

• 基础研究 •

犬肺静脉肌袖电生理随龄性改变

侯允天 杜新平 卢才义

【摘要】 目的 对比研究老龄和成年犬肺静脉肌袖电生理特性。方法 采用经导管房间隔穿刺技术,应用程序刺激和短阵快速起搏分别对正常自然老龄和成年实验犬肺静脉、上腔静脉、左房、右房、以及冠状静脉窦的有效不应期、激动传导及心房颤动诱发阈值进行标测。结果 老龄犬的左、右心房,上腔静脉,冠状静脉窦和肺静脉的有效不应期较成年犬均有不同程度的缩短,其中左心房,上腔静脉和肺静脉有效不应期的随龄性变化有统计学差异($P < 0.01$)。老龄犬的肺静脉不应期较其左房的不应期明显缩短,而成年犬肺静脉与左房的不应期则无显著性差异。老龄犬的肺静脉和上腔静脉内激动传导呈显著递减性传导。在多数老龄犬的肺静脉、左心房和上腔静脉,快速短阵起搏及程序刺激能诱发持续时间 > 30 s 的房颤。结论 老龄犬肺静脉肌袖有易于房颤发生的电生理变化,提示心脏老龄化可能是房颤发生的潜在基质。

【关键词】 老龄;肺静脉肌袖;心房颤动

Aging-related electrophysiological changes of pulmonary atrial sleeves in dogs

HOU Yuntian, DU Xinping, LU Caiyi

Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To detect the aging-related changes in electrophysiologic properties of pulmonary myocardial sleeves in dogs and to seek the experimental evidence for primary or independent factor contributing to atrial fibrillation (AF) incidence. Methods Two 4-electrode catheters were inserted through the right femoral vein and fixed to the upper lateral wall of right atrium and the junction of superior vena cava with right atrium under the guide of fluoroscopy. A decapolar catheter was inserted into the coronary sinus via the internal jugular vein. Transseptal puncture was accomplished and a radiofrequency catheter and a 10-electrode catheter (Lasso) was placed into left atrium and pulmonary vein. Effective refractory period (ERP), conduction property, AF thresholds at different sites were measured by programmed stimulation and short burst stimuli. Results ERPs at pulmonary veins, superior vena cava, two atria and coronary sinus in old dogs were shorter than those in adult group. Among them, the differences in ERPs of left atrium, superior vena cava and pulmonary veins between old and adult dogs had statistical significance ($P < 0.01$). In old group, the ERP of pulmonary veins was shorter than that of left atrium; but in adult group, there was no difference between them. The conduction of impulses in superior vena cava and pulmonary veins in old group showed significant progressive decrement. AF lasting longer than 30 seconds could be induced only at left atrium, superior vena cava and pulmonary veins in old dogs through programmed stimulation and short burst stimuli. In adult dogs, no induced AF occurred in spite of increasing stimulation threshold and rate. Conclusion The aging-related changes in electrophysiological properties of pulmonary myocardial sleeves facilitates the initiation of AF. Aging-related changes of the heart might offer potential substrate for AF.

【Key words】 aging; plmonary myocardial sleeves; atrial fibrillation

心房颤动(房颤)以其随年龄逐渐增高的发病率 and 致残致死率成为新世纪防治心律失常的重要课题。基础和临床研究成果表明,大部分阵发性房颤是由位于肺静脉、上腔静脉以及界嵴等部位,缘于肌性组织的局灶性异位搏动触发和维持的^[1]。临床流

行病学研究表明,老化是房颤发生率大幅度增加的主要原因^[2]。然而心房老化与房颤发生发展关系的研究目前很少。左房肌沿肺静脉口向肺静脉内延伸,呈不规则“袖样”解剖结构,简称“肌袖”(myocardial sleeves),是肺静脉内部分异位搏动点和射频消融靶点^[10]。本研究通过对比研究老龄犬(> 8 岁)和成年犬(2~7岁)肺静脉肌袖电生理特性,为老化是否是房颤发生的主要或独立危险因素提供实验证据。

