

## 内皮素-1对急性心肌缺血大鼠室颤阈的影响

赵学, 富维骏, 袁文俊, 侯刚星, 陈建国, 夏金辉, 朱鹤年  
(第二军医大学生理教研室, 上海200433, 中国)

R 965.2

### Influence of endothelin-1 on ventricular fibrillation threshold in acute myocardial ischemic rats

ZHAO Xue, FU Wei-Jun, YUAN Wen-Jun, HOU Gang-Xing, CHEN Jian-Guo, XIA Jing-Hui, ZHU He-Nian

(Department of Physiology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT** The influence of endothelin-1 on ventricular fibrillation threshold was studied in acute myocardial ischemic rats. Endothelin-1 ( $1.5-3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  iv) given 5 min before ischemia reduced the ventricular fibrillation threshold in a dose- and time-dependent manner. Its effect lasted at least 60 min. A marked increase of spontaneous ventricular tachycardia and myocardial infarct size was seen and the arterial blood pressure was at a higher level ( $18.5-20.1/14.4-15.8$  kPa) after  $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Diltiazem prevented partially from reduction of ventricular fibrillation threshold, eliminated completely the vasopressor response and limited the extension of myocardial necrosis induced by endothelin-1.

**KEY WORDS** endothelins; myocardial ischemia; arrhythmia; ventricular fibrillation; diltiazem

**摘要** 在麻醉大鼠急性心肌缺血前5 min iv 内皮素-1  $1.5-3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  导致室颤阈呈剂量和时间依赖性降低, 其作用持续至少60 min。当内皮素-1剂量在  $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  时, 自发性室速显

著增加, 心肌梗死范围明显扩大, 动脉血压处于较高水平。钙拮抗剂地尔硫卓能部分地预防内皮素-1引起的室颤阈下降, 完全对抗其加压反应且有效限制心肌坏死的扩展。

**关键词** 内皮素; 心肌缺血; 心律失常; 室颤; 地尔硫卓

内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 不但是血管活性肽, 而且也是心脏毒性肽<sup>[1]</sup>。在正常动物外周循环或冠状动脉内注入一定量 ET-1, 除引起血管加压反应外, 还促发致命性心律失常, 此现象不能完全归咎于其缩血管机制<sup>[1,2]</sup>。急性心肌缺血时内源性 ET-1 释放增多(包括体循环和冠状循环), 缺血性心律失常的发生是否与此有关, 尚不清楚。文献<sup>[1-3]</sup>曾报道外源性 ET-1 与心律失常发生率的关系, 但缺乏对室颤阈 (ventricular fibrillation threshold, VFT) 的观察资料。本实验用急性心肌缺血大鼠观察 iv 外源性 ET-1 对 VFT 的影响以及地尔硫卓 (diltiazem, Dil) 的保护作用。

### MATERIALS AND METHODS

**手术方法** Wistar ♂ 大鼠33只, 体重  $261 \pm 29$  g, 戊巴比妥钠  $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ip 麻醉。二道生理仪记录 II 导联心电图和股动脉 BP, 股静脉插管备用。江湾 I 型呼吸机辅助呼吸, 频率 60 次/min, 潮气量约  $30 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。左侧第三、四肋间开胸, 在距主动脉根部约 2.5 mm 处, 将 5/0 丝线穿过左冠状动脉深部, 丝线两端再穿过一段细塑料管, 拉紧丝线即可阻断冠脉血流。将自制银丝电极(直径 0.05 mm 的银丝, 对折后拧成一匝, 对折处留 1 mm 不绝缘), 经第四肋间缝于左室游离壁近心尖部之心外膜, 另一电极(不锈钢针, 直径 0.2 mm) 置于第四肋间与前正中线交点皮下。

Received 1992-11-26

Accepted 1993-11-08

**VFT测定**<sup>[4]</sup> 用 NIHON KOHDEN SEN 7103型电生理刺激仪,通过 SS 102J 隔离器发放刺激:脉宽2 ms、频率50 Hz,时限200 ms,电流强度以0.1, 0.5或1.0 mA 递增。以诱发室颤的最低电流强度为VFT。室颤终止30 s后,重测一次求均值。自发性室颤的VFT为0 mA。室颤标准:a)不规则心电波形;b)动脉BP骤降;c)持续时间 $\geq 0.6$  s。若室颤持续 $\geq 20$  s,则立即行体外直流电除颤(2-4 J)。室速标准:连续室性早搏 $\geq 5$ 个(Fig 1)。

