

# 一氧化氮在肾性高血压大鼠心肌肥厚中的作用<sup>①</sup>

郭益民<sup>②</sup> 朱小南 潘敬运

(中山医科大学生理教研室; 广州, 510089)

**摘要** 目的: 研究一氧化氮在二肾一夹(2K1C)肾性高血压大鼠心肌肥厚中的作用。方法: 建立 2K1C 肾性高血压大鼠模型。实验分为 5 组: 假手术组, 2K1C 组, 卡托普利组, NAME 组和精氨酸组。测定各组大鼠的平均动脉血压(MAP,  $\bar{p}_a$ )、左心室质量/体质量和左心室心肌的环鸟苷酸(cGMP)的质量摩尔浓度。结果: 在 2K1C 组大鼠, 手术后 4 周的 MAP 显著升高, 心肌肥厚和心肌 cGMP 质量摩尔浓度显著下降。卡托普利可防止 2K1C 组大鼠 MAP 升高, 左心室心肌肥厚和增加心肌的 cGMP 质量摩尔浓度。L-精氨酸显著减轻 2K1C 大鼠的左心室心肌肥厚, 但 MAP 水平无改变, 心肌的 cGMP 质量摩尔浓度显著升高。用一氧化氮合酶抑制剂 L-NAME 处理 2K1C 大鼠, 血压进一步升高, 但不影响心肌肥厚和心肌 cGMP 质量摩尔浓度。结论: 这些结果提示, 肾素-血管紧张素系统可能参与 2K1C 肾性高血压, 左心室心肌产生的 NO, 可能通过依赖 cGMP 途径防止心肌肥厚。

**关键词** 高血压, 肾性; 一氧化氮; 心脏肥大; 卡托普利

**中图分类号** R 541.3

## The Role of Nitric Oxide in Myocardial Hypertrophy of Renal Hypertensive Rats

Guo Yimin Zhu Xiaonan Pan Jingyun

(Department of Physiology Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

**Abstract Objective:** To investigate the role of nitric oxide in myocardial hypertrophy of renal hypertensive rats. **Method:** Two-kidney and one-clip (2K1C) renal hypertension model was established in Sprague-Dawley rats by chronic partial occlusion of left renal artery. Animals were divided into 5 groups: sham operation group, 2K1C group, captopril group, L-arginine group and L-NAME group. Mean arterial pressure (MAP,  $\bar{p}_a$ ), left ventricular mass/body mass and myocardial cGMP level of left ventricle were measured in each rat. **Results:** at the 4th week after constriction of the left renal artery, MAP significantly elevated, cardiac hypertrophy developed and myocardial cGMP was lowered in 2K1C group. Captopril prevented 2K1C renal hypertensive rats from the increase in MAP and left ventricular weight, and the myocardial cGMP level increased. L-arginine significantly reduced left ventricular hypertrophy and increased myocardial cGMP content without change in MAP in 2K1C rats. In 2K1C rats treated with nitric oxide synthase inhibitor, L-NAME, MAP increased further, but ventricular hypertrophy and myocardial cGMP level were unaffected. **Conclusion:** renin-angiotensin system may play a role in the development of myocardial hypertrophy of 2K1C renal hypertension, and nitric oxide from myocardium may prevent myocardial hypertrophy through dependent cGMP mechanism.

**Subject headings** hypertension, renal; nitric oxide; heart hypertrophy; captopril

一氧化氮(NO)是由一氧化氮合酶(NOS)催化下生成的。NO 通过激活可溶性鸟苷酸环化酶合成环鸟苷酸(cGMP)而发挥其生理作用。NO 具有舒张血管的作用, 它参与血管张力的调节, 抑制血管平滑肌细胞的增殖<sup>[1]</sup>, 长期服用 L-精氨酸的自发

性高血压大鼠, 心肌肥厚明显减轻, 而血压水平却无明显改变<sup>[2]</sup>。二肾一夹(2K1C)肾性高血压大鼠的发病机制尚未完全阐明。心脏含有 NOS, 表明心脏能合成和释放 NO, 但 NO 在 2K1C 肾性高血压大鼠心肌肥厚中的作用至今未见报道。本文的主要

