

部,结果发现,低剂量组的肿瘤内部温度升温至41.3℃左右,没有明显的抑瘤效果,而中、高剂量组的温度均升高至42.0℃以上,抑瘤效果明显,高剂量组的抑瘤效果较中剂量组明显($P < 0.05$)。与上述报道基本一致,证实了磁流体热疗的可操作性。

研究表明,热疗可以诱导肿瘤细胞凋亡,导致坏死,在42.0~46.0℃条件下,肿瘤细胞已凋亡为主,在46.0℃以上的条件下,高温可以直接导致肿瘤细胞坏死^[5]。我们通过光镜观察,中、高剂量组肿瘤细胞加热后大量出现凝固性坏死的征象,表现为嗜酸性增强,正常细胞结构消失,核碎裂、溶解;在坏死的一些区域偶可见出血灶,表现为坏死肿瘤细胞周围大量的红细胞分布,血管破裂;磁流体分布于凋亡和坏死的区域中。电镜观察中剂量组肿瘤细胞呈典型的凋亡样改变,表现为染色质边集、胞质空泡化、细胞核裂解,在高剂量组,细胞核呈现溶解,正常细胞结构消失,呈坏死表现。证实磁流体热疗可以诱导肺癌细胞凋亡,在高温时直接导致肺癌细胞坏死。

但磁流体热疗对肿瘤的具体作用机制目前还有争议,翟羽等^[6]研究发现,磁流体热疗后实验组肿瘤的细胞的凋亡无明显增加,诱导凋亡不是抑制移植瘤生长的主要原因,可能与研究的条件、肿瘤的属性等因素有关。

总之,我们的结果证实磁流体热疗对肺癌裸鼠移植瘤具有明显抑制作用,热疗后肺癌细胞呈现凋亡和坏死样改变,在有效温度范围的抑瘤效果与温度呈剂量-效果依赖关系。将为磁流体热疗在肺癌领域的进一步深入研究打下良好的基础。

参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, *et al.* Global cancer statistics[J]. *Ca Cancer J Clin*, 2005, 55:74-108
- 2 Samanta B, Yan H, Fischer NO, *et al.* Protein-passivated Fe₃O₄ nanoparticles; low toxicity and rapid heating for thermal therapy[J]. *J Mater Chem*, 2008, 18(11): 1204-1208
- 3 Tseng HY, Lee GB, Lee CY, *et al.* Localised heating of tumours utilising injectable magnetic nanoparticles for hyperthermia cancer therapy[J]. *IET Nanobiotechnol*, 2009, 3(2): 46-54
- 4 Ivkov R, DeNardo SJ, Daum W, *et al.* Application of high amplitude alternating magnetic fields for heat induction of nanoparticles localized in cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(19 Pt 2): 7093-7103
- 5 Shellman YG, Howe WR, Miller LA, *et al.* Hyperthermia induces endoplasmic reticulum-mediated apoptosis in melanoma and non-melanoma skin cancer cells[J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(4): 949-956
- 6 翟羽,谢弘,古宏晨. 葡聚糖磁流体热处理对小鼠 H22 移植瘤生长的影响及机制初探[J]. *肿瘤防治研究*, 2006, 33(3): 141-144

(收稿:2011-03-16)

(修回:2011-04-01)

动脉压力感受性反射对兔室性心律失常心外膜单相动作电位的影响

张洁 李想 黄涛 但家祥 袁琳佳

摘要 目的 探讨动脉压力感受性反射(ABR)对兔缺血性室性心律失常时心外膜单相动作电位(MAP)的影响。方法 采用闭胸记录兔心外膜 MAP 和心电图的技术,观察心肌缺血背景下致心律失常前后各组 MAP 参数的变化。结果 在去窦弓神经组($n=10$),与缺血前相比,心率(HR)减慢,心外膜振幅(MAPA)降低,0相最大上升速率(V_{max})减慢,MAPD₅₀和 MAPD₉₀缩短($P < 0.05$),与单纯缺血组($n=10$)相比,HR 加快,MAPA 增加($P < 0.05$),而 V_{max} 、MAPD₅₀和 MAPD₉₀无明显变化;在美托洛尔组($n=9$),用美托洛尔预处理后,与缺血前相比,HR 减慢、心外膜 MAPA 降低、 V_{max} 减慢($P < 0.05$),而 MAPD₅₀和 MAPD₉₀无明显变化;与单纯缺血组相比,心外膜 MAPA 增加、MAPD₅₀和 MAPD₉₀延长($P < 0.05$),而 HR 和 V_{max} 无明显变化。结论 ABR 可影响缺血性室性心律失常心外膜 MAP 改变程度,可能参与缺血性室性心律失常的发生发展过程。

