

· 实验研究 ·

不同温度下七氟醚对离体大鼠心肌电兴奋性及电传导功能的影响研究

李华宇 高鸿 刘艳秋 安丽 王贵龙 符校魁 代东君 王子君 李伟超

【摘要】 目的 观察在不同温度下七氟醚对离体大鼠心肌电兴奋性及电传导功能的影响。方法 健康成年雄性 SD 大鼠 36 只, 体重 280~360 g, 成功制备 Langendorff 离体心脏灌注模型, 采用随机数字表法分为 6 组 ($n=6$)。各组均用 K-H 液平衡灌注 15 min 后, 正常对照组 (C 组) 继续灌注 37 °C K-H 液 30 min; 35 °C 低温组 (H_1 组)、32 °C 低温组 (H_2 组) 分别继续灌注 35 °C K-H 液及 32 °C K-H 液 30 min; 七氟醚组 (S 组) 继续灌注含 1.0 MAC 七氟醚饱和的 37 °C K-H 液 30 min; 35 °C 低温联合七氟醚组 (H_1S 组) 和 32 °C 低温联合七氟醚组 (H_2S 组) 分别继续灌注含 1.0 MAC 七氟醚饱和的 35 °C K-H 液及 32 °C K-H 液 30 min。于平衡灌注末、继续灌注 30 min 时记录 HR。测量继续灌注 30 min 时有效不应期 (ERP) 及房室结 2 比 1 阻滞点 (2:1B), 并计算传导速度 (CV)。记录心律失常的发生情况。**结果** 与 C 组比较, H_1 组及 H_1S 组继续灌注 30 min 时 CV、ERP 及 2:1B 差异无统计学意义, H_2 组及 H_2S 组继续灌注 30 min 时 CV 明显减慢、ERP 明显延长及 2:1B 明显降低 ($P<0.05$); 与 S 组比较, H_2S 组继续灌注 30 min 时 CV 明显减慢、ERP 明显延长、2:1B 明显降低 ($P<0.05$); 与 H_1 组比较, H_2 组及 H_2S 组继续灌注 30 min 时 CV 明显减慢、ERP 明显延长、2:1B 明显降低 ($P<0.05$); 与 H_2 组比较, H_2S 组继续灌注 30 min 时 CV 明显增快、ERP 明显缩短 ($P<0.05$), 而 2:1B 差异无统计学意义。 H_2S 组室性心律失常的发生率明显低于 H_2 组 ($P<0.05$)。**结论** 七氟醚可抑制低温引起的心肌电兴奋性降低并稳定电传导功能, 从而降低低温诱发室性心律失常的风险。

【关键词】 低温; 七氟醚; 传导速度; 心肌电兴奋性; 电传导功能

Effects of sevoflurane on myocardial electrical excitability and electrical conduction function at different temperatures in isolated rat hearts LI Huayu, GAO Hong, LIU Yanqiu, AN Li, WANG Guilong, FU Xiaokui, DAI Dongjun, WANG Zijun, LI Weichao. School of Anesthesiology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

Corresponding author: GAO Hong, Email: 2169617@qq.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of sevoflurane on myocardial electrical excitability and electrical conduction function at different temperatures in isolated rat hearts. **Methods** Healthy adult male SD rats, weighing 280 - 360 g were successfully prepared into 36 Langendorff isolated cardiac perfusion models, which were randomly divided into 6 groups ($n=6$) using a random number table. After each group was perfused with 37 °C K-H solution for 15 min, the control group (group C) continued to be perfused with 37 °C K-H solution for 30 mins; the 35 °C hypothermia group (group H_1) and the 32 °C hypothermia group (group H_2) continued to be perfused with 35 °C K-H solution and 32 °C K-H solution for 30 min respectively; the sevoflurane group (group S) continued to be perfused with 37 °C K-H solution containing 1.0 MAC sevoflurane saturation for 30 min; the 35 °C hypothermia combined with sevoflurane group (group H_1S) and the 32 °C hypothermia combined with sevoflurane group (group H_2S) continued to perfuse with 1.0 MAC sevoflurane saturated 35 °C K-H solution and 32 °C K-H solution for 30 min respectively. The HR at the end of equilibrium perfusion and continued perfusion for 30 min was recorded. The effective refractory period (ERP), the atrioventricular node 2:1 block (2:1B) and calculating the conduction velocity (CV) were recorded after continued perfusion for 30 min. The occurrence of arrhythmia was recorded during the whole perfusion. **Results** Compared with group C, there was no significant difference in CV, ERP and 2:1B in group H_1 and H_1S after continued perfusion for 30 min; but in group H_2 and H_2S ,

