

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170519.001

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170519.1026.002.html>

缺铁性贫血合并心衰豚鼠乳头肌电生理的变化

范凌¹, 陈立锋², 范静³

(1.河北北方学院附属第一医院血液科, 2.河北北方学院基础医学院生理教研室, 3.河北张家口市第六医院妇产科, 河北张家口 075000)

[摘要] **目的:**探讨缺铁性贫血合并心衰豚鼠左心室乳头肌动作电位的变化。**方法:**制备缺铁性贫血合并心衰豚鼠模型 20 例为实验组, 正常豚鼠 10 例为对照组。取血测定血红蛋白含量、红细胞数和全血铁指标, 利用 RM6240 生物信号采集系统检测两组动物心功能和血流动力学的改变情况, 确定造模是否成功; 采用细胞内微电极技术测定模型组和对照组乳头肌动作电位, 测定静息电位(RP)、超射值(OS)、动作电位幅值(APA)、0 相最大除极速率(V_{max})、复极 20%、50% 和 90% 时间(APD_{20} 、 APD_{50} and APD_{90})及复极化平均速度, 比较模型组和对照组之间有无统计学差异。**结果:**模型组存活的 14 例全部造模成功, 模型组与对照组相比, APD_{50} 、 APD_{90} 延长($P < 0.01$), 复极化平均速度减慢($P < 0.01$)。**结论:**缺铁性贫血合并心衰豚鼠乳头肌动作电位复极化时程延长, 平均复极化速度减慢。

[关键词] 缺铁性贫血合并心衰; 豚鼠模型; 乳头肌; 动作电位

[中图分类号] R556.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)08-1014-02

Electrophysiological changes of Papillary Muscles in Guinea Pigs with iron deficiency anemia and heart failure

FAN ling¹, CHEN-li feng², FAN jing³

(1. Department of Hematology, First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, 075000, Hebei Province, 2. Department of physiology, Basic Medical College, Hebei North University, Zhangjiakou, 075000, Hebei Province, 3. Department of Obstetrics and Gynecology, the Sixth Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou, 075000, Hebei Province)

[Foundation Project]: Supported by Project of Science and Technology Studies and development planning (Grand No. 1321078D)

[Author]: FAN Ling (1979-), Female, from Zhangjiakou Hebei, Attending Physician, Tel: 18931316102, E-mail: zjklf@163.com.

Received: 2017-05-18 Revised: 2017-05-29

JHMC, 2017; 23(8): 1014-1015

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the changes of left ventricular papillary muscle action potentials in guinea pigs with iron deficiency anemia and heart failure. **Methods:** 20 cases of iron deficiency anemia with heart failure were treated with experimental group and 10 normal guinea pigs as control group. Blood samples were collected to determine hemoglobin content, red blood cell number and whole blood iron index, and the changes of cardiac function and hemodynamics were detected by 6,240 biological signal collection system to determine whether the model was successful or not, Intracellular microelectrode technique was used to determine the action potentials of the papillary muscles in the model group and the control group. the potential amplitudes (APA), overshoot values (APA), maximum depolarization rate (V_{max}), 20 % of repolarization, 50 % and 90 % of repolarization (APD_{20} , APD_{50} and APD_{90}) and the average velocity of repolarization were measured. Compare statistical difference between the model group and the control group. Results: 14 cases of model group survived completely, compared with control group, APD_{50} and APD_{90} prolonged ($P < 0.01$), and the average velocity decreased ($P < 0.01$). Conclusions: the action potential repolarization duration in the guinea pig papillary muscle of iron deficiency anemia with heart failure is prolonged, and the average repolarization velocity is slow.

[KEY WORDS] Iron deficiency anemia with heart failure; Guinea pig model; Papillary muscle Action potential

[基金项目] 张家口市 2013 年度科学技术研究与发展计划项目(1321078D)

[作者简介] 范凌(1979-), 女, 河北张家口人, 主治医师, 电话: 18931316102, E-mail: zjklf@163.com.