收稿日期:2004-08-21

作者单位:100853 北京市,解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:侯允天,男,1963年8月生,黑龙江省哈尔滨市人,医学博士,主治医师。Tel:010-66936762

1 材料和方法

1.1 实验材料及仪器 8只健康杂种犬,8~12岁4只,2~5岁4只,体重20~25 kg,雌雄不限。购自解放军总医院实验动物中心。采用 PHILIP Maximus CM 80 型数字造影机和 32 导杰信 GEP 电生理记录仪。

1.2 动物准备 戊巴比妥钠 0.25 mg/kg 静脉注射麻醉,实验中追加 50~100 mg 以保持麻醉状态。气管内插管,联室内空气通气。连接电生理记录仪上心电图导联 II 与 aVF 用于监视术中心率及心律变化。体表及心内电信号被放大,经 30~1000 Hz 滤波记录于心电生理记录仪上。术中持续滴注生理盐水 10 ml/min。

1.3 导管的放置 将犬仰卧位固定于造影检查床上。经右股静脉插入 2 根 4 极电极导管分别置于右房高侧壁和上腔静脉与心房交界处。经右侧颈内静脉插入 10 极电极导管于冠状静脉窦内。经左股静脉应用 0.9F 60 cm 鞘管和房间隔穿刺针行房间隔穿刺,导入 4 级大头导管或 10 极环状电极导管,对左房和肺静脉进行标测。通过肺动脉造影,肺静脉显影而判定标测导管放置到位。

1.4 基础电生理检查 应用 S_1S_2 程序期前刺激法:8 个 S_1 刺激后引入 S_2 刺激。 S_1S_2 每次递减 10~20 ms。以 S_1S_2 400,350,300,250 ms,脉宽 2 ms,刺激强度为 2 倍阈值或 10 mA,分别在右房高侧壁,左房侧壁,冠状静脉窦和左右肺静脉测定有效不应期。心房有效不应期被定义为不能夺获心房的最长 S_1S_2 间期。肺静脉不应期为不能夺获肺静脉肌袖的最长 S_1S_2 间期。离散度被定义为在同一起搏周长内最长有效不应期减最短有效不应期之值。肺静脉内传导特征的判定:通过测量肺静脉至左房传导间期的递归来表示。具体方法:应用 S_1S_2 程序期前刺激法,在肺静脉内起搏,最长的 S_2-A_2 减去 S_1-A_1 ,定义为传导时间的递增。当递增值 ≥ 30 ms 时,被认为是传导延迟。房颤诱发阈值被定义为引起房颤的最长短阵刺激(burst)周长。颤动诱发阈值的测定:分别在心房不同部位,应用 burst 和程序期前刺激($S_1S_2 \sim S_1S_2S_3S_4$),对心房进行房颤诱发阈值测定。 S_1S_1 分级递增刺激,脉宽为 2 ms 刺激电流为舒张期阈值的 2 倍以较犬心率快 10~20/min 的频率起搏每级递增 10/min。Burst 脉宽 2 ms,强度为 2 倍阈值。每次 burst 持续 5 s。burst 周长从 250 ms 开始,依次递减

10~30 ms,每次 burst 间隔 60 s,直至出现房颤。房颤被定义为:体表心电图上快速不规则的 QRS 波群,或(和)快速($>450/\text{min}$)不规则地伴有心房电图形态变化的房性节律。

1.5 统计学处理 均数用 $\bar{x} \pm s$,组间比较用 t 检验。 $P < 0.05$ 被认为有显著性差异。

2 结果

2.1 有效不应期 老龄犬左、右心房,上腔静脉,冠状静脉窦和肺静脉的有效不应期分别为(98 ± 22)ms*,(133 ± 31)ms, (101 ± 23)ms*, (127 ± 19)ms, (87 ± 30)ms*。成年犬上述部位的不应期分别为(139 ± 21)ms, (151 ± 22)ms, (162 ± 35)ms, (153 ± 24)ms, (131 ± 29)ms。老龄犬心房各部位不应期较成年犬均有不同程度的缩短,其中左心房,上腔静脉和肺静脉有效不应期的随龄性变化有统计学差异(* $P < 0.01$)。见表 1。老龄犬肺静脉不应期较左心房不应期明显缩短($P < 0.05$)。成年犬各部位不应期之间无明显差异($P > 0.05$)。