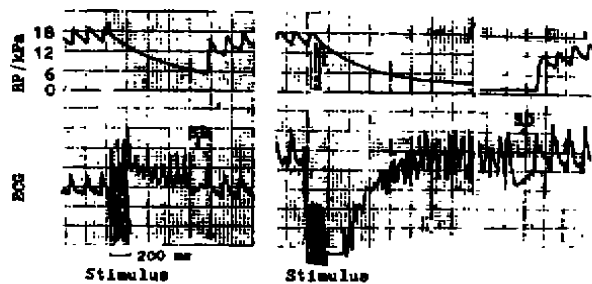


Fig 1. Electrically induced arrhythmia with irregular morphology and abrupt decrease of arterial blood pressure (BP), terminating after 0.6 s was considered ventricular fibrillation (VF). Left: VF terminating after 0.7 s. Right: VF terminating after 7.8 s. SD: Spontaneous defibrillation.

**实验设计** 术后连续记录心率(HR)和BP, 15 min内若有多发室早,室速,室颤或BP $\leq 12/8$  kPa,则剔除实验。给药前测定基础VFT,而后分组给药观察。A对照组:  $n=8$ , iv生理盐水 $0.6 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; B组:  $n=8$ , iv ET-1  $1.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; C组:  $n=10$ , iv ET-1  $3.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; D组:  $n=7$ , iv Dil(上海医药工业研究院惠赠)  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 5 min注完,隔5 min后再iv ET-1  $3.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。ET-1均在20 s内被匀速注完,5 min后冠脉血流被阻断,ST段迅速抬高 $\geq 0.2$  mV,标志急性心肌缺血产生。于缺血后5, 10, 15, 20, 30, 40, 50和60 min,分别测定VFT。继之放松扎线,60 min后取出心脏,用氯化硝基四唑氮兰浸染法测定梗死范围,以坏死心肌占左室重量之百分比表示。

**统计学处理** 计量资料用单因素方差分析,组间比较用  $F$  保护下最小显著差值

( $FLSD$ )法,组内比较用 Newman-Keuls 法,实验值以  $\bar{x} \pm s$  表示。计数资料用直接概率法。

## RESULTS

**ET-1对急性缺血心肌VFT的影响** 各组VFT于缺血后5 min均较给药前测定的基础VFT显著降低( $F=35-142$ ,  $P<0.01$ ;  $Q=20-39$ ,  $P<0.01$ ); A组VFT于缺血后20 min已较缺血后5 min显著升高( $F=48$ ,  $P<0.01$ ;  $Q=4.8$ ,  $P<0.05$ ),但至60 min仍显著低于给药前之基础VFT( $Q=14$ ,  $P<0.01$ ); B组VFT于缺血后10, 15及60 min显著低于A组( $F=6.1-9.2$ ,  $P<0.01$ ;  $FLSD=0.53-0.94$ ,  $P<0.05-0.01$ ),而于缺血后10和20 min显著高于C组( $F=7.1-8.2$ ,  $P<0.01$ ;  $FLSD=0.50-0.89$ ,  $P<0.05-0.01$ ); 除30 min外, C组缺血后时相VFT均显著低于A组( $F=5.8-33$ ,  $P<0.01$ ;  $FLSD=0.50-0.91$ ,  $P<0.05-0.01$ ); D组VFT于缺血后5 min不但显著高于C组( $F=33$ ,  $P<0.01$ ;  $FLSD=0.52$ ,  $P<0.01$ ),而且显著高于A组( $F=33$ ,  $P<0.01$ ;  $FLSD=0.55$ ,  $P<0.01$ ); 除30 min外, D组缺血后各时相VFT均显著高于C组( $F=4.6-33$ ,  $P<0.01$ ;  $FLSD=0.52-1.0$ ,  $P<0.05-0.01$ ) (Tab 1)。

**缺血期自发性室速和室颤发生情况** 自发性心律失常类型以室早最多,室速和室颤次之,一般发生于缺血后立即至25 min,高峰在5-15 min,绝大多数室速和室颤为阵发性,极少数室颤持续20 s以上。C组自发性室速发生率显著高于A组( $P<0.01$ ),但两组间自发性室颤发生率无显著差异( $P>0.05$ )。

**急性心肌缺血前后ET-1对血压的影响** iv ET-1后,大鼠血压表现出瞬间下降继而升高的特点。B, C和D组舒张压下降幅度(iv ET-1前为基础血压)分别为27.8%, 51.3%, 34.8%, C组显著大于B组( $P<0.05$ ),而组

