

左侧星状神经节化学消融对犬急性心肌梗死后室性心律失常的影响

谢 轲 周明敏 何 燕 李棣文 刘 育

摘要 **目的** 观察左侧星状神经节(LSG)内微量注射树脂胶毒素(RTX)对犬急性心肌梗死(AMI)后室性心律失常(VAs)的影响。**方法** 28只成年雄性比格犬随机分成对照组(8只)、AMI组(11只)和LSG化学消融组(RTX组,9只)。RTX组犬LSG内微量注射RTX,AMI组和对照组LSG内微量注射不含RTX的溶剂。微量注射RTX或溶剂1h后,RTX组和AMI组通过结扎冠状动脉左前降支建立AMI模型,对照组只分离穿线,不结扎冠状动脉。记录结扎冠状动脉后1hVAs发生情况,随后测量心室有效不应期(ERP)和动作电位时程(APD),对照组于相应时间点测量。通过不同的电压刺激LSG观察犬血压变化来评估LSG功能。**结果** LSG内注射RTX可显著抑制AMI后VAs发生。与对照组比较,RTX微量注射显著延长心室ERP和APD。与对照组比较,AMI增加LSG神经功能,降低左心室缺血区域的ERP和APD,增加ERP离散度及APD离散度,而LSG内注射RTX可抑制这些变化。**结论** LSG内微量注射RTX化学消融LSG中表达TRPV-1/TH的交感神经纤维能显著抑制LSG功能,改善AMI后心脏电生理不稳定性,以减少AMI后VAs。

关键词 急性心肌梗死 室性心律失常 左侧星状神经节 自主神经干预

中图分类号 R541 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.08.008

Effect of Chemical Ablation of Left Stellate Ganglion on Ventricular Arrhythmias after Acute Myocardial Infarction in Dogs. Xie Ke, Zhou Mingmin, He Yan, et al. Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Cardiovascular Research Institute of Wuhan University, Hubei Key Laboratory of Cardiology, Hubei 430060, China

Abstract Objective To observe the effect of microinjection of resineratoxin (RTX) in left stellate ganglion (LSG) on ventricular arrhythmia (VAs) after acute myocardial infarction (AMI) in dogs. **Methods** Twenty-eight anesthetized beagles were assigned to the control group ($n=8$), AMI group ($n=11$) and left stellate ganglion (LSG) chemical ablation group (RTX group, $n=9$) in a random manner. The LSG of the RTX group was given a micro injection of RTX, while the AMI group and control group were given a micro injection of LSG without RTX. After the micro injection for 1 hour, the RTX group and AMI group established AMI models by ligating the left anterior descending branch of the coronary artery, while the control group only separated and threaded the coronary artery without ligation. VAs were analyzed by continuous ECG recorded for 1 hour; Subsequently, measures of ventricular effective refractory(ERP), monophasic action potentials (MAP) and action potential duration (APD) were assessed. The control group was detected at corresponding time points. LSG function was evaluated by stimulating the LSG at different voltages and observing the changes in blood pressure. **Results** RTX injection into LSG can significantly inhibit the AMI-induced VAs. Compared with control group, RTX extended the ventricular ERP and APD. Compared with control group, AMI enhances the LSG function, reduce the ischemia area of ERP and the APD, increase ERP dispersion and APD dispersion, while RTX injection in LSG inhibited these changes. **Conclusion** Chemical ablation of TRPV-1/TH positive sympathetic neurons induced by RTX LSG microinjection could suppress LSG function and improve cardiac electrophysiology instability to protect against AMI-induced VAs.

Key words Acute myocardial infarction; Ventricular arrhythmias; Left stellate ganglion; Autonomic nerves intervention

心脏性猝死(SCD)是心血管疾病所致死亡的主要原因之一,其常由急性心肌梗死(AMI)后恶性室性心律失常(VAs)所致。心脏交感神经的激活被认为

是AMI后恶性VAs的重要因素之一^[1]。既往研究表明,左侧星状神经节(LSG)干预(例如外科手术切除、化学物质损毁和局部神经阻滞等)抑制交感神经活性是预防AMI后恶性VAs发生的措施之一^[2,3]。瞬时电位感受器香草酸受体1(TRPV-1)是一种于神经组织中广泛表达的非选择性阳离子通道,既往研究发现TRPV-1在中枢神经组织中与酪氨酸羟化酶

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81570459)

