DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.13.018
第25卷第13期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 13
2003年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2003

文章编号:1000-5404(2003)13-1161-04

论著

缺血再灌注对在体兔窦房结电生理功能的损伤研究

李永华,宋治远,姚 青,黄 骥 (第三军医大学附属西南医院心血管内科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨缺血再灌注对在体兔窦房结电生理功能的影响。方法 取家兔90只随机分为对照组、缺血10、30、60、120 min组及缺血再灌注4 h组,每组10只。通过结扎及放松右冠状动脉起始部建立在体兔窦房结缺血再灌注损伤模型,同步记录体表及心腔内电图,观察AA间期变化及心律失常发生情况。结果 ①对照组各时相点AA间期比较均无显著差异($P>0.05$)。②缺血组与缺血再灌注组80只兔子在缺血期共有51只(63.75%)发生窦性停搏、窦性心动过缓伴不齐、或房性快速性心律失常,且随缺血时间延长,心律失常发生率增加;有54只兔子(占67.5%)于结扎右冠状动脉后AA间期延长40 ms以上。③缺血再灌注组40只兔子中,有26只兔子于缺血期发生了窦性或房性心律失常,其中15只于再灌注后20 min内恢复正常,但另有3只发生了新的心律失常。④缺血再灌注组于缺血期有AA间期延长的27只兔子,多在再灌注后10 min内恢复至结扎前水平,但缺血60、120 min再灌注组则随再灌注时间进一步延长,AA间期再次延长。结论 ①约2/3的兔子窦房结动脉可能起源于右冠状动脉。②窦房结缺血引起的心电生理变化与病窦综合征的心电图表现相似。③较长时间缺血后再灌注可发生再灌注心律失常。

关键词:窦房结细胞;缺血再灌注;电生理;兔
中图法分类号:R331.3+1;R541.7;R654.1 文献标识码:A

Effect of ischemia reperfusion on electrophysiological function of sinoatrial node in rabbits

LI Yong-hua, SONG Zhi-yuan, YAO Qing, HUANG Ji (Department of Cardiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the effect of ischemia reperfusion (IR) on electrophysiological function of sinoatrial node (SAN) in rabbits. Methods Ninety healthy adult rabbits were divided randomly into control group, ischemia groups (I) 10 (I10 min), 30 (I30 min), 60 (I60 min) and 120 min (I120 min) and IR groups (10, 30, 60 and 120 min ischemia followed by 4 h reperfusion respectively) (I10 minR4 h, I30 minR4 h, I60 minR4 h and I120 minR4 h). There were 10 rabbits in the control group and each subgroup. IR injury model of SAN was established by occluding and loosening the start section of right coronary artery (RCA). The changes of AA interval and arrhythmia were recorded by electrocardiography and cardiac chamber electrography synchronously. Results ① There was no significant difference in AA interval between different time points in the control group. ② Sinus arrest (SA), sinus bradycardia with arrhythmia (SB), or atrial tachyarrhythmia (AT) were found in 51 rabbits (63.75%) out of 80 rabbits in I and IR groups in ischemic period. The incidence rate of arrhythmia increased in a time-dependent manner. The AA intervals also increased by at least 40 ms in 54 rabbits (67.5%). ③ Sinus or atrial arrhythmia during ischemic period was found in 26 out of the 40 rabbits in IR group, but 15 returned normal after reperfusion. ④ Increased AA intervals were found in 27 out of the 40 rabbits in IR group during ischemic period. Most of them recovered to pre-occlusion level within 10 min after reperfusion, but the AA intervals prolonged again in I60 minR4 h and I120 minR4 h groups as the reperfusion elongated. Conclusion ① These findings suggest that about 2/3 of the rabbit sinus node arteries may stem from right coronary artery. ② Electrophysiological changes due to ischemia of SAN resemble the electrocardiogram of sick sinoatrial node syndrome. ③ Reperfusion arrhythmia can be induced by reperfusion after a long time of ischemia.

