

卡托普利对甲状腺素性心肌肥厚大鼠血管平滑肌收缩反应的影响

黄敏, 戴德哉*, 何令帅

(中国药科大学药理研究室, 南京 210009)

摘要 目的 研究卡托普利对甲状腺素(THY)性心肌肥厚大鼠血管平滑肌的内钙释放和外钙内流所致收缩的影响。方法 大鼠连续 10 d 每天 ip THY 0.5 mg/kg 造成心肌肥厚及血管病变模型, 卡托普利在 d8, 9, 10 po 50、100 mg/kg 给药, 在 d11, 大鼠的胸主动脉进行由高钾引起的三相收缩, 比较在正常组、THY 肥厚组和卡托普利组大鼠血管平滑肌的内钙释放和外钙内流所致收缩的变化。结果 肥厚组的心室/体重(VW/BW)指数比正常组明显升高, 而卡托普利能显著降低之; THY 心肌肥厚大鼠的平滑肌由内钙释放和外钙内流所致的收缩百分率比正常组都显著增加, 而卡托普利剂量为 50 mg/kg 时对由外钙内流所致的收缩比正常组和肥厚组的显著降低, 对内钙释放无影响; 卡托普利剂量为 100 mg/kg 时对由内钙释放所致的收缩比正常组和肥厚组的显著降低, 对外钙内流所致的收缩与肥厚组比显著减少。结论 卡托普利对 THY 性心肌肥厚大鼠血管平滑肌高钾引起的收缩反应有显著抑制作用, 其机制可能与卡托普利抑制血管平滑肌的内钙动员和外钙内流有关。

关键词 卡托普利; 左甲状腺素; 心肌肥厚; 钙调控; 血管平滑肌

中图分类号: R 965 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2002)03-0238-03

本室以前的研究表明甲状腺素(*L*-thyroxine, THY)慢性给药可造成心肌肥厚动物模型, 在此模型中由高钾引起的电压依赖性钙通道(voltage-dependent channel, VDC)开放所致的血管平滑肌(vascular smooth muscles, VSM)收缩中, 甲状腺素能使 VSM 的外钙内流和内钙释放都显著增加^[1], THY 引起了 VSM 钙调控异常。从 1998 年我们的发现表明 THY 使 VSM 产生病变, 引起 VSM 钙内流增加及胞内钙释放增加, 从而造成 VSM 钙调控异常。钙内流与 β -受体关系密切已是普遍的共识, 血管紧张素 II(Angiotension II, A II)亦参与心血管疾病的许多病理过程, 介导心肌重构和血管重构。我们以前的研究表明卡托普利能明显消退 THY 所致的心肌重构^[2], 因而我们猜测 A II 可能参与 THY 所致的心血管重构, 但卡托普利对 THY 所致的血管重构的作用未见研究。本文旨在通过在有钙和无钙液中由高钾引起的 VSM 收缩模型中, 以 VSM 收缩反应近似地反映钙经钙通道内流及胞内钙释放, 观察卡托普利在体给药治疗甲状腺素性心肌肥厚大

鼠来揭示 THY 引起的 VSM 功能异常是否有 A II 的参与。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性 SD 大鼠, 体重 250~300 g, 由中国药科大学实验动物中心提供。THY 为 Sigma 公司产品, 卡托普利(captopril)由江苏常州制药厂惠赠, 批号 010412C, 其余试剂均为市售国产分析纯。

1.2 心肌肥厚动物模型的建立和实验动物的分组

大鼠按体重和实验时间的先后被随机分为正常对照组, 心肌肥厚组和卡托普利组(po captopril 50 mg/kg、100 mg/kg), 除正常对照组外, 各大鼠连续 10 每天 ip 0.5 mg/kg THY(溶于 0.5% CMC 中使成混悬液)造成心肌肥厚模型, 在实验的第 8, 9, 10 天, 卡托普利组大鼠在 ip THY 同时灌胃给以卡托普利, 正常对照组给予同体积的生理盐水。在第 11 天大鼠放血处死, 迅速剪取心室和胸主动脉。心室称重并计算其心室重量指数比(ventricular

