文章编号:1000-5404(2013)22-2409-06

论著

犬房颤模型心房纤维化对心房重塑和炎症水平的影响

戴天医,罗太阳,何怡华,谷孝艳,汤日波,董建增,刘小慧 (100029 北京,首都医科大学附属北京安贞医院心内科)

[摘要] **目的** 研究心房纤维化在犬心房颤动(房颤)中对心房重塑及炎症水平的影响。**方法** 30只犬随机分为3组:房颤组(6只)、纤维化组(12只)及药物组(12只)。房颤组进行心房快速起搏(provided atrial tachypacing, ATP)8周。纤维化组在进行ATP的同时诱导心房结构重塑。药物组犬除进行ATP和诱导心房结构重塑外,口服羟尼酮药物治疗。分别于起搏前及起搏后4周及8周进行C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)及白细胞介素-6(IL-6)水平检测、超声心动图、电生理检查及心房组织学检查。**结果** 相对于房颤组,纤维化组胶原容积分数、左心房直径、房颤维持时间、房颤诱发率均明显升高;药物组较房颤组无明显差异。起搏4周时纤维化组CRP水平较房颤组明显升高[(434.99±135.26)ng/mL *vs* (346.67±81.09)ng/mL, $P<0.05$]。起搏8周时纤维化组CRP、IL-6及TNF-α水平明显高于房颤组及药物组($P<0.05$),药物组与房颤组间各炎症因子水平无明显差异($P>0.05$)。炎症因子水平与左心房直径及胶原容积分数呈正相关关系。**结论** 犬房颤过程中心房纤维化加重心房重塑及炎症反应,羟尼酮减轻心房结构重塑,并降低炎症水平,提示羟尼酮可能在房颤治疗中起重要作用。

[关键词] 心房颤动;结构重塑;炎症;羟尼酮
[中图法分类号] R361;R392.3;R541.75 [文献标志码] A

Effect of atrial fibrosis on atrial structural remodeling and inflammation in atrial fibrillation canines

Dai Tianyi, Luo Taiyang, He Yihua, Gu Xiaoyan, Tang Ribo, Dong Jianzeng, Liu Xiaohui (Department of Cardiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100029, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the effects of atrial fibrosis on atrial remodeling and inflammation in an atrial fibrillation (AF) canine model. **Methods** We studied 30 canines, randomly divided into 3 groups: group A ($n=6$), group B ($n=12$) and group C ($n=12$). A pacemaker was implanted in group A, and provided atrial tachypacing (ATP) for 8 weeks. Group B received ATP and atrial structural remodeling. Besides ATP and left atrial injection, oral hydronidone was administered for the pacing period in group C. We performed C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor-α (TNF-α), and interleukin-6 (IL-6) expression detection, echocardiography, AF vulnerability study and atrial fibrosis measurement at baseline, and 4 and 8 weeks after ATP. **Results** Compared to group A, group B showed significant elevation in collagen volume fraction, left atrial diameters, AF duration and percent of burst attempts leading to AF episodes. There was no significant difference between group C and group A. The elevation of CRP in group B was greater than that in group A in 4 weeks after ATP (434.99±135.26 *vs* 346.67±81.09 ng/mL, $P<0.05$). Eight weeks after ATP, group B had more significant increases in CRP, IL-6 and TNF-α than other groups. There was no significant difference between group A and group C in any inflammatory factor. The inflammatory factor levels had positive associations with left atrial diameter and collagen volume fraction. **Conclusion** Atrial fibrosis contributes to atrial remodeling and elevation in inflammation, whereas hydronidone attenuates such effects, implicating that hydronidone may play an important role in the management of AF.

[**Key words**] atrial fibrillation; structural remodeling; inflammation; hydronidone

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81170169)
[通信作者] 刘小慧,电话:(010)64456372,E-mail: liuxiaohui8838@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131104.1518.005.html(2013-11-04)

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China(81170169). Corresponding author: Liu Xiaohui, Tel: 86-10-64456372, E-mail: liuxiaohui8838@163.com

