

◇基础研究◇

儿茶酚胺抑素对急性心梗大鼠室性心律失常的影响

方媛,舒娟,刘洋,曹瑜梦

(西安交通大学第一附属医院心内科,陕西西安 710061)

摘要:目的 探讨儿茶酚胺抑素(CST)和急性心梗室性心律失常之间的关系。方法 雄性SD大鼠60只,随机分为假手术组($n=20$)和心梗组($n=40$),结扎冠状动脉制备心梗模型,心梗组存活36只。测量大鼠血浆CST水平,使用程序性电刺激法评估急性心肌梗死时心肌室性心律失常的易患率,同时测定在不同频率和强度的电刺激下,鼠心室肌的易损期时间窗和有效不应期的变化。了解CST对急性心梗大鼠室性心律失常的影响。结果 与假手术组相比,心梗组左室射血分数(LVEF)明显减小($P<0.01$),而左室舒张末内径(LVEDD)和左室收缩末内径(LVESD)则明显增大($P<0.01$),CST明显升高($P<0.01$);程序性电刺激后,假手术组未能诱发室性心律失常,心肌梗死组共31只(86.1%)大鼠诱发出室性心律失常($P<0.01$);心梗组大鼠固定强度心室易损期时间窗延长、有效不应期缩短($P<0.01$)。Logistic回归分析显示,LVEF降低和CST升高均为急性心梗室性心律失常的独立危险因素($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 CST升高是急性心肌梗死室性心律失常发生的独立危险因素,是可用于预测急性心梗的预后指标之一。

关键词:急性心梗;儿茶酚胺抑素;室性心律失常;心室易损期;有效不应期

中图分类号:R541.4 文献标志码:A

DOI:10.7652/jdyxb201805007

Effect of catestatin on ventricular arrhythmia in acute myocardial infarction in rats

FANG Yuan, SHU Juan, LIU Yang, Cao Yu-meng

(Department of Cardiovascular Medicine, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

ABSTRACT: Objective To explore the correlation between the catestatin (CST) level and ventricular arrhythmia (VA) in acute myocardial infarction (AMI). **Methods** Sixty male rats were randomly divided into sham group ($n=20$) and AMI group ($n=40$). Myocardial infarction was produced by ligation of the left anterior descending coronary artery. Thirty-six rats in AMI groupsurvived. Both groups were detected for plasma CST level, ventricular arrhythmia susceptibility, ventricular vulnerable period and effective refractory period so as to evaluate the effect of CST on VA in AMI. **Results** Compared with that in sham group, LVEF reduced significantly in AMI group ($P<0.01$), while LVEDD, LVESD and CST increased ($P<0.01$). After programmed electrical stimulation, in AMI group VA was induced in 31 rats (86.1%) ($P<0.01$), ventricular vulnerable period extended, and effective refractory period shortened ($P<0.01$). Logistic regression analysis showed that decreased LVEF and increased CST were the independent risk factors of VA in AMI rats ($P<0.01$ to $P<0.05$). **Conclusion** The CST level is an independent risk factor for VA in AMI; therefore, it can be used to evaluate the prognosis of AMI.

KEY WORDS: acute myocardial infarction; catestatin; ventricular arrhythmia; ventricular vulnerable period; effective refractory period

在急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)发生、发展的病理过程中,儿茶酚胺水平升高导致的交感风暴形成起着重要作用。儿茶酚胺类激素可作用于心脏 β 受体,从而在AMI的心律失常中

起着重要作用。儿茶酚胺抑素(catestatin, CST)是一种心血管活性肽,能调节心脏、血压及自主神经功能,在交感神经过度兴奋的疾病状态下发挥独特的生理病理作用,参与急性心肌梗死、心肌缺血再灌注损

收稿日期:2018-01-14 修回日期:2018-04-11

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30900616)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30900616)

通信作者:方媛,主治医师,博士。E-mail: fangyuanwb@163.com

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1399.R.20180806.1024.006.html> (2018-08-06)

