

胺碘酮对兔缺血再灌注纤溶活性、内皮血管活性物质的影响

刘恒亮¹, 陈奇², 刘灵芝¹, 吴莉华¹, 康运凯¹, 张文莲¹ (1.河南省郑州市第五人民医院, 河南 郑州 450003; 2.郑州澍青医学院, 河南 郑州 450003)

摘要:目的 探讨兔缺血再灌注纤溶活性、内皮血管活性物质的变化及胺碘酮的影响。方法 新西兰大白兔 60只,随机分为5组,每组12只,Ⅰ组:假手术组,Ⅱ组:急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)组,Ⅲ组:缺血再灌注(ischemic reperfusion, IR)组,Ⅳ组:IR+利多卡因组,Ⅴ组:IR+胺碘酮组;各组(除Ⅰ组外)分别结扎冠状动脉左室支中点,缺血60min,再灌注240min(Ⅰ、Ⅱ组不进行再灌注),分别取结扎前、再灌注前、再灌注240min血测定内皮素(endothelin, ET)、一氧化氮(nitric oxide NO)浓度和组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator, t-PA)、纤溶酶原激活剂抑制物(plasminogen activator inhibitor PAI)活性。结果 冠状动脉结扎后,血浆ET、NO浓度和PAI活性显著高于结扎前($P < 0.01$), t-PA活性显著低于结扎前($P < 0.01$),再灌注后,血浆ET、NO浓度和PAI活性进一步升高, t-PA活性进一步下降,与再灌注前对比均有显著性差异($P < 0.01$)。再灌注后,与IR组对比,胺碘酮能显著降低血PAI活性和ET浓度($P < 0.01$);利多卡因组无显著变化。结论 胺碘酮可抑制缺血再灌注过程中PAI活性,抑制内皮细胞释放ET的有益作用。

关键词:缺血再灌注;纤溶活性;内皮素;一氧化氮;胺碘酮

中图分类号:R972.2 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2005)03-0199-04

The effect of amiodarone on fibrinolytic activity and vasoactive mediators in ischemic reperfusion in rabbits

LIU Heng-liang¹, CHEN Qi², LIU Ling-zhi¹, WU Li-hua¹, KANG Yun-kai¹, ZHANG Wen-lian¹ (1. Department of Cardiology, the Fifth People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450003, China; 2. Zhengzhou Shuqing Medical College)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the changes of fibrinolytic activity and vasoactive mediators in ischemic reperfusion in rabbits and the effect of intervention of amiodarone and lidocaine. **METHODS** Sixty New Zealand white rabbits were randomly assigned to five groups, twelve for each. Group I: sham group, Group II: acute myocardial infarction (AMI) group, Group III: ischemic reperfusion (IR) group, Group IV: IR + lidocaine group, Group V: IR + amiodarone group. The middle point of left ventricular coronary artery was ligated for 60 minutes (except group I), After that, reperfusion for 240 minutes (except group I and II). Before ligation, before and 240 minutes after reperfusion, blood was collected for measuring the plasma concentration of endothelin (ET), nitric oxide (NO) and the plasma activity of tissue-type plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor (PAI) respectively. **RESULTS** After ligation, the plasma concentration of ET, NO and the plasma activity of PAI were significantly higher than those before ligation ($P < 0.01$), but the plasma activity of t-PA were remarkably decreased than those before ligation ($P < 0.01$). After reperfusion, plasma concentration of ET, NO and plasma activity of PAI were significantly higher than those before reperfusion ($P < 0.01$), conversely, the plasma activity of t-PA were remarkably decreased than those before reperfusion ($P < 0.01$). After reperfusion, the plasma concentration of ET and plasma activity of PAI in amiodarone group were significantly decrease than those in IR group ($P < 0.01$). Lidocaine had no effect above. **CONCLUSION** Amiodarone can inhibit PAI activity, decrease release of ET in ischemic reperfusion in rabbits.