心房颤动(简称房颤)是临床中最常见的持续性心律失常,增加患者脑卒中、心力衰竭的发病率和病死率[1],然而目前房颤的治疗仍是临床上的热点和难点。房颤过程中心房结构重塑与炎症反应同时存在,均可增加房颤的易发性,并已有研究提示炎症反应可加重心房结构重塑[2-4],抗感染治疗可减轻心房纤维化程度[5],但房颤中炎症水平的影响因素仍不明确,目前尚无心房结构重塑对炎症反应影响的相关研究。基于此,我们在房颤犬模型中探究心房结构重塑对炎症水平的影响,以进一步了解房颤发病机制并为进一步治疗提供依据。结缔组织生长因子(connective tissue growth factor,CTGF)是一个致纤维化因子,在心脏成纤维细胞及心肌细胞中,CTGF可刺激成纤维细胞增殖,加重心脏纤维化[6]。吡非尼酮是一种口服抗纤维化药物,在多种纤维化动物模型中显示出减轻甚至逆转胶原蛋白沉积的作用[7-9],并可降低房颤易发性。羟尼酮(hydronidone)是吡非尼酮的类似物,可减轻甚至逆转胶原蛋白的沉积,处于肝纤维化治疗的二期临床试验中。在我们的前期研究中,犬房颤模型中左心房注射CTGF及成纤维细胞可明显加重心房结构重塑,而羟尼酮可减轻以上作用。因此,我们以心房快速起搏(atrial tachypacing, ATP)方式建立房颤犬模型,加重或减轻犬心房结构重塑,检测炎症水平的变化,以观察心房结构重塑在房颤过程中对炎症水平的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

30只雄性健康杂种犬(年龄15~18个月,体质量20~30 kg,由北京市海淀区兴隆实验动物养殖中心提供)采用随机数字法分为3组:房颤组(6只),纤维化组(12只)及药物组(12只)。所有犬在同样饲养条件下饲养12周。

1.2 主要器材与试剂

主要器材包括心脏电生理刺激仪(中国东方DF-5A型),心电监护仪(德国Hewlett-Packard GmbH),起搏分析仪(Medtronic PSA 5300型),埋藏式高频心脏起搏器(上海复旦旦华科技有限公司,FDM-30;频率400~600次/min,输出电压5.0V,脉宽0.2±0.05 ms),Vivid7彩色多普勒超声诊断仪(GE公司)。主要试剂包括犬血浆CRP、IL-6和TNF-α ELISA试剂盒(尚柏生物医学技术北京有限公司),CTGF(柏生物医学技术北京有限公司),羟尼酮(上海睿星基因技术有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 犬皮肤成纤维细胞培养 手术在北京大学第一医院实验动物手术室进行[SYXK(京)-2009-0013]。以5%戊巴比妥钠(0.5 mg/kg,必要时增加剂量)静脉注射麻醉,于犬前肢内侧备皮消毒,剪取皮肤约2.0 cm×2.0 cm,转运途中以加2%抗生素(青霉素和链霉素)的37 ℃磷酸盐缓冲液(PBS液)浸泡。用剪刀分离表皮和皮下组织,并将皮肤剪成小块。用PBS液冲洗皮肤小块,以0.2%胶原酶Ⅰ和0.25%胰蛋白酶消化后,用胎牛血清终止消化。之后将细胞置于离心管中,以1 000 r/min离心5 min后,用培养基重悬细胞,并置于100 mm培养皿中,在培养皿中加入含20%胎牛血清和1%抗生素的DMEM培养基(Invitrogen, Grand Island, NY, USA)。在37 ℃含5% CO_2和95%空气的条件下培养细胞,隔日更换培养基。细胞融合后,以PBS液冲洗并加入胰蛋白酶消化,将细胞传代培养。再次融合后,消化细胞并以血细胞计数板计数。细胞数量达到1×10^7/mL后收集细胞并以1 mL培养基重悬(细胞总量1×10^8/mL),加入0.16 μg CTGF后在1 h内进行左心房注射。

1.3.2 建立房颤模型 实验动物当天禁食12 h,禁水8 h。以5%戊巴比妥钠麻醉犬,并行气管插管及机械通气。由第四肋间处开胸,逐层分离皮肤、皮下组织、肌肉、胸膜等,打开心包,暴露右心房及右心耳,将起搏电极头(上海复旦旦华科技有限公司)固定于右心耳,用起搏分析仪测量各项电参数(电压阈值<1 V,阻抗500~1 000 Ω)满意后,将电极尾端与埋藏式高频起搏器相连(上海复旦旦华科技有限公司,FDM-30;输出5 V,脉冲0.2±0.05 ms),并将起搏器埋于颈部皮下,伤口涂抹青霉素粉剂后缝合。术后用磁铁开启起搏器,以400~600次/min频率进行ATP,心电图检查并验证起搏器工作正常,持续起搏8周,每2周描记1次心电图检查心脏起搏状态。术后静脉滴注青霉素及甲硝唑3 d预防感染。

