

•实验研究•

[文章编号] 1007-3949(2001)-04-0302-04

钙通道阻断剂与阿斯匹林对肺高压时肺小动脉壁增生的影响

王治平, 曾亚辉, 杨达华¹

(中山医科大学附属第一医院, 广东省广州市 510080; 1. 广东省燕岭医院)

[关键词] 钙通道阻断剂; 阿斯匹林; 肺动脉, 高压; 组织增生

[摘要] 本实验将新西兰大白兔的左肺动脉与降主动脉进行吻合, 环束吻合口近端的左肺动脉, 建立单侧动力性肺动脉高压模型。术后用药组兔给饮用大剂量心痛定与小剂量阿斯匹林, 并定期测定血中内皮素、血栓素 A₂/PGI₂ 的浓度变化。观察 2~3 个月后测肺动脉压及行肺组织病检, 发现在形成左→右分流的肺高压兔中, 用药组兔虽也行成了肺高压, 但肺小动脉壁增生程度明显较肺高压对照组轻, 用药组血浆中内皮素的峰值及血栓素 A₂/PGI₂ 比值也较肺高压对照组低。提示钙阻滞剂+阿斯匹林对肺高压时肺小动脉壁的增生有一定的抑制作用, 此种作用可能与药物抑制内皮素及血栓素 A₂ 的生成及促进 PGI₂ 的形成有一定关系。

[中图分类号] R541.1

[文献标识码] A

The Hyperplasia of Pulmonary Arteriole Wall during Pulmonary Hypertension can be Interfered by Calcium Channel Blocking and Aspirin

WANG Zhi-Ping, ZENG Ya-Hui, and YANG Da-Hua

(The First Affiliated Hospital, Sun Yat Sen University of Medical Science, Guangzhou 510080, China)

MeSH Calcium Channel Blocking; Aspirin; Pulmonary Artery, Hypertension; Hyperplasia

ABSTRACT **Aim** To observe whether the hyperplasia of pulmonary arteriole wall during pulmonary hypertension can be interfered by calcium channel-blocking. **Methods** Performed the anastomosis between left pulmonary artery and descending aorta in New Zealand rabbits, and banded the proximal left pulmonary artery of anastomosis, to establish the model of one-side kinetic pulmonary artery hypertension. After operation rabbits in drug group were fed with nifedipine and aspirin, and the blood concentration of endothelin and TXA₂/PGI₂ was measured regularly. Pulmonary artery pressure was measured and lung biopsy was performed in 2-3 months observation. **Results** During rabbits formatting pulmonary hypertension, those giving drugs got minor hyperplasia of pulmonary arteriole wall than those not giving drugs. The blood concentration of endothelin increased at all rabbits but the crest value was lower in drugs group. The ratio of TXA₂/PGI₂ was lower in drugs group too. **Conclusion**

Calcium channel blocker can inhibit the hyperplasia of pulmonary arteriole wall during the formation of pulmonary hypertension, which could be the results that calcium channel blocking and aspirin inhibit the production of endothelin and TXA₂ and promote the produce of PGI₂.

肺小动脉壁增生是导致肺动脉高压的重要途径。钙通道阻滞剂在治疗高血压病防止动脉硬化过程中的作用已获肯定, 在肺高压的治疗方面也有不少报道^[1,2], 但钙阻滞剂对肺血管壁增生的影响作用如何尚不清楚。本研究旨在观察钙阻滞剂+阿司匹林对肺高压形成过程中肺小动脉壁增生情况的影响。

1 材料与方法

[作者简介] 王治平, 男, 1956 年生, 湖南省祁阳县人, 1978 年毕业于衡阳医学院。中山医科大学心胸外科博士, 曾留学芬兰、德国。现为中山医科大学附属第一医院心胸外科副主任医师及副主任。主要从事心病肺高压及冠心病外科治疗研究。

1.1 实验动物分组

17 只新西兰大白兔, 雄性, 体重 2.0~2.7 kg。随机分为 3 组, 空白对照组 (normal group) 5 只兔, 不行任何处理, 同样条件下饲养 3 个月后测压。肺高压对照组 (control group) 7 只兔, 不用药; 其中 3 只观察 2 个月 (postoperation 60 days) 测压, 4 只兔观察 3 个月 (postoperation 90 days) 测压。肺高压用药组 (treated group) 5 只兔, 观察 3 个月 (postoperation 90 days) 测压。

