

普萘洛尔停药对异丙肾上腺素诱发慢性心肌梗塞大鼠猝死的影响

戴德哉、邝荔香、陈亮、黄美兰、张大禄¹、张西安² (中国药科大学药理研究室, 南京 210009)

摘要 结扎左冠脉的心梗大鼠, 分连续 sc 普萘洛尔

$25 \text{ mg/kg} \times 9 \text{ d}$, 给药 7 d 停药 2 d, 未治疗及正常大鼠组。在 iv Iso $100 \mu\text{g/kg}$ 后, 各组心率增加无差别, 普萘洛尔停药组异位心律 90%, 其中严重心律失常 50%, 心肌 NE 为正常组的 64%, 心肌及血清中 cAMP 增多, 血清中 CPK 增高。心肌 NE 降低可能是诱发猝死的严

1986 年 3 月 10 日收稿 1986 年 8 月 7 日修回

¹ 现在河南开封医学专科学校

² 现在青岛海军 401 医院

重心律失常的一个因素。

关键词 普萘洛尔； 异丙肾上腺素； 心肌梗塞； 心律失常； 去甲肾上腺素； 腺苷环一磷酸； 磷酸肌酸激酶

缺血性心脏病用普萘洛尔 (propranolol 原名心得安)治疗中，突然停药使症状加重，个别出现严重心律失常以致猝死⁽¹⁾。其机理已有所研究⁽¹⁻³⁾。如病人在停药后仍保持治疗期间较大的活动度⁽⁴⁾；内源性儿茶酚胺增多^(5,6)；心肌上 β 受体密度增多⁽³⁾，均会加重缺血性病变，而诱发猝死样症候群。本工作以慢性缺血性心脏病的大鼠模型，连续给普萘洛尔后突然停药，再给异丙肾上腺素(Iso)，观察诱发会导致猝死的严重心律失常与心肌中去甲肾上腺素(NE)，肾上腺素(E)，血清中 cAMP 及磷酸肌酸激酶(CPK)的关系。

材料与方法

普萘洛尔盐酸盐，由无锡第四制药厂提供。肾上腺素重酒石酸盐及去甲肾上腺素盐酸盐均为 Sigma 产品。cAMP 药盒为上海第二医学院放射免疫室产品。异丙肾上腺素注射液是北京制药厂产品。硝基四氮唑兰(N-BT)是上海前进试制厂产品。其他试剂均由市场购得。仪器：三导电生理仪(JL-3)记录 ECG，荧光分光光度仪为 HITACHI MPH-4 型，液闪计数仪(FJ-2101)及 721 型分光光度计等。

大鼠实验性慢性左室前壁心肌梗塞模型

大鼠在乙醚麻醉下，测胸前导联 V₅ECG，在消毒手术条件下开胸，用 000 尼龙线结扎左冠状动脉⁽⁷⁾，1 min 左右完成，闭合胸腔。手术中用大鼠呼吸口罩作正压人工呼吸几次。手术后 V₅ECG 均呈现典型急性心肌梗塞特征，ST 段异常抬高，深 Q 波出现等。手术后 ip 庆大霉素 400 IU \times 3 d。结扎手术共做了 100 只大鼠，1 d 后存活 42 只，与文献(7)报道相仿。手术后 d 10 解剖取出心脏，胸腔均无感染，切

口愈合良好。8 只心肌梗塞大鼠的心脏，切成 3 片，作 N-BT 染色，称重。

异丙肾上腺素激惹试验 实验性左室前壁心肌梗塞大鼠 34 只，分 3 组。第 1 组，心肌梗塞大鼠未治疗组，冠脉结扎手术 d 10 后试验 (n = 14)。第 2 组，心肌梗塞 1 d 后，sc 普萘洛尔 25 mg/kg \times 9 d，在末次 sc 24 h 后进行试验 (n = 10)。第 3 组，心肌梗塞 1 d 后，sc 普萘洛尔 25 mg/kg \times 7 d，再停药 2 d，在 d 10 进行试验 (n = 10)。第 4 组为正常大鼠对照组 (n = 8)。大鼠在戊巴比妥钠 ip 45 mg/kg 麻醉下，颈外静脉插入细尼龙管，先记录胸前导联 V₅ ECG，iv Iso 100 μ g/kg 连续记录 15 min ECG，3 h 后，由摘除眼球取血及迅速取出心脏，置于液氮直至检测。

