DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.19.019
第26卷第19期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 19
1742 2004年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)19-1742-03

低氧大鼠血浆和支气管肺泡灌洗液尾加压素Ⅱ的变化

刘伯英,于忠和,郝淑玲 (北京军区总医院呼吸科,北京 100700)

提 要:目的 观察慢性低氧性肺动脉高压实验大鼠血浆和支气管肺泡灌洗液(BALF)中尾加压素Ⅱ(urotensin, UⅡ)的动态变化,探讨低氧对UⅡ合成分泌的影响及UⅡ与肺动脉压力(mPAP)、动脉血氧分压(PaO_2)的相互关系。方法 将雄性Wistar大鼠完全随机分段分为对照组和低氧10、20、30 d组,制备常压慢性低氧性肺动脉高压模型,右心导管法测量mPAP和右心室收缩上升最大速率(RVdp/dtmax),常规测PaO_2;采用放射免疫分析方法检测血浆和BALF中UⅡ含量。结果 低氧组实验大鼠mPAP和RVdp/dtmax明显高于对照组($P<0.01$),PaO_2明显低于对照组($P<0.05$);血浆及BALF中UⅡ含量明显高于对照组($P<0.05$),20 d时达高峰($P<0.01$),30 d时呈下降趋势,但仍高于对照组;血浆UⅡ含量与mPAP呈正相关($r=0.614$, $P<0.01$),与PaO_2呈负相关($r=-0.620$, $P<0.01$);BALF UⅡ含量明显高于血浆UⅡ含量($P<0.01$),二者存在较好的相关性($r=0.820$, $P<0.01$)。结论 低氧可刺激大鼠UⅡ合成和分泌增多,UⅡ可能不仅是局部激素,也可能是全身激素,在低氧性肺动脉高压形成过程中发挥病理生理作用。

关键词:尾加压素Ⅱ;低氧;肺动脉高压
中图法分类号:R446.1;R544;R845.22 文献标识码:A

Changes of urotensin Ⅱ content in plasma and bronchoalveolar lavage fluid of rats with chronic hypoxic pulmonary hypertension

LIU Bo-ying, YU Zhong-he, HAO Shu-ling (Department of Respiratory Diseases, General Hospital, Beijing Military Area Command, Beijing 100700, China)

Abstract: **Objective** To observe the dynamic changes of urotension Ⅱ (U Ⅱ) content in plasma and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of rats with chronic hypoxic pulmonary hypertension and to investigate the effects of hypoxia on the synthesis and secretion of U Ⅱ and the correlation of U Ⅱ with the mean pulmonary artery pressure (mPAP) and the partial pressure of arterial oxygen (PaO_2). **Methods** Male Wistar rats were randomly divided into control group and hypoxic groups. Model of chronic hypoxic pulmonary hypertension was established by normal barometric and discontinuous hypoxia. mPAP and $RVdp/dt_{max}$ of each rat were measured using right cardiac catheterization. PaO_2 was detected by blood gas analysis. U Ⅱ contents in plasma and BALF were detected by radioimmunoassay. **Results** During hypoxia, mPAP, $RVdp/dt_{max}$, U Ⅱ content in plasma, and BALF increased in rats ($P<0.01$), and peaked at 20 d after hypoxia, but fell at 30 d after hypoxia. PaO_2 decreased during hypoxia ($P<0.05$). There was a positive correlation between U Ⅱ content in plasma and mPAP in hypoxic groups ($r=0.614$, $P<0.01$). There was a negative correlation between U Ⅱ content in plasma and PaO_2 in hypoxic groups ($r=-0.620$, $P<0.01$). The U Ⅱ content in BALF was higher than that in plasma ($P<0.01$). There was a correlation between plasma and BALF about U Ⅱ content ($r=0.820$, $P<0.01$). **Conclusion** Hypoxia may result in the elevation of U Ⅱ in rats. U Ⅱ, not only an autocrine and / or paracrine factor but also a circulating hormone, may play an important pathophysiological role in the genesis of hypoxic pulmonary hypertension.