目的是,探讨 NO 在 2K1C 肾性高血压大鼠心肌肥厚中的作用及其作用机制。

## 1 方法

### 1.1 实验动物及分组

实验用雄性 Sprague-Dawley 大鼠, 体质量 150~200 g, 购自中山医科大学动物中心。戊巴比妥钠麻醉(50 mg/kg, IP)。在无菌条件下分离左肾动脉, 并安装内径为 0.2 mm 的“U”型银夹, 使左肾动脉狭窄。右肾保持完好, 造成二肾一夹(2K1C)肾性高血压模型。将这些大鼠分成 5 组: ①假手术组(sham group),  $n=6$ , 假手术组的大鼠只作左肾动脉分离而不上银夹; ②2K1C 组(2K1C group)  $n=6$ ; ③卡托普利组(capt group)  $n=6$ , 在 2K1C 大鼠的饮水中加入血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)卡托普利 0.3 g/L; ④L-硝基-精氨酸甲酯组(NAME group)  $n=7$ , 在 2K1C 大鼠的饮水中加入 NOS 抑制剂 L-硝基-精氨酸甲酯(L-NAME) 0.3 g/L; ⑤精氨酸组(arg group)  $n=8$ , 在 2K1C 大鼠的饮水中加 L-精氨酸 5 g/L。所有药物均用自来水配制, 每天配 1 次。假手术组和 2K1C 组大鼠只饮不含药物的自来水。4 周后, 称每只大鼠左心室(包括室间隔)质量, 计算左心室质量/体质量比值, 测定左心室的 cGMP 质量摩尔浓度。上述药物购自 Sigma 公司。

### 1.2 cGMP 的测定

取左心室心肌约 50 mg 放入盛有 2 mL 的 50 mmol/L 醋酸缓冲液(pH 4.75)的匀浆器内匀浆, 然后在悬浮液中加入乙醇混匀, 静置 5 min, 以 3 500  $\text{min}^{-1}$  离心 15 min。收集上清液, 用  $\varphi=75\%$  乙醇 1 mL 分别洗匀浆器 2 次, 以 3 500 转离心 15 min (800 型离心沉淀器, 上海手术器械厂,  $r=15$  cm)。合并上清液, 在 60 °C 水浴中吹干。用  $^{125}\text{I}$ -cGMP RIA 试剂盒, 并按照说明书进行 cGMP 的测定。

### 1.3 统计学处理

结果用平均值 $\pm$ 标准误( $\bar{x}\pm s_x$ )表示, 用 SPSS 软件包中的单因素方差分析作统计学处理, 以  $P<0.05$  作为差异有统计学意义界限。

## 2 结果

### 2.1 平均动脉压和左心室质量/体质量比值

2K1C 组大鼠的平均动脉压(MAP,  $\bar{p}_a$ )比假手

术组大鼠明显升高:  $\bar{p}_a(2K1C)=(22.9\pm 0.7)$  kPa 对  $\bar{p}_a(\text{sham})=(16.9\pm 0.5)$  kPa,  $P<0.01$ 。左心室质量/体质量比值差异很显著:  $w(m_{LV}/m_b, 2K1C)=(2.72\pm 0.06)$  mg/g 对  $w(m_{LV}/m_b, \text{sham})=(2.08\pm 0.02)$  mg/g, ( $P<0.01$ )。capt 组用卡托普利处理可翻转这些变化, MAP 降至  $\bar{p}_a(\text{capt})=(15.2\pm 0.3)$  kPa,  $w(m_{LV}/m_b, \text{capt})=(1.95\pm 0.03)$  mg/g, 与假手术组差异无显著性( $P>0.05$ )。NAME 组大鼠的 MAP 进一步升高, 达到  $\bar{p}_a(\text{NAME})=(29.2\pm 1.0)$  kPa, 与 2K1C 组相比差异有显著性( $P<0.05$ )。但  $w(m_{LV}/m_b, \text{NAME})=(2.61\pm 0.07)$  mg/g 与 2K1C 组  $w(m_{LV}/m_b, 2K1C)=(2.72\pm 0.06)$  mg/g 相比差异无显著性( $P>0.05$ )。精氨酸组大鼠, MAP 无显著下降  $\bar{p}_a(\text{arg})=(23.3\pm 0.5)$  kPa, 但心肌肥厚有所减轻  $w(m_{LV}/m_b, \text{arg})=(2.45\pm 0.06)$  mg/g 与 2K1C 组大鼠  $w(m_{LV}/m_b, 2K1C)=(2.72\pm 0.06)$  mg/g 相比差异有显著性  $P<0.05$ (图 1, 2)。

