

左旋硝基精氨酸所致肺动脉高压大鼠外周血管多巴胺-1受体反应性的变化

支建明 陈建鸣 赵荣瑞

(山西医科大学生理学教研室, 太原 030001)

主题词 多巴胺受体; 一氧化氮合酶; 肺动脉高压; 精氨酸; 非诺多泮; 肺动脉 肾动脉; 肠系膜动脉

摘要 为研究一氧化氮合酶抑制剂左旋硝基精氨酸诱导的肺动脉高压大鼠各部位离体血管环对多巴胺-1受体反应性的影响, 采用大鼠肺动脉、肠系膜动脉和肾动脉离体血管标本, 在去甲肾上腺素收缩血管后, 用多巴胺-1受体选择性激动剂非诺多泮使血管舒张, 所有实验在吲哚美辛(10 $\mu\text{mol/L}$)和普萘洛尔(3 $\mu\text{mol/L}$)存在下进行。左旋硝基精氨酸组大鼠各动脉对非诺多泮的反应性均有不同程度的降低, 以肺动脉最明显, 最大舒张占预收缩的百分比为 $45.5\% \pm 4.1\%$, 低于对照组的 $97.3\% \pm 10.6\%$ ($P < 0.01$); 亲和常数为 2042 ± 221 , 低于对照组的 4274.2 ± 512 ($P < 0.01$), 接近对照组的去内皮水平。肠系膜动脉和肾动脉对非诺多泮的反应性亦有下降, 但下降程度明显低于肺动脉。结果提示, 内皮依赖性受体介导多巴胺-1的舒张效应降低是左旋硝基精氨酸形成肺动脉高压的因素之一。

Changes in Responsiveness of Dopamine Receptors in Some Peripheral Vessels in L-NNA Induced Pulmonary Artery Hypertension in Rats

ZHI Jian-Ming, CHEN Jian-Ming and ZHAO Rong-Rui

(Department of Physiology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

MeSH Receptors, Dopamine; Nitric-Oxide Synthase; Hypertension, Pulmonary; Arginine; Fenoldopam; Pulmonary Artery; Renal Artery; Mesenteric Arteries

ABSTRACT **Aim** The vasorelaxation responses of some peripheral vessels to fenoldopam, a selective dopamine-1 receptor agonist, were observed in N^G -nitro-L-arginine (L-NNA), a selective NO synthase antagonist, induced pulmonary artery hypertension (PAH) rats.

Methods Rings of rat pulmonary, renal, mesenteric artery were to dopamine-1 (DA_1) receptor agonist responsiveness. All experiments were performed in the presence of indomethacin (10 $\mu\text{mol/L}$) and propranolol (3 $\mu\text{mol/L}$) to prevent the production of vasoactive prostanoids and the binding of norepinephrine with beta receptor.

Results It was shown that, during the development of PAH, the vasorelaxation responses to fenoldopam were significantly reduced in peripheral vessels, especially in the pulmonary vessel. After 28 days, the E_{max} (%) in the pulmonary artery was $45.5\% \pm 4.1\%$, being lower than the control group of $97.3\% \pm 10.6\%$ and the K_A was 2042 ± 221 , being lower than the control group of 4272 ± 512 ($P < 0.01$), while in the mesenteric and renal vessels, the vasorelaxation responses were only moderately decreased after 28 days.

Conclusion These results show that the deteriorated peripheral vessels DA_1 receptor-mediated vasorelaxation might be one of the mechanisms underlying development of hypertension.