Key words: sinoatrial node cells; ischemia reperfusion; electrophysiology; rabbit

临床研究显示,急性窦房结动脉闭塞可引起一系列窦房结细胞电生理功能改变,表现为窦性心动过缓、窦性停搏、窦房阻滞、房性心动过速及心房颤动等。但窦房结急性缺血后电生理功能改变的发生、发展规律

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770324)
作者简介:李永华(1971—),男,重庆市垫江县人,硕士,医师,主要从事心脏电生理方面的研究。电话:(023)65387390
收稿日期:2002-12-11;修回日期:2003-01-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

如何？及时开通闭塞的血管行再灌注后对窦房结电生理功能改变的影响如何？目前均不清楚。本研究通过结扎或放松兔右冠状动脉起始部，制作在体兔窦房结缺血再灌注损伤模型，观察不同时间缺血及缺血再灌注时体表及心腔内电图的改变，旨在探讨缺血再灌注对在体兔窦房结电生理功能的影响。

1 材料与方法

1.1 主要仪器及设备

本研究所使用的主要仪器与设备包括：小动物呼吸机（HD-40，浙江医科大学仪器实验厂制）、四道生理记录仪（RM-6200，成都仪器厂）、示波器（LMS-2A，日本）、心电图机（ECG-6511型，日本）、兔台及手术器械一套。

1.2 在体兔窦房结缺血再灌注模型的建立

取健康大白兔，先用3％戊巴比妥钠（1 ml/kg）进行静脉麻醉，而后将兔固定于兔台上，于胸前及颈部剪毛、消毒。切开颈部，分离出气管，放置气管插管，行人工正压呼吸；通过颈部切口，分离、结扎及切断双侧迷走神经，经胸部切口分离双侧星状神经节及结扎所有的分支，以消除迷走神经及交感神经对窦房结电生理功能的影响；沿胸正中线稍偏右开胸暴露心脏、剪开心包，从主动脉根部分离出右冠状动脉，在右冠状动脉分出第一分支前起始部下方套一丝线，丝线穿过一细塑料管，通过塑料管钳夹或放松两端丝线以造成窦房结动脉急性闭塞或再灌注。由颈动脉插入自制的电极导管至主动脉根部记录心腔内电图，同时用针形电极刺入兔四肢皮下记录体表心电图，将以上信号输入四导电生理记录仪行持续心电监护，于各观察时相点同步记录心腔内电图及体表心电图Ⅱ导联。

1.3 实验动物与分组

健康大白兔90只（由第三军医大学实验动物中心提供），雌雄不拘，体质量2.0～3.5 kg，随机分为以下几组，每组10只兔。① 缺血组：根据缺血时间不同又分为缺血10、30、60及120 min 4组。② 缺血再灌注组：又分为缺血10、30、60及120 min后再灌注4 h 4组。③ 对照组：仅于右冠状动脉起始部下方穿线而不结扎，持续观察6 h。

1.4 观察指标

实验组分别于结扎右冠状动脉前、结扎右冠状动脉后5、10、20、30、40、50、60、90、120 min及再灌注后5、10、20、30、60、90、120、180、240 min同步记录体表心电图、心腔内电图，测量各组不同时相点AA间期（p-p间期），若AA间期较结扎右冠状动脉前延长40 ms以上，被视为AA间期延长。心电监护发现有窦性心动过缓、窦性停搏、房性心动过速或心房颤动，立即记录体表心电图及心腔内电图。对照组观察指标同上，其时相点分别为穿线前及穿线后10 min、30 min、1 h、2 h、3 h、4 h、5 h及6 h。

1.5 统计学处理

采用SPSS 10.0软件做χ^2检验、t检验和方差分析。

2 结果

2.1 对照组AA间期的变化

对照组10只兔子中无1只AA间期变化超过40 ms，表明开胸后不结扎右冠状动脉对兔心脏AA间期无影响；在连续6 h的观察中，无1只兔子记录到窦性心动过缓、窦性停搏、窦房阻滞、房性心动过速或心房颤动；穿线后各时相点的AA间期与穿线前比较均无显著差异（$P>0.05$），见表1。

表1 对照组AA间期的变化（t/ms，$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

Tab 1 Changes of AA intervals in control group（t/ms，$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

	Pre-threading	Post-threading							
		10 min	30 min	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
AA	253±27	253±31	253±41	254±38	256±42	257±38	258±51	258±47	259±52

2.2 缺血时窦性与房性心律失常的发生及AA间期的变化

2.2.1 缺血时窦性与房性心律失常的发生情况 结扎右冠状动脉常可发生房室传导阻滞及室性心律失常，但因本研究系观察缺血对窦房结电生理功能的影响，故上述两种类型的心律失常不在统计之列。通过对缺血组及缺血再灌注组80只兔子于不同缺血时间内的观察发现，共有51只兔子（占63.75％）发生窦性及房性心律失常，其中20只兔子发生窦性心律失常（窦性停搏5只，窦缓伴不齐15只），25只兔子发生心房颤动（22只为阵发性，3只为持续性），6只兔子发生短阵房性心动过速。不同时间内窦性及房性心律失常的发生率见表2，随缺血时间的延长，心律失常发生率增加，缺血120 min与缺血10 min比较，各种心律失常的发生率均显著增加（$P<0.01$）。

