DOI:10.16016/j.1000-5404.1986.02.003

大鼠原位灌注肺的缺氧性肺动脉增压反应及其机制的探讨

孙立英 指导者：孙秉庸教授

（病理生理学教研室 高原医学研究室）

提 要 作者观察了大鼠原位灌注肺的缺氧性肺动脉增压反应（HPPR）和D-2-脱氧葡萄糖（2DG）、异搏定和潘生丁对HPPR的影响。

呼吸性缺氧（3%-O_2，10分钟）使肺动脉压平均增高50%，2DG可抑制第一、二次、增强第七、八次的HPPR，异搏定和潘生丁均抑制HPPR。本实验结果提示：HPPR的机制主要在肺内，糖-能量代谢和HPPR的发生有关，Ca^{++}跨膜内流在HPPR的发生机制中可能起一定作用，腺苷可能参与HPPR的调节。

关键词 大鼠；原位灌注肺；缺氧性肺动脉增压反应

缺氧可能经两种途径导致肺动脉压升高，即影响肺小动脉平滑肌细胞内糖-能量代谢或肺内血管活性物质的释放，使细胞膜对Ca^{++}通透性增强，胞浆内Ca^{++}增多[1-4]。D-2-脱氧葡萄糖(2DG)是糖酵解抑制剂，能减少细胞内ATP产生[5-6]。Stanbrook等曾观察过2DG对大鼠缺氧性肺动脉增压反应（HPPR）的影响[7]，但有关资料不多，尚难定论。异搏定是Ca^{++}通道阻断剂，能阻止Ca^{++}跨膜内流，抑制平滑肌收缩，潘生丁能稳定细胞膜，松弛血管平滑肌[8-9]，后者对大鼠HPPR的影响还未见报道。本研究观察了大鼠原位灌注肺的HPPR及2DG、异搏定和潘生丁对HPPR的影响，以探讨HPPR的机制，为缺氧性肺动脉高压的防治提供线索。

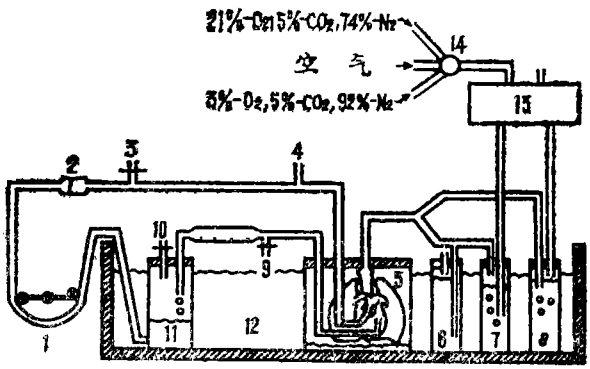


图1. 大鼠离体肺灌注环路

1.恒流蠕动泵；2.过滤器；3.给药和取血标本；4.测灌注压；5.肺灌注环；6.吸气末压检测瓶；7.气体加温湿化杯；8.呼气末压检测瓶；9.气泡示标流量计；10.排气孔；11.贮液杯；12.恒温水浴箱；13.微型呼吸机；14.气体转换器通管。

材 料 和 方 法

1. 大鼠原位肺灌注 采用Hauge等的方法并作改良[10-11]。将从供血大鼠心脏穿刺抽取的血液倾入贮血杯内，保持血温38℃，联接灌注环路（图1）。供肺大鼠麻醉后，气管插管，用小动物呼吸机人工呼吸（频率60次/分），通入加温湿化的空气。沿胸骨正中纵行切开，暴露心脏，行肺动脉和左房插管，结扎固定后开始灌注。将通气由空气改为常氧混合气（21%-O_2，5%-CO_2，74%-N_2）。阻断大鼠自身循环至灌注开始的时间

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

不超过3分钟，常氧通气末肺动脉压（Ppa）15～22cmH_2O，动脉血pH7.35～7.45，灌注量恒定。每次实验结束时均经动脉端注入去甲肾上腺素或KCl50μg/ml血，Ppa至少升高3cmH_2O，表明肺血管反应性仍存在。实验结束后，取出肺脏，用称重法计算肺干、湿重比，凡比值大于0.864（不灌注大鼠肺干、湿重比的上限，n=12）者，该实验的所有观测值均摒弃不用。