KEY WORDS: ischemic reperfusion; fibrinolytic activity; endothelin; nitric oxide; amiodarone

尽早持续、充分的开通梗死相关动脉是急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)最重要的治疗原则^[1,2],内皮细胞的损伤所致内源性凝血及纤溶功能的紊乱,内皮血管活性物质的平衡失调与AMI和再梗死的形成,病情的演变,并发症的发生有密切的病理生理联系。心律失常是重要的合并症之一,AMI和缺血再灌注(ischemic reperfusion, IR)后室性心律失常的发生率为80%~100%^[3],恶性心律失常是心肌梗死

患者心脏性死亡和猝死的强有力的预测指标,梗死后室性心律失常的发生与血管再通后的缺血再灌注损伤(ischemic reperfusion injury, IR_I)有重要的病理生理联系。胺碘酮是AMI时常用的抗心律失常药物之一。其对AMI和IR时纤溶活性和内皮功能的影响笔者尚未见文献报道,本研究旨在观察胺碘酮对兔IR后组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator, t-PA)纤溶酶原激活剂抑制物(plasminogen

基金项目:郑州市自然科学基金项目(NO:20001205)

activator inhibitor, PAI)的活性和内皮素 (endothelin ET)、一氧化氮 (nitric oxide, NO)的影响并探讨其意义。

1 材料和方法

1.1 动物模型建立

新西兰大白兔 60只,雌雄不限,体重 1.8~2.5kg,随机分为 5组,每组 12只, I组:假手术组, II组:AMI组, III组:IR组, IV组:IR+利多卡因组, V组:IR+胺碘酮组。3%戊巴比妥钠 35~45mg/kg腹腔注射麻醉后,备皮,被位固定于手术台上,胸骨左缘 2,3,4肋间开胸,剪开心包,暴露心脏,不损伤胸膜,保持自主呼吸,在冠状动脉左室支中点用 3-0丝线结扎冠状动脉,假手术组在相同部位穿线但不结扎, III组、IV组、V组分别于结扎后 60min松开结扎线,再灌注 240min。IV组于再灌注前经耳缘静脉注射利多卡因(上海复星朝晖制药厂生产,批号:000602,按 10mg/kg溶于 5mL生理盐水中), V组于再灌注前经耳缘静脉注射盐酸胺碘酮(盐酸胺碘酮注射液,法国赛诺菲公司生产,杭州赛诺菲-圣德拉堡民生制药有限公司分装,批号:生产批号:630,分装批号:0010009,按 5mg/kg溶于 5mL生理盐水中), I组、II组和 III组分别于同一时间经耳缘静脉注射 5mL生理盐水,上述注射均于 5min注射完毕;麻醉后至整个实验结束持续心电图监护,以 ST段抬高 ≥ 2 mm 作为结扎成功标志,再灌注后关闭胸腔。分别于冠状动脉结扎前、再灌注前、实验结束前(再灌注 240min)经耳中央动脉取血测定有关指标,再灌注过程中因心律失常死去的除外,取至实验结束能抽取血标本的 51只

表 1 各组兔血浆 tPA、PAI活性的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The tPA, PAI levels of rabbits in each group compared with one another ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	tPA(IU/mL)			PAI(AU/mL)		
		冠状动脉结扎前	再灌注前	再灌注 240min	冠状动脉结扎前	再灌注前	再灌注 240min
假手术组 (I)	12	3.41 \pm 0.35	3.42 \pm 0.29	3.39 \pm 0.41	12.09 \pm 0.71	12.87 \pm 0.91	12.46 \pm 0.63
AMI组 (II)	12	3.39 \pm 0.52	2.01 \pm 0.49 ^{1,2)}	1.98 \pm 0.89 ^{1,2)}	12.87 \pm 0.87	18.39 \pm 0.96 ^{1,2)}	19.12 \pm 0.79 ^{1,2)}
IR组 (III)	8	3.40 \pm 0.42	1.99 \pm 0.63 ^{1,2)}	1.25 \pm 0.38 ^{1,2,3)}	12.96 \pm 0.83	19.16 \pm 1.82 ^{1,2)}	26.99 \pm 0.89 ^{1,2,3)}
利多卡因组 (IV)	9	3.41 \pm 0.56	2.02 \pm 0.59 ^{1,2)}	1.26 \pm 0.41 ^{1,2,3)}	11.98 \pm 0.98	19.12 \pm 0.92 ^{1,2)}	26.07 \pm 0.37 ^{1,2,3)}
胺碘酮组 (V)	10	3.41 \pm 0.39	1.98 \pm 0.37 ^{1,2)}	1.28 \pm 0.61 ^{1,2,3)}	12.96 \pm 1.22	19.01 \pm 0.97 ^{1,2)}	23.72 \pm 0.38 ^{1,2,4)}