纤维化组犬和药物组犬开胸后暴露左心房及左肺静脉,将CTGF(0.16 μg)及成纤维细胞悬液(细胞数1×10^8/mL)混匀,以注射器注射于靠近左肺静脉的左心房游离壁(于不同部位注射5次,每次0.2 mL)。房颤组犬用以上方式注射等量生理盐水。药物组犬于起搏前1 d开始口服羟尼酮[40 mg/(kg·d)],持续至停止起搏前6个半衰期(24 h)以上。

1.3.3 炎症因子测定 采集起搏前,起搏4周及8周时取各组犬静脉血标本,每次取血8 mL,置于依地酸钠钙(EDTA)抗凝的试管中,于4 ℃条件下转运。3 000 r/min离心10 min,分离血浆,将血浆冻存于-80 ℃条件下至测定时取出。血浆C-反应蛋白(C-reactive protein,CRP)、白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)及肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)水平均采用酶联免疫法(ELISA)检测方式测定。

1.3.4 经胸超声心动图检查 于起搏前,起搏4周及8周

时分别行超声心动图检查。静脉注射戊巴比妥钠麻醉犬,采用 Vivid7 彩色多普勒超声诊断仪(GE 公司)系统以经胸探头进行二维超声心动图检查。在心尖四腔心切面上测量左心房上下径及左右径。每个径线重复测量 2 次,取均值进行分析。所有超声检查的操作及测量均由同一超声医师在不知晓分组的情况下完成。

1.3.5 房颤易发性 进行 8 周 ATP 后,麻醉犬并进行机械通气。关闭起搏器,行心电监测 6 h。观察并记录停止起搏后犬是否维持房颤心律,以及房颤持续的时间。停止起搏后每天复查心电图观察是否有房颤复发。

停止 ATP 1 周后,行心脏电生理检查。麻醉犬后进行心电监测,以胸骨正中切口开胸。在左侧上下肺静脉、右侧上下肺静脉、左右心耳处行 Burst 刺激检测房颤诱发率。每只犬共接受 12 次 Burst 刺激,每个部位 2 次 20 ~ 30 s 周长为 100 ms 的刺激。若停止刺激后房颤律持续 1 min 以上认为房颤可被诱发。

1.3.6 心房组织学检查 电生理检查后,处死实验动物,迅速于左心房游离壁近左肺静脉前庭处及右心房游离壁近界嵴处各取 2 个组织标本,固定于福尔马林液中。石蜡包埋标本并且切片(4 ~ 5 μm),进行苏木精-伊红(HE)染色和天狼星红染色。在电镜下,分析时排除含血管及血管周围间质的区域。应用计算机图像分析系统通过天狼星红染色切片分析纤维化程度。每个标本选两张切片,每张切片随机选 5 个无血管的视野,按灰度值计算胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF) = 胶原总面积/图像总面积,取其均值记为胶原容积分数。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料采用 t 检验或方差分析,多组均值差异有统计学意义时,再进行两个均值之间比较的 q 检验,计数资料采用 χ^2 检验,变量之间相关性用直线相关分析。

2 结果

2.1 犬房颤模型建立

各组犬体质量及心率的基线水平无明显差异。进行起搏前所有犬均为窦性心律,在 ATP 过程中均可耐受,进行 ATP 犬起搏 8 周后均可诱发出房颤。药物组犬均接受全剂量羟尼酮治疗,未出现明显药物不良反应。

