

实验性顿抑心肌的微循环障碍

罗义¹, 刘伊丽², 查道刚², 黄晓波², 刘俭²

(1. 广州市第一人民医院心内科, 广东省广州市 510180;

2. 中国人民解放军第一军医大学南方医院心内科, 广东省广州市 510515)

[关键词] 病理生理学; 顿抑心肌微循环改变及机制; 二次谐波成像和间歇发射技术; 缺血, 心肌; 再灌注, 心肌; 微循环, 心肌; 心肌声学造影

[摘要] 为了探讨顿抑心肌微循环改变及机制, 制备左前降支冠状动脉不同阻断时间(15 min 和 60 min)后再灌注犬心肌顿抑模型, 在不同观察时间点静脉注射含全氟丙烷声振白蛋白微泡造影剂, 采用二次谐波成像和间歇发射技术行心肌声学造影, 计算心肌声学造影图像上心肌视频密度峰值、心肌声学造影曲线上升斜率和曲线早期下降斜率, 测定相应时间点冠状静脉窦血乳酸浓度。结果发现, 心肌顿抑早期心肌视频密度峰值显著增高, 1 h 后恢复至结扎前水平; 再灌注期顿抑区与正常区视频密度峰值比值、心肌声学造影曲线上升斜率比值、心肌声学造影曲线早期下降斜率比值显著高于左前降支冠状动脉结扎前, 随着再灌注时间的延长比值逐渐回降; 再灌注期冠状静脉窦血乳酸浓度明显增高。以上结果提示, 心肌顿抑早期心肌微循环处于“高动力”状态, 血流灌注增加与排空加快并存; 顿抑心肌缺氧代谢加强; 心肌内微循环短路可能是心肌顿抑微循环障碍的机制。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Microcirculatory Dysfunction in Experimental Myocardial Stunning

LUO Yi, LIU Yi-Li, CHA Dao-Gang, HUANG Xiao-Bo, and LIU Jian

(1. Department of Cardiology, Guangzhou First People's Hospital, Guangzhou, Guangdong 510180, China; 2. Department of Cardiology, Nanfang Hospital Affiliated to First Military Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

[KEY WORDS] Ischemia, Myocardial; Reperfusion, Myocardial; Microcirculation, Myocardial; Myocardial Contrast Echocardiography; Stunning, Myocardial; Dog

[ABSTRACT] **Aim** To research the intramyocardial microcirculatory derangement and its mechanism during myocardial stunning. **Methods** Twelve dogs underwent 15 or 60 min left anterior descending coronary artery (LAD) occlusion, followed by 120 min reperfusion. Another six dogs underwent sham operation. Myocardial contrast echocardiography (MCE) was performed intravenously using C3F8-exposed sonicated dextrose albumin and blood samples were taken from coronary venous sinus at different time points. Electrocardiogram gated end systolic images in short axis were acquired in harmonic mode and digitized on line. Background-subtracted peak videointensity (PVI), ascending slope (α) and early descending slope (β) of MCE curve in stunned and normal myocardium areas were measured from MCE. The ratios of PVI, α , and β between stunned and normal myocardium areas were calculated. **Results** A marked increase in PVI occurred in all dogs with stunned myocardium in the early period of reperfusion and the PVI restored to the pre-occlusion level after 60 min of reperfusion. The ratios of PVI, α , and β in the early period of reperfusion were significantly higher than the pre-occlusion levels, and gradually restored toward their pre-occlusion levels. Plasma lactic acid concentrations significantly increased in the early period of reperfusion, and restored to the pre-occlusion levels by 120 min after reperfusion in the 15-min LAD occlusion group, but not in the 60-min group. No changes in PVI, three ratios, and plasma lactic acid levels during the experiment were observed in the sham-operated group. **Conclusions** The microcirculation of stunned myocardium is hyperdynamic. The anaerobic metabolism of stunned myocardium enhances. The intramyocardial microcirculation “short” is a possible mechanism of the microcirculatory dysfunction of stunned myocardium.