注: ¹⁾ $P < 0.01$ 与假手术组比, ²⁾ $P < 0.01$ 与冠状动脉结扎前比, ³⁾ $P < 0.01$ 与再灌注前比, ⁴⁾ $P < 0.01$ 与 IR组比

Note: ¹⁾ compared with sham group, $P < 0.01$, ²⁾ compared with before ligation, $P < 0.01$, $P < 0.01$, ³⁾ compared with before reperfusion, $P < 0.01$, ⁴⁾ compared with ischemic reperfusion group, $P < 0.01$

表 2 各组兔血浆 ET及血清 NO浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The ET, NO levels of rabbits in each group compared with one another ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ET(pg/mL)			NO(μ mol/L)		
		冠状动脉结扎前	再灌注前	再灌注 240min	冠状动脉结扎前	再灌注前	再灌注 240min
假手术组 (I)	12	29.81 \pm 3.96	30.01 \pm 3.68	31.03 \pm 5.26	61.07 \pm 9.98	59.98 \pm 11.26	62.37 \pm 9.89
AMI组 (II)	12	29.78 \pm 4.79	49.37 \pm 6.031 ²⁾	50.68 \pm 6.01 ^{1,2)}	59.32 \pm 10.36	92.58 \pm 12.69 ^{1,2)}	93.36 \pm 11.78 ^{1,2)}
IR组 (III)	8	30.91 \pm 4.01	51.29 \pm 5.99 ^{1,2)}	69.03 \pm 5.36 ^{1,2,3)}	58.38 \pm 10.01	93.69 \pm 11.37 ^{1,2)}	125.27 \pm 11.26 ^{1,2,3)}
利多卡因组 (IV)	9	29.99 \pm 3.98	51.69 \pm 6.12 ^{1,2)}	70.03 \pm 8.27 ^{1,2,3)}	60.09 \pm 12.37	93.28 \pm 12.96 ^{1,2)}	127.87 \pm 12.39 ^{1,2,3)}
胺碘酮组 (V)	10	30.27 \pm 5.38	52.29 \pm 5.18 ^{1,2)}	59.38 \pm 6.12 ^{1,2,4)}	63.27 \pm 18.46	105.29 \pm 12.07 ^{1,2)}	126.58 \pm 11.96 ^{1,2,3)}

注: ¹⁾ $P < 0.01$ 与假手术组比, ²⁾ $P < 0.01$ 与冠状动脉结扎前比, ³⁾ $P < 0.01$ 与再灌注前比, ⁴⁾ $P < 0.01$ 与 IR组比

Note: ¹⁾ compared with sham group, $P < 0.01$, ²⁾ compared with before ligation, $P < 0.01$, ³⁾ compared with before reperfusion, $P < 0.01$, ⁴⁾ compared with ischemic reperfusion group, $P < 0.01$

(I , II , III , IV , V组分别为 12, 12, 8, 9, 10只)资料完整者进行统计分析。

1.2 血标本采集及处理

分别于冠状动脉结扎前、再灌注前、实验结束前抽取下列血标本,一次性 10mL塑料注射器取血 3.8mL后, 2mL注入含 10% EDTA二钠 30 μ L和抑肽酶 40 μ L的试管中,混匀, 4 $^{\circ}$ C 3 000 r/min,离心 10min,分离血浆,放 - 70 $^{\circ}$ C保存待测 ET; 1.8mL置于含有 1/10体积 0.109mol/L枸橼酸钠抗凝液 (1份抗凝液 + 9份全血)的塑料试管中, 3 000 r/min,离心 10min,立即取血浆 200 μ L,加等体积的酸化液,混匀,放 - 20 $^{\circ}$ C保存待测 tPA和 PAI。2mL注入塑料试管内, 37 $^{\circ}$ C温育 1h, 2 000 r/min,离心 5min,分离血清,放 - 25 $^{\circ}$ C保存待测 NO。ET测定采用放射免疫法,试剂盒购自中国人民解放军总医院科技开发中心放射研究所, tPA, PAI活性测定采用发色底物法,试剂盒购自上海太阳生物技术公司, NO测定采用硝酸还原酶法,试剂盒购自南京建成生物工程研究所,上述各指标测定均按试剂盒说明书严格执行。