DOI: 10.12089/jca.2019.05.020

基金项目: 贵州省科技厅联合基金 (黔科合 LH 字 [2016] 7252 号); 贵州省卫生计生委科学技术基金 (gzwjky2016-1-007); 贵州医科大学 2017 年高等学校大学生创新创业训练计划项目 (201710660020)

作者单位: 550004 贵阳市, 贵州医科大学麻醉学院 (李华宇、王贵龙、符校魁、代东君、王子君、李伟超); 贵州医科大学附属医院麻醉科 (高鸿、刘艳秋、安丽)

通信作者: 高鸿, Email: 2169617@qq.com

CV was slowed down, ERP was prolonged and 2:1B was decreased ($P < 0.05$); compared with group S, CV was slowed down, ERP was prolonged and 2:1B was decreased after continued perfusion for 30 min in group H₂S ($P < 0.05$); compared with group H₁, CV was slowed down, ERP was prolonged and 2:1B was decreased in groups H₂ and H₂S ($P < 0.05$); compared with group H₂, CV was faster and ERP was shortened in group H₂S ($P < 0.05$), but there was no significant difference in 2:1B. The incidence of ventricular arrhythmia was lower in group H₂S than that in group H₂ ($P < 0.05$). **Conclusion** Sevoflurane can inhibit the decrease of myocardial electrical excitability and stabilize the electrical conduction function induced by hypothermia, thus reducing the risk of hypothermia-induced ventricular arrhythmia.

【Key words】 Hypothermia; Sevoflurane; Conduction velocity; Myocardial electrical excitability; Electrical conduction function

低体温是麻醉手术期间常见的并发症^[1]。文献表明,低体温可抑制心肌应激性,造成心肌传导异常甚至发生室颤,增加围术期心律失常的发生风险^[2-3]。本研究前期动物实验观察发现 30℃ 低体温可明显减慢心率,显著延长心室肌复极时程,心律失常的发生^[4]。不同程度低温对心肌电兴奋性和电传导功能的影响尚未观察。七氟醚是临床常用的吸入麻醉药,可延长心室复极引起心电图的不稳定^[5]。接受七氟醚麻醉的患者在面对不同程度的低体温下是否对心脏电生理产生进一步影响,目前临床上未见报道。因此,本实验拟通过程控电刺激技术,观察在不同温度下七氟醚对离体大鼠心肌电兴奋性及电传导功能的影响,从心脏电生理的角度为临床提供参考。

材料与方法

动物选择 健康成年雄性 SD 大鼠,体重 280~360 g,由贵州医科大学实验动物中心提供,并采用随机数字表法将其分为 6 组($n=6$)。

动物分组与处理 经腹腔注射肝素 3 125 U/kg,戊巴比妥钠 60 mg/kg 后迅速开胸取心脏,置于 4℃ K-H 液中修剪,显露主动脉并插管,连接 Langendorff 装置,用 95% O₂-5% CO₂ 混合气体平衡的 K-H 液于 37℃ 下进行非循环式逆行灌注,灌注压为 3.6 kPa。各组均用 K-H 液平衡灌注 15 min 后,通过恒温槽及热交换器分别控制 K-H 液温度为 37℃、35℃ 及 32℃。正常对照组(C 组)继续灌注 37℃ K-H 液 30 min;35℃ 低温组(H₁组)、32℃ 低温组(H₂组)分别继续灌注 35℃ K-H 液及 32℃ K-H 液 30 min;七氟醚组(S 组)继续灌注含 1.0 MAC 七氟醚(批号:78011)饱和的 37℃ K-H 液 30 min;35℃ 低温联合七氟醚组(H₁S 组)和 32℃ 低温联合七氟醚组(H₂S 组)分别继续灌注含 1.0 MAC 七氟醚饱和的 35℃ K-H 液及 32℃ K-H 液 30 min。

HR 及心律失常的记录 于心外膜心尖和右心

房处安置记录电极,主动脉根部安置参考电极,排除干扰,设置心电图的时间常数 0.1 s、增益 1 mV、频率 100 Hz 及扫描速度 250.00 ms/div。记录平衡灌注 15 min、继续灌注 30 min 的 HR,记录灌注期间心律失常的发生情况。

