

β 受体激动剂对自发性高血压大鼠门脉平滑肌收缩和递质释放的作用

薛春生¹, T C WESTFALL, M J MELDRUM

(Dept Pharmacology, St Louis University School of Medicine, St Louis MO 63104, USA)

提要 以3种 β 受体激动剂对大鼠门脉平滑肌收缩张力和递质释放量的影响分别作为突触后和突触前 β 受体敏感性的指标。由剂量-反应曲线证明,自发性高血压大鼠门脉中突触后 β_2 受体的敏感性比血压正常的Wistar京都种大鼠显著降低。突触前 β 受体可能有 β_1 和 β_2 两个亚型。自发性高血压大鼠门脉中这两个亚型调节递质释放的功能未见明显变化。

关键词 肾上腺素能 β -受体增效剂; 异丙肾上腺素; 特普他林; 多巴酚丁胺; 门静脉; 血管平滑肌; 肌收缩; 近交SHR大鼠; 近交WKY大鼠

自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)的主动脉对异丙肾上腺素(Iso)的舒张反应减弱⁽¹⁾,这可能与突触后 β 受体数减少有关^(2,3)。作者等⁽⁴⁾曾用SHR尾动脉证明,场刺激所致内源性去甲肾上腺素(NE)的释放量比血压正常大鼠明显增加,此增加可能与突触前 α_2 受体的敏感性降低有关。也曾有人⁽⁵⁾推测突触前 β 受体受循环肾上腺素激动而使递质释放量增加,其敏感性增高,可能成为高血压病发病机理中的一个因素。但未见实验证明。

本文以SHR门脉为研究对象,除Iso外,并用选择性 β_1 和 β_2 受体激动剂,同时对突触前和突触后 β 受体的功能和分型进行了探讨。

材料和方法

实验用10wk龄的♂SHR,以同龄♂Wistar京都种大鼠(Wistar Kyoto rat, WKY)为对照。实验前1或2d用尾套体积描记法(tail-cuff plethysmograph)测定血压,取5次测定值之均数。18只SHR的血压为 $23.1 \pm SD$

2.1 kPa(174 ± 16 mmHg),17只WKY的血压为 16.6 ± 1.6 kPa(125 ± 12 mmHg)。

每次试验取SHR和WKY各一只,去头处死后迅速取出门脉,置于1.9 ml Krebs-Henseleit(K-H)缓冲液⁽⁶⁾中,通以95%O₂+5%CO₂,震荡保温30 min后,将门脉移至含185 kBq [³H]7-去甲肾上腺素([³H]NE,比活性为99.9 GBq/mmol)、终浓度为0.2 μ mol/L的K-H液中,再保温30 min。

然后将门脉标本悬吊于相距1 cm的两个环状白金电极之间。此电极置于特制的,以37°C温水回流保温的玻璃室内。门脉的一端以线系于张力换能器上,平滑肌的收缩活动经过放大描记于记录仪上。

门脉标本用K-H液经蠕动泵灌流,流速2 ml/min。灌流液中加desipramine 1 μ mol/L和metanephrine 80 μ mol/L分别阻断神经末梢和神经外组织对NE的再摄取。

冲洗30 min后,给予预刺激(2 Hz, 300脉冲),去除细胞外和神经外的放射性。然后再灌流30 min。正式刺激的参数为2 Hz,持续1 ms,超强电压,每次480脉冲。电脉冲的波形、强度和持续时间用EV-77双线示波器监测之。流出的灌流液用组分收集器连续收集,每3 min为一管,供测定[³H]NE用。以前本实验室曾证明,长时间灌流后留于组织内的所测的放射性物质大部分是[³H]NE。同时,场刺激所释放的放射性物质也大部分仍为[³H]NE。因此,此法仍可作为研究肾上腺素能神经元递质释放的指标。

β 受体激动剂以含摄取阻滞剂的缓冲液配成不同浓度,于每次刺激前15 min输入玻璃室内。两次刺激的间隔为30 min。

由每一收集管取 2 ml 标本, 加 10 ml triton 闪烁液 (triton cocktail, POPOP 4.5 g, PPO 165 g in toluene 20 L and triton 10 L). 用 Beckman LS 7500 液闪仪计数。

实验结束时, 取出门脉标本, 放在液闪测定用塑料瓶中, 加 0.5 “Soluene-350” (氢氧化季胺用甲苯配成 0.5 mol/L 溶液) 消化之, 加 10 ml 无 triton 闪烁液进行计数。