<http://yxxb.xjtu.edu.cn>

伤等疾病过程^[1]。CST 可抑制儿茶酚胺分泌^[2],降低交感神经活性,提高心脏副交感神经活性^[3-4]。研究发现,CST 能改善压力感受器反射敏感性和心率变异性,达到对心脏的明显保护作用^[5]。所以,本研究旨在探讨直接作用于儿茶酚胺类激素分泌阶段的 CST 和 AMI 室性心律失常之间的关系。

1 材料与与方法

1.1 动物模型的制备及分组 实验用雄性 SD 大鼠 65 只,6~8 周龄,体质量 250~290 mg,由西安交通大学医学部实验动物中心提供。随机将动物分为假手术组($n=20$)和心梗组($n=40$),两组大鼠体质量等基本情况无统计学差异。利用结扎冠状动脉左前降支(LAD)的方法制备大鼠心肌梗死模型。具体方法:腹腔注射戊巴比妥钠 50 mg/kg,大鼠麻醉后消毒,气管内插管,行机械通气(通气量为 100 mL/kg,通气频率每分钟 60 次左右,吸呼比 1:2,压力 5 kPa 左右)。沿大鼠胸骨左缘开胸,打开胸膜及心包,以手术缝线结扎左冠状动脉前降支,以 I、II、aVL 导联 ST 段抬高、直视下被结扎血管供血区心肌为苍白色作为手术成功标志。假手术组大鼠开胸后手术线绕过冠状动脉前降支但不结扎,剩余步骤与心梗组相同。术后 24 h 存活了 36 只心肌梗死大鼠。此后在动物饲养和检查过程中未出现死亡。

1.2 心肌电生理指标测定及心律失常的检测

1.2.1 使用阶梯式电刺激法估测大鼠心肌梗死急性期的心律失常易患率^[6] 室性心动过速连续超过 15 次为持续性,反之为非持续性。8 分:未刺激时心脏停跳;7 分:基础刺激即能诱发室速;6 分:1 个期前收缩诱发持续性室速;5 分:1 个期前收缩诱发非持续性室速;4 分:2 个期前收缩诱发持续性室速;3 分:2 个期前收缩诱发非持续性室速;2 分:3 个期前收缩诱发持续性室速;1 分:3 个期前收缩诱发非持续性室速;0 分:刺激后无心律失常。使用阶梯性电刺激法评价各组大鼠急性心梗后心肌的电生理变化。

1.2.2 心室易损期的检测 心室易损期(ventricular vulnerable period, VVP)是评估心室易损性的指标。S1S2 程控电刺激,S1 刺激强度为 2 V,脉宽 2 ms,S2 刺激强度为 8 V,脉宽为 2~4 ms,每 8 个 S1 诱发 1 次 S2,相邻 S1 间期为 150 ms。先从舒张晚期逐渐向前扫描,逐渐加大 S2 的强度并调整脉宽,至刚能引起室性心动过速(VT)和(或)心室纤颤(VF),记录 S2 引起室性心动过速的 S1S2 间期。再从心室绝对不应期逐渐向后扫描,至引起 VT 和(或)VF 时记录 S1S2 间期,这两次 S1S2 间期的差值即为 VVP 的宽度。

1.2.3 有效不应期(ERP)的检测 S1S2 程控电刺激,脉宽 2 ms,S2 强度为两倍舒张阈,从舒张晚期逐渐向前扫描,以早搏前一个基本心搏的 R 波至不能引起室性期前收缩的最长 S2 间距作为 ERP^[7]。

1.3 心脏超声检查 大鼠急性心梗模型制备完成 1 周后,行超声心动图检查心功能。大鼠以 30 g/L 戊巴比妥钠溶液(60 mg/kg; Sigma)行腹腔注射麻醉,固定于仰卧位,连接肢体导联心电图,使用心脏超声诊断系统(Vivid 7 型,GE)行心脏超声检查。通过 M 型超声进行心尖四腔心切面测量,得到左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)及左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD),测量左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。均计算 10 个心动周期的平均值。