Key words: urotensin Ⅱ; hypoxi; pulmonary hypertension

尾加压素Ⅱ(urotensin, U Ⅱ)最早是在硬骨鱼的脊髓尾部分离出来的生长抑素样环状神经肽。自1998年首次[1]在人体内克隆出编码UⅡ前体的cDNA后,迅速引起国内外广大学者的关注。低氧性肺动脉高压是以肺血管收缩和肺血管重构为主要特征的病理生理过程,众多因素参与,相互作用相互制约,导致肺血管收缩和舒张功能紊乱,然而迄今为止低氧性肺动脉高压的发病机制尚不是十分明确。UⅡ作为晚近发现的一种新型血管活性肽是否参与了低氧性肺动脉高压的病理生理过程,低氧是否会影响UⅡ的合成和分泌,值得我们进一步探讨。本实验通过制备慢性低氧

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30370632)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30370632)
作者简介:刘伯英(1969-),女,河北省保定市人,硕士,主治医师,主要从事低氧性肺动脉高压方面的研究。电话:(010)64014437
收稿日期:2004-03-15;修回日期:2004-06-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

性肺动脉高压大鼠模型, 采用放射免疫分析方法检测低氧不同时间点大鼠血浆和支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)UⅡ含量, 比较二者间的差异, 并探讨血浆UⅡ含量与肺动脉压力、动脉血氧分压的关系, 旨在研究低氧是否促进UⅡ的合成和释放, 探讨UⅡ在低氧性肺动脉高压形成中的病理生理作用, 深化肺动脉高压的发病机制。

1　材料和方法

1.1　常压低氧大鼠模型的制备

雄性 Wistar 大鼠 58 只(维通利华实验动物技术有限公司提供), 体质量 180~200 g, 随机分为以下 4 组, A 组: 正常对照组(n=15); B 组: 低氧 10 d 组(n=15); C 组: 低氧 20 d 组(n=14); D 组: 低氧 30 d 组(n=14)。将低氧组动物放在自制的低氧舱内, 低氧装置按薛全福等[2]方法加以改进, 控制低氧舱内氧浓度(10.0±0.5)%, 每天连续低氧 7 h, 分别于低氧 10、20、30 d 后出舱, 对照组置于常氧环境, 4 组大鼠饲养及饮食条件相同。

1.2　肺动脉压力测定及标本留取

各组大鼠按时间点出舱后活杀, 每组各取 9 只, 用 10% 乌拉坦腹腔麻醉(1 ml/100 g), 暴露左颈外静脉, 按孙波等[3]方法用日本光电八导生理仪测平均肺动脉压力(mPAP), 右心室收缩上升最大速率($RVdp/dt_{max}$), 测压后再将导管自左颈总动脉插入, 取动脉血 0.2 ml, 立即进行血气分析检测动脉血氧分压(PaO_2); 同时取血 2 ml, 加入 10% EDTA 30 μl 抗凝和抑肽酶 100 μl 抑制酶活性, 全血离心(4 ℃, 3 500 r/min, 15 min), 分离血浆置于−70 ℃冰箱中保存待测。各组剩余 6 只大鼠, 生理盐水行支气管肺泡灌洗术, 反复灌洗 3 次, 回收灌洗液, 灌洗液处理方法同血浆。

1.3　血浆及 BALF UⅡ的检测

采用放射免疫分析法, 检测血浆及 BALF UⅡ含量, 灌洗液过 C18Sep-Pak 柱, 所有标本按试剂盒说明书操作步骤进行, 一次完成。放免试剂盒为美国 Phoenix 公司提供, 检测仪器为中国科技大学实业公司的 GC-911-γ 放射免疫计数器。

1.4　统计学处理

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 应用 SPSS10.0 统计软件包行多组数据间单因素方差分析及均数间多重比较, 相关性采用直线相关分析。

2　结果

2.1　慢性低氧大鼠肺动脉压力、右心室收缩最大上升速率及动脉血氧分压的变化(表 1)

实验低氧大鼠所测得 mPAP 随低氧时间延长而逐渐升高, 低氧 20 d 时达高峰, 30 d 时稍有回降, 但仍高于对照组(P<0.01)。反映右心室收缩功能的 $RVdp/dt_{max}$ 的变化趋势与此基本一致。随低氧时间延长 PaO_2 逐渐降低, 低氧 20 d 降低最明显, 较对照组降低 14.5%(P<0.01), 30 d 继续降低, 与 20 d 比较差异不显著。

表 1　各组大鼠平均肺动脉压力右心室收缩上升最大速率和血氧分压的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Comparison of mPAP, $RVdp/dt_{max}$, and PaO_2 in different groups ($\bar{x}\pm s$)

Group	Rat (n)	mPAP (mmHg)	$RVdp/dt_{max}$ (m/s)	PaO_2 (mmHg)
Control	9	27.6±5.2	2 500±458	98.8±2.2
Hypoxia at 10 d	9	36.8±1.7★★	2 944±113★	93.4±5.9★
Hypoxia at 20 d	8	40.4±3.3★★	3 238±575★	84.5±6.9★★
Hypoxia at 30 d	8	39.8±2.7★★	3 200±414★	83.1±2.2★★

