

# 大鼠移植心心电图改变与急性排斥相关关系

陈振光<sup>1</sup>, 孙培吾<sup>1</sup>, 李树浓<sup>2</sup>, 蔡丽娥<sup>3</sup>, 李艳<sup>2</sup>, 张秀明<sup>2</sup>, 张希<sup>1</sup>

(中山医科大学 1. 附属第一医院心胸外科, 2. 病理生理教研室, 3. 附属第一医院放射介入科, 广东 广州 510080)

**摘要:**【目的】观察体表心电图指标与移植心脏心肌排斥病理改变和主要组织相容性(MHC) II类抗原表达的相关程度, 探讨其监测术后急性排斥的可能性。【方法】建立大鼠颈部心脏移植模型, 记录心电图, 同时摘取供心检测排斥病理改变和MHC II类抗原表达。【结果】QT间期和R-R间期标准差随着心肌急性排斥病变的加重而逐渐增加, 同时与心肌急性排斥病变和MHC II类抗原表达相关, QRS电压降低和R-R间期的改变并不显著。【结论】心电图QT间期和R-R间期标准差也许可用于心脏移植术后监测急性排斥, 为选择心内膜心肌活检时间提供参考。

**关键词:** 心脏移植; 大鼠; 心电图描记术; 移植物排斥

中图分类号: R654.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)04-0245-03

## The Correlationship Between Electrocardiogram and Acute Rejection of Rat Transplanted Heart

CHEN Zhen-guang<sup>1</sup>, SUN Pei-wu<sup>1</sup>, LI Shu-nong<sup>2</sup>, CAI Li-e<sup>3</sup>, LI Yan<sup>2</sup>, ZHANG Xiu-ming<sup>2</sup>, ZHANG Xi<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, First Affiliated Hospital, 2. Department of Pathophysiology, 3. Department of Radiological Intervention, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】To observe the correlationship of surface electrocardiogram parameters changing, myocardial pathological alteration and major histocompatibility complex (MHC) class II antigen expression in acute rejecting transplanted hearts. 【Methods】Cervical heart transplantation were performed in rats and surface electrocardiogram were recorded. Myocardial pathological changing and class II MHC antigen expression were checked. 【Results】QT interval and standard deviation of RR interval increased accompanying with myocardial pathological alteration of transplanted hearts. And they correlated with myocardial pathological changing and expression of class II MHC antigen significantly. However, QRS amplitude decreasing and RR interval changing were not significant. 【Conclusions】QT interval and standard deviation of RR interval maybe helpful to observe the cardiac acute rejection.

**Key words:** heart transplantation; rat; electrocardiogram; graft rejection

体表心电图(ECG)是心脏手术后较常用和无创伤的监护手段, 其指标改变能否反映心脏移植术后供心急性排斥反应的变化一直存有争议。有人报道移植心脏发生急性排斥时可出现QRS波群电压降低超过10%、心率突然改变、突然心律失常等现象<sup>[1]</sup>, 但也有报道指出影响上述指标的因素较多, 对术后急性排斥诊断特异性不高<sup>[2]</sup>。针对婴幼儿心脏移植仍有人采用体表心电图监测而反复进

行心内膜心肌活检又有一定困难的问题, 本文观察体表心电图指标与移植心脏心肌排斥病理改变的相关程度, 以探讨监测术后急性排斥的可能性。同时急性排斥病变起始于移植物植入受体后宿主识别移植物主要组织相容性(MHC) II类抗原, 利用免疫组化技术可以检测到MHC II类抗原的存在, 研究上述指标与该抗原表达相关关系也有助于了解其能否在一定程度上反映供心急性排斥。

收稿日期: 2001-03-23

基金项目: 中山医科大学 211 工程基金资助项目(201102); 广东省五个一科教兴国工程科研基金资助项目(1997)