**Tab 1. Ventricular fibrillation threshold (mA) during myocardial ischemia in rats.  $\bar{x} \pm s$ .**  
<sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$  vs saline; <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs endothelin-1  $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

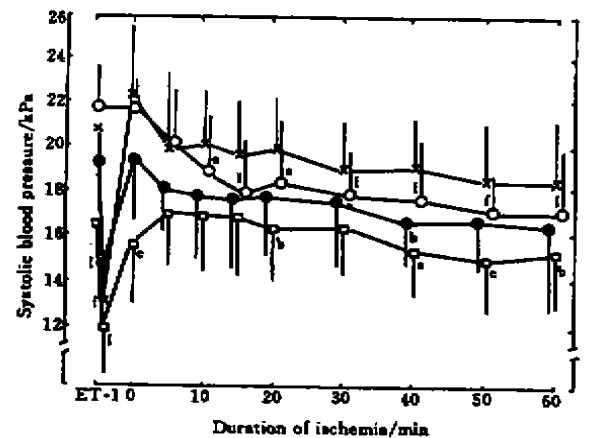
Ischemia time/min	Saline $0.6 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ ( $n=8$ )	Endothelin-1/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		
		1.5 ( $n=8$ )	3.0 ( $n=10$ )	3.0 + Dil $2.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 10 min before ( $n=7$ )
0	$9.5 \pm 1.9$	$8.9 \pm 1.1$	$9.2 \pm 1.3$	$9.3 \pm 1.4$
5	$1.2 \pm 0.5$	$0.9 \pm 0.4$	$0.5 \pm 0.2^b$	$2.9 \pm 0.8^{cf}$
10	$1.6 \pm 0.6$	$1.0 \pm 0.6^{bc}$	$0.3 \pm 0.2^c$	$1.0 \pm 0.4^{be}$
15	$2.2 \pm 0.7$	$1.2 \pm 0.7^c$	$0.6 \pm 0.3^c$	$1.5 \pm 0.7^{bf}$
20	$2.9 \pm 0.7$	$2.4 \pm 0.8^f$	$1.1 \pm 0.6^c$	$2.7 \pm 0.8^f$
30	$3.2 \pm 0.8$	$2.9 \pm 0.8$	$2.5 \pm 0.7$	$3.6 \pm 0.8$
40	$3.9 \pm 0.8$	$3.1 \pm 0.9$	$2.5 \pm 0.8^c$	$4.1 \pm 1.0^f$
50	$4.0 \pm 0.9$	$3.1 \pm 0.9$	$3.0 \pm 0.8^b$	$4.7 \pm 1.0^f$
60	$4.6 \pm 1.0$	$3.4 \pm 1.0^b$	$3.2 \pm 0.7^c$	$4.8 \pm 1.0^f$

**Tab 2. Spontaneous ventricular tachycardia and fibrillation during 60 min of myocardial ischemia in rats.**  
<sup>a</sup> $P > 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs saline.

Group	$n$	Ventricular tachycardia $n$	Ventricular fibrillation $n$
Normal saline $0.6 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$	8	2	2
Endothelin-1/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$			
1.5	8	4	3
3.0	10	9 <sup>c</sup>	5 <sup>a</sup>
3.0 + Dil $2.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	7	4	2

间收缩压下降无显著差异。iv ET-1后5 min (缺血0时), D组收缩压和舒张压均显著低于C组 ( $F = 7.8, P < 0.01$ ;  $FLSD = 3.1, P < 0.01$ )和  $F = 5.5, P < 0.01$ ;  $FLSD = 2.5, P < 0.01$ ) (舒张压分别为  $12.1 \pm 2.5 \text{ kPa}$  和  $16.8 \pm 2.9 \text{ kPa}$ )。心肌缺血后, 只有A组收缩压于10-60 min 较基础血压下降显著 ( $F = 4.4, P < 0.01$ ;  $Q = 3.6 - 5.6, P < 0.05 - 0.01$ ), D组收缩压在20, 40, 50和60 min 显著低于C组 ( $F = 3.0 - 4.7, P < 0.05 - 0.01$ ;  $FLSD = 2.4 - 2.8, P < 0.05 - 0.01$ ); A, B和D组舒张压在缺血期均值接近; C组舒张压在缺血10-60

min 处于较高水平, 但与A, B和D组无显著差异 (Fig 2)。



**Fig 2. Influence of endothelin-1 iv 5 min before myocardial ischemia on systolic blood pressure and antagonistic effect of diltiazem. Normal saline  $0.6 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$  (○), ET-1  $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (●), ET-1  $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (×), Dil  $2.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  10 min before ET-1  $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (□).  $n = 7 - 10, \bar{x} \pm s$ . <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$  vs ET-1  $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs before ET-1.**