由所测得的 cpm 和 H 值, 换算成每管收集液的 dpm。以刺激前一管的 dpm 为“基本释放量”。刺激后 3 管的总释放量减去各管的基本释放量, 得该次刺激所致释放量 (stimulation-evoked release)。同时算出每次刺激开始时组织中总 dpm, 并进而算出每次刺激所致释放量所占组织总量的 % (%-fractional release), 再与加 β 受体激动剂前刺激所致释放量相比较, 算出其比例 (S_n/S_1 ratio), 作为药物效应的指标。

为记录血管平滑肌的张力, 先用砝码将记录仪的灵敏度调节至每 g 相当于 2 cm 的幅度。系好门脉标本, 将收缩基线调至 500 mg 左右。从收缩张力的峰值中减去此 500 mg, 即得当时的实际收缩张力。

所有资料以 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 按 t 测验法统计显著性。

结 果

Iso 对门脉收缩张力的作用 Iso 使 SHR 和 WKY 门脉自发性收缩的张力都降低, 这一抑制作用呈浓度依赖性。虽然加 Iso 前 WKY 门脉的收缩张力总是低于 SHR 门脉, 但差异不显著。在 Iso 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 和 1 $\mu\text{mol/L}$ 时, SHR 门脉的张力由给药前 428 ± 46 mg 分别降至 200 ± 72 mg 和 170 ± 52 mg, WKY 门脉的张力由 312 ± 123 mg 降至 16 ± 110 mg 和 20 ± 69 mg (图 1 A)。虽然给药前 SHR 门脉的张力总是高于 WKY 门脉, 但仍然可以看出 Iso 对 WKY 门脉有较强的松弛作用。

对于场刺激所致收缩, 加 Iso 前, 两种大鼠门脉的反应几乎是一致的(图 2 A)。但加

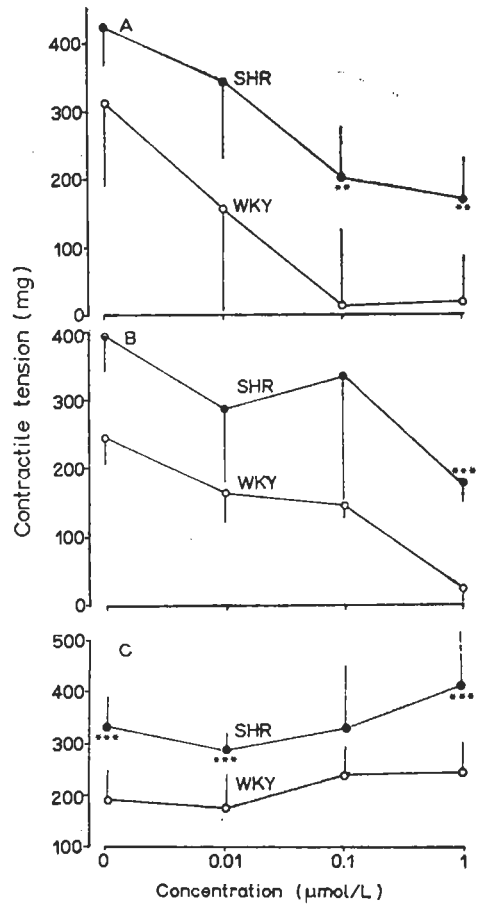


Fig 1. Effects of isoprenaline(A), terbutaline (B) and dobutamine (C) on the spontaneous contractility in portal vein. $\bar{x} \pm SD$ of 4-5 rats in each group. ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$ compared to corresponding WKY, the same in Fig 2

Iso 后两者对场刺激的反应则有显著差异。Iso 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 时, 已能抑制 WKY 门脉对场刺激的收缩反应, 此抑制作用随剂量增大而加强。对于 SHR 门脉, Iso 0.01 和 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 时, 不仅不抑制其对场刺激所致之收缩反应, 反使其收缩张力增大。即使在 1 $\mu\text{mol/L}$ 时, 也仅使场刺激所致收缩张力恢复到加 Iso 前的水平。两种大鼠门脉相比, 对 Iso 的反应有显著和非常显著的差异。

特布他林(terbutaline, Ter)对门脉收缩张力的作用 Ter 为选择性 β_2 受体激动剂。它对两种大鼠门脉自发性收缩的抑制作用与 Iso 基本相同(图 1 B)。对场刺激所致收缩的抑制作