去甲肾上腺素，肾上腺素，cAMP 及磷酸肌酸激酶的测定 称取右心室 200 mg，在 2 ml HClO₄ (0.4 mol/L) 中匀浆，先用高速匀浆器打碎组织，再用玻璃匀浆器在冰浴中匀浆。0°C 15 000 \times g 离心 10 min。测上清液以及血清中 cAMP 的含量⁽⁸⁾。以肌酸显色法测血清及心肌磷酸肌酸激酶(CPK)含量。

正常大鼠 26 只，颈椎脱臼，分别取左右心室组织各 200 mg，以荧光法测定 NE 及 E 含量。在 Iso 激惹试验中，测各组右心室心肌中 NE 及 E。

上述各项活性物质的测定，均用双管法，并设置空白管，测 NE 及 E 用内标管(每管含 NE 400 ng 及 E 400 ng)并行提取。

小鼠耐缺氧敏感性试验 小鼠 80 只，体重 21 \pm 2 g，随机分成 8 组。第 1 组 sc 普萘洛尔 25 mg/kg \times 9 d，在末次给药 24 h 后作实验。第 2-7 组，sc 普萘洛尔 25 mg/kg \times 7 d 后，分别停药 48、72、96、120、144 及 168 h 后，进行实验。第 8 组 sc 等容量生理盐水 9 d。上述各组均在同 1 d 内，分批 sc Iso 5 mg/kg，15 min 后进行小鼠常压耐缺氧试验。各组生存时间与第 1 组比较求耐缺氧敏感度(表 1)。

结 果

异丙肾上腺素激惹下小鼠耐缺氧时间及相对敏感度 连续 sc 普蔡洛尔 25 mg/kg × 9 d 组, 24 h 后 sc Iso 5 mg/kg 激惹下的生存时间为 9.6±1.5 min。与连续给药组相比较, 停药 48 h 后, 由 sc Iso 激惹后小鼠耐缺氧时间明显缩短, 为 6.6±1.5 min($p<0.01$)。而后随

Tab 1. Influence of propranolol withdrawal, having been administered with 25 mg/kg sc for 7 d, on the survival time (min, $\bar{x}\pm SD$) in mice under anoxia combined with stimulation of isoproterenol. * $p>0.05$, ** $p<0.05$, *** $p<0.01$, compared to the continuous medication group.

Groups	n	Survival time	Sensitivity (%)
Continuous medication			
	10	9.6±1.5	-
Hours after propranolol withdrawal			
48 h	9	6.6±1.5***	+45.5
72 h	9	9.4±1.7*	+2
96 h	10	9.8±2.0*	-2
120 h	10	9.8±1.7*	-2
144 h	10	11.0±1.9*	-12.7
168 h	9	10.2±1.2*	-5.9
No propranolol medication			
	9	8.1±1.2**	

Sensitivity to anoxia is taken as (Survival time in continuous medication group/Survival time in withdrawal groups - 1) × 100%。

着停药时间的延长而耐缺氧时间渐次延长。未给药组小鼠 sc Iso 激惹耐缺氧时间为 8.1±1.2 min。耐缺氧相对敏感度在停药 48 h 组最大。结果见表 1。

大鼠慢性心肌梗塞模型 大鼠在结扎左冠状动脉后, 心前导联 ECG 的 ST 段异常抬高渐次加重, 出现深 Q 波, R 波变低及 T 波倒置。手术后 10 d 取出心脏, 肉眼可见左心室前壁苍白, 明显菲薄及形成瘢痕组织。其中部分心脏以 N-BT 浸泡染色, 切下梗塞区称重, 占左右心室总重量的 19.8±3.4%(n=8)。

iv 异丙肾上腺素激惹对心率的改变 iv Iso 100 μg/kg 各组大鼠心室率均增多, 各组间未见差别。对照组心率增加 13±11%。

Tab 2. Influence of propranolol withdrawal, having been injected for 7 d since left coronary ligation, on incidence of ventricular arrhythmias (VA) by the challenge of isoproterenol 100 μg/kg iv in chronically infarcted rats. * $p>0.05$, ** $p<0.05$ compared to control group.

