维普资讯 http://www.cqvip.com

·论 著·

L-精氨酸和牛磺酸联合抗缺氧损伤及防治缺氧性肺动脉高压的研究

许蜀闽[1],郑绿珍[2],刘福玉[1],陈 莉[1],王培勇[1] (1.第三军医大学高原军事医学系病理生理学与高原生理学教研室,重庆 400038; 2.温州医学院病理生理学教研室,浙江 温州 325035)

[摘 要] **目的** 研究L-精氨酸、牛磺酸联合应用的抗缺氧损伤以及对缺氧性肺动脉高压(HPH)的防治效果。**方法** 雄性Wistar大鼠40只,制作缺氧性HPH模型,随机分为平原对照组(C)、单纯缺氧组(H)、缺氧+L-精氨酸组(Arg)、缺氧+牛磺酸组(Tau)、缺氧+牛磺酸+L-精氨酸组(TA),测定各组的肺动脉压(mPAP)、右心室肥大指数(RVHI)、血浆乳酸脱氢酶(LDH)、脂质过氧化产物丙二醛(MDA)、肺匀浆NO含量的变化。**结果** H组与C组相比,mPAP高出约25 mmHg ($P<0.01$),RVHI增加1.56倍($P<0.01$),血浆LDH活性增高10.1倍($P<0.01$),血浆MDA含量增加1.64($P<0.01$),而肺匀浆NO含量降低68% ($P<0.01$)。各治疗组与H组相比,mPAP均显著降低5 mmHg($P<0.05$),RVHI均显著降低20% ($P<0.01$),血浆LDH活性显著降低($P<0.01$),其中TA组与Arg组比较有显著差异($P<0.01$),血浆MDA含量显著降低($P<0.01$),但各治疗组之间无显著性差异。肺匀浆NO含量在Tau组无显著性变化,在Arg和TA组显著回升($P<0.01$)。**结论** L-精氨酸和牛磺酸具有抗缺氧损伤及防治肺动脉高压的效果,两者联用可进一步增加NO产生,减少乳酸脱氢酶的漏出,加强细胞保护作用。

[关键词] L-精氨酸;牛磺酸;缺氧;缺氧性肺动脉高压
[中图分类号] R541.9; R363 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2006)04-0217-03

Protection against hypoxic injury and amelioration of hypobaric hypoxic pulmonary hypertension by treating with L-arginine combined taurine in rats

XU Shu-min, ZHENG Lü-zhen, LIU Fu-yu, CHEN Li, WANG Pei-yong (Department of Pathophysiology and High Altitude Physiology, Third Military Medical University, Chongqing 430038, China)

Abstract: Objective Exposure to hypoxia induces hypoxic pulmonary hypertension (HPH), the effects of taurine (Tau) and L-arginine (Arg), and their combination (TA) on prevention against HPH were investigated. **Methods** Adult male Wistar rats were divided into two groups: sea level control group (C) and hypoxia group, and the hypoxia group was divided into three subgroups further, namely hypoxia control (H), Tau, Arg and TA group. The therapy groups were given corresponding drugs every day orally. After exposed for 2 weeks in a hypobaric chamber at simulated high altitude of 5 000 meters, the effects of the above drugs were evaluated. **Results** The rats of H group developed remarkable HPH and right ventricle hypertrophy (RVH), with an elevated mean pulmonary artery pressure (mPAP) of about 25 mmHg above and the right ventricular hypertrophy index (RVHI) of 1.56 folds higher ($P<0.01$). The activity of lactic dehydrogenase (LDH) and level of malondialdehyde (MDA) in the plasma of H group were 10.1 and 1.64 folds higher than those of respective control groups ($P<0.01$), while the NO production in the lung tissue of H group was 68% lower than that of C group ($P<0.01$). The development of HPH and RVH was ameliorated in the groups with the above drugs administered respectively, with about 5 mmHg of mPAP below ($P<0.05$), and RVHI about 20% lower than those of H group ($P<0.01$). The activity of LDH in each therapy group showed markedly decreases ($P<0.01$, TA vs Arg, $P<0.01$), and the levels of MDA also showed significant decreases ($P<0.01$). NO productions in the lung tissues resumed of Arg and TA groups ($P<0.01$). **Conclusion** The results suggest that taurine, L-arginine and their combinaion exert cytoprotective effects on hypoxic injury, inhibit lipidperoxidation, mitigate hypoxic pulmonary hypertension and reduce right ventricle hypertrophy.