近年来认为内皮素 (endothelin, ET) 与一氧化氮 (nitric oxide, NO) 是一对依赖于血管内皮的收缩与舒张物质。内皮损伤后, 内皮合成 NO 能力显著下降, 从而使舒张血管的作用减弱, 而内皮素可通过它的强而长效的收缩血管和促进平滑肌细胞增殖作用使得血压升高, 产生高血压^[1]。研究证实, 在外周血管中广泛存在多巴胺 DA_1 受体, 它可直接引起血管舒张, 参与血管活动的调节^[2]。在大多数血管, DA_1 受体主要分布于血管平滑肌层, 因而受体介导的舒张效应是非内皮依赖性的。但肺血管例外, 其 DA_1 受体主要分布在内皮层, 舒张血管效应是内皮依赖性的^[3,5]。多巴胺受体舒张血管效应是通过刺

激腺苷酸环化酶活性释放环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 而促使血管舒张^[2]。高血压形成后, DA_1 受体的反应性是否发生了变化目前尚不清楚。本研究在采用离体血管环微量生物鉴定法对一氧化氮合酶 (NO synthase, NOS) 抑制剂左旋硝基精氨酸 (N^G -nitro-L-arginine, L-NNA) 诱导的肺动脉高压 (pulmonary artery hypertension, PAH) 大鼠外周血管 DA_1 受体反应性进行检测, 观察了 DA_1 受体对特异性激动剂反应的变化。

1 材料和方法

1.1 药物

去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 为上海第一制药厂产品。非诺多泮 (fenoldopam, SK & F 82526, SmithKline Beecham, USA)。L- NNA、吲哚美辛 (indomethacin) 和普萘洛尔 (propranolol) 为 Sigma 公司产品。cAMP 测定试剂由上海第二医科大学提供。

1.2 动物模型建立

10 周龄健康 Wistar 雄性大鼠 16 只, 体重 160 ~ 180 g, 随机分为两组: L- NNA 组 ($n=8$): 采用 Toda 等^[4]报道的方法, 即一次从尾静脉注射 L- NNA 水溶液 (75 $\mu\text{g/g}$) 复制高血压模型; ④对照组 ($n=8$): 从尾静脉给同体积的蒸馏水。所有大鼠常规喂食, 不作特殊处理。

1.3 在体肺动脉压测定和动脉血气分析

按我室以前的方法测定给药后 28 天大鼠肺动脉压, 并从颈总动脉采血 0.2 mL, 用 AVL- 939 型血气分析仪进行血气分析。

1.4 离体血管环实验

颈椎脱位法处死大鼠, 迅速取出所需动脉, 在 95% O_2 和 5% CO_2 饱和的冰冷 Kreb's 溶液中分离血管周围的结缔组织, 制成 3 mm 长的环形血管标本, 用滤纸吸干, 称重后悬挂在器官灌流装置内。灌流液中加以吲哚美辛 (10 $\mu\text{mol/L}$) 和普萘洛尔 (3 $\mu\text{mol/L}$), 分别阻断内源性前列环素和 β 受体的舒血管效应。血管平衡 90 min 后进行实验, 各动脉的前负荷均为 0.5 g, 以次最大浓度 NE (30 $\mu\text{mol/L}$) 进行预收缩。在预收缩达到平台期后, 给予 DA_1 受体特异性激动剂^[4] 非诺多泮得出浓度- 舒张效应曲线。舒张血管的效应以收缩张力减少的百分比表示。测出最大浓度下舒张占预收缩的百分比 (E_{max}) 和激动剂与受体结合的亲和常数 (K_A , 达最大舒张 50% 的药物浓度的倒数)。在测定血管舒张反应后, 继续孵育血管, 用 NE 收缩血管后, 在灌流液中加入激动剂非

诺多泮, 终浓度为 30 $\mu\text{mol/L}$, 作用 4 min, 取出置于液氮中, 用于测定血管中 cAMP 含量。

1.5 血管组织环磷酸腺苷的测定

从液氮中取出血管, 每个标本加 1 mol/L 高氯酸 1 mL, 匀浆, 3 000 r/min 离心, 取上清液, 用 20% KOH 中和, 再离心, 取全部上清, 在 70 $^{\circ}\text{C}$ ~ 75 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中蒸干, 进行 cAMP 测定, 测定方法参照试剂说明书。

