

· 实验研究 ·

七氟醚对大鼠离体心脏全心缺血-再灌注心律失常及电生理的影响

王贵龙 高鸿 王子君 李伟超 李华宇 代东君 符校魁 刘艳秋

【摘要】 目的 观察七氟醚对大鼠离体心脏全心缺血-再灌注心律失常及电生理的影响。**方法** 健康成年雄性 SD 大鼠, 体重 280~320 g, 取成功制备 Langendorff 心脏灌注模型 24 个, K-H 液灌注 15 min 后, 随机分为三组, 每组 8 只。对照组(C 组): K-H 液继续灌注 105 min; 全心缺血-再灌注组(IR 组): K-H 液继续灌注 15 min 后, 注射 Thomas 液(4 °C, 20 ml/kg)使心脏停跳 60 min, 在心脏周围用低温(4 °C)Thomas 液保护, 30 min 时半量复灌 Thomas 液(4 °C, 10 ml/kg), 停灌 60 min 时再灌注 K-H 液 30 min; 七氟醚组(Sev 组): K-H 液含饱和 1.0 MAC 的七氟醚, 余同 IR 组。记录再灌注期间心律失常发生情况、心脏复跳时间及心律失常持续时间; 记录平衡灌注 15 min(T_0)、继续灌注 15 min(T_1)、再灌注 15 min/继续灌注 105 min(T_2)、再灌注 30 min/继续灌注 120 min(T_3)的 HR 及左心室前壁外膜层和内膜层心肌单相动作电位; 计算单相动作电位复极 50% 及 90% 的时程(MAPD₅₀ 和 MAPD₉₀)、跨室壁复极离散度(TDR)。**结果** 与 T_0 时比较, T_2 、 T_3 时 IR 组 HR 明显减慢($P < 0.05$); 与 T_1 时比较, T_2 、 T_3 时 IR 组 HR 均明显减慢($P < 0.05$); 与 IR 组比较, T_2 、 T_3 时 Sev 组 HR 明显增快($P < 0.05$); 与 IR 组比较, T_2 、 T_3 时 Sev 组 MAPD₉₀ 明显缩短, TDR 明显减小($P < 0.05$); 与 IR 组比较, Sev 组心脏复跳时间和心律失常持续时间均明显缩短($P < 0.05$)。**结论** 七氟醚可缩短全心缺血-再灌注心脏 MAPD₉₀、减小 TDR, 从而降低再灌注心律失常的发生风险、缩短心脏复跳和心律失常持续时间。

【关键词】 七氟醚; 全心缺血-再灌注; 心律失常; 电生理

Effects of sevoflurane on arrhythmia and electrophysiology during the global ischemia-reperfusion in isolated rat hearts WANG Guilong, GAO Hong, WANG Zijun, LI Weichao, LI Huayu, DAI Dongjun, FU Xiaokui, LIU Yanqiu. School of Anesthesiology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

Corresponding author: GAO Hong, Email: 2169617@qq.com

【Abstract】 Objective To study the Effects of sevoflurane on arrhythmia and electrophysiology during the global ischemia-reperfusion in isolated rat hearts. **Methods** Twenty-four healthy SD male rats, weighing 280 - 320 g, were randomly divided into three groups after successful preparation of langendorff isolated heart perfusion model and 15 min perfusion and balance of K-H fluid. In the control group (group C), K-H fluid was continuous perfusion for 105 min. In the ischemia - reperfusion group (group IR), K-H fluid was stopped after continuous perfused and balance for 15 min and cardiac arrest was induced for 60 min with the injection of Thomas solution (4 °C, 20 ml/kg) while the heart was protected in a low temperature Thomas solution (4 °C) around it. Reperfusion of Thomas solution (4 °C, 10 ml/kg) was performed for 30 min and the heart was resuscitated by the perfusion of K-H fluid for 60 min. Sevoflurane group (group Sev), K-H fluid contained 1.0 MAC sevoflurane and other procedures were the same as in group IR. The development of arrhythmia, time for restoration of spontaneous heart beat and duration of arrhythmia were recorded during the period of reperfusion. HR, MAPS including time course (MAPD₅₀ or MAPD₉₀) of endocardium and epicardium was recorded at the time of balance perfusion for 15 min (T_0), continuous perfusion for 15 min (T_1), reperfusion for 15 min/continuous perfusion for 105 min (T_2) and reperfusion for 30 min/continuous perfusion for 120 min (T_3), transmural dispersion of repolarization (TDR) was calculated. **Results** Compared with T_0 and T_1 , HR in group IR was slower at T_2 and T_3 ($P < 0.05$); compared

DOI:10.12089/jca.2018.12.019

基金项目: 贵州省卫生计生委科学技术基金(gzwmkj2016-1-007)

