

# 哇巴因作用下窦房结放电节律的非线性特征

贺书云<sup>1</sup>, 管忠<sup>2</sup>, 韩晟<sup>1</sup>, 胡三觉<sup>1</sup>

(1. 第四军医大学神经科学研究所, 西安 710032; 2. 第四军医大学物理教研室, 西安 710032)

**摘要:** 运用近似熵及非稳定周期轨道方法, 观察哇巴因 (ouabain) 对大鼠窦房结放电节律的影响, 研究窦房结放电节律的非线性动力学特征。结果显示: 应用 5  $\mu\text{mol/L}$  ouabain 引起窦房结放电先出现不规则节律后, 放电频率增加又转化为规则放电节律, 窦房结放电间期由 (394 $\pm$ 16) ms 缩短到 (295 $\pm$ 13) ms; 随后放电节律再次转为不规则, 最后窦房结放电间期又转为不规则。窦房结放电间期的近似熵值也随 ouabain 引起放电节律的不规则程度而增大; 应用 30  $\mu\text{mol/L}$  ouabain 时有周期 2、3 及严重不规则节律的出现, 并在严重不规则节律中检测到不稳定周期 1、2 及 3 轨道; 用 40  $\mu\text{mol/L}$  ouabain 后则可引起窦性停搏。结果表明 ouabain 可使窦房结放电序列出现多种节律, 其中不规则放电节律含有确定性机制。

**关键词:** 哇巴因; 窦房结; 近似熵; 不稳定周期轨道

**中图分类号:** Q811.3

## 1 引言

哇巴因 (ouabain) 是洋地黄类药物的一种, 主要通过抑制细胞膜上的钠钾泵, 促进钠钙交换, 引起细胞内钙离子的聚集而起到增加心肌收缩力的作用。洋地黄类药物在临床上应用广泛, 主要副作用是洋地黄中毒。洋地黄中毒可以诱导一系列的心律失常, 其中包括严重的窦性心律失常。虽然已有研究表明中毒剂量 ouabain 作用于窦房结时可导致窦性心律紊乱及放电频率增加, 并阐明了其中毒的机制主要由于细胞内钙离子超负荷引起<sup>[1,2]</sup>; 同时另有报道发现 ouabain 引起的兔心室颤动具有混沌特征, 并利用混沌控制理论将室颤节律转化为周期节律<sup>[3]</sup>。但是不同浓度 ouabain 中毒时窦房结放电节律的非线性动力学特征、放电节律近似熵的动态变化以及不规则节律是否含有确定性机制尚未见报道, 本研究拟就此问题进行探讨。

## 2 材料和方法

### 2.1 材料

成年 SD 大鼠, 雌雄不限, 8 只, 体重约 200~300 g, 由第四军医大学实验动物中心提供。Krebs-Ringer (K-R) 灌流液的成分为 (mmol/L): NaCl 120.3, KCl 4.0, CaCl<sub>2</sub> 1.2, MgCl<sub>2</sub> 1.3, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25.2, 葡萄糖 11.0, pH7.4。

溶液用含 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 的混合气饱和。ouabain (Sigma 产品) 溶于 60%乙醇溶液, 制成储存液后, 实验时用灌流液临时稀释, ouabain 的浓度为 5~40  $\mu\text{mol/L}$ 。

### 2.2 方法

#### 2.2.1 窦房结标本的制备

SD 大鼠经戊巴比妥钠(40 mg/kg 体重, 腹腔注射) 麻醉后, 打开胸腔, 快速切除心脏, 并置于 34 $^{\circ}\text{C}$  氧饱和 (95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>) K-R 灌流液中, 右心房从整个心脏切除, 并沿长轴切开, 暴露内膜面。窦房结标本包含窦房结及部分房间隔区, 并且一小部分右心房壁被用于实验。维持自发跳动的标本修剪好后, 固定于标本槽内, 内膜面朝上, 并以 6 ml/min 的速度进行灌流。温度维持在 34.5~35.5 $^{\circ}\text{C}$ , 标本制备好后, 置于上述温度灌流液中稳定 1 h 后再记录。

#### 2.2.2 实验记录

一对调整的双极电极置于心房肌靠近界嵴处记录细胞外电位, 双极电极由两个直径 100  $\mu\text{m}$  的不锈钢丝组成, 尖端绝缘并捆在一起, 无关电极放在

