

· 实验研究 ·

低温缺血-再灌注对心房肌电稳定性的影响

何幼芹 高鸿 刘艳秋 苏殿三 王贵龙 王子君 冯玉蓉 唐剑

【摘要】 目的 观察低温缺血-再灌注对离体大鼠心房肌电稳定性的影响,以此探讨电稳定性在低温缺血-再灌注促进房性心律失常中的作用。**方法** 将制备成功的 Langendorff 离体大鼠心脏灌注模型,随机分为对照组(C组)和缺血-再灌注组(IR组),每组8例。C组K-H液(37℃)平衡灌注120 min。IR组K-H液(37℃)平衡灌注30 min后停止,注射Thomas液(4℃,20 ml/kg)使心脏停搏60 min,心脏周围用低温(4℃)Thomas液保护,停搏30 min时半量复灌Thomas液(4℃,10 ml/kg),停搏60 min时再次灌注K-H液(37℃)30 min。记录平衡灌注30 min(T_0)、C组平衡灌注105 min/IR组再灌注15 min(T_1)和C组平衡灌注120 min/IR组再灌注30 min(T_2)时右心房单相动作电位复极90%时程(MAPD₉₀)。记录 T_2 时右心房有效不应期(ERP)、ERP与MAPD₉₀比值(ERP/MAPD₉₀)、诱发房颤的最大起搏周期(AF-PCL_{max})和房颤诱发率。记录C组平衡灌注90 min/IR组再灌注即刻后房性早搏、房性心动过速、心房颤动等房性心律失常发生情况。**结果** 与 T_0 时比较, T_1 — T_2 时IR组MAPD₉₀明显延长($P<0.05$)。 T_1 — T_2 时IR组MAPD₉₀明显长于C组($P<0.05$)。 T_2 时IR组ERP、AF-PCL_{max}明显长于C组($P<0.05$),ERP/MAPD₉₀明显小于C组($P<0.05$),房颤诱发率明显高于C组($P<0.05$)。在C组平衡灌注90 min/IR组再灌注即刻后,IR组房性心律失常发生率明显高于C组($P<0.05$)。**结论** 低温缺血-再灌注通过增加心房肌单相动作电位复极90%时程、有效不应期和诱发房颤的最大起搏周期,降低有效不应期与单相动作电位复极90%时程的比值,使心房肌电稳定性降低,从而增加房性心律失常的发生风险。

【关键词】 缺血-再灌注;心房肌;电稳定性;房性心律失常

Effects of hypothermia ischemia-reperfusion on the electrical stability of atrial myocardium HE

Youqin, GAO Hong, LIU Yanqiu, SU Diansan, WANG Guilong, WANG Zijun, FENG Yurong, TANG Jian. School of Anesthesiology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

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

【Abstract】 Objective To observe the effects of hypothermia ischemia-reperfusion on atrial electrical stability in isolated rat hearts, so as to explore the role of electrical stability in atrial arrhythmia induced by hypothermia ischemia-reperfusion. **Methods** Sixteen Langendorff isolated rat heart perfusion models were successfully established and randomly divided into control group (group C) and ischemia-reperfusion group (group IR), 8 in each group. In group C, the heart was balanced perfusion with K-H solution at 37℃ for 120 min. In group IR, the heart was balanced perfusion with K-H solution at 37℃ for 30 min and then stopped, and cardiac arrest was induced for 60 min with the injection of Thomas solution (20 ml/kg) at 4℃ while the heart was protected in a low temperature Thomas solution at 4℃ around it. Perfusion of Thomas solution at 4℃ (10 ml/kg) was performed again at 30 min of cardiac arrest and the heart was resuscitated by the reperfusion of K-H solution at 37℃ for 30 min at 60 min of cardiac arrest. The 90% repolarization duration of monophasic action potential (MAPD₉₀) was recorded at balanced perfusion for 30 min (T_0), balanced perfusion for 105 min in group C/reperfusion for 15 min in group IR (T_1) and balanced perfusion for 120 min in group C/reperfusion for 30 min in group IR (T_2). The right atrial effective refractory period (ERP), the ratio of ERP to MAPD₉₀ (ERP/MAPD₉₀), the maximum pacing cycle length that can induce atrial fibrillation (AF-PCL_{max}) and the induction rate of atrial fibrillation were recorded at T_2 . The occurrence of atrial arrhythmias such as atrial premature beats, atrial tachycardia and atrial fibrillation were recorded after balanced perfusion for 90 min in group C/immediate reperfusion in group IR. **Results** Compared with T_0 , MAPD₉₀ was significantly prolonged in group IR at T_1 and T_2 ($P<0.05$).