关键词 动脉压力感受性反射 室性心律失常 心外膜 单相动作电位

基金项目:四川省教育厅课题(2006C050)

作者单位:610083 成都医学院生理学教研室(张洁、黄涛);临床医学系(李想、但家祥、袁琳佳)

通讯作者:张洁,电子信箱:zhangjiefa8888@126.com

Effects of Arterial Baroreflex on Epicardial Monophasic Action Potential in Ventricular Arrhythmia in Rabbits. Zhang Jie, Li Xiang, Huang Tao, et al. Department of Physiology, Chengdu Medical College, Sichuan 610083, China

Abstract Objective To investigate the effects of arterial baroreflex (ABR) on epicardial monophasic action potential (MAP) in ventricular arrhythmia in rabbits. **Methods** The changes of the MAP parameters following myocardial ischemia were observed with the technique for simultaneously recording the epicardial MAP and surface electrocardiogram in rabbits in situ. **Results** In the sinoaortic denervation (SAD) group ($n = 10$), the heart rate (HR), amplitude (MAPA) and maximum of depolarization velocity of the zero phase ($V_{\max}$) of MAP decreased, MAP duration including MAPD_{50} and MAPD_{90} shortened ($P < 0.05$) after ischemia, compared with those at the baseline; whereas compared with the ischemic group ($n = 10$), HR and MAPA increased ($P < 0.05$), $V_{\max}$, MAPD_{50} and MAPD_{90} didn't change. In the metoprolol group, after ischemia, compared with the baseline, HR, MAPA and $V_{\max}$ decreased ($P < 0.05$), MAPD_{50} and MAPD_{90} didn't change; whereas compared with the ischemic group, MAPA increased, MAPD_{50} and MAPD_{90} was prolonged ($P < 0.05$), HR and $V_{\max}$ didn't change. **Conclusion** ABR could affect the changes of MAP in ventricular arrhythmia induced by ischemia, and then participated in the ventricular arrhythmogenesis.

Key words Arterial baroreflex; Ventricular arrhythmia; Epicardium; Monophasic action potential

动脉压力感受性反射 (arterial baroreflex, ABR) 是调节心血管活动最重要的机制之一,对于维持心血管系统的相对稳定性起重要作用^[1]。心肌缺血时,心泵功能降低,心排出量减少,血压降低,对颈动脉窦及主动脉弓压力感受器的牵张减弱,相应的传入神经即窦神经和减压神经传入冲动频率降低,压力感受性反射减弱,心交感神经活动增强,心迷走神经活动减弱,心交感神经活动占优势, β_1 受体兴奋过强,心肌耗氧量增加,加重心肌缺血,诱发严重室性心律失常。据此,我们推测压力感受性反射参与了缺血性心律失常的发生和发展过程。为验证这一假设,本研究采用冯志强等^[2,3]设计的闭胸在体记录兔心外膜心肌单相动作电位 (monophasic action potential, MAP) 方法,通过去窦弓神经 (sinoaortic denervation, SAD) 手术将 ABR 的反射弧切断并应用选择性 β_1 受体阻滞剂美托洛尔,观察缺血性室性心律失常心外膜 MAP 的变化,初步探讨 ABR 在缺血性心律失常中的可能作用。

材料与方法

1. 实验动物:29 只家兔 (四川大学华西实验动物中心提供),体重 1.5 ± 0.5 kg,雌雄不拘,随机分为单纯缺血组、SAD 组和美托洛尔组。

2. 药品:神经垂体注射液 (蚌埠市宏业生化制药厂,产品批号 070402);盐酸肾上腺素注射液 (重庆迪康长江制药有限公司,产品批号 070305);美托洛尔 (Vetter Pharma - Fertigung GmbH & Co KG,产品批号 HG141)。