作者简介: 陈振光(1970-), 男, 广东广州人, 在职博士生, 讲师。

©1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

## 1 材料与方 法

### 1.1 心脏移植模型及心电图检测

1.1.1 实验动物 清洁级 Wistar 大鼠 40 只, SD 大鼠 28 只, 体质量 350~450 g, 雌雄不限, 中山医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 模型建立 采用 Heron 袖套法手术。20 g/L 戊巴比妥 40 mg/kg 腹腔注射麻醉。Wistar 系作受体, 取颈前右侧切口, 游离颈外静脉和颈总动脉, 近颅侧结扎, 近锁骨下静脉端无创血管夹阻断后离断, 肝素生理盐水冲洗近心端并缝牵引线, 用 0.4 cm 长套管套于血管外面, 显微镊将血管壁翻下套于套管上并环扎。SD 系作供体, 取腹正中切口, 上翻前胸廓, 结扎上下腔静脉, 下腔静脉注入冷肝素液并切开右肺静脉, 心脏表面放冰, 心脏逐渐变白。升主动脉和肺动脉后置双重丝线结扎下方所有血管, 剪断肺动脉和主动脉后于集束结扎处离断, 摘除心脏。冷肝素液略作冲洗。将供心主动脉套在受体颈总动脉、肺动脉套在受体颈外静脉套管上并环扎, 开放血管夹后供心立即充血、转红并自动复跳, 缝合皮肤。

1.1.3 心电图检测 移植心复跳后用单导联心电图仪(日本 Nihon Kohden 公司 6511 型)记录供心电图, 双下肢导联固定于受体鼠双上肢, 双上肢导联固定于受体鼠双耳后, 供心、受体鼠心脏心电可能相互叠加, 如叠加显著用另一心电图仪同时记录受体鼠心电图以排除受体心电波形。术后供心跳动超过 24 h 为手术成功, 24 h 内移植心停跳为手术失败, 心电活动消失为移植心死亡标志。

### 1.2 移植心脏心肌活检

切取部分左、右心组织行 HE 染色, 切片在光镜下分析, 按国际心脏移植学会(ISHT)1990 年心脏排斥反应诊断标准进行病理学分级<sup>[3]</sup>: 0 级, 无排斥反应; 1 级, 轻度急性排斥反应, 间质中大淋巴细胞浸润, 无心肌坏死; 2 级, 中度急性排斥反应, 局灶性大淋巴细胞浸润, 伴或无心肌坏死; 3A 级, 中度急性排斥反应, 多灶性大淋巴细胞浸润, 伴或无心肌坏死; 3B 级, 重度急性排斥反应, 弥漫性界限性炎症病变, 伴心肌坏死; 4 级, 重度急性排斥反应, 弥漫性炎症病变, 伴心肌坏死、水肿和血管炎。

### 1.3 MHC II 类抗原检测

1.3.1 试剂 针对 Wistar 大鼠 MHC II 类抗原 I-

A 区的单克隆抗体 Ia(OX6)(美国 PharMingen 公司产品), 免疫组化 EnVision<sup>TM</sup> 显色系统(丹麦 DAKO 公司产品)。

1.3.2 免疫组织化学检测 取出移植心脏部分心肌组织制成 5  $\mu$ m 冰冻切片(英国 Shandon 切片机), 无水乙醚和无水乙醇(1:1)混合液固定 10 min, 蒸馏水漂洗 5 min, PBS 洗 3 次, 每次 3 min。阻断剂孵育 10 min 阻断内源性过氧化物酶, 蒸馏水漂洗, 加入 1:50 稀释的单克隆抗体 OX6 37  $^{\circ}$ C 孵育 40 min, PBS 漂洗, 加入过氧化物酶标记的二抗, 37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min, PBS 漂洗, 加入 DAB 色源底物孵育 10 min, 蒸馏水漂洗。Mayer's 苏木素染核, 水洗返蓝, 脱水透明封片。

1.3.3 定量分析 光学显微镜(Olimpus)摄取图像后, 通过彩色图像输入仪(JVC ky-F 30 B 3-CCD)输入全自动图像分析系统(德国 Kontron IBAS 2.5)进行图像分析。每个切片以放大 40 倍随机选取多个视野, 将 MHC II 类抗原阳性细胞面积除以相应观测视野面积, 取百分数作阳性细胞面积百分比。

### 1.4 分组及数据记录

异系移植 28 次, 分批于术后 4、6、8 d 摘取供心; 同系移植 6 次, 术后 8 d 摘取供心。供心摘取后即行 HE 染色了解病理学分级, 并将异系移植动物分为 A(2 级排斥)、B(3A 级排斥)、C(3B 级排斥)、D(4 级排斥)4 组, 同系移植动物作对照组, 同时检测 MHC II 类抗原。模型建立成功、移植心脏跳动平稳后即记录首次心电图, 摘取移植心脏前亦记录心电图, 统计 QT 间期、QRS 波电压、RR 间期、RR 间期标准差等指标, 与首次心电图比较获得增加或降低的百分比值。