DOI:10.12089/jca.2019.11.017

作者单位:550004 贵阳市,贵州医科大学麻醉学院(何幼芹、王贵龙、王子君、冯玉蓉、唐剑);贵州医科大学第三附属医院(高鸿);贵州医科大学附属医院麻醉科(刘艳秋);上海交通大学医学院附属仁济医院麻醉科(苏殿三)
通信作者:高鸿,Email:2169617@qq.com

MAPD₉₀ in group IR was significantly longer than that in group C at T₁ and T₂ ($P < 0.05$). At T₂, the ERP and AF-PCL_{max} in group IR were significantly higher than those in group C ($P < 0.05$), the ERP/MAPD₉₀ was significantly smaller than that in group C ($P < 0.05$), and the induction rate of atrial fibrillation was significantly higher than that in group C ($P < 0.05$). After balanced perfusion for 90 min in group C/immediate reperfusion in group IR, the incidence of atrial arrhythmia in group IR was significantly higher than that in group C ($P < 0.05$). **Conclusion** Hypothermic ischemia-reperfusion decreases the electrical stability of atrial myocardium by increasing the atrial 90% repolarization duration of monophasic action potential, effective refractory period and maximum pacing cycle length that can induce atrial fibrillation, and reducing the ratio of effective refractory period to 90% repolarization duration of monophasic action potential, thus increasing the risk of atrial arrhythmia.

【Key words】 Ischemia-reperfusion; Atrial myocardium; Electrical stability; Atrial arrhythmia

房性心律失常作为体外循环下心内直视手术心脏复跳时的常见并发症之一,严重时可引起血流动力学紊乱并影响患者预后^[1]。心房电生理的稳定性对维持心房正常节律至关重要^[2]。目前对再灌注房性心律失常缺乏关注,阐明其发生的具体机制的研究较少,临床上对于这类心律失常仅局限于被动的对症处理。心肌电稳定性降低是诱发恶性心律失常重要的电生理基础^[3]。因此,本研究通过观察低温缺血-再灌注前后离体大鼠心房肌电稳定性的变化,旨在为临床预防再灌注房性心律失常的发生提供参考。

材料与方法

实验动物与分组 取体重为 310~390 g 的成年雄性 SD 大鼠制备 Langendorff 离体大鼠心脏灌注模型,随机分为对照组(C 组)和缺血-再灌注组(IR 组)。

Langendorff 离体大鼠心脏灌注模型的制备 所有大鼠均被腹腔注射肝素(3 125 U/kg)进行抗凝,10 min 后于相同部位注射戊巴比妥(3 125 U/kg)进行麻醉,麻醉起效后开胸迅速取出心脏置于 4 ℃ K-H 液中修剪,挤出淤血后显露主动脉,将其连接于 Langendorff 灌注装置上,用 95% CO₂ 和 5% O₂ 饱和的 37 ℃ K-H 液行恒温、恒流、非循环式逆行灌注,当灌注 3 min 内离体心脏恢复正常节律且 HR>180 次/分表示模型制作成功。C 组使用 37 ℃ K-H 液持续平衡灌注 120 min;IR 组使用 37 ℃ K-H 液持续平衡灌注 30 min 后停止,推注 4 ℃ 高钾 Thomas (20 ml/kg)使心脏停跳 60 min(停跳 30 min 时再次半量追加相同温度的 Thomas 10 ml/kg,心脏停跳期间用 4 ℃ 低温 Thomas 置于心脏周围对心脏进行保护),后再灌注 37 ℃ K-H 30 min,灌注方式同上。