2．动物分组　雌性大白鼠56只，体重200～300g，随机分成五组，即常氧组、缺氧对照组（对照组）、2DG组、异搏定组和潘生丁组。常氧组动物为8只，其余组的均为12只。在灌注开始后的第20分钟末，除常氧组始终行常氧通气外，其余各组均开始每隔10分钟交替行缺氧（3%-O_2，25%-CO_2，92%-N_2）和常氧通气，共缺氧8次。2DG组于灌注的第20分钟末经动脉端注入2DG（Research Grade Seva Feinbiochemica Heidelberg）-生理盐水164 μg/ml血，异搏定组和潘生丁组均于灌注的第68分钟末（第三次缺氧的第8分钟末）分别经动脉端注入异搏定（Orion Pharmaceutica Helsinki Finland）50μg/ml血和潘生丁（上海第十制药厂）50μg/ml血，并补充生理盐水，使注入总液量为25μl/ml血。常氧组和对照组均以生理盐水作相应处理。

3．统计学处理　实验数据的组内比较采用团体比较t检验，组间比较采用单因素方差分析，结果以$\bar{X}\pm SE$表示。

结　果

1．缺氧对Ppa和肺血管阻力（PVR）的影响　每次缺氧开始后的4～6分钟，Ppa即开始上升，8～10分钟达高峰。常氧通气后Ppa立即下降，2分钟内基本降至缺氧前水平（图2）。第二、三次缺氧的HPPR最强，以后几次的逐渐下降，但与常氧组的相应值比较仍有显著差别（$P<0.05$，图3）。缺氧对照组12只动物96次缺氧末的肺动脉压均值（$\overline{Ppa}$）为29.0±1.1cmH_2O，常氧组的为19.4±0.2cmH_2O，两组间有显著差别（$P<0.05$），平均每次缺氧使Ppa增高50%。12只动物96次缺氧末的肺血管阻力均值（PVR）2.37±0.07较常氧组的1.49±0.01cmH_2O/ml/min增加显著（$P<0.05$）。两组的各次常氧通气末的Ppa和PVR之间均无显著差别。

2．2DG对HPPR的影响　注入2DG后，第一、二次缺氧的HPPR降低（$P<0.05$）、第七、八次缺氧的HPPR增强（$P<0.05$，表1，图4、5）。各次常氧末的Ppa和PVR与对照组相应值之间的差别均不显著。常氧末和缺氧末的$\overline{Ppa}$和$\overline{PVR}$与对照的相应值比较亦均无显著差别（表2）。

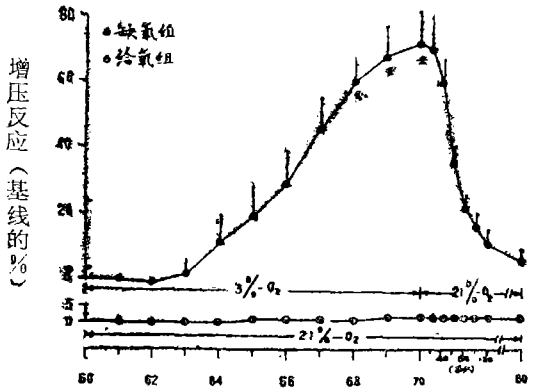


图2　缺氧对肺动脉压的增强作用（X±SE）
*与相应给氧组的数值比P<0.05

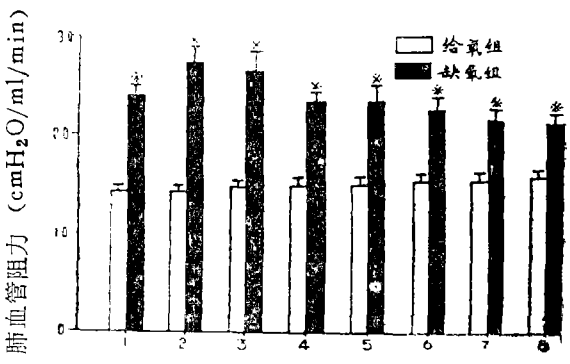


图3　缺氧对肺血管阻力的影响
*与相应的对照数值比P<0.05

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

表1　2DG对常氧和缺氧通气末Ppa和PVR的影响(X±SE)