收稿日期: 2003-01-27

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30030040)和国家重点基础研究规划“脑功能和脑重大疾病的基础研究”(G1999054000)项目

通讯作者: 胡三觉, 电话: (029)83374590,

E-mail: SJHU@fmmu.edu.cn

记录电极上  $1 \mu\text{m}$  处, 信号经 A/D 转换板输入 PC (Pentium) 计算机, 采样频率为  $1 \text{ kHz}$ 。连续记录采样的电压值得到原始细胞外记录电位图, 顺序记录相邻细胞外电位峰峰间期的时间间隔得到 interbeat interval (IBI) 序列。

### 2.2.3 数据处理

近似熵利用我室韩晟<sup>[4]</sup>的改进算法计算, 不稳定周期轨道 (UPOs) 的检测利用  $\text{So}^{[5]}$  等提供的检测方法, 该方法建立在延迟坐标嵌入相空间重构的基础上, 利用建立在系统局部动力学特性上的算法对数据进行变换计算。经过变换的数据点将集中在显著的 UPOs 周围, 通过观察辨别变换数据的分布峰就可以寻找实验数据中存在的 UPOs。使用替代数据多重实现和极值统计的方法, 可以进一步检验所得变换数据分布峰的统计显著性。

由于生物系统自身的非平稳性, 所以不太可能在一个状态稳定太久。就本实验来说, 系统的状态在不时发生变化。我们把长数据拆分成小部分, 使这些数据短得足够可以近似平稳系统, 同时其长度又足以获得好的统计特性。近似熵的算法有三个参数, 在计算时数据点数及嵌入维数被固定下来, 近似熵矢量对比长度按 IBI 标准差的 20% 取值, 数据值取 200, 嵌入维取 2。UPOs 分析中, 每个窗口长度取 256 个 IBI 序列, 嵌入维取 3 或 4。

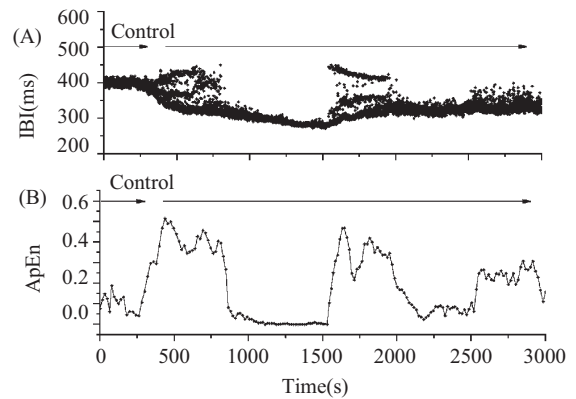
统计学处理: 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示并用配对  $t$  检验。

## 3 结 果

### 3.1 低浓度 ouabain 引起窦房结放电节律的动态变化过程

实验中, 当以  $5 \mu\text{mol/L}$  ouabain 灌流窦房结实验标本时, 首先窦房结放电从正常的规则节律经不规则状态又转回至规则节律, 同时伴随放电频率逐渐加快, 放电间期由  $(394 \pm 16) \text{ ms}$  缩短到  $(295 \pm 13) \text{ ms}$ , 随后又从严重不规则节律转化为轻度不规则节律 (如图 1A)。近似熵值伴随 ouabain 的应用, 不断发生变化, 开始近似熵的均数为  $0.09 \pm 0.04$ , 先上升为  $0.39 \pm 0.06$ , 又下降为  $0.01 \pm 0.01$ , 后又上升为  $0.34 \pm 0.07$ , 随后下降为  $0.06 \pm 0.02$  最后升为  $0.23 \pm 0.04$ , 伴随窦房结放电间期复杂性的变化近似熵值也在不断变化, 相邻放电阶段近似熵对比有明显差异 ( $P < 0.05$ ) (如图 1B)。虽然标本间有个体差异, 但变化趋势一致, 8 个大鼠

窦房结标本均观察到类似结果。



**Fig.1** Firing patterns and its ApEn variability of sinoatrial node during ouabain perfusion. (A) Sequence of IBI from SA during ouabain perfusion. The IBI of SA decreased and became more irregular during ouabain perfusion; (B) Corresponding ApEn variability of IBI from SA during ouabain perfusion. ApEn changed following the variability of IBI from SA