MAPD₉₀和 ERP 测定 利用 BL-420F 生物机能实验系统记录单相动作电位复极 90%时程(90% re-

polarization duration of monophasic action potential, MAPD₉₀)。于右心房游离前壁放置^[4-5]自制的记录电极,各电极导线均与信号输入线连接,同步记录右心房单相动作电位并测量 MAPD₉₀。记录两组平衡灌注 30 min(T₀)、C 组平衡灌注 105 min/IR 组再灌注 15 min(T₁)和 C 组平衡灌注 120 min/IR 组再灌注 30 min(T₂)时右心房 MAPD₉₀。使用 DF-5A 心脏程控刺激仪和 BL-420F 生物机能实验系统记录心房有效不应期(effective refractory period, ERP)。将记录电极和刺激电极均放置在大鼠右心房表面,两者相距 3 mm,确保电极线与心肌充分接触。发放 8 个起搏刺激波(S1)后紧接着发放 1 个早搏刺激波(S2),S1S2 从 400 ms 开始,每次减少 20 ms,当 S2 后无动作电位出现时将 S1S2 提高 10 ms,后每次减少 1 ms,当 S2 后不能再次诱发出动作电位时,此时的 S1S2 则为右心房 ERP。计算 T₂ 时 ERP 与 MAPD₉₀ 比值(ERP/MAPD₉₀)。

AF-PCL_{max}测定 行程控增频电刺激记录诱发房颤的最大起搏周长(maximum pacing cycle length that can induce atrial fibrillation, AF-PCL_{max})。将刺激电极置于右房前游离壁,记录电极置于其周围 3 mm 处,起搏周长(PCL)从 400 ms 开始刺激,每次刺激时间持续 5 s,后依次减少 5 ms,相邻 2 次刺激间隔时间为 5 s,当房颤持续时间大于 2 s 即认为房颤可诱发,记录此时的 PCL 即为 AF-PCL_{max};当 PCL=60 ms 仍未诱发房颤,则停止刺激,默认 AF-PCL_{max} 的最小值为 60 ms。记录 T₂ 时 AF-PCL_{max} 和房颤诱发率。记录 C 组平衡灌注 90 min/IR 组再灌注即刻后房性早搏、房性心动过速、心房颤动等房性心律失常的发生情况。

统计分析 采用 SPSS 21.0 对实验数据进行处理。正态分布计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内比较采用重复测量方差分析,组间比较采用成组 *t* 检验,百分比(%)的比较采用 Fisher 确切概率

法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

Langendorff 离体大鼠心脏模型在灌注过程中右心房典型单相动作电位波形变化如下(图 1—4),图 1—2 反映再灌注后 IR 组右心房 MAPD₉₀ 较 C 组明显延长。

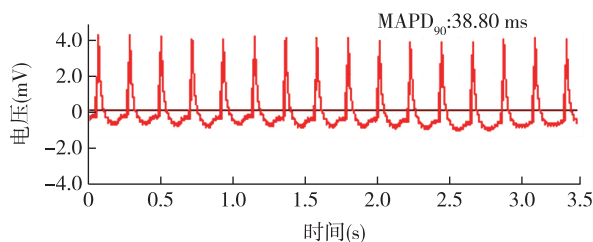


图 1 C 组 T₁ 时单相动作电位波形

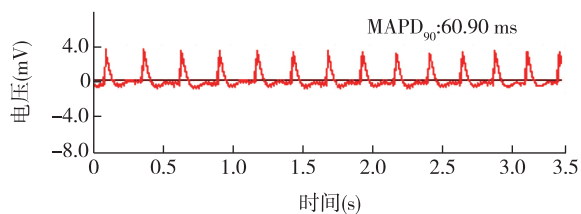


图 2 IR 组 T₁ 时单相动作电位波形

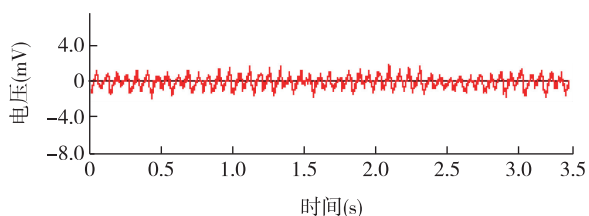
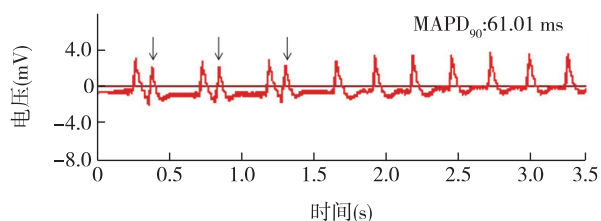