1.4 大鼠血浆 CST 的水平测定 在心梗后第 1、3、7 天经大鼠颈静脉采血,注入 EDTA 试管中,用大鼠 CST 的 ELISA 试剂盒(上海邦奕商贸有限公司)采用酶联免疫吸附测定法测血浆标本中的 CST 浓度。选择柠檬酸钠作为抗凝剂,与标本混合后静置 15~20 min,以 1 200×g 离心 20 min,收集上清。按说明书操作。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,LVESD、LVEDD、LVEF 和 CST 等结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 Logistic 多因素回归分析及 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 假手术组和心梗组的超声及血浆 CST 水平检测结果 与假手术组相比较,心梗组的 LVEF 明显降低($P < 0.01$),反之,LVEDD 和 LVESD 则明显增大($P < 0.01$),表明心梗对大鼠的心功能造成了影响,且心梗后第 1、2、3 天的血浆 CST 水平均显著高于假手术组($P < 0.01$,表 1、表 2)。

表 1 假手术组与心梗组超声指标的比较

Tab.1 Echocardiographic parameters in sham and AMI groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEF(%)
假手术组	20	5.98±0.34	3.79±0.23	74.55±6.98
心梗组	36	7.53±0.24*	5.36±0.31*	50.71±4.98*

与假手术组比较,* $P < 0.01$ 。

2.2 程控电刺激法检测心梗组和假手术组大鼠室性心律失常的结果对比 假手术组($n=20$)未诱发室性心律失常;心梗组($n=36$)共 31 只(86.1%)大鼠诱发出室性心律失常(图 1)。与假手术组比较,单纯心肌

梗死组心律失常评分显著升高(0.5 ± 0.4 vs. 3.9 ± 0.5 , $P < 0.01$)。

表2 假手术组与心梗组血浆 CST 水平的比较

Tab.2 CST level in sham and AMI groups

组别	n	$(\bar{x} \pm s, \text{ng/mL})$		
		CST1	CST2	CST3
假手术组	20	2.22 ± 0.98	2.45 ± 1.01	2.43 ± 1.17
心梗组	36	$11.14 \pm 2.13^*$	$16.61 \pm 3.16^*$	$19.71 \pm 3.24^*$

CST1:心梗后第1天 CST 的水平;CST2:心梗后第2天 CST 的水平; CST3:心梗后第3天 CST 的水平。与假手术组比较,* $P < 0.01$ 。

2.3 心肌梗死对大鼠心律失常的影响 心肌梗死可延长大鼠固定强度心室易损期时间窗,缩短有效不应

期(表3)。

表3 心肌梗死对大鼠室性心律失常的影响

Tab.3 Effect of AMI on ventricular arrhythmia in rats

组别	n	$(\bar{x} \pm s, \text{ms})$	
		心室易损期时间窗	有效不应期
假手术组	20	20.13 ± 6.22	48.43 ± 5.36
心梗组	36	$35.72 \pm 7.23^*$	$33.12 \pm 4.24^*$

与假手术组比较,* $P < 0.01$ 。

2.4 室性心律失常的多因素 Logistic 回归分析 将 LVEF、CST 等指标引入 Logistic 回归分析,结果显示,LVEF 降低、CST 升高均为急性心梗后室性心律失常发生的独立危险因素($P < 0.05$, $P < 0.01$,表4)。