表2 不同缺血时间心律失常发生情况

Tab 2 Incidence rate of arrhythmia at different ischemic time

Ischemia	n	Incidence rate of arrhythmia（％）			
		SA	SB	AT	Af
10 min	20	5.0	15.0	3.8	17.5
30 min	20	6.7	16.7	5.0	28.3★
60 min	20	7.5	20.0	7.5	32.5★
120 min	20	10.0★	25.0★	10.0★	35.0★

★：$P<0.01$ *vs* ischemia 10 min

2.2.2 缺血对兔心脏AA间期的影响 通过对缺血组及缺血再灌注组80只兔子不同时相点AA间期的观察发现，缺血10、30、60、120 min各组中分别有6、7、6、8只兔子于结扎右冠状动脉后AA间期较结扎前延长40 ms以上，而缺血10、30、60、120 min再灌注4 h各组中分别有6、6、8、7只兔子于结扎右冠状动脉后AA间期较结扎前延长40 ms以上，表明缺血可使67.5％

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(54/80)的兔子窦房结细胞放电频率减慢, 推测 2/3 的兔子窦房结动脉可能起源于右冠状动脉。缺血 120 min 及缺血 120 min 再灌注 4 h 组 20 只兔子中共有 15 只兔子 AA 间期发生明显变化, 因有 2 只兔子分别于缺血 15 min 及 28 min 发生持续性心房颤动, 而无法继续观察 AA 间期的变化, 另 13 只兔子不同缺血时相点 AA 间期见表 3。

表 3　结扎右冠状动脉前、后 AA 间期的变化(t/ms, n=13, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Changes of AA intervals before and after occlusion of the right coronary artery(t/ms, n=13, $\bar{x}\pm s$)

	Pre-occlusion	Post-occlusion(min)								
		5	10	20	30	40	50	60	90	120
AA	253±40	313±54★	312±78★	308±50★	310±54★	312±53★	316±44★★	316±47★★	322±65★★	337±55★★★

★: $P<0.05$ *vs*, ★★: $P<0.01$ *vs*, ★★★: $P<0.001$ *vs* pre-occlusion

由表 3 可知, AA 间期于缺血 5 min 内延长速度最快, 而后随缺血时间延长, AA 间期增加, 以缺血 120 min 最为明显。

2.3　缺血再灌注后心律失常的发生、演变及 AA 间期的变化

2.3.1　再灌注后心律失常的发生及演变情况　缺血再灌注组 40 只兔子中, 于不同缺血时间内共有 26 只发生了窦性及房性心律失常, 其中 11 只出现窦性停搏或窦缓伴不齐, 12 只发生心房颤动, 3 只发生短阵房性心动过速。当松开夹闭的右冠状动脉进行再灌注后, 3 只兔子发生新的心律失常, 其中 1 只缺血 30 min 再灌注 4 h 兔及 1 只缺血 60 min 再灌注 4 h 兔均于再灌注后 5 min 发生心房颤动, 分别持续 30 s 及 60 s 后转为窦性心律; 另 1 只缺血 120 min 再灌注 4 h 兔于再灌注后 1 min 发生心室颤动, 约持续 30 s 后转为窦性心律; 未见有新的窦性停搏或窦缓伴不齐发生。缺血期发生心律失常的 26 只兔子中, 15 只于再灌注后 20 min 内恢复正常, 另 11 只兔子虽经 4 h 再灌注, 仍表现为不同程度的窦性或房性心律失常。

2.3.2　再灌注后各组 AA 间期的变化　通过对缺血再灌注 4 组的观察发现, 于缺血期分别有 6、6、8 及 7 只兔子 AA 间期延长 40 ms 以上, 而当松开夹闭的右冠状动脉进行再灌注后, 原有 AA 间期延长的 27 只兔子的 AA 间期均随着窦房结血供的恢复而渐见缩短, 多在 10 min 内恢复至右冠状动脉结扎前水平。但缺血 60 min 及 120 min 再灌注组则随再灌注时间的进一步延长 AA 间期再次延长, 并分别于再灌注 120 min 延长超过再灌注前水平见表 4。

