

培哚普利对一氧化氮缺乏大鼠主动脉内膜增生和 P 选择素表达的影响

苏海, 余茂生, 鄢定红, 程晓曙

(江西医学院心血管病研究所, 附属第二医院心内科, 南昌 330006)

[主题词] P 选择素; 一氧化氮; 内膜, 血管; 血管紧张素转化酶抑制剂

[摘要] 为观察培哚普利对一氧化氮缺乏大鼠主动脉病理变化及 P 选择素表达的影响。随机选择 20 周龄雄性 Wistar 大鼠分为正常对照组; L-NAME 处理组; L-NAME 及 4 mg/(kg·d) 和 0.4 mg/(kg·d) 两种剂量培哚普利治疗组。各组于干预后 2 周及 8 周取材; 另两组 L-NAME 处理大鼠于处理后 1 日及 3 日时取材。检测血压、主动脉内层与中层面积比和动脉内层 P 选择素阳性细胞数。结果发现, 对照组大鼠主动脉内膜未见 P 选择素阳性细胞。L-NAME 处理 1 天鼠主动脉内膜可见 P 选择素阳性细胞, L-NAME 处理 3 天鼠 P 选择素阳性细胞数明显增多。④ L-NAME 处理 2 周及 L-NAME 处理 8 周组随着内层与中层面积比增加, P 选择素阳性细胞数进一步增加。④培哚普利处理 2 周和 8 周组主动脉内层与中层面积比明显小于各自的 L-NAME 处理对照组, 同时 P 选择素阳性细胞数也明显减少。研究证明培哚普利可以明显减少 L-NAME 所致的 P 选择素的过度表达及减轻动脉内膜增厚的程度。

[中图分类号] R972

[文献标识码] A

文献[1]报道, 一氧化氮(nitric oxide, NO) 合酶抑制剂 L-硝基-精氨酸甲酯(N^ω-nitro-L-arginine methyl, L-NAME)可使培养内皮细胞过度分泌 P 选择素。长期使用 L-NAME 可以导致实验动物产生明显的冠状动脉粥样硬化(atherosclerosis, As) 病变, 而用血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI) 治疗可以减轻 NO 合酶抑制剂的致 As 作用^[2]。然而, 在 L-NAME 诱致 As 的过程中 P 选择素, 以及 ACEI 的抗 As 机制中的作用了解甚少。我们利用 L-NAME As 大鼠模型, 观察培哚普利(perindopril, PD) 的作用及对 P 选择素的影响。

1 材料和方法

1.1 药物

L-NAME 购自 Sigma 公司, 培哚普利(商品名雅施达)由法国施维雅药厂提供。P 选择素单克隆抗体(ARP 2-4)为日本住友药厂提供。

1.2 动物分组

20 周龄雄性 Wistar 大鼠分 4 大组 10 小组。第 1 大组为对照组, 饮用自来水; 第 2 大组为 L-NAME 处理组, 饮用含 L-NAME 自来水(0.5g/L), 每日每鼠

用量为 15~ 20 mg。第 3 大组为培哚普利治疗组, 在用 L-NAME 处理同时, 以 4 mg/(kg·d) 和 0.4 mg/(kg·d) 剂量喂服培哚普利。以上各组大鼠于开始后 2 周和 8 周分别取材。第 4 大组也为 L-NAME 处理组, 于处理后一日及三日取材观察 P 选择素表达。

1.3 血压测量

血压测量采用尾套法, 于实验开始及干预后每周测定一次。

1.4 病理检测

腹腔注射麻醉后, 取胸主动脉, 6% 福尔马林固定, 选取降主动脉的近端石蜡包埋。连续切取 10 个主动脉横切面分置于两玻片, 分别行 HE 和 Masson's 染色。利用计算机测定主动脉内层及中层面积, 求内层与中层面积比(I/M)。

1.5 组织免疫化学染色

标本按常规脱蜡, 应用的 P 选择素单克隆抗体浓度为 40 mg/L。4℃条件下放置 24 h 后用 PBS 液洗涤, 加第二次抗体, 室温反应 1 h, 以生物素标记染色。P 选择素阳性细胞呈褐色。检测 5 个主动脉横切面, 计算动脉内层阳性细胞总数, 求平均值。

1.6 统计处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用配对 *t* 检验分析, *P* < 0.05 示差异有显著性。

2 结果

[基金项目] 江西省自然科学基金(9940016)资助

[作者简介] 苏海, 男, 1946 年出生, 江西人, 医学博士, 教授, 研究方向为高血压。余茂生, 男, 1966 年出生, 江西人, 医学硕士, 主治医师。鄢定红, 女, 1968 年出生, 江西人, 医学硕士, 讲师。

2.1 P 选择素阳性细胞

正常对照大鼠主动脉内膜未见 P 选择素阳性细胞。用 L-NAME 处理 1 日大鼠的主动脉内膜即可见 P 选择素阳性细胞, 处理 3 日的大鼠, P 选择素阳性细胞数明显增多(表 1)。表明 NO 合酶抑制剂可以快速地导致血管内皮细胞过度分泌 P 选择素。

表 1. L-NAME 处理后不同时程主动脉 P 选择素阳性细胞数与内层-中层面积比($n=8$)