作者单位: 550004 贵阳市, 贵州医科大学麻醉学院(王贵龙、王子君、李伟超、李华宇、代东君、符校魁); 贵州医科大学附属医院麻醉科(高鸿、刘艳秋)

通信作者: 高鸿, Email: 2169617@qq.com

with group IR at T_2 and T_3 , HR in group Sev was higher ($P < 0.05$); compared with group IR at T_2 and T_3 , MAPD₉₀ in group Sev was shorter, and TDR in group Sev was decreased ($P < 0.05$); compared with group IR, time for restoration of spontaneous heart beat and duration of arrhythmia were shorter in group Sev ($P < 0.05$). **Conclusion** Sevoflurane can decrease MAPD₉₀ and TDR, and then decrease the risk of arrhythmias, shorten the time for restoration of spontaneous heart beat and duration of arrhythmia.

【Key words】 Sevoflurane; The global ischemia-reperfusion; Arrhythmia; Electrophysiology

再灌注性心律失常(reperfusion arrhythmia, RA)是心肺转流术直视手术复跳时的主要并发症,并以室早、室速及室颤等心律失常为主,且心脏复跳时间及心律失常持续时间可引起血流动力学紊乱及心源性猝死^[1]。本课题组前期研究表明七氟醚可缩短缺血-再灌注心肌复极时间,且这一作用无浓度依赖性^[2],但其与缺血-再灌注性心律失常发生情况的相关性及电生理机制尚不清楚。本实验观察七氟醚对大鼠离体心脏再灌注心律失常及电生理的影响。

材料与方法

动物分组与处理 健康成年雄性 SD 大鼠,体重 280~320 g,成功制备 Langendorff 离体心脏灌注模型 24 个,K-H 液灌注 15 min 后,采用随机数字表法分为三组,每组 8 只。对照组(C 组):K-H 液继续灌注 105 min;全心缺血-再灌注组(IR 组):K-H 液继续灌注 15 min 后,注射 Thomas 液(4 °C, 20 ml/kg)使心脏停跳 60 min,在心脏周围用低温(4 °C)Thomas 液保护,30 min 时半量复灌 Thomas 液(4 °C, 10 ml/kg),停灌 60 min 时再灌注 K-H 液 30 min;七氟醚组(Sev 组):K-H 液含饱和 1.0 MAC 的七氟醚,余同 IR 组。

实验方法 腹腔注射 3% 肝素 3 125 U/kg 抗凝后,2% 戊巴比妥钠 60 mg/kg 进行麻醉。迅速开胸取出心脏,置于 4 °C K-H 液中修剪,暴露主动脉并插管,连接 Langendorff 灌注装置,以 95% O₂-5% CO₂ 混合气体预先平衡的 K-H 液于 37 °C 下进行非

循环式逆行灌注,灌注速度 7~9 ml/min,心脏恢复灌注后数秒内复跳,灌注约 15 min 时心跳恢复正常即为模型制备成功。将按照参考文献[3-5]自制的心室肌单相动作电位复合电极垂直插入左心室前壁,随时调整电极使得心室肌内外膜均与电极保持良好接触。将外膜层电极置于左心室前壁表面、内膜层电极置于心室肌内膜层;于心尖部和右心房处安置记录电极,参考电极置于主动脉根部,分别记录单相动作电位波形和 ECG。

观察指标 记录再灌注期间心律失常的发生情况、心脏复跳时间以及心律失常持续时间;记录平衡灌注 15 min(T_0)、继续灌注 15 min(T_1)、再灌注 15 min/继续灌注 105 min(T_2)、再灌注 30 min/继续灌注 120 min(T_3)的 HR 及左心室前壁外膜层和内膜层心肌单相动作电位;计算复极 50%、90% 的单相动作电位时程(MAPD₅₀ 和 MAPD₉₀)及跨室壁复极离散度(transmural dispersion of repolarization, TDR)。

统计分析 采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行数据分析。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用重复测量方差分析;计数资料比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

