

# 氯沙坦对主动脉狭窄大鼠血清 $\beta_1$ 肾上腺素受体与 $M_2$ 毒蕈碱受体自身抗体产生的影响

支建明\*, 范爱兰, 赵录英, 武恒, 赵荣瑞

(山西医科大学生理学教研室, 山西太原 030001)

**摘要** 采用缩窄主动脉复制心功能不全大鼠模型动态观察(10周)氯沙坦(术后第2周开始  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , ig, 连续8周)治疗对模型大鼠血清  $\beta_1$  肾上腺素受体( $\beta_1$ 受体)与  $M_2$  毒蕈碱受体( $M_2$ 受体)自身抗体产生的影响。结果表明, 缩窄主动脉组血清中两种受体自身抗体从术后1周起阳性率, 滴度逐渐升高; 给予氯沙坦治疗不仅可抑制模型大鼠心脏功能和结构的改变, 而且使两种血清受体自身抗体的阳性率和滴度明显降低。结果提示氯沙坦有抑制心脏  $\beta_1$  与  $M_2$  受体自身抗体产生作用。

**关键词** 氯沙坦; 心脏肥厚; 自身抗体; 受体; 肾上腺素,  $\beta$ ; 受体, 毒蕈碱性

中图分类号: R962

文献标识码: A

文章编号: 1000-300X(2001)03-0191-03

氯沙坦(losartan)是一种非肽类血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)受体 ( $AT_1$ )拮抗剂, 它能抑制 Ang II 诱导的蛋白质和 DNA 合成增加及心肌肥厚效应。在主动脉狭窄所致心脏肥大, 氯沙坦能预防和逆转心肌肥大, 抑制心肌肌球蛋白重链的基因表达, 逆转其 ATP 同工酶谱的变化, 从而缩小心肌, 改善心肌收缩功能<sup>[1]</sup>。我室以前的研究结果证明心脏结构与功能的变化与  $\beta_1$  肾上腺素受体( $\beta_1$ 受体)和  $M_2$  毒蕈碱受体( $M_2$ 受体)自身抗体产生之间有密切关系<sup>[2~4]</sup>。氯沙坦可抑制心功能不全时心肌结构

的改变, 对两种受体自身抗体的产生有无影响尚不清楚, 因此本实验旨在观察氯沙坦对主动脉缩窄导致心脏扩大和心功能不全的大鼠模型血清中两种受体自身抗体的影响, 进一步阐明两种受体自身抗体的产生是否与心肌结构和功能的改变有关。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物分组及药品

氯沙坦由美国 DuPont Merck 制药有限公司馈赠。14 周龄健康 Wistar 大鼠 30 只为本校实验动物中心提供, 雌雄不拘, 体重 200~240 g。大鼠随机分为 3 组: 模型组( $n=11$ ), 按照文献 5 报道的方法, 在右肾动脉上 0.5 cm 处对大鼠进行主动脉狭窄术。模型 + 氯沙坦治疗组( $n=11$ ), 参照文献 6 报道的剂量( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )用蒸馏水配成水溶液, 狭窄术后第 2 周起每日上午 8:00 用灌胃器喂药, 持续 8 周, 停药 1 周后进行各指标检测。正常对照组( $n=8$ )除不缩窄主动脉外, 其余处理同模型组。

### 1.2 大鼠在体心功能测定和心脏形态结构的观测

术后 10 周, 麻醉大鼠, 一塑料软管一端经右侧颈总动脉插入左心室, 另一端连于 MS302 计算机生物信号分析系统(广东药学院)测定颈总动脉压, 左室收缩压; 另一塑料软管经颈总静脉插至右心房, 测定右心房内压, 即中心静脉压。心功能测定完毕取出全心脏, 生理盐水冲洗后称其重量。然后置于 10% 甲醛溶液固定后, 取心室纵轴最宽处行冠状切片, 用 MIAS-300 图像分析仪测量心脏室间隔厚度, 左心室壁厚度, 左心室内径和左心室面积。并作光镜切片。

### 1.3 $\beta_1$ 与 $M_2$ 受体自身抗体的测定

术前及术后每周经内眦静脉采血 1 次, 分离血清,  $-70^\circ\text{C}$  保存, 待测两种受体自身抗体。  $\beta_1$  与  $M_2$  受体功能多肽分别按照人  $\beta_1$  受体及  $M_2$  受体细胞外第二环功能肽段序列(分别为 197~222 及 169~193

收稿日期: 1999-11-29 接受日期: 2000-12-05

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(981063)

作者简介: 支建明(1965-), 男, 山西省闻喜人, 讲师, 博士, 主要从事心血管受体研究; 赵荣瑞(1931-), 男, 满族, 辽宁省沈阳市人, 教授, 博士生导师, 主要从事心血管生理学与病理生理学研究。

\* 联系作者。Tel: (0351) 4135007, Fax: (0351) 4083014,

E-mail: zhzhizhi@263.net

氨基酸残基,即 HWWRAESDEARRCYNDPKCCDF-VTNR 和 VRTVEDGECYIQFFENA AVTFGTAIC }<sup>31</sup>,由中国科学院上海生物化学研究所合成两种抗原多肽. 采用酶联免疫吸附法进行血清学检测受体自身抗体滴度<sup>71</sup>. 以  $P/N \geq 2.1$  判定为抗体阳性.