1.2 肺动脉高压模型的建立

12 只兔在戊巴比妥静脉麻醉、气管插管机械呼吸条件下行左侧剖胸, 降主动脉与左肺动脉侧侧吻合术。吻合口 1.5~2.0 mm 大小, 环束吻合口近端

的左肺动脉至原 1/2~ 1/3 大小, 结扎左上肺的上部分枝, 使分流血液大部分进入左中下肺, 促使左下肺动脉形成高压^[3]。术后饲养 2~ 3 个月, 再次开胸, 依 Owen- Thomas^[4] 法插管至肺动脉测压, 并用 1. 1 mm 套管针穿刺吻合口远端的左肺动脉测压, 然后取肺组织做病检。以肺动脉收缩压 > 4 kPa (30 mm Hg)、平均肺动脉压 > 2. 67 kPa (20 mm Hg) 为形成肺高压的标准。肺小动脉壁的改变以内膜增生, 或中层增厚为标准。

1. 3 钙阻滞剂和阿司匹林的应用

用药组免于术前 1 天开始服用水溶性阿司匹林 (无锡华瑞制药有限公司生产) 及硝本地平 (广州市桥制药厂生产), 将药片溶于水给兔饮用, 不另给饮水。依兔每日饮水 100~ 150 mL 为标准, 约相当于每日给阿司匹林 5. 0~ 7. 5 mg/kg, 硝本地平 0. 8~ 1. 2 mg/kg (兔吃干饲料, 每天需饮水 44~ 61 mL/kg), 另两组兔不给药物。

1. 4 血管内皮素、血栓素 A2 和前列环素的测定

1. 4. 1 血浆样本的收集 用药组与肺动脉高压对照组均于术前、术后 20、40、60 和 90 天抽取兔耳中央动脉血 7 mL, 加入抑肽酶 1 400 IU, 10% 依地酸 (EDTA) 100 μ L 混匀, 4 $^{\circ}$ C 3 000 r/min 离心 10 min, 分别取血浆 2 mL (测内皮素)、1 mL (测血栓素 B2 与 6- 酮- 前列腺素 F1 α), 置入小塑料试管中加盖, - 30 $^{\circ}$ C 保存。

1. 4. 2 血浆内皮素的测定 依美国 Peninsula laboralories INC 提供的药盒说明书进行。内皮素的放射免疫测定, 依中国人民解放军总医院提供的内

皮素放射免疫分析药盒进行。

1. 4. 3 血栓素 B2 的测定 取样本血浆 100 μ L, 依次加入缓冲液, 0. 5% γ - 球蛋白各 200 μ L, 再加入 ¹²⁵I- 血栓素 B2 100 mL 及血栓素 B2 抗血清 100 μ L, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日加入 25% 的聚乙二醇 700 μ L, 4 $^{\circ}$ C 3 000 r/min 离心 30 min, 吸弃上清, 在 γ 计数器上测定沉淀的计数/min, 依标准曲线推算出结果 (此测定在苏州医学院血栓与止血研究室进行)。

1. 4. 4 前列腺素 F1 α 的测定 取样本血浆 300 μ L, 加入 0. 5% γ 球蛋白 200 μ L, ¹²⁵I- 前列腺素 F1 α 100 μ L 及前列腺素 F1 α 抗血清 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 温育 3 h, 然后加入 25% 聚乙二醇 700 mL, 4 $^{\circ}$ C 3 500 r/min 离心 30 min, 弃上清, 在 γ 计数器上测定沉淀的计数/min, 依标准曲线推算出结果 (此测定在苏州医学院血栓与止血研究室进行)。

1. 5 统计学处理

病理改变采用秩和检验, 余用方差分析及 *t* 检验, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2. 1 肺高压形成情况

兔测压结果见表 1 (Table 1), 与空白对照组相比, 行分流术的兔在术后 60 天左肺动脉压达 4. 0 kPa 以上, 已形成左肺动脉高压。两组分流兔压力测定无差别 (由于兔开胸测左肺动脉压后不易再饲养存活, 仅能测一次, 故仅取用药 90 天后测压)。

表 1. 各组兔测压结果 [$\bar{x} \pm s$, kPa (mm Hg)]

Table 1. Hemodynamic parameters in rabbits

Groups	<i>n</i>	ASP	PSP	LPSP
Normal	5	14. 7+ 1. 3 (110+ 10)	2. 7+ 0. 7 (20+ 5)	2. 7+ 0. 7 (20+ 5)
Control of PO 60	3	12. 8+ 1. 6 (96+ 12)	2. 7+ 0. 5 (20+ 4)	4. 0+ 0. 5 ^a (30+ 4)
Control of PO 90	4	11. 9+ 1. 5 (99+ 11)	2. 9+ 0. 5 (22+ 4)	4. 3+ 0. 3 ^a (32+ 2)
Treated of PO 90	5	13. 1+ 2. 0 (98+ 15)	2. 9+ 0. 8 (22+ 6)	4. 7+ 1. 3 ^a (35+ 10)

a: *P* < 0. 05, compared with normal group. ASP: aortic systolic pressure; PSP: pulmonary artery systolic pressure (肺动脉收缩压); LPSP: left pulmonary systolic pressure after anastomosis (吻合口远端左肺动脉收缩压). PO 60: postoperation 60 days; PO 90: postoperation 90 days (the same below).

