

内皮剥脱后家兔胸主动脉舒张反应的变化

刘乃奎 · 赵民清 · 唐朝枢 · 苏静怡

(北京医科大学心血管基础研究所病理生理研究室, 北京 100083)

Changes of Vascular Relaxation after Balloon Denudation of the Rabbit Aorta

LUI Nai-Kui, ZHAO Min-Qing, TANG Chao-Shu and SU Jing-Yi

(Department of Pathophysiology, Institute of Cardiovascular Research, Beijing Medical University, Beijing 100083, China)

ABSTRACT Changes of vascular relaxation after balloon denudation of the rabbit aorta were investigated. Endothelium-dependent relaxation of balloon-injured vessels to acetylcholine was reduced significantly, $27.7 \pm 9.9\%$ and $51.1 \pm 11.4\%$ of control at 2 and 4 weeks after denudation, respectively. However, sodium nitroprusside-induced relaxation and norepinephrine-induced contractile remained unchanged in the denuded vessel rings. After balloon denudation, vascular smooth muscle cell proliferation increased, and intima thickened. These findings indicated that function of vascular endothelium-dependent relaxation was injured, and endothelium-derived relaxing factor production may diminished after balloon denudation. Vascular smooth muscle cell proliferation was related to these changes.

KEY WORDS Denudation; Endothelium-dependent relaxation; Smooth muscle cell; Proliferation

摘要 本实验在家兔胸主动脉内皮剥脱模型上, 观察血管舒张反应的变化及其与血管平滑肌细胞增殖的关系。结果发现, 内皮剥脱后血管对乙酰胆碱的内皮依赖性舒张反应明显降低。术后2周和4周时分别为对照组的 $27.7 \pm 9.9\%$ 和 $51.1 \pm 11.4\%$; 实验组和对照组血管对去甲肾上腺素的收缩反应和硝普钠的舒张反应均无显著性差异。内皮剥脱后血管平滑肌细胞显

著增殖, 内膜增厚。这些结果提示, 内皮剥脱后血管的内皮依赖性舒张功能受损, 内皮源性舒张因子产生可能减少; 血管平滑肌细胞增殖可能与这些变化有关。

关键词 内皮剥脱; 内皮依赖性舒张反应; 血管平滑肌细胞; 增殖

经皮冠状动脉腔内成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA)后6个月内有25%~35%的病例, 再通的冠状动脉发生再狭窄, 严重限制了PTCA的推广应用。再狭窄的主要病理变化是血管平滑肌细胞增殖^[1]。近年来研究发现内皮细胞可以产生一些舒血管物质, 如内皮源性舒张因子(endothelial derived relaxing factor, EDRF), 前列环素(prostacyclin, PGI_2)等, 它们有抑制血管平滑肌细胞增殖的作用^[2,3]。本实验在家兔胸主动脉球囊内皮剥脱模型上, 观察血管舒张反应的变化, 以探讨内皮功能改变在再狭窄发生中的作用。

1 材料与方法

1.1 球囊内皮剥脱术

雄性大耳白家兔, 体重2~2.5 kg, 术前禁食12 h, 5%戊巴比妥钠($0.4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$)于耳缘静脉注入麻醉, 右股动脉逆行插入4 F Fogarty导管到胸主动脉弓端, 注入0.5 ml生理盐水充盈球囊, 反复抽拉球囊3次, 剥脱5 cm胸主动脉内皮, 取出导管, 结扎股动脉, 缝合切口, 常规饲养, 并注射青霉素3日, 80万U/日。

术后立即随机取两只家兔, 于耳缘静脉注入0.5% Evans蓝($2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$), 1 h后处死动物, 取出胸主动脉, 观察内皮剥脱情况; 再分别于术后第14和28天, 各取6只家兔, 其中每组取3只做Evans蓝染色。用网格测微尺测新生内皮面积(剥脱区非蓝染面积)。