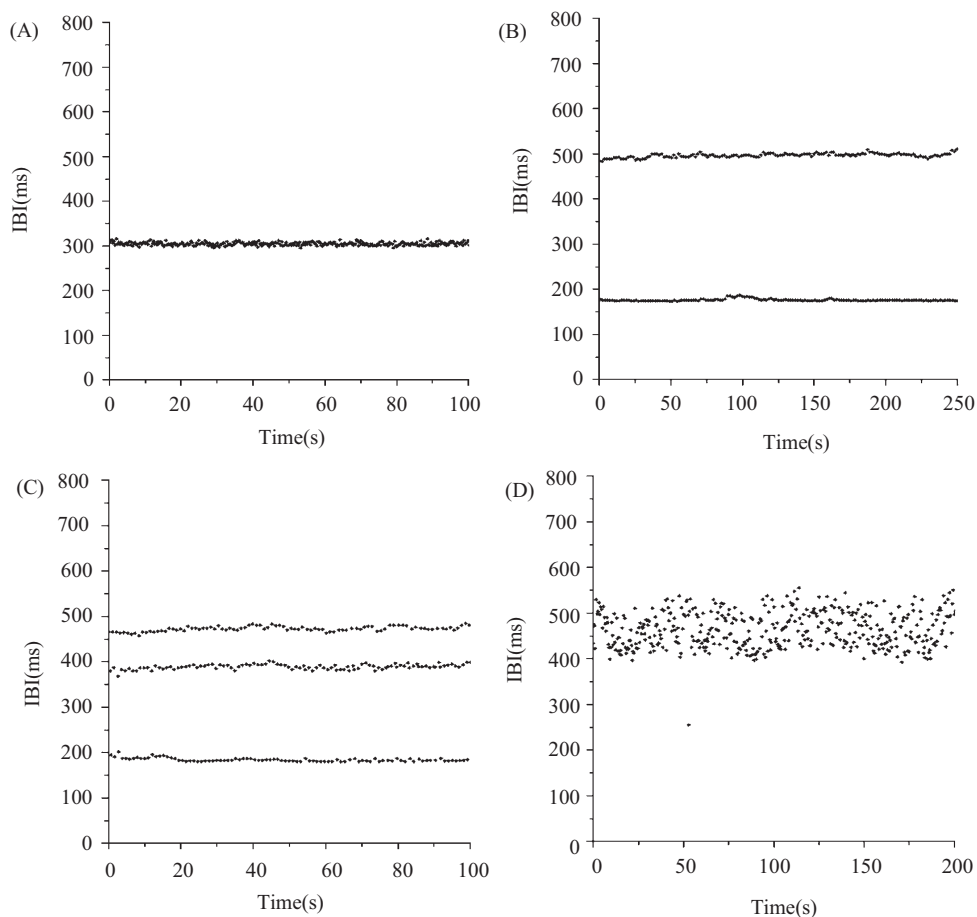
### 3.2 高浓度 ouabain 与窦性心律失常

当用  $30 \mu\text{mol/L}$  ouabain 灌流时, 灌流过程中窦房结放电出现剧烈的波形及节律变化, 噪音大, 但在停止药物灌流后, ouabain 所引起的节律变化并不能立刻恢复, 仍有多种不规则节律形式的出现, 通过对顺序记录 IBI 序列的分析, 依据一个周期内不同 IBI 值的个数, 将周期性窦房结放电的形式区分为: (1) 周期 1: 各次 IBI 基本相符, 一次细胞外电位构成一个周期 (图 2A); (2) 周期 2: IBI 重复地交替取两个值, 两次细胞外电位构成一个周期 (图 2B); (3) 周期 3: 其 IBI 重复地交替取三个大小不同的值, 三次细胞外电位构成一个周期 (图 2C); (4) 不规则节律: 每个 IBI 之间的时间不等, 且无明显规律 (图 2D)。但每种节律形式出现的时间不确定, 持续时间从 3~15 min 不等, 一般不能恢复至正常节律。

在应用  $30 \mu\text{mol/L}$  ouabain 作用后出现周期 2 节律、周期 3 节律、不规则节律时, 分别沿界嵴和窦房结的边界切断二者之间的联系, 然后记录心房肌放电, 发现窦房结继续放电, 心房肌放电停止。当剂量增大到  $40 \mu\text{mol/L}$  还可发生窦性停搏。