图 3 IR 组再灌注 2 min 发生房颤时单相动作电位波形



注:箭头所指为房性早搏表现

图 4 IR 组再灌注 5 min 发生房性早搏时单相动作电位波形

与 T₀ 时比较, T₁—T₂ 时 IR 组 MAPD₉₀ 明显延长($P < 0.05$)。T₁—T₂ 时 IR 组 MAPD₉₀ 明显长于 C 组($P < 0.05$)。T₀ 时两组心房肌 MAPD₉₀ 差异无统

计学意义(表 1)。

IR 组 ERP、AF-PCL_{max} 明显长于 C 组($P < 0.05$), ERP/MAPD₉₀ 明显小于 C 组($P < 0.05$)(表 2)。

表 1 两组离体大鼠右心房不同时点 MAPD₉₀ 的比较 (ms, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	T ₀	T ₁	T ₂
C 组	8	37.5 ± 0.8	36.7 ± 0.8	37.9 ± 1.6
IR 组	8	37.4 ± 0.9	59.6 ± 1.3 ^{ab}	44.1 ± 1.5 ^{ab}

注:与 T₀ 比较, ^a $P < 0.05$; 与 C 组比较, ^b $P < 0.05$

表 2 两组离体大鼠右心房 T₂ 时 ERP、ERP/MAPD₉₀ 和 AF-PCL_{max} 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ERP (ms)	ERP/MAPD ₉₀	AF-PCL _{max} (ms)
C 组	8	45.3 ± 3.1	1.0 ± 0.1	79.9 ± 39.1
IR 组	8	52.4 ± 6.9 ^a	0.9 ± 0.1 ^a	149.1 ± 78.7 ^a

注:与 C 组比较, ^a $P < 0.05$

IR 组房颤诱发率明显高于 C 组($P < 0.05$)。在 C 组平衡灌注 90 min/IR 组再灌注即刻后, IR 组房性心律失常发生率明显高于 C 组($P < 0.05$)(表 3)。C 组有 1 例发生房性早搏, IR 组有 1 例发生房性早搏, 2 例发生房颤。

表 3 两组离体大鼠右心房房颤诱发率和房性心律失常发生率的比较 (%)

组别	例数	房颤诱发率	房性心律失常发生率
C 组	8	25.0	12.5
IR 组	8	62.5 ^a	37.5 ^a

注:与 C 组比较, ^a $P < 0.05$

讨 论

心房肌电稳定性是维持心房正常节律的重要电生理机制^[2]。房性心律失常是心肺转流术后常见的并发症之一^[1], 研究复灌后心房肌电稳定性对预示房性心律失常的发生尤为重要。单相动作电位是心肌局部细胞群形成的表面动作电位, 常用于体现心肌电活动^[4-6]。程控电刺激技术是又一常用的研究心肌电活动的方法, 在心脏自主节律的基础上, 依次发放一个或多个脉冲激动心房或心室, 使其局部的电活动得以直观体现, 是常用的研究心脏电稳定性的重要手段^[6-7]。由于容易制作、稳定性

较好且能够排除体液、神经等各种外源因素对心脏的影响,故本研究采用 Langendorff 离体大鼠心脏作为实验模型,可准确的用于评价低温缺血-再灌注对心房肌电稳定性的影响^[8]。在灌注过程中,采用高钾 Thomas 液使心脏停跳,期间用低温对心脏进行保护,后再次灌注 37 °C K-H 液使心脏复跳,完全模拟了临床上心脏手术时的停搏和复跳过程。故本研究拟用单相动作电位技术、程控电刺激技术联合 Langendorff 离体大鼠心脏灌注模型观察低温缺血-再灌注对心房肌电稳定性的影响。