★: P<0.05, ★★: P<0.01, *vs* control

表 2　各组大鼠血浆和 BALF UⅡ含量的比较(pmol/L)

Tab 2　Comparison of UⅡ contents in plasma and BALF in different groups (pmol/L)

Group	Plasma		BALF	
	Rats (n)	UⅡ	Rats (n)	UⅡ
Control	9	3.74±1.08	6	16.83±4.99
Hypoxia 10th day	9	4.26±1.61	6	20.93±6.64
Hypoxia 20th day	8	9.03±1.80★★	6	34.71±5.31★★
Hypoxia 30th day	8	5.67±2.66★	6	25.90±2.21★

★: P<0.05, ★★: P<0.01, *vs* Control

2.2　慢性低氧大鼠血浆、BALF UⅡ含量的变化(表 2)

慢性低氧性肺动脉高压大鼠血浆、BALF UⅡ含量随低氧时间延长而逐渐增加, 在低氧 20 d 二者均达到高峰(P<0.001); 低氧 30 d 时出现下降趋势, 与低氧 20 d 组比较明显降低(P<0.01), 但仍高于对照组(P<0.05)。

2.3　慢性低氧大鼠血浆UⅡ含量与肺动脉压力和动脉血氧分压的关系

慢性低氧大鼠血浆 UⅡ含量与 mPAP 呈正相关, r=0.614(P<0.01); 与 PaO_2 呈负相关, r=−0.620(P<0.01)。

2.4　慢性低氧大鼠血浆与支气管肺泡灌洗液中UⅡ含量的关系

对照组和低氧各组大鼠血浆和 BALF UⅡ含量呈正相关, r=0.820, P<0.01(图 1)。

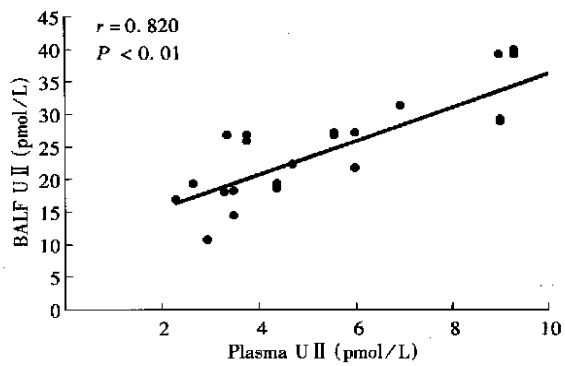


图 1　低氧大鼠血浆和 BAIF 中UⅡ含量的关系

Fig 1　Relationship of UⅡ content in plasma and in BALF of hypoxic rats

3　讨论

UⅡ是目前已知的最强的血管活性肽, 它不仅可以收缩体循环的动脉[4], 也可引起肺动脉的强烈收缩, 它的缩血管效能比内皮素-1(ET-1)还强大 4 倍[5]。而且UⅡ可使慢性低氧刺激下的肺血管最大收缩反应增

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

加80%，用ET-1提高肺血管张力后它的缩血管效能增加2.5倍[6]。因此有人推测它在调节肺循环系统的稳定方面发挥一定的病理生理作用。我们实验显示，随低氧时间的延长，肺动脉压力逐渐升高，右心室收缩最大上升速率亦明显增大，而且低氧时间越长，增加幅度愈明显，低氧20 d时最高，30 d时虽呈下降趋势，但仍高于对照组，提示低氧引起肺血管张力的增加，从而导致肺动脉高压。血浆和BALF中UⅡ的含量随低氧时间的延长也表现为逐步升高的趋势，其变化与肺动脉压力的变化趋势基本一致。相关分析表明血浆中UⅡ含量与肺动脉高压呈正相关，与氧分压呈负相关。提示慢性低氧可能是导致UⅡ水平升高的一个重要因素，UⅡ可能作为一种循环激素参与慢性低氧性肺动脉高压的病理生理过程。但UⅡ是象肾上腺髓质素在低氧性肺动脉高压时发挥血管扩张作用，还是象ET-1使血管反应性增强，从而发挥缩血管作用尚有待进一步实验证实。