表 1 肺静脉与心房的电生理指标($\bar{x} \pm s$, ms)

刺激部位	ERP	S_1-A_1	S_2-A_2 (longest)	$S_2A_2-S_1A_1$
RLA				
老龄	133 ± 31	107 ± 25	140 ± 32	38 ± 14
成年	151 ± 22	94 ± 24	119 ± 21	24 ± 13
SVC				
老龄	101 ± 23*	77 ± 31	103 ± 24	31 ± 14
成年	162 ± 35	53 ± 16	71 ± 23	20 ± 12
LLA				
老龄	98 ± 22*	81 ± 23	123 ± 26	36 ± 17
成年	139 ± 21	75 ± 22	102 ± 35	30 ± 15
CS				
老龄	127 ± 19	91 ± 28	143 ± 22	40 ± 14
成年	153 ± 24	83 ± 26	104 ± 18	27 ± 16
PV(L or R)				
老龄	87 ± 30*#	67 ± 25	120 ± 38	53 ± 12*
成年	131 ± 29	44 ± 19	71 ± 25	25 ± 11

注:PV=肺静脉,CS=冠状静脉窦,RLA=右房侧壁,LLA=左房侧壁,SVC=上腔静脉,ERP=有效不应期。老龄犬与成年犬比较,* $P < 0.01$;老龄犬肺静脉与左房比较,* $P < 0.05$

2.2 激动传导 老龄犬左、右心房,上腔静脉,冠状静脉窦和肺静脉的 $S_2A_2-S_1A_1$ 分别为(36 ± 17)ms, (38 ± 14)ms, (31 ± 14)ms, (40 ± 14)ms, (53 ± 12)ms。均有不同程度的传导延迟($S_2A_2-S_1A_1 \geq 30$ ms 时,定为传导延迟)。传导延迟在肺静脉内较心房其他部位明显,但与左房相比无统计学差异。成年犬左、右

心房,上腔静脉,冠状静脉窦和肺静脉的 $S_2A_2-S_1A_1$ 分别为 $(24 \pm 13)\text{ms}$, $(30 \pm 15)\text{ms}$, $(20 \pm 12)\text{ms}$, $(27 \pm 16)\text{ms}$, $(25 \pm 11)\text{ms}$ 。均无明显传导延迟。老龄犬肺静脉内传导较成年犬明显延迟, $(53 \pm 12)\text{ms}$ vs $(25 \pm 11)\text{ms}$, $P < 0.05$ 。

2.3 房颤的诱发 心房易损性:在肺静脉或心房快速起搏,每个起搏周长连续 5 次,每次递减 10 ms 看房颤的诱发和持续时间。在老龄犬标测导管置放过程中,当导管刺激右房上部和上腔静脉入口时,2 只犬自发短阵房性心动过速,后演变成房颤(表 2)。老龄犬房颤的诱发阈值分别为:肺静脉 $(118 \pm 16)\text{ms}$,上腔静脉 $(110 \pm 16)\text{ms}$,左房 $(100 \pm 13)\text{ms}$,冠状静脉窦 $(90 \pm 12)\text{ms}$,右心房 $(86 \pm 10)\text{ms}$ 。成年犬中无一例能诱发持续时间 $> 30\text{ s}$ 的房颤。诱发房颤的持续时间为 1~5 min。

表 2 房性心律失常的诱发

刺激部位	AT	SVT	PAF
RLA			
老龄	2	1	1
成年	1	0	0
SVC			
老龄	4	1	3
成年	1	0	0
LLA			
老龄	2	1	2
成年	2	1	0
CS			
老龄	1	1	1
成年	0	0	0
PV(L or R)			
老龄	4	0	3
成年	1	0	0

