

BQ123抑制低温诱发肺动脉高压肉鸡的肺小动脉肌型化*

范春艳¹, 宋金祥¹, 乔健^{2*}, 刘文菊², 王慧煜², 王建琳², 邹素梅²

(1.河北工程大学农学院, 河北邯郸 056021;

2.中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

摘要: 本试验用高选择性内皮素A受体拮抗剂BQ123处理低温肉鸡的方法, 通过动态观察肺动脉压及肌型、部分肌型及非肌型肺小动脉数量的变化, 探讨内源性内皮素在肺血管重塑中的作用。结果显示: 30日龄时, 低温组平均肺动脉压极显著高于常温组、低BQ123组及高BQ123组($P<0.01$); 低温组肌型及部分肌型肺小动脉的占位比均极显著高于常温组、低BQ123组及高BQ123组($P<0.01$); 低温组非肌型肺小动脉占位比极显著低于常温组、低BQ123组和高BQ123组($P<0.01$), 高BQ123组显著高于低BQ123组($P<0.05$)。结果表明, BQ123可明显抑制低温肉鸡肺动脉高压和非肌型肺小动脉的肌型化的发生发展, 因此认为内源性ET在低温诱发肺动脉高压肉鸡肺血管重塑的发生发展过程中起重要作用。

关键词: 肉鸡; 肺动脉高压; 肺血管重塑; BQ123; 内皮素

BQ123 Inhibited The Muscularization of Nonmuscular Pulmonary Artery Induced by Low Ambient Temperature in Broiler*

Fan Chunyan¹, Song Jinxiang¹, Qiao Jian^{2*}, Liu Wenju², Wang Huiyu², Wang Jianlin², Zou Sumei²

(1.College of Agriculture, Hebei Engineering University, Handan, Hebei 056021;

2.College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract: BQ123, a selective endothelin(ET) A-receptor antagonist, was used to treat broilers. This study investigated the effects of ET on the muscularization of nonmuscular pulmonary artery in pulmonary hypertension(PH) induced by low ambient temperature. The results showed as follows: the mPAP of low temperature group (LT) was obviously higher than that of control group(CG), low BQ123 group(LBQ123) and high BQ123 group(HBQ123) ($P<0.01$) at 30 days age; MA% and PMA% of LT were obviously greater than that of CG, HBQ123 and LBQ123($P<0.01$) at 30 days age; NMA% of LT were obviously smaller than that of CG, LBQ123 and HBQ123 ($P<0.01$) at 30 days age. It was concluded that BQ123 could significantly inhibit the muscularization of nonmuscular pulmonary artery induced by low ambient temperature in broilers. Therefore ET played an important role in the development of the muscularization of nonmuscular pulmonary artery of PH broilers induced by low ambient temperature.

Key words: broiler; pulmonary hypertension; pulmonary vascular structural remodeling; BQ123; endothelin

收稿日期: 2006-09-01

修回日期: 2006-12-01

* 国家自然科学基金项目(30070567, 30371063)

** 通讯作者

早在 1993 年 Julian 就提出缺氧性肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是各种原因引起肉鸡腹水综合征(ascites syndrome, AS)的中心环节。董世山^[1,2]等利用右心导管法直接测定肉鸡的肺动脉压,同样证明了 PH 和右心肥大是 AS 形成和发展的中心环节。PH 是一种重要的渐进性疾病,以肺血管阻力增加、肺血管重塑和渐进性右心肥厚为特征。肺血管重塑的主要特征是肺动脉中膜因平滑肌增生而肥厚、非肌性肺小动脉肌化增强及肺小血管数增多。肺血管重塑在 AS 的发生发展过程中也起重要作用^[3,4]。

内皮素(endothelin, ET)是 1988 年由 Yanagisawa 等发现的由 21 个氨基酸残基组成的具有多种生物活性的肽类物质。目前已知 ET 受体有 3 种:ETA、ETB 和 ETC。ET-1 主要是通过 ETA 受体结合而激活胞浆丝裂素蛋白微酶系统^[5],促使血管平滑肌细胞、心肌细胞、成纤维细胞中的 DNA 合成,诱导蛋白合成,引起细胞的增生、肥厚。杨鹰^[6]等的研究表明,高选择性 ETA 受体拮抗剂 BQ123 对低温诱发肉鸡 PH 的发生发展起到预防作用。范春艳^[4]等研究表明,BQ123 能明显抑制低温诱发肉鸡 PH 的发生发展和肺血管中膜肥厚。但 BQ123 是否能抑制低温诱发 PH 肉鸡的非肌型肺小动脉的肌型化,目前还未见有关报道。