3. 闭胸记录心外膜 MAP 和心电图的方法:用 20% 乌拉坦 (1.0 g/kg) 经耳缘静脉麻醉家兔,行气管插管,用带弹性装置的心外膜引导电极 (成都仪器厂) 经胸骨左缘第 3 或 4 肋间隙胸壁垂直插入纵隔触及心脏搏动,在心包壁层记录心外膜下心肌细胞群 MAP;针形电极插入兔四肢皮下,记录兔标准 II 导联心电图 (ECG),将 MAP 和 ECG 信号输入 BL-420E⁺ 生物

信号采集和处理系统 (成都泰盟科技有限公司) 进行记录和处理 (时间常数 $\tau = 0.1$ s,滤波 $F = 100$ Hz),经右股动脉插管,同步监测血压的变化。在稳定记录 MAP 5 min 作为前对照后开始实验。

4. 用药方法:①单纯缺血组:注入生理盐水 2 ml/kg 10 min 后,再用神经垂体素静脉注射 (4 U/kg, 15 s 内完成),5 min 后再注射盐酸肾上腺素 (0.1 mg/kg, 15 s 内完成),持续记录各观察指标 30 min;②SAD 组:行 SAD 手术,即暴露颈动脉窦区,分离、结扎并切断双侧窦神经及其分支,剥离颈动脉窦外膜,并用 1% 普鲁卡因生理盐水浸泡的棉球包绕颈动脉窦,切断双侧减压神经,SAD 术后 10 min 开始用神经垂体素,方法同单纯缺血组;美托洛尔组:静脉注射美托洛尔 [用生理盐水稀释为 (0.2 mg $\cdot$ 2 ml)/kg, 2 min 内完成] 后 10 min,开始用神经垂体素,方法同单纯缺血组。

5. 观察指标:MAP 指标:① MAP 振幅 (MAPA, mV);② MAP 的 0 相最大上升速率 ($V_{\max}$, mV/s);③ MAP 时程 (MAPD, ms):MAP 复极 50 的时程 (MAPD_{50}) 和 MAP 复极 90 的时程 (MAPD_{90})。ECG 指标:①心率 (HR, 次/分);②心律失常发生率、类型等。

6. 统计学方法:统计处理采用 SPSS13.0 统计软件。所有数据均以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组内数据采用配对 t 检验;组间数据采用单因素方差分析,两组间比较采用的是心律失常时各观察指标相对于前对照的变化值,即用处理后数据 - 该组前对照数据;心律失常发生率用卡方检验。 $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

结 果

1. 心律失常发生率及持续时间:在单纯缺血组,10 只家兔均出现心律失常,8 例频发室性期前收缩,6 例出现室性心动过速,3 例最终因心室纤颤死亡;心律失常持续时间长。在 SAD 组,室性心律失常发生率与单纯缺血组相比无显著差异 ($P > 0.05$),10 只家兔中 9 例出现心律失常,6 例频发室性期前收缩,6 例

室性心动过速,1例最终因心室纤颤死亡。美托洛尔组室性心律失常发生率较单纯缺血组减少($P < 0.05$),9只家兔仅5例出现频发室性期前收缩,1例

出现阵发性室性心动过速,且持续时间短,很快基本恢复至正常 MAP 形态。3组心律失常的类型及时程见表1。

表1 单纯缺血组、SAD 组和美托洛尔组的心律失常发生率及时程

组别	频发室性期前收缩		室性心动过速		心室纤颤		心律失常发生率(%)
	动物数(<i>n</i>)	时程(min)	动物数(<i>n</i>)	时程(min)	动物数(<i>n</i>)	时程(min)	
缺血组(<i>n</i> = 10)	8	2.55	6	1.98	3	1.57	100
SAD 组(<i>n</i> = 10)	6	2.02	6	0.52	1	1.50	90
美托洛尔组(<i>n</i> = 9)	5	0.78	1	0.10	0	0	56*