Groups	n	Incidence of VA (%)			Total
		Severe	Moderate	Mild	
Control	8	12.5	0	12.5	25
Infarcted rats					
No treatment	14	64	0	14	78**
Propranolol 25 mg/kg sc × 9 d	10	30	30	10	70*
× 7 d & 2 d after withdrawal	10	50	20	20	90**

Tab 3. Influence of isoproterenol 100 μg/kg iv, myocardial infarction and propranolol withdrawal on norepinephrine and epinephrine (μg/g tissue) in noninfarcted myocardium (right ventricle). $\bar{x}\pm SD$. * $p>0.05$, *** $p<0.01$ compared to control; †† $p<0.05$ compared to the continuous medication group.

Groups	n	Norepinephrine	Epinephrine
Control	36	0.61±0.18	0.03±0.05
Normal rats iv Isoproterenol 100 μg/kg	6	0.33±0.11***	0.029±0.018*
Chronically infarcted rats, iv isoproterenol 100 μg/kg			
No propranolol treatment	5	0.26±0.06***	0.05±0.07*
Propranolol 25 mg/kg sc × 9 d	14	0.25±0.09***	0.06±0.06*
× 7 d & 2 d after withdrawal	16	0.39±0.18***††	0.07±0.06*

iv 异丙肾上腺素激惹诱发心律失常 诱发心律失常分3级。轻度：偶见室早；中度：频繁室早及多源性室早；严重：室速，室扑及室颤，此类常导致猝死。iv Iso后，正常对照组大鼠中出现心律失常仅25%。心肌梗塞大鼠普萘洛尔停药组，心律失常发生率90%（其中严重心律失常为50%），明显多于正常对照组（ $p<0.05$, t试验），见表2。比心肌梗塞大鼠连续给药组稍多，但不显著（ $p>0.05$ ）。心肌梗塞大鼠未治疗组的心律失常率亦多于对照组（ $p<0.05$ χ^2 试验）。心梗大鼠停药组诱发严重心律失常呈交替性反复发作，结果见表2。

iv 异丙肾上腺素激惹对心肌中去甲肾上腺素，肾上腺素及血清中cAMP，磷酸肌酸激酶的影响 正常大鼠右，左心室中NE及E，分别为 0.65 ± 0.18 ， 0.44 ± 0.12 及 0.03 ± 0.05 ， $0.03\pm0.03\mu\text{g/g}$ 心肌。

在iv Iso激惹下，心肌中NE明显降低（ $p<0.01$ ），而E无改变。表3。心肌梗塞大鼠各组右心室心肌中NE含量均明显低于对照组（ $p<0.01$ ），E无变化。心肌梗塞大鼠未治疗组的右心室心肌中NE含量与Iso激惹的无心肌梗塞大鼠相比，亦有所下降。心梗停药组的NE明显多于连续给药组（ $p<0.05$ ），亦多于未治疗组。

在iv Iso激惹下，心肌梗塞停药组大鼠血

Tab 4. Influence of propranolol withdrawal on cAMP level in serum (nmol/ml) and myocardium (nmol/g tissue) after isoproterenol 100 $\mu\text{g/kg}$ iv in chronically infarcted rats. $\bar{x}\pm SD$. ** $p<0.05$, *** $p<0.01$ compared to continuous medication group.

