

内皮素 A 受体拮抗剂 BQ123 对低温诱发肉鸡肺动脉高压的预防作用

杨鹰 武振龙 张建军 孙茂红 董世山 高铭宇 欧德渊
范春艳 刘文菊 田勇 乔健
(中国农业大学 动物医学院,北京 100094)

摘要 为研究验证内皮素-1(endothelin-1, ET-1)是否参与肉鸡腹水肺动脉高压的发病过程,用低温环境下饲养的肉鸡,腹腔注射 ET-1 受体拮抗剂 BQ123,检测几项肺动脉高压指标。结果表明:在处理 7 和 15 d,低温空白对照组和低温生理盐水对照组肉鸡肺动脉压和右心室内压显著低于常温空白对照组 ($P < 0.05$),低温 + BQ123 组与常温对照组相比没有显著差异,而显著低于 2 个未注射 BQ123 的低温组 ($P < 0.05$);各组之间的红细胞压积(PCV)和腹水心脏指数(AHI)在处理 7 d 都没有显著性差异,而到 14 d,低温对照组的 PCV 和 AHI 显著高于 BQ123 处理组和常温对照组 ($P < 0.05$)。结果说明 ET_AR 特异性受体拮抗剂 BQ123 能够预防低温诱发的肉鸡肺动脉高压,保护了肺动脉和右心正常的生理功能。本试验用反证法证明了 ET-1 参与了肉鸡腹水肺动脉高压的发病过程,而且为肉鸡肺动脉高压综合征提供了新的治疗途径。

关键词 内皮素-1;拮抗剂;肉鸡腹水;肺动脉高压

中图分类号 S 851.33; S 852.3

文章编号 1007-4333(2005)03-0052-04

文献标识码 A

Preventive effect of endothelin receptor antagonist BQ123 on pulmonary hypertension induced by low ambient temperature in broilers

Yang Ying, Wu Zhenlong, Zhang Jianjun, Sun Maohong, Dong Shishan, Gao Mingyu, Ou Deyuan, Fan Chunyan, Liu Wenju, Tian Yong, Qiao Jian
(College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract The blockade effect of endothelin A receptor on blood pressure in experimental model of pulmonary hypertension was examined. Birds raised in low ambient temperature for 7 or 14 days were injected with antagonist BQ123 in bird abdominal cavity. The pulmonary arterial pressure (PAP), right ventricle pressure (RVP) and related parameters were measured. The results showed that both PAP and RVP under low temperature and saline treatment were significantly lower than those of normal temperature control ($P < 0.05$). The birds injected with BQ123 (2 × 0.4 or 2.0 μg/kg/day) and raised under lower temperature had similar PAP and RVP values as those grown at normal temperature. However, PAP and RVP values of the BQ123-treated birds were significantly lower than those of the birds without BQ123 treatment ($P < 0.05$). The birds grown at low temperature for 14 days had significantly higher PCV and AHI than those treated with BQ123 and under normal temperature ($P < 0.05$), But at 7 days, there was not significant difference in PCV and AHI among all the treatments. It was suggested that ET-1 was associated with pulmonary hypertension and ascites development. BQ123 showed some meaning in treating pulmonary hypertension.

Key words endothelin-1; BQ123; broiler ascites; pulmonary hypertension

内皮素(endothelin, ET)是迄今发现的内源性血管收缩因子之一。ET与靶细胞膜上的受体(ETR)结合,能启动一系列细胞内传递过程。对内

皮素的研究结果表明:ET-1对哺乳动物肺血管张力的维持、肺血管壁重建及肺动脉高压和气管、支气管平滑肌过度增殖的发病机制中起重要介导作用,ET

收稿日期:2005-01-13

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30070567;30371063);博士点基金资助项目(20030019032)

