

缝隙连接阻滞剂 Heptanol 对心脏血流动力学的影 响

孙 冰 齐向前 宋浩明

【摘要】 目的:观察缝隙连接阻滞剂 Heptanol 对离体 SD 大鼠心脏机械功能及缺血心肌组织的影响。 方法:(1)建立离体 SD 大鼠心脏 Langendorff 灌流模型,灌流含有 Heptanol 的 K-H 灌流液,观察离体 SD 大鼠心脏收缩及舒张功能。(2)结扎左前降支,建立局部心肌缺血模型,观察 Heptanol 对缺血心脏的机械功能的作用。(3)透射电镜观察 Heptanol 对缺血心肌结构的影响。 结果:(1)Heptanol 可以降低正常心脏的左室压力最大上升速率($dp/dt\ max$)和左室收缩峰值(LVSP),对左室舒张末压(LVEDP)没有明显影响。(2)缺血心脏的 LVSP、 $dp/dt\ max$ 下降,LVEDP 上升。Heptanol 对缺血心脏的 LVSP、 $dp/dt\ max$ 、LVEDP 均无明显影响。(3)透射电镜观察可见缺血使心肌组织遭到破坏,Heptanol 可以减轻组织损伤。 结论:(1) Heptanol 可以使正常心脏的收缩功能下降,对舒张功能无明显影响,不会使缺血心脏的机械功能进一步下降。(2) Heptanol 可以减轻由于缺血造成的心肌组织破坏。

【关键词】 Heptanol;心肌缺血;心脏机械功能

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2012.03.013

Effects of gap junction inhibitor Heptanol on cardiac hemodynamics in rats SUN Bing¹, QI Xiang-qian², SONG Hao-ming¹. 1. Department of Cardiology, Tongji Hospital of Tongji University, Shanghai 200065; 2. Department of Cardiology, Taida International Cardiology Hospital, Tianjin, China

【Abstract】 Objective: To observe the effects of gap junction inhibitor Heptanol on hemodynamics and myocardium in isolated SD rat hearts. **Methods:** (1) The Langendorff perfusion model was established. The SD rat heart was perfused with Heptanol. The effects of Heptanol on the systolic and diastolic function were observed. (2) The regional ischemic model was established by ligation of the left anterior descending branch of coronary artery. The effects of Heptanol on hemodynamics of isolated SD rat hearts were observed. (3) The influence of ischemia and Heptanol on myocardium was observed with transmission electron microscopy. **Results:** (1) Heptanol could decrease $dp/dt\ max$ and LVSP, but had no effect on LVEDP in normal heart. (2) Ischemia could decrease LVSP and $dp/dt\ max$ and increase LVEDP. Heptanol had no more influence on the downregulation of the heart function. (3) Transmission electron microscopy revealed that Heptanol could decrease the damage of myocardium induced by ischemia. **Conclusion:** (1) Heptanol could decrease systolic function of the heart, but had

基金项目:上海市卫生局课题(WSJ0707)

作者单位:200065 上海,同济大学附属同济医院心内科(孙冰、宋浩明);300457 天津泰达国际心血管病医院心内科(齐向前)

通信作者:宋浩明,Email: songhao-ming@163.com

no effect on diastolic function. (2) Heptanol could reduce the damage of myocardium induced by ischemia.

【Key words】 Heptanol; Myocardial ischemia; Hemodynamics

缝隙连接是心肌细胞间的重要通道,起到快速交换信息,传播冲动的作用。Heptanol 是一种缝隙连接阻滞剂,能减慢心肌间的电传导速度^[1]。本试验前期研究发现 Heptanol 可以减少缺血性室性心律失常的发生,其机制可能与延长缺血心肌动作电位时程有关^[2]。本试验观察 Heptanol 对于缺血心肌组织学的影响以及对心脏机械功能的作用。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备

建立 Langendorff 离体心脏灌流模型:取 Sprague Dawley (SD) 大鼠 60 只(同济医院实验动物中心),雌雄各半,体质量 250~300 g。用 1% 戊巴比妥钠,按 5 ml/kg 腹腔注射麻醉。迅速取出心脏,置于冰上修剪,再固定于 Langendorff 离体灌流装置(南京美易科技公司),用 95% 的 O₂ 和 5% 的 CO₂ 饱和的改良 Krebs-Henseleit (K-H) 液进行主动脉逆向灌流。改良 K-H 液配方:120.0 mmol/L NaCl, 4.5 mmol/L KCl, 20.0 mmol/L NaHCO₃, 1.25 mmol/L CaCl₂, 1.2 mmol/L KH₂PO₄, 1.2 mmol/L MgCl₂ 和 10.0 mmol/L 葡萄糖。灌流液温度 37℃, pH 值 7.4。试验期间灌流量为 8~10 ml/min, 灌流压维持在 80~100 cmH₂O。