### 1.4 统计学分析

抗体滴度以几何均数 ± 标准差 ( $G \pm s$ ) 表示,其余数值以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示. 统计分析采用配伍组方差分析加  $q'$  检验以及成组  $t$  检验.

## 2 结果

### 2.1 大鼠心功能和心脏形态学的变化

与正常对照组比,模型组大鼠术后 10 周颈总动脉压力( $15.8 \pm 2.1$ )vs( $9.9 \pm 1.5$ )kPa)和左心室舒张末压( $16.4 \pm 3.6$ )vs( $10.6 \pm 1.8$ )kPa)明显降低,左心室内压最大变化速率降低,中心静脉压则明显增高( $0.15 \pm 0.03$ )vs( $0.30 \pm 0.03$ )kPa),提示心脏发生了充血性心衰,搏出量减少,静脉回流受阻. 而狭窄术后 1 周给予氯沙坦  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  连续 8 周治疗,使各项指标恢复至正常水平.

与正常对照组比,模型组大鼠术后 10 周心重/体重明显增高,室间隔( $2.7 \pm 0.4$ )vs( $3.1 \pm 0.4$ )mm),左心室内径( $3.3 \pm 0.7$ )vs( $5.1 \pm 0.6$ )mm)和左心室面积( $21 \pm 4$ )vs( $44 \pm 90$ )mm<sup>2</sup>)明显增大,而心室壁厚度则明显变薄( $3.51 \pm 0.22$ )vs( $2.44 \pm 0.36$ )mm)均  $P < 0.05$ . 表现为充血性心衰的大体病理学特征. 光镜结果显示心肌部分细胞发生空泡样变性,坏死,核崩解,坏死局部有炎性细胞浸润,病变广泛侵及左心室及室间隔,氯沙坦治疗组除心肌细胞和胶原纤维发生轻微增生外,未见其他表现.

### 2.2 血清中自身抗体检测结果

各组均有 1 只大鼠术前血清中  $\beta_1$  与  $M_2$  受体自身抗体呈阳性. 模型组血清中两种受体自身抗体阳性率自术后 1 周起明显增高,1~10 周  $\beta_1$  受体自身抗体阳性动物数分别为 5,9,9,10,9,8,8,7,7,7,第 2 周时阳性大鼠的  $\beta_1$  受体自身抗体平均滴度为 64.7 ( $n=9$ ),第 4 周时最高,达到  $184 \pm 3$  ( $n=10$ ,其中最高的达 1280),第 10 周时稍有下降,但仍保持在  $167 \pm 3$  ( $n=7$ ).  $M_2$  受体自身抗体阳性动物数在 1~10 周分别为 4,5,5,9,10,10,9,8,8,8. 术后 1 周时有 4 只大鼠的  $M_2$  受体自身抗体为阳性,抗体平均滴度  $113 \pm 2$ ,6 周时有 10 只大鼠为阳性,平均滴度最

高,达到  $139 \pm 4$  ( $n=10$ ,其中最高的达 1280),以后维持在这一水平,10 周时与 6 周时基本相等. 氯沙坦治疗组有 2~3 只大鼠在 2~6 周时血清中两种受体自身抗体呈阳性,其滴度明显低于模型组 ( $P < 0.05$ ). 阳性大鼠的  $\beta_1$  受体自身抗体滴度 2 周时为 80 和 80,3 周为 80 和 160,4 周为  $101 \pm 2$  ( $n=3$ ),5 周为  $127 \pm 2$  ( $n=3$ ),6 周为 80 和 160; $M_2$  受体自身抗体滴度 3 周时为 80 和 160,4 周为 80 和 160,5 周为 160 和 160,6 周为 80 和 160.

## 3 讨论

临床检测高血压性心脏病患者发现,伴有心脏结构和功能变化者,其血清中抗  $\beta_1$  与抗  $M_2$  受体自身抗体的滴度要明显高于不伴有心脏结构和功能变化者<sup>41</sup>,说明心功能不全和心脏扩大与血清中这两种自身抗体的产生可能有重要关系. Fu 等<sup>81</sup>证实这两种心脏受体的自身抗体能使培养的乳鼠心肌细胞产生变时效应, $\beta_1$  受体自身抗体产生正性变时效应,而  $M_2$  受体自身抗体产生负性变时效应,这些效应能够通过两种受体细胞外第二环的特异性肽段及抗大鼠 IgG 抗体孵育而消失. 在扩张性心肌病患者血清中  $\beta_1$  受体的自身抗体滴度要高于  $M_2$  受体的自身抗体滴度. 说明  $\beta_1$  受体自身抗体的正性变时效应在狭窄主动脉形成的心功能不全模型中起着重要的作用.