作者单位:430060 武汉大学人民医院心内科、武汉大学心血管病研究所、心血管病湖北省重点实验室

通讯作者:刘育,副教授,电子信箱:liuyu1983@whu.edu.cn

(TH)阳性神经元存在广泛共表达^[4]。树胶脂毒素(RTX)能选择性损毁 TRPV-1 阳性的神经元,而不损伤周围,TRPV-1 阴性的神经元^[5,6]。因此,本研究旨在通过 RTX 微量注射化学损毁 LSG 中 TRPV/TH 阳性的交感神经元,探讨其对 AMI 后 VAs 发生和心脏电生理特性的影响。

材料与方 法

1. 实验动物及分组:本研究通过武汉大学人民医院医学伦理学委员会的批准(WSRM20171224)。健康成年雄性比格犬 28 只(体质量为 9.5~11.0kg),购自北京玛斯生物技术有限公司并饲养于武汉大学人民医院动物中心。采用随机数字表法将 28 只犬随机分为 3 组:假手术组(8 只)、AMI 组(11 只)和 RTX 组(9 只)。实验犬使用 3% 戊巴比妥缓慢注入前肢浅静脉麻醉,随即气管插管,接大动物呼吸机(MAO01746,美国 Harvard Apparatus 公司)正压机械通气,肢体导联心电图(ECG)持续监测。每小时未添加 2mg/kg 戊巴比妥钠作为手术期间的维持剂量,并通过检查角膜反射来评估麻醉深度,所有手术操作均在麻醉状态下进行。通过股静脉鞘管向实验动物持续滴注 0.9% 氯化钠溶液(50~70ml/h)以补充体液丢失。犬的体温通过加热垫维持在 $36.5 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ 。左侧第二和第四肋间开胸,剪开心包缝制心包吊桥,操作过程中避免动物的肺部损伤并保证其湿润。通过右侧股动脉连接压力换能器持续监测血压。所有心电信号和血压信号均通过 Lead-7000 多导电生理仪系统(四川锦江电子公司)实时采集监测。

2. 模型的建立:预先将 1mg RTX(美国 Sigma 公司)溶于 0.1ml DMSO(美国 Sigma 公司)中,配成 10mg/ml 的储存液。根据预实验的结果,使用前用等渗 0.9% 氯化钠溶液稀释至最终浓度(250 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。第 2 肋间开胸后,寻找并分离 LSG,在直视下将总量为 0.1ml 的 RTX 多点注射至 LSG 中。对照组和 AMI 组犬微量注射不含 RTX 的溶剂。AMI 组(溶剂注射后 60min)和 RTX 组(RTX 注射后 60min)通过分离犬冠状动脉左前降支并于第 1 对角支以下结扎的方式建立 AMI 模型。通过观察 ECG ST-T 及心肌颜色的变化来确认 AMI 模型建立成功。对照组只分离穿线,不结扎冠状动脉。

3. VAs 的观察:由多导电生理仪系统连续记录 AMI 后 1h 内 VAs 发生情况,对照组记录分离冠状动脉后 1h 的 ECG 改变。并将 VAs 分为室性期前收缩(VPB),室性心动过速(VT, ≥ 3 个连续 VPB)和心室

颤动(VF)等 3 种类型进行分析。

4. LSG 功能评估:冠状动脉结扎后 1h,在 LSG 不同部位发放高频电刺激进行试探性刺激,将刺激时血压升高最明显的部位定义为血压变化最大的位点,在此刺激位点固定刺激银丝,测定不同强度电压刺激(从 2.5V 开始,以 2.5V 逐步递增直至 12.5V,刺激持续时间 30s) LSG 引起的最大收缩压变化百分比(MSBP%),以此评价 LSG 功能。

5. 心脏电生理参数的测量:(1)有效不应期(ERP)及其离散度:将自制电极缝制于左心室表面,记录冠状动脉结扎后 1h 缺血区和非缺血区(对照组于对应时间记录心尖部和心底部)的 ERP。通过程控期前刺激测量缺血区和非缺血区的 ERP,其包括 8 个连续的 S_1 刺激,起搏周长为 300ms,此后再接一个 S_2 刺激。 S_1-S_2 间隔从 250ms 逐渐减少 10ms,当 S_2 不能夺获心室时,从上一个 S_1-S_2 间隔起始以 2ms 递减直到最终无法夺获心室。ERP 定义为未能夺获心室的最长 S_1-S_2 间期。ERP 离散度定义为缺血区和非缺血区 ERP 的标准差/均数。(2)单向动作电位(MAP)的记录及相关分析:将自制刺激电极缝于左心耳上,采用 300ms S_1-S_1 周长固定起搏,用自制针状 Ag-AgCl MAP 记录电极分别记录结扎冠状动脉后 1h 缺血区和非缺血区(对照组于相应时间记录心尖部和心底部)的 MAP,计算 MAP 复极 90% 的时程(MAPD₉₀)。

