

## 间尼索地平抗清醒大鼠缺血性心律失常作用

安瑞海、傅绍莹、李蕴山 (河北医学院药理教研室, 石家庄 050011)

*Acta Pharmacologica Sinica* 1989 Mar; 10(2): 151-156

### Effects of *m*-nisoldipine on ischemic arrhythmia in conscious rats

AN Rui-Hai, FU Shao-Xuan, LI Yun-Shan

(Department of Pharmacology, Hebei Medical College, Shijiazhuang 050011)

**Abstract** *m*-Nisoldipine iv 3, 5 and 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  before coronary artery ligation markedly reduced the early ischemic arrhythmia in conscious rats. Nifedipine iv 5 and 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  had the same effect on preventing ischemic arrhythmia. Nisoldipine was less effective than *m*-nisoldipine at equal doses. Myocardial infarct size was reduced and electrical stability of the myocardium was markedly improved as a result of the increment in VDT, VFT and VERP. These effects may be related to the mechanisms of their respective antiarrhythmic actions. It is unlikely that these calcium antagonists prevent ischemic arrhythmia by improving the blood supply to the ischemic myocardium.

**Key words** *m*-nisoldipine; conscious rats; ischemia; arrhythmia; myocardial infarction; ventricular fibrillation; blood flow velocity

**提要** 结扎冠脉前 iv 间尼索地平(*m*-Nis) 3.5, 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  可显著减轻清醒大鼠缺血早期心律失常, 等剂量尼索地平(Nis) 预防作用较弱, 硝苯啶(Nif) 5, 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  有类似预防作用。钙拮抗剂缩小心肌梗塞范围, 防止心肌缺血早期 VDT 和 VFT 下降, 延长 VERP, 从而提高心肌电稳定性, 这可能是它们抗缺血性心律失常的基础。而增加缺血心肌血流量对其抗缺血性心律失常关系不大。

**关键词** 间尼索地平; 清醒大鼠; 缺血; 心律

失常; 心肌梗塞; 心室纤颤; 心肌不应期; 血流速度

二氢吡啶类(dihydropyridines)钙拮抗剂对麻醉大鼠结扎冠脉所致缺血性心律失常有对抗作用<sup>(1)</sup>, 本文用改进的清醒大鼠缺血性心律失常模型<sup>(2)</sup>, 观察新的二氢吡啶类钙拮抗剂间尼索地平(*m*-nisoldipine, *m*-Nis)<sup>(3)</sup>的影响, 并与尼索地平(nisoldipine, Nis)和硝苯啶(nifedipine, Nif)比较, 同时观察以上3种药物对心肌梗塞范围、缺血心肌电生理以及心肌局部血流量的影响。

#### Materials and methods

##### 清醒大鼠缺血性心律失常模型的制备

Sprague-Dawley ♂ 大鼠 100 只, 体重 266  $\pm$  SD 52 g, 按前文<sup>(2)</sup>方法制备, 手术后 d 5 将大鼠置于木盒内, 30 min 后结扎冠脉, 连续记录结扎冠脉后 20 min 内血压和 II 导程心电图。

结扎冠脉后 6 h, 取颈动脉血 1 ml, 测定血清乳酸脱氢酶(LDH)<sup>(4)</sup>和磷酸肌酸激酶(CPK)<sup>(5)</sup>, 将左心室作 2-3 mm 厚的切片, 用 0.5% 氯化硝基四氮唑兰(NBT)染色, 计算梗塞心肌占左室重的%, 如心肌梗塞区大于 50% 或小于 25%, 或结扎冠脉前心电图异常者, 弃之不用。记录结扎冠脉后 20 min 内早搏总数(ES), 室性心动过速(VT)及心室纤颤(VF)持续时间, 按文献(6, 7)计算心律失常得分(arrhythmic score)和死亡危险系数(death risk)。

### 麻醉大鼠缺血心肌电生理指标测定

Sprague-Dawley ♂ 大鼠 150 只, 体重  $260 \pm 49$  g. 戊巴比妥钠  $60$  mg/kg ip 麻醉后, 气管插管, 人工呼吸, 沿左第四肋间开胸, 在冠脉左前降支下穿一 0 号丝线, 以备结扎。