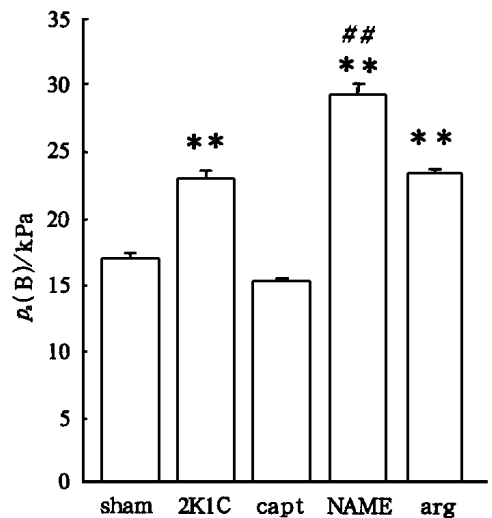


图 1 各组大鼠的平均动脉压(MAP,  $\bar{p}_a$ )

Fig. 1 Mean arterial pressure of rats in different groups

sham denotes sham group; 2K1C: 2K1C group; capt: Captopril group; NAME: NAME group; arg: arginine group. \*\*  $P<0.01$  compared with sham group. ##  $P<0.01$  compared with 2K1C group

### 2.2 心肌组织的 cGMP 质量摩尔浓度

2K1C 组大鼠心肌组织 cGMP 质量摩尔浓度  $b$  (myocardial cGMP) 比假手术组大鼠显著下降:  $b(\text{myocardial cGMP } 2K1C)=(109\pm 11)$  nmol/g 对  $b(\text{myocardial cGMP sham})=(173\pm 17)$  nmol/g,  $P<0.01$ 。capt 组大鼠给予卡托普利, cGMP 质量摩尔浓度比 2K1C 组大鼠显著升高  $b(\text{myocardial$

cGMP capt) = (204 ± 20) nmol/g,  $P < 0.05$ 。NAME 组大鼠心肌的 cGMP 质量摩尔浓度  $b$  (myocardial cGMP NAME) = (114 ± 22) nmol/g 与 2K1C 大鼠心肌的 cGMP 质量摩尔浓度差异无显著性,  $P > 0.05$ 。精氨酸组大鼠 cGMP 质量摩尔浓度则显著增加  $b$  (myocardial cGMP arg) = (312 ± 23) nmol/g (图 3)。

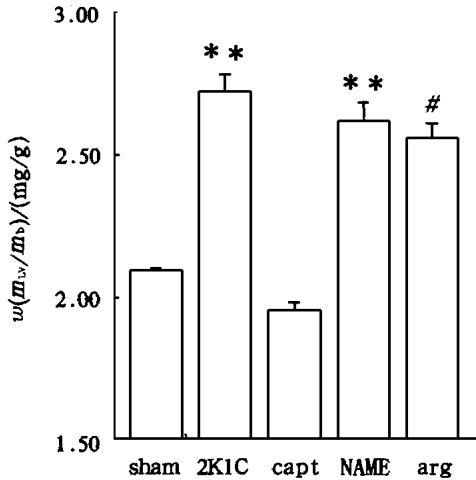


图 2 各组大鼠的左心室质量与体质量比值  $w(m_{LV}/m_B)$   
Fig. 2 Ratio between left ventricular mass and body mass of rats in different groups

Abbreviation the same as fig. 1. \*\*  $P < 0.01$  compared with sham group. #  $P < 0.01$  compared with 2K1C group

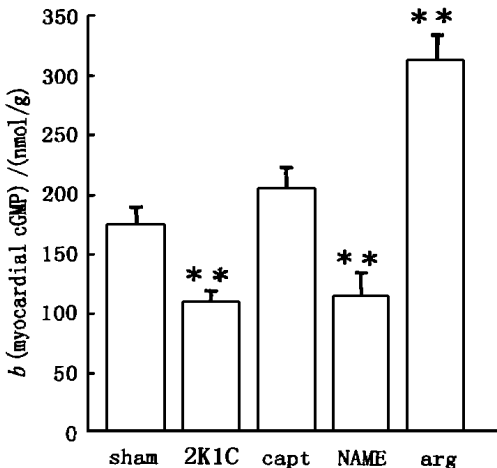


图 3 各组大鼠的左心室心肌 cGMP 质量摩尔浓度  
Fig. 3 Myocardial cGMP content of the left ventricle of rats in different groups