与缺血组比较,* $P < 0.05$

2. 去窦弓神经对心外膜 MAP 的影响:在单纯缺血组,与缺血前相比,发生室性心律失常时,HR 减慢($P < 0.05$);MAPA 降低($P < 0.05$); $V_{\max}$ 减慢($P < 0.05$);MAPD₅₀ 和 MAPD₉₀ 均缩短($P < 0.05$);而 MAPD₅₀/MAPD₉₀ 无明显变化($P > 0.05$)(表2)。

在 SAD 组,去窦弓神经 10min 后,再用垂体后叶素和肾上腺素诱导缺血性心律失常,与缺血前相比,HR 减慢($P < 0.05$);MAPA 降低($P < 0.05$); $V_{\max}$

减慢($P < 0.05$);MAPD₅₀ 和 MAPD₉₀ 均缩短($P < 0.05$);而 MAPD₅₀/MAPD₉₀ 无明显变化($P > 0.05$)(表2)。将心律失常时各观察指标相对于前对照的变化值进行组间比较,SAD 组与单纯缺血组相比,HR 和 MAPA 有显著差异($P < 0.05$);而 $V_{\max}$ 、MAPD₅₀、MAPD₉₀ 和 MAPD₅₀/MAPD₉₀ 无明显变化($P > 0.05$)(表2)。

表2 单纯缺血组、SAD 组和美托洛尔组心律失常前后心外膜 MAP 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	HR (次/分)	MAPA (mV)	$V_{\max}$ (mV/s)	MAPD ₅₀ (ms)	MAPD ₉₀ (ms)	MAPD ₅₀ /MAPD ₉₀
缺血组(<i>n</i> = 10)	缺血前	268.50 ± 26.59	11.54 ± 1.39	1207.90 ± 118.57	84.71 ± 6.65	113.37 ± 8.65	0.75 ± 0.02
	缺血后	176.80 ± 47.45*	5.94 ± 1.50*	731.33 ± 278.21*	65.63 ± 11.97*	90.36 ± 15.40*	0.73 ± 0.04
	变化值	-91.70 ± 50.00	-5.60 ± 1.38	-477.77 ± 317.15	-19.08 ± 12.63	-23.01 ± 16.84	-0.02 ± 0.05
SAD 组(<i>n</i> = 10)	缺血前	259.10 ± 29.74	11.46 ± 2.03	1222.69 ± 229.78	90.98 ± 15.49	122.20 ± 16.90	0.74 ± 0.04
	缺血后	211.50 ± 35.26*	8.03 ± 2.42*	913.00 ± 236.94*	76.86 ± 17.16*	103.77 ± 22.61*	0.75 ± 0.04
	变化值	-47.6 ± 43.05 [#]	-3.43 ± 1.37 [#]	-309.69 ± 240.08	-14.01 ± 8.90	-18.43 ± 11.50	0.01 ± 0.02
美托洛尔组(<i>n</i> = 9)	缺血前	280.33 ± 42.36	12.00 ± 1.56	1252.98 ± 73.34	86.33 ± 9.52	117.83 ± 8.77	0.73 ± 0.03
	缺血后	185.11 ± 38.57*	8.47 ± 1.86*	859.58 ± 239.36*	82.81 ± 13.16	114.38 ± 15.36	0.72 ± 0.07
	变化值	-95.22 ± 41.30 [△]	-3.53 ± 2.26 [#]	-393.40 ± 231.20	-3.52 ± 10.60 ^{#△}	-3.45 ± 13.88 ^{#△}	-0.01 ± 0.05