取眼科剪剪开左心耳,经二尖瓣在左心室内置入测压球囊,左心耳剪开处做荷包缝合固定球囊^[3]。球囊导管通过压力换能器与四导生理记录仪相连。调整仪器,使左室舒张末压处于 3~5 mmHg 水平。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 将 SD 大鼠随机分为空白对照组、缺血对照组、0.1 mmol/L Heptanol 组(低 Heptanol 组)、0.3 mmol/L Heptanol 组(中 Heptanol 组)和 0.5 mmol/L Heptanol 组(高 Heptanol 组),每组 12 只。

1.2.2 试验方法 离体心脏用 K-H 液灌流液预灌注 15 min,待心脏活动稳定后,开始实验。按组别灌流相应浓度的灌流液及药物。灌流 15 min 后对除空白对照组外的其他各组结扎冠状动脉左前降支,造成局部心肌缺血,再灌流 30 min,具体可参见文献^[2]。

1.2.3 监测指标 监测左室收缩峰压(LVSP),左室舒张末压(LVEDP),左室压力最大上升速率($dp/dt max$)。记录 0、灌注 15 min、缺血 10 min、缺血 20 min、缺血 30 min 各时间点以上指标的变化。

1.2.4 标本制作 缺血组及各用药组待灌流结束后,采用 1% 伊文思蓝液经主动脉逆行灌注染色,未染成蓝色的为缺血区。对缺血区再行 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色,未染色的为梗死区,染成红色的为缺血区。取缺血区心肌组织以及相同区域的空白对照组心肌组织,用 0~4℃ 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液充分固定 4 h 以上,然后再用 1% 锇酸固定。经乙醇和丙酮脱水、环氧树脂浸透包埋,制作超薄切片,用醋酸双氧铀溶液和柠檬酸溶液染色,通过透射电镜观察缺血心肌细胞超微结构变化。

1.3 统计学分析

组间比较采用重复测量的方差分析,以 $P < 0.05$ 差异有显著性。

2 实验结果

进入 K-H 灌注的实验动物各组均为 12 例,进入缺血过程的动物分别为缺血对照组 11 例、低 Heptanol 组 10 例、中 Heptanol 组 10 例、高 Heptanol 组 9 例。

2.1 血流动力学变化

中、高 Heptanol 组灌注 15 min 时, $dp/dt max$ 与开始时(0 min)相比显著下降,高 Heptanol 组 LVSP 也明显下降($P < 0.05$),而 Heptanol 对正常心肌的 LVEDP 无明显影响。

与空白对照组相比,缺血对照组的 LVSP、 $dp/dt max$ 随缺血时间的延长逐渐下降,LVEDP 明显上升($P < 0.05$)。在心肌缺血过程中,Heptanol 用药各组与缺血对照组相比,LVSP、 $dp/dt max$ 和 LVEDP 均无统计学差异(见表 1)。

2.2 心肌超微结构的变化

透射电镜发现,正常心肌细胞肌原纤维排列整齐,闰盘清晰可见(见图 1)。缺血对照组心肌细胞缺血挛缩带明显,肌纤维局灶性断裂,溶解。线粒体肿大,可见线粒体嵴断裂或有空泡(见图 2)。高

Heptanol 组较缺血对照组细胞损伤情况较轻, 缺血少, 线粒体虽也有肿胀, 但少见嵴断裂和空泡形成, 牵缩带不太明显, 心肌纤维排列有序, 局灶性坏死 (见图 3)。