有效不应期(effective refractory period,ERP)的测定 采用 DF-5A 心脏刺激仪行程控电刺激。于继续灌注 30 min 时将心脏刺激仪的刺激电极置于距记录电极 3 mm 左室前壁外膜层,采用 BL-420F 生物机能实验系统记录 ERP。连续发放 8 个起搏刺激波 S1 后发放一个早搏刺激波 S2,设置 S1S1 = 250 ms, S1S2 = 250 ms, S1S2 间期自 250 ms 以每次减少 10 ms 的幅度缩短 S1S2 间期,直至 S2 不能诱发出动作电位,则将 S1S2 增加 10 ms,然后以 1 ms 反扫直至 S2 不能诱发出动作电位,此时 S1S2 间期即为 ERP。

传导速度(conduction velocity, CV)的测定 于继续灌注 30 min 时将心脏刺激仪的刺激电极置于距记录电极 3 mm 左室前壁外膜层,采用 BL-420F 生物机能实验系统记录激动潜伏期,即刺激波起点和单相动作电位(monophasic action potential, MAP)峰值之间的时间间隔。CV = 3 毫米/激动潜伏期^[6]。

房室结 2:1 阻滞点(2:1B)的测定 于继续灌注 30 min 时将一对刺激电极水平置于右心耳,且两电极间距 2 mm,于左室前壁安置记录电极,记录 MAP。以高出基础心率 20 次/分为起始刺激频率,给予 15 个 S1S1 刺激,停止刺激后观察刺激时房室结能否 1:1 下传,如果房室结能将心房冲动 1:1 下传至心室,则提高刺激频率 10 次/分重复 S1S1 刺激,直到出现 2:1 现象,然后以 1 次/分为单位逐步降低 S1S1 刺激频率,重复 S1S1 刺激直至 2:1 现象消失,则该 S1S1 刺激频率加 1 次/分即为 2:1 B。

统计分析 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用双因素方差分析,组内比较采用重复

测量设计的方差分析;计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

与平衡灌注 15 min 时比较, H_1 、 H_1S 、 H_2 及 H_2S 组继续灌注 30 min 时 HR 明显减慢 ($P < 0.05$); 与 C 组比较, H_1 、 H_1S 、 H_2 及 H_2S 组继续灌注 30 min 时 HR 明显减慢 ($P < 0.05$); 与 S 组比较, H_1S 组及 H_2S 组继续灌注 30 min 时 HR 明显减慢 ($P < 0.05$); 与 H_1 组比较, H_2 组及 H_2S 组继续灌注 30 min 时 HR 明显减慢 ($P < 0.05$) (表 1)。

表 1 六组大鼠不同时段 HR 的比较 (次/分, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 只数 | 平衡灌注 15 min | 继续灌注 30 min |
|----------|----|--------------|------------------------------|
| C 组 | 6 | 236.5 ± 14.7 | 223.7 ± 20.3 |
| H_1 组 | 6 | 223.8 ± 28.3 | 192.3 ± 25.7 ^{ab} |
| H_2 组 | 6 | 234.3 ± 24.0 | 136.8 ± 21.2 ^{abc} |
| S 组 | 6 | 241.0 ± 25.5 | 228.7 ± 23.4 |
| H_1S 组 | 6 | 240.0 ± 20.7 | 184.3 ± 13.8 ^{abd} |
| H_2S 组 | 6 | 247.5 ± 13.9 | 137.0 ± 14.2 ^{abcd} |

注:与平衡灌注 15 min 时比较, ^a $P < 0.05$; 与 C 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 H_1 组比较, ^c $P < 0.05$; 与 S 组比较, ^d $P < 0.05$

与 C 组比较, S、 H_1 及 H_1S 组 CV、ERP、2:1B 差异无统计学意义, 而 H_2 及 H_2S 组继续灌注 30 min 时 CV 明显减慢, ERP 明显延长, 2:1B 明显降低 ($P < 0.05$); 与 S 组比较, H_1S 组 CV、ERP 及 2:1B 差异无统计学意义, H_2S 组继续灌注 30 min 时 CV 明显减慢, ERP 明显延长, 2:1B 明显降低 ($P < 0.05$); 与 H_1 组比较, H_1S 组 CV、ERP 及 2:1B 差异无统计学意义; H_2 组及 H_2S 组 CV 明显减慢, ERP 明显延长, 2:1B 明显降低 ($P < 0.05$); 与 H_2 组比较, H_2S 组 CV 明显增快、ERP 明显缩短 ($P < 0.05$), 而 2:1B 差异无统计学意义 (表 2)。