与同组缺血前对照比较,* $P < 0.05$;与缺血组比较,[#] $P < 0.05$;与 SAD 组比较,[△] $P < 0.05$

3. 美托洛尔对心外膜 MAP 的影响:在美托洛尔组,用美托洛尔预处理 10min 后,再用垂体后叶素和肾上腺素诱导缺血性心律失常,与缺血前相比,HR 减慢($P < 0.05$);MAPA 降低($P < 0.05$); $V_{\max}$ 减慢($P < 0.05$);而 MAPD₅₀、MAPD₉₀ 和 MAPD₅₀/MAPD₉₀ 均无明显变化($P > 0.05$)(表2)。美托洛尔组与单纯缺血组相比,MAPA、MAPD₅₀ 和 MAPD₉₀ 有显著差异($P < 0.05$);而 HR、 $V_{\max}$ 和 MAPD₅₀/MAPD₉₀ 无明显变化($P > 0.05$)。美托洛尔组与 SAD 组相比,HR、MAPD₅₀ 和 MAPD₉₀ 有显著差异($P < 0.05$);而 MAPA、 $V_{\max}$ 和 MAPD₅₀/MAPD₉₀ 无明显变化($P > 0.05$)(表2)。

讨 论

MAP 具有同单个心肌细胞跨膜动作电位一致的形态和时限,能较准确地反映心肌的除极和复极过程^[4,5]。传统记录心外膜 MAP 的方法是在开胸条件下进行的,冯志强等^[2]建立了保持家兔处于闭胸状态记录 MAP 的技术,闭胸状态记录具有近乎无创的特点,在记录过程中,心脏处于原位活动,动物处于自然呼吸,由于动物的生理状态得以保持,故记录的 MAP 波形稳定不失真。本实验采用闭胸记录心外膜 MAP 的技术,结合体表心电图指标,用垂体后叶素引起心肌缺血,在此背景下,再用肾上腺素诱发心律失常,观察 ABR 对缺血性心律失常心外膜 MAP 的影响。

结果显示,切断 ABR 的反射弧能影响缺血性心律失常失常心外膜 MAP 的变化。在 SAD 组,用手术的方法将主动脉弓和颈动脉窦的传入神经去除,从而切断 ABR 的反射弧,结果显示,HR 减慢,心外膜 MAPA 降低, $V_{\max}$ 减慢, $MAPD_{50}$ 和 $MAPD_{90}$ 缩短,与单纯缺血组相比,HR 加快,MAPA 增加,而 $V_{\max}$ 、 $MAPD_{50}$ 和 $MAPD_{90}$ 无显著变化。以上结果提示,ABR 可影响缺血性室性心律失常失常心外膜 MAP 改变程度,可能参与缺血性室性心律失常的发生发展过程。ABR 对维持机体动脉血压的稳定性起重要作用,心肌缺血时,心泵功能降低,心排出量减少,血压降低,对颈动脉窦及主动脉弓压力感受器的牵张减弱,ABR 减弱,心交感神经活动增强,心迷走神经活动减弱,心交感神经活动占优势, β_1 受体兴奋过强,心肌耗氧量增加,加重心肌缺血,诱发严重室性心律失常。为了进一步证实心肌缺血时 ABR 活动减弱所致的心交感神经活动增强,与缺血性心律失常的形成有关,在实验中我们应用选择性 β_1 受体阻滞剂美托洛尔阻断心肌细胞膜上的 β_1 受体,观察缺血性心律失常发生率和心外膜 MAP 的改变,结果显示,HR 减慢,心外膜 MAPA 降低, $V_{\max}$ 减慢,而 $MAPD_{50}$ 和 $MAPD_{90}$ 无明显变化;与单纯缺血组相比,室性心律失常发生率降低,心外膜 MAPA 增加, $MAPD_{50}$ 和 $MAPD_{90}$ 延长,而 HR 和 $V_{\max}$ 无明显变化。以上结果进一步证实 ABR 可能参与了缺血性室性心律失常的发生发展过程。