缺氧(次)	组	n	Ppa(cmH_2O) 常氧末	Ppa(cmH_2O) 缺氧末	PVR(cmH_2O)/ml/min 常氧末	PVR(cmH_2O)/ml/min 缺氧末
1st	对照	12	17.4±0.3	29.9±1.2	1.41±0.02	2.41±0.10
	2DG	12	18.1±0.5	22.0±1.0*	1.50±0.06	1.95±0.13*
2nd	对照	12	19.2±0.6	33.8±1.5	1.55±0.05	2.73±0.12
	2DG	12	18.8±0.6	28.1±2.2*	1.58±0.08	2.35±0.23*
7th	对照	12	21.6±0.9	25.8±1.1	1.70±0.06	2.16±0.07
	2DG	12	21.2±0.4	30.1±1.6*	1.65±0.06	2.50±0.16*
8th	对照	12	19.4±0.5	24.7±1.3	1.69±0.06	2.14±0.09
	2DG	12	19.6±0.4	29.7±1.5*	1.61±0.06	2.47±0.16*

Ppa:肺动脉压；PVR：肺血管阻力；2DG:D-2-脱氧葡萄糖；*与相应的对照数值比 $P<0.05$。

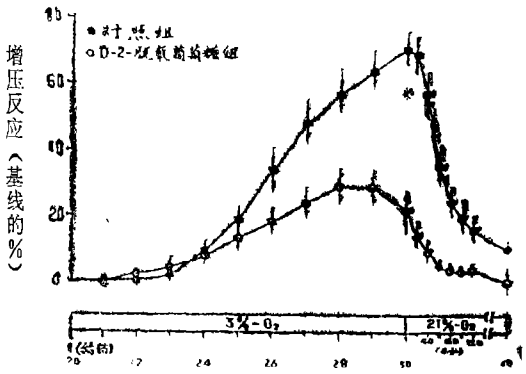


图1　D-2-脱氧葡萄糖对缺氧性肺动脉增压反应的抑制作用（X±SE）
*与相应的对照数值比P<0.05

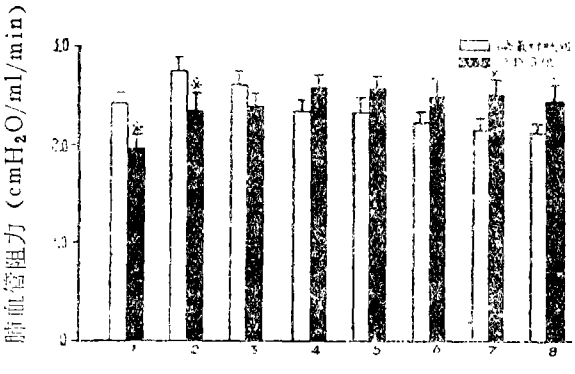


图3　2DG抑制和增强肺血管阻力的作用
*与相应对照的数值比P<0.05

表2.　药物对常氧和缺氧通气末$\overline{Ppa}$和$\overline{PVR}$的影响（X±SE）

组	缺氧(次)	$\overline{Ppa}$ (cmH_2O) 常氧末	$\overline{Ppa}$ (cmH_2O) 缺氧末	$\overline{PVR}$ (cmH_2O/ml/min) 常氧末	$\overline{PVR}$ (cmH_2O/ml/min) 缺氧末
对照	96	20.1±0.6	29.0±1.1△	1.60±0.01	2.37±0.07△
2DG	96	19.4±0.3	28.7±1.0△	1.59±0.02	2.42±0.07△
异搏定	96	19.7±0.3	22.8±1.7**	1.53±0.02	1.79±0.14**
潘生丁	96	18.8±0.3	21.4±1.7*	1.57±0.02	1.79±0.04**

$\overline{Ppa}$：肺动脉压均值；$\overline{PVR}$：肺血管阻力均值；2DG:D-2-脱氧葡萄糖；*：与相应对照的数值比$P<0.05$；**：与相应对照的数值比$P<0.01$；△：与同组常氧末的数值比$P<0.05$。

3．异搏定对HPPR的影响　注入药物后，Ppa和RVR立即下降，注药后的第1、2分钟，Ppa和PVR就已基本降至缺氧前水平（$P<0.05$，表3，图6）。以后5次的HPPR亦均受到显著抑制（$P<0.05$、图7）。缺氧末的$\overline{Ppa}$和$\overline{PVR}$均较对照的下降