起搏电极为一对不锈钢丝制成的夹式电极, 固定在右心耳缘, 由 DCQ-2 数字式电子刺激器提供周期  $140$  ms, 波宽  $2$  ms 的起搏信号, 逐渐增加刺激强度, 直至完全控制心律; 刺激电极由两根直径  $30$   $\mu$ m, 长  $4$  mm, 间距  $5$  mm 的铂丝制成(插式电极), 电极正极在房室环下约  $3$  mm 处, 负极靠近心尖, 沿心脏长轴固定于冠脉左前降支结扎部位远端心外膜下, 由电子刺激器(SEN-3201 日本光电)经 SS-102 J 刺激隔离器提供恒流刺激信号。

心室纤颤阈(VFT)的测定采用串脉冲法<sup>(8)</sup>, 刺激信号为 10 个周期  $20$  ms、波宽  $2$  ms 的方波脉冲串, 始于 R 波后  $10$  ms, 强度由  $0.2$  mA 开始, 每次递增  $0.1$  mA, 以能引起持续  $1$  s 以上 VF 的最小电流为 VFT 值。

心室舒张阈(VDT)的测定是在心室有效不应期后给予波宽  $1$  ms 的恒流刺激<sup>(9)</sup>, 电流强度由  $0.05$  mA 开始, 每次递增  $0.05$  mA, 以引起单个室性早搏所需的最小电流值为 VDT,

心室有效不应期(VERP)的测定采用双脉冲法<sup>(10)</sup>, 刺激信号为波宽  $2$  ms, 电流强度为 2 倍 VDT 的双脉冲, 逐渐增加刺激延迟, 直至引起第一次早搏。此时的刺激延迟即为 VERP。

为避免电刺激次数过多造成局部心肌反应异常而影响实验结果, 每只大鼠只测定一个指标, 结扎冠脉前测定两次, 以平均值作对照值, iv 药物或溶剂后  $10$  min 结扎冠脉, 结扎冠脉后  $3, 5, 10, 15$  min 重复测定。

全过程均保持室温  $20^{\circ}\text{C}$ , 维持大鼠肛温  $37^{\circ}\text{C}$  左右, 如开胸后血压低于  $9.7$  kPa 不能恢复者, 弃之不用。电刺激诱发的大鼠心脏 VF 易自动恢复窦性节律。  $30$  s 不能恢复, 则以直流电除颤,  $1$  min 内除颤无效者, 弃之不用,

### 兔心肌局部血流量及血流分布测定<sup>(11)</sup>

兔 52 只, 体重  $2.6 \pm 0.5$  kg, ♀♂兼用, 戊巴比妥钠  $30$  mg/kg iv 麻醉, 气管插管, 颈动脉插管连于 HL-1 型恒速泵和压力换能器, 二道生理仪记录血压, 沿胸骨正中开胸, 保持胸膜完整, 自主呼吸。 iv 药物或溶剂后  $10$  min 结扎冠脉左室支,  $5$  min 后, 将  $2$  ml 红细胞悬液(含  $^{51}\text{Cr}$  标记蛙红细胞  $200$  万个)经心房插管, 在  $30$  s 内匀速注入心房, 同时, 开动恒速泵, 以  $2$  ml/min 速度从颈动脉抽血  $4$  ml, 作参考血标本。  $10$  min 后, 向左心房注入  $1\%$  美兰溶液  $1$  ml, 以确定心肌缺血区, 分别从缺血区和非缺血区切取心肌组织, 并分成心内膜下和心外膜下心肌两部分, 用 FT-408 型  $\gamma$  闪烁计数器测量各组织块和去血浆参考血标本的放射性, 按公式计算组织血流量: .

$$\text{局部组织血流量} = \frac{2\text{ml}/\text{min} \times 1\text{g组织放射性}}{\text{平均} 2\text{ml 血标本放射性}} \text{ ml}/(\text{min} \cdot \text{g})$$

**药物及配制** *m*-Nis, Nis 来源及溶液配制同前文<sup>(3)</sup>, Nif 为上海第十七制药厂产品, 维拉帕米(verapamil, Ver)为天津和平制药厂产品,  $^{51}$  铬酸钠由中国科学院原子能所生产, 放射性比活为  $0.37$  GBq/ml。