本研究采用 BQ123 预处理低温肉鸡,通过动态观察其肺动脉压的变化和肌型、部分肌型及非肌型肺小动脉数量的变化,探讨 BQ123 对低温诱发 PH 肉鸡非肌型肺小动脉肌型化程度的影响,进一步探讨内源性 ET 在 PH 肉鸡肺血管重塑中的作用,为 AS 的机理研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物分组与处理

200 只 1 日龄 AA 肉鸡(来源于北京华都肉鸡场),15 日龄前常温常规笼养,15 日龄全部改为地面平养,16 日龄时随机均分为 4 组:常温对照组、低温组、低 BQ123 组、高 BQ123 组。常温对照组舍内温度控制在 20℃ 左右,且每日腹腔注射 2 次生理盐水,剂量为 0.5 mL/次;其他三组按照每日降低 2~3℃ 的标准使舍温下降到 7~9℃ 左右并保持此温度。同时,低温组每日腹腔注射 2 次生理盐水,剂量为 0.5 mL/次;低 BQ123 组及高

BQ123 组每日腹腔注射 2 次 BQ123(来源于 America peninsula lab),剂量分别为 0.4 μg/次和 2.0 μg/次,均用生理盐水稀释为 0.5 mL。饲养至 23、30 日龄时,进行各项的测定。

1.2 测定项目和方法

1.2.1 肺动脉压的测定

采用右心导管法^[2]测定肉鸡的肺动脉压。每羽肉鸡用 5%盐酸普鲁卡因在右侧颈中部做皮下浸润麻醉后,仰卧保定,从右侧颈静脉插入外径为 0.9 mm 的右心导管(中国医学科学院基础研究所生理室提供),360 型生理多导仪(日本三荣公司生产)测定肺动脉压,读取其收缩压值及舒张压值,计算其平均肺动脉压(mPAP)值。

1.2.2 各型肺小动脉占位比的测定

参考 Widimsky(1990)等和宋为等(1993)介绍的哺乳动物肺小动脉的分型方法,对肉鸡肺小动脉进行如下的分型:肌型动脉(The muscular artery, MA):血管具有完整的内外两层弹力板及完整的平滑肌层。部分肌型动脉(The partially muscular artery, PMA):在完整的外弹力板内侧又出现一不完整的内弹力板,且平滑肌层也不完整。非肌型动脉(The nonmuscular artery, NMA):仅有一层外弹力板,且无明显的平滑肌层(图 1, 2, 3)。

在安装有接目网格测微器的光镜(物镜为 10×)下,选择截面为圆形和椭圆形的肺小动脉,计数 200 μm 范围内的 MA、PMA 及 NMA 数和血管总数,计算其占位比例(占位比=各型血管数/血管总数×100%)。每张切片记数 10 个视野。

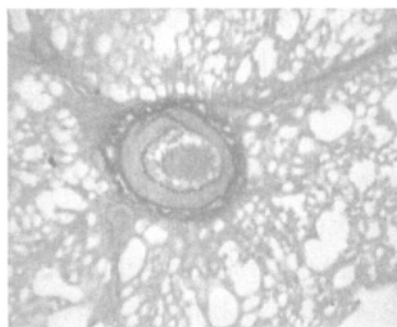


图 1 肌型肺小动脉,有完整的内外两层弹力膜和完整的平滑肌层。(Weigert-间苯二酚复红染色,40×,下同)

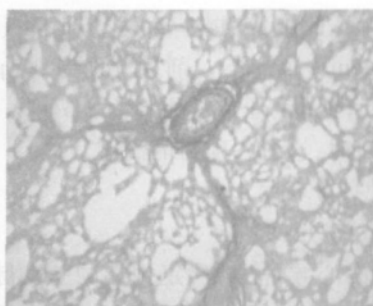


图2 部分肌型肺小动脉,有完整的外弹力膜,内弹力膜不完整,平滑肌层不完整。

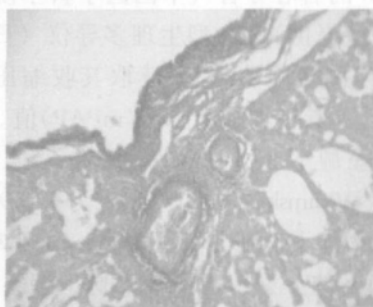


图3 非肌型肺小动脉,仅有一层外弹力膜,没有内弹力膜,也没有平滑肌层。

1.3 统计学处理

实验结果以平均数 \pm 标准差($\bar{X} \pm SD$)表示,用

SPSS V10.0 统计软件进行组间差异显著性统计分析。

2 结果

2.1 BQ123对低温肉鸡平均肺动脉压(mPAP)的影响(见表1)

表1 各组肉鸡的平均肺动脉压(mPAP)的变化

日龄	常温对照组(kPa)	低温组(kPa)	低BQ123组(kPa)	高BQ123组(kPa)
23	1.804 \pm 0.23	2.886 \pm 0.90**	2.664 \pm 0.31*	2.078 \pm 0.6 ^{##}
30	1.770 \pm 0.34	3.700 \pm 0.44**	2.576 \pm 0.56* ^{##}	2.356 \pm 0.96* ^{##}