心肌顿抑是一种可逆性心肌缺血再灌注损伤^[1,2], 其具体发生机制未明。顿抑心肌是否存在微循环障碍, 目前尚有争议^[3]。本研究应用静脉心肌

声学造影(myocardial contrast echocardiography, MCE)在犬心肌顿抑模型中观察不同缺血时间后再灌注心肌微循环改变, 并检测冠状静脉窦血乳酸浓度, 以探讨顿抑心肌内微循环改变的机制。

[收稿日期] 2002-07-08

[修回日期] 2002-12-16

[作者简介] 罗义, 男, 1963 年出生, 湖南湘潭市人, 副主任医师, 副教授, 医学博士, 硕士研究生导师, 主要研究方向为冠心病的基础和临床, E-mail: lylo@163.net。刘伊丽, 女, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 中华医学会广东省心血管学会副主任委员, 主要研究方向为冠心病的基础和临床。查道刚, 男, 主治医师, 讲师, 医学博士, 主要研究方向为心肌声学造影。

1 材料和方法

1.1 犬心肌顿抑模型建立

体重 13~18 kg 的雄性杂种犬随机分为短时间

缺血顿抑组(顿抑S组)、长时间缺血顿抑组(顿抑L组)和假手术组,以各组成功完成6只犬为目标。动物用戊巴比妥钠(35 mg/kg)静脉全麻后,气管插管连接呼吸机。经右股动脉插入猪尾管,经压力换能器连接多道生理记录仪,以监测主动脉压和左室压。右股静脉插入扩张管套鞘,用于静脉输液和注射超声造影剂。右颈静脉插入冠状静脉窦取血导管。左侧第5肋间开胸,充分暴露心前区,打开心包壁层,用丝线将心包吊起,使心脏悬卧于心包床上。分离左冠状动脉前降支近段,留置一结扎线。将一水囊置于心脏表面。顿抑S组前降支结扎15 min后再灌注2 h,顿抑L组前降支结扎60 min后再灌注2 h,假手术组不行冠状动脉结扎。全过程监测血流动力学和心电图。

1.2 静脉心肌声学造影

使用Acuson SEQUOIA 512超声诊断仪,探头频率为3.5 MHz。探头用夹子固定并置于水囊内,显示左室乳头肌水平短轴切面图。探头的位置和角度在整个实验中不变。调节增益以获得最佳图像并维持至实验结束。采用二次谐波成像和间歇发射技术行静脉MCE,心电图触发间隔为3个心动周期。弹丸式静脉注射含 C_3F_8 的声振白蛋白微泡造影剂全氟显(南方医院临床药学基地提供),用量0.01 mL/kg,于注射前后连续录取超声图像并记录到磁光盘供嗣后分析。MCE观测时点为前降支结扎前、结扎后即刻、再灌注前及再灌注后5、30、60、90、120 min。冠状静脉窦取血时点与MCE观察时点一致。

1.3 心肌标本处理

实验完毕后,将心脏取下,冰盐水浸洗,然后将心脏按短轴切面切成5 mm厚的心肌片,部分心肌片立刻置1%氯化三苯四唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)中,37℃染色20 min。此方法可使非梗死心肌染成砖红色,梗死心肌不被染色。

1.4 血浆乳酸浓度测定

自冠状静脉窦取血,导管抽血每次5 mL,立即离心分离血浆并保存于-70℃冰箱。采用酶法测定乳酸浓度(药盒购自英国Randox公司)。

1.5 心肌声学造影图像分析

使用TomTec图像工作站对MO光盘的图像视频密度进行定量分析。该图像工作站包括一款声学造影分析软件,可对造影效果进行0~255级的视频密度分析。确定左室前壁顿抑区和侧壁正常区,逐帧手工拖动感兴趣区,使之避开心内膜和心外膜并保持于同一室壁位置,电脑自动分析每一帧图像的感兴趣区并给出数据。扣除本底,获得每次MCE心