## Results

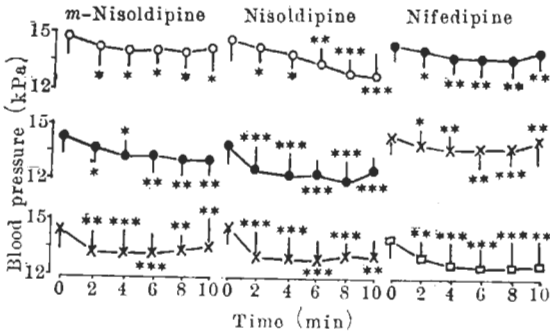
**对清醒大鼠血压和心率的影响** iv *m*-Nis  $5, 10$   $\mu$ g/kg, Nis  $3, 5, 10$   $\mu$ g/kg 和 Nif  $5, 10, 50$   $\mu$ g/kg 均显著降低动脉血压, 给药后  $2-5$  min 作用最强, 持续至  $10$  min 均未恢复, *m*-Nis  $3$   $\mu$ g/kg 和溶剂对照组血压无显著变化 (Fig 1)。

iv 钙拮抗剂后  $10$  min, 各组大鼠心率显著高于给药水平, 溶剂对照组心率无显著变化。

**对清醒大鼠缺血性心律失常的影响** *m*-Nis  $3, 5, 10$   $\mu$ g/kg 均显著减少早搏数, 缩短 VT 持续时间, 降低 VF 发生率, 减少心律失常得分及死亡危险系数,  $3, 5$   $\mu$ g/kg 可缩短 VF 持续时间; Nis  $3$   $\mu$ g/kg 除减少心律失常得分

**Tab 1. Anti-arrhythmic effects of *m*-Nis, Nis and Nif in coronary artery ligated conscious rats.**  
 $\bar{x} \pm SD$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs solvent control;  
 $\dagger P > 0.05$ ,  $\dagger\dagger P < 0.05$ ,  $\dagger\dagger\dagger P < 0.01$  vs *m*-Nis of equal dose.

Drugs (μg/kg)	n	log ES	Duration (s) of VT	Duration (s) of VF	Incidence of VF(%)	Arrhythmic score	Death risk
Solvent control	20	2.1±0.3	19±20	30±13	60	5.8±1.5	53.0
<i>m</i> -Nis 3	10	1.2±0.5***	7±5**	1±1***	10***	1.9±1.3***	32.2**
5	9	1.3±0.4***	7±8**	10±15**	11***	1.8±1.5***	33.0**
10	10	1.2±0.4***	4±2**	17±22*	10***	2.1±1.6***	36.5**
Nis 3	10	2.2±0.3*	17±14*	27±22*	30*	4.1±1.8***††	48.1†
5	10	2.2±0.3*	7±4**	17±21**	10***	3.4±1.6***††	36.5***†
10	10	2.3±0.3*	34±16**	46±29***	30*	4.8±1.6***†††	50.4***†††
Nif 5	10	1.2±0.6***	9±9*	3±4***	10***	2.1±1.6***†	34.3***†
10	10	1.8±0.5**	11±8*	0***	0***	2.6±1.2***†	29.0***†
50	10	1.7±0.5***	10±5*	46±27***	50*	5.0±1.7*	60.1*



**Fig 1. Effects of *m*-nisoldipine (*m*-Nis), nisoldipine (Nis) and nifedipine (Nif) on blood pressure of conscious rats.** n=10,  $\bar{x} \pm SD$ . (○) 3 μg/kg; (●) 5 μg/kg; (×) 10 μg/kg; (□) 50 μg/kg. \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs before drug administration.