注: *及**表示与常温对照组相比差异显著($P < 0.05$)及极显著($P < 0.01$); #及##表示与低温组相比差异显著($P < 0.05$)及极显著($P < 0.01$)。下同。

23、30日龄时,低温组比常温对照组显著升高($P < 0.01$),低BQ123组比常温对照组升高($P < 0.05$)。23日龄时,高BQ123组较低温组降低($P < 0.05$); 30日龄时低BQ123组、高BQ123组明显低于低温组($P < 0.01$)。

2.2 BQ123对低温肉鸡肺小动脉肌化程度的影响(见表2)

表2 肌型、部分肌型及非肌型化肺小动脉占位比

项目	日龄	常温对照组(%)	低温组(%)	低BQ123组(%)	高BQ123组(%)
MA%	23	9.49 \pm 2.23	20.50 \pm 4.80**	17.63 \pm 3.62**	11.91 \pm 1.10 ^{##}
	30	8.75 \pm 5.76	23.34 \pm 1.60**	15.80 \pm 2.61* ^{##}	13.22 \pm 5.46 ^{##}
PMA%	23	19.73 \pm 1.77	31.20 \pm 1.59**	24.76 \pm 3.45* ^{##}	20.44 \pm 3.56 ^{##}
	30	20.79 \pm 3.57	31.55 \pm 1.32**	26.81 \pm 7.20* ^{##}	22.32 \pm 2.88 ^{##} Δ
NMA%	23	70.78 \pm 2.57	48.30 \pm 4.80**	57.61 \pm 6.67* ^{##}	67.65 \pm 4.51 ^{##} Δ
	30	70.47 \pm 6.10	45.11 \pm 8.47**	57.39 \pm 2.62* ^{##}	64.46 \pm 8.08 ^{##} Δ

注: Δ 和 $\Delta\Delta$ 表示与低BQ123组相比差异显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 环境低温诱发了肉鸡非肌型肺小动脉的肌化

非肌型肺小动脉的肌化是肺血管重塑的重要特征之一。缺氧时,部分肌型动脉和非肌型动脉管壁中的中间型细胞和周细胞可转化为平滑肌细胞而分化增殖,是阻力血管段延长、肺血管壁增厚、肺血管阻力增大的重要因素之一。熊密^[7]等的研究表明,低氧处理14天后的大鼠,无肌型肺小动脉比例明显减少,肌型肺小动脉和部分肌型肺小动脉明显增多。向瑞平^[3]等的研究表明,自然发生AS肉鸡的肺细小动脉发生了肌化现象,主要表现为部分肌型动脉和非肌型动脉的肌化。张建军^[8]等研究表明,

低温诱发AS的发生发展过程中发生了非肌型肺小动脉的肌化现象。本试验中,低温组的mPAP极显著高于常温对照组,说明环境低温成功地诱发了肉鸡的PH,同时发现低温组肺小动脉的MA%和PMA%均极显著高于常温对照组($P < 0.01$)(见表2),NMA%极显著低于常温对照组($P < 0.01$),表明低温诱发肉鸡PH的发生发展过程中发生了非肌型肺小动脉的肌化现象,与以往的研究一致。

3.2 BQ123抑制低温诱发肉鸡非肌型肺小动脉的肌化

BQ123作为一种高选择性ETA受体拮抗剂,可有效预防低氧所致大鼠的PH^[9],同样也可

有效预防低温诱发肉鸡的 PH^[6]。本试验中, 30 日龄时低 BQ123 组和高 BQ123 组的 mPAP 均极显著低于低温组 ($P < 0.01$), 说明 BQ123 抑制了低温诱发肉鸡 PH 的发生发展。

BQ123 可预防低氧所致 PH 大鼠的肺血管重塑和右心室肥厚^[9], 也可显著抑制低温诱发肉鸡肺血管中膜的肥厚, 在低温诱发肉鸡 PH 和肺血管重塑中起重要的阻断作用^[4]。本试验中, 在 23、30 日龄时, 高 BQ123 组的 MA%及 PMA%极显著低于低温组 ($P < 0.01$), 低、高 BQ123 组 NMA%极显著高于低温组 ($P < 0.01$), 说明 BQ123 显著抑制了低温诱发肉鸡的非肌型肺小动脉的肌型化, 同时, 在 30 日龄时, 高 BQ123 组的 PMA%极显著低于低 BQ123 组 ($P < 0.01$), 高 BQ123 组 NMA%显著高于低 BQ123 组 ($P < 0.05$) (见表 2), 表明, BQ123 呈剂量依赖性地抑制了低温诱发肉鸡的非肌型肺小动脉向肌型肺小动脉的转化。因此, BQ123 通过抑制低温诱发肉鸡非肌型肺小动脉的肌化抑制了其肺血管重塑的发生发展。