作者简介:杨鹰,博士后;乔健,教授,通讯作者,主要从事家禽病理生理研究。

还参与心衰、心肌肥厚、肾功能不全和脑卒中等常见的高血压并发症,这些研究都证明 ET-1 在哺乳动物高血压、肺动脉高压和右心肥大的发病过程中起关键作用^[1]。作者已通过急性实验证实 ET-1 对家禽肺循环和体循环确有作用,内源性 ET-1 是维持家禽肺动脉和股动脉基础张力的基本条件之一^[2]。目前还没有研究表明 ET-1 是否参与和如何参与低温诱发肉鸡腹水肺动脉高压综合症的发病过程,所以本试验旨在研究 ET-1 与肉鸡肺动脉高压综合症的关系,并试图探讨 ET_AR 受体拮抗剂 BQ123 对低温诱导的肉鸡肺动脉高压是否有缓解作用,阐明 ET-1 在肉鸡腹水综合症中的参与机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

ET_AR 受体拮抗剂 BQ123 购自 America Peninsula Lab。

1.2 试验方法

1) 实验动物分组及饲养。1 日龄 AA 肉鸡和饲料,购自北京昌平大东流肉种鸡公司,履行正规的免疫程序。分为以下 6 组:常温对照组(对照_{常温}组)、常温 BQ123 对照组(2.0 μg/kg BQ123,对照_{BQ123}组)、低温对照组(对照_{低温}组)、低温 + 生理盐水组(生理盐水_{低温}组)、低温 + 0.4 μg/kg BQ123 组(BQ123_{0.4}组)和低温 + 2.0 μg/kg BQ123(BQ123_{2.0}组)。常温组在整个试验期都处于常规温度条件下饲养;低温组于 16 日龄开始降温(13 ~ 18 ℃),并全期采用地面平养,饲养密度 12 只/m²。各组饲喂和管理保持一致。

2) 试剂的准备。将 BQ123 配成生理盐水溶液,4 ℃ 冰箱保存。

3) 试验步骤。从 16 日龄开始,每天在上下午相同时间 2 次腹腔注射生理盐水、0.4 μg/kg BQ123 和 2.0 μg/kg BQ123,分别在 23 和 30 日龄测定肉鸡右心室内收缩压和舒张压(RVSP、RVDP)、肺动脉收缩压和舒张压(PASP、PADP)、红细胞压积(pack cell volume, PCV)、腹水心脏指数(Ascites heart index, AHI)和心率(heart rate, HR),测定方法参照文献[2]。

1.3 数据统计和分析

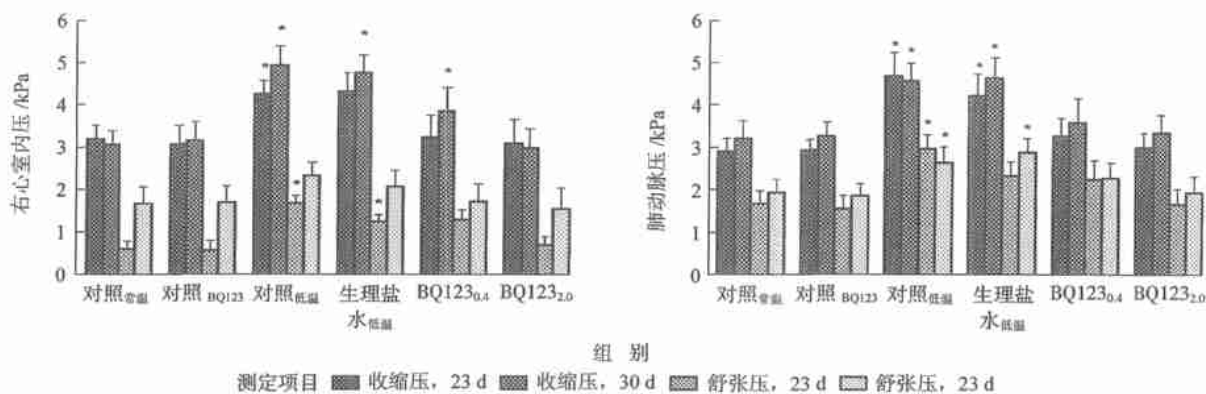
数据用独立样本的 one-way-ANOVA 统计,并进行 Duncan 检验,结果用 $\bar{X} \pm SD$ 表示。