[收稿日期] 2017-05-18 [修回日期] 2017-05-29 网络出版时间: 2017-05-19 10:26

在临床上,贫血合并心衰是一种比较常见的疾病^[1-3],但是,贫血合并心衰对乳头肌的电生理的影响至今无人报道,我们前期成功建立了缺铁性贫血合并心衰豚鼠模型,为了探索贫血合并心衰对乳头肌电生理的影响,设计了本试验。

1 材料与方法

1.1 实验对象

豚鼠 30 只,雌雄均可,体重(350±450)g,由河北北方学院实验动物中心提供。实验期间控制每天光照时间为 12 h,饲养环境的温度 22℃~25℃,保证室内通风干燥。

1.2 方法

1.2.1 分组 健康豚鼠随机分为两组,一组 20 只,是实验组(缺铁性贫血合并心衰组):喂食低铁饲料,含铁约 11.7 mg/kg,饮用去离子水^[4];按 1.0 mg/(kg·d)皮下注射异丙肾上腺素 2 周,2 周后逐渐增加药量至 2.0 mg/(kg·d),给药时间共计 6 周^[5]。另一组 10 只,是对照组:喂饲富铁饲料,铁质量分数约为 144 mg/kg,饮用自来水;每日皮下注射与实验组药量等体积的生理盐水,时间与实验组一致。

1.2.2 贫血及心功能各观察指标测定 喂养 6 周后,对存活的豚鼠行右侧颈总动脉插管,利用 RM6240 生物信号采集系统测定:心率(HR)、血压(BP)、左室收缩压(LVSP)、左室舒张压(LVDP)、左室舒张末压(LVEDP)、左室收缩最大速率(+dp/dtmax)以及左室舒张最大速率(-dp/dtmax)等参数。血流动力学测定后,颈动脉放血 1 mL,测定血红蛋白浓度、红细胞数及全血铁指标。血红蛋白浓度测定采用氰化高铁法。红细胞数采用红细胞计数板通过低倍显微镜计数。全血铁指标采用原子吸收法测定。

1.2.3 乳头肌标本制备及电位引导 测完心功能和颈动脉取血后迅速开胸取出心脏,取下乳头肌置于 O₂ 饱和的改良 Locke 液(NaCl 0.157 mol/L, KCl 0.56×10⁻² mol/L, CaCl₂ 21×10⁻² mol/L, NaHCO₃ 18×10⁻² mol/L, 葡萄糖 0.56×10⁻² mol/L)中。标本制备参见文献^[6]。制好的标本以不锈钢针固定于灌流槽内的硅橡胶上,用(36±0.5)℃的改良 Locke 液恒温、恒速灌流,流速为 5 mL/min,灌流液中持续充纯 O₂, pH 7.4。采用标准玻璃微电极细胞内引导技术记录心室肌细胞动作电位。玻璃微电极充以饱和 KCl 电极液后,直流电阻为 10~20 MΩ。将引导电极插入标本的心室肌细胞中,将刺激电极置于标本的心肌组织上,给予波宽 2 ms、1 Hz、两倍阈强度的方波刺激(YC-2 型刺激器,成都仪器厂)。动作电位经 SWF-1B 型微电极放大器(成都仪器厂生产)放大,经 RM6280C 多道生理信号采集系统(成都仪器厂生产)输入微机,自动显示电信号,并分析动作电位的各项参数指标。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 16.0 统计软件包进行方差齐性检验,方差齐的资料多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较用两样本均数 t 检验,计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 两组心功能指标的比较

模型组与对照组相比, BP 显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$); LVSP、LVDP、和 +dp/dtmax、-dp/dtmax 的绝对值均显著降低, LVEDP 显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 两组心功能指标的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HR (time/min)	BP (mmHg)	LVSP (mmHg)	LVDP (mmHg)	LVEDP (mmHg)	+dp/dtmax (mmHg)	-dp/dtmax (mmHg)
对照组	10	243.2±22.6	51.34 ±6.68	66.39 ±6.21	-5.28 ±1.51	1.12 ±0.81	2 986.74 ±493.72	-2 957.87 ±511.96
模型组	14	231.3±38.7	40.49 ±6.76*	52.57 ±6.81*	-2.16 ±1.76*	5.48 ±1.51*	1 881.23 ±413.51*	-1 868.19 ±403.75*