表 1 血流动力学参数的变化

分组	血流动力学参数	0 min	灌注 15 min	缺血 10 min	缺血 20 min	缺血 30 min
空白对照组	LVSP	45.6 ± 12.3	43.2 ± 10.1	48.6 ± 25.5	50.1 ± 12.5	42.3 ± 8.9
	<i>dp/dt max</i>	2002 ± 446	1903 ± 306	1998 ± 384	1896 ± 285	1776 ± 335
	LVEDP	6.8 ± 2.6	7.0 ± 2.7	7.6 ± 3.3	7.4 ± 2.2	7.1 ± 1.8
缺血对照组	LVSP	41.2 ± 10.7	42.1 ± 11.1	34.9 ± 8.3	33.7 ± 8.6 ⁽¹⁾	32.6 ± 8.8 ⁽¹⁾
	<i>dp/dt max</i>	1794 ± 543	1808 ± 520	1809 ± 278	1119 ± 315 ⁽¹⁾	932 ± 235 ⁽¹⁾
	LVEDP	7.2 ± 3.5	6.8 ± 4.4	10.7 ± 5.2	12.9 ± 4.5 ⁽¹⁾	11.3 ± 7.3 ⁽¹⁾
低 Heptanol 组	LVSP	43.0 ± 3.6	41.3 ± 8.2	39.5 ± 6.9	35.4 ± 3.7	33.6 ± 7.4
	<i>dp/dt max</i>	2072 ± 334	1931 ± 404	1440 ± 278	1252 ± 284	1102 ± 291
	LVEDP	5.9 ± 1.6	6.4 ± 2.1	7.9 ± 5.4	8.9 ± 5.9	8.5 ± 4.3
中 Heptanol 组	LVSP	42.0 ± 10.4	40.2 ± 13.1	32.1 ± 6.9	38.6 ± 8.8	33.3 ± 7.3
	<i>dp/dt max</i>	1763 ± 444	1398 ± 316 ⁽²⁾	1545 ± 386	1043 ± 242	954 ± 172
	LVEDP	6.7 ± 1.9	8.3 ± 2.2	12.9 ± 9.2	10.4 ± 3.1	10.4 ± 3.9
高 Heptanol 组	LVSP	40.2 ± 8.4	35.2 ± 9.2 ⁽²⁾	32.6 ± 9.6	33.9 ± 3.5	30.7 ± 4.3
	<i>dp/dt max</i>	1743 ± 512	1257 ± 460 ⁽²⁾	1537 ± 246	1059 ± 237	879 ± 257
	LVEDP	6.0 ± 2.5	8.1 ± 6.2	6.9 ± 3.5	8.0 ± 2.9	8.9 ± 1.9

注: 与空白对照组相比, ⁽¹⁾ $P < 0.05$; 与本组 0 min 相比, ⁽²⁾ $P < 0.05$ 。LVSP、LVEDP 单位 mmHg, *dp/dt max* 单位 mmHg/s

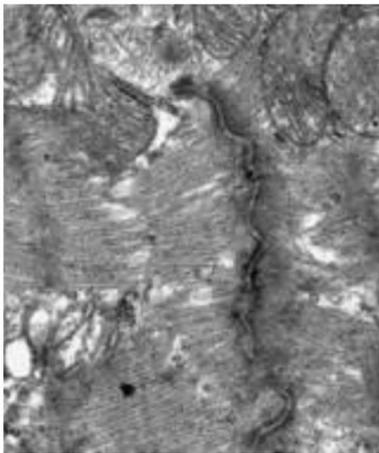


图1 正常心肌透射电镜图 (×10000)

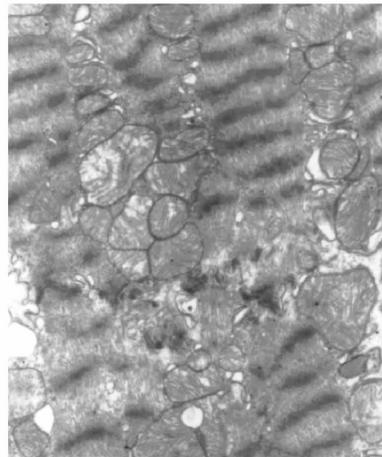


图2 缺血对照组心肌透射电镜图 (×10000)

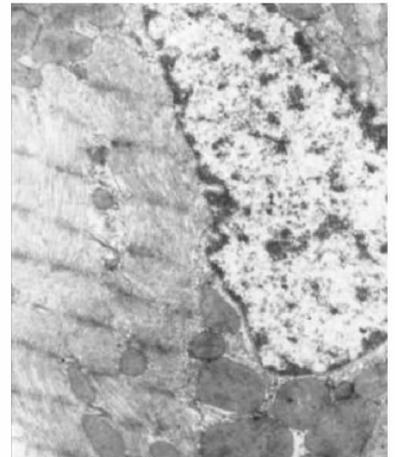


图3 高Heptanol组心肌透射电镜图 (×10000)

3 讨论

Heptanol 可以通过抑制缝隙连接的功能来减慢心肌细胞间的电传导速度。本实验前期研究发现, Heptanol 可以明显减少由于缺血诱发的室速和室颤, 并且提示 Heptanol 的抗室性心律失常作用可能与其延长缺血心肌动作电位时程, 降低正常心肌与缺血心肌之间的复极离散度有关^[2]。本试验主要研究了 Heptanol 对于离体大鼠心脏的机械功能以

及组织学的影响。

我们采用左室内测压球囊测量 LVSP、*dp/dt max* 和 LVEDP。LVSP 是心肌收缩时室内的最大压力, 代表心肌收缩强度; *dp/dt max* 是心肌收缩时室内压力上升的最大速度, 代表心肌收缩速度, 两者结合反映了心肌的收缩功能。LVEDP 是心室的舒张末压, 代表心肌的舒张能力。本实验结果显示 Heptanol 可以降低正常心肌的收缩功能, 而对舒张