weight/body weight, VW/BW), 与正常组比 VW/BW 有显著增加为心肌肥厚造模成功的指标。

1.3 血管平滑肌收缩反应

胸主动脉制成血管环, 观察钙通过 VDC 使血管收缩的变化。制血管环按我室以前的方法^[1], 具体如下: 大鼠放血处死后开胸, 取胸主动脉, 分离附着的结缔组织, 切成 3 mm 的血管环, 置含通入 100% O₂ 的 K-H 液 (mmol·L⁻¹, pH 7.40, 组成为: NaCl 119, NaHCO₃ 25, KCl 4.6, MgCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, 葡萄糖 11) 的 3 ml 浴皿中, 恒温 37℃, 调节静息张力为 1 g。平衡 60 min, 其间每 20 min 换液 1 次, 血管经 1 μmol·L⁻¹ 盐酸去甲肾上腺素 (NA) 预处理后, 于 3 ml 浴皿中在有钙 K-H 液中加入 80 mmol·L⁻¹ KCl 使其收缩 (第 1 相收缩)。待收缩稳定后用无钙 K-H 液 (不含 CaCl₂, 而含 EGTA) 洗脱至基线后用无钙液平衡 20 min, 用无钙液定容后加入 80 mmol·L⁻¹ KCl 使血管在无钙液中收缩 (第 2 相收缩); 收缩稳定后再加入 2.5 mmol·L⁻¹ CaCl₂ 复钙使之进一步收缩 (第 3 相收缩)。运用 D95 软件系统 (南京医科大学研制) 记录三相的收缩张力, 以第 2 相与第 1 相收缩张力之比为内钙释放所致的收缩百分率, 以第 3 相与第 1 相收缩张力之比为外钙内流所致的收缩百分率。

1.4 数据处理

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用组间不成对 *t* 检验, *P* < 0.05 及具有显著的统计学差异。

2 结 果

2.1 卡托普利对心肌肥厚的消退作用

心肌肥厚组 VW/BW 比对照组显著增加 (*P* < 0.01), 表明 THY 使心肌发生重构。卡托普利口服 50, 100 mg/kg 时均能显著降低 VW/BW, 并呈剂量依从性, 但与正常组比仍有显著的心肌肥厚, 表明卡托普利能改善心肌重构, 但不能使之恢复正常 (表 1)。

2.2 卡托普利对血管平滑肌由内钙释放和外钙内流所致收缩的影响

心肌肥厚使血管平滑肌的内钙释放和外钙内流都显著增加。卡托普利剂量为 50 mg/kg 时使外钙内流显著减少, 甚至比正常血管的还低 (*P* < 0.01); 而内钙释放和肥厚组比没有差异。卡托普利剂量为 100 mg/kg 时, 则使内钙释放显著减少,

甚至比正常血管的还低 (*P* < 0.01); 并且外钙内流和肥厚组比也有显著下降, 但和正常组比还是有显著增加 (表 2)。本结果表明卡托普利对 THY 所致的 VSM 钙调控异常有纠正作用并呈剂量依存关系。

Tab 1. Effects on ventricular weight index in THY treated rats by captopril

Group	n	Dose (mg/kg)	VW/BW (mg/g)
Control	8		2.91±0.18
Cardiac hypertrophy	11		4.00±0.26 ^c
Captopril	6	50	3.68±0.30 ^{b, f}
Captopril	9	100	3.62±0.19 ^{a, f}

P < 0.05 *P* < 0.01 vs control; ^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01 vs cardiac hypertrophy

Tab 2. Ca²⁺-release and Ca²⁺-entry evaluated approximately by VSM contractions

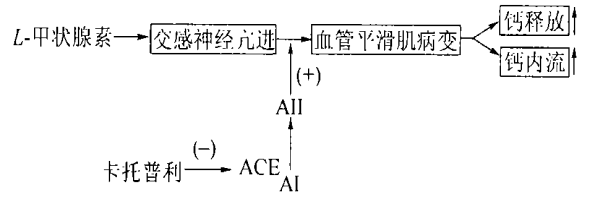
Group	n	Dose (mg/kg)	Ca ²⁺ release (%)	Ca ²⁺ entry (%)
Control	14		76.96±5.84	23.76±9.36
CH	9		85.20±8.01 ^b	50.95±18.74 ^c
Captopril	8	50	86.44±10.00 ^{b, d}	11.21±2.61 ^{a, f}
Captopril	7	100	50.22±10.37 ^{a, f}	33.65±8.21 ^{b, e}

P < 0.05 *P* < 0.01 vs control; ^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.05, ^c*P* < 0.01 vs cardiac hypertrophy (CH)