1.3 统计学处理

各组数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示,冠脉结扎前和再灌注前后作自身配对比较的 t 检验,组间作两样本均数比较的 t 检验,方差分析和 q 检验,以 $P < 0.05$ 作为差别有显著意义的检验标准。

2 结果

各组兔血浆 tPA, PAI活性, ET, NO浓度变化见表 1, 2。

冠状动脉结扎后,血浆 ET, NO浓度和 PAI活性显著升高 ($P < 0.01$), tPA活性显著下降 ($P < 0.01$),再灌注后,血浆 ET, NO浓度和 PAI活性进一步升高, tPA活性进一步下降,与再灌注前对比均有显著性差异 ($P < 0.01$)。再灌注后,与 IR组对比,胺碘酮能显著的降低血 PAI活性和 ET浓度 ($P < 0.01$);利多卡因无上述作用。

3 讨论

为了降低 AMI的病死率,20世纪 80年代末和 90年代初进行的随机、双盲、安慰剂对照多中心大规模的临床 (Cardiac Arrhythmia Suppression Trial, CAST) [3] 试验,引起全世界心血管病工作者的极大震动,其结果显示,IC类抗心律失常药物不仅不能降低心肌梗死后死亡率,反而使其死亡率增加3倍,使人们对心肌梗死后心律失常的治疗产生了新的认识。I类抗心律失常药物如利多卡因作为 AMI并发室性心律失常的常用药物,虽然可以降低心室纤颤的发生,但心肌梗死的总死亡率不仅没有降低,反而高于对照组,显示出心律失常抑制与生存率的矛盾现象。

胺碘酮作为心肌梗死后心律失常的常用药物正逐渐引起人们的广泛关注。其对心功能的抑制作用轻,促心律失常作用低,不仅可以控制心律失常,而且有改善生存,预防猝死发生的有益作用;中华心血管病杂志编辑委员会抗心律失常治疗专题组已将胺碘酮列为 AMI伴室性快速心律失常、梗死后室性心律失常、心力衰竭伴心律失常、心源性猝死预防的首选药物。

纤溶活性的异常与动脉粥样硬化的发生、发展,动静脉内血栓的形成,冠心病心绞痛、AMI及再灌注治疗后再梗死的发生和 IR具有重要的病理生理联系[4]。IR时,受损的血管内皮细胞激活凝血因子,血管紧张素 II 作用于凝血系统促纤溶酶原激活物抑制因子基因的表达,PAI活性明显增高, tPA活性下降,促进血小板聚集、活化,引起血栓形成,与心律失常和再梗死的发生,有重要的病理生理联系,抑制病理情况下异常增高的 PAI活性,抑制血小板聚集和活化,抑制凝血系统的激活,防止血栓形成是再灌注治疗后防止再梗死及其并发症的重要治疗措施之一。胺碘酮对 AMI和 IR时纤溶活性的影响未见文献报道。本研究结果显示:胺碘酮有抑制病理情况下升高的 PAI的有益作用。

IR损伤的原因很多,其确切发病机制至今尚未完全清楚。中性粒浸润、细胞内钙超载、氧自由基释放、线粒体损伤、高能磷酸化合物的缺乏等在 IR均起重要的作用。但其始动因素是缺血、缺氧所致的内皮细胞损伤导致多种血管活性物质的合成及分泌功能紊乱。

AMI和 IR由于内皮细胞的损伤,血管内皮细胞分泌大量的 ET[5]; ET具有强烈收缩冠状动脉,减少冠状动脉微循环的血流量,加重心肌缺血,诱发心律失常,促进平滑肌细胞增生及正性变力和变时,扩大心肌梗死范围的不利作用。AMI和 IR时梗死心肌内诱导型一氧化氮合成酶的活性增加,NO合成明显增加,升高的 NO可保护内皮功能,减少中性粒细胞聚集,抑制血小板聚集和活化,抑制血管内皮细胞