注:AT=房性心动过速,SVT=室上性心动过速,PAF=阵发性房颤,房颤持续时间 $> 30\text{ s}$ 。

3 讨论

肺静脉以其独特的结构及由此带来的病理生理特性,直到近年才得到进一步研究和重视。肺静脉心肌袖是从心房肌延伸至肺静脉外层的肌肉组织。解剖学证实肺静脉内有来自左心房肌构成的肌袖结构,动物与临床研究均证实大部分局灶性房颤起源于肺静脉肌袖,但此肌袖如何能产生快速异位电活动的机制仍不详^[3,4]。肺静脉内肌袖的形态学研究显示,肺静脉心肌袖长 4~20 mm。光镜和电镜下,肺静脉和心房肌上的肌细胞在形态学上无明显差

别。肺静脉内肌袖的厚度随肺静脉分支而逐渐减少,肌纤维也被纤维组织分隔成束状。肌袖内肌细胞联接多为 Cx43 联接蛋白^[5]。肺静脉近端和远端心肌纤维的静息膜电位分别为 -71 mV 和 -66 mV 。肺静脉近端心肌纤维动作电位同心房动作电位相似,临床研究表明,通过基础和期前刺激,细胞外记录到在所有肺静脉上有缓慢和复杂的传导。肺静脉远端动作电位时程较口部缩短。组织学示缓慢传导区肌纤维排列紊乱:方向突然改变,短纤维交错排列^[6]。肺静脉近端传导速度较肺静脉其他部分明显减慢,外膜 $[(31.3 \pm 4.47) \text{ vs } (90.2 \pm 20.7)\text{cm/s}, P = 0.001]$,内膜 $[(45.8 \pm 6.90) \text{ vs } (67.6 \pm 10.4)\text{cm/s}, P = 0.012]$ 。动作电位 80%复极的时限在肺静脉内膜最长。灶性活动易发生在肺静脉近端,而折返易在远端。逸搏使肺静脉肌袖呈现递减性传导,其递减程度大于临近的左房肌^[7]。在肺静脉内检测到双电位和碎裂电位-揭示肺静脉肌袖的复杂结构,易于折返的发生。临床上发现无论有否房颤,肺静脉均能记录到特型性的电位(包括尖峰样电位,碎裂电位或融合电位)和传出阻滞现象。然而,肺静脉内的独特电生理特性发生的真正机制仍不清楚,起源于肺静脉的局灶性房颤病原学仍待研究。

在光镜和电镜下,以及应用免疫组化方法,发现肌袖细胞与正常心房肌细胞无本质差别。那么为什么异位搏动常在肺静脉肌袖而不在其它心房肌上呢?实验中发现犬肺静脉肌袖局灶性起源的异位搏动频率可达 400 次/min,远高于正常犬结性细胞起搏的最高频率。应用免疫组化技术,在 Leu-7 单克隆抗体染色表达人胚胎心传导系统形成过程中发现,肺静脉口,冠状静脉口,前结间束、界嵴等多处有着色,即 HNK-1 的表达^[8]。但胚胎时期肺静脉肌袖与窦房结和房室结组织的关联在成人组织中是否有所反映,目前还不得而知。由此可以设想,肌袖内一组细胞由于自发性或触发性自律性增高而出现起搏功能;或原本正常的肌袖细胞由于特殊的纤维排列,为快速折返的形成提供基质。而事实上确有研究表明,从犬肺静脉肌袖分离出的细胞有自发性活动^[9]。有房颤的人肌袖细胞大小及细胞周围纤维组织分布与无房颤者有差别。老化肯定是个原因,无论是否是独立的。

正是缘于房颤是老年多发性疾病并与年龄有密

(下转第 158 页)