外, 对其它心律失常指标均无显著影响, 而 5 μg/kg 则显著缩短 VT 及 VF 持续时间, 降低 VF 发生率, 减少心律失常得分及死亡危险系数; Nif 5, 10 μg/kg 对以上各指标的影响与等剂量 *m*-Nis 相似, 50 μg/kg 可减少早搏数, 但使 VF 持续时间延长(Tab 1)。

**对心肌梗塞范围、血清 LDH 和 CPK 的影响** *m*-Nis 3, 5, 10 μg/kg, Nis 和 Nif 5 μg/kg 显著缩小心肌梗塞范围; *m*-Nis 3, 5, 10 μg/kg, Nis 5, 10 μg/kg 和 Nif 5 μg/kg 显著降低结扎冠脉 6 h 的血清 LDH; 除 Nif 50 μg/kg 和

Nis 10 μg/kg 外, 三种钙拮抗剂其余各剂量均显著降低结扎冠脉 6 h 血清 CPK 活性(Tab 2)。

**对麻醉大鼠缺血心肌电生理指标的影响**

1 VDT 对照组结扎冠脉前 VDT 为 0.14±0.02 mA, 结扎冠脉后 3, 5 min, VDT 显著低于结扎冠脉前, 10 min 时 VDT 与结扎冠脉前无显著差异, iv *m*-Nis 和 Nis 5 μg/kg 及 Nif 10 μg/kg 后, 结扎冠脉后 5 min 时,

**Tab 2. Effects of *m*-Nis, Nis and Nif on myocardial infarct zone, lactate dehydrogenase (LDH) and creatine phosphate kinase (CPK) of coronary artery ligated conscious rats (n=10).**  $\bar{x} \pm SD$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs solvent control (n=20).

Drugs (μg/kg)	Infarct zone(%)	LDH (U/ml)	CPK (U/ml)
Solvent control	39±5	1242±372	92±22
<i>m</i> -Nis 3	30±3***	923±423***	69±27**
5	33±5***	973±294**	71±24**
10	27±6***	890±315***	65±20***
Nis 3	37±4*	1013±328*	71±33**
5	35±6**	960±255***	66±29***
10	38±4*	978±324**	80±34*
Nif 5	31±6***	900±340***	59±33***
10	37±4*	990±278*	72±29**
50	28±8*	1018±283*	75±32*

Tab 3. Effect of *m*-Nis, Nis, Nif and verapamil (Ver) on VDT, VFT and VERP of ischemic myocardium in anesthetized rats,  $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm SD$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs control. † $P > 0.05$ , †† $P < 0.05$ , ††† $P < 0.01$  vs preligation values.

Parameter	Minutes after ligation	Control	<i>m</i> -Nis (5 µg/kg)	Nis (5 µg/kg)	Nif (10 µg/kg)	Ver (0.5 mg/kg)
VDT (mA)	0	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.03*	0.15 ± 0.02*	0.13 ± 0.02*	0.15 ± 0.04*
	3	0.08 ± 0.03†††	0.08 ± 0.03*	0.10 ± 0.03*	0.08 ± 0.02*	0.11 ± 0.02*
	5	0.11 ± 0.02†††	0.16 ± 0.04***	0.16 ± 0.05**	0.14 ± 0.02**	0.12 ± 0.02*
	10	0.14 ± 0.04†	0.15 ± 0.04*	0.14 ± 0.02*	0.12 ± 0.02*	0.12 ± 0.03*
VFT (mA)	0	2.09 ± 0.39	2.02 ± 0.44*	1.71 ± 0.41*	1.70 ± 0.31*	1.96 ± 0.42*
	3	0.61 ± 0.23†††	1.47 ± 0.41***	0.99 ± 0.40**	1.16 ± 0.30***	1.42 ± 0.37***
	5	0.42 ± 0.17†††	0.56 ± 0.20***	0.59 ± 0.17***	0.43 ± 0.30*	0.60 ± 0.23***
	10	0.45 ± 0.20†††	0.38 ± 0.09*	0.44 ± 0.18*	0.33 ± 0.23*	0.42 ± 0.22*
VERP (ms)	0	53 ± 5	53 ± 6*	48 ± 5*	48 ± 6*	53 ± 6*
	3	41 ± 6†††	47 ± 6***	43 ± 6*	43 ± 5**	52 ± 6***
	5	30 ± 5†††	44 ± 5***	35 ± 5***	30 ± 5*	45 ± 6***
	10	32 ± 7†††	44 ± 6***	42 ± 6***	35 ± 6**	41 ± 8***
	15	40 ± 7†††	45 ± 6***	45 ± 8*	36 ± 7*	50 ± 10***