表 4　再灌注后各组 AA 间期的变化(t/ms, $\bar{x}\pm s$)

Tab 4　Changes of AA intervals in IR group after reperfusion(t/ms, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	Pre-reperfusion	Post-reperfusion(min)								
			5	10	20	30	60	90	120	180	240
Control	10	253±27	253±36	253±31	253±36	253±41	254±38	255±45	256±42	257±38	258±51
I10 minR4 h	6	311±69	254±50★	252±49★	253±58★	253±55★	256±40★	257±33★	259±48★	260±54★	262±46★
I30 minR4 h	6	313±57	260±48★	255±55★	255±43★	259±61★	261±55★	262±42★	268±48★	272±42★★	275±33★★
I60 minR4 h	8	315±50	264±55★	263±61★	263±56★	266±45★	280±48★	304±49	320±57	331±51★★	335±47★★
I120 minR4 h	7	337±55	268±46★	265±50★	265±47★	275±65★	288±65★	321±61★★	336±56	351±47★★	359±35★★

★: $P<0.001$, ★★: $P<0.01$ *vs* before reperfusion

3　讨论

3.1　在体兔窦房结缺血再灌注损伤模型的评价

研究表明, 窦房结血供主要由窦房结动脉支配, 而人及大部分哺乳动物的窦房结动脉约 2/3 起源于右冠状动脉, 1/3 起源于左冠状动脉旋支[1]。对于同一动物而言, 其窦房结动脉可能起源于右冠状动脉或左冠状动脉旋支。因此, 在制作在体窦房结缺血再灌注模型时, 最好同时结扎右冠状动脉与左冠状动脉旋支起始部, 以确保造成该动物窦房结完全缺血, 但若同时阻断右冠状动脉与左冠状动脉旋支, 必将引起大面积心肌细胞缺血性损伤, 并可因致命性心律失常而死亡。我们在进行预实验时曾按上述方法制作在体兔窦房结缺血再灌注损伤模型, 结果 5 只兔全部因心室颤动而死亡[2], 故认为同时阻断右冠状动脉与左冠状动脉旋支制作在体兔窦房结缺血再灌注损伤模型的方法不可行。由于兔窦房结动脉有 66.7%起源于右冠状动脉, 且多由单支动脉供血[3,4], 在实验中结扎或放松右冠状动脉起始部, 便可使约 2/3 的兔子窦房结出现缺血及再灌注损伤。本实验结果显示, 在结扎右冠状动脉起始部后, 有 67.5%的兔子出现 AA 间期延长, 表明这部分兔子的窦房结动脉系起源于右冠状动脉, 而少数未出现 AA 间期改变的兔子, 其窦房结动脉可能起源于左冠状动脉旋支。由于心脏电活动受交感神经与副交感神经双重支配, 故在观察缺血及缺血再灌注对在体兔窦房结电生理影响时, 必须去除心脏植物神经因素的作用, 因此, 我们在制作动物模型时, 同时切断了双侧迷走神经及星状神经节, 去除了交感及副交感神经

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

对兔心脏电活动的影响。以上结果表明，单纯结扎或放松右冠状动脉起始部，制作在体兔窦房结缺血再灌注损伤模型，虽然不能使所有兔子窦房结造成缺血再灌注损伤，但有约2/3的兔子被成功地制作了在体窦房结缺血再灌注损伤模型，可以满足实验需要，故认为该方法可行，是目前研究缺血再灌注对在体兔窦房结电生理功能影响的较为理想的模型。

3.2 缺血对在体兔窦房结电生理功能的影响

早在1978年，Alter等[5]就对窦房结缺血与窦性心动过缓之间的关系进行了研究，通过分别结扎猴窦房结动脉、左冠状动脉旋支及前降支，观察了急性缺血与心率的关系，发现结扎窦房结动脉或左冠状动脉旋支后1 min内即出现窦性心动过缓，而结扎左冠状动脉前降支后不但未出现窦性心动过缓，反而心率有所增加；后通过对猴子心脏进行解剖观察，认为窦房结区域血流的阻断是导致窦性心动过缓的原因。但Alter的研究只观察了缺血2 min内心率变化，也未观察到窦性或房性心律失常的发生，而窦房结较长时间的缺血对心率的影响如何？目前尚未见系统研究报告。