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

显著（P＜0.05，表2）。各次常氧末的Ppa和PVR与对照组的相应值之间均无显著差异。

4. 潘生丁对HPPR的影响　注入药物

表3. 药物对缺氧性肺动脉增压反应的影响（X±SE）

	n	肺动脉压(cmH_2O) 给药前	给药后(min) 1	2	肺血管阻力(cmH_2O/ml/min) 给药前	给药后(min) 1	2
对照组	12	30.2±1.9	31.7±2.1	32.4±2.1	2.43±0.14	2.56±0.16	2.62±0.16
异搏定组	12	27.6±1.0	24.3±1.1 *	22.3±1.0 *	2.21±0.06	1.98±0.08 *	1.76±0.07 *
潘生丁组	12	30.0±1.0	22.5±1.2 *	20.5±0.8 *	2.50±0.09	1.94±0.11 *	1.71±0.07 *

*与相应对照的数值比P＜0.05。

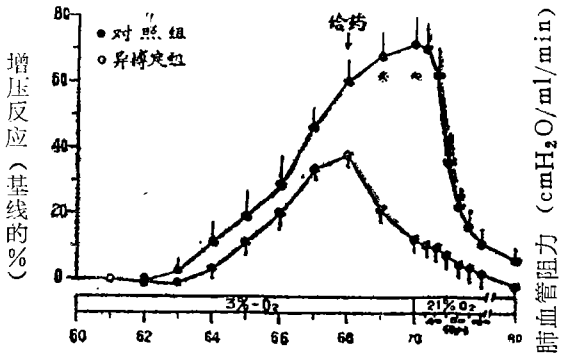


图6　异搏定对缺氧性肺动脉增压反应的抑制作用（$\bar{x}$±SE）
*与相应对照的数值比P＜0.05

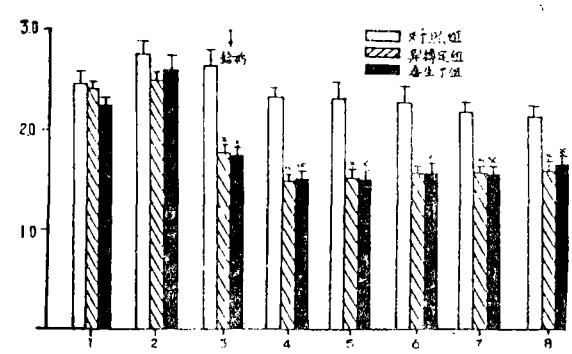


图7　异搏定和潘生丁缺氧性肺动脉增压反应的抑制作用
*与相应对照的数值比P＜0.05

后，Ppa和PVR迅速下降，注药后的第1、2分钟，Ppa和PVR就已基本降至缺氧前水平（P＜0.05，表3，图8），以后5次缺氧的HPPR亦受到显著抑制（P＜0.05，图7）。缺氧末的$\bar{Ppa}$和$\bar{PVR}$均较对照的显著下降（P＜0.05，表2）。各次常氧末的Ppa和PVR与对照的相应值比较均无显著差别。

讨　论

缺氧能使猪[12]、狗[13]、猫[14]和大鼠[12]等动物离体肺或原位灌注肺的Ppa升高，苯氧苄胺（α-受体阻断剂）和利血平（肾上腺素能神经末梢的儿茶酚胺耗竭剂）均未能防

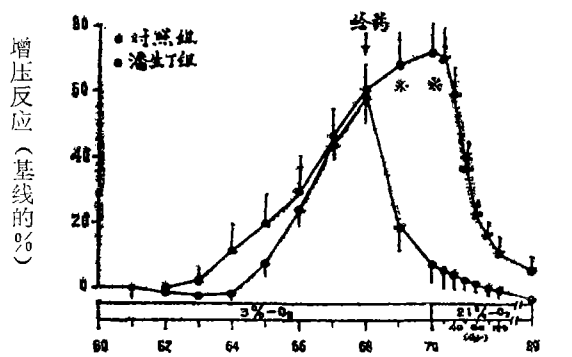


图8　潘生丁对缺氧性肺动脉增压反应的抑制作用（x±SE）
*与相应对照的数值比P＜0.05

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

止新生牛的HPPR[15]。目前认为HPPR主要是缺氧对肺循环的直接作用，神经系统和某些血管活性物质在HPPR发生过程中的作用尚不肯定[1-4,16]。本实验中大鼠原位灌注肺可发生HPPR的结果进一步提示HPPR的主要机制在肺内。