另取每组三只家兔, 戊巴比妥钠麻醉下, 左颈总动脉插管和左股动脉切口。在生理压下, 经插管灌注500

ml 生理盐水后,灌注 10% 中性福尔马林 500 ml 行原位固定。取出胸主动脉,作组织切片,HE 染色,光镜观察,用目镜测微尺测量内膜及中膜厚度。

1.2 离体家兔动脉环灌流

取上述球囊剥脱术后第 14 天和第 28 天家兔各 8 只,过量戊巴比妥钠麻醉处死。取出胸主动脉,分别修剪近心段(内皮剥脱段)和近膈段(内皮完整段,作为对照),制成 2~3 mm 血管环。置于含 5 ml kreb's-Henseleit 液(37℃)的浴槽中,连续通 95% O₂-5% CO₂,经张力换能器—记录仪监测血管环对去甲肾上腺素(noradrenaline, NA),乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)和硝普钠的收缩和舒张反应。溶液中加入 10⁻⁵ mol·L⁻¹消炎痛以防止血管前列环素产生。

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,作 Students-*t* 检验。

2 结果

2.1 内皮剥脱后胸主动脉形态学变化

术后即刻 Evans 蓝染色发现内皮剥脱段完全均匀蓝染,表明内皮已完全剥脱。内皮剥脱后 2 周,已有 42.0±7.2% 的新生内皮覆盖。剥脱 4 周,已有 75.3±5.1% 的新生内皮覆盖,组织学研究表明,内皮剥脱后 2 和 4 周时,胸主动脉平滑肌细胞明显增殖,内膜/中膜厚度比值分别为 17.8±2.9% 和 24.7±7.2%,而对照组无新生内膜,亦无平滑肌细胞增殖。

2.2 术后血管对乙酰胆碱的舒张反应

内皮剥脱后 2 和 4 周时,胸主动脉对 NA 的最大收缩反应和半数有效量(50% effective dose, ED₅₀)与对照组无显著性差异(Table)。正常血管环在 10⁻⁶ mol·L⁻¹ NA 预刺激收缩的基础上对 ACh 发生舒张反应,且呈剂量依赖性。而内皮剥脱后 2 和 4 周的血管环在相同情况下对 ACh 的舒张反应明显减弱,分别为对照组的 27.7±9.9% 和 51.1±11.4%(Figure 1,2)。各组血管环均对硝普钠发生浓度依赖性舒张反应。内皮剥脱后 2 和 4 周的血管环对硝普钠的舒张反应与对照组相似,差别无统计学意义(*P*>0.05)。

3 讨论

再狭窄的核心问题是血管平滑肌细胞增殖,内皮损伤是再狭窄的始动因素。然而,关于损伤诱导血管平滑肌细胞增殖的机制尚未完

Table. The contractile response of normal and denuded thoracic aorta to noradrenaline($\bar{x} \pm s$).

Weeks	group	n	ED ₅₀ (-log mol·L ⁻¹)	E _{max} (g)
2	C	7	6.61±0.23	6.13±2.04
	E	7	6.69±0.23	5.85±2.06
4	C	4	6.26±0.10	6.03±0.82
	E	6	6.03±0.37	5.50±1.25

C: control group, E: experimental group

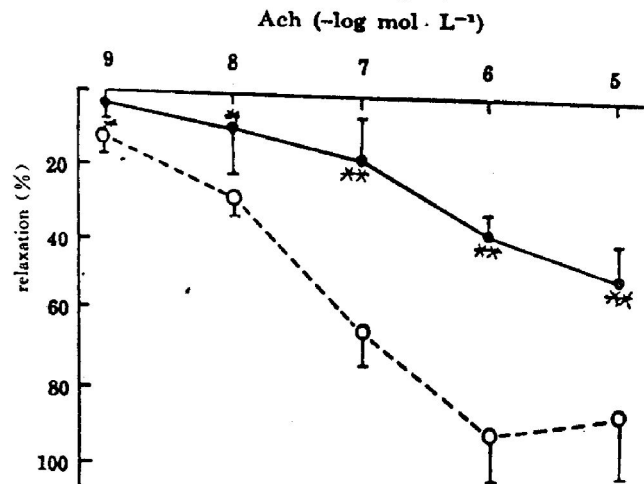


Figure 1. Endothelium-dependent relaxation of rabbit thoracic aorta to acetylcholine at 2 weeks after balloon denudation. —○—: control group; - - -○- -: experimental group. *: *P*<0.05, **: *P*<0.01 compared with control group, *n*=6.