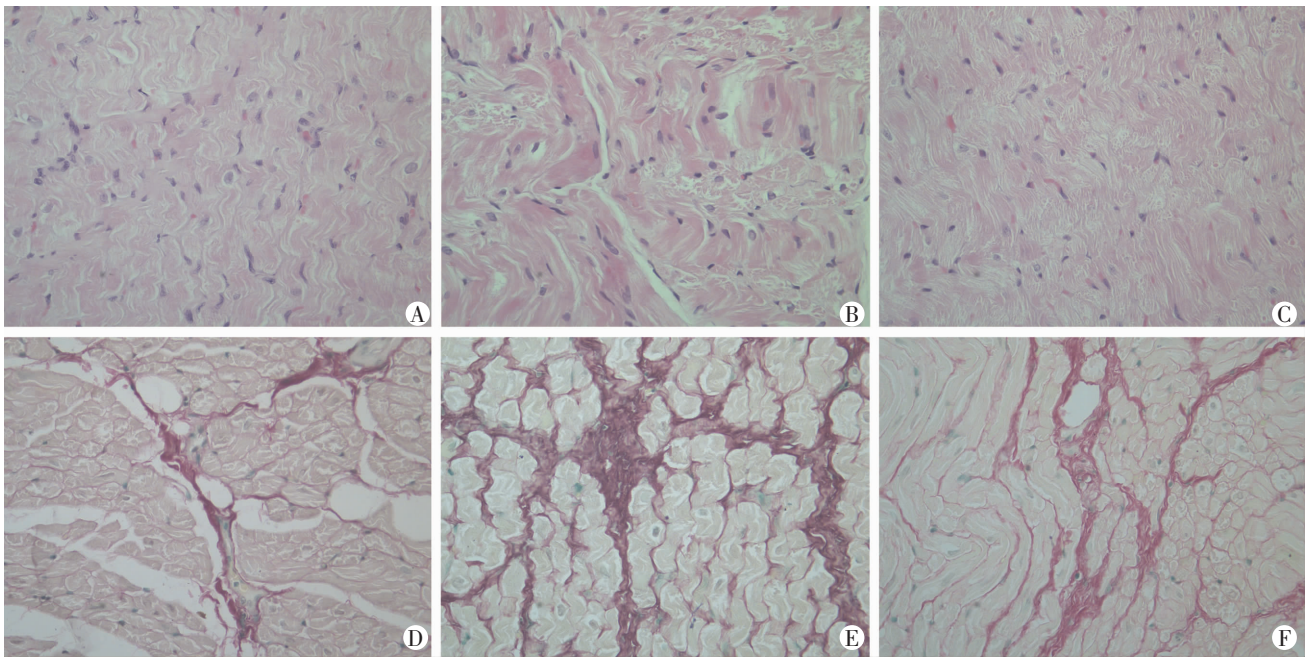
各组犬左心房标本 HE 染色均可见胶原组织增多,肌纤维大小不一,排列紊乱及肌丝断裂溶解(图 1)。相对于房颤组,纤维化组左心房标本胶原组织明显增多,肌纤维大小不一,排列疏松紊乱,肌丝断裂溶解,核异质性明显;药物组左心房上述改变均较纤维化组明显减轻。

以天狼星红染色标本进行 CVF 分析时,可见纤维化组左右心房 CVF 均明显大于房颤组及药物组($P < 0.05$),而房颤组与药物组之间无明显差异($P > 0.05$, 表 1)。

表 1 各组犬心房胶原容积分数 CVF 变化 [$(\bar{x} \pm s)\%$]

组别	n	左房 CVF	右房 CVF
房颤组	6	14.17 ± 3.92	12.33 ± 3.50
纤维化组	12	21.33 ± 6.62[a]	20.67 ± 4.25[a]
药物组	12	13.67 ± 3.60	13.83 ± 2.73

a: $P < 0.05$,与房颤组比较



A、D:房颤组;B、E:纤维化组;C、F:药物组;A ~ C:HE 染色;D ~ F:天狼星红染色;可见纤维化组左心房纤维化程度较房颤组加重,药物组较纤维化组减轻

图 1 犬左心房组织学检查(×400)

2.2 超声心动图检查

各组犬术前左心房直径无明显差异,随起搏时间延长左心房直径均逐渐增大(表2)。起搏4周时,纤维化组及药物组左心房直径较起搏前明显增大($P<0.05$),至起搏8周时,各组犬左心房直径均较起搏前显著增大($P<0.05$)。起搏4周及8周时,纤维化组左心房直径均明显大于房颤组,起搏4周时,药物组左心房上下径明显小于纤维化组($P<0.05$),起搏8周时药物组左心房上下径及左右径均明显小于纤维化组($P<0.05$)。起搏前后各次检查中,房颤组与药物组之间均无明显差异($P>0.05$)。

表2 各组犬左心房直径(mm, $\bar{x}\pm s$)

