文章编号:1000-5404(2009)22-2249-03

论著

窦房结区甲醛湿敷法建立犬窦房结损伤模型

张志辉,程 军,宋治远 (第三军医大学西南医院心血管内科,重庆市介入心脏病学研究所,重庆 400038)

摘 要:目的 探讨甲醛湿敷法建立犬窦房结损伤模型的可行性和电生理特征变化。**方法** 20只实验犬按随机数字表法随机分为湿敷后2 h、4 h、1周及4周组($n=5$)。用20%甲醛湿敷窦房结区建立窦房结损伤模型。各组于湿敷前、湿敷后各自相对应时间点行电生理功能检测,同步记录体表心电图(electrocardiogram, ECG)。**结果** 20只实验犬甲醛湿敷时间为3~12(6.2±2.6)min。5只犬甲醛湿敷后窦性心率(heart rate, HR)显著减慢[(140±11)、(89±6)次/min,$P<0.01$],无心律失常;4只犬除窦性心率明显减慢外出现窦性心律不齐、窦性停搏及频发房性早搏,但很快恢复为规整的窦性节律;11只犬予甲醛湿敷后P波消失,呈交界性逸搏心律,其中4只于湿敷后24 h行ECG监测时转为窦性心律,但HR仍显著低于湿敷前。湿敷后2 h、24 h、1周及4周组的HR均较甲醛湿敷前显著减慢($P<0.01$);各组湿敷后的窦房结恢复时间(sinus node recovery time, SNRT)及校正的窦房结恢复时间(corrected sinus node recovery time, CSNRT)则均较湿敷前显著延长($P<0.01$,$P<0.05$)。**结论** 采用甲醛湿敷法可以成功建立犬窦房结损伤模型,其电生理改变与临床病态窦房结综合征表现相似。

关键词:犬;窦房结;损伤;甲醛;电生理
中图法分类号:R-332;R331.38;R541.7 **文献标识码**:A

Establishment of sinoatrial node damage model in canine induced by formaldehyde wet dressing of sinoatrial node aera

ZHANG Zhi-hui, CHENG Jun, SONG Zhi-yuan (Department of Cardiology, Chongqing Institute of Interventional Cardiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the feasibility and reliability to build a sinoatrial node damage model in canine induced by formaldehyde wet dressing. Methods Twenty dogs were randomly divided into 4 groups (5 in each group) by means of random number table: 2-hour, 24-hour, 1-week and 4-week groups after wet dressing. The sinoatrial node area of canine was damaged by wet dressing with 20% formaldehyde. Sinus node function was measured before, 2 h after wet dressing and corresponding times of each group. Electrocardiogram (ECG) of body surface were recorded synchronically. Results Average wet dressing time was 6.2±2.6 (3 to 12) min. Five dogs showed significantly decrease of heart rate (HR) (140±11 *vs* 89±6 beat/min, $P<0.01$) after wet dressing without arrhythmia. Sinus arrhythmia, sinus arrest and premature atrial contraction appeared after wet dressing in 4 dogs, but regular sinus rhythm was observed quickly. In 11 dogs, P waves disappeared after wet dressing and their ECG displayed junctional rhythm. Among of them, 4 dogs had sinus arrhythmia 24 h later with a significantly slower HR in comparison to those before wet dressing. HR of each group was significantly decreased than that of before wet dressing ($P<0.01$), while sinus node recovery time (SNRT) and corrected sinus node recovery time (CSNRT) were increased significantly. Conclusion Formaldehyde wet dressing can be used to establish sinoatrial node damage model in canine. This method is convenient and reliable relatively, and the change of electrophysiology resemble sick sinus syndrome.