肌视频密度—时间曲线。以心肌视频密度峰值(peak videointensity, PVI)表示心肌血流灌注。计算曲线上斜率和曲线早期(心肌PVI减半时间前半时程内)下降斜率,分别代表心肌血流灌注速度和排空速度。

1.6 统计学方法

应用SPSS软件进行数据统计。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,同组自身前后均数比较使用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 被认为有统计学意义。

2 结果

顿抑S组和L组各有7、8只犬,分别有1、2只于再灌注早期死于心室颤动。前降支结扎过程中除可见到室性早搏外,所有犬均未发生其它并发症。前降支结扎期MCE示局部心肌无造影剂充填(图1C、D, Figure 1C, D; 图2C、D, Figure 2C, D),二维超声显像示局部室壁显著变薄并出现明显运动障碍。结扎解除后,原无造影剂充填区获得良好的造影剂充填(图1E~I, Figure 1E~I; 图2E~I, Figure 2E~I),再灌注期室壁厚度和运动虽有所改善,但直至再灌注120 min实验结束仍显示明显运动减弱,心肌TTC染色未发现梗死心肌,表明心肌顿抑模型建立成功。除外死亡犬后,动物模型建立的成功率为100%。

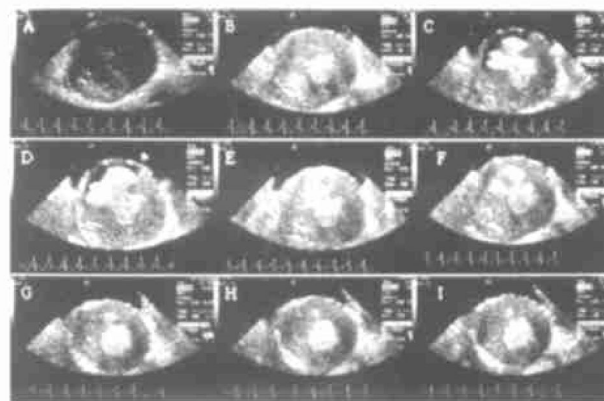


图1. 顿抑S组心肌声学造影图像 A: 结扎前背景; B: 结扎前; C: 结扎后瞬间; D: 再灌注前; E、F、G、H、I: 再灌注5、30、60、90和120 min后。

Figure 1. Myocardial contrast echocardiography images of stunning S group

2.1 顿抑心肌声学造影视频密度的变化

表1(Table 1)显示,顿抑S组心肌顿抑早期(再灌注30 min内)顿抑心肌PVI显著增高(图1E、F; Figure 1E, F),随后恢复至结扎前水平(图1G~I;

Figure 1G~ I)。顿抑 L 组 PVI 变化与顿抑 S 组相似 (图 2, Figure 2)。表 2 (Table 2) 显示, 顿抑 S 组和 L 组再灌注期顿抑区与正常区心肌 PVI 比值的变化与顿抑心肌 PVI 的变化相似, 唯恢复较慢。

2.2 顿抑区与正常区心肌声学造影曲线上升斜率比值变化

表 3 (Table 3) 和图 3 (Figure 3) 显示, 顿抑 S 组再灌注早期, 顿抑区与正常区 MCE 曲线上升斜率比值显著高于前降支结扎前, 随着再灌注时间延长, 此比值逐渐回降, 再灌注 120 min 时恢复至结扎前水平。顿抑 L 组此比值变化与顿抑 S 组相似, 但回降较快, 再灌注 60 min 时已恢复至结扎前水平 (图 3 和图 4 的正确性由作者本人负责)。

2.3 顿抑区与正常区心肌声学造影曲线早期下降斜率比值变化

表 4 (Table 4) 和图 4 (Figure 4) 显示, 顿抑 S 组再灌注期顿抑区与正常区 MCE 曲线早期下降斜率比值显著高于前降支结扎前, 随着再灌注时间的延长此比值逐渐回降, 但至再灌注 120 min 时尚未恢复