1.6 统计学处理

实验数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用配对计量资料比较的 t 检验。

2 结果

2.1 肺动脉压和动脉血气变化

对照组大鼠平均肺动脉压、血液二氧化碳分压 (PCO_2) 和氧分压 (PO_2) 分别为 (2.5 ± 0.5) mmHg、(5.3 ± 0.6) mmHg 和 (13.2 ± 1.3) mmHg, L- NNA 组大鼠平均肺动脉压、 PCO_2 和 PO_2 分别为 (4.4 ± 0.6) mmHg、(7.1 ± 0.8) mmHg 和 (7.3 ± 0.7) mmHg, 两组相比均有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 多巴胺- 1 受体反应性变化

实验用的所有动脉对特异性激动剂非诺多泮可产生浓度依赖性舒张反应, L- NNA 组各血管反应性的变化有明显不同。肺动脉对非诺多泮引起的舒张反应明显低于对照组 ($P < 0.01$), 接近正常肺动脉去内皮水平 (图 1, Figure 1), 而肠系膜动脉和肾动脉舒张反应虽有降低, 但其降低程度明显小于肺动脉。去内皮后的肺动脉对非诺多泮的舒张反应几乎消失, 而肠系膜动脉和肾动脉的舒张反应基本不受去内皮的影响 (图 2, Figure 2), 提示肺动脉 DA_1 受体主要存在内皮上。L- NNA 组各血管反应性较对照组的浓度- 舒张效应曲线右移, E_{max} 和 K_A 均减小 (表 1, Table 1)。

表 1. 不同动脉对非诺多泮反应的最大舒张百分比和亲和常数的变化

Table 1. Changes in E_{max} and K_A of vascular response to fenoldopam in different vessels ($\bar{x} \pm s$)

Vessels	n	$E_{\text{max}} (\%)$		$K_A (\times 10^4)$	
		Control group	L- NNA group	Control group	L- NNA group
Pulmonary	8	97.3 \pm 10.6	45.5 \pm 7.1 ^c	4.27 \pm 0.51	2.04 \pm 0.22 ^c
Renal	6	98.5 \pm 11.2	82.2 \pm 7.0 ^b	3.47 \pm 0.44	1.17 \pm 0.17 ^b
Mesenteric	8	94.3 \pm 9.6	80.0 \pm 8.8 ^a	5.23 \pm 0.48	2.61 \pm 0.26 ^a

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.001$, compared with control group