组别	n		起搏前	起搏4周	起搏8周
房颤组	6	上下径	26.83±2.21	27.33±2.06	29.67±2.23[a]
		左右径	25.50±2.61	26.67±2.81	28.67±1.67[a]
纤维化组	12	上下径	25.17±3.69	30.17±2.85[ab]	35.33±3.45[ab]
		左右径	24.83±3.16	29.00±2.49[ab]	33.33±3.05[ab]
药物组	12	上下径	25.50±2.94	27.00±2.17[ac]	28.50±2.47[ac]
		左右径	25.50±2.32	27.83±1.40[a]	29.50±2.24[ac]

a:$P<0.05$,与起搏前比较;b:$P<0.05$,与房颤组比较;c:$P<0.05$,与纤维化组比较

2.3 心房颤动易发性

相对于房颤组,纤维化组犬停止起搏后维持房颤律犬的比例较高,房颤持续时间明显延长($P<0.05$),房颤诱发率明显升高($P<0.05$)。房颤组与药物组维持房颤律犬的比例、房颤持续时间及房颤诱发率无明显差异($P>0.05$,表3)。

表3 各组犬心房颤动易发性

组别	n	房颤维持		房颤诱发率(%)
		数量(只)	持续时间(min)	
房颤组	6	4	37.0±30.9	11.1
纤维化组	12	11[a]	134.7±95.1[a]	47.2[a]
药物组	12	8	41.8±34.0	17.4

a:$P<0.05$,与房颤组比较

2.4 炎症因子

起搏前,各组犬炎症因子水平无明显差异($P>0.05$,表4)。起搏4周各组犬各炎症因子水平均较术前明显升高($P<0.05$),起搏8周时,各组犬CRP及IL-6水平均较起搏前明显升高,房颤组及纤维化组犬TNF-α水平较起搏前明显升高。起搏4周时纤维化组CRP水平较房颤组明显升高。起搏8周时,纤维化组CRP、IL-6及TNF-α水平均明显高于房颤组及药物组($P<0.05$)。药物组与房颤组间各炎症因子水平无明显差异($P>0.05$)。

表4 各组犬炎症因子水平($\bar{x}\pm s$)

组别	n		CRP(ng/mL)	IL-6(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)
房颤组	6	起搏前	228.69±30.31	141.24±73.91	30.93±26.92
		起搏4周	346.67±81.09[a]	266.88±149.93[a]	57.10±33.06[a]
		起搏8周	304.14±53.09[a]	196.22±55.53[a]	40.87±19.03[a]
纤维化组	12	起搏前	251.05±67.37	146.81±36.35	21.75±12.07
		起搏4周	434.99±135.26[ab]	308.78±142.48[a]	60.63±36.47[a]
		起搏8周	424.30±97.63[ab]	247.52±65.92[ab]	58.74±25.74[ab]
药物组	12	起搏前	262.11±73.25	130.55±77.40	28.72±13.30
		起搏4周	418.56±108.73[a]	251.12±122.21[a]	64.62±21.42[a]
		起搏8周	334.68±88.62[a]	193.35±66.27[a]	34.51±16.32

a:$P<0.05$;与起搏前比较;b:$P<0.05$,与房颤组比较

2.5 心房纤维化与重塑和炎症水平的关系

起搏8周时,炎症因子水平与心房重塑相关指标具有相关性。在心房扩大方面,CRP水平与左心房上下径呈正相关关系($r=0.462$, $P=0.010$),IL-6水平与左心房上下径呈正相关关系($r=0.387$, $P=0.035$)。

在心房纤维化方面,CRP水平与左房($r=0.709$, $P=0.000$)及右房CVF($r=0.496$, $P=0.005$)均呈正相关关系,IL-6水平与右房CVF呈正相关关系($r=0.451$, $P=0.012$),TNF-α水平与右房CVF呈正相关关系($r=0.528$, $P=0.003$)。

3 讨论

房颤的发病机制一直是心血管领域研究的热点,虽然多项研究提示炎症、心房结构重塑及氧化应激反应等可影响房颤的发生、发展,但其具体机制仍未完全明确。因此,本研究在犬房颤模型中加重或减轻心房结构重塑,观察其对炎症因子水平的影响,以进一步了解对心房结构重塑与炎症反应之间的关系。

本研究中心房快速起搏8周明显加重犬心房纤维化,组织学检查可见心房肌细胞排列紊乱、间质中胶原蛋白含量增加。进行ATP犬起搏8周后均可诱发出房颤。因此,犬房颤模型建立方法可靠、有效。