离体心脏灌注期间心室肌细胞的 MAP 典型波形变化(图 1)。左图为平衡灌注 30 min、右图为全

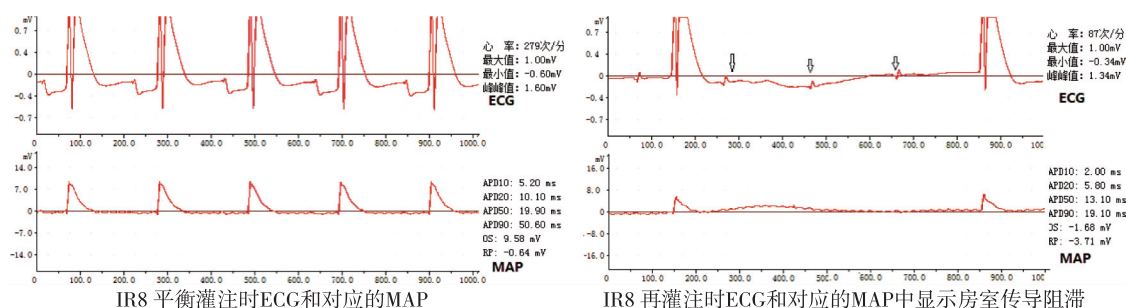


图 1 心室肌细胞的 MAP 典型波形变化

心缺血-再灌注后 15 min 时 ECG 与对应 MAP 波形,箭头所指为心室肌传导阻滞表现。心脏复跳时 IR 组有 6 例发生心律失常,Sev 组有 2 例发生心律失常。

T_0 、 T_1 时三组 HR 差异无统计学意义。与 T_0 和 T_1 时比较, T_2 、 T_3 时 IR 组 HR 明显减慢($P < 0.05$);与 IR 组比较, T_2 、 T_3 时 Sev 组 HR 明显增快($P < 0.05$)(表 1)。

三组不同时间点不同部位 MAPD₅₀ 差异无统计学意义(表 2)。

T_0 、 T_1 时三组不同部位 MAPD₉₀ 差异无统计学意义。与 IR 组比较, T_2 、 T_3 时 Sev 组 MAPD₉₀ 明显缩短($P < 0.05$)(表 3)。

与 IR 组比较, T_2 、 T_3 时 Sev 组 TDR 明显减小($P < 0.05$)(表 4)。

与 IR 组比较,Sev 组心脏复跳时间、心律失常持续时间明显缩短($P < 0.05$)(表 5)。

讨 论

RA 为心肌缺血-再灌注损伤的特征性表现,并以室性心律失常最为常见,目前研究报道其相关机制与钙超载、氧自由基大量产生、折返激动、后除极和触发活动、跨室壁负后电位离散度增加、自律性异常、细胞间通讯异常、离子通道异常等有关^[6]。

本研究模拟心肺转流心内直视手术时心肌缺血-再灌注的情况,采用 Langendorff 离体心脏灌流模型,参考临床设置全心缺血时间 60 min,再灌注时间 30 min,可以排除前后负荷及神经、体液等因素的影响,其结果可代表药物对心脏的直接作用^[7]。

心肌细胞单相动作电位(monophasic action

表 1 三组大鼠不同时点 HR 的比较(次/分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	T_0	T_1	T_2	T_3
C 组	8	241.0 ± 4.8	240.0 ± 4.5	240.6 ± 4.8	243.6 ± 5.1
IR 组	8	243.1 ± 5.1	241.1 ± 5.1	172.6 ± 5.6 ^b	181.8 ± 4.7 ^{ab}
Sev 组	8	242.6 ± 4.8	244.3 ± 5.1	231.6 ± 2.9 ^c	230.1 ± 5.2 ^c

注:与 T_0 比较,^a $P < 0.05$;与 T_1 比较,^b $P < 0.05$;与 IR 组比较,^c $P < 0.05$

表 2 三组大鼠外膜层和内膜层心肌不同时点 MAPD₅₀ 的比较(ms, $\bar{x} \pm s$)

部位	组别	只数	T_0	T_1	T_2	T_3
外膜层	C 组	8	17.7 ± 2.0	16.6 ± 2.9	16.1 ± 3.8	17.9 ± 2.4
	IR 组	8	17.5 ± 3.2	16.2 ± 1.7	16.1 ± 2.6	17.1 ± 2.5
	Sev 组	8	17.3 ± 3.2	15.1 ± 2.3	17.1 ± 4.2	17.8 ± 2.6
内膜层	C 组	8	18.8 ± 2.2	16.0 ± 0.7	15.3 ± 3.7	16.0 ± 3.6
	IR 组	8	18.9 ± 1.0	16.4 ± 4.9	15.3 ± 4.0	17.5 ± 3.9
	Sev 组	8	18.2 ± 2.9	15.9 ± 3.1	18.9 ± 3.6	17.9 ± 3.8

表 3 三组大鼠外膜层和内膜层心肌不同时点 MAPD₉₀ 的比较(ms, $\bar{x} \pm s$)

部位	组别	只数	T_0	T_1	T_2	T_3
外膜层	C 组	8	34.7 ± 4.0	33.6 ± 2.9	33.9 ± 3.7	32.9 ± 2.4
	IR 组	8	33.5 ± 3.2	34.2 ± 1.7	47.1 ± 2.6	45.1 ± 2.5
	Sev 组	8	34.3 ± 3.2	33.1 ± 2.3	39.1 ± 4.2 ^a	37.8 ± 2.6 ^a
内膜层	C 组	8	39.8 ± 2.2	36.0 ± 3.7	35.3 ± 3.7	36.6 ± 3.6
	IR 组	8	39.9 ± 3.0	35.4 ± 4.9	47.3 ± 4.0	47.5 ± 3.9
	Sev 组	8	39.2 ± 2.9	35.9 ± 3.1	39.9 ± 3.6 ^a	37.9 ± 3.8 ^a