Key words: canine; sinoatrial node; damage; formaldehyde; electrophysiology

基金项目:国家自然科学基金(30871060);重庆市自然科学基金重点项目(CSTC2008BA5005)
Supported by the National Natural Foundation of China (30871060) and the Key Program of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2008BA5005)
作者简介:张志辉,男,山东省潍坊市人,博士研究生,医师,主要从事心脏电生理方面的研究。电话:(023)68773050,E-mail: xyzpj@126.com
通信作者:宋治远,电话:(023)68765168,E-mail: zysong@public.cta.cq.cn
收稿日期:2009-09-12;**修回日期**:2009-10-25

病态窦房结综合征(sick sinus syndrome,SSS)是临床常见疾病,严重危害人类健康。成功建立稳定的窦房结(sinoatrial node,SAN)损伤实验动物模型对于SSS的研究具有非常关键的意义[1,2]。既往制模方法中小动物如兔多采用化学消融法(甲醛湿敷),而大动物如犬、猪则多采用射频消融法,由于射频消融法制备SAN损伤模型对于设备要求较高且操作相对复杂[2-5],故本研究拟采用甲醛湿敷法建立犬SAN损伤模型,并对其损伤后电生理功能的改变进行动态观察,以探讨该建模方法的可行性及可靠性。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康成年杂种犬20只(由第三军医大学实验动物中心提供),体质量12~16 kg,雌雄不拘。20只实验犬按随机数字表法分为湿敷后2 h、24 h、1周及4周组,每组5只。各组均采用自身前后对照。

1.2 主要仪器

SC-3型电动呼吸机(上海医疗设备厂)、CF-4型多功能心脏电生理程控刺激仪(苏州长虹电子仪器厂)、RM6280C多道电生理信号采集处理系统(四川成都仪器厂)及自制3F双极电极导管(极间距2 mm)等。

1.3 犬SAN损伤模型的建立

取健康实验犬,3%戊巴比妥钠30 mg/kg经后肢外侧小隐静脉注射麻醉,气管插管人工呼吸机辅助呼吸(潮气量250 ml,呼吸频率15次/min),仰卧位右侧偏上固定,同时行体表心电图(electrocardiogram, ECG)监测。沿胸骨右缘第3或4肋间开胸,经纵膈打开心包,行心包悬吊并充分暴露右心耳。在ECG监测上取连续10个RR间期的均值计算湿敷前心率(heart rate, HR)。以干棉签拭干上腔静脉和右心耳交界处(即SAN区)[6],用大小约5 mm×5 mm×5 mm棉签浸润20%甲醛置于SAN区湿敷。连续监测ECG变化并记录HR,以湿敷后HR下降30%以上或者出现窦性停搏、交界性逸搏为达标标准[4],停止湿敷,继续ECG监测2 h,如ECG出现反复,则再次湿敷直至达标。之后缝合心包,放置胸腔引流管,逐层关胸(胸腔彻底关闭时以气囊鼓肺使右肺复张),待苏醒后拔除气管插管,送回动物房常规饲养。术后24 h拔除引流管,3 d内常规使用抗生素。

1.4 SAN电生理功能检测及HR、节律观察[4,7]

4组实验犬均于湿敷前、湿敷后2 h以及各自相对应时间点行电生理功能检测,均采用开胸后直视下心外膜刺激法,方法如下:同步记录体表ECG测量HR,于右心耳下房室环上心房侧放置自制双极电极,以S1S1分级递增法刺激右心房,测定窦房结恢复时间(sinus node recovery time, SNRT)及校正的窦房结恢复时间(corrected sinus node recovery time, CSNRT)。