VDT 显著高于对照组, 10 min 时与对照组无明显差别, Ver 0.5 mg/kg 组结扎冠脉后 3, 5, 10 min VDT 与对照组无显著差异(Tab 3)。

2 VFT 对照组结扎冠脉后, VFT 急剧下降, 5 min 降至最低点, 10 min 尚未恢复, 各时间 VFT 均显著低于结扎冠脉前水平。iv *m*-Nis, Nis 5 µg/kg 和 Ver 0.5 mg/kg 显著提高结扎冠脉后 3, 5 min VFT, 而 Nif 10 µg/kg 仅使结扎冠脉后 3 min 时 VFT 显著高于对照组, 4 种药物均不能提高结扎冠脉 10 min 时 VFT。

3 VERP 对照组结扎冠脉后 3 min, VERP 明显缩短, 5 min 降至最低点, 15 min 未恢复; iv *m*-Nis 5 µg/kg 和 Ver 0.5 mg/kg 显著延长结扎冠脉 15 min 内各时间 VERP, Nis 5 µg/kg 和 Nif 10 µg/kg 也分别使 5, 10 及 3, 10 min VERP 显著延长(Tab 3)。

对麻醉兔心肌局部血流量和血流分布的影响 对照组结扎冠脉后缺血区血流量减少约 75%, 未控制血压时, 3 种钙拮抗剂 1 µg/(kg·min) 于结扎冠脉前 10 min 分别 iv, 均不能显著增加缺血区血流量和心内膜与心外膜下血流比

Tab 4. Effects of iv *m*-Nis, Nis and Nif 10 min before coronary artery ligation on blood flow in normal and ischemic myocardium of rabbits.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs solvent control.

Drugs (1 µg/kg·min)	n	Normal zone		Ischemic zone	
		Blood flow(ml/min·g)	Endo/epi	Blood flow(ml/min·g)	Endo/epi
Solvent control BP uncontrolled	10	0.92 ± 0.13	1.09 ± 0.07	0.23 ± 0.09	0.30 ± 0.10
<i>m</i> -Nis	7	1.46 ± 0.16***	0.94 ± 0.10*	0.26 ± 0.12*	0.32 ± 0.06*
Nis	7	1.33 ± 0.19**	1.02 ± 0.05*	0.26 ± 0.05*	0.32 ± 0.08*
Nif	7	1.37 ± 0.11**	0.97 ± 0.08*	0.22 ± 0.08*	0.28 ± 0.09*
BP under control					
<i>m</i> -Nis	7	1.89 ± 0.19***	0.90 ± 0.11*	0.33 ± 0.07***	0.28 ± 0.08*
Nis	7	1.97 ± 0.26***	0.89 ± 0.09*	0.35 ± 0.01***	0.28 ± 0.12*
Nif	7	1.70 ± 0.14***	0.94 ± 0.10*	0.30 ± 0.07***	0.29 ± 0.10*

值(endo/epi), 仅增加非缺血区血流量; 控制血压后(即在肾动脉以上部位压迫腹主动脉, 维持血压在给药前水平), 缺血区和非缺血区血流量均显著高于对照组, 但未能增加 endo/epi.

## Discussion

麻醉大鼠缺血性心律失常模型常用于研究抗心律失常药, 但麻醉剂抑制神经系统, 掩盖了心肌缺血所致反射性交感神经兴奋的促发心律失常作用<sup>(12)</sup>, 还可直接影响心律失常, 而且人工呼吸, 急性手术创伤和失血都可使实验结果复杂化, 而清醒大鼠缺血性心律失常模型完全避免了这些影响因素。

本文用此模型比较 *m*-Nis 等 3 种二氢吡啶类钙拮抗剂的抗心律失常作用, 结果表明: *m*-Nis, Nis 和 Nif 预防给药均可减轻缺血早期心律失常, 等剂量(5, 10 μg/kg) *m*-Nis 和 Nif 抗心律失常作用相似, 而 Nis 较等剂量 *m*-Nis 作用弱。3 种钙拮抗剂抗心律失常作用与其降低血压和加快心率作用不平行, 提示在本实验条件下, 药物的抗缺血性心律失常作用似与其血流动力学效应无关。