注:与 IR 组比较,^a $P < 0.05$

表 4 三组大鼠不同时点 TDR 的比较($\text{ms}, \bar{x} \pm s$)

组别	只数	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
C 组	8	3.8±1.3	3.6±1.9	3.9±1.0	3.5±1.4
IR 组	8	3.9±1.2	3.8±1.7	5.9±1.1	6.1±1.5
Sev 组	8	3.3±1.2	3.6±1.3	3.6±1.3 ^a	3.8±1.6 ^a

注:与 IR 组比较,^a $P<0.05$ 表 5 两组大鼠心脏复跳时间及心律失常持续时间的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	心脏复跳时间 (s)	心律失常持续时间 (min)
IR 组	8	23.6±5.2	6.9±1.7
Sev 组	8	12.4±4.8 ^a	3.3±1.1 ^a

注:与 IR 组比较,^a $P<0.05$

potential, MAP)是群细胞的平均胞外动作电位,其可判断心肌细胞的除极和复极过程外,还能了解药物对各层心室肌细胞的影响,所以本研究通过 lan-gendorff 离体心脏全心缺血-再灌注模型,观察七氟醚对大鼠离体心脏再灌注心律失常及电生理的影响。

心肌细胞单相动作电位时程(Monophasic action potential duration, MAPD)反映动作电位的 0-3 相电位水平,其与 K^+ 外流、 Ca^{2+} 内流等有关,反映心肌细胞复极变化过程。MAPD₅₀ 反映动作电位 2 相,此期形成的主要原因为 Ca^{2+} 内流与 K^+ 外流,涉及内向整流钾电流快激活成分(I_{kr})、内向整流钾电流慢激活成分(I_{ks})及 L 型钙电流($\text{I}_{\text{Ca-L}}$)等。MAPD₉₀ 主要反映复极 3 相,该期与 K^+ 外流有关,主要涉及 I_{kr} 和 I_{ks} 。跨室壁复极离散度是心肌细胞各层间 MAPD₉₀ 最大值与最小值的差值,能够反映心室肌的复极不均一性^[8-9]。本次研究结果表明,七氟醚可缩短缺血-再灌注心肌 3 相复极时程 MAPD₉₀,减小 TDR,且使得再灌注后复跳时间提早

以及心律失常持续时间缩短,这提示七氟醚对全心缺血-再灌注心肌电生理有明显的抑制效应,从而起到保护缺血-再灌注心肌的作用。其机制可能与 K^+ 的外流有关,但其具体的离子通道电流变化情况有待进一步研究证实。

综上所述,七氟醚可缩短全心缺血-再灌注心脏 MAPD₉₀、减小 TDR,从而降低再灌注心律失常的发生风险、缩短心脏复跳和心律失常持续时间。

参 考 文 献

- [1] Chin KY, Qin C, May L, et al. New pharmacological approaches to the prevention of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Curr Drug Targets*, 2017, 18(15): 1689-1711.
- [2] 王贵龙, 高鸿, 王子君, 等. 不同浓度七氟醚对缺血-再灌注心肌单相动作电位影响. *临床麻醉学杂志*, 2018, 34(5): 478-482.
- [3] Motayagheni N. Modified Langendorff technique for mouse heart cannulation: Improved heart quality and decreased risk of ischemia. *Methods X*, 2017, 4: 508-512.
- [4] Tse G, Wong ST, Tse V, et al. Monophasic action potential recordings: which is the recording electrode? *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2016, 27(5): 457-462.
- [5] 龙娟, 高鸿, 刘艳秋, 等. 右美托咪定对离体兔心室肌单相动作电位的影响. *广西医学*, 2016, 38(8): 1058-1061.
- [6] Tse G, Yan BP, Chan YW, et al. Reactive oxygen species, endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction: the link with cardiac arrhythmogenesis. *Front physiol*, 2016, 7: 313.
- [7] Jeong DU, Lim KM. The effect of myocardial action potential duration on cardiac pumping efficacy: a computational study. *Biomedical Engineering Online*, 2018, 17(1): 79.
- [8] Jang YH, Kim JH, Lee YC. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels play a role in reducing both myocardial infarction and reperfusion arrhythmia in remote ischemic preconditioned hearts. *Anesth Pain Med*, 2017, 7(1): e42505.
- [9] Gary Tse. Mechanisms of cardiac arrhythmias. *J Arrhythmia*, 2016, 32(2): 75-81.

(收稿日期:2018-03-22)