灌注过程中 H_1 组发生 1 例室性心律失常, H_2 组发生 4 例室性心律失常, H_2S 组发生 1 例室性心律失常。与 C 组比较, H_2 组室性心律失常的发生率明显升高 ($P < 0.05$); 与 H_1 组比较, H_2 组室性心律失常的发生率明显升高 ($P < 0.05$); 与 H_2 组比较, H_2S 组室性心律失常的发生率明显降低 ($P < 0.05$)。

讨 论

七氟醚作为一种吸入麻醉药在临床上广泛应用, 具有诱导快速、呼吸道刺激性小等优点, 但其可

表 2 六组大鼠继续灌注 30 min 时 CV、ERP、2:1B 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 只数 | CV (mm/s) | ERP (ms) | 2:1B (次/分) |
|----------|----|-------------------------------|------------------------|-------------------------|
| C 组 | 6 | 279.14 ± 4.86 | 65 ± 4 | 376 ± 24 |
| H_1 组 | 6 | 278.73 ± 5.64 | 68 ± 4 | 365 ± 27 |
| H_2 组 | 6 | 201.91 ± 6.40 ^{ab} | 86 ± 3 ^{ab} | 221 ± 18 ^{ab} |
| S 组 | 6 | 275.35 ± 6.45 | 64 ± 8 | 383 ± 26 |
| H_1S 组 | 6 | 274.11 ± 6.78 | 70 ± 4 | 382 ± 26 |
| H_2S 组 | 6 | 259.15 ± 7.04 ^{abcd} | 76 ± 4 ^{abcd} | 241 ± 23 ^{abd} |

注:与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 H_1 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 H_2 组比较, ^c $P < 0.05$; 与 S 组比较, ^d $P < 0.05$

抑制延迟整流钾通道电流 (IKr) 和延长 QT 间期, 引起心肌电生理的不稳定^[7-8]。ERP 是指 0 相去极化至 3 相膜电位达到 -60 mV 这段时间, 由绝对不应期和相对不应期组成, 是反应心肌电兴奋性的重要指标, ERP 延长提示心肌细胞再次兴奋所需的时间延长, 心肌电兴奋性降低, 可增加室性心律失常的发生风险。本研究提示 35 °C 低温对离体大鼠心肌电兴奋性无明显影响, 而 32 °C 低温可明显降低离体大鼠心肌电兴奋性, 增加室性心律失常的发生率, 其原因可能为低温降低 ATP 敏感性钾通道 (K_{ATP}) 的活性, 抑制 K^+ 外流, 并使 $I_{Ca,L}$ 内向电流增加, 破坏内向离子电流和外向离子电流的平衡性, 从而延长心肌细胞复极过程^[9-10]。本研究观察发现联合应用七氟醚对 35 °C 低温引起的电生理改变无进一步影响, 但对 32 °C 低温引起的心肌电兴奋性降低有改善作用, 推测原因可能是七氟醚开放 K_{ATP} 通道, 稳定 Na^+ - Ca^{2+} 交换, 促使 K^+ 外流, 增强了心肌电稳定性^[11-12]。

电传导功能障碍是导致折返性心律失常的重要原因。CV 及 2:1B 是反映电传导功能的重要指标, CV 减慢提示心肌细胞间传导减慢和电耦联能力下降, 传导阻滞的易感性增加; 2:1B 是指通过程控电刺激能使心脏产生 2:1 房室传导阻滞现象的最小刺激频率, 在临床上常被用于评价房室传导功能, 其值降低提示房室传导功能抑制。本研究结果提示 35 °C 低温对离体大鼠心肌电传导功能无明显影响, 而 32 °C 低温可明显抑制离体大鼠心肌电传导功能, 导致心肌电传导不稳定, 进而增加室性心律失常的发生率, 推测其原因可能为低温引起缝隙连接蛋白 43 (Cx43) 表达下调和分布紊乱, 改变传导特