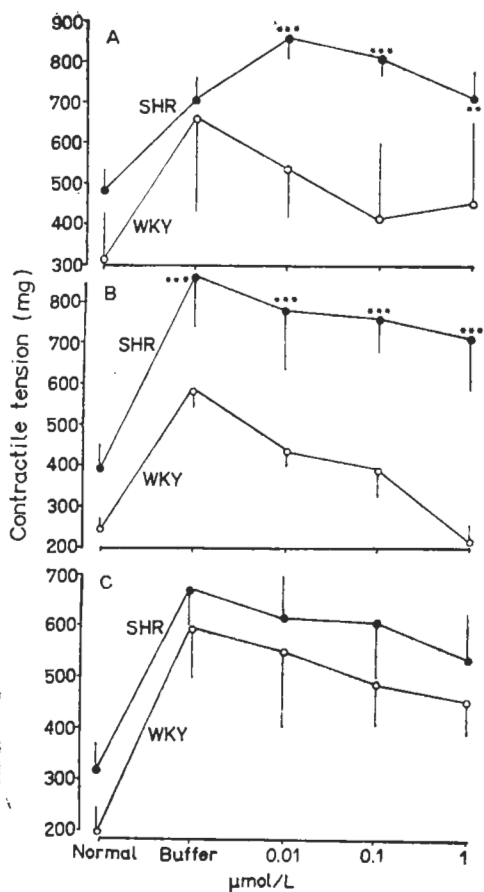


Fig 2. Effects of isoprenaline(A), terbutaline (B) and dobutamine (C) on the field-stimulation-induced contractility in portal vein.

用,以对WKY门脉为明显。其作用呈剂量依赖性。对SHR门脉虽然亦呈抑制作用,但弱得多。与其对Iso的反应不同,未见收缩张力增大现象(图2B)。

多巴酚丁胺(dobutamine, Dob)对门脉收缩张力的作用 Dob为选择性 β_1 受体激动剂,它对两种大鼠门脉自发性收缩的作用与Iso和Ter截然不同,不仅不降低其张力,反使其张力略增大,且呈剂量依赖性(图1C)。对场刺激所致收缩,两种大鼠门脉都只表现轻度的抑制作用,而且两者的剂量-反应曲线几乎完全是平行的(图2C)。

Iso, Dob和Ter对肾上腺素能神经末梢递质释放的影响 Iso在浓度为0.01, 0.1和1 $\mu\text{mol/L}$ 时,对WKY门脉场刺激所致 $[^3\text{H}]\text{NE}$

释放有明显的促进作用,从所测得的 S_n/S_0 ratio可知递质释放量比给药前分别增加76, 55和61%。对于SHR门脉,在上述浓度时,场刺激所致递质释放分别增加25, 21%和减少23%。

Ter浓度为0.01, 0.1和1 $\mu\text{mol/L}$ 时,对WKY门脉场刺激所致递质释放分别增加18, 17和23%。对于SHR门脉则分别增加6, 7和27%。

Dob的浓度为0.01, 0.1和1 $\mu\text{mol/L}$ 时,对WKY门脉场刺激所致递质释放分别增加19, 25和44%。与给Dob前相比,都有显著差异。对于SHR门脉,在上述浓度时其递质释放量比给药前分别增加29, 43和21%。

上述3种 β 受体激动剂用于两种大鼠门脉时,虽然SHR的释放反应常低于WKY,但相应各点之间并无显著差异。

讨 论

本文结果证明,非选择性 β 受体激动剂Iso对SHR门脉自发性收缩的舒张作用明显减弱(图1A)。此结果与Cohen等⁽¹⁾用SHR主动脉,以及Asano等⁽⁷⁾用SHR股动脉试验的结果是一致的。从Ter和Dob试验的结果可以看出,这主要是SHR门脉中突触后 β_2 受体敏感性降低所致(图1B),而与 β_1 受体无明显关系(图1C)。上述效应,在场刺激所致收缩条件下,可以看得更清楚(图2)。值得特别指出的是,Iso对WKY门脉场刺激所致收缩有明显的剂量依赖性抑制作用(图2A),而对SHR门脉,0.01和0.1 $\mu\text{mol/L}$ 时,反使场刺激所致收缩张力增大。Ter则无此现象(图2B),考虑到Iso亦有较弱的 α 受体激动作用,此结果反映SHR血管突触后 β 受体敏感性降低时, α 受体的敏感性相对升高。这可能是高血压病的发病机理之一。Limas等⁽²⁾曾证明,SHR主动脉和下腔静脉中 β 受体数减少。Magnoni等⁽³⁾用SHR脑微血管试验,亦获得同样结果。 β 受体减少,显然是 β 受体敏感性降低的生化基础。

Dob 作为一种选择性 β_1 受体激动剂, 对于两种大鼠门脉的场刺激所致收缩都只有轻度的抑制作用(图 2 C), 说明大鼠门脉中突触后 β 受体为较单纯的 β_2 型, β_1 受体在高血压病的发病中不具有重要作用。Dob 对两种大鼠门脉的自发性收缩却呈现增强作用(图 1 C)。对于 Dob 为何对场刺激所致收缩和自发性收缩的作用一为抑制, 一为增强, 尚不能作出适当的解释。