### 1.5 统计处理

所有数据以均数  $\pm$  标准差表示, 采用 SPSS for Windows 10.0 版软件进行统计学处理, 均数比较采用方差分析, 方差不齐时用 Kruskal-Wallis *H* 检验, 不同变量间进行相关分析, 检验水平  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结 果

各组心电图指标改变和心肌 MHC II 类抗原阳性表达细胞面积结果见表 1, 相关分析结果见表 2。从表 1 中可以发现, QT 间期和 R-R 间期标准差随着心肌急性排斥病变的加重而逐渐增加( $P = 0.025$  和  $0.028$ ), QRS 电压降低和 R-R 间期的改变

并不显著。QT间期在2、3A级排斥时分别增加5.38%和5.21%，在3B排斥时增加8.49%，4级排斥时增加接近20%。R-R间期标准差在2级排斥时增加17.15%，3A级时增加32.02%，3B和4级排斥时增加在50%左右。从表2中可以发现，QT间

期的改变与心肌急性排斥病变呈明显正相关( $r = 0.625, P = 0.002$ )，R-R间期标准差的改变与心肌急性排斥病变和心肌MHC II类抗原表达均呈正相关( $r = 0.636$ 和 $0.506, P = 0.002$ 和 $0.019$ )。

表1 急性排斥病理不同分级时供心心电图指标、MHC II抗原阳性表达的比较  
Table 1 The comparison of ECG parameters and class II MHC antigen expression among pathological groups in acute rejecting grafted hearts

Group	n	Standard deviation of R-R interval increasing(%)	R-R interval increasing(%)	Q-T interval increasing(%)	QRS amplitude decreasing(%)	MHC II antigen expression(%)
Control	6	3.09±1.91	1.07±1.36	1.15±0.71	2.53±0.31	0
A	7	17.15±14.30	3.93±2.12	5.38±4.23	5.28±0.26	2.02±0.16
B	7	32.02±18.56	11.06±0.55	5.21±0.02	3.22±0.20	2.00±0.05
C	8	44.77±22.83	4.25±2.97	8.49±4.02	5.87±0.14	10.86±0.96
D	6	57.55±17.85	2.57±0.78	19.19±8.29	7.51±0.13	13.00±1.51
P		0.028 <sup>1)</sup>	0.500	0.025 <sup>2)</sup>	0.617	0.009 <sup>3)</sup>

1) Compared among four groups,  $P < 0.05$ ; 2) There was not satisfied in homogeneity-of-variance and Kruskal-Wallis  $H$  test was used,  $\chi^2 = 8.322, P < 0.05$ , and 3)  $\chi^2 = 9.377, P < 0.05$

表2 供心心电图指标与心肌活检和MHC II类抗原阳性表达相关关系  
Table 2 The correlationship of ECG parameters and pathological alterations or class II MHC antigen expression in acute rejecting grafted hearts

ECG parameters	Correlationship with pathological alterations		Correlationship with class II MHC antigen expression	
	r	P	r	P
Q-T interval increasing(%)	0.625	0.002		0.095
QRS amplitude decreasing(%)		0.050		
Standard deviation of R-R interval increasing(%)	0.636	0.002	0.506	0.019
R-R interval increasing(%)		0.636		0.463

### 3 讨论

心脏手术后常采用体表心电图监护,操作快捷、无创,可连续观察,但其指标改变能否反映心脏移植后急性排斥一直存有争议。有人指出移植术后若QRS波电压降低平均超过10%,或者QT时间延长超过10%,可考虑供心发生急性排斥。本组中将移植心脏按急性排斥病理分级后,发现不同程度排斥时QT间期有相关性变化,与国外报道相似,但QRS波电压的降低则缺乏相关性。本组研究观察

发现若QT间期增加超过5%时已有可能提示移植心出现轻中度排斥,超过8%时可能发生重度排斥,提示QT间期延长在监测急性排斥中的意义。发生急性排斥时供心QT间期的相应改变也许与排斥反应的不均匀分布有关。作者在同期实验中还发现供心表达MHC II类抗原并非均匀,说明急性排斥也非均匀分布。QT间期代表心室除极与复极过程的总时间,由于移植心脏缺乏自主神经系统控制,心肌细胞浊肿变性、坏死以及心脏各部分排斥反应的不均匀分布对除极和复极的影响

(下转第273页)

的升高,因而可以早期监测到脑损伤的变化趋势。如在ICU内常规检测血清S-100蛋白水平,有助于体外循环术后脑损伤的早期发现与诊断,有利于及时采取适当有效的治疗,预防和减轻体外循环术后脑损伤的后遗症。