6. 统计学方法:应用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计分析。通过 Shapiro-Wilk 检验评估数据正态性,符合正态分布的采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析以及 Bonferroni 或 Tamhane's T2 的事后检验;不符合正态分布的采用中位数(四分位数)[M(Q1, Q3)]表示,采用 Kruskal-Wallis H 秩和检验。计数资料采用分数表示,心室颤动发生率的组间比较采用 Fisher 确切概率法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

本研究中,对照组 8 只全部存活。AMI 组 3 只,RTX 组 1 只死于冠状动脉结扎后心室颤动(此 4 只犬仅纳入心室颤动发生率分析),其余犬均完成全部实验。

1.3 组犬 VAs 发生情况比较:冠状动脉结扎后在实验犬 ECG 中均观察到 ST 段变化及 VAs 发生,包括 VPB、VT 及 VF。与对照组比较,AMI 组 VPB、VT 和 VF 发生率及 VT 持续时间显著增加($P < 0.05$)。与 AMI 组比较,RTX 组显著减少 AMI 后 VAs 的发生($P < 0.05$,表 1)。

表 1 3组犬 VAs 发生的比较 [$\bar{x} \pm s, M(Q1, Q3)$]

组别	n	VPB	VT	室速持续时间(s)	VF
对照组	8	1.11 ± 1.21	0	0	0/8
AMI组	11	156.20 ± 45.40*	12(4,40)*	18.54(9.68,72.61)*	3/11*
RTX组	9	48.61 ± 17.80*#	3(1,5)*#	8.37(1.56,18.40)*#	1/9

与对照组比较, *P < 0.05; 与AMI组比较, #P < 0.05

2.3 组犬 LSG 功能的比较: LSG 功能被用于评估交感神经活性。3 组犬 LSG 在不同电压刺激下所诱发的 MSBP% 见表 2。与对照组比较, AMI 组引起

MSBP% 显著增加; 与对照组和 AMI 组比较, RTX 组 RTX 处理显著降低 MSBP% (P < 0.05, 表 2)。

表 2 3组犬 LSG 功能的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	2.5V	5.0V	7.5V	10.0V	12.5V
对照组	8	17.13 ± 3.20	30.66 ± 2.30	41.69 ± 3.57	48.04 ± 2.23	51.60 ± 0.87
AMI组	8	31.75 ± 5.90*	49.42 ± 4.04*	61.62 ± 6.57*	68.90 ± 7.85*	76.82 ± 10.21*
RTX组	8	9.77 ± 3.55*#	18.31 ± 6.87*#	21.93 ± 7.88*#	23.78 ± 6.68*#	24.46 ± 5.95*#

与对照组比较, *P < 0.05; 与AMI组比较, #P < 0.05

3.3 组犬电生理指标的比较: 与对照组比较, AMI 组左心室缺血区 ERP 及 MAPD₉₀ 均显著缩短, ERP 离散度和 MAPD₉₀ 离散度显著增加 (P < 0.05)。与 AMI 组比较, RTX 组 RTX 处理延长左心室缺血区的 ERP

及 MAPD₉₀, 减少 ERP 离散度和 MAPD₉₀ 离散度 (P < 0.05)。与对照组比较, AMI 组非缺血区 ERP 和 MAPD₉₀ 比较差异无统计学意义 (P > 0.05), 而 RTX 组 ERP 和 MAPD₉₀ 显著延长 (P < 0.05, 表 3)。

表 3 3组犬 ERP 及其离散度、MAPD₉₀ 及其离散度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ERP(ms)		离散度	MAPD ₉₀ (ms)		离散度
		缺血区	非缺血区		缺血区	非缺血区	
对照组	8	165.0 ± 8.2	166.0 ± 9.9	1.31 ± 1.11	175.2 ± 8.7	172.2 ± 8.9	0.70 ± 0.56
AMI组	8	137.2 ± 10.0*	161.0 ± 10.4	9.95 ± 3.41*	139.8 ± 10.6*	174.1 ± 9.6	14.72 ± 4.83*
RTX组	8	173.1 ± 13.1*#	176.8 ± 14.6*#	2.66 ± 1.12#	184.8 ± 15.1#	194.5 ± 13.9*#	4.44 ± 2.37*#