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$ 。

2.2 两组血液贫血指标比较

模型组豚鼠血红蛋白含量、红细胞计数和血清铁含量均小于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2。

2.3 两组左心室乳头肌动作电位指标的比较

模型组和对对照组相比 APD₅₀、APD₉₀ 明显延长,复极化平均速度明显减慢,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。见表 3。

表 2 两组豚鼠贫血指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	血红蛋白浓度 (g/L)	红细胞计数 (×10 ¹² /L)	Fe (mg/L)
对照组	10	146.28±15.37	6.19±0.53	451.38 ± 51.87
模型组	14	85.13±18.55*	4.15±0.82*	367.41 ± 54.63*

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$ 。

表 3 两组左心室乳头肌动作电位指标的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	振幅 (mV)	静息电位 (mV)	超射幅度 (mV)	APD ₂₀ (ms)	APD ₅₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)	最大上升速度 (V/s)	复极化平均速 (mV/s)
对照组	119.76±3.53	88.71±3.69	31.05±1.18	121.98±6.77	216.82±5.13	245.63±7.12	218.63±5.68	340.83±14.75
模型组	118.23±3.38	88.03±2.97	30.19±1.05	124.81±9.36	231.7±5.89*	270.91±8.08*	217.71±6.37	280.06±13.91**

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$ 。

3 讨论

在临床上,长期贫血可导致慢性心衰;慢性心衰也常常合并贫血。为了对该病进行详细的研究,我

们成功建立了缺铁性贫血合并心衰豚鼠模型。

本研究采用低铁饲料和去离子水喂养豚鼠 6 周

(下转第 1019 页)

- stroke with and without the use of paddles[J]. *J Hum Kinet*, 2014, 9(40): 171-180.
- 4 Li S, Sun X, Bai YM, et al. Infarction of the corpus callosum: a retrospective clinical investigation[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0120409.
 - 5 Yaidikar L, Thakur S. Punicalagin attenuated cerebral ischemia-reperfusion insult via inhibition of proinflammatory cytokines, up-regulation of Bcl-2, down-regulation of Bax, and caspase-3[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 402(1-2): 141-148.
 - 6 Liang K, Ye Y, Wang Y, et al. Formononetin mediates neuroprotection against cerebral ischemia/reperfusion in rats via down-regulation of the Bax/Bcl-2 ratio and upregulation PI3K/Akt signaling pathway[J]. *J Neurol Sci*, 2014, 344(1-2): 100-104.
 - 7 Ye H, Wang L, Yang XK, et al. Serum S100B levels may be associated with cerebral infarction: a meta-analysis[J]. *J Neurol Sci*, 2015, 348(1-2): 81-88.
 - 8 Goksuluk H, Gulec S, Ozcan OU, et al. Usefulness of Neuron-Specific Enolase to Detect Silent Neuronal Ischemia After Percutaneous Coronary Intervention[J]. *Am J Cardiol*, 2016, 117(12): 1917-1920.
 - 9 Casey AF, Mackay-Lyons M, Connolly EM, et al. A comprehensive exercise program for a young adult male with Down syndrome who experienced a stroke[J]. *Disabil Rehabil*, 2014, 36(17): 1402-1408.
 - 10 Jeong CH, Kim SM, Lim JY, et al. Mesenchymal stem cells expressing brain-derived neurotrophic factor enhance endogenous neurogenesis in an ischemic stroke model[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 129145.
 - 11 Huang F, Wu Y, Wang H, et al. Effect of controlled release of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 from collagen gel on neural stem cells[J]. *Neuroreport*, 2016, 27(2): 116-123.
 - 12 Ma C, Zhou W, Yan Z, et al. Toll-like Receptor 4 (TLR4) is Associated with Cerebral Vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage[J]. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2015, 55(12): 878-884.
 - 13 Wang Y, Ge P, Yang L, et al. Protection of ischemic post conditioning against transient focal ischemia-induced brain damage is associated with inhibition of neuroinflammation via modulation of TLR2 and TLR4 pathways[J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 24(11): 15.
 - 14 Ye EA, Steinle JJ. miR-146a Attenuates Inflammatory Pathways Mediated by TLR4/NF- κ B and TNF α to Protect Primary Human Retinal Microvascular Endothelial Cells Grown in High Glucose[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 3958453.
 - 15 Tao Z, Cheng M, Wang SC, et al. JAK2/STAT3 pathway mediating inflammatory responses in heatstroke-induced rats[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6732-6739.
 - 16 Raible DJ, Frey LC, Brooks-Kayal AR. Effects of JAK2-STAT3 signaling after cerebral insults[J]. *JAKSTAT*, 2014, 12(3): e29510.