性,从而导致心肌细胞间传导减慢和电耦联能力下降,导致折返形成,最终诱发室性心律失常^[13]。本研究结果也提示在 32 ℃ 低温环境下,七氟醚可增快离体大鼠心肌 CV 稳定电传导功能,推测原因可能是与七氟醚促进心肌细胞 Cx43 磷酸化、增加 Cx43 的表达有关^[14],故 H₂S 组仅有 1 例发生了室性心律失常。但其具体的离子流变化和电耦联机制有待下一步证实。

综上所述,七氟醚可抑制低温引起的心肌电兴奋性降低并稳定电传导功能,从而降低低温诱发室性心律失常的发生风险。

参 考 文 献

- [1] Rosenkilde C, Vamosi M, Lauridsen JT, et al. Efficacy of pre-warming with a self-warming blanket for the prevention of unintended perioperative hypothermia in patients undergoing hip or knee arthroplasty. *J Perianesth Nurs*, 2017, 32(5): 419-428.
- [2] Diederens CMJ, van Bel F, Groenendaal F. Complications during therapeutic hypothermia after perinatal asphyxia: a comparison with trial data. *Therapeutic Hypothermia and Temperature Management*, 2018, 8(4): 187.
- [3] Kudlicka J, Mlcek M, Belohlavek J, et al. Inducibility of ventricular fibrillation during mild therapeutic hypothermia: electrophysiological study in a swine model. *J Transl Med*, 2015, 13: 72.
- [4] 杨焯, 高鸿, 谷宇. 低温联合七氟醚对兔心肌单相动作电位及跨室壁复极离散度的影响. *中华麻醉学杂志*, 2010, 30(7): 780-783.
- [5] Nakao S, Hatano K, Sumi C. Sevoflurane causes greater QTc interval prolongation in elderly patients than in younger patients. *Anesth Analg*, 2010, 110(3): 775-779.
- [6] Tse G, Yeo JM, Tse V, et al. Gap junction Inhibition by Heptanol Increase sventricular arrhythmogenicity by reducing conduction velocity without Affecting repolarization properties or myocardial refractoriness inLangendorff-perfused mouse hearts. *Mol Med Rep*, 2016, 14(5): 4069-4074.
- [7] Kimura S, Nakao S, Kitaura A, et al. Sevoflurane causes greater QTc interval prolongation in chronically hyperglycemic patients than in normoglycemic patients. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0188555.
- [8] Lee JH, Park YH, Kim JT, et al. The effect of sevoflurane and ondansetron on QT interval and transmural dispersion of repolarization in children. *Paediatr Anaesth*, 2014, 24(4): 421-425.
- [9] Gurabi Z, Koncz I, Patocskaï B, et al. Cellular mechanism underlying Hypothermia-induced ventricular tachycardia/ventricular fibrillation in the setting of early repolarization and the protective effect of quinidine, cilostazol, and milrinone. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2014, 7(1): 134-142.
- [10] Jin SQ, Niu LJ, Deng Y, et al. Effect of temperature on the activation of myocardial KATP channel in guinea pig ventricular myocytes: a pilot study by whole cell patch clamp recording. *Chin Med J (Engl)*, 2006, 119(20): 1721-1726.
- [11] Jiang JJ, Li C, Li H, et al. Sevoflurane postconditioning affects post-ischaemic myocardial mitochondrial ATP-sensitive potassium channel function and apoptosis in ageing rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2016, 43(5): 552-561.
- [12] Liu C, Liu Y, Shen Z, et al. Sevoflurane Preconditioning Reduces Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury: Role of Protein Kinase C and Mitochondrial ATP-Sensitive Potassium Channel. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0141426.
- [13] Hsieh YC, Lin JC, Hung CY, et al. Gap junction modifier rotigaptide decreases the susceptibility to ventricular arrhythmia by enhancing conduction velocity and suppressing discordant alternans during therapeutic hypothermia in isolated rabbit hearts. *Heart Rhythm*, 2016, 13(1): 251-261.
- [14] 庞勇, 刘新伟, 刘柳, 等. 心肌细胞缝隙连接蛋白 43 在线粒体敏感性钾通道介导七氟醚预处理减轻大鼠离体心脏缺血再灌注中的作用. *中华麻醉学杂志*, 2011, 31(10): 1256-1259.

(收稿日期:2018-07-14)