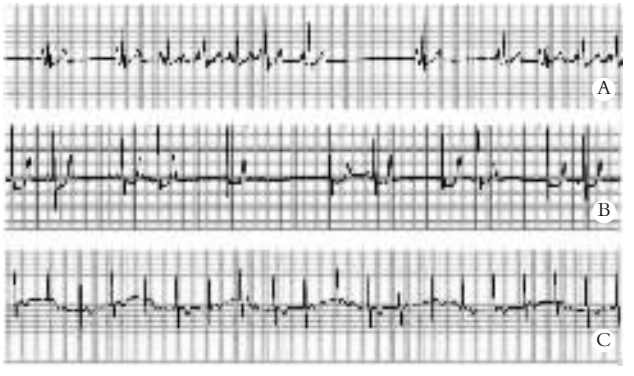
1.5 统计学处理

实验数据用$\bar{x} \pm s$表示,采用SPSS 10.0软件行t检验和方差分析。

2 结果

2.1 一般情况及心率、节律变化

20只实验犬均制模成功,术后1周组有1只犬于术后第2天意外死亡,其余19只均存活。有2只犬湿敷3~5 min心率明显减慢后约10 min心率逐渐恢复,再次湿敷后观察2 h心率未再恢复,制模成功。20只实验犬甲醛湿敷时间为3~12(6.2±2.6)min;湿敷后2 h的HR由湿敷前的(140±10)次/min显著降低至(82±7)次/min($P<0.01$);SNRT及CSNRT则较湿敷前显著延长($P<0.01$),分别为(530.3±33.6)、(863.1±61.3) ms,(105.8±14.7)、(130.4±11.5) ms。节律变化情况:5只犬甲醛湿敷后仍维持窦性心律,无心律失常,仅表现为HR显著减慢[(140±11)、(89±6)次/min,$P<0.01$];4只犬除窦性心率明显减慢外出现窦性心律不齐、窦性停搏及频发房性早搏,但很快恢复为规整的窦性节律,之后未再发现心律失常;11只犬予甲醛湿敷后P波消失,呈交界性逸搏心律(图1),其中4只于术后24 h行体外ECG监测时转为窦性心律,但HR仍显著低于湿敷前[(143±13)、(87±9)次/min,$P<0.01$]。



A:窦性心律不齐、窦性停搏; B:频发房性早搏; C:交界性逸搏

图1 各组实验犬甲醛湿敷SAN区3~12 min后心律变化情况
(走纸速度25 mm/s)

2.2 SAN电生理功能的动态改变

湿敷后2 h、24 h、1周及4周组的HR均较甲醛湿敷前显著减慢($P<0.01$);各组湿敷后的SNRT及CSNRT则均较湿敷前明显延长($P<0.01$,$P<0.05$);甲醛湿敷后随时间延长犬的HR、SNRT及CSNRT有逐渐恢复趋势,但各组间比较无显著性差异($P>0.05$)。详见表1。

表 1　甲醛湿敷前后各组 HR、SNRT 及 CSNRT 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HR(次/min)	SNRT(ms)	CSNRT(ms)
湿敷后 2 h 组	5			
湿敷前		142 ± 11	531.0 ± 43.9	107.4 ± 22.0
湿敷后		87 ± 9[a]	827.4 ± 78.9[a]	134.6 ± 21.2[a]
湿敷后 24 h 组	5			
湿敷前		140 ± 13	535.0 ± 36.6	106.0 ± 13.3
湿敷后		88 ± 7[a]	810.6 ± 49.1[a]	128.6 ± 7.6[a]
湿敷后 1 周组	4			
湿敷前		141 ± 9	530.0 ± 30.2	104.2 ± 13.6
湿敷后		88 ± 6[a]	804.4 ± 43.8[a]	122.4 ± 9.0[b]
湿敷后 4 周组	5			
湿敷前		137 ± 12	525.0 ± 33.4	105.4 ± 13.0
湿敷后		92 ± 8[a]	769.0 ± 49.7[a]	111.0 ± 11.4[b]

a:$P<0.01$, b:$P<0.05$, 与同组湿敷前比较

3　讨论

成功建立良好的 SSS 动物模型是研究 SSS 的发生机制、病理生理改变以及干预措施的前提。既往研究中实验动物模型以兔最多,其次为猪、犬,制模方法在兔等小动物以化学消融为主,而在猪、犬等大动物则以射频消融为主[3,4]。由于实验兔体型较小,在 SSS 动物实验中的应用有一定限制性;而猪、犬等大动物的射频消融制模方法相对较复杂,缺乏有效的窦房结标测定位方法,对射频消融技术以及实验设备要求较高[5],故本研究探讨了操作相对简便的甲醛湿敷法化学消融犬 SAN 制备 SSS 模型的可行性及可靠性。预实验中我们已证实:犬的胸膜腔结构异于人、兔,双侧胸膜腔中间共用一层胸膜,若从胸骨正中开胸极易导致双侧气胸,严重影响手术成功率及术后存活率,且开胸创伤较大。故本实验采用呼吸机辅助呼吸的前提下自右侧第 3 或 4 肋间开胸,只打开单侧的胸膜腔,既可以很好的暴露 SAN 区,又减少了手术创伤及大量出血等并发症的发生。本组 20 只实验犬制模均获成功,仅有 1 只于术后第 2 天意外死亡,剩余 19 只术后生存状态良好。

