相似，结扎冠脉形成梗塞方法可靠，是目前国内外应用最广的方法。本实验影响因素有：（1）动物冠脉分支及个体侧支循环有个体差异，对分支及侧支变异大的、不合标准的应剔除不用。（2）随着时间延长，心肌缺血有自发缓解趋势。（3）为避免心室纤颤，可预先注射利多卡因，发生心室纤颤者可用除颤器除颤，但不宜再用作抗心肌缺血药实验。（4）本实验可注射给药或消化道给药，后者药物作用高峰一般在给药后1-2小时，持续3-8小时。在进行本项实验时注意严格控制实验条件，排除干扰因素，确保实验结果可靠性。

(二) 家兔实验法*

操作步骤

选用健康家兔，体重 2 - 3 Kg，乌拉坦静脉麻醉或用 1% 普鲁卡因局部麻醉，仰位固定。在胸骨左端第 3 肋水平切开皮肤 1 - 2 cm，并剪断第 3 肋软骨，撑开切口，可见心脏。将心包前部剪开，轻轻提起左心耳，在冠状动脉前降支或左室边缘支根部穿线结扎，即可给药进行急性实验。如需进行亚急性或慢性实验，结扎后立即关闭胸腔，注射青霉素 40 万 U 防止感染。 药物疗效判断

1、心电图 ST 段和 Q 波标测：标测体表胸前多导联心电图，在第 4 肋间胸骨左右及上下各 1 cm 范围标定 9 - 12 个点，各点用龙胆紫标记，以针状电极刺入皮下。在结扎前及后不同时间分别记录胸前多导联心电图。一般在结扎后 2 小时 ST 段明显抬高，1 天达高峰，3 天内持续抬高，以后逐渐自发缓解， Σ ST 可以代表心肌损伤的程度。N - ST 可以代表梗塞的范围。此外病理性 Q 波对确定心肌损伤范围有一定意义，Q 波深度的总 mV (Σ Q) 与出现 Q 波的导联数 (NQ) 可反映心肌梗塞的范围。

2、硝基四氮唑蓝 (NBT) 大体标本染色：见前节。

注意事项及方法评价

家兔结扎冠状动脉可不破坏胸膜、不用呼吸机，方法简便。因家兔耐受力较狗强，较少发生致命心律紊乱。据文献记载，一般中位结扎 3 天内，N - B. T 染色显示梗塞区只占全心重 12.7%，不便观察药效。后改用结扎冠脉左前降支根部，并在其下加一双重结扎，以阻止侧支循环形成，或用左室边缘支结扎，使梗塞范围扩大，适用于观察抗心缺血药的疗效，但死亡率也增高。此法产生的心肌梗塞范围在 3 天内较稳定，可比较药物疗效。适用于注射给药或消化道给药，后者在给药后 30 - 90 分钟可达到作用高峰，持续 2 - 3 小时。