学提出的启示,值得我们在实践中深入探讨和利用。

参考文献

- Gautel M, Mues A, Young P. Control of sarcomeric assembly: the flow of information on titin. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 1999, 138: 98-126.
- Neagoe C, Kulke M, Monte F, et al. Titin isoform switch in ischemic human heart disease. *Circulation*, 2002, 106: 1333-1341.
- Opitz CA, Kulke M, Leake MC, et al. Damped elastic recoil of the titin spring in myofibrils of human myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 12688-12693.
- Opitz CA, Leake MC, Makarenko I, et al. Developmentally regulated switching of titin size alters myofibrillar stiffness in the perinatal heart. *Circ Res*, 2004, 94: 967-975.
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al. *Molecular cell biology*, 4th ed, New York: W. H. Freeman and Company, 2000. 774-779.
- Ojima K, Lin ZX, Bang ML, et al. Distinct families of Z-line targeting molecules in the COOH-terminal region of nebulin. *J Cell Biol*, 2000, 150: 553-566.
- Hein S, Gasch WH, Schaper J. Giant molecule titin and myocardial stiffness. *Circulation*, 2002, 106: 1302-1310.
- Bell SP, Nyland L, Tischler MD, et al. Alterations in the determinants of diastolic suction during pacing tachycardia. *Circ Res*, 2000, 87: 235-240.
- Wu Y, Bell SP, Trombitas K, et al. Changes in titin isoform expression in pacing failure give rise to increased passive muscle stiffness. *Circulation*, 2002, 106: 1384.

(上接第 129 页)

切关系这一事实,对心房肌袖结构的增龄性(或老化)改变与房颤发生发展的关系研究更显重要。明确老年房颤是心房、肺静脉肌袖解剖结构的病理生理改变,还是单纯性生理性退行性改变所致,将对房颤的防治研究产生重要的影响。

作为增龄对心房肌袖组织学及电生理学特性影响系列研究的一部分,本课题主要通过通过对两组正常的、不同年龄段犬的心房和肺静脉肌袖整体电生理特征进行对比研究。结果显示老龄犬的心房,上腔静脉,冠状静脉窦和肺静脉的有效不应期较成年犬均有不同程度的缩短,其中左心房,上腔静脉和肺静脉有效不应期的随龄性变化更明显。老龄犬的肺静脉和上腔静脉内激动传导呈显著递减性传导。在老龄犬的肺静脉、左心房和上腔静脉等部位,快速短阵起搏或程序刺激能诱发房颤,而在健康成年犬,不使用药物,即使提高刺激阈值或刺激频率,也不能诱发房颤。动物实验结果表明:老化的肺静脉肌袖所表现出的电生理变化易于房颤的发生。但上述研究只表明老化为异位兴奋的折返和传导创造了条件,仍未说明老化与异位激动形成的关系。进一步的研究有待于在肌袖组织细胞离子通道和连接蛋白方面的突破。

参考文献

- Furberg CD, Psaty BM, Manolio TA, et al. Prevalence of atrial fibrillation in elderly subjects. *Am J Cardiol*, 1994, 74: 236-241.
- Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, et al. Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. The Framingham Heart Study. *JAMA*, 1994, 271: 840-844.
- Hancox JC, Patel KCR, Jones JV. Antiarrhythmics-from cell to clinic: past, present, and future. *Heart*, 2000, 84: 14-24.
- Tagawa M, Higuchi K, Chinushi M, et al. Myocardium extending from the left atrium onto the pulmonary veins: a comparison between subjects with and without atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2001, 24: 1459-1463.
- Verheule S, Wilson EE, Arora R, et al. Tissue structure and connexion expression of canine pulmonary veins. *Cardiovasc Res*, 2002, 55: 727-738.
- Tada H, Oral H, Ozaydin M, et al. Response of pulmonary vein potentials to premature stimulation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2002, 13: 33-37.
- Cheung DW. Electrical activity of the pulmonary vein and its interaction with the right atrium in the guinea pig. *J Physiol*, 1981, 314: 445-456.
- Blom NA, Groot ACG, DeRuiter ML, et al. Development of the cardiac conduction tissue in human embryos using antigen expression. *Circulation*, 1999, 99: 800-812.
- Winfree AT. Spiral waves of chemical activity. *Science*, 1977, 175: 634-636.
- Ho SY, Cabrera JA, Tran VH, et al. Architecture of the pulmonary veins: relevance to radiofrequency ablation. *Heart*, 2001, 86: 265-270.