2. 2 病理检验结果

肺组织病理检查发现, 光镜下 HE 及弹力纤维染色切片可见, 正常兔肺中与呼吸性细支气管和肺泡管伴行的肺小血管管壁薄, 弹力纤维层清楚无迂曲 (图 1 和 2, Figure 1 and 2); 肺高压组兔肺中上述小血管管壁中层明显增厚 (图 3, Figure 3), 弹力纤维

染色见弹力纤维层迂曲, 内外两层间距加大 (图 4, Figure 4), 管腔狭窄及闭塞, 尤以术后 90 天组明显; VG 染色可见内膜明显增生 (图 5, Figure 5)。用药组兔肺中上述血管管壁中层增厚较肺高压对照组轻, VG 染色下见内膜无增生 (图 6, Figure 6)。术后 90 天的病理结果比较, 两者差异有显著性 (表 2,

Table 2)。

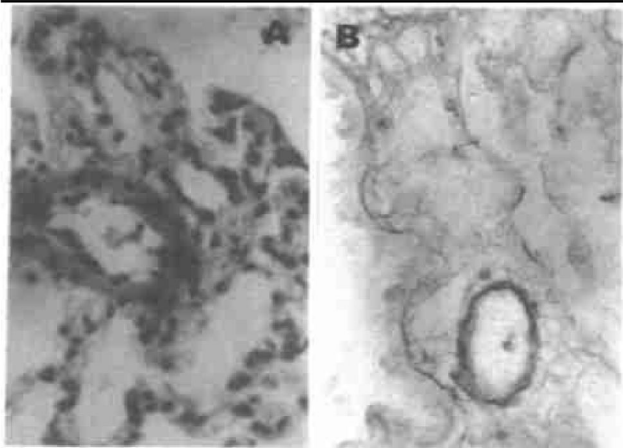


图 1. 正常兔肺小动脉. A: HE 染色, B: 弹力纤维染色(× 200) .

Figure 1. Pulmonary arteriole in normal rabbits. A is stained with HE, B is stained with gomori.

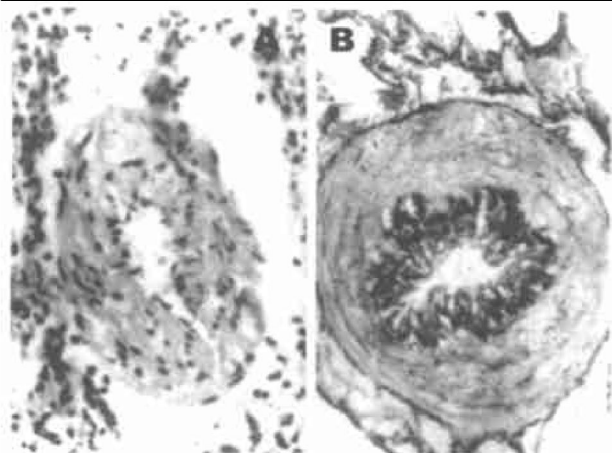


图 2. 肺高压兔肺小动脉. 示管壁中层明显增厚, 弹力层增宽, 管腔狭窄. (× 200) A: HE 染色, B: 弹力纤维染色.

Figure 2. Pulmonary arteriole in pulmonary hypertension rabbits, showed a thickened medial wall and a widened elastic lamina, and the lumina was narrow. A is stained with HE, B is stained with gomori.

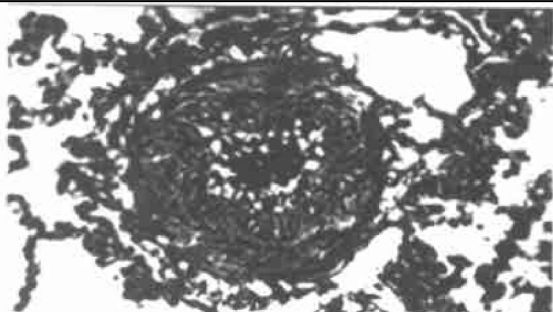


图 3. 肺高压兔肺小动脉. 示膜明显增生, 管腔闭塞. VG 染色 × 200.