Groups	Serum	Myocardium
Control	—	1.13 ± 0.23 (n = 6)
Infarcted rats, propranolol 25 mg/kg sc		
× 9 d	0.24 ± 0.07 (n = 6)	0.9 ± 0.5 (n = 4)
× 7 d & 2 d after withdrawal	$0.71\pm0.26^{***}$ (n = 6)	$1.48\pm0.19^{**}$ (n = 6)

清中cAMP含量十分显著地高于连续给药组（ $p<0.01$ ），见表4。心肌梗塞大鼠右心室心肌中cAMP含量，在停药组中亦明显增多（ $p<0.05$ ）。

血清CPK含量在正常对照组大鼠为 1.5 ± 0.3 酶活力单位，各组心肌梗塞大鼠血清中CPK均增多，表5。心肌梗塞停药组最高，明显多于未治疗组（ $p<0.05$ ）及连续给药组（ $p<0.01$ ）。

Tab 5. Influence of propranolol withdrawal and isoproterenol 100 $\mu\text{g/kg}$ iv on serum creatine phosphate kinase (CPK) level in chronically infarcted rats. $\bar{x}\pm SD$. ** $p<0.05$, *** $p<0.01$, as compared to the control group; # $p<0.05$, compared to no treatment group; ## $p<0.01$, compared to propranolol 9 d group.

Groups	n	Serum CPK (U)
Control	8	1.48 ± 0.03
Rats with myocardial infarction		
No treatment	8	$2.43\pm0.24^{***}$
Propranolol × 9 d	10	$1.9\pm0.5^{**}$
Propranolol × 7 d & 2 d after withdrawal	10	$3.1\pm0.7^{***\#\#\#}$

讨 论

普萘洛尔停药后使 β 受体增敏（受体增多）时间由24 h-7 d⁽³⁾，本文Iso激惹后耐缺氧敏感度在48 h时最高。

窦房结 β 受体对Iso激惹的反应性各组间并无差异，而心律失常诱发率在心肌梗塞停药组及未治疗组都明显提高。提示这两组心梗大鼠心传导系统低位节律点的自律性或引起折返的敏感性比正常心脏明显增高。仅测试心率增加幅度，并不能反映普萘洛尔停药反应性质。有些实验模型心率快较心率慢更易诱发猝死⁽⁸⁾，我们的实验模型并不支持此观点，iv Iso增加心率与诱发严重心律失常间并不呈相关性。

心肌梗塞后的心脏中有二类缺血区⁽¹⁰⁾：梗塞灶缺血区及梗塞灶以远部位缺血区。后者影响预后更严重。缺血心肌静止电位小及 V_{max} 降低，儿茶酚胺加剧上述过程使折返易于发生。

梗塞区NE释放增多^(11,12)，儿茶酚胺含量渐次降低而消失⁽¹³⁾。心肌梗塞早期预后与梗

塞灶大小相关⁽¹⁴⁾, 急性期后取决于非梗塞区存活心肌的状态⁽¹⁵⁾。非梗塞区(右心室)在相同Iso 激惹下, 低于无梗塞心脏, 为正常值的79%。提示非梗塞区NE 呈现类似梗塞区的变化。非梗塞区E 含量无变化, E 来自摄取, 故对摄取功能无明显影响。iv Iso 使右心室心肌NE 降低到正常值的54%, 可能与激活β受体有关。由于停药后NE 反跳性增多, 故高于连续给药组。连续给药组NE 虽低, 而心肌β受体对Iso 的反应性低使心律失常率低于停药组。

非梗塞区心肌及血清cAMP 增多, 显示停药组β受体被激活程度强于连续给药组。iv Iso 可使血清CPK 提高, 心肌梗塞各组大鼠均高于正常对照组。心梗停药组血清CPK 高于连续给药组, 亦反映停药组心肌对Iso 反应呈增敏状态。

猝死常由严重心律失常诱发, 其机理有3: 心脏中存在有缺血灶; 应激状态使内源性儿茶酚胺增多(如剧烈活动); 以及心肌膜上β受体敏感性增高(如普萘洛尔停药反应)。其中心肌梗塞后缺血区的形成是个关键因素, 梗塞区及非梗塞区NE 降低, 可能是一个易于发生严重心律失常的重要因素。