至结扎前水平。顿抑 L 组此比值变化与顿抑 S 组相似, 但回降较快, 再灌注 120 min 时已恢复至结扎前水平。

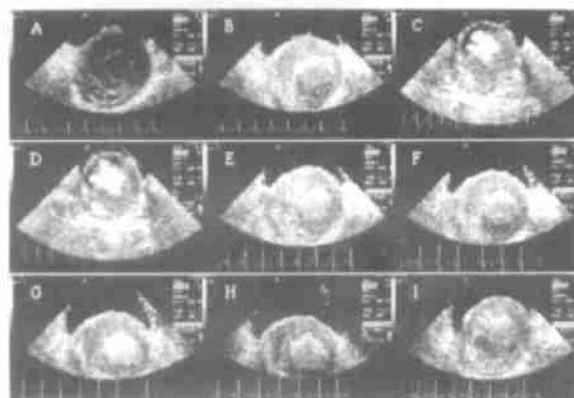


图 2. 顿抑 L 组心肌声学造影图像 A: 结扎前背景; B: 结扎前; C: 结扎后瞬间; D: 再灌注前; E、F、G、H、I: 再灌注 5、30、60、90 和 120 min 后。

Figure 2. Myocardial contrast echocardiography images of stunning L group

表 1. 静脉心肌声学造影顿抑区心肌视频密度峰值 (灰阶单位)

Table 1. Peak videointensity in stunned myocardium zone on myocardial contrast echocardiography

组 别	n	结扎前	再 灌 注				
			5 min	30 min	60 min	90 min	120 min
顿抑 S 组	6	99 ± 22	121 ± 24 ^{bd}	107 ± 22 ^a	100 ± 25	101 ± 25	98 ± 23
顿抑 L 组	6	103 ± 20	126 ± 26 ^{bd}	115 ± 23 ^c	108 ± 22	102 ± 19	102 ± 21
假手术组	6	101 ± 23	97 ± 19	104 ± 27	107 ± 20	98 ± 17	100 ± 23

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与同组的结扎前比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与假手术组比较。

表 2. 静脉心肌声学造影顿抑区与正常区心肌视频密度峰值比值

Table 2. The ratios of peak videointensity between stunned and normal myocardium on myocardial contrast echocardiography

组 别	n	结扎前	再 灌 注				
			5 min	30 min	60 min	90 min	120 min
顿抑 S 组	6	1.01 ± 0.03	1.29 ± 0.09 ^{bd}	1.34 ± 0.03 ^{bd}	1.18 ± 0.03 ^{bd}	1.10 ± 0.03 ^{bc}	1.05 ± 0.06
顿抑 L 组	6	1.02 ± 0.04	1.30 ± 0.08 ^{bd}	1.27 ± 0.05 ^{bd}	1.11 ± 0.04 ^{ac}	1.02 ± 0.04	0.98 ± 0.02
假手术组	6	1.00 ± 0.01	1.01 ± 0.02	1.00 ± 0.03	1.01 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.01 ± 0.02

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与同组的结扎前比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与假手术组比较。

表 3. 顿抑区与正常区静脉心肌声学造影曲线上升斜率比值

Table 3. The ratios of ascending slop of myocardial contrast echocardiography curve between stunned and normal myocardium zone

组 别	n	结扎前	再 灌 注				
			5 min	30 min	60 min	90 min	120 min
顿抑 S 组	6	1.01 ± 0.03	1.30 ± 0.11 ^{bd}	1.12 ± 0.06 ^{bc}	1.05 ± 0.02 ^a	1.04 ± 0.03 ^a	1.04 ± 0.04
顿抑 L 组	6	1.03 ± 0.04	1.23 ± 0.08 ^{bd}	1.10 ± 0.06 ^{ac}	1.06 ± 0.03 ^c	1.01 ± 0.02	0.99 ± 0.07
假手术组	6	1.02 ± 0.03	1.02 ± 0.03	1.01 ± 0.03	1.01 ± 0.03	1.01 ± 0.03	1.01 ± 0.03