Keywords: L-arginine; taurine; hypoxia; hypoxic pulmonary hypertension

急性和慢性缺氧均可导致肺动脉高压(hypoxic pulmonary hyertension, HPH),其中肺血管收缩反应增强和肺血管结构改建是其主要血管变化特征,其发生机制复杂,目前尚未完全阐明。因而缺乏简便有效的防治措施。其中缺氧激活细胞内Ca^{2+}稳态失衡、NO水平降低及氧化应激损伤是HPH发生的重要机制。以往的研究证明,缺氧抑制培养的肺动脉内皮细胞释放NO[1],吸入NO能缓解缺氧引起的肺血管收缩反

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(30300147);军队"十一五"青年基金项目(06Q049)
[作者简介] 许蜀闽(1972-),女,四川省广安市人,实验师,硕士,主要从事缺氧病理生理学与高原医学方面的研究。电话:(023)68752339-8209
[通讯作者] 王培勇,男,山东省诸城市人,教授,博士,主要从事心血管病理生理学方面的研究。电话:(023)68752339-8207, E-mail: pywang@mail.tmmu.com.cn
[收稿日期] 2006-05-31 [修回日期] 2006-06-20

维普资讯 http://www.cqvip.com

应,使用NO的前体L-精氨酸(L-arginine,Arg)能有效防治HPH的发生发展。在培养的肺血管细胞模型的研究显示牛磺酸(taurine,Tau)能对抗缺氧效应[2],具有调节细胞内钙稳态及良好的细胞保护功能。本研究通过整体动物缺氧模型,观察L-精氨酸、牛磺酸及其联合运用的抗缺氧损伤效果和肺动脉高压防治作用。

1 材料与方法

1.1 试剂与设备

L-精氨酸(上海康达氨基酸厂)、牛磺酸(北京制药厂)、NO检测试剂盒(南京建成)及其它试剂均为AR级。RM-6200四道生理记录仪(成都仪器厂),多功能紫外分光光度扫描仪UV240(日本岛津)。

1.2 动物模型建立

雄性Wister大鼠40只,体重为150 g左右,随机分为平原对照组(C组)、单纯缺氧组(H组)、缺氧+精氨酸组(Arg组)、缺氧+牛磺酸组(Tau组)、缺氧+牛磺酸+精氨酸组(TA组),每组8只大鼠。药物通过喂水途径给予,剂量为每天每公斤体重L-精氨酸1 g、牛磺酸2 g。平原对照组大鼠常压下饲养,自由饮水饮食。缺氧组和治疗组大鼠置于减压舱内,模拟高原5 000 m减压,12 h/d,减压2周,自由饮水饮食。平原对照组在常氧下,其余各组在模拟4 000 m高度。动物以10%乌拉坦腹腔麻醉后,右侧颈外静脉及颈总动脉进行肺动脉导管插管,以RM-6200四导生理记录仪测定肺动脉压(mPAP)。取血液标本以测定血浆乳酸脱氢酶(LDH)活性和脂质过氧化产物丙二醛(MDA)水平。处死动物取肺组织以测定肺组织匀浆NO含量。取右心室(RV)和左心室加室间隔(LV+Sep),称重后,计算右心室肥大指数(RVHI),RVHI=RV/(LV+Sep)×100%。

1.3 LDH、MDA、NO测定

按朱忠勇所著《临床医学检验》的方法,采用丙酮酸钠为底物,当丙酮酸钠与还原型辅酶I在乳酸脱氢酶的催化作用下生成乳酸,同时吸光度发生变化来计算乳酸脱氢酶的活性。按改良的八木国夫法[3]测定血浆脂质过氧化产物丙二醛(MDA)水平。按NO检测试剂盒说明书用比色法测定肺组织匀浆NO含量。

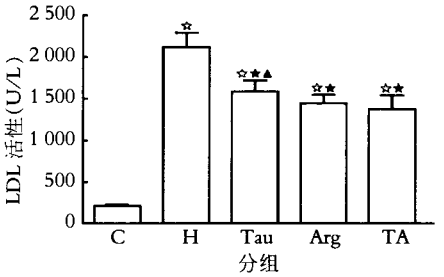
1.4 统计学分析

实验数据以均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用SPSS10.0统计软件包处理数据,多组数据采用单因素方差分析(ANOVA),多组间两两比较采用q检验,以$P<0.05$为统计学有显著性差异,$P<0.01$为统计学有非常显著性差异。

