氯通道阻滞剂DIDS对自发高血压大鼠左心室有效不应期及心室颤动阈值的影响

黄至斌，伍 卫，颜海莲，方 昶，袁桂仪
（中山大学附属第二医院心内科，广东 广州 510120）

摘 要：【目的】分析不同剂量氯通道阻滞剂DIDS对自发高血压大鼠左心室有效不应期及心室颤动阈值的影响。【方法】32只10周龄雄性自发高血压大鼠随机分成非DIDS处理组及3个DIDS不同剂量(0.05、0.5、5.0 μmol/kg)处理组，每组8只，取8只雄性Wistar大鼠作为对照组，分别测定各组大鼠心率、动脉收缩压、心室有效不应期及心室颤动阈值左室质量指数。【结果】①自发高血压大鼠左室质量指数明显大于Wistar大鼠($P < 0.01$)；②DIDS非处理组的心室颤动阈值明显小于对照组[(15.0 ± 1.2) mA *vs* (26.4 ± 1.5) mA，$P < 0.01$)]；③DIDS呈浓度依赖地延长左室肥厚心肌的心室有效不应期和提高左室肥厚心肌的心室颤动阈值($P < 0.05$)；④心室有效不应期与心室颤动阈值正相关，DIDS的3个不同处理剂量与心室有效不应期或心室颤动阈值正相关。【结论】DIDS可以延长左室肥厚心肌的心室有效不应期，提高左室肥厚心肌的心室颤动阈值。

关键词：左室肥厚；氯通道；电生理；心室颤动阈值
中图分类号：R544.1 **文献标识码**：A **文章编号**：1672-3554(2008)06-0701-04

Effects of Chloride Channel Blocker DIDS on Ventricular Effective Refractory Period and Ventricular Fibrillation Threshold in Spontaneously Hypertensive Rats

HUANG Zhi-bin, WU Wei, YAN Hai-lian, FANG Chang, YUAN Gui-yi
(Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate the effects of chloride channel blocker DIDS on ventricular effective refractory period (VERP) and ventricular fibrillation threshold (VFT) in spontaneously hypertensive rats (SHR). 【Methods】 Thirty-two 10-week male SHR were randomly divided into non-DIDS treatment ($n = 8$) and 3 different doses of DIDS treatment (0.05, 0.5, 5.0 μmol/kg, iv, each $n = 8$). Age-matched Wistar rats were served as control ($n = 8$). The heart rate, left ventricular mass index (LVMI), systolic blood pressure (SBP), VERP and VFT were measured. 【Results】 ①The LVMI of SHR was significantly larger than those of Wistar rats ($P < 0.01$). ②The VFT of non-DIDS treatment group was significantly lower than that of control group [(15.0 ± 1.2) mA *vs* (26.4 ± 1.5) mA, $P < 0.01$)]. ③ DIDS doses dependently increased VFT and delayed VERP ($P < 0.05$). ④ VERP showed positive correlation with VFT and these 2 parameters were concomitantly improved by 3 doses of DIDS. 【Conclusion】 DIDS may prolong the VERP and improve the VFT of hypertrophied myocardium.

Key word: left ventricular hypertrophy; chloride channel; electrophysiology, ventricular fibrillation threshold
[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008, 29(6): 701-704]

心肌肥厚过程发生心肌电重构，其主要原因是心肌离子通道发生变化，使肥厚心肌容易发生恶性室性心律失常，与心脏性猝死密切相关[1-2]。心肌细胞不仅存在阳离子通道，且存在阴离子通道，阴离子通道主要是氯离子通道。近年来越来越多的研究提示，氯离子通道在肥厚心肌心律失

收稿日期：2008-09-04
基金项目：广东省自然科学基金博士启动项目(7301398)
作者简介：黄至斌(1974-)，男，广东潮阳人，博士，主治医师，研究方向：心律失常，E-mail：hzbin2603@163.com；伍卫，通讯作者，教授，博士生导师，E-mail：wu.wei@medmail.com.cn

常的发生中起着重要的作用。心肌肥厚过程中，心肌细胞容积明显增大，有研究提示心肌容积增大时容积调节氯通道开放增加，促进心肌恶性室性心律失常的发生[3]。氯通道阻滞剂4,4′-diisothiocyanostilbene-2, 2′-disulfonic acid (DIDS)是目前常用的容积调节氯通道阻滞剂。本实验旨在探讨DIDS对肥厚心肌心室颤动阈值和心室有效不应期的影响作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物和分组