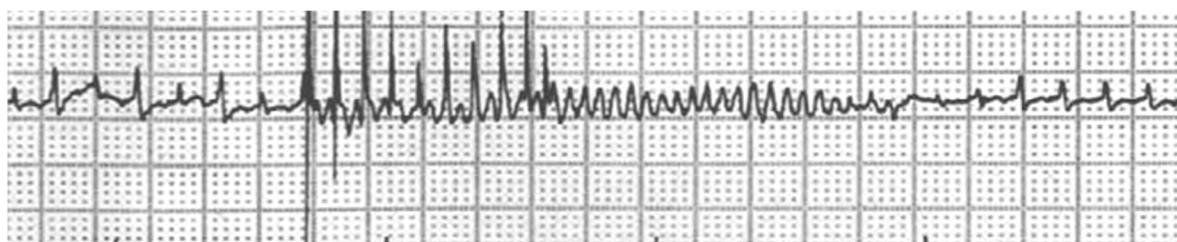


图1 心梗组大鼠的室性心律失常心电图

Fig.1 Ventricular arrhythmia in AMI rats

表4 心梗大鼠室性心律失常的多因素 Logistic 回归分析

Tab.4 Logistic regression analysis of ventricular arrhythmia in AMI rats

变量	β	SE	OR	P
LVEF	-0.562	0.258	1.837	< 0.05
CST	0.027	0.013	2.390	< 0.01

3 讨论

CST 是一种可有效抑制儿茶酚胺释放与分泌的内分泌神经肽类物质,它的前体物质——嗜铬颗粒蛋白是在肾上腺中与儿茶酚胺共同储存及释放的一种主要成分。CST 以自分泌、负反馈机制强效地抑制儿茶酚胺作用^[8],通过调节心脏副交感和交感神经活性,起到调整心脏功能的作用^[9]。

急性心肌梗死伴随交感神经系统过度激活^[10]。交感激活在急性心梗的发生、发展及转归中起了重要作用,且与心律失常密切相关。心肌梗死后,血浆儿茶酚胺的水平迅速升高,使心率、血压升高,导致心肌做功及氧耗增加,从而延展心肌缺血及梗死的范围,使得心脏电活动紊乱,从而导致 VT、VF 等恶性室性心律失常的发生率大幅提高。与此同时,儿茶酚胺水平在升高的儿茶酚胺刺激下,为了拮抗其作用也出现反馈性升高。有研究发现,促进交感神经系统活性增高的烟碱类物质不仅可以促进儿茶酚胺的释放,也可促进 CST 的分泌和释放^[11],而 CST 能够反馈作

用于神经元的烟碱型乙酰胆碱受体,有效抑制其诱导的儿茶酚胺释放,从而降低交感神经系统活性。

本研究结果显示,心梗后第 1、3、7 天大鼠的 CST 均明显高于假手术组,说明在 AMI 的发生、发展过程中,随着交感神经的逐渐激活,CST 的释放也随之升高。本研究还观察到,心肌梗死急性期的血浆 CST 水平在心梗后第 7 天升高尤为明显,这种变化趋势进一步提示,在心肌缺血坏死损伤严重的情况下,机体对抗交感神经系统过度激活的自我保护性代偿调节机制。

AMI 时,交感神经系统被迅速激活,血浆中急剧增加的儿茶酚胺与心肌细胞受体结合,使相关的钠、钾、钙等离子通道改变,钾离子外流增加,钙离子和钠离子内流增多,导致心脏电活动紊乱,使室速室颤的阈值降低,最终导致各种心律失常及心率变异性增加。流行病学调查结果显示,我国每年有 50 余万人发生心脏性猝死,其中恶性的室性心律失常是引起这类猝死的主要原因^[12]。

本研究评价了心肌梗死急性期血浆 CST 水平对室性心律失常的预测价值。发现心梗组大鼠的固定强度心室易损期时间窗延长,有效不应期缩短;心梗组大鼠与假手术组比较,心律失常评分显著升高,更易诱发出室性心律失常。同时两组间 CST 的水平亦显示出显著差异,心梗组的 CST 较假手术组明显升高,提示 CST 这种内源性激素类物质可以间接反映

交感神经系统的激活程度,而既往研究证明,交感神经系统的过度激活和急性心肌梗死患者的预后不良相关,所以,我们认为 CST 也是急性心梗预后的一个特异性指标。本研究还发现,心肌梗死发病第 7 天血浆 CST 水平更高,而且 Logistic 回归分析显示,LVEF 降低、CST 升高均为急性心梗后室性心律失常发生的独立危险因素,提示血浆 CST 水平升高可能对预后具有一定的预测价值。

一直以来,寻找新的抗心律失常药物都是心血管病研究的热点。近年,有学者提出将自主神经及其递质和心脏相关受体这一类的离子通道上游调控因子作为抗心律失常药物的新靶点。已有关于心房颤动的研究证实,血管抑素能通过抑制心脏自主神经对房颤的发生起抑制作用^[13]。因为 CST 具有抑制心脏交感神经的作用,所以 CST 在心率变异性和心律失常方面的作用引起了广泛关注。BASSINO 等^[14]的研究显示,CST 可以通过改善缺血再灌注损伤来提高心梗时缺血损伤心肌的存活率,线粒体膜电位的维持提供了这种保护作用,有效的恢复并维持了心肌电活动的稳定性,从而减少了缺血损伤心肌的凋亡并减少了恶性心律失常的发生。在缺血再灌注模型中以及心衰模型中给予外源性 CST,可改善心脏功能,从而抑制心律失常的发作^[15]。