(上接第 1015 页)

后,存活的 14 只模型组豚鼠生长缓慢、体重减轻;耳、脚爪都出现明显苍白;皮毛无光泽、发黄;对刺激反应差,活动能力差,喜欢缩成团;豚鼠血红蛋白含量、红细胞计数和血清铁含量均小于对照组;BP 显著降低,差异有统计学意义;LVSP、LVDP、和 +dp/dtmax、-dp/dtmax 的绝对值均显著降低, LV-EDP 显著升高,差异有统计学意义;以上症状、体征和辅助检查均说明模型组豚鼠出现了贫血和心衰。

我们测定了模型组和对照组豚鼠血浆和乳头肌中动作电位,发现模型组和对照组相比 APD₅₀、APD₉₀ 明显延长($P < 0.01$),复极化平均速度明显减慢($P < 0.01$),其机制可能是由于复极化时外向的 K⁺ 电流下调和(或)内向的 L-Ca²⁺ 电流的上调造成的。贫血合并心衰时可经过复杂的神经体液机制,导致了离子通道功能出现障碍,例如,导致 hERG/IKr 通道功能障碍,使心肌细胞复极延迟^[7]。由于心肌复极化时程的延长,贫血合并心衰时极易发生心律失常^[8]。通过我们的研究,说明贫血合并心衰时心肌细胞的电生理特性出现了异常,这可能是其易发心律失常的机制之一,其详细机制有待

进一步设计实验去研究。

参考文献

- 1 Pozzo J, Fournier P, Delmas C, et al. Absolute iron deficiency without anaemia in patients with chronic systolic heart failure is associated with poorer functional capacity[J]. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 2017, 110(2): 99.
- 2 范新俊, 马礼坤.慢性心力衰竭合并贫血临床特征分析[J].*中国现代医学杂志*, 2016, 26(14): 82-86.
- 3 张斌,陈赛勇,曲环.促红细胞生成素治疗老年心力衰竭合并贫血的临床疗效及安全性[J].*中国临床药理学杂志*, 2016, 32(9): 792-794.
- 4 于飞,郝帅,杨博,等.发育期适度缺铁性贫血致新生豚鼠耳蜗毛细胞凋亡[J].*广东微量元素科学*, 2013, 20(4): 1-5.
- 5 谭武红,杜晓阳,刘健,等.抗心衰复方对豚鼠慢性心力衰竭的实验研究[J].*四川大学学报医学版*, 2009, 40(1): 89-92.
- 6 陈立锋,马淑红,范凌,等. H2S 对兔左心室心肌细胞电生理事件特性的影响[J].*神经生理学报*, 2009, 26(2): 7-11.
- 7 汪和贵,王森,陈艳红,等. β 1-AR 对心衰心肌细胞快激活延迟整流钾电流的调控机制[J].*中国药理学通报*, 2014(6): 857-862.
- 8 杨溢,刘伟,陆秀红,等.2-甲硫基三磷酸腺苷可抑制兔慢性心力衰竭引起的室性心律失常[J].*中华心血管病杂志*, 2015, 43(3): 212-218.