32只10周龄雄性自发高血压大鼠(购自北京维通利华动物实验中心)随机分成非DIDS处理组及3个剂量的DIDS处理组,每组8只;8只10周龄雄性Wistar大鼠(中山大学动物实验中心提供)作为对照组。

1.2 药品和给药方法

DIDS购自Sigma公司,将DIDS溶于生理盐水中,配成2 mmol/L母液,-20 ℃保存。经舌静脉注射DIDS,10 min后测定心室有效不应期和心室颤动阈值。

1.3 有创动脉收缩压和心率测定

乌拉坦按体质量1 200 mg/100 g腹腔内注入麻醉,将已经麻醉的大鼠放在能保持37 ℃的手术台上。气管切开连接小动物呼吸机，潮气量在1.7 ~ 2.5 mL之间调节,60 min^{-1}给予辅助呼吸。右股动脉插管，经BL-420E生物信号采集与处理系统(四川成都泰盟科技电子有限公司)多导生理记录，将动脉压力波形曲线引入电脑进行实时分析。于大鼠四肢置皮下电极,连接BL-420E生物信号采集与处理系统多导生理记录,记录心电图。

1.4 测定心室有效不应期

根据文献[4-5]四肢皮下电极连接多导生理记录仪记录标准Ⅱ导联心电图。左心室心尖区置入1对鱼钩样电极,电极直径0.125 mm,相距0.5 cm,皮下安置参考电极,电极连接程序刺激器(Medtronic公司,型号5352)、输出隔离器(型号DSJ731-G-A)和生理刺激器(型号DSJ731-2C-A,华南师范大学科技开发中心提供)。采用心室S_1S_2负向扫描法测定心室有效不应期,未能引起心室除极的最长S_1S_2间期为心室有效不应期(ms),如图1所示。

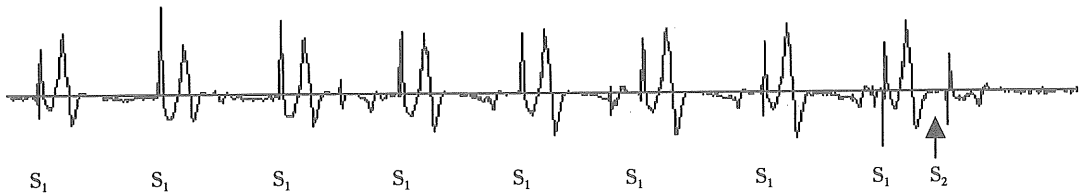


图1 S_1S_2法测定VERP

Fig.1 Measurement of VERP using extrastimulus (S_1S_2) method

1.5 测定心室颤动阈值

根据文献[4]由程序刺激器(Medtronic公司,型号5352)起搏大鼠心脏(500 min^{-1}),心室颤动由生理刺激器发出的串刺激(10次，脉宽4 ms,100 Hz,延迟60 ms)诱发,电流强度在0 ~ 40 mA之间,以5 mA开始,以0.5 mA的增幅递增,以引起心室颤动的最低电流强度(mA)为心室颤动阈值,如图2所示。

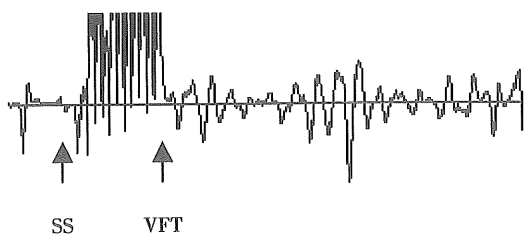


图2 串脉冲刺激法测定VFT

Fig.2 Measurement of VFT by strand-stimuli(SS) method

1.6 测定左心室质量指数

根据文献[6]实验结束后,迅速取出心脏,用生理盐水清洗,滤纸吸干,沿房室沟剪去心房,沿室间沟剪去右心室,室间隔和左心室游离壁称量,与体质量比得出左心室质量指数(mg/g)。

1.7 统计分析

计量资料以均数 ± 标准差表示，多组间比较采用完全随机设计的方差分析(one-way AVOVA)