Abbreviation the same as fig. 1. \*\*  $P < 0.01$  compared with sham group. #  $P < 0.01$  compared with 2K1C group

### 3 讨论

我们观察到, 2K1C 大鼠, 动脉血压升高, 心肌肥厚, 心肌组织的 cGMP 含量(质量摩尔浓度)明显

下降。卡托普利可完全防止 2K1C 大鼠的血压升高和心肌肥厚, 可使心肌组织的 cGMP 含量明显升高; 长期口服 *L*-精氨酸可使 2K1C 大鼠的心肌组织 cGMP 含量明显升高, 心肌肥厚减轻, 但动脉血压无明显下降; 用 *L*-NAME 处理可使 2K1C 大鼠血压进一步升高, 心肌肥厚却不加重, 心肌组织 cGMP 含量也无进一步下降。这些结果提示, 心肌中 NO 可能有防止 2K1C 大鼠的心肌肥厚作用, 这种作用不依赖血压下降, 是通过增加心肌中的 cGMP 含量实现的。

越来越多的证据表明, 肾素-血管紧张素系统(RAS)不仅参与高血压的产生和维持, 而且还参与心肌肥厚的发生。Amal 等<sup>[3]</sup> 报告, 2K1C 肾性高血压大鼠是 RAS 依赖的。他们观察到, 2K1C 大鼠术后 4 周血压升高的同时有明显的左室心肌肥厚, 血浆肾素活性、心肌组织的血管紧张素转换酶(ACE)活性都明显升高。我们给 2K1C 大鼠 ACEI 卡托普利可防止 2K1C 大鼠血压升高和心肌肥厚, 这些结果与我们以前的工作是一致的<sup>[4]</sup>。ACEI 通过抑制 ACE, 减少血管紧张素 II 的生成, 防止缓激肽的分解, 增加缓激肽的浓度。血管紧张素 II 有明显促心肌肥厚和升压作用, 而缓激肽则有抑制心肌肥厚和降低血压的作用。卡托普利通过上述作用防止 2K1C 大鼠肾性高血压的发生和防止心肌肥厚<sup>[4]</sup>。但是, 本文无法确定在卡托普利抑制心肌肥厚反应中, 血压下降、血管紧张素 II 生成减少和缓激肽浓度增加各自起多大的作用, 这些问题正在探讨中。

心血管内皮细胞可生成和释放 NO, NO 在调节心血管活动中起重要作用<sup>[1]</sup>。但 NO 在心肌肥厚中的作用尚未肯定。有研究表明, 给大鼠长期口服 NOS 抑制剂 *L*-NAME 可使血压明显升高而无明显的心肌肥厚<sup>[3]</sup>。Harding 等<sup>[9]</sup> 报告, 无论是白介素-1 $\beta$  诱导的还是外源加入的 NO 都不能抑制培养新生大鼠心肌细胞基础的或苯肾上腺素诱导的心肌蛋白质合成增加。但我们在培养新生大鼠心肌细胞实验中证实, *L*-精氨酸可抑制血管紧张素 II 诱导的心肌肥厚反应<sup>[7]</sup>。Matsuoka 等人<sup>[2]</sup> 报告, 长期口服 *L*-精氨酸可减弱 SHR 的心肌肥厚, 而血压无明显改变, 并证明这种作用是通过心脏 *L*-精氨酸-NO 途径介导的。我们首次观察到, 2K1C 肾性高血压大鼠长期口服 *L*-精氨酸虽不能改变高血压的水平, 但可减轻心肌肥厚。这些结果与 SHR 上观察到的结果是一致的<sup>[2]</sup>, 提示心肌细胞生成的 NO 可能有抗心肌肥厚