临床上用 β 受体阻断剂能有效预防急性心肌梗死时严重室性心律失常发生和猝死的大规模临床实践,也有力证明了心肌缺血时 ABR 活动减弱及其所致的心交感神经活动增强,在严重缺血性室性心律失常发生中起着重要作用。临床研究显示,急性心肌梗死早期静脉注射美托洛尔可明显减少室性心动过速、心室纤颤、严重房室传导阻滞的发生,而室性心动过速、心室颤动是引起急性心肌梗死后心脏性猝死的主要原因之一^[6,7]。在我们的实验中也观察到,用美托洛尔预处理后,家兔缺血性心律失常发生率明显降低,心动过速的发生率由单纯缺血组的 60% 降低至 11%,且持续时间短,而心室纤颤发生率由单纯缺血组的 30% 降低至 0。在实验中我们还观察到美托洛尔能削弱心肌缺血对 MAP 时程的影响,与缺血前相比, $MAPD_{50}$ 和 $MAPD_{90}$ 均无明显变化,与单纯缺血组相比,二者均延长,说明美托洛尔能对抗心肌缺血缩短 MAPD 的作用。有文献报道美托洛尔可抑制心肌细胞瞬时外向钾电流 (I_{to})^[8], I_{to} 是心室肌动作电位的主要

外向复极电流,抑制 I_{to} 可使动作电位时程延长,减小缺血区心肌细胞复极离散度,抑制折返形成^[9]。余更生等^[10]报道,美托洛尔对家兔在体心脏早期后除极有抑制作用。因此,美托洛尔可通过抑制折返及早期后除极等途径,发挥抗缺血性心律失常作用。在实验中,我们还观察到,SAD 处理和美托洛尔对缺血性心律失常心外膜 MAP 影响程度不同,如与缺血前相比,SAD 组 $MAPD_{50}$ 和 $MAPD_{90}$ 均缩短,而美托洛尔组 $MAPD_{50}$ 和 $MAPD_{90}$ 均无明显变化,美托洛尔组与 SAD 组相比, $MAPD_{50}$ 和 $MAPD_{90}$ 延长,这种差异可能与实验中应用了肾上腺素诱发心律失常有关,在 SAD 组虽然去除窦弓神经,切断 ABR 的作用,但肾上腺素的拟交感作用,实际上并未完全消除 ABR 反射弧中传出神经的效应。

综上所述,ABR 可影响缺血性室性心律失常心外膜 MAP 改变程度,可能参与了缺血性心律失常的发生和发展过程。

参考文献

- 1 Sabbah HN, Gupta RC, Imai M, *et al.* Chronic electrical stimulation of the carotid sinus baroreflex improves left ventricular function and promotes reversal of ventricular remodeling in dogs with advanced heart failure [J]. *Circ Heart Fail*, 2011, 4(1): 65-70
- 2 冯志强,余微,刘先泽,等. 家兔心外膜心肌单相动作电位动态研究技术[J]. *中国药理学通报*, 1991, 7(4): 314-316
- 3 肖业伟,何光风,刘紫全,等. 丹参注射液对兔室性心律失常心外膜单相动作电位的影响[J]. *时珍国医国药*, 2009, 20(10): 2512-2513
- 4 Donaldson RM, Nashat FS, Noble D, *et al.* Differential effects of ischaemia and hyperkalaemia on myocardial repolarization and conduction times in the dog [J]. *J Physiol*, 1984, 353(8): 393-403
- 5 Yu Z, Huang CX, Wang SY, *et al.* Thyroid hormone predisposes rabbits to atrial arrhythmias by shortening monophasic action period and effective refractory period: results from an in vivo study [J]. *J Endocrinol Invest*, 2009, 32(3): 253-257
- 6 王希柱,宋月霞. 美托洛尔治疗急性心肌梗死的临床研究[J]. *中国药房*, 2005, 16(18): 1408-1410
- 7 于涛,郭牧,薛朝阳,等. 美托洛尔在急性心肌梗死中的应用[J]. *重庆医科大学学报*, 2007, 32(10): 1114-1117
- 8 Barrington PL, Ten Eick RE. Characterization of the electrophysiological effects of metoprolol on isolated feline ventricular myocytes [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1990, 252(3): 1043-1052
- 9 Lukas A, Antzelevitch C. Differences in the electrophysiological response of canine ventricular epicardium and endocardium to ischemia: role of the transient outward current [J]. *Circulation*, 1993, 88(6): 2903-2915
- 10 余更生,孙尧,李万镇,等. 美托洛尔对家兔在体心脏早期后除极的电生理作用[J]. *临床心血管病杂志*, 2001, 17(4): 173-174

(收稿:2011-04-27)

(修回:2011-09-06)