及多重比较采用最小有意义差异检验(LSD-t),VERP 与 VFT 的相关分析采用 Pearson 相关分析,DIDS 的 3 个不同处理剂量与 VERP、VFT 分别采用 Spearman 等级相关分析,应用 SPSS10.0 软件包进行统计分析,$P < 0.05$ 为有统计学意义。

2　结　果

2.1　大鼠一般生理指标的比较

DIDS 处理组和非处理组的左室质量指数和动脉收缩压明显大于对照组($P < 0.01$),而心率与对照组无明显差别($P > 0.05$);非 DIDS 处理组的左室质量指数、心率及动脉收缩压与处理组相比无明显差别($P > 0.05$,表 1)。

2.2　各组大鼠电生理指标的比较

非 DIDS 处理组的心室有效不应期与对照组相比无明显差异($P > 0.05$),而心室颤动阈值明显小于对照组 ($P < 0.01$);DIDS 呈浓度依赖型延长左室肥厚心肌心室有效不应期;DIDS 也呈浓度依赖型提高左室肥厚心肌的心室颤动阈值,使左室肥厚心肌的心室颤动阈值渐趋近非左室肥厚心肌的心室颤动阈值;DIDS 的剂量与心室有效不应期或心室颤动阈值的趋势 P 均小于 0.01(表 2)。

表 1　各组大鼠一般生理指标的比较

Table 1　Comparison of indexes in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats

Group		n	LVMI(mg/g)	Heart rate(beat/min)	SBP(mmHg)
Controlling group		8	2.47 ± 0.08	350.3 ± 6.1	84.6 ± 2.2
Non-DIDS treatment group		8	3.24 ± 0.06[1)]	348.6 ± 5.6	159.8 ± 5.5[1)]
DIDS treatment group (μmol/kg)	0.05	8	3.24 ± 0.07[1)]	349.9 ± 6.0	159.8 ± 4.6[1)]
	0.5	8	3.21 ± 0.07[1)]	350.4 ± 6.3	160.4 ± 5.1[1)]
	5	8	3.17 ± 0.09[1)]	351.1 ± 5.6	158.9 ± 4.3[1)]
F			152.5	0.2	446.0
P			0.001	0.94	0.001

LVMI: left ventricular mass index, SBP: systolic blood pressure; 1)VS controlling group, $P < 0.01$

表 2　各组大鼠电生理指标的比较

Table 2　Comparison of electrical indexes in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats

Group		n	VERP (ms)	VFT(mA)
Controlling group		8	61.9 ± 2.6	26.4 ± 1.5
Non-DIDS treatment group		8	62.5 ± 2.7	15.0 ± 1.2[1)]
DIDS treatment group (μmol·kg^{-1})	0.05	8	62.5 ± 2.7	15.3 ± 0.7[1)]
	0.5	8	66.9 ± 2.6[1)2)3)]	15.8 ± 0.7[1)]
	5	8	70.0 ± 3.8[1)2)3)]	16.7 ± 0.7[1)2)3)]
F			12.0	192.8
P			0.001	0.001

VERP: ventricular effective refractory period; VFT: ventricular fibrillation threshold

1) VS controlling group, $P < 0.01$; 2) VS non-DIDS treatment group, $P < 0.01$; 3) VS 0.05 μmol·kg^{-1} DIDS treatment group, $P < 0.01$

2.3　心室有效不应期与心室颤动阈值的相关关系

在左心室肥厚大鼠中心室有效不应期与心室颤动阈值呈正相关($r = 0.68$, $P < 0.01$);DIDS 的 3 个不同处理剂量与心室有效不应期呈正相关($r = 0.66$, $P < 0.01$);DIDS 的 3 个不同处理剂量与心室颤动阈值呈正相关($r = 0.63$, $P < 0.01$)。