2 试验结果

2.1 BQ123 对低温肉鸡右心功能的影响

肉鸡在 16 日龄低温并每日定时定量腹腔注射生理盐水和 BQ123,给药后 7 d(23 日龄)和 14 d(30 日龄)所测定的右心室 RVSP 和 RVDP 结果显示 23 日龄的对照_{常温}组((3.18 ± 0.331)、(0.60 ± 0.194) kPa)、对照_{BQ123}组((3.07 ± 0.451)、(0.567 ± 0.232) kPa)、BQ123_{2.0}组((3.08 ± 0.572)、(0.700 ± 0.195) kPa)和 BQ123_{0.4}组((3.23 ± 0.527)、(1.30 ± 0.214) kPa)之间没有显著差异,而生理盐水_{低温}组((4.32 ± 0.443)、(1.25 ± 0.161) kPa)和对照_{低温}组((4.25 ± 0.330)、(1.683 ± 0.185) kPa)显著高于对照_{常温}组($P < 0.05$);各组之间在 30 日龄的变化与 23 日龄相似(图 1)。

23 日龄各组之间 HR 差异不显著,到 30 日龄,



对照_{BQ123}组为常温注射 BQ123 对照组;生理盐水_{低温}组为低温注射生理盐水组;BQ123_{0.4}组为低温注射 0.4 μg/kg BQ123 组;BQ123_{2.0}组为低温注射 2.0 μg/kg BQ123 组;下同。

图 1 BQ123 对低温肉鸡右心室和肺动脉收缩压、舒张压的影响

Fig. 1 Changes of RVSP and RVDP in the birds injected with different doses of BQ123

生理盐水_{低温}组((365 ±14.0) beat/min)和对照_{低温}组((364 ±19.0) beat/min) HR 与对照_{常温}组((388 ±20.2) beat/min)相比显著降低($P < 0.05$),而其他各组间没有显著差异(图 2)。

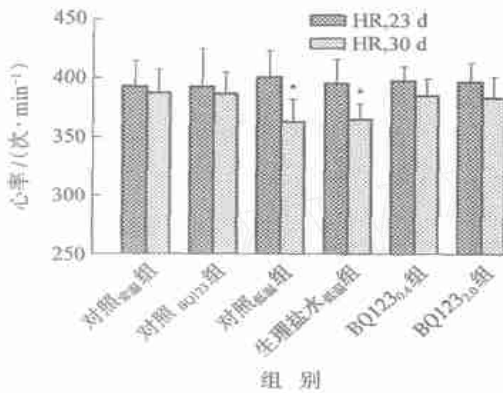


图 2 BQ123 对低温肉鸡心率 (HR) 的影响

Fig. 2 HR changes of the birds injected with different doses of BQ123

2.2 BQ123 对低温肉鸡肺动脉压 (PAP) 的影响

低温肉鸡给药处理后的肺动脉压结果显示,23 日龄对照_{常温}组、对照_{BQ123}组、BQ123_{0.4}组和

BQ123_{2.0}组的 PASP、PADP 差异不显著,而对照_{低温}组((4.68 ±0.553)、(2.97 ±0.324) kPa)和生理盐水_{低温}组((4.20 ±0.521)、(2.32 ±0.346) kPa)与对照_{常温}组((2.90 ±0.303)、(1.67 ±0.298) kPa)相比差异显著($P < 0.05$);30 日龄时这种差异依然存在($P < 0.05$) (图 1)。

2.3 BQ123 对低温肉鸡红细胞压积 (PCV) 和腹水心脏指数 (AHI) 的影响

2 个日龄的红细胞压积结果显示 BQ123_{0.4}组((33.1 ±2.61) %、(34.4 ±2.41) %)和 BQ123_{2.0}组((31.3 ±2.13) %、(32.3 ±1.53) %)都与对照_{常温}组((31.8 ±1.34) %、(34.0 ±2.09) %)、对照_{BQ123}组((31.9 ±1.44) %、(31.5 ±2.16) %)没有显著差异,而显著低于对照_{低温}组((40.4 ±2.38) %、(38.4 ±2.87) %)和生理盐水_{低温}组((38.7 ±2.79) %、(40.8 ±3.19) %) ($P < 0.05$)。各组腹水心脏指数在 23 日龄没有显著差异,而 30 日龄,对照_{低温}组((28.3 ±2.3) %)和生理盐水_{低温}组((30.1 ±3.01) %)显著高于其他各组 ($P < 0.05$) (图 3)。