本实验采用缩窄腹主动脉法增大左心负荷引起心肌损害,造成明显的心脏扩大,心室壁变薄和心功能不全,心肌结构也发生了明显变化. 同时血清中两种受体的自身抗体阳性率与滴度均显著增高, $\beta_1$  受体自身抗体滴度略高于  $M_2$  受体自身抗体滴度,与 Fu 等的结果基本一致. 缩窄主动脉后 1 周给予氯沙坦  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ig 治疗 8 周,心功能和心肌结构未出现明显变化,血清中两种受体的自身抗体阳性率与滴度也显著下降,这证明心脏形态结构和功能异常变化时伴随两种受体自身抗体的产生.

氯沙坦是一种非肽类治疗高血压的药物,作用于  $AT_1$  受体,能抑制 Ang II 促进细胞生长的作用,有效地降低血压并延缓血管肥厚,逆转血管和心肌重构<sup>91</sup>. Wong 等<sup>61</sup>报道氯沙坦(Dup 753)  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  po 6 周,可明显降低两肾一夹肾血管性高血压大鼠血压. 本实验使用氯沙坦治疗剂量为  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  ig 8 周,从实验结果来看,该剂量既可防止

大鼠的高血压形成,心脏结构改变和心衰,又能抑制两种受体自身抗体产生。

#### 4 参考文献:

- [1] Fu ML, Hoebeke J, Matsui S, *et al.* Autoantibodies against cardiac G-protein-coupled receptors define different populations with cardiomyopathies but not with hypertension[ J ]. *Clin Immunol Immunopathol*, 1994, **72**(1):15-20.
- [2] Matsui S, Fu ML, Shimizu M, Fukuoka T, Teraoka K, Takekoshi N, *et al.* Dilated cardiomyopathy defines serum autoantibodies against G-protein-coupled cardiovascular receptor[ J ]. *Autoimmunity*, 1995, **21**(2):85-88.
- [3] 张麟,刘慧荣,赵荣瑞,张健,惠汝太,刘力生. 扩张型心肌病抗心肌  $\beta_1$  与  $M_2$  受体自身抗体的初步研究[ J ]. 中华心血管病杂志, 1998, **26**(1):15-17.
- [4] 张麟,张健,陶贞寅,宋艳丽,惠汝太,赵荣瑞,等. 高血压性心脏病抗 G-蛋白偶联  $\beta_1$  肾上腺素能受体与  $M_2$  胆碱能受体自身抗体的初步研究[ J ]. 中国高血压杂志, 1998, **6**(1):5-8.

- [5] 熊维生,陈修. 心脏压力超负荷心功能不全模型[ A ]. 见徐叔云,卞如濂,陈修,主编. 药理实验方法学[ M ]. 北京:人民卫生出版社,1981:960-961.
- [6] Wong PC, Price WA, Chiu AT, Duncia JV, Carini DJ, Wexler RR, *et al.* Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. IX. Antihypertensive activity in rats of DuP 753, an orally active antihypertensive agent[ J ]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1990, **252**(2):726-732.
- [7] Liu HR, Zhao RR, Zhi JM, Wu BW, Fu ML. Screening of serum autoantibodies to cardiac  $\beta_1$ -adrenoceptor and  $M_2$ -muscarinic acetylcholine receptor in 408 healthy subjects of varying ages[ J ]. *Autoimmunity*, 1999, **29**(1):43-51.
- [8] Fu ML, Gerd W, Ake H, Johan H. Agonist-like activity of anti-peptide antibodies directed against an autoimmune epitope on the heart muscarinic acetylcholine receptor[ J ]. *Receptors Channels*, 1994, **2**(2):121-130.
- [9] Murphy TJ, Alexander RW, Griendling KK, Runge MS, Bernstein KE. Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor[ J ]. *Nature*, 1991, **351**(6323):233-236.

## Effect of losartan on production of serum autoantibodies to cardiac $\beta_1$ and $M_2$ receptors in cardiac dysfunction rats

ZHI Jian-Ming, FAN Ai-Lan, ZHAO Lu-Ying, WU Heng, ZHAO Rong-Rui

( Department of Physiology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China )

**Abstract:** Cardiac dysfunction was produced in rats by narrowing aorta. The effects of losartan ( after operation 2 weeks to 9 weeks  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , ig ) on generation of cardiac  $\beta_1$ - and  $M_2$ -receptor autoantibodies in serum were observed during development of cardiac dysfunction in rats. The results showed that the frequencies and titers of both receptor autoantibodies after 1 week of narrowing aorta were significantly increased. The treatment with losartan not only inhibited cardiac structural and functional changes, but also the

frequencies and titers of both autoantibodies were significantly lower than narrowed aorta group. It is suggested that the losartan inhibit generation of the both receptor autoantibodies.

**Key words:** losartan; heart hypertrophy; autoantibodies; receptors, adrenergic, beta; receptors, muscarinic

**Foundation item:** The project supported by Natural Science Foundation of Shanxi Province( 981063 )

( 本文编辑 董立春 )