肺脏是富含血管的组织，目前发现在动脉血管内皮、平滑肌细胞、炎症细胞及肺实质中均存在UⅡ的免疫反应[4]，慢性低氧引起肺动脉平滑肌增生，无肌型小动脉肌化以及炎性细胞浸润是低氧性肺动脉高压的病理生理基础之一。推测低氧后肺组织的这种病理生理变化可能影响其UⅡ的合成和分泌。我们实验中的相关分析显示支气管肺泡灌洗液和血浆中UⅡ的含量具有良好的正相关。这一结果提示低氧刺激肺组织产生和释放UⅡ增多是循环中UⅡ含量增高的重要来源，表明UⅡ不仅是一种循环激素，同时也是一种自分泌/旁分泌激素。Russell等[6]研究表明心衰患者血浆中UⅡ含量较健康对照组明显增高，而主动脉根部血浆UⅡ含量高于肺动脉及前臂动静脉。提示在缺血缺氧性疾病时机体内UⅡ含量的增高与心肺组织分泌UⅡ增多有关。低氧刺激下UⅡ合成分泌增高是通过基因表达增多，还是存在其他机制有待进一步实验证明。

目前UⅡ对肺血管张力的调节作用仍不清楚，Stirrat等[7]曾报道UⅡ可引起人肺小动脉的明显舒张，提示UⅡ是肺小动脉有效的舒张因子。在慢性低氧肺血管张力增加后它是否仍可扩张肺动脉未做相关研究。我们实验结果显示慢性低氧刺激UⅡ增高，并呈动态变化趋势，推测UⅡ在低氧性肺动脉高压形成中有可能就象一个稳压器，对肺血管即缩又扩，调节血管张力的变化，发挥双刃剑的作用。

通过我们的实验表明低氧可刺激肺组织分泌UⅡ，UⅡ既作为一种循环激素，又是一种自分泌/旁分泌激素，发挥调节肺血管张力的病理生理作用，参与低氧性肺动脉高压的形成。

参考文献：

[1] Coulouarn Y, Lihrman I, Jegou S, *et al*. Cloning of the cDNA encoding the urotensinⅡ precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensinⅡ gene in motoneurons of the spinal cord[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(26): 15803-15808.

[2] 薛全福，胡长贵. 常压缺氧性大鼠肺动脉高压模型的建立[J]. 中华结核和呼吸杂志，1989, 12(6): 350-352.

[3] 孙 波，刘文利. 右心导管测定大鼠肺动脉压的实验方法[J]. 中国医学科学院学报，1984, 6(2): 465.

[4] Ames R S, Sarau H M, Chambers J K. Human urotensinⅡ is a potent vasoconstrictory and agonist for the orphan receptor GPR14[J]. Nature, 1999, 401(6750): 282-286.

[5] Maclean M R, Alexander D, Atirrat A, *et al*. Contractile responses to human urotensinⅡ in rat and human pulmonary arteries: effect of endothelial factors and chronic hypoxia in the rat[J]. Br J Pharmacol, 2000, 130(2): 201-204.

[6] Russell F D, Meyers D, Galbraith A J, *et al*. Elevated plasma levels of human urotensin-Ⅱ immunoreactivity in congestive heart failure[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 285(4): H1576-1581.

[7] Stirrat A, Gallagher M, Douglas S A, *et al*. Potent vasodilator responses to human urotensinⅡ in human pulmonary and abdominal resistance arteries[J]. Am J Physiol Heart Cire Physiol, 2001, 280(2): H925-928.

（编辑 龙 亮）

（上接1741页）

关键词：冠状动脉疾病；支架术；P波离散度
中图法分类号：R540.41 文献标识码：B

参考文献：

[1] Guidera S A, Steinberg J S. The signal-averaged wave duration: a rapid and noninvas marker of risk of atrial fibrillation[J]. J Am Coll cardiol, 1993, 21(7): 1645-1651.

[2] Maia I G, Cruz Filho F, Sa R, *et al*. High-resolution P-wave electrocardiogram in patients with history of paroxysomal atrial fibrillation[J]. Ardq Bras Cardiol, 1995, 64(4): 311-313.

[3] Ehlert F A, Korentstenin D, steinberg J S. Evaluation of P wave signal-averaged electrocardiographic filtering and analysis methods[J]. Am Heart J, 1997, 134(6): 985-993.

[4] Cecchi F, Montereggi A, olivotto I, *et al*. Risk for atrial fibrillation in patients with hyperophic cardiomyopathy assessed by signal averded P wave duration[J]. Heart, 1997, 78(1): 44-49.

[5] Batur M K, Yildirir A, Onalan O. Angionplasty induced myocardial ischaemia prolong the signal- averded P- wave duration in single vessel coronary artery disease[J]. Europace, 2002, 4(3): 289-293.

[6] Ozmen F, Atalar E, Aytemir K, *et al*. Effect of ballon-induced acute ischaemia on P Wave dispersion during percutaneous transluminal coronary angioplasty[J]. Europace, 2001, 3(4): 299-303.

（编辑 陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net