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与同组的结扎前比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与假手术组比较。

表 4. 顿抑区与正常区静脉心肌声学造影曲线早期下降斜率比值

Table 4. The ratios of early descending slop of myocardial contrast echocardiography curve between stunned and normal myocardium zone

组 别	n	结扎前	再 灌 注				
			5 min	30 min	60 min	90 min	120 min
顿抑 S 组	6	1.02 ± 0.06	1.48 ± 0.26 ^{ab}	1.28 ± 0.24 ^{ab}	1.31 ± 0.22 ^{ab}	1.20 ± 0.11 ^{ab}	1.14 ± 0.09 ^a
顿抑 L 组	6	1.04 ± 0.08	1.94 ± 0.70 ^{ab}	1.65 ± 0.46 ^{ab}	1.40 ± 0.30 ^{ab}	1.30 ± 0.20 ^{ab}	1.18 ± 0.13
假手术组	6	1.03 ± 0.07	1.04 ± 0.05	1.06 ± 0.08	1.06 ± 0.04	1.04 ± 0.05	1.06 ± 0.04

a: $P < 0.05$, 与同组的结扎前比较; b: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

2.4 冠状静脉窦血乳酸浓度变化

表 5(Table 5) 显示, 顿抑 S 组再灌注早期冠状静脉窦血乳酸浓度显著高于前降支结扎前, 随着再灌注时间的延长血乳酸浓度逐渐回降, 至再灌注 120 min 时与结扎前水平已无显著性差别。顿抑 L 组再灌注前血乳酸浓度即明显升高, 再灌注早期进一步

升高, 随着再灌注时间的延长而逐渐回降, 但至再灌注 120 min 时尚未恢复至结扎前水平。

假手术组实验全过程心肌 PVI、顿抑区与正常区心肌 PVI 比值、MCE 曲线上升斜率比值、早期下降斜率比值和冠状静脉窦血乳酸浓度均无显著改变。见表 1~ 5(Table 1~ 5)。

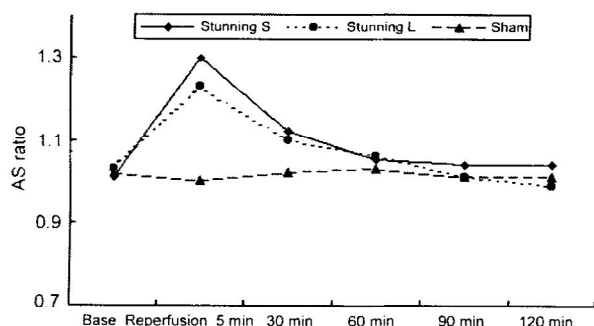


图 3. 顿抑区相对于正常区的心肌血流灌注速度 基线与顿抑 S 组再灌注 5、30、60、90 min, 及基线与顿抑 L 组再灌注 5、30 min 比较, AS 比值均有显著性差异。AS 比值代表顿抑区与正常区静脉心肌声学造影曲线上斜率的比值。

Figure 3. Time course of blood flow perfusion velocity

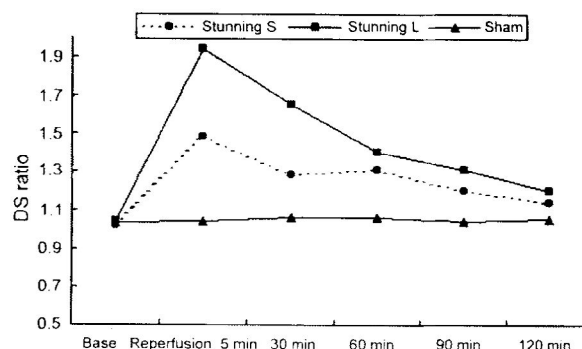


图 4. 顿抑区相对于正常区的心肌血流排空速度 基线与顿抑 S 组所有时间点, 及基线与顿抑 L 组除 120 min 外的所有时间点比较, DS 比值均有显著性差异。DS 比值代表顿抑区与正常区静脉心肌声学造影曲线下斜率的比值。