文献报道急性 SAN 损伤模型的确立应在术后 2 h 以上,20 d 到 4 周可基本反映 SAN 慢性损伤的电生理特征。SNRT 及 CSNRT 是公认的反映 SAN 电生理功能的常用指标,较多文献采用心内膜记录法[2,4,5],需行颈静脉穿刺,一次检测过后需结扎颈静脉,不利于多次动态观察。本组采用开胸后直视下自制电极 S1S1 分级递增法刺激右心房检测 SNRT 及 CSNRT,电极制备简单,定位准确,同时不接触其他组织部分,对实验犬刺激小,避免了因牵拉心脏所致的植物神经刺激对心脏电生理的影响,同时提供了多次行 SAN 电生理功能检测的可行性。从制模效果来看,经 20% 甲醛化学消融损伤 SAN 区后,湿敷后 2 h、24 h、1 周及 4 周组各实验犬的 HR 均较湿敷前显著减慢,SNRT 及 CSNRT 则较湿敷前显著延长($P<0.01$, $P<0.05$)。随着制模后时间的延长,HR、SNRT 及 CSNRT 均呈现缓慢恢复的趋势,但与湿敷前比较无显著性差异($P>0.05$),表明本制模方法可满足制备慢性 SAN 损伤动物模型的需要。本组有 2 只犬(湿敷后 1、4 周组各 1 只)首次湿敷心率达标后约 20 min 心率逐渐恢复,再次湿敷后观察 2 h 心率未再恢复,各自到达实验终点时心率仍然达标,表明制模成功。因此,我们认为,首次湿敷达标后不能急于关胸,应连续观察 1 h 以上(有条件者应观察 2 h),以确保制模成功率。

综上所述,本实验改进的甲醛湿敷法可成功建立犬 SAN 损伤模型,反映了犬 SAN 电生理功能发生的持续性损伤,其改变与临床病窦的电生理特性相似。相较于射频消融法,该方法更为简便、可靠,成功率高。

参考文献:

[1] Haqqani H M, Kalman J M. Aging and sinoatrial node dysfunction: musings on the not-so-funny side[J]. Circulation, 2007, 115(10): 1178 - 1179.

[2] 陈元禄, 吴伊丽, 杨　昆, 等. 窦房结功能损伤模型的方法学和电生理特征[J]. 天津医科大学学报, 2000, 6(1): 42 - 44.

[3] Tse H F, Xue T, Lau C P, *et al*. Bioartificial sinus node constructed *via in vivo* gene transfer of an engineered pacemaker HCN Channel reduces the dependence on electronic pacemaker in a sick-sinus syndrome model[J]. Circulation, 2006, 114(10): 1000 - 1011.

[4] 周圣华, 宋治远, 姚　青, 等. 窦房结组织急性受损后电生理功能改变的动态观察[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2004, 18(2):127 - 129.

[5] Zhu L, Pang L, Xu L X. Simultaneous measurements of local tissue temperature and blood perfusion rate in the canine prostate during radio frequency thermal therapy[J]. Biomech Model Mechanobiol, 2005, 4(1): 1 - 9.

[6] Fedorov V V, Schuessler R B, Hemphill M, *et al*. Structural and functional evidence for discrete exit pathways that connect the canine sinoatrial node and atria[J]. Circ Res,2009, 104(7): 915 - 923.

[7] Bouman L N, Jongsma H J. Structure and function of the sino-atrial node: a review[J]. Eur Heart J, 1986, 7(2): 94 - 104.

(编辑　栾　嘉)