3 讨 论

细胞膜静息电位是由于 K⁺ 的电化学梯度所维持。高 K⁺ (细胞外钾) 使平滑肌细胞去极化及 VDC 开放, 外 Ca²⁺ 内流。Ca²⁺ 与钙调素形成钙-钙调素复合物, Ca²⁺ 兴奋-收缩耦联, 该复合物活化肌球蛋白轻链激酶 (MLCK), MLCK 使肌球蛋白 19 位丝氨酸磷酸化, 从而使肌球蛋白 ATP 酶被肌动蛋白活化, 使 VSM 收缩, 故而可由 VSM 反映钙调控。高 K⁺ 引起去极化, 激活 VDC, 钙内流使平滑肌收缩^[1,3]。为区分由外钙内流及胞内钙释放所引起的两部分 VSM 收缩, 本实验采取无钙高钾使血管收缩模式。在无外钙时, 高钾去极化使膜电位消失, 结合在细胞膜磷脂上的钙游离, 游离钙促使细胞肌浆网 (SR, sarcoplasmic reticulum) 释放内钙, 引起 VSM 收缩, 此为内钙释放所致的收缩。这种血管平滑肌的收缩机制是由本室首先提出的^[1]。在无钙高钾收缩稳定后复钙, 外钙经已经开放的 VDC 内流, 此时为外钙内流所致的收缩。本实验结果表明 THY 的心肌肥厚组内钙释放增多, 说明其 SR 释放钙增多; 其也使外钙内流的量显著增加, 说明 VDC 的作

用增强。THY 使 *L*-钙通道改变、心血管结构和离子通道发生重构^[1-3]，卡托普利两个剂量均能显著抑制外钙内流，高剂量时可显著抑制内钙释放，使 THY 所致的重构趋向正常。卡托普利(ACEI 药)能选择性抑制 ACE 的活性，阻断 AI 转化为 A II，其提示 A II 参与了 THY 致血管平滑肌中钙平衡的病变。从本实验中我们可以得到如下假设：



本文的研究证实 A II 在 *L*-甲状腺素所致血管钙调控异常病变中起着重要的作用，首次证明 A II 参与了由 *L*-甲状腺素所致血管平滑肌钙调控异常，卡托普利作为工具药证实了该发现。本实验结果表明卡托普利对 THY 性心肌肥厚大鼠血管平滑

肌高钾引起的收缩反应有显著抑制作用，其机制可能与卡托普利抑制血管平滑肌的内钙动员和外钙内流有关。

参考文献

[1] Dai DZ, Jiang JM. p-Chlorobenzyltetrahydroberberine inhibits vascular smooth muscle contractions caused by Ca^{2+} . *Acta Pharm Sin*, 1998, **19**(6): 543-547.

[2] Chen DD, YU F, Zhan T, Dai DZ. Reducing L-thyroxine cardiac hypertrophy and suppressing mitochondrial calcium pump by propranolol, verapamil and captopril. *J China Pharm Univ*, 1996 **27**(1): 44-47.

[3] Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature*, 1994, **372**: 231-237.

[4] Kwan CY, Kravtsov GM. Protein kinase C plays no role in KCl-induced vascular contraction in Ca^{2+} -free medium. *Acta Pharmacol Sin*, 1996, **17**: 197-201.

[5] 戴德哉 (Dai DZ), 胡惠娟 (Hu HJ), 杨平 (Yang P) 等. 重构心肌离子通道病变及致心律失常性. 中国病理生理杂志 (*Chin J Pathophysiol*), 2000, **16**(10): 945-947.

Influences of Captopril on Vascular Smooth Muscle Contractions in Thyroxine Cardiac Hypertrophic Rats

HUANG Min, DAI De-Zai, HE Ling-Shuai

China Pharmaceutical University, Research Division of Pharmacology, Nanjing 210009

ABSTRACT **AIM** The purpose is to investigate influences of captopril on vascular smooth muscle (VSM) contractions induced by intracellular Ca^{2+} release and Ca^{2+} entry in THY (L-thyroxine) cardiac hypertrophic rats. **METHODS** A cardiac hypertrophy (CH) model was produced by ip THY 0.5 mg/kg/d for 10 d. Rats were divided into control group, CH group (treated with THY for 10 d) and 2 captopril groups (treated with THY for 10d and administering captopril 50, 100 mg/kg po on d 8, 9, 10, respectively). On the 11th day, the ventricular index, VW/BW (mg/g) was obtained and compared with that of control group. The rat aortic rings were suffered to 3 phases of contractions. **RESULTS** The ventricular index was higher in CH rats than that of in control rats, three days treatment of the CH with captopril at doses of 50 and 100 mg/kg significantly reduced the ventricular index. The intracellular calcium release of VSM significantly enhanced in CH and captopril 50 mg/kg groups, while captopril 100 mg/kg suppressed the enhanced intracellular Ca^{2+} mobilization induced by THY. The Ca^{2+} entry of VSM also higher in CH group vs. control. Captopril (50 and 100 mg/kg, po) significantly inhibited the contractions caused by Ca^{2+} entry. **CONCLUSION** Captopril could inhibit significantly VSM contractions caused by high-potassium in THY cardiac hypertrophic rats. The mechanism may involve the suppression of the intracellular calcium mobilization and calcium entry in VSM.

KEY WORDS Captopril; L-thyroxine; Cardiac hypertrophy; Calcium handling; Vascular smooth muscles