Figure 4. Time course of blood flow washout velocity

表 5. 冠状静脉窦血乳酸浓度变化

Table 5. Plasma lactic acid concentrations in coronary venous sinus (mmol/L)

组 别	n	结扎前	再 灌 注					
			5 min	30 min	60 min	90 min	120 min	
顿抑 S 组	6	3.9±2.1	4.2±1.9	5.8±2.6 ^{bd}	6.3±2.7 ^{bd}	5.5±2.7 ^{bd}	5.1±2.7 ^{ac}	4.4±2.5
顿抑 L 组	6	4.1±2.3	5.4±2.2 ^{ac}	6.1±1.8 ^{bd}	5.5±2.0 ^{bd}	5.3±2.1 ^{bc}	4.9±1.9 ^{bc}	4.6±2.2 ^b
假手术组	6	4.1±2.1	4.2±1.9	4.3±2.0	4.5±2.2	4.4±2.0	4.3±1.9	4.4±2.0

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与同组的结扎前比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与假手术组比较。

3 讨论

本研究主要有两个发现。其一, 心肌顿抑早期

心肌微循环处于“高动力”状态, 血流灌注增加与排空加快并存; 其二, 顿抑心肌缺氧代谢加强, 其恢复速度与原缺血时间长短有关, 缺血时间短恢复较快, 缺血时间长则恢复较慢。

早先的研究显示, 顿抑心肌血流灌注减少, 血管

阻力增大,血流储备减低^[3]。近年研究发现,顿抑心肌血流灌注不减少,甚至反而充血^[4,5],冠状血管阻力减低而非增加,冠状动脉血流储备也正常^[3]。但时至今日,顿抑心肌血流灌注是否减少,微血管是否有异常改变,实验报道仍不一致。本研究应用静脉 MCE 检测心肌血流灌注,结果显示顿抑心肌早期血流灌注明显增加,大约在再灌注 30~60 min 血流灌注恢复至正常水平。Porter 等^[5]用超声流量计测得顿抑心肌血流增加,同时用 MCE 测得心肌 PVI 也明显增高。目前已趋向认为这是缺血后再灌注引起的反应性充血。近年较多研究显示,缺血再灌注的心肌因一氧化氮合酶表达增加,引起一氧化氮合成增多^[6],这可能是缺血再灌注心肌反应性充血的原因之一。本研究还显示,顿抑区与正常区 MCE 曲线上斜率比值、早期下降斜率比值显著升高,表明顿抑心肌血流灌注速度和早期排空速度增加,结合文献报道顿抑心肌冠状血管阻力减低^[7],提示心肌顿抑早期心肌微动脉扩张,微循环处于“高动力”状态。

文献报道顿抑心肌是“缺血”的,理由如下:应用扩血管药使顿抑心肌血流增加后心肌收缩功能也增强,此现象不出现在正常心肌^[8,9];顿抑猪心在血流恢复 30 min 后仍持续产生乳酸^[8];显微分光光度测定显示,犬顿抑心肌中有很多氧饱和度很低(<20%)的微静脉^[10]。本研究也显示,顿抑犬心冠状静脉窦血乳酸浓度明显增高,提示顿抑心肌缺氧代谢加强。缺血时间的长短是决定微血管功能是否发生异常的最主要因素^[11]。本研究也显示,顿抑心肌缺氧代谢的恢复速度与原缺血时间长短有关,缺血时间短恢复较快,缺血时间长则恢复较慢。