心肌梗塞范围是影响缺血性心律失常的重要因素<sup>(13)</sup>, 而血清 LDH 和 CPK 活性反映心肌缺血损伤的范围和严重程度<sup>(4,5)</sup>, 3 种钙拮抗剂在抗心律失常同时, 均可缩小心肌梗塞范围, 降低血清 LDH 及 CPK 活性, 可能是其减轻缺血性心律失常的机理之一。

兴奋性、传导性和自律性非均一性改变是导致心肌电稳定性降低, 诱发心律失常的重要因素<sup>(14)</sup>, 而 *m*-Nis, Nis 及 Nif 在抗清醒大鼠缺血性心律失常有效剂量均显著提高麻醉大鼠缺血心肌 VDT 和 VFT, 延长 VERP, 提示减小心肌缺血区与正常区电生理特性的非均一性, 提高缺血心肌电稳定性, 对其抗缺血性心律失常作用可能有重要意义。

*m*-Nis, Nis 和 Nif 只有在控制血压于正常水平时, 才能显著增加缺血区心肌血流量, 而且 3 种钙拮抗剂对缺血严重的心内膜下心肌

血流量增加不显著, 表明它们增加缺血心肌血流量并非抗缺血性心律失常的主要机理。

**致谢** 本实验得到我院生理教研室何瑞荣教授、放射医学教研室丁献义副教授指导; 武占军、王兰芬、郝永昌同志协助部分技术工作。

## References

- 1 Fagbemi O, Parratt JR. Calcium antagonists prevent early post-infarction ventricular fibrillation. *Eur J Pharmacol* 1981; 75 : 179
- 2 An RH, Fu SX, Li YS. A modified method to prepare ischemic arrhythmic model in conscious rat. *Chin Pharmacol Bull* 1987; 3 : 311
- 3 Fu SX, Li YS, Jing CJ, Ren LM. Effects of *m*-nisoldipine and nisoldipine on hemodynamics in anesthetized dogs. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9 : 43
- 4 徐世康. 乳酸脱氢酶测定. 见: 上海医学化验所, 主编. 临床生化检验(上册). 第 1 版. 上海: 上海科学技术出版社 1979 : 314-21
- 5 张丽丽. 磷酸肌酸激酶测定. 同上: 337-41
- 6 Li YS, Fu SX, Li CG. Arrhythmogenic effects of histamine on ischemic hearts of guinea pigs. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 536
- 7 Harron DWG, Brezina M, Lillie C, Kobinger W. Antifibrillatory properties of alinidine after coronary artery occlusion in rats. *Eur J Pharmacol* 1985; 110 : 301
- 8 Marshall RJ, Muir AW, Winslow E. Effects of antiarrhythmic drugs on ventricular fibrillation thresholds of normal and ischaemic myocardium in the anaesthetized rat. *Br J Pharmacol* 1983; 78 : 165
- 9 Xin HB, Liu SF. Effects of amitriptyline on ventricular fibrillation threshold, effective refractory period, diastolic threshold and sinus node function in dogs. *Acta Pharmacol Sin* 1986; 7 : 556
- 10 Elharrar V, Foster PR, Jirak TL, Gaum WE, Zipes DP. Alternations in canine myocardial excitability during ischaemia. *Circ Res* 1977; 40 : 98
- 11 Wang JX, Yu ZJ, Jin HZ, et al. Estimation of regional blood flow in animals using <sup>51</sup>Cr- and <sup>99m</sup>Tc-biomicrospheres. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 248
- 12 Miles E, Williams V. Cardiac electrophysiological effects of selective adrenoceptor stimulation and their possible role in arrhyth-

mias. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (Suppl 5) : 61

- 13 Bolli R, Fisher DJ, Entman ML. Factors that determine the occurrence of arrhythmias during acute myocardial ischemia. *Am Heart*

*J* 1986; 111 : 261

- 14 Janse MJ, Kleber AG, Capucci A, Coronel R, Wilms-Schopman F. Electrophysiological basis for arrhythmias caused by acute ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 1986; 18 : 339