3　讨　论

3.1　容积调节性氯通道电流的细胞电生理作用

随着近年来对心肌氯离子通道研究的不断深入,使氯离子通道在影响心肌电生理的作用逐渐

引起人们的重视并得到进一步研究。目前研究发现在心肌细胞上存在多种氯离子通道，主要包括囊性纤维变性跨膜电导调节体（cystic fibrosis transmembrane conductance regulator,CFTR）氯通道、钙激活氯通道电流($I_{Cl,Ca}$)及容积调节性氯通道电流($I_{Cl,VOL}$)等。研究提示$I_{Cl,VOL}$在肥厚心肌中开放增加，引起肥厚心肌细胞动作电位时程缩短及复极离散度增加，使肥厚心肌容易发生恶性室性心律失常[3]。DIDS是目前常用的$I_{Cl,VOL}$阻滞剂,在单细胞水平存在浓度依赖性的抑制$I_{Cl,VOL}$[7],延长心肌细胞的动作电位[8],但DIDS对在体心脏肥厚心肌心室颤动阈值和心室有效不应期的影响如何?目前知之不多。

3.2 DIDS对肥厚心肌心室颤动阈值的影响

本实验表明DIDS能够提高左室肥厚心肌的心室颤动阈值。有研究表明在肥厚心肌上由于容积调节性氯通道激活，引起动作电位时程缩短和膜的去极化,可促进心律失常的发生[3];有研究提示DIDS能够浓度依赖性抑制心肌细胞的$I_{Cl,VOL}$[7],延长心肌细胞的动作电位[8]。DIDS可能通过上述机制提高肥厚心肌的心室颤动阈值。

3.3 DIDS对肥厚心肌心室有效不应期的影响

本实验表明DIDS能够延长肥厚心肌的心室有效不应期；同时心室有效不应期与心室颤动阈值呈正相关,提示DIDS可能通过延长肥厚心肌的心室有效不应期，从而提高肥厚心肌的心室颤动阈值。从心肌动作电位形成和心室有效不应期的离子通道机制出发，钠通道的性状是影响心室有效不应期的主要因素。Zhou等[3]研究表明,DIDS对钠通道存在抑制作用;有研究提示10周龄SHR大鼠左室肥厚心肌钠通道电流密度没有明显变化[6],以上这些提示DIDS可能通过抑制左室肥厚心肌钠通道电流，从而延长左室肥厚心肌的心室有效不应期。Dai等[9]研究提示心室有效不应期与动作电位时程的比值(VERP/APD)增大,有利于降低心肌复极离散度，从而减少因折返活动导致的恶性室性心率失常的发生。DIDS可能通过延长左室肥厚心肌心室有效不应期,增大VERP/APD,从而提高左室肥厚心肌的电稳定性，通过提高心室颤动阈值体现出来。

综上所述,DIDS对左室肥厚心肌电生理存在明显的影响作用，有利于提高左室肥厚心肌的电稳定性。

参考文献：

[1] Kahan T, Bergfeldt L. Left ventricular hypertrophy in hypertension: its arrhythmogenic potential [J]. Heart, 2005,91(2):250-256.

[2] 苏耀勋,苏正辉. 心律失常和心脏新猝死的常见原因[J]. 新医学,2002,33(3):138-139.

[3] Zhou SS. Cl-Channels: What role do they play in mammalian heart? [J]. Sheng Li Xue Bao, 2006,58(2):104-109.

[4] 黄至斌,伍 卫,韦育林,等. 自发高血压大鼠心肌肥厚与心室颤动阈值的关系[J]. 中山大学学报:医学科学版,2006,27(1):76-79.

[5] 方 昶,伍 卫,黄至斌,等. 不同剂量血管紧张素-(1-7)对心力衰竭大鼠心室有效不应期及心室颤动阈值的影响[J].中山大学学报:医学科学版,2006,27(3):297-301.

[6] 黄至斌,伍 卫,方 昶,等. 肥厚心肌钠通道电流[J]. 中华高血压杂志,2007,15(3):241-245.

[7] Chiang CE, Luk HN, Wang TM. Swelling-activated chloride current is activated in guinea pig cardiomyocytes from endotoxic shock [J]. Cardiovasc Res, 2004,62(1):96-104.

[8] 徐洪涛,高连茹,杨 晔,等. 氯通道阻滞剂DIDS对心室肌容积调节氯通道电流的作用[J]. 心肺血管病杂志,2006,25(1):46-49.

[9] Dai DZ. Two patterns of ion channelopathy in the myocardium: perspectives for development of anti-arrhythmic agents [J]. Curr Opin Investig Drugs, 2005,6(3):289-297.

(编辑 孙慧兰)