Figure 3. Pulmonary arteriole in pulmonary hypertension rabbits, showed a thickened medial wall and extensive proliferative intima, the lumina was nearly total obstructed (control group). VG stain × 200

2.3 血浆血栓素 B2 和前列腺素 F1α 的浓度变化

肺高压对照组兔分流术后血中血栓素 B2 与前列腺素 F1α 的比值升高, 于术后 40 天左右达到峰值, 而后渐回复至正常。用药组兔的血栓素 B2 与前列腺素 F1α 的比值较之术前有逐渐下降趋势, 术后 40 天用药组血栓素 B2 与前列腺素 F1α 的比值明显低于肺高压对照组兔($P < 0.05$)。

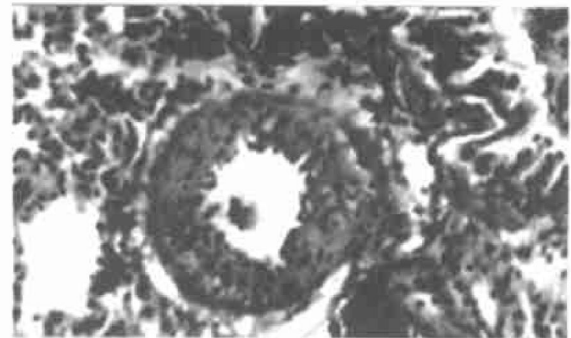


图 4. 用药组肺高压兔肺小动脉. 示中层增厚, 无内膜增生. VG 染色 × 200.

Figure 4. Pulmonary arteriole in drug group showed a mill increase in medial wall thickness but no intima proliferation. VG stain × 200

表 2. 肺组织的病理分级(HE 染色)

Table 2. Pathological parameter in rabbits (HE classify)

Groups	n	
Normal	5	0
Control of PO 60	3	iv(1) ㊟(2)
Control of PO 90	4	㊟(3) ㊟(1)
Treated of PO 90	5	iv(3) ㊟(2) ^a

a: $P < 0.05$, compared with control of postoperation 90 days group.

表 3. 分流手术前后血浆血栓素 B2 与前列腺素 F1α 的比值的变化

Table 3. Plasma TXB2/ PGF1α before and after operation

Time	Control group		Treated group	
	n	$\bar{x} \pm s$	n	$\bar{x} \pm s$
Preoperation	10	120 ± 64	10	120 ± 64
Postoperation				
20 days	4	173 ± 106	4	87 ± 51
40 days	6	211 ± 105 ^a	4	84 ± 53 ^Δ
60 days	5	113 ± 112	5	77 ± 34
90 days	4	81.86 ± 77	4	19 ± 7 ^b

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, compared with preoperation; c: $P < 0.05$, compared between two groups

2.4 兔分流术后血浆内皮素变化

兔分流术后各阶段血浆内皮素水平均增高, 为术前 1.4~ 2.1 倍, 术后 40~ 60 天达峰值。两组分流兔比较, 肺高压对照组兔术后 60 天内皮素水平较用药组明显为高(表 4, Table 4)。

表 4. 兔分流术后血浆内皮素值变化($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Table 3. The changes of plasma endothelin before and after operation

Time	Control group		Treated group	
	n	$\bar{x} \pm s$	n	$\bar{x} \pm s$
Preoperation	7	3.37 \pm 0.98	3	3.31 \pm 1.80
Postoperation				
20 days	5	5.99 \pm 1.00 ^a	5	5.88 \pm 1.40 ^a
40 days	4	6.35 \pm 1.50 ^a	4	6.45 \pm 1.59 ^a
60 days	4	7.82 \pm 0.60 ^a	4	5.86 \pm 1.50 ^{ac}
90 days	5	4.49 \pm 0.44 ^a	5	5.52 \pm 1.55 ^a

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

3 讨论

左向右分流的先天性心脏病常继发肺动脉高压, 肺组织病理检验可见到肺小动脉壁的增生, 最初为中层平滑肌肥大, 而后中层肥厚 \rightarrow 内膜增生 \rightarrow 内膜纤维化 \rightarrow 管腔闭塞 \rightarrow 丛样病变和血管瘤样扩张 \rightarrow 血管扩张及含铁血黄素沉着 \rightarrow 坏死性动脉炎。其增生的程度与肺高压的预后有明显的相关性, 当进入内膜纤维化与管腔闭塞阶段, 则为不可逆性病变。本实验建立的动力性肺动脉高压的模型类似先天性心脏病的情况, 由于从降主动脉经吻合口流入左肺动脉的血流压力高, 流量亦较大(最初的肺循环压力明显低于主动脉压, 阻力小, 流入便多), 使得肺动脉压力不断升高, 形成高压。因实验中已环束吻合口近端的左肺动脉, 分流的主动脉血并不进入主肺动脉, 故主肺动脉压可不改变或改变较轻。本实验肺高压组兔的肺小血管管壁明显增厚, 内膜明显增生, 管腔狭窄, 部分管腔闭塞, 肺动脉压力升高, 符合肺高压的病理生理改变。