2.3 血管组织环磷酸腺苷含量的变化

在 DA_1 激动剂作用于受体后, 血管中的 cAMP

均有不同程度的增加, 但 L- NNA 组增加量明显低于对照组 (图 3, Figure 3)。

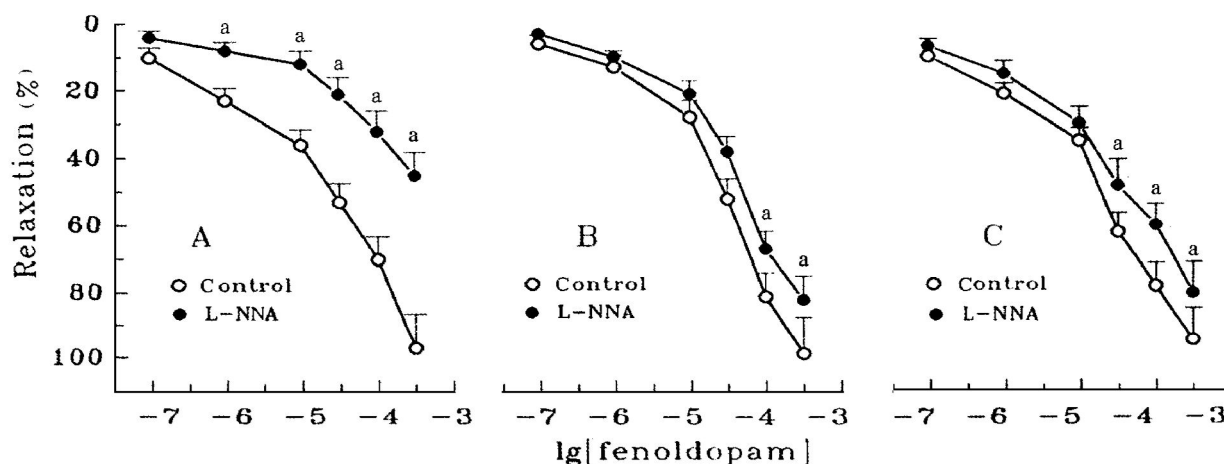


图1. 非诺多泮引起 L- NNA 组和对照组大鼠离体血管舒张反应曲线

Figure 1. Effects of angiotensin on isolated arteries of L-NNA ($n=8$) and control ($n=8$) group rats. Each point represents the mean, percentage relaxation of norepinephrine precontracted vascular ring. A: Pulmonary arteries; B: Renal arteries; C: Mesenteric arteries. a: $P < 0.05$

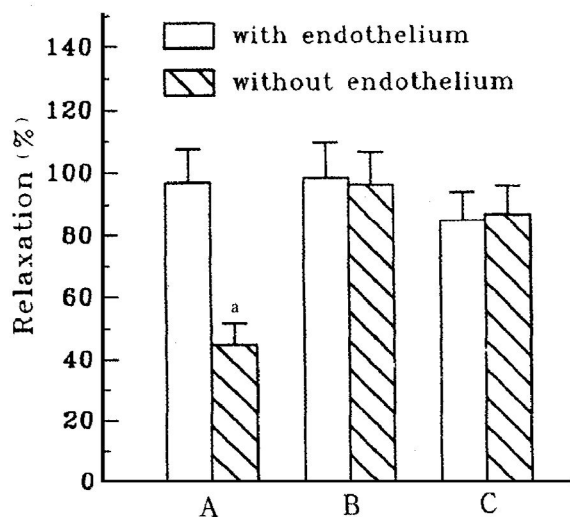


图2. 内皮对非诺多泮引起血管舒张反应的影响

Figure 2. Effects of fenoldopam on rats isolated arteries with or without endothelium. A: Pulmonary arteries; B: Renal arteries; C: Mesenteric arteries. a: $P < 0.01$

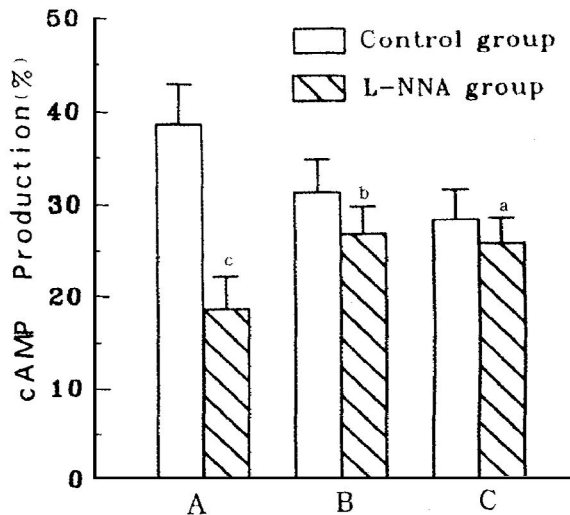


图3. 非诺多泮引起离体血管 cAMP 含量的变化

Figure 3. Effects of fenoldopam on cAMP production in peripheral vessels of L-NNA and control group. A: Pulmonary arteries; B: Renal arteries; C: Mesenteric arteries. a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.001$

3 讨论

本实验采用尾静脉一次注射 L- NNA (75 $\mu\text{g/g}$) 28 天后, 平均肺动脉压、 PCO_2 和 PO_2 均有明显改变, 与野百合碱复制的肺动脉模型^[8] 基本相似, 证实一次大剂量注射 L- NNA 可以复制肺动脉高压模型。

NO 与内皮素是一对重要的依赖于内皮的舒张与收缩血管因子, 两者之间的相互作用, 保持自身平衡, 是维持血管张力的基础^[1]。在本实验中, 注射 L- NNA 后造成肺动脉高压动物模型, 其机制是 L- NNA 抑制 NOS, 从而使 NO 合成与释放障碍, 而凝血酶等内源性激动剂刺激内皮细胞产生大量内皮素, 内皮素使血管强烈收缩, 心肌和血管平滑肌细胞增