2DG是糖酵解的竞争性抑制剂，进入细胞后转变成2-脱氧-6-P-葡萄糖，抑制磷酸己糖异构酶活性，使6-P-葡萄糖蓄积，后者又反馈抑制己糖激酶（糖酵解途径的关键酶），从而阻止糖酵解，减少ATP产生[5-6]。对切除肾上腺的大鼠，2DG不影响神经介质和激素释放[5]。本实验中2DG抑制第一、二次、增强第七、八次HPPR，其作用机制可能是糖酵解首先为高浓度的2DG抑制，能量产生减少至不足以维持血管收缩，以后2DG因代谢而逐渐消失，抑制糖酵解的作用亦随之解除，血管又恢复了对缺氧的反应性。据报道大鼠离体肺在缺氧时乳酸增多、乳酸/丙酮酸比值增大，表明糖的酵解增强、有氧氧化受阻[17]。Duke等发现碘乙酸（糖酵解抑制剂）可降低离体猫肺的HPPR[18]。根据文献报道可推测缺氧时肺小动脉平滑肌细胞内糖的酵解增强、有氧氧化受阻，产生的能量虽可维持平滑肌收缩，但不能维持Ca^{+}的跨膜梯度[1-4,19]。本实验中2DG影响HPPR的结果亦进一步提示糖酵解和HPPR有关。但缺氧影响糖-能量代谢的哪一环节、糖代谢改变是否亦影响介质代谢、经后者改变肺血管张力等问题均需进一步探讨。

Haack等报道缺氧能使肺动脉平滑肌细胞膜外的Ca^{+}浓度降低，胞浆内Ca^{+}浓度升高[19]，提示Ca^{+}跨膜内流增多。Ca^{+}可与Ca^{+}调节蛋白结合，促使肌球蛋白分子中的一对轻链磷酸化导致血管收缩。异搏定是Ca^{+}通道阻断剂，可作用于平滑肌细胞膜上的Ca^{+}结合位点，阻止Ca^{+}跨膜内流，抑制整体大鼠的和大鼠离体肺的HPPR[20]。孙秉庸等在整体的猪亦观察到同样结果[21]。目前认为缺氧经影响肺血管平滑肌的糖-能量代谢，或直接作用于肺血管平滑肌细胞膜、改变细胞膜通透性导致Ca^{+}跨膜内流增多可能是HPPR的一个重要机制[1-4,19-21]。本实验中异搏定抑制大鼠的HPPR，阻止Ca^{+}跨膜内流可能是其主要作用，因而也进一步提示肺血管平滑肌细胞膜外的Ca^{+}跨膜内流增加可能与HPPR的发生有关。

潘生丁是一种膜稳定剂，能降低细胞膜对腺苷的通透性，抑制细胞对腺苷的摄取和酶解，从而增强腺苷活性，导致血管平滑肌松弛[8-9]。Mentzer等报道腺苷可明显抑制狗的缺氧性肺血管收缩，潘生丁可使幼猪的缺氧性肺动脉高压显著降低，认为腺苷的代谢异常可能和HPPR的发生有关[13]。由于潘生丁不影响神经介质和激素释放，所以本实验中其抑制大鼠的HPPR，降低腺苷的跨膜内流和酶解、增加腺苷的血浆浓度可能是潘生丁抑制HPPR的重要机制，从而提示肺血管平滑肌细胞膜对腺苷的通透性增强、腺苷代谢活动改变可能参与HPPR的调节。

由于潘生丁和某些Ca^{+}通道阻断剂（如硝苯吡啶）均具有稳定细胞膜作用 对血管选择性高，扩血管作用强，副作用少，既扩张冠状动脉、改善心肌功能，又抑制HPPR、减轻右心室后负荷，所以我们认为有必要进一步研究这两个药物对HPPR的影响和HPPR与肺血管平滑肌细胞膜通透性之间的关系，以探讨HPPR的发生机制并明确这两个药物是否可防治人缺氧性肺动脉高压和右心室肥大。