### 3.3 窦房结不规则放电节律中的 UPOs

应用  $30 \mu\text{mol/L}$  ouabain 之后, 窦房结产生明显不规则放电 (图 2D)。检测不规则放电中的不稳定周期轨道, 发现存在周期 1、2、3 不稳定周期轨道, 在二维相空间中, 所有的周期 1 轨道都位于对



**Fig.2** Different firing pattern of SA after 30  $\mu\text{mol/L}$  ouabain perfusion.

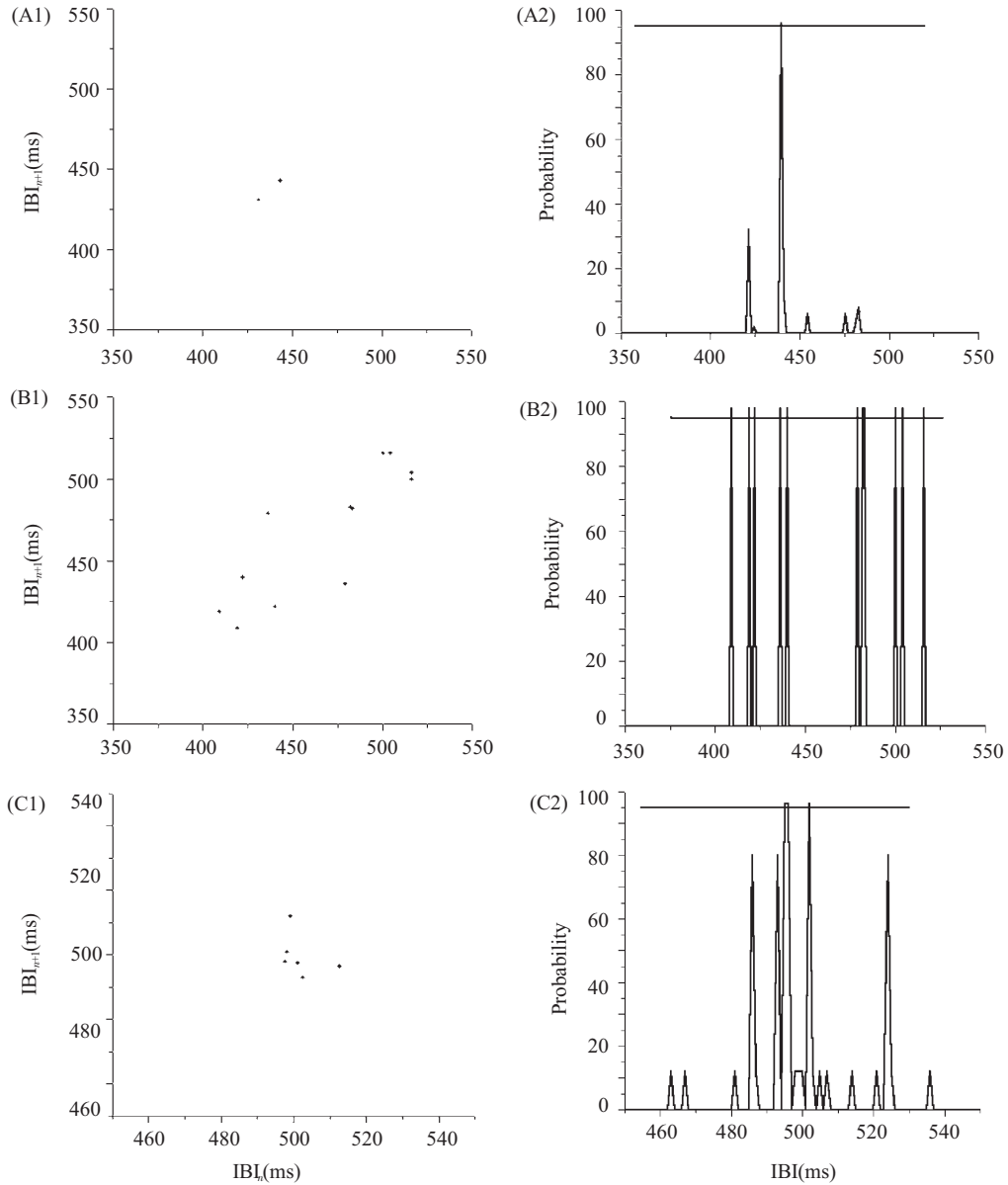
(A) Period 1; (B) Period 2; (C) Period 3; (D) Irregularity