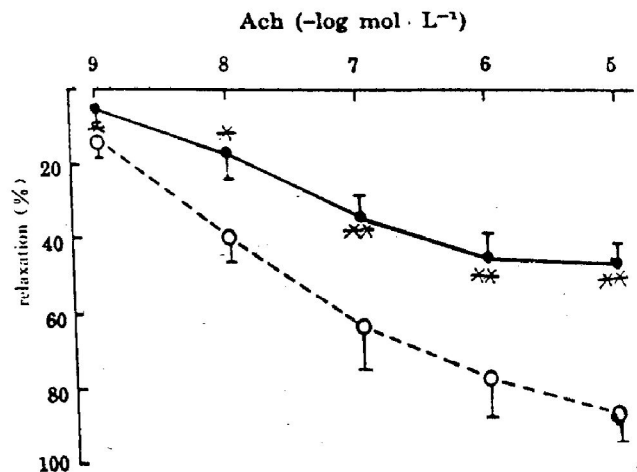


Figure 2. Endothelium-dependent relaxation of rabbit thoracic aorta to acetylcholine at 4 weeks after balloon denudation. —○—: control group; - - -○- -: experimental group. *: *P*<0.05, **: *P*<0.01 compared with control group, *n*=6.

全阐明^[1]。本实验中发现平滑肌细胞明显增殖,提示内皮损伤可致血管平滑肌细胞增殖。

内皮剥脱后血管环对 NA 的收缩反应无

明显改变,对硝普钠的非内皮依赖性舒张反应亦无显著性差异,说明内皮剥脱后血管平滑肌细胞的舒张和收缩功能是正常的。相反,内皮剥脱后血管对 ACh 舒张反应明显减弱,提示内皮功能受损。尽管剥脱后有新生内皮出现,2 周和 4 周时新生内皮分别为 $42.0 \pm 7.2\%$ 和 $75.3 \pm 5.1\%$,而同一时期的 ACh 内皮依赖性舒张反应仅为 $27.7 \pm 9.9\%$ 和 $51.1 \pm 11.4\%$,提示新生的内皮功能异常。Weidinger 等^[5]在兔,髂动脉球囊内皮剥脱模型上亦观察到相似的结果。

血管内皮是特化的调节组织,通过旁分泌方式释放收缩血管、促进平滑肌细胞增殖的物质(如内皮素,血管紧张素等)和扩张血管、抑制平滑肌细胞增殖的物质(如 EDRF, PGI_2 等)来调控血管的功能和结构^[2~4]。业已证明, ACh 的内皮依赖性舒张反应是通过 EDRF 介导的^[4]。本实验过程中应用了 PGI_2 合成抑制剂,故实验中 ACh 舒张反应减弱可能是由于 EDRF 减少所致。EDRF 有抑制血管平滑肌细胞增殖的作用^[2],提示内皮功能受损,EDRF 减少可能是损伤诱导平滑肌细胞增殖的机制之

一。此外,补充 EDRF 前体 L-精氨酸,恢复血管 EDRF 含量是否有助于抑制平滑肌细胞增殖、防治再狭窄值得进一步探讨。

参考文献

- 1 Klein LW, Rosenblum J. Restenosis after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Prog Cardiovasc Dis*, 1990, 32: 365
- 2 Gary UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 1989, 83: 1 774.
- 3 Morisaki N, Kanzaki T, Motoyama N, et al. Cell cycle-dependent inhibition of DNA synthesis by prostaglandin I_2 in culture rabbit aortic smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 1988, 71: 165.
- 4 毕万里,汤健. 血管的内分泌功能. 见汤健,唐朝枢著:循环系统的内分泌功能. 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,北京:1989;62.
- 5 Weidinger FF, McInachan JM, Cybulsky MI, et al. Persistent dysfunction of regenerated endothelium after balloon angioplasty of rabbit iliac artery. *Circulation*, 1990, 81: 1 667.

(本文 1994-12-05 收到,1995-01-19 修回)