2 结果

2.1 血浆LDH活性的变化

模拟高原5 000 m缺氧2周大鼠血浆LDH活性显著高于平原对照组10.1倍($P<0.01$)。缺氧2周各治疗组LDH活性都显著降低($P<0.01$),尽管仍高于平原对照组,但与H组比较,Tau、Arg、TA组LDH活性分别降低了24.4%、31.6%、34.6%,$P<0.01$,其有效次序为TA组>Arg组>Tau组,其中TA组显著低于Tau组($P<0.05$),如图1所示。

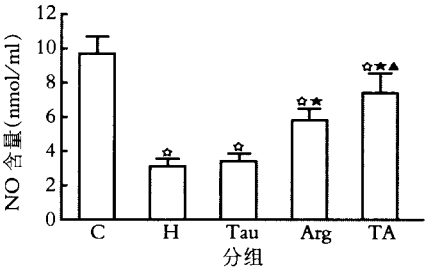


☆:与C组比较,$P<0.01$;★:与H组比较,$P<0.01$;▲:与TA组比较,$P<0.05$

图1 不同药物对缺氧大鼠血浆LDH活性的影响

2.2 肺匀浆NO含量的变化

模拟5 000 m海拔缺氧2周大鼠肺匀浆NO含量显著低于平原对照组,为平原对照组的32%($P<0.01$)。缺氧各治疗组都能提高NO含量,与单纯缺氧H组比较,Arg、TA组显著升高($P<0.01$);尽管仍低于平原对照组,但与H组比较,Tau、Arg、TA组使NO含量分别提高了10%、87%、139%,$P<0.01$,有效次序为TA组>Arg组>Tau组,TA组有效性又显著高于Tau组($P<0.05$)。如图2所示。



☆:与C组比较,$P<0.01$;★:与H组比较,$P<0.01$;▲:与Tau组比较,$P<0.05$

图2 不同药物对缺氧大鼠肺匀浆NO含量的影响

2.3 血浆MDA含量的变化

模拟5 000 m海拔缺氧2周大鼠血浆MDA含量显著高于C组,是C组的1.64倍($P<0.01$)。缺氧2周各治疗组都能显著降低MDA值($P<0.01$),各治疗组间无统计学差异(表1)。

2.4 mPAP、RVHI的变化

模拟5 000 m海拔缺氧2周,大鼠mPAP显著增高,约为C组的2.74倍($P<0.01$)。采用不同药物治疗后,各治疗组mPAP虽然仍高于C组($P<0.01$),但较H组均有显著降低($P<0.05$)。H组RVHI高于C组($P<0.01$),是C组的1.56倍,各治疗组都分别低于H组20%左右($P<0.01$),各治疗组间无统计学差异(表1)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 大鼠MDA、mPAP、RVHI检测结果($n=8$, $\bar{x}\pm s$)

组别	mPAP(mmHg)	MDA(nmol/ml)	RVHI
C组	14.1±0.8	1.92±0.36	0.28±0.02
H组	38.6±1.4*	3.15±0.84*	0.45±0.03*
Tau组	33.1±1.5△*	2.30±0.44#*	0.38±0.05#*
Arg组	32.3±3.5△*	2.40±0.32#*	0.39±0.05#*
TA组	33.8±2.2△*	2.40±1.70#*	0.37±0.06#*

*:与C组比较,$P<0.01$;#:与H组比较,$P<0.01$;△:与H组比较,$P<0.05$

3 讨论

HPH是缺氧引起的疾病之一。HPH的发生机制复杂,其中肺血管内皮细胞活性物质分泌的改变和平滑肌细胞表型和舒缩特性改变备受重视。肺血管内皮细胞除可以灭活一些生物活性物质间接影响血管张力以外,还可以产生血管活性物质,直接调节平滑肌的舒缩,影响平滑肌细胞增殖,参与血管结构的调节。现在普遍认为,缺氧时内皮细胞的损伤及功能紊乱是缺氧性肺血管收缩及肺动脉高压发生、发展的重要环节。