与对照组比较, *P < 0.05; 与AMI组比较, #P < 0.05

讨 论

既往研究表明, AMI 后心脏交感神经的过度激活与 VAs 以及 SCD 的发生密切相关, 并且采用抑制交感神经过度激活的自主神经再平衡策略是降低 VAs 的有效措施^[7, 8]。AMI 后交感神经重构不仅表现在梗死周边区域, 在远离心脏的星状神经节也出现神经重塑^[9]。LSG 是心脏交感神经支配心脏的重要位点, 既往研究表明 AMI 促使 LSG 局部神经元电活动增强^[10]。LSG 活性的改变会导致其所支配的受损心肌出现电活动异常, 从而易化 VAs 的发生^[11]。LSG 内微量注射 RTX 作为一种化学神经消融策略, 本实验证实 RTX 化学消融 LSG 中 TRPV-1/TH 阳性的交感神经纤维可有效发挥抗心律失常作用: (1) 相对于 AMI 组, 可以观察到 RTX 注射后 VAs 的发生率显著降低 (表 1)。(2) 既往研究显示 LSG 功能增加与

AMI 后 VAs 的发生密切相关^[12]。本实验中 AMI 组犬 MSBP% 显著增加, 提示 LSG 功能亢进; 而 RTX 组 RTX 注射后显著减小 MSBP%, 抑制了 LSG 功能 (表 2)。其可能机制在于 RTX 抑制 LSG 中交感成分激活, 促进了自主神经的再平衡。(3) 既往研究证实自主神经系统可以影响心脏电生理稳定性, 交感神经激活可缩短 ERP 和 MAPD₉₀, 增大心室复极离散度; 而阻滞交感神经则明显延长 ERP、MAPD₉₀^[13, 14]。

本研究通过 LSG 微量注射 RTX 化学损毁 TRPV-1/TH 阳性的神经纤维, 显著延长 AMI 后 ERP 和 MAPD₉₀ 并减小 ERP 和 MAPD₉₀ 离散度 (表 3)。因此, 可以证明 RTX 处理获得了与交感神经阻滞相同的效果, 即抑制交感神经活性, 从而改善心脏的电不稳定性。综上所述, 笔者可以推测 RTX 通过化学损毁 LSG 中 TRPV-1/TH 阳性的交感神经纤维, 有效抑

制 LSG 功能,从而改善心脏电生理稳定性并减少 AMI 后 VAs 的发生。

AMI 后 VAs 的治疗是目前的研究热点,自主神经调节是 AMI 后 VAs 的治疗选择之一^[15,16]。目前临床上调节自主神经平衡的手段有限,除了 β 受体阻滞剂一类的药物外,并无其他更好的方法。心脏交感神经切除术虽然有确切的效果,但因为容易出现各种并发症,包括血气胸、术后感染及 Horner 综合征等,此外对手术操作者的技术水平要求也很高,所以很少在临床上使用^[17]。既往研究显示,去肾交感神经、迷走神经刺激及心房自主神经节刺激等能有效促进 AMI 后自主神经再平衡,但相关临床研究较少,仍需获取进一步的临床证据^[18-20]。各种去 LSG 的方式包括手术、药物损毁(乙醇等)虽然可减少 MI 后 VAs 的发生,但也存在着一些问题,如 LSG 局部解剖复杂,神经血管丰富且功能关键,易造成不可逆转的损伤。而在本研究中,RTX 是一种有效的 TRPV-1 激动剂,它通过使细胞内的游离钙大量增加,在短时间内诱导钙细胞毒性,快速清除 TRPV-1 阳性神经纤维,从而减少 LSG 中表达 TH 交感神经纤维数量。其他不表达 TRPV-1 的临近神经纤维或细胞将不受影响,包括少量 TRPV-1 阴性 TH 阳性神经纤维和卫星细胞^[6]。此外,笔者采用星状微量注射来减小 RTX 干预出现解剖学脱靶的概率以及对血压和心率的影响,就其特异性、安全性及有效性,RTX 化学消融 LSG 中 TRPV-1/TH 阳性的交感神经纤维为 AMI 后 VAs 的预防及治疗提供了一个新的选择。