分泌 ET,引起血管扩张的有利作用[6,7],但同时也使左室舒张末期压增加,抑制心肌收缩力导致心功能异常的不利作用,诱导型一氧化氮合成酶抑制剂 S-甲基异硫脲应用于 AMI的动物可明显改善心肌顺应性,增加心肌血流量,NO的增加也可能是对抗 ET引起的冠脉收缩,平滑肌增生和正性肌力的负性作用。但是内源性 NO在 IR的作用目前仍存在着争议,Weyrich[6], Siegfried[7]等报告 IR时 NO浓度是增高的,但 Ma[8], Maulik[9]等报告 IR时 NO浓度下降。造成以上不同结果的原因我们认为是①不同的实验采用的 IR时缺血再灌注的时间不同,不同的缺血再灌注时间可能会产生不同的结果;②实验用动物不同,不同种动物之间可能存在着对 IR反映的种属差异;③检验 NO所用的方法及试剂不同;④不同的实验室实验条件可能存在着差异。本实验结果显示再灌注时 NO浓度是升高的。再灌注时 NO的进一步升高也可能导致心功能损伤进一步加重的不利作用[10-15]。总之,IR时 NO的作用仍存在着争议。要想纠正缺血再灌注损伤引起的病理生理紊乱,纠正病理情况下 ET,NO的异常是非常重要的环节。本研究表明胺碘酮有抑制 IR时 ET释放的有利作用,显示出其抗心律失常外的有益作用。由于本实验仅限于兔的 IR,样本量有限,是否适合于人体的病理生理变化,有待于同仁们进行深入细致的进一步研究。

参考文献

- [1] Smich SC, Dove JT, Jacobas A, *et al.* ACC/AHA guidelines for percutaneous coronary interventions: A report of the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (committee to revise the 1993 guidelines for PTCA) [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, 37: 2239.
- [2] Gibson CM, Cannon CP, Murphy SA, *et al.* For the TIMI study group. The relationship of TIMI myocardial perfusion grade to mortality following thrombolytic administration [J]. *Circulation*, 2000, 101: 125.
- [3] The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators: Preliminary Report: Effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmic suppression after myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*, 1989, 321: 406.
- [4] Soeki T, Tamura Y, Shinohara H, *et al.* Plasma concentration of fibrinolytic factors in the subacute phase of acute myocardial infarction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, 37: 648A.
- [5] Pepine CJ. Endothelial function as a determinant of vascular function and structure: a new therapeutic target [J]. *Am J Cardiol*, 1997, 79(5A): 3.
- [6] Weyrich AS, Ma XL, Lefler AM, *et al.* The role of L-arginine in ameliorating reperfusion injury after myocardial ischemia in the cat [J]. *Circulation*, 1992, 86: 279.
- [7] Siegfried MR, Erhardt J, Rider T, *et al.* Cardioprotection and attenuation of endothelial dysfunction by organic nitric oxide donors in myocardial ischemia-reperfusion [J]. *J Pharm Exp Ther*, 1992, 260: 668.
- [8] Ma X, Taso PS, Viehman GE, *et al.* Neutrophil-mediated vasoconstriction and endothelial dysfunction in low-flow perfusion coronary artery [J]. *Circ Res*, 1991, 69: 95.
- [9] Maulik N, Engelman DT, Watanabe M, *et al.* Nitric oxide signaling in ischemic heart [J]. *Cardiovasc Res*, 1995, 30: 593.
- [10] Wildhirt SW, Suzuki H, Horstman D, *et al.* Selection modulation

of inducible nitric oxide synthase isozyme in myocardial infarction [J]. Circulation, 1997, 69:1616.

[11] Yamamoto T, Kakar NR, Vina ER, *et al.* The effect of aspirin and two nitric oxide donors on the infarcted heart in situ[J]. Life Sci, 2000, 67: 839.

[12] Williams MW, Taft CS, Ramnauth S, *et al.* Endogenous nitric oxide (NO) protects ischemia-reperfusion injury in the rabbit. Cardiovasc Res, 1995, 30: 79.

[13] Woolfson RG, Patel VC, Neild GH, *et al.* Inhibition of nitric ox-

ide synthesis reduces infarct size by an adenosine-dependent mechanism[J]. Circulation, 1995, 91:1545.

[14] Beckman JS, Beckman TW, Chen J, *et al.* Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide[J]. Proc Natl Acad Sci U S A[J]. 1990, 87:1620.

[15] Rakhit R D, Marber M S. Nitric oxide: an emerging role in cardioprotection? [J]. Heart, 2001, 86: 368.

收稿日期 : 2003-09-16