致谢 本工作由江苏省卫生厅科研基金资助

参 考 文 献

- Miller RR, Olson HG, Amsterdam EA, Mason DT. Propranolol-withdrawal rebound phenomena. Exacerbation of coronary events after abrupt cessation of antianginal therapy. *N Engl J Med* 1975; 293 : 416
- Nattel S, Rangno RE, Loon GL. Mechanism of propranolol withdrawal phenomena. *Circulation* 1979; 59 : 1158
- Prichard BNC. β-adrenergic antagonists in angina and myocardial infarction. In: Wilkerson DR, ed. *Cardiac pharmacology* London: Academic Press, 1981 : 401-3
- Laurence DR, Bennett PN. *Clinical pharmacology* 5 th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone. 1980 : 620-2
- Dai DZ, Xie JZ, Liu CF, Wang ZN. Adaptive effect and withdrawal syndrome of propranolol in relation to norepinephrine and epinephrine. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 79
- 戴德哉、王振南、李绮恒、马尔丽. 选择性β-阻断剂藜芦心安对组织中儿茶酚胺含量的影响. *南京药学院学报* 1985; 16 : 59
- Fiedler VB. Reduction of myocardial infarction and dysrhythmic activity by nafazatrom in the conscious rat. *Eur J Pharmacol* 1983; 88 : 263
- 戴德哉、李京一、杨朋斌. 脑内多巴胺系统与东莨菪碱麻醉作用的关系. *南京药学院学报* 1984; 15 : 53
- Schwartz PJ, Billman GE, Stone HL. Autonomic mechanisms in ventricular fibrillation induced by myocardial ischemia during exercise in dogs with healed myocardial infarction. An experimental preparation for sudden cardiac death. *Circulation* 1984; 69 : 790
- Schuster EH, Bulkley BH. Early post-infarction angina. Ischemia at a distance and ischemia in the infarct zone. *N Engl J Med* 1981; 305 : 1101
- Carlsson L, Abrahamsson T, Almgren O. Local release of myocardial norepinephrine during acute ischemia: An experimental study in the isolated perfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 : 791
- Schöning A, Dart AM, Dietz R, Mayer E, Kübler W. Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part A: Locally mediated release. *Circ Res* 1984; 55 : 689
- Hort W. Acute myocardial infarction. In: Kuemmerle HP, ed. *The effects of beta-receptor antagonists on the myocardium. Progress in clinical pharmacology 3*. München: Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle, 1982 : 4-12
- Yusuf S, Sieight P. Limitation of myocardial infarct size. Present status. *Drugs* 1983; 25 : 441
- Thompson PL, Fletcher E, Katavatis V. Enzymatic indices of myocardial necrosis: Infarction on short and long term prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 1979; 59 : 113

Influence of propranolol withdrawal on the induction of sudden death in chronically infarcted rats by isoproterenol challenge

DAI De-Zai, KUANG Li-Xiang, CHEN Liang, HUANG Mei-Lan, ZHANG Da-Lu,
ZHANG Xi-An (Research Division of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

ABSTRACT The infarcted rats induced by ligation of left coronary artery were divided into the untreated, sc propranolol 25 mg/kg × 9 d, withdrawal for 2 d after sc propranolol 25 mg/kg × 7 d and the normal control group. ECG, NE, E, cAMP and CPK were measured among the normal and 3 chronically infarcted groups following iv isoproterenol 100 µg/kg. The increments in heart rate after isoproterenol were the same in various groups, however, cardiac arrhythmias occurred more frequent in both the withdrawal and the untreated groups than the others and the incidence of severe arrhythmia in the former two groups was more than 50%. In spite of the same sensitivity of β -receptor in the sinoatrial node, automaticity of ectopic foci in the low segment of cardiac conducting system was

markedly increased in response to isoproterenol challenge. The decrease in NE in the right ventricle (noninfarcted area) was observed in rats with left anterior infarction, but E level remained intact. The malignant arrhythmia was accompanied by a depletion of NE in myocardium, an elevation of cAMP in myocardium and plasma, and an increased CPK in serum. The reduction of NE level in myocardium may be an important factor facilitating the occurrence of life-threatening arrhythmias resulting in sudden coronary death.

KEY WORDS propranolol; isoproterenol; myocardial infarction; arrhythmia; nor-epinephrine; adenosine cyclic monophosphate; creatine kinase