心房重塑包括心房结构重塑及电重塑两方面。心房间质纤维化及心房扩大是结构重塑的重要特征,心房纤维化增加心肌组织电兴奋的离散度,有利于形成折返,而扩大的心房可容纳更多的折返子波数,心房结构重塑及电重塑共同促进房颤的发生及维持[10]。本研究中,左心房注射CTGF及成纤维细胞加重了房颤犬心房结构重塑,纤维化组心房肌细胞及间质改变较房颤组加重,CVF显著升高,左心房直径也较房颤组明显增大。同时,心房纤维化加重房颤犬心房电重塑,

相对于房颤组犬,纤维化组犬停止起搏后维持房颤律的比例高,房颤持续时间长,房颤诱发率高,而房颤组与药物组相似。因此,以左心房注射CTGF及成纤维细胞方法加重房颤犬心房纤维化的方法有效。心房纤维化可加重犬心房结构重塑及电重塑,促进房颤慢性化。

在炎症反应方面,炎症因子水平与房颤的发生及维持等均有显著相关性。房颤患者CRP水平较无房颤患者高,并且持续性房颤患者CRP水平较阵发性房颤患者高[11]。Li等[12]研究发现,匹配年龄、性别、种族、BMI、心衰病史及他汀类药物应用后,房颤患者血浆IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α及单核细胞趋化蛋白水平明显高于对照者,相对于阵发性房颤患者,持续性及永久性房颤患者IL-10及TNF-α水平明显升高。此外,炎症因子水平还可作为房颤的预测因素。冠状动脉旁路移植术后发生房颤的患者术后24 h干扰素-γ、IL-2和IL-10水平高于未发生房颤的患者[13]。房颤患者行电复律或药物复律的成功率及维持率也与炎症水平相关[14-15]。随患者CRP水平升高,房颤复发风险明显增高[16]。经胺碘酮转复未成功的患者血浆IL-2基线水平明显高于转复成功的患者,多变量logistic回归分析显示,入院时低IL-2水平是转复成功的重要独立预测因素[17],IL-6及sICAM-1是预测持续性孤立性房颤的患者转复后窦性心律维持的早期预测指标[18]。抗炎药物对房颤的影响则从另一方面证实了房颤与炎症之间的联系。他汀类药物可降低房颤的发生率、发作频率及复发率[19],心脏手术围手术期应用糖皮质激素可降低术后房颤发生率[20]。因此,炎症反应与房颤关系密切。本研究中,起搏4周时各组犬各炎症因子水平均较术前明显升高,起搏8周时,各组犬CRP及IL-6水平较起搏前明显升高。虽然起搏器植入等操作本身可加重炎症反应,但起搏8周时炎症因子水平仍较术前升高,与目前研究一致。

目前心房结构重塑与炎症反应之间的关系尚未完全明确,但有研究提示全身炎症可导致“心房肌炎症”并进一步造成心房电重构及结构重构,最终导致房颤的发生和维持[21]。房颤时的快速心率可能导致心肌细胞钙超载,并使心房肌细胞凋亡,之后CRP可能作为调理素黏附于心房肌细胞并参与凋亡细胞的清除,导致局部炎症反应及补体激活,然后肌细胞的缺失由纤维组织填补,造成纤维化。因此低水平炎症反应可能参与部分结构重塑过程,并使房颤易于维持。故本研究进一步探究心房纤维化对心房重塑及炎症水平的影响。在炎症反应相关因子中,急性期反应蛋白CRP作为非常敏感的炎症标记物,可反映当前炎症反应的水平。而IL-6及TNF-α是介导炎症反应的主要细胞因子。IL-6升高可通过其在炎症反应瀑布上游的重要作用及激活交感神经系统的作用使房颤更易发生[22]。TNF-α水平升高则与胶原蛋白沉积,收缩功能异常及舒张期Ca^{2+}移动相关[23]。因此,本研究检测CRP、IL-6及TNF-α水平以反映炎症反应水平。本研究中,由左房注射CTGF及成纤维细胞诱导的心房纤维化造成房颤犬炎症因子水平升高,而羟尼酮减轻犬心房结构重塑的同时,降低炎症因子水平。除此之外,炎症因子水平与心房结构重塑相关指标具有显著相关性。在心房扩大方面,CRP及IL-6水平与左心房上下径呈正相关关系。在心房纤维化方面,CRP、IL-6及TNF-α水平与心房CVF呈正相关关系。本研究提示,心房纤维化不仅是炎症反应的结果,还可影响炎症反应过程,并且炎症因子水平与结构重塑程度相关。房颤的发生及维持机制复杂,包括炎症、纤维化及氧化应激反应等,由本研究可见各机制在房颤发生、发展过程中存在交互作用,仍需进一步研究深入了解各机制之间的相互作用。