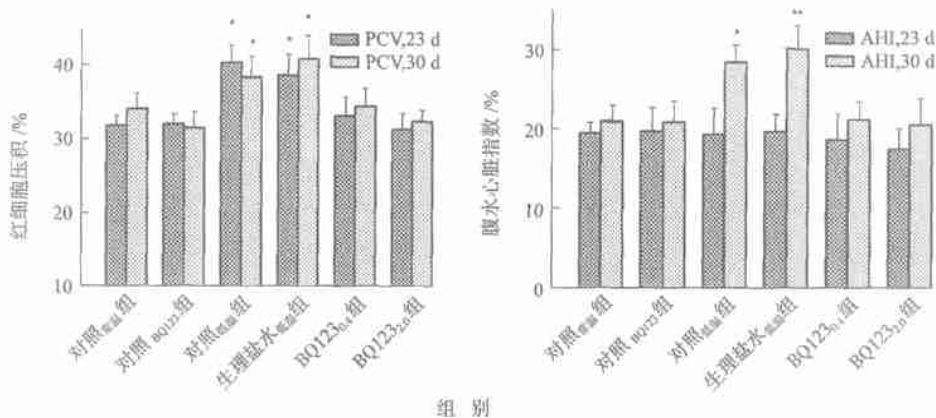


图 3 BQ123 对低温肉鸡红细胞压积 (PCV) 和腹水心脏指数 (AHI) 的影响

Fig. 3 Effects of BQ123 abdominal injection on PCV and AHI

3 结论和讨论

根据对肉鸡腹水肺动脉高压的研究^[3],已将 PAP、RVP、AHI、PCV 和 HR 作为早期判断肉鸡肺动脉高压腹水的病理生理诊断指标,很多研究已证明低温诱发的肺动脉高压肉鸡从 20 ~ 35 日龄 PAP、RVP、PCV 和 AHI 明显高于正常对照组。本试验中,低温 2 周后,对照组和生理盐水对照组肉鸡 PAP、RVP 显著增高,提示低温诱发形成了肉鸡肺动脉高压,PCV 和 AHI 显著增加提示血液中有大量

红细胞生成、血液黏度升高和右心室肥厚进一步证明低温诱发肺动脉高压的发展,同时,给药组中 ET_AR 特异性受体拮抗剂 BQ123 剂量依赖性地缓解了低温条件下肉鸡肺动脉高压,使 PAP、RVP、PCV 和 AHI 没有明显升高以及 HR 没有明显降低,说明 ET 参与了肉鸡腹水肺动脉高压的形成过程。

3.1 BQ123 对肉鸡肺动脉高压的预防作用

在急性试验中,BQ123 和 ET-1 抗体能够降低家禽脉管压力和右心室内压,证明家禽心室和血管壁存在有 ET_AR,而 ET 系统有维持和调节基本血压

的作用。研究表明^[4],低温条件下,肉鸡为维持正常体温,会提高代谢率以增加热量,代谢率的增加刺激了机体对氧的需求,使机体处于一种慢性相对缺氧状态。已有研究证实,应用 ET-1 受体拮抗剂 BQ123 可降低大鼠低氧性肺动脉高压及离体肺动脉平滑肌张力,抑制肺血管重建^[5],说明 ET-1 和 ETR 改变可能是低氧性肺动脉高压形成的重要机制。

本试验中,腹腔注射 ET_AR 特异性受体拮抗剂 BQ123 两周后,低温肉鸡肺动脉压、右室内压、红细胞压积和腹水心脏指数显著低于对照组,而未经给药处理的低温肉鸡这几种指标都显著升高,这说明 ET-1 和 ET_AR 参与了肉鸡肺动脉高压的形成,BQ123 与 ET_AR 结合阻碍了低氧诱发合成的多量 ET-1 与血管平滑肌细胞膜上调的 ET_AR 结合,不能激活细胞内信息通路(细胞内 Ca²⁺大量释放和细胞外 Ca²⁺大量内流),血管平滑肌和心肌不发生过度收缩,因而肺动脉压和右室内压未呈病理性升高。