HPH防治方面,至今还没有突破性的预防和治疗措施。目前临床上主要采用血管扩张药物治疗肺动脉高压,多数药物的肺血管选择性差,有些还有毒副作用。吸入NO疗法是其中肺血管选择性最好的,但直接吸入费用高,不易控制。L-精氨酸是体内产生NO的前体,研究表明注射或服用L-精氨酸能提高肺匀浆NO含量,直接舒张肺血管,降低缺氧引起的肺动脉压升高[4-5],也可以通过抑制HIF-1的表达,参与缺氧引起的肺血管改建[6],对缺氧性肺动脉高压有一定的防治作用[7]。牛磺酸是广谱的细胞保护药[8],推测对缺氧引起的细胞损伤也有保护作用。通过大鼠间断缺氧4周模型,观察到牛磺酸可抑制缺氧大鼠ET-1和ACE分泌,增加NO和SOD水平,降低肺动脉压力,减轻心肺组织损伤[9]。牛磺酸能减弱缺氧对肺动脉内皮细胞的增殖抑制作用,抑制缺氧的促肺动脉平滑肌细胞增殖作用,使之接近常氧水平[2]。

相关研究表明两种药物联用具有优势,不只是两个药物作用简单相加,它们还相互作用增加彼此的功能。内皮细胞是NO产生的细胞基础,牛磺酸可通过保护细胞免受缺氧损伤,提高NO产量。研究还表明,牛磺酸能使缺氧所致的L-精氨酸转运能力障碍有所恢复,使L-精氨酸的转运率、NOS活性增加,NO生成增多[10]。NO除了调节血管张力外,还具有抑制血小板和血细胞粘附,抗脂质过氧化及保护细胞的功能。有学者注意到它们联用的优势,合用L-精氨酸和牛磺酸对抑制溶血性磷脂酸诱导的血管平滑肌的增殖有协同和叠加效应[11]。但是在肺动脉高压的防治方面还没见两者合用的报道。

本实验研究结果显示L-精氨酸和牛磺酸对肺动脉高压有防治作用,两者联合应用使缺氧大鼠血浆LDH活性降低的程度低于单种用药,NO的产量也明显高于单种用药。虽然从MDA值及整体指标mPAP、RVHI看,联合用药较单种用药没有明显优势,但值得对其作用效果、特点和机制进行深入研究。由于两种药物是机体内存在的天然分子,对人体均无毒害作用,可成为防治肺动脉高压的安全、有效、长期使用的药物。

[参考文献]

[1] Wang Pei-yong, Liu Jian, Zeng Qiang, et al. Distinct responses of pulmonary arterial endothelial cells and pulmonary arterial smooth muscle cells to hypoxia[J]. High Altitude Medicine Biology, 2004,5(2):252.

[2] 许蜀闽,郑绿珍,陈 莉,等. 缺氧时肺动脉内皮与平滑肌细胞增殖反应的比较及牛磺酸调节作用初探[J]. 中国应用生理学杂志,2005,21S(3):42.

[3] 齐凤菊. 血浆丙二醛含量测定方法-改良的八木国夫法[J]. 第一军医大学学报,1986,6(2):152.

[4] 彭远开,于江洲,金咸瑢. L-精氨酸对急慢性缺氧大鼠肺循环和脑血流的影响[J]. 中华结核和呼吸杂志,1994,17(2):99-101.

[5] Qi J, Du J, Zhao B. The mechanism responsible for alleviation of hypoxic pulmonary vascular structural remodeling by L-arginine[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2000,80(3):214-218.

[6] Ao Q, Huang L, Zhu P, et al Inhibition of expression of hypoxia-inducible factor-1alpha mRNA by nitric oxide in hypoxic pulmonary hypertension rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2004,24(1):5-8.

[7] Fagan JM, Rex SE, Hayes-Licitra SA, et al. L-arginine reduces right heart hypertrophy in hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999,254(1):100-103.

[8] 王丽娟,王 勇. 牛磺酸对心血管系统作用的研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2004,25(11):1270-1272.

[9] 李志斌,邹霞英. 牛磺酸对大鼠慢性缺氧性肺动脉高压的预防作用[J]. 中国病理生理杂志,1999,15(5):453-455.

[10] 王吉先,姚兴海,王立智,等. 牛磺酸对离体大鼠脊髓缺氧/复氧损伤的保护作用[J]. 基础医学与临床,1998,18(3):217-220.

[11] 袁 杰,李菊香,郑先科,等. L-精氨酸及牛磺酸对溶血性磷脂酸诱导的血管平滑肌增殖的作用[J]. 郧阳医学院学报,2002,21(4):193-195.

(编辑:余汇洋)