多项研究报道了吡非尼酮在抗纤维化及抗炎方面的作用[7-9]。在肺纤维化小鼠模型中,吡非尼酮明显降低肺羟脯氨酸含量及博来霉素诱导的肺IL-1β、IL-6、IL-12p40、单核细胞趋化蛋白(MCP)-1水平增高,并预防博来霉素诱导的肺IFN-γ水平降低,明显减轻博来霉素诱导的肺纤维化[24]。在颈动脉球囊损伤模型中,吡非尼酮的应用抑制了多种致纤维化基因表达,同时抑制了致炎性细胞因子的生成,如TNF-α、IFN-γ及IL-6等[25]。在醋酸去氧皮质酮-盐性高血压大鼠模型中,吡非尼酮明显减轻大鼠心室肥厚,逆转胶原沉积的增加并改善心肌顺应性。在一项以快速心室起搏诱导心衰的研究中,仅心衰组犬发展为持续性房颤,而起搏同时服用吡非尼酮的药物组犬无持续性房颤发生,并且药物组较心衰组犬左房重塑减轻,房颤持续时间缩短[26],TNF-α水平降低。在本研究中,我们观察到羟尼酮也具有相似的作用。作为吡非尼酮的相似物,羟尼酮减轻了ATP诱导房颤模型中的心房结构重塑及房颤易发性,并且明显降低了CRP、IL-6及TNF-α水平。现已知纤维化及炎症反应在房颤过程中具有重要作用,羟尼酮抗纤维化及抗炎的作用可能将在房颤治疗中得到应用,但仍需进一步实验明确其最佳应用时间、剂量及与其他药物联合应用的前景。

综上所述,在ATP诱导的房颤犬模型中,左房注射CTGF及成纤维细胞诱导的心房纤维化,可加重心房结构重塑及电重塑,并使炎症因子水平升高,炎症因子水平与结构重塑程度相关。羟尼酮可减轻心房结构重塑及电重塑,并降低炎症因子水平。针对心房结构重塑机制的药物可能将在房颤治疗中起重要作用。

参考文献:

[1] Murakoshi N, Aonuma K. Epidemiology of arrhythmias and sudden cardiac death in Asia [J]. Circ J, 2013, 77(10): 2419 - 2431.

[2] Friedrichs K, Klinke A, Baldus S. Inflammatory pathways underlying atrial fibrillation [J]. Trends Mol Med, 2011, 17(10): 556 - 563.

[3] Young M J. Mechanisms of mineralocorticoid receptor-mediated cardiac fibrosis and vascular inflammation [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2008, 17(2): 174 - 180.

[4] Zhao W, Zhao T, Chen Y, *et al*. Oxidative stress mediates cardiac fibrosis by enhancing transforming growth factor-beta1 in hypertensive rats [J]. Mol Cell Biochem, 2008, 317(1/2): 43 - 50.

[5] Li J, Xia W, Feng W, *et al*. Effects of rosuvastatin on serum asymmetric dimethylarginine levels and atrial structural remodeling in atrial fibrillation dogs [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2012, 35(4): 456 - 464.

[6] Adam O, Lavall D, Theobald K, *et al*. Rac1-induced connective tissue growth factor regulates connexin 43 and N-cadherin expression in atrial fibrillation [J]. J Am Coll Cardiol, 2010, 55(5): 469 - 480.

[7] Roche P, Czubryt M P. Pirfenidone and the inflammasome: getting to the heart of cardiac remodeling [J]. Cardiology, 2013, 126(1): 59 - 61.

[8] Wang Y, Wu Y, Chen J, *et al*. Pirfenidone attenuates cardiac fibrosis in a mouse model of TAC-induced left ventricular remodeling by suppressing NLRP3 inf lammasome formation [J]. Cardiology, 2013, 126(1): 1 - 11.

[9] Shi Q, Liu X, Bai Y, *et al*. *In vitro* effects of pirfenidone on cardiac fibroblasts: proliferation, myofibroblast differentiation, migration and cytokine secretion [J]. PLoS One, 2011, 6(11): e28134.