作用。研究证明,除心血管内皮细胞生成NO以外,心肌细胞本身也含有NOS,它可在血流应力、缓激肽和乙酰胆碱等的作用下激活,催化L-精氨酸生成NO<sup>[8]</sup>。NO通过激活鸟苷酸环化酶使cGMP生成增加,我们检测到2K1C肾性高血压大鼠心脏的cGMP水平明显低于假手术组,而长期口服L-精氨酸后,cGMP水平显著升高,cGMP有明显抑制心肌肥厚作用。这些结果从另一个角度说明L-精氨酸可能增加2K1C肾性高血压大鼠心脏NO的生成。我们推测,2K1C肾性高血压大鼠的心脏,L-精氨酸-NO途径可能受损,NO生成减少,导致cGMP含量减少和心肌肥厚。长期补充L-精氨酸,增加NOS的底物,从而增加NO和cGMP的生成。此外,我们还观察到,口服ACEI卡托普利的2K1C肾性高血压大鼠,心脏的cGMP含量明显升高,提示ACEI防止2K1C肾性高血压大鼠的心肌肥厚可能与缓激肽分解减少、从而刺激内皮细胞增加NO生成有关。至于长期口服L-精氨酸不影响2K1C大鼠的高血压水平,其机制未明。我们观察到,长期服用L-精氨酸的2K1C肾性高血压的大鼠动脉壁的cGMP含量虽比2K1C肾性高血压大鼠高,但未恢复到假手术组大鼠的水平(待发表)。这说明有其他代偿机制维持高血压水平。

## 参 考 文 献

- 1 Dominiczak A F, Borhr D F. Nitric oxide and its putative role in hypertension. *Hypertension*, 1995, 25: 1202
- 2 Matsuoka H, Nakata M, Kohno K. Chronic L-arginine administration attenuates cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 1996, 27: 14
- 3 Lever A F, Lyall F, Morton J J. Angiotensin II, vascular structure and blood pressure. *Kidney Int*, 1992, 41: S51
- 4 郑辉,潘敬运,李洪义,等.大鼠肾性高血压发生过程中 $\alpha$ 和 $\beta$ 肌球蛋白的重链基因表达的变化. *生理学报*, 1997, 49: 344
- 5 Amal J F, Amrani A I, Chatellier G, *et al*. Cardiac weight in hypertension induced by nitric oxide synthase blockade. *Hypertension*, 1993, 22: 380
- 6 Harding P, Carretero O A, Pointe M C. Effects of interleukin-1 $\beta$  and nitric oxide on cardiac myocytes. *Hypertension*, 1995, 25: 421
- 7 王庭槐,吴滨,潘敬运.左旋精氨酸抑制血管紧张素II诱导培养心肌细胞的肥大反应. *生理学通报(广东)*, 1996, 13: 9
- 8 Kitakaze M, Node K, Komamura K, *et al*. Evidence for nitric oxide generation in the cardiomyocytes; its augmentation by hypoxia. *J Mol Cell Cardio*, 1995, 27: 2149

(1998-10-26收稿 1999-01-17修回)

(上接第106页)

- 3 Knowles R G, Salte M, Brooks S L, *et al*. Anti-inflammatory glucocorticoids inhibit the induction by endotoxin of nitric oxide synthase in the lung, liver and aorta of the rat. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 172(3): 1042
- 4 Verdon C P, Buntun B A, Prior R L. Sample pretreatment with nitrate reductase and glucose-6-phosphate dehydrogenase quantitatively reduces nitrate while avoiding interference by NADP<sup>+</sup> when the Griess reaction is used to assay for nitrite. *Anal Biochem*, 1995, 224: 502
- 5 Noda Y, Yamada K, Nabeshima T. Role of nitric oxide in the effect of aging on spatial memory in rats. *Behav Brain Res*, 1997, 83(1-2): 153
- 6 Unger J W, Lange W. NADPH-diaphorase-positive cell population in the human amygdala and temporal cortex; neuroanatomy, peptidergic characteristics and aspects of aging and Alzheimer's disease. *Acta Neurophathol Berl*, 1992, 83(67): 636
- 7 Strolin B M, Dostert P, mariani P, *et al*. Effect of aging on
- 1 tissue levels of amino acids involved in the nitric oxide pathway in rat brain. *J Neural Transm Gen Sect*, 1993, 94(1): 21
- 8 Mollace V, Rodino P, Massoud R, *et al*. Aged-dependent changes of NO synthase activity in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 215(3): 822
- 9 Bohme G A, Bon C, Lemaire M, *et al*. Altered synaptic plasticity and memory formation in nitric oxide synthase inhibitor treated rats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 9191
- 10 Shibiki K, Okada D. Endogenous nitric oxide release required for long-term synaptic depression in the cerebellum. *Nature*, 1991, 349: 326
- 11 Ingram D K, Spangler E L, Jilka S, *et al*. Rodent model of memory dysfunction in Alzheimer's disease and normal aging: moving beyond the cholinergic hypothesis. *Life Sci*, 1994, 55: 2037

(1998-07-05收稿 1999-01-13修回)