角线上, 周期 2 以对角线为轴呈镜像对称的一对点, 周期 3 是呈三角对称的三重点。其显著性均超过 95%。如图 3 示。检测 8 组不规则放电数据均检测到有统计显著性的周期 1、周期 2 不稳定周期轨道, 5 组检测到有统计显著性的周期 3 轨道。

## 4 讨 论

本实验表明, 低浓度 ouabain 可以影响窦房结放电的节律形式, 由原来的规则放电节律逐渐转化为不同形式的非规则放电, 同时伴随放电频率的增加。Steinbeck 等<sup>[1]</sup>在兔窦房结曾观察到 ouabain 中毒可产生几个不同的阶段, 首先出现窦房结放电频率的逐渐增加, 伴有放电间期的变化; 其次出现快速规则的节律; 随后还出现严重的非规则节律。本实验低浓度 ouabain 作用于窦房结后与 Steinbeck 所描述的中毒过程类似。同时我们还用较高浓度的 ouabain 造成窦房结中毒, 使之出现周期 2、周期 3 及严重非规则放电节律等放电形式, 当 ouabain

浓度增加到 40  $\mu\text{mol/L}$  还可发生窦性停搏。非规则节律的出现一方面可能是由于窦房结是由主要起搏细胞和辅助起搏细胞组成的复合体<sup>[6]</sup>, 在正常状态下, 主要起搏细胞的活动控制着窦房结的放电, 但是在 ouabain 作用下, 主要和潜在起搏点细胞的不同离子机制使辅助起搏细胞的自律性增高, 于是形成两种起搏细胞互相竞争的局面导致窦房结放电节律的紊乱<sup>[7]</sup>。另一方面 ouabain 可以促进钠钙交换导致细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的增加, 从而使细胞内及细胞间电阻增加, 使窦房结中心细胞与周围细胞的活动耦联度下降, 干扰两种细胞间的夹带作用<sup>[8]</sup>。因此会发生多种心跳间期的变异, 导致二联律、三联律等异常节律的发生。若中心细胞与周围细胞完全失耦合, 而靠近窦房结电传出出口处的周围细胞数量少, 不足以激动心房肌, 于是产生窦性停搏。在本实验中当出现非规则放电节律时, 切断窦房结与周围心房肌联系, 发现心房肌自发放电停止, 这表明异常节律的起源仍是窦房结, 并非由于房性异位心跳引起, 也说明临床所见的多种室上性心律失常



**Fig.3** UPO extraction from IBI of sinoatrial node irregular firings. A1,B1,C1: gray-scale coded density plots of period-1,2,3 transformed data; A2,B2,C2: probability (0-1) of period-1,2,3 transformed data density

常可能由于窦房结功能异常引起。在不规则心跳时常发生细胞外电位波形的变化，可能由于窦房结内不同种类起搏细胞之间的竞争引起。此外，本实验中所用 ouabain 剂量较大可能与大鼠对 ouabain 的耐受有关。

近似熵是用一个非负数来表示前一数据对后一数据的可预测性和定量时间序列的可重复性，熵值越大表明时间序列越具有随机性或不规则性，复杂度越大，值越小，表明数据复杂度越小<sup>[9]</sup>。与其他非线性动力学参数（如关联维数、哥氏熵、李雅普诺夫指数等）相比，它的主要特点是：计算所需数据短（500~1000点）；抗噪的能力强；对确定性信

号和随机信号都适用<sup>[10]</sup>。由于生物信号往往既有确定性成分，又含有随机成分，因此，近似熵在生物界被广泛应用。本实验结果发现伴随低浓度 ouabain 的应用近似熵值也在不断发生变化，未用药物时 IBI 数据的近似熵值较小，表明窦房结在离体情况下，其自发跳动的变异复杂性较小，在应用 ouabain 过程中伴随窦房结放电间期的变化，近似熵值也同步变化。表明低浓度 ouabain 作用后的放电节律变化并非是一种随机现象，而具有一定的复杂性，有可能通过测量近似熵值的大小反映洋地黄类药物中毒的程度，为临床监测洋地黄的用药提供新的思路。