[10] Scridon A, Tabib A, Barres C, *et al*. Left atrial endocardial fibrosis and intra-atrial thrombosis - landmarks of left atrial remodeling in rats with spontaneous atrial tachyarrhythmias [J]. Rom J Morphol Embryol, 2013, 54(2): 405 - 411.

[11] Nyrnes A, Njolstad I, Mathiesen E B, *et al*. Inflammatory biomarkers as risk factors for future atrial fibrillation. An eleven-year follow-up of 6315 men and women: the Troms? study [J]. Gend Med, 2012, 9(6): 536 - 547.

[12] Li J, Solus J, Chen Q, *et al*. Role of inflammation and oxidative stress in atrial fibrillation [J]. Heart Rhythm, 2010, 7(4): 438 - 444.

[13] Hak L, Mysliwska J, Wieckiewicz J, *et al*. Interleukin-2 as a predictor of early postoperative atrial fibrillation after cardiopulmonary bypass graft (CABG) [J]. J Interferon Cytokine Res, 2009, 29(6): 327 - 332.

[14] Jiang Z, Dai L, Song Z, *et al*. Association between C-reactive protein and atrial fibrillation recurrence after catheter ablation: a meta-analysis [J]. Clin Cardiol, 2013, 36(9): 548 - 554.

[15] Engelmann M D, Svendsen J H. Inflammation in the genesis and perpetuation of atrial fibrillation [J]. Eur Heart J, 2005, 26(20): 2083 - 2092.

[16] Watanabe E, Arakawa T, Uchiyama T, *et al*. High-sensitivity C-reactive protein is predictive of successful cardioversion for atrial fibrillation and maintenance of sinus rhythm after conversion [J]. Int J Cardiol, 2006, 108(3): 346 - 353.

[17] Rizos I, Tsiodras S, Rigopoulos A G, *et al*. Interleukin-2 serum levels variations in recent onset atrial fibrillation are related with cardioversion outcome [J]. Cytokine, 2007, 40(3): 157 - 164.

[18] Leftheriotis D I, Fountoulaki K T, Flevari P G, *et al*. The predictive value of inflammatory and oxidative markers following the successful cardioversion of persistent lone atrial fibrillation [J]. Int J Cardiol, 2009, 135(3): 361 - 369.

[19] Siu C W, Lau C P, Tse H F. Prevention of atrial fibrillation recurrence by statin therapy in patients with lone atrial fibrillation after successful cardioversion [J]. Am J Cardiol, 2003, 92(11): 1343 - 1345.

[20] Halonen J, Halonen P, Jarvinen O, *et al*. Corticosteroids for the prevention of atrial fibrillation after cardiac surgery: a randomized controlled trial [J]. JAMA, 2007, 297(14): 1562 - 1567.

[21] Korantzopoulos P, Kolettis T, Siogas K, *et al*. Atrial fibrillation and electrical remodeling: the potential role of inflammation and oxidative stress [J]. Med Sci Monit, 2003, 9(9): RA225 - RA229.

[22] Ishida K, Kimura F, Imamaki M, *et al*. Relation of inflammatory cytokines to atrial fibrillation after off-pump coronary artery bypass grafting [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2006, 29(4): 501 - 505.

[23] Saba S, Janczewski A M, Baker L C, *et al*. Atrial contractile dysfunction, fibrosis, and arrhythmias in a mouse model of cardiomyopathy secondary to cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289(4): H1456 - H1467.

[24] Oku H, Shimizu T, Kawabata T, *et al*. Antifibrotic action of pirfenidone and prednisolone: different effects on pulmonary cytokines and growth factors in bleomycin-induced murine pulmonary fibrosis [J]. Eur J Pharmacol, 2008, 590(1/3): 400 - 408.

[25] Grattendick K J, Nakashima J M, Feng L, *et al*. Effects of three anti-TNF-alpha drugs: etanercept, infliximab and pirfenidone on release of TNF-alpha in medium and TNF-alpha associated with the cell *in vitro* [J]. Int Immunopharmacol, 2008, 8(5): 679 - 687.

[26] Lee K W, Everett T H 4th, Rahmutula D, *et al*. Pirfenidone prevents the development of a vulnerable substrate for atrial fibrillation in a canine model of heart failure [J]. Circulation, 2006, 114(16): 1703 - 1712.

(收稿:2013-09-03;修回:2013-10-21)

(编辑 汪勤俭)