本研究在成功制作在体兔窦房结缺血再灌注模型的基础上，较系统地观察了不同缺血时间对窦房结细胞电生理功能的影响，结果发现有67.5%的兔于缺血5 min内即可见AA间期明显延长，表明窦房结缺血可引起窦房结细胞自律性降低，从而使AA间期延长，心率减慢。本研究尚观察到在结扎右冠状动脉后，有63.75%的兔子出现窦性停搏、窦缓伴不齐、房性心动过速或心房颤动，且绝大多数于缺血30 min内出现，上述心律失常的发生可能与窦房结细胞急性缺血后自律性降低及邻近区域心房肌细胞缺血后心电不稳定性增加有关。

综上所述，在体兔窦房结缺血后所发生的心律失常及AA间期延长现象，与临床所见的病窦综合征表现相似，表明窦房结细胞的缺血性损伤可能是导致窦房结功能障碍的原因之一，而防治窦房结组织缺血性损伤，则有望减少病窦综合征的发生。

3.3 缺血再灌注对在体兔窦房结电生理功能的影响

心肌是发生缺血再灌注损伤的最常见组织之一，近年来有关心肌缺血再灌注损伤的研究较多，其机制也逐渐被阐明[6,7]。认为缺血再灌注损伤与细胞内钙超载及氧自由基生成增加有关[6~9]。缺血再灌注损伤的轻重，与缺血时间长短密切相关。窦房结细胞作为一种特殊分化的心肌细胞，推测其缺血再灌注时也将发生再灌注损伤，但缺血再灌注对在体兔窦房结电生理功能的影响如何？尚未见文献报道。本研究通过对不同时间缺血后再灌注时兔心脏AA间期的变化及心律失常发生与演变情况的观察发现：缺血时间在30 min内的兔子，再灌注后AA间期迅速缩短；而缺血时间在60 min以上的兔子，其AA间期虽于再灌注初期明显缩短，但随再灌注时间的延长，AA间期再次出现延长；缺血时间在30 min以上的兔子，有3只发生新的心律失常，表明随缺血时间的延长再灌注后，其再灌注损伤越重。此外，缺血期发生窦性及房性心律失常的26只兔子中，有15只于再灌注20 min内恢复正常，表明及时开通闭塞的血管进行再灌注有利于急性缺血所致的心律失常的恢复；而另11只兔子虽经4 h再灌注，仍表现为不同程度的窦性或房性心律失常，此可能与这些兔子缺血时间过长有关。故认为，当窦房结组织遭受急性缺血时，应尽早开通血管、恢复血供，同时采取相应的抗氧化及清除氧自由基的措施，以保护窦房结细胞功能。

参考文献：

[1] Sow M L, Ndoye J M, Lo E A. The artery of the sinuatrial node: anatomic considerations based on 45 injection-dissections of the heart[J]. Surg Radiol Anat, 1996, 18(2): 103-109.

[2] 李永华，宋治远. 缺血再灌注对在体兔窦房结细胞形态结构影响的研究[J]. 第三军医大学学报，2003, 25(8): 676-679.

[3] DiDiO L J A, Lopes A C, Caetano AC, *et al*. Variations of the origin of the artery of the sinoatrial node in normal human hearts[J]. Surg Radiol Anat, 1995, 17(1): 19-26.

[4] 南开大学实验动物解剖学编学组. 实验动物解剖学[M]. 北京：人民教育出版社，1980. 23-27.

[5] Alter W A, Hawkins, R N, Evans D E. Etiology of the negative chronotropic responses to transient coronary artery occlusion in the anesthetized rhesus monkey[J]. Circulation, 1978, 57(4): 756-762.

[6] Wang L X, Ideishi M, Yahiro E, *et al*. Mechanism of the cardioprotective effect of inhibition of the renin-angiotensin system on ischemia/reperfusion-induced myocardial injury[J]. Hypertens Res, 2001, 24(2): 179-187.

[7] Yue T L, Chen J, Bao W, *et al*. *In vivo* myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone[J]. Circulation, 2001, 104(21): 2588-2594.

[8] Paradies G, Petrosillo G, Pistolese M, *et al*. Lipid peroxidation and alterations to oxidative metabolism in mitochondria isolated from rat heart subjected to ischemia and reperfusion[J]. Free Radic Biol Med, 1999, 27(1-2): 42-50.

[9] Flitter W D, Siompson P J, Iuccheei B R, *et al*. Free radical and myocardial reperfusion injury[J]. Br Med Bull, 1994, 49(9): 545-554.

（编辑 陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net