分组	P 选择素阳性细胞数	内层-中层面积比(%)
对照组	0.0 ± 0.0	3.8 ± 0.2
L-NAME 处理 1 日	2.0 ± 1.2	4.0 ± 0.2
L-NAME 处理 3 日	6.8 ± 2.8^a	4.4 ± 0.2
L-NAME 处理 2 周	12.5 ± 3.8^a	5.4 ± 0.4
L-NAME 处理 8 周	30.2 ± 8.9^a	9.0 ± 0.9^a

a: 与对照组比较 $P < 0.05$ 。

2.2 培哚普利的干预作用

在培哚普利治疗 2 周和 8 周大鼠, 主动脉内膜增生程度及 P 选择素阳性细胞数均明显小于相应 L-NAME 处理组。表明培哚普利治疗可以明显减少 L-NAME 所致的 P 选择素的过度表达, 其治疗效果并不依赖培哚普利的降压作用(表 2 和表 3)。

表 2. 培哚普利对 L-NAME 处理 2 周鼠的收缩压、内层-中层面积比和 P 选择素阳性细胞数的影响($n=8$)

分组	P 选择素阳性细胞数	内层-中层面积比(%)	收缩压(mmHg)
对照组	0.0 ± 0.0	3.8 ± 0.2	106 ± 22
L-NAME 处理 2 周组	12.5 ± 3.8^a	5.4 ± 0.4^a	145 ± 13^a
L2+ 高浓度 PD 组	7.2 ± 1.8^c	4.7 ± 0.5	114 ± 18^c
L2+ 低浓度 PD 组	7.7 ± 2.0	5.4 ± 0.4	136 ± 14

a: 与对照组比 $P < 0.05$, c: 与 L 处理 2 周组比 $P < 0.05$

表 3. 培哚普利对 L-NAME 处理 8 周鼠的收缩压、内层-中层面积比和 P 选择素阳性细胞数的影响($n=8$)

分 组	P 选择素阳性细胞数	内层-中层面积比(%)	收缩压(mmHg)
对照组	0.0 ± 0.0	3.8 ± 0.2	108 ± 25
L-NAME 处理 8 周组	30.2 ± 8.9^a	9.1 ± 0.9^a	149 ± 11^a
L8+ 高浓度 PD 组	9.0 ± 2.2^c	6.7 ± 0.3^c	112 ± 19
L8+ 低浓度 PD 组	9.7 ± 2.3^c	6.6 ± 0.4^c	142 ± 13^c

a: 与对照组比 $P < 0.05$, $P < 0.05$; c: 与 L 处理 8 周组比 $P < 0.05$

一氧化氮(NO)具有多种重要的生理作用。急性抑制 NO 的合成, 可见血管内膜有大量的白细胞附着。在培养的内皮细胞^[1]和灌注的血管标本^[3]证实 NO 抑制亦可诱使 P 选择素过度分泌和表达。本文在大鼠中发现, 投以 L-NAME, 即可导致主动脉内皮细胞过度分泌 P 选择素, 这一异常表现随 L-NAME 投与时间延长而更明显。NO 合成抑制 8 周时, 局部 P 选择素阳性细胞更密集, 不仅位于内膜表面, 亦见于内膜下。这类细胞可能包括内皮细胞和炎症细胞。上述结果证明, P 选择素的异常分泌在 NO 合成抑制所致的 As 的发生过程中起一定作用。

培哚普利是血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)。ACEI 阻碍 Ang iv 转化为 Ang Ⅱ, 同时也使缓激肽降解减少。培哚普利可明显减轻服用 8 周 L-NAME 所致的冠状 As 病变, 并认为其主要机制是减少局部的 ACE 活性^[2]。本研究结果表明, 培哚普利能明显减轻 8 周 L-NAME 处理所致的大鼠主动脉内膜增生。而且, 其效果并不依赖于血压降低, 这一结果说明培哚普利抑制 ACE 活性的药理作用是其发挥抗内膜增生的主要机制。另一研究证实服用 L-NAME 8 周的大鼠心肌中 ACE 活性明显升高, 并产生明显的左室及冠状动脉重构。而同时加用与本文相同剂量的培哚普利使心肌 ACE 活性降低接近正常对照鼠的水平, 左室及冠状动脉的病变亦减轻^[4]。

本研究表明培哚普利除经 ACE 途径外, 还可能通过减少内皮细胞 P 选择素的分泌这一途径发挥作用。因为, 无论高或低剂量的培哚普利均使主动脉内层的 P 选择素阳性细胞数明显减少。培哚普利减少 P 选择素分泌的详细机理尚不明了, 可能与组织局部 Ang Ⅱ的生成减少及缓激肽含量增加有关。

参考文献

- [1] Armstead VE, Minchenko AG, Schuhl RA, et al. Regulation of P-s lectin expression in human endothelial cells by nitric oxide [J]. *Am J Physiol*, 1997, **273**: H740-746
- [2] Takemoto M, Egashira K, Usui M, et al. Important role of tissue angiotensin-converting enzyme activity in the pathogenesis of coronary vascular and myocardial structural changes induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats [J]. *J Clin Invest*, 1997, **99**: 278-287
- [3] Davenport KL, Gauthier TW, Lefer AM. Inhibition of endothelial-derived nitric oxide promote P-s lectin expression and action in the rat microcirculation [J]. *Gastroenterology*, 1994, **107**: 1050-1058
- [4] 鄢定红, 程晓曙, 王雪梅, 等. RAs 在 NO 缺乏导致的高血压及血管重构中的作用 [J]. *高血压杂志*, 2000, **8**: 349-354

(此文 2000-11-03 收到, 2001-04-17 修回)

(此文编辑 胡必利)

3 讨论