3.3 内源性 ET 在低温诱发肉鸡肺血管重塑和肺动脉高压的形成和发展过程中的作用

人类的医学研究表明^[10,11], ET-1 以自分泌和旁分泌的方式不仅对肺血管具有强大的收缩作用, 而且通过与 ETA 受体结合, 对肺血管平滑肌细胞和周细胞均具有强烈的促增殖作用, 同时, 可诱导细胞外基质蛋白形成及纤维素增生。ET-1 在低温诱发肉鸡 PH 的发生发展过程中发挥着重要的作用^[6]。BQ123 显著抑制低温诱发肉鸡 PH 发生发展的同时抑制了肺血管中膜的肥厚^[4]。本试验结果表

明, BQ123 显著地抑制低温诱发肉鸡 PH 的形成和发展, 同时显著抑制了非肌型肺小动脉的肌型化。因此推测, 内源性 ET-1 在低温诱发肉鸡 PH 和肺血管重塑的发生发展过程中起着重要的促进作用。

参考文献:

- 1 乔健, 董世山, 乔惠理等. 右心导管法直接测定肉鸡肺动脉压[J]. 中国农业大学学报, 1998, 3(3): 117-118.
- 2 董世山, 乔健, 栗绍文等. 肺动脉高压在肉鸡腹水综合征发病过程中的作用[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(4): 325-330.
- 3 向瑞平, 王小龙, 王金勇等. 肉鸡肺动脉高压综合征自然病例肺微细动脉肌型化的观察[J]. 南京农业大学学报, 2001, 24(1): 85-88.
- 4 范春艳, 乔健, 赵立红等. BQ123 对低温诱发的肉鸡肺血管重塑的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(6): 606-611.
- 5 李田昌, 佟利家, 庞永正等. 丝裂素活化蛋白激酶参与内皮素刺激的兔主动脉平滑肌细胞增生[J]. 生理学报, 1996, 48(4): 337-342.
- 6 杨鹰, 武振龙, 张建军等. 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[J]. 中国农业大学学报, 2005, 10(3): 52-55.
- 7 熊密, 张燕, 车东媛等. 肺血管周细胞增生分化与慢性肺动脉高压发生的关系[J]. 同济医科大学学报, 1999, 28(5): 370-374.
- 8 张建军. 钙拮抗剂对低温诱发肉鸡腹水综合征患鸡肺血管重塑的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
- 9 程德云, 陈文彬. 内皮素受体拮抗剂预防低氧性肺动脉高压的实验研究[J]. 中华内科杂志, 1999, 38(9): 631-632.
- 10 Lucher T F, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs[J]. Circulation, 2000, 102: 2434-2440.
- 11 Jozef L, Khreis T, Fournier A et al. Extracellular signal-regulated kinase plays an essential role in endothelin-1-induced homotypic adhesion of human neutrophil granulocytes[J]. Br J Pharmacol, 2002, 135: 1167-1174.

(上接第 14 页)

- 5 Govaerts T, Room G, Buyse J et al. Early and temporary quantitative food restriction of broiler chickens 2 Effects on allometric growth and growth hormone secretion[J]. Br Poult Sci, 2000, 41(3): 355-362.
- 6 Palo P E, Sell J L. Effect of early nutrient restriction on broiler chickens[J]. Poult Sci, 1995, 74: 88-101.
- 7 Ballay M, Dunnington E A, Gross W B, et al. Restricted feeding and broiler performance: age at initiation and length of restriction. Poult Sci, 1992, 71(3): 440-447.
- 8 Fontana E A, Weaver W D Jr, Watkins B A, et al. Effect of early feed restriction on growth, feed conversion, and mortality in broiler chickens Poult Sci, 1992, 71(8): 1296-1305.

- 9 McMurtry J P, Flanik I, Rossbrough R W, et al. Effect of early feed restriction in male broiler chicks on plasma metabolic hormones during feed restriction and accelerated growth[J]. Comp Biochem Physiol A, 1988, 91(1): 67-70.
- 10 Rossbrough R W, Steele N C, McMurtry J et al. Effect of early feed restriction in broilers[J]. Lipid Metabolism, 1986, 50: 217-227.
- 11 Lippens M, Room G, De Groote G, et al. Early and temporary quantitative food restriction of broiler chickens 1. Effects on performance characteristics mortality and meat quality[J]. Br Poult Sci, 2000, 41(3): 343-354.
- 12 Zubair A K, Leeson S. Effect of early feed restriction and re-implantation on heat production and changes in sizes of digestive organs of male broilers[J]. Poult Sci, 1994, 73(4): 529-538.