高浓度 ouabain 可以使窦房结产生严重不规则放电,但这种放电节律是否具有混沌性质呢,或仅仅是一种随机现象?非线性动力学理论认为混沌系统在其相空间表达中对应于一个奇怪吸引子结构,这个结构是由无穷多的 UPOs 构成。UPOs 存在于耗散混沌系统之中,且分层排列。如果找到了 UPOs,则可以认为该系统是确定性的<sup>[11]</sup>。UPOs 分析方法在心跳节律与神经元系统的动力学特征研究方面已有应用<sup>[5,12]</sup>。本实验首次将 UPOs 分析方法用于研究 ouabain 对窦房结放电节律的影响,并在高浓度 ouabain 引起的不规则节律中检测到 UPOs,从而证实这种不规则节律是混沌节律,具有确定性,进而提示对这种不规则节律有可能通过混沌控制的方法进行治疗。

#### 参考文献:

- [1] Steinbeck G, Bonke FIM, Alessie MA, Lammers WJ. The effect of ouabain on the isolated sinus node preparation of the rabbit studied with microelectrodes. *Circ Res*, 1980,46: 406~414
- [2] Mario D, Gonzalez MD, Mario Vassalle MD. Role of oscillatory potential and pacemaker shifts in digitalis intoxication of the sinoatrial node. *Circulation*, 1993,87: 1705~1714
- [3] Garfinkel A, Spano ML, Ditto WL, Weiss JN. Controlling cardiac chaos. *Science*, 1992,257:1230~1235
- [4] 韩晟,段玉斌,菅忠,胡三觉. 用近似熵测量神经放电峰峰间期的复杂性. *生物物理学报*, 2002,18(4):1~4
- [5] So P, Francis JT, Netoff TI, Gluckman BJ, Schiff SJ. Periodic orbits: a new language for neuronal dynamics. *Biophysiol J*, 1998,74:2776~2785
- [6] Boyett MR, Honjo H, Kodama I. The sinoatrial node, a heterogeneous pacemaker structure. *Cardiovasc Res*, 2000,47: 658~687
- [7] Takayanagi K, Jalife J. Effects of digitalis intoxication on pacemaker rhythm and synchronization in rabbit sinus node. *Am J Physiol*, 1986,250(4):H567~578
- [8] Jalife J. Mutual entrainment and electrical coupling as mechanisms for synchronous firing of rabbit sino-atrial pace-maker cells. *J Physiol*, 1984,356:221~243
- [9] Palazzolo JA, Estafanous FG, Murray PA. Entropy measures of heart rate variation in conscious dog's. *Am J Physiol*, 1998,274(4):H1099~1105
- [10] 杨福生,廖旺才. 近似熵:一种适用于短数据的复杂性度量. *中国医疗器械杂志*, 1997,21(5):283~286
- [11] Auervach D, Cvitanovic P, Eckmann JP. Exploring chaotic motion through periodic orbits. *Physical Review Letter*, 1987,58:2387~2389
- [12] So P, Ott E, Sauer T. Extracting unstable periodic orbits from chaotic time series data. *Phys Rev E*, 1997,55: 5398~5417

### NONLINEAR CHARACTERS OF FIRING PATTERN FROM SINOATRICAL NODE DURING OUABAIN PERFUSION

HE Shu-yun<sup>1</sup>, JIAN Zhong<sup>2</sup>, HAN Sheng<sup>1</sup>, HU San-jue<sup>1</sup>

(1. Institute of Neuroscience, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China;

2. Department of Physics, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

**Abstract:** In order to study the nonlinear characters of firing pattern from sinoatrial node (SA) during ouabain perfusion, ApEn (approximate entropy) and UPOs (unstable periodic orbits) were employed to measure IBI (interbeat interval) from SA firing. The results show that when 5  $\mu\text{mol/L}$  ouabain was applied, IBI became irregular first, then the SA firing frequency accelerated and changed to regular pattern, the IBI decreased from  $(394\pm 16)$  ms to  $(295\pm 13)$  ms correspondingly; after that the IBI became irregular again; In the end, the IBI changed from regular pattern to a little irregularity. The ApEn varied with the changes of IBI; When sinoatrial node was exposed to 30  $\mu\text{mol/L}$  ouabain, period 2, 3 and irregular rhythm appeared; Among irregular rhythm UPOs (1,2,3) were identified; 40  $\mu\text{mol/L}$  ouabain could stop the firing of sinoatrial node. From above results, It can be concluded that the firing rhythm of SA during ouabain perfusion was based on determinant mechanism.

**Key Words:** Ouabain; Sinoatrial node; Approximate entropy; Unstable periodic orbits