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

参 考 文 献

1. 孙秉府。缺氧性肺动脉高压及其一些研究进展。病理生理学进展 第3卷（待出版）

2. Heath D and William DR. Pulmonary Hypertension. In: Man at High Altitude. P:103～118, Churchill Livingstone, London and Edinburgh, 1981

3. McMurtry IF, et al. Studies of the mechanisms of hypoxic pulmonary vasoconstriction. Adv Shoc Res 1982; 8:21～33

4. Fishmen AP. Vasomotor regulation of the pulmonary circulation. Ann Rev Physiol 1980; 42:211～220

5. Brown J. Effects of 2-Deoxyglucose on carbohydrate metabolism: Reviews of the literature and studies in the rat. Metab 1962; 11(10):1098～1112

6. Chaisson CF, et al. 2-Deoxy-D-glucose uptake by lung slices from fed on fasted rats. J Appl Physiol 1978; 44(6):380～383

7. Stanbrook HS, et al. Inhibition of glucolysis potentiates hypoxic vasoconstriction in rat lungs. J Appl Physiol 1983; 55(5):1467～1473

8. Dieterle Y, et al. Metabolism and uptake of adenosine triphosphate and adenosine by porcine aortic and pulmonary endothelial cells and fibroblasts in culture. Circ Res 1978; 42(6):869～876

9. Afonso S, et al. Enhancement of coronary vasodilator action of adenosine triphosphate by dipyridamole. Circ Res 1968; 20(2):403～408

10. Hauge A. Conditions govering the pressor response to ventilation hypoxia in isolated perfused rat lungs. Acta Physiol Scand 1968; 72:33～11

11. 孙立英，等。大鼠肺灌流技术（待发）

12. Kennedy Y, et al. Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by nifedipine. Am J Cardial 1982; 50:861～868

13. Mentzer RM, et al. Release of adenosine by hypoxic canine lung tissue and its possible role in pulmonary circulation. Am J Physiol 1975; 229(6):1625～1631

14. Sugget AJ. Angiotensin, hypoxia, verapamil and pulmonary vessels. Clin Exp Pharmocol & Physiol 1980; 7:263～274

15. Silove ED, et al. Effects of alpha adrenergic blockade and tissue catecholamine depletion on pulmonary vascular responses to hypoxia. J Clin Invest 1968; 47(2): 274～285

16. Downing SE, et al. Nervous control of the pulmonary circulation. Ann Rev Physiol 1980; 42:199～210

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

17. Phoades RA, et al. Influence of altered O_2 tension on substrate metabolism in perfused rat lung. Am J Physiol 1975; 229(6):1476～1479

18. Duke HN, et al. Pulmonary vasomotor responses of isolated perfused cat lung to anoxia. J Physiol (London) 1952; 117:303～316

19. Haack DW, et al. Effects of hypoxia on the distribution of calcium in arterial smooth muscle cells of rats and swin. Cell Tissue Res 1975; 157:125～140

20. McMurtry IF, et al. Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by calcium antagonists in isolated rat lung. Circ Res 1976; 38(2):99～104

21. 孙秉庸，等。猪在慢性间断缺氧后循环机能对再次缺氧的反应及异搏停的作用。四川生理科学动态 1982; 2:80～81

Observations on Hypoxic Pulmonary Pressor Response in Perfused Rat Lungs in Situ and Studies on Its Mechanism

Sun Liying Tutor: Sun Bingyong

(Department of Pathophysiology, Third Military Medical College)

Hypoxic pulmonary pressor response (HPPR) was observed with a preparation of perfused lungs in situ in rats, and the effects of deoxy-2-glucose(2DG), verapamil, and dipyridamole on HPPR were studied.

During hypoxia (inhalation of 3% oxygen for 10 minutes), there was a 50% increase on average in pulmonary arterial pressure in the perfused lungs in situ in rats. 2DG inhibited the first and second but enhanced the seventh and eighth HPPR. Both verapamil and dipyridamole depressed HPPR.

On the basis of the results, the author suggests that the mechanism of HPPR might originate from the lungs themselves. There might be a close relation between the glucose-energy metabolism and the occurrence of HPPR, the transmembranous influx of calcium might play a certain role in the development of HPPR, and adenosine would probably participate in the regulation of HPPR.

Key words: Rat; Perfused lungs in situ; Hypoxic pulmonary pressor response

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