简言之,从微循环方面看顿抑心肌处于“高动力”循环状态,从代谢方面看顿抑心肌存在缺氧代谢。顿抑心肌是充血的,而同时又有缺氧代谢加强,这似乎是矛盾的。我们提出心肌微循环“短路”来解释这种现象。心肌短时间缺血再灌注后,局部神经体液因素变化可能引起微循环直接通路开放和部分真毛细血管关闭,前者导致血流灌注、排空速度增加和充血,即“高动力”循环状态,后者则招致心肌缺氧代谢加强。此情形与休克微循环改变相似。之所以微循环直接通路开放而真毛细血管关闭,可能是不同级别的微血管对各种神经体液因子的反应性各

不相同所致。另一种可能的情形就是心肌局部微循环直接通路开放引起真毛细血管被“窃血”。

当然,本研究探讨顿抑心肌微循环改变所采用的方法是 MCE 技术,这是一种间接方法,但至今尚无研究活体冠状微血管的直接方法,而 MCE 可反映心肌内血流灌注空间分布情况,测定心肌血流量和血容量,评估冠脉血流储备和内皮功能,因此可较好地反映心肌微循环状态^[12]。Porter 等^[5]已证实,静脉注射氟炭造影剂所产生的心肌视频密度与冠状动脉血流有线性关系。由于声学造影剂的改进、二次谐波成像技术的应用和 MCE 分析方法的进步,用 MCE 评价心肌血流灌注和冠状微循环的敏感性和可靠性已显著提高了。MCE 被认为是目前评估活体心肌微循环功能异常最有效的技术之一^[11]。

[参考文献]

- [1] Bolli R. Basic and clinical aspects of myocardial stunning. *Prog Cardiovasc Dis*, 1998, **40**: 477-516
- [2] Kloner RA, Bolli R, Marban E, Reinlib L, Braunwald E. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning. *An NHLBI workshop. Circulation*, 1998, **97**: 1848-867
- [3] Becker LC. Is stunned myocardium ischemic on a microvascular level? *Basic Res Cardiol*, 1995, **90**: 282-284
- [4] Mori E, Haramaki N, Ikeda H, Imaizumi T. Intracoronary administration of L-arginine aggravates myocardial stunning through production of peroxynitrite in dogs. *Cardiovasc Res*, 1998, **40**: 113-123
- [5] Porter TR, Xie F, Kricsfeld A, Kilzer K. Noninvasive identification of acute myocardial ischemia and reperfusion with contrast ultrasound using intravenous perfluoropropane-exposed sonicated dextrose albumin. *J Am Coll Cardiol*, 1995, **26**: 33-40
- [6] Birdsall HH, Green DM, Trial J, Youker KA, Burns AR, MacKay CR, et al. Complement C5a, TGF- β 1, and MCP-1, in sequence, induce migration of monocytes into ischemic canine myocardium within the first one to five hours after reperfusion. *Circulation*, 1997, **95**: 684-692
- [7] Duncker DJ, McFalls EO, Krams R, Verdouw PD. Pressure-maximal coronary flow relationship in regionally stunned porcine myocardium. *Am J Physiol*, 1992, **262**: H1744-751
- [8] McFalls EO, Duncker DJ, Krams R, Ward H, Gornick C, Verdouw PD. Endothelium dependent vasodilatation following brief ischemia and reperfusion in anesthetized swine. *Cardiovasc Res*, 1991, **25**: 659-665
- [9] Stahl LD, Aversano TR, Becker LC. Selective enhancement of function of stunned myocardium by increased flow. *Circulation*, 1986, **74**: 843-851
- [10] Stahl LD, Weiss HR, Becker LC. Myocardial oxygen consumption, oxygen supply/demand heterogeneity and microvascular patency in regionally stunned myocardium. *Circulation*, 1988, **77**: 865-872
- [11] Agati L. Microvascular integrity after reperfusion therapy. *Am Heart J*, 1999, **138** (2 Part 2): s76-s78
- [12] Kaul S. Assessment of coronary microcirculation with myocardial contrast echocardiography: current and future clinical applications. *Br Heart J*, 1995, **75**: 490-495

(此文编辑 曾学清)