功能没有明显作用。

有研究发现,在以分离的猪心室心肌细胞作为观察对象时,Heptanol 可以降低 80% 的收缩力,同时降低细胞膜 80% 钙离子流^[4]。Cannings 等^[5]也观察到了相似的变化。但是,Heptanol 对收缩功能的影响到底是对缝隙连接的作用还是直接针对细胞膜上钙离子通道起作用还需进一步研究。

在心肌发生局部缺血后,缺血心脏的收缩功能和舒张功能都下降,这可能与心肌细胞出现钙超载有关。Heptanol 并没有进一步降低缺血心肌的收缩功能,这说明它只对正常心肌的收缩功能有抑制作用。这可能是因为缝隙连接阻滞剂不会加重心肌细胞钙超载,不会导致心肌收缩功能的进一步恶化,也减少了由于心肌收缩功能下降而引起的室性心律失常的发生。有些抗心律失常药物可以诱发充血性心衰(氟卡胺、双异丙吡胺)或导致低血压(奎尼丁),可诱发或加重心律失常,而 Heptanol 对于缺血心肌没有类似作用,这在一定程度上增加了其作为抗心律失常药物临床应用的安全性。

本试验还发现,与正常心肌组织相比,缺血对对照组心肌细胞破坏明显,这种心肌的局灶性坏死可使心肌组织的电传导发生部分的减缓或阻滞,容易形成折返性室性心律失常。此外,由于细胞损伤引起的代谢产物的变化,如氧自由基和钙超载等破坏了细胞膜的稳定性,也容易发生自律性增高以及触发性室性心律失常。

心肌梗死时缝隙连接蛋白的数量会减少^[6,7],功能也会下降^[8],这可以减少缺血时有害物质在心肌细胞间的传递^[9],起到保护心肌的作用。Heptanol 可以减轻由于缺血造成的细胞损害,可能

是减少有害物质在细胞间的传递来起到保护心肌的作用,而这种保护作用可能也参与了防治缺血性室性心律失常的机制。

参 考 文 献

- [1] Spray DC, Burt JM. Structure-activity relations of the cardiac gap junction channel[J]. Am J Physiol, 1990, 258(2 Pt 1): C195-C205.
- [2] 孙 冰,齐向前,徐文俊. 缝隙连接阻滞剂 Heptanol 对缺血所致室性心律失常影响的研究[J]. 中华心律失常学杂志, 2010, 14(3): 233-235.
- [3] Gustafson LA, Van Beek JH. Measurement of the activation time of oxidative phosphorylation in isolated mouse hearts [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 279 (6) : H3118-H3123.
- [4] Niggli E, Rüdüsili A, Maurer P, et al. Effects of general anesthetics on current flow across membranes in guinea pig myocytes[J]. Am J Physiol, 1989, 256(2 Pt 1): C273-C281.
- [5] Cannings I, Harrison S, White E, et al. The effect of a range of alcohols on the contraction of guinea-pig ventricular myocytes[J]. Eur J Pharmacol, 1993, 248(2): 213-216.
- [6] Cao F, Huang C, Jiang H, et al. The influence of carvedilol on atrial connexin 40 after myocardial infarction [J]. Acta Cardiol, 2008, 63(3): 303-308.
- [7] Takamatsu T. Arrhythmogenic substrates in myocardial infarct[J]. Pathol Int, 2008, 58(9): 533-543.
- [8] Beardslee MA, Lerner DL, Tadros PN, et al. Dephosphorylation and intracellular redistribution of ventricular connexin43 during electrical uncoupling induced by ischemia [J]. Circ Res, 2000, 87(3): 656-662.
- [9] Kanno S, Kovacs A, Yamada KA, et al. Connexin43 as a determinant of myocardial infarct size following coronary occlusion in mice [J]. J Am Coll Cardiol, 2003, 41 (4): 681-686.

(收稿:2011-12-06 修回:2012-04-05)

(本文编辑:丁媛媛)

• 敬告作者 •

为适应我国信息化建设需要,扩大作者学术交流渠道及影响,本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》、《中国核心期刊(遴选)数据库》和《中文科技期刊数据库》,并已被中国科学技术信息研究所收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。如作者不同意将文章编入这些数据库,请在投稿时声明,我们将做适当处理。

稿件一经刊用,将一次性支付作者著作权使用稿酬(包括印刷版、光盘版和刊物内容上网服务各种传播方式的报酬),并赠当期杂志 2 本。

欢迎广大心血管专业医生、研究生投稿,本刊免收审稿费。