作者等⁽⁴⁾曾观察到 SHR 尾动脉中突触前 α_2 受体的敏感性降低, 并认为这可能是高血压病时交感神经末梢递质释放量增加的原因之一。本文以递质释放量为指标, 进一步探讨了 SHR 门脉中交感神经末梢突触前 β 受体的敏感性。在本文试验条件下, 未见 SHR 门脉对场刺激所致递质释放量比 WKY 门脉有明显增加。在不同浓度 β 激动剂的作用下, SHR 门脉的递质释放反应一般均略低于 WKY, 但两种大鼠的释放反应之间并无明显差异。此结果至少可以说明 SHR 门脉中突触前 β 受体的敏感性不高于 WKY。因此, 尚不能认为高血压病的发病与血管中交感末梢突触前 β 受体功能的变化有关, 未能证实 Stevens 等⁽⁵⁾的推测。

关于突触前 β 受体分型, 目前尚无定论。一般倾向于以 β_2 型为主。本文 Ter 增加递质释放量, 亦证明突触前膜上有 β_2 受体存在。但本文用 Dob 亦获得递质释放量明显增加的结果。如果考虑到对同一标本多次刺激时, 递质释放量将依次递减(原因不明), 则实际 Dob 促进释

放的作用更为明显。此结果提示突触前 β 受体亦有 β_1 型存在。可是 Dob 也有较弱的 β_2 受体激动作用。因此, 尚须进一步研究才能得出突触前膜上同时存在 β_1 和 β_2 两个亚型的结论。

参 考 文 献

- 1 Cohen ML, Berkowitz BA. Decreased vascular relaxation in hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 1976; 196 : 396
- 2 Limas CJ, Limas C. Decreased number of beta-adrenergic receptors in hypertensive vessels. *Biochim Biophys Acta* 1979; 582 : 533
- 3 Magnoni MS, Kobayashi H, Cazzaniga A, Izumi F, Spano PF, Trabucchi M. Hypertension reduces the number of beta-adrenergic receptors in rat brain microvessels. *Circulation* 1983; 67 : 610
- 4 Westfall TC, Meldrum MJ, Badino L, Xue C-S. Noradrenergic transmission in blood vessels; influence of hypertension and dietary sodium. In: Usdin E, Carlsson A, Dahlstrom A, Engel J, eds. *Catecholamines, Pt A: Basic and peripheral mechanisms*. 1st ed. NY: Alan R Liss, 1984 : 319-26
- 5 Stevens MJ, Rittinghausen RE, Medcalf RL, Woulds RFW. Prejunctional β -adrenoceptors in human digital arteries. *Eur J Pharmacol* 1982; 83 : 263
- 6 薛春生, Westfall TC, Meldrum MJ, Badino L. 低钠对血管紧张素促进大鼠门脉中肾上腺素能传递的影响. *重庆医学院学报* 1985; 10 : 87
- 7 Asano MS, Aoki K, Matsuda T. Reduced beta-adrenoceptor interactions of norepinephrine enhance contraction in the femoral artery from spontaneously hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 223 : 207

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Jan; 8 (1) : 45-49

Effect of β -adrenoceptor agonists on vascular smooth muscle contraction and transmitter release in portal vein from spontaneously hypertensive rats

XUE Chun-Sheng¹, T C WESTFALL, M J MELDRUM

(Dept Pharmacology, St Louis University School of Medicine, St Louis MO 63104, USA)

ABSTRACT The effect of β -adrenoceptor agonists on vascular smooth muscle contrac-

tile tension and transmitter release of portal vein from the spontaneously

hypertensive rats (SHR) and Wistar Kyoto rats (WKY) was investigated. As compared with the normotensive WKY portal vein, the sensitivity of SHR's portal vein to relaxing effect of isoprenaline (Iso) and terbutaline (Ter) was significantly decreased. Whereas dobutamine (Dob) only showed slightly but the same inhibitory tendency on the contractile reaction by field-stimulation in portal vein from these two kinds of rats. So the portal vein postsynaptic β_2 -receptor activity was decreased in SHR. All of these β -adrenoceptor agonists used showed facilitory effect on the evoked transmitter release of sympathetic terminal in the portal vein. But Iso 1 $\mu\text{mol/L}$ slightly decreased in evoked [^3H]NE release from

SHR portal vein. There was no significant difference between the reactions of portal vein from these two kinds of rats. These results suggest that both subtypes of β_1 - and β_2 -receptors may be present on the presynaptic nerve terminals, and the sensitivity of presynaptic β -receptors may not necessarily be raised in hypertension.

KEY WORDS adrenergic beta-receptor agonists; isoproterenol; terbutaline; dobutamine; portal vein; vascular smooth muscle; muscle contraction; inbred SHR rats; inbred WKY rats

¹ Now in Dept Pharmacology, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 630046, China