本研究存在的不足之处:(1)笔者没有进行 RTX 处理 LSG 前后 TRPV-1/TH 阳性神经元的定量分析,没有得到 RTX 处理后交感神经减少的直接证据。其次,TH 阴性而 TRPV-1 阳性神经纤维的生理作用尚不清楚,这可能需进一步研究。(2)笔者的研究仅限于 RTX 神经节内微量注射对 AMI 模型的短期影响,它对心脏电生理、自主神经系统及心脏重构的长期影响仍需要在未来的研究中得到印证。(3)未评估达到最佳抗心律失常和最小不良反应的 RTX 浓度。

参考文献

- 1 蔺彩霞,曹济民.自主神经对炎症的调控及其与心肌梗死病理和心律失常的关系[J].医学研究杂志,2017,46(6):16-19
- 2 Li CY, Li YG. Cardiac sympathetic nerve sprouting and susceptibility to ventricular arrhythmias after myocardial infarction[J]. *Cardiol Res Pract*, 2015, 2015:698368
- 3 熊亮,黄鹤,刘育,等.心肌梗死后星状神经节重构与室性心律

- 失常的关系[J]. *中华心律失常学杂志*, 2017, 21(2):171-173
- 4 Kim SR, Lee DY, Chung ES, *et al.* Transient receptor potential vanilloid subtype 1 mediates cell death of mesencephalic dopaminergic neurons in vivo and in vitro[J]. *J Neurosci*, 2005, 25(3):662-671
- 5 Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, *et al.* The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway[J]. *Nature*, 1997, 389(6653):816-824
- 6 Olah Z, Szabo T, Karai L, *et al.* Ligand-induced dynamic membrane changes and cell deletion conferred by vanilloid receptor 1[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(14):11021-11030
- 7 Doytchinova A, Patel J, Zhou S, *et al.* Subcutaneous nerve activity and spontaneous ventricular arrhythmias in ambulatory dogs[J]. *Heart Rhythm*, 2015, 12(3):612-620
- 8 Hou Y, Zhou Q, Po SS. Neuromodulation for cardiac arrhythmia[J]. *Heart Rhythm*, 2016, 13(2):584-592
- 9 Ajijola OA, Yagishita D, Reddy NK, *et al.* Remodeling of stellate ganglion neurons after spatially targeted myocardial infarction: neuropeptide and morphologic changes[J]. *Heart Rhythm*, 2015, 12(5):1027-1035
- 10 Nguyen BL, Li H, Fishbein MC, *et al.* Acute myocardial infarction induces bilateral stellate ganglia neural remodeling in rabbits[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2012, 21(3):143-148
- 11 Cao JM, Fishbein MC, Han JB, *et al.* Relationship between regional cardiac hyperinnervation and ventricular arrhythmia[J]. *Circulation*, 2000, 101(16):1960-1969
- 12 Wang M, Li S, Zhou X, *et al.* Increased inflammation promotes ventricular arrhythmia through aggravating left stellate ganglion remodeling in a canine ischemia model[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 248:286-293
- 13 Ng GA, Mantravadi R, Walker WH, *et al.* Sympathetic nerve stimulation produces spatial heterogeneities of action potential restitution[J]. *Heart Rhythm*, 2009, 6(5):696-706
- 14 Gu Y, Wang L, Wang X, *et al.* Assessment of ventricular electrophysiological characteristics at periinfarct zone of postmyocardial infarction in rabbits following stellate ganglion block[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2012, 23(Suppl 1):S29-S35
- 15 Sapp JL, Wells GA, Parkash R, *et al.* Ventricular tachycardia ablation versus escalation of antiarrhythmic drugs[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(2):111-121
- 16 Shivkumar K, Ajijola OA, Anand I, *et al.* Clinical neurocardiology defining the value of neuroscience-based cardiovascular therapeutics[J]. *J Physiol*, 2016, 594(14):3911-3954
- 17 Vaseghi M, Barwad P, Malavassi CF, *et al.* Cardiac sympathetic denervation for refractory ventricular arrhythmias[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 69(25):3070-3080
- 18 Jackson N, Gizurason S, Azam MA, *et al.* Effects of renal artery denervation on ventricular arrhythmias in a postinfarct model[J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2017, 10(3):e4172
- 19 Vaseghi M, Salavatian S, Rajendran PS, *et al.* Parasympathetic dysfunction and antiarrhythmic effect of vagal nerve stimulation following myocardial infarction[J]. *JCI Insight*, 2017, 2(16):86715
- 20 罗达,江洪.心脏神经节丛与心律失常的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(1):5-8

(收稿日期:2020-01-19)

(修回日期:2020-02-18)