复极时程与心肌电稳定性密切相关,当其延长时,心肌单相动作电位时程和心肌后除极也随之增加,心肌的电稳定性降低;作为评价心肌动作电位复极时程的常用指标,MAPD₉₀与 K⁺外流息息相关,当 K⁺外流减少时心肌单相动作电位复极时程延长^[4,6-7]。本研究结果显示,低温缺血-再灌注后心房 MAPD₉₀延长,与我们前期对心室肌的研究相一致^[4-5],其原因可能与低温缺血-再灌注降低了钾 ATP 酶活性,抑制钾外流,打破了内、外离子电流的平衡有关。相关研究报道,MAPD₉₀与 Kir2.1 蛋白表达密切相关,当 Kir2.1 蛋白表达减少时复极时程延长^[9]。故推断,低温缺血-再灌注延长心房复极时程可能与其降低 Kir2.1 蛋白的表达有关,有待我们下一步证实。

当心肌细胞处于有效不应期时,Na⁺通道完全或部分失活,心肌不能或很难再次被激动,反映了心肌细胞膜的再去极化能力;当 ERP 延长时,膜再去极化能力越弱,电稳定性越低;ERP 与 MAPD₉₀呈同步性变化,故 ERP/MAPD₉₀能更准确的反映心肌电稳定性;当比值增加时,表示异位节律点落在不应期内,心律失常发生的机率越小,心肌电稳定性越好;反之,局部传导阻滞和折返形成的可能性增加,心肌更容易受到刺激的干扰,心肌电稳定性越差^[10]。AF-PCL_{max}是反映心肌电稳定性的另一重要指标,常用于评价房颤诱发难易程度;其值增加,即诱发房颤的最大起搏周长越大,房颤越容易诱发,电稳定性越差。房颤诱发率是评价心房电稳定性的

又一重要指标;当房颤诱发率越大,房颤越容易发生,心房肌电稳定性越差,反之则表明心房电稳定性越好。本次研究结果显示,复灌后心房肌 ERP 明显延长,ERP/MAPD₉₀明显减小,AF-PCL_{max}和房颤诱发率明显增加。

综上所述,电稳定性在维护房性心律失常中发挥着至关重要的作用,低温缺血-再灌注破坏了心房肌电稳定性,使得房性心律失常的发生风险增加。

参 考 文 献

- [1] Lagier D, Nee L, Guieu R, et al. Peri-operative oral caffeine does not prevent postoperative atrial fibrillation after heart valve surgery with cardiopulmonary bypass: a randomised controlled clinical trial. *Eur J Anaesthesiol*, 2018, 35(12): 911-918.
- [2] Wang Y, Wilson C, Cartwright EJ, et al. Plasma membrane Ca²⁺-ATPase 1 is required for maintaining atrial Ca²⁺ homeostasis and electrophysiological stability in the mouse. *J Physiol*, 2017, 595(24): 7383-7398.
- [3] Liu X, Sun L, Chen J, et al. Effects of local cardiac denervation on cardiac innervation and ventricular arrhythmia after chronic myocardial infarction. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0181322.
- [4] 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.
- [5] 王贵龙, 高鸿, 王子君, 等. 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. *临床麻醉学杂志*, 2018, 34(12): 1223-1226.
- [6] 李华宇, 高鸿, 刘艳秋, 等. 不同温度下七氟醚对离体大鼠心肌电兴奋性及电传导功能的影响研究. *临床麻醉学杂志*, 2019, 35(5): 494-497.
- [7] 王子君, 高鸿, 李惠, 等. 七氟醚对糖尿病大鼠心室肌电稳定性的影响. *中华麻醉学杂志*, 2017, 37(12): 1502-1506.
- [8] Motayaghani N. Modified Langendorff technique for mouse heart cannulation: improved heart quality and decreased risk of ischemia. *MethodsX*, 2017, 4: 508-512.
- [9] Gui YJ, Yang T, Liu Q, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibitors, t-AUCB, regulated microRNA-1 and its target genes in myocardial infarction mice. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 94635-94649.
- [10] Tse G. Mechanisms of cardiac arrhythmias. *J Arrhythm*, 2016, 32(2): 75-81.

(收稿日期:2019-01-03)