#### 参考文献:

- [1] 杨 静. 体外循环的脑缺血和脑保护[J]. 国外医学麻醉学与复苏分册, 1996, 17(4): 222.
- [2] Westaby S, Johnsson P, Parry A J, *et al.* Serum S100 protein: a potential marker for cerebral events during cardiopulmonary bypass[J]. *Ann Thorac Surg*, 1996, 61(1): 88.
- [3] Rosen H, Rosengren L, Herlitz J, *et al.* Increased serum

levels of the S-100 protein are associated with hypoxic brain damage after cardiac arrest[J]. *Stroke*, 1998, 29(2): 473.

- [4] Taggart D, Mazel J W, Bhattacharya K, *et al.* Comparison of serum S-100 $\beta$  levels during CABG and intracardiac operation [J]. *Ann Thorac Surg*, 1997, 63(2): 492.
- [5] Lindberg L, Olsson A-K, Anderson K, *et al.* Serum S-100 protein levels after pediatric cardiac operations: a possible new marker for postperfusion cerebral injury[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1998, 116(2): 281.
- [6] Johnsson P, Lundqvist G, Lindgren A, *et al.* Cerebral complications after cardiac surgery assessed by S-100 and NSE levels in blood[J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 1995, 9(6): 1.

(编辑 刘清海)

(上接第247页)

比较明显,也许是造成QT间期相关性变化的原因。

心脏移植术后急性排斥时常有心率突然增加或降低的报道<sup>[4]</sup>,心率的突然改变是定性指标,临床应用时较难判断。本组中观察心电图RR间期标准差,代表心率的变化幅度,希望能将心率的变化规律转为量化的观察指标。结果显示RR间期标准差的增加幅度与心肌排斥病变程度有正相关性,与国外报道相似<sup>[3]</sup>,2级排斥时该指标增加17%,4级排斥时增加55%,同时也发现该指标与供心MHC II类抗原表达有正相关性,提示当移植术后观察到供心心率的变化幅度增加超过17%时最好及时进行心内膜心肌活检。RR间期标准差的相关变化也许与移植心脏内在的自主神经系统有关。心脏移植术后供心呈去神经支配状态,与受体交感和副交感神经系统缺乏直接联系,近年却发现移植心脏儿茶酚胺摄取部位明显增加<sup>[5]</sup>,且有证据显示心脏本身存在输入和交感节后输出神经元,说明移植心脏也许存在内在的自主神经系统<sup>[6]</sup>,供心发生排斥时其内在自主神经系统受心肌炎症水肿影响后导致心率变化幅度的改变,该改变可被应用免疫抑制药物抗排斥治疗逆转<sup>[3]</sup>。

本组研究提示体表心电图某些指标与移植心脏心肌排斥病变程度和供体MHC II类抗原表达相关,也许可用于心脏移植术后、尤其是婴幼儿移植术后的持续监测,为选择心内膜心肌活检的时间提

供参考,而最后诊断移植心脏急性排斥仍需依靠心内膜心肌活检。

#### 参考文献:

- [1] Everett J E, Irwin E, Jessorun J, *et al.* Noninvasive diagnosis of cardiac allograft rejection: the effect of procainamide [J]. *J Invest Surg*, 1995, 8(3): 195.
- [2] Ono K, Wada T, Hadama T, *et al.* Detection of acute cardiac rejection by analysis of heart rate variability in heterotopically transplanted rats [J]. *J Heart Lung Transplant*, 1999, 18(6): 499.
- [3] Billingham M E, Cary N R B, Hammond M E, *et al.* A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: heart rejection study group [J]. *J Heart Lung Transplant*, 1990, 9(6): 587.
- [4] Haberl R, Manz C, Steinbigler P, *et al.* Can ECG spectral analysis improve the noninvasive surveillance of acute rejection [J]? *Transplant Proc*, 1998, 30(3): 900.
- [5] Schwaiger M, Hutchins G D, Kalf V, *et al.* Evidence for regional catecholamine uptake and storage sites in the transplanted human heart by position emission tomography [J]. *J Clin Invest*, 1991, 87(5): 1681.
- [6] Uberfuhr P, Frey A W, Ziegler S, *et al.* Sympathetic reinnervation of sinus node and left ventricle after heart transplantation in humans: regional differences assessed by heart rate variability and position emission tomography [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2000, 19(4): 317.

(编辑 张敏瑞)