总而言之,本研究观察到 CST 是反映急性心梗病情变化趋势的重要指标,在一定程度上可以预测室性心律失常发生率,对心脏功能具有极强的调节作用,有望作为一种新型的血管标志物及新的药物治疗靶点。

参考文献:

- [1] PENNA C, PASQUA T, AMELIO D, et al. Catestatin increases the expression of anti-apoptotic and pro-angiogenic factors in the post-ischemic hypertrophied heart of SHR [J]. PLoS One, 2014, 9(8):e102536.
- [2] PASQUA T, ANGELONE T, SPENA A, et al. Biological roles of the eclectic chromogranin-A-derived peptide catestatin [J]. Curr Med Chem, 2017, 24(31):3356-3372.
- [3] WANG D, LIU T, SHI S, et al. Chronic administration of catestatin improves autonomic function and exerts cardioprotective effects in myocardial infarction rats [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2016, 21(6):526-535.
- [4] MAZZA R, TOTA B, GATTUSO A. Cardiovascular activity of catestatin: Interlocking the puzzle pieces [J]. Curr Med Chem, 2015, 22(3):292-304.
- [5] MIR SA, ZHANG K, MILIC M, et al. Analysis and validation of traits associated with a single nucleotide polymorphism Gly364Ser in catestatin using humanized chromogranin A mouse models [J]. J Hypertens, 2016, 34(1):68-78.
- [6] LEE TM, LAI PY, CHANG NC. Effect of N-acetylcysteine on sympathetic hyperinnervation in post-infarcted rat hearts [J]. Cardiovasc Res, 2010, 85(1):137-146.
- [7] 刘伟宏,李庚山. 同时测定心室易损期和室颤阈评价心室易损性的方法学探讨 [J]. 中国病理生理杂志, 1991, 6:671-672.
- [8] CHOI Y, MIURA M, NAKATA Y, et al. A common genetic variant of the chromogranin A-derived peptide catestatin is associated with atherosclerosis and hypertension in a Japanese population [J]. Endocr J, 2015, 62(9):797.
- [9] PENG F, CHU S, DING W, et al. The predictive value of plasma catestatin for all-cause and cardiac deaths in chronic heart failure patients [J]. Peptides, 2016, 86:112-117.
- [10] PASQUA T, ANGELONE T, SPENA A, et al. Biological roles of the eclectic Chromogranin-A-derived peptide Catestatin [J]. Curr Med Chem, 2017, 24(31):3356-3372.
- [11] TSIGELNY IF, KOUZNETSOVA VL, BISWAS N, et al. Development of a pharmacophore model for the catecholamine release-inhibitory peptide catestatin: Virtual screening and functional testing identify novel small molecule therapeutics of hypertension [J]. Bioorg Med Chem, 2013, 21(18):5855-5869.
- [12] ZHANG S. Sudden cardiac death in China: Current status and future perspectives [J]. Europace, 2015, 17(2):14-18.
- [13] STAVRAKIS S, SCHERLAG BJ, FAN Y, et al. Antiarrhythmic effects of vasostatin-1 in a canine model of atrial fibrillation [J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2012, 23(7):771-777.
- [14] BASSINO E, FORNERO S, GALLO MP, et al. Catestatin exerts direct protective effects on rat cardiomyocytes undergoing ischemia/reperfusion by stimulating PI3K-Akt-GSK3 β pathway and preserving mitochondrial membrane potential [J]. PLoS One, 2015, 10(3):e0119790.
- [15] 李华波,陈世健,胡建华. 儿茶酚胺抑素对慢性心力衰竭大鼠室性心律失常的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(12):2128-2132.

(编辑 卓选鹏)