殖, 增加细胞内游离 Ca^{2+} 浓度, 管壁增厚变窄, 阻力增加, 产生高血压^[6]。由于肺动脉 DA_1 受体主要分布于内皮层, 因而对激动剂的舒张反应是内皮依赖性的^[4], 其舒张作用是通过 NO 途径介导。当内皮合成 NO 障碍时, 首先影响肺动脉 DA_1 受体, 使其舒张血管的反应下降。在正常情况下, 细胞内 cAMP 增加引起细胞内游离 Ca^{2+} 下降, 这可能是受体激动剂舒张血管平滑肌的主要机制。有学者提出, 细胞内依赖 cAMP 的蛋白激酶刺激肌球蛋白轻链激酶磷酸化, 阻止肌动蛋白和肌球蛋白的相互作用, 从而抑制平滑肌收缩^[7]。在高血压血管结构的改变过程中, 内皮素和血管紧张素 II 影响存在内皮和平滑肌

细胞内的腺苷酸环化酶活性,减少具有抑制血管平滑肌细胞增殖的 cAMP 在细胞内的含量,从而使依赖于 cAMP 舒张的 DA₁ 受体对激动剂的反应性降低。本实验也证实了激动剂作用于 DA₁ 受体后, L- NNA 组血管中 cAMP 的含量比对照组明显减少。

一些研究者分别对自发性高血压大鼠主动脉环、肾性高血压肠系膜动脉条进行离体灌流,发现这些动脉对 NE、内皮素和血管紧张素呈明显剂量依赖性收缩反应性增强,而对乙酰胆碱的内皮依赖性舒张反应明显减低^[1,8]。本实验还观察到多巴胺受体舒张血管的效应减弱,说明高血压的形成是血管收缩和舒张失衡,收缩大于舒张引起的。因此,在治疗高血压时,除使用抑制血管收缩的药物(肾素抑制剂、血管紧张素转化酶抑制剂和血管紧张素 Ⅱ拮抗剂)外,还应联合使用舒张血管的药物。

参考文献

- 1 Shepherd JT, Zvonimir S. Endothelium- derived vasoactive factor: I. endothelium relaxation. *Hypertension*, 1991, **18** (Suppl III): 76- 85
- 2 Goldberg LI, Kohli JD, Glock d. Conclusive evidence for two subtypes

of peripheral dopamine receptors. In: *Dopaminergic Systems and Their Regulation* (Woodruff GN, et al, eds.). Macmillan, London, 1986, 195- 212

- 3 Glodberg Li, Kohli JD. Acomparision of the vascular dopamine receptors with orther dopamine receptors. *Annu Res Pharmacol Toxicol*, 1987, **18**: 57- 59
- 4 Toda N, Kitamura Y, Okamura T. Neural mechanism of hypertension by nitric oxide synthase inhibitor in dog. *Hypertension*, 1993, **21**: 3- 8
- 5 Zhu L, Zhao RR, Wang WZ. Comparative studies on the characteristics of dopamine in different vascular systems. *Chin J Physio Sci*, 1995, **11**: 81- 89
- 6 Offner PJ, Ogura H, Jordan BS. Cardiopulmonary effects of combined nitric oxide inhibition and inhaled nitric oxide in porcine endotoxic shock. *J Trauma*, 1996, **41** (4): 641- 646
- 7 Lusher TE, Dohi Y, Tschudi M. Endithelium- dependent regulation of resistance arteries: Alterations with aging and hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992, **19** (Suppl 5): 34- 42
- 8 Zhi JM, zhang WF. Change of DA₁ receptor in various peripheral vessel in pulmonary artery hypertension rats. *Chin J Pathophysiol*, 1998, **14** (6): 692- 695

(此文 1999- 06- 03 收到, 1999- 10- 27 修回)

(此文编辑 文玉珊)