**急性心肌缺血期 R-R 间期的观察** 心肌缺血5-60 min, A, B和C组 R-R 间期平稳而

接近, D组 R-R 间期在缺血0—10 min 先缩短, 而后维持较长水平, 但与其它组无显著差异。

**心肌梗死范围** C组心肌梗死范围 $39 \pm 6\%$ 显著大于A组 $31 \pm 6\%$  ( $F=3.7, P<0.05$ ;  $FLSD=4.9, P<0.01$ )和D组 $33 \pm 4\%$  ( $FLSD=5.1, P<0.05$ ); B组 $36 \pm 5\%$ 与A组无显著差异( $P>0.05$ )。

## DISCUSSION

本实验发现, 在急性心肌缺血大鼠 iv 外源性 ET-1  $1.5-3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 使 VFT 呈剂量及时间依赖性下降, 此效应在缺血后10—15 min 最强, 30 min 后减弱, 持续至少60 min. ET-1  $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 能明显增加自发性室速发生率, 自发性室速和室颤出现的高峰期与 ET-1降低 VFT 的最强作用期相一致. 钙拮抗剂 Dil 仅能部分地预防 ET-1引起的早期 VFT 下降, 但却完全阻止 ET-1导致的晚期 VFT 下降。

本实验不能说明继发于 iv ET-1的 VFT 下降, 是 ET-1的直接电生理作用, 还是 ET-1恶化心肌缺血的结果. 然而, ET-1引起舒张期去极化, 增加心肌动作电位平台幅度<sup>[3]</sup>, 促发右束支细胞早期后除极<sup>[5]</sup>, 以及心肌细胞 ET-1受体的存在均支持 ET-1对心肌有不可忽视的直接电生理作用. 钙拮抗剂可能通过抑制 ET-1受体激活后引起的  $\text{Ca}^{++}$ 内流增加而产生保护作用<sup>[3]</sup>。

大鼠急性心肌缺血期的减压反应有利于减少心肌作功, 保护受损心肌. iv ET-1明显抑制了这种减压反应. ET-1在体循环的加压效

应使心肌耗氧增加, 在冠状循环的加压反应使心肌供血减少, 由此可能导致梗死范围的扩大. 文献报道, ET-1单克隆抗体明显缩小了缺血再灌注大鼠的心肌梗死范围<sup>[6]</sup>. 本实验 iv 外源性 ET-1  $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 明显扩大心肌梗死范围; Dil 能完全对抗 ET-1的加压反应, 并有负性心率作用, 因而使缺血心肌受到明显保护。

本实验说明, 急性心肌缺血时, 循环 ET-1增加, 对致命性心律失常的发生和心肌梗死范围的扩大有重要作用; 预防性使用钙拮抗剂至少可以部分对抗 ET-1的心脏毒性。

## REFERENCES

- 1 Terashita Z, Shibouta Y, Imura Y, Iwasaki K, Nishikawa K. Endothelin-induced sudden death and the possible involvement of platelet activating factor (PAF). *Life Sci* 1989; **45**: 1911—8.
- 2 Yorikane R, Koike H. The arrhythmogenic action of endothelin in rats. *Jpn J Pharmacol* 1990; **53**: 259—63.
- 3 Salvati P, Chierchia S, Dho L, Ferrario RG, Parenti P, Vicedomini G, et al. Proarrhythmic activity of intracoronary endothelin in dogs; relation to the site of administration and to changes in regional flow. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; **17**: 1007—14.
- 4 Arad M, Rogel S, Mahler Y, Uretsky G. The effect of heart rate on the termination of electrically induced ventricular fibrillation in the isolated perfused rat heart. *Basic Res Cardiol* 1988; **83**: 678—86.
- 5 Yorikane R, Shiga H, Miyake S, Koike H. Evidence for direct arrhythmogenic action of endothelin. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; **173**: 457—62.
- 6 Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, Fujino M, Imada A. Contribution of endogenous endothelin to the extension of myocardial infarct size in rats. *Circ Res* 1991; **69**: 370—7.