3.2 BQ123 对肉鸡肺动脉高压并发症的预防作用

ET-1 具有促平滑肌细胞和心肌细胞生长及增殖作用^[6-8],ET 与 ET_AR 结合,可以刺激 DNA 合成、平滑肌细胞和心肌纤维有丝分裂^[9],这些作用将促进平滑肌细胞增殖和心肌肥厚。ET-1 对血管的短期效应是使血管收缩,长期效应则使血管壁增生及重构。ET-1 还可使心肌收缩力增强,刺激心肌细胞增生肥大^[10]。综合上述资料,低温缺氧时 ET 系统被激活,短期内 ET-1 对血管收缩和心脏的正性肌力作用可能是有益的,但其强烈的缩血管作用使肺血管和心脏后负荷增加,而且在持续的外界条件刺激下,ET-1 长期作用血管和心脏而使血管壁和心壁重塑,其结果是损害血管系统和心功能,所以 BQ123 阻断 ET-1 和 ET_AR 的结合,降低 ET-1 的这种病理性作用。本试验发现 BQ123 抑制低温肉鸡肺动脉压升高的同时,对肺血管和心脏功能也有保护作用,腹水心脏指数和红细胞压积显著低于对照组,肺组织没有明显病理学改变,而未经给药处理的低温肉鸡肺内和肺外动脉血管内皮表面不光滑,中膜平滑肌层增厚,腹水心脏指数和红细胞压积显著升高,这些结果说明,ET-1 不仅参与肉鸡肺动脉高压综合征功能的改变,也参与了肺血管重构和右心室肥厚等形态的改变。

本试验结果证明了 ET_AR 特异性受体拮抗剂 BQ123 能够预防低温诱发肉鸡肺动脉高压,保护肺动脉和右心正常的生理功能,这一方面说明 ET-1 的确参与了低温诱发肉鸡肺动脉高压的发病过程,另一方面说明 BQ123 能够有效预防肉鸡肺动脉高压的发生发展。

参 考 文 献

- [1] Zoccali C, Leonardis D, Parkongo S, et al. Urinary and plasma endothelin-1 in essential hypertension and in hypertension secondary to renoparenchyma disease[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1995, 10(8):1320
- [2] 杨鹰,乔健. 内皮素受体拮抗剂 BQ123 及内皮素抗体对蛋鸡肺血流动力学的影响[J]. *中国兽医科技*, 2003, 33(5):9-11
- [3] Wideman R F Jr, Ismail M, Kirby Y K, et al. Furosemide reduces the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers exposed to cool environmental temperatures[J]. *Poult Sci*, 1995, 74(2):314-322
- [4] 董世山,乔健,栗少文,等. 肺动脉高压与肉鸡腹水综合征发生发展的关系[J]. *畜牧兽医学报*, 2000, 31(4):325-330
- [5] Zamora M A, Dempsey E C, Walchak S J, et al. BQ123, an ETA receptor antagonist, inhibits endothelin-1-mediated proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1993, 9(4):429-433
- [6] Davie N, Haleen S J, Upton P, et al. ET_A and ET_B receptors modulate the proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(3):398-405
- [7] Michael J R, Markewitz B A. Endothelins and the lung[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, 154(3 Pt 1):555-81
- [8] MacLean M R. Endothelin-1: a mediator of pulmonary hypertension[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 1998, 11(2):125-132
- [9] Matsuura A, Yamochi W, Hirata K, et al. Stimulatory interaction between vascular endothelial growth factor and endothelin-1 on each gene expression[J]. *Hypertension*, 1998, 32(1):89-95
- [10] Ito H, Hiroe M, Hirata Y, et al. Endothelin ETA receptor antagonist blocks cardiac hypertrophy provoked by hemodynamic overload[J]. *Circulation*, 1994, 89(5):2198-2203