肺高压时肺小动脉壁增生的影响因素较多, 其机理尚不完全清楚, 而血管收缩因子的增加与舒张因子的减少在其中的重要作用已获公认。已知钙阻滞剂具有扩张肺动脉的作用而阿斯匹林则有一定的抗凝作用, 本实验给兔服用钙阻滞剂+ 阿斯匹林后, 发现肺小动脉壁的增生程度较肺高压对照组轻, 说

明肺小动脉壁的增生受到了药物的干扰而延缓。依据本实验测定的血中内皮素及血栓素 A₂、PGI₂ 的变化情况, 其原因可能与药物抑制内皮素及血栓素 A₂ 的分泌, 促进了 PGI₂ 的形成有一定关系。钙阻滞剂与小剂量阿斯匹林均可抑制血小板的聚集和激活, 从而可减少血栓素 A₂ 的生成^[5-9], 同时因血小板释放的转移生长因子 β (TGF- β) 和其它颗粒成分可刺激内皮素分泌^[10,11], 当血小板受抑制, 释放减少时, 内皮素的分泌亦有所减少。内皮素促血管平滑肌增生^[12,13]的作用便减弱。另外, 钙阻滞剂可促使 PGI₂ 和 PGE₂ 合成^[14], 增加了血管舒张因子的影响, 并直接抑制血栓素 A₂ 引起的肺动脉压升高^[15], 也是机理之一。综上所述: 钙阻滞剂与阿斯匹林对肺高压时肺小动脉壁的增生有一定的抑制作用。

参考文献

- [1] McMahon CJ, Kadkin J, Nihill MR, et al. Rapid regression of primary pulmonary hypertension [J]. *Heart*, 2001, **86** (1): E1
- [2] Krishnan U. Diagnosis and management of primary pulmonary hypertension [J]. *Indian J Pediatr*, 2000, **67** (Suppl 3): S41- 45
- [3] 王治平, 曾亚辉, 孙培吾, 等. 利用 Pott's 手术建立兔单侧动力性肺动脉高压模型 [J]. *中山医科大学学报*, 2001, **22**(4): 254- 256
- [4] Owen-Thomas JB, Reeves JT. Hypoxia and pulmonary arterial pressure in the rabbit [J]. *J Physiol*, 1969, **201**: 665- 672
- [5] Yang Z, Noll G, Luscher TF. Calcium antagonists differently inhibit proliferation of human coronary smooth muscle cells in response to pulsatile stretch and platelet-derived growth factor [J]. *Circulation*, 1993, **88** (3): 832- 836
- [6] Tohgi H, Konno S, Tamura K, et al. Effects of low- to- high doses of aspirin on platelet aggregability and metabolites of thromboxane A₂ and prostacyclin [J]. *Stroke*, 1992, **23** (10): 1400- 403
- [7] Ohlstein EH, Storer BL, Butcher JA, et al. Platelets stimulate expression of endothelin mRNA and endothelin biosynthesis in cultured endothelial cells [J]. *Circ Res*, 1991, **69** (3): 832- 841
- [8] Wort SJ, Woods M, Warner TD, et al. Endogenously released endothelin-1 from human pulmonary artery smooth muscle promotes cellular proliferation: relevance to pathogenesis of pulmonary hypertension and vascular remodeling [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, **25** (1): 104- 110
- [9] Escoubet B, Griffaton G, Samuel JL, et al. Calcium antagonists stimulate prostaglandin synthesis by cultured rat cardiac myocytes and prevent the effects of hypoxia [J]. *Biochem Pharmacol*, 1986, **35** (24): 4401- 407
- [10] Saito M, Tatsumi K, Kasahara Y, et al. Effects of thromboxane A₂ on chronic hypoxic pulmonary hypertension in the rat [J]. *Nihon Kyobu Shikan Gakkai Zasshi*, 1996, **34** (1): 37- 44

(此文 2001- 04- 20 收到, 2001- 09- 27 修回)

(此文编辑 胡必利)