

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.01315

开放血管平滑肌细胞 Kir6.1/SUR2B 降低去窦弓神经大鼠血压波动性

张 伟¹, 赵心彬², 杨 宏², 倪 敏^{2*}

1. 中国人民解放军总后勤部第二门诊部药房, 北京 100071

2. 第二军医大学长征医院药剂科, 上海 200003

[摘要] **目的** 探讨心血管系统不同分子组成的 ATP 敏感钾通道(K_{ATP})在降低去窦弓神经(SAD)大鼠血压波动性(BPV)中的作用。**方法** 建立 SAD 大鼠模型,利用计算机化清醒自由活动大鼠血流动力学监测技术,观察非选择性 K_{ATP} 开放剂吡那地尔、Kir6.1/Sur2B 和 Kir6.1/Sur1 选择性开放剂二氮嗪对 SAD 大鼠 BPV 的影响;并观察用 Kir6.1/Sur1 选择性阻断剂 5-羟基癸酸盐(5-HD)、Kir6.2/Sur2A 选择性阻断剂 HMR1098 阻断 K_{ATP} 后,吡那地尔和二氮嗪对 SAD 大鼠 BPV 作用的改变。**结果** 吡那地尔和二氮嗪能够降低 SAD 大鼠 BPV($P<0.01$),阻断 Kir6.1/Sur1、Kir6.2/Sur2A 后不改变吡那地尔和二氮嗪对 BPV 的降低作用。**结论** 开放血管平滑肌细胞 Kir6.1/Sur2B 能够降低 SAD 大鼠的 BPV。

[关键词] 去窦弓神经;血压波动性; K_{ATP} 通道;血管平滑肌

[中图分类号] R 331.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)12-1315-04

Opening of Kir6.1/SUR2B on vascular smooth cells decreases blood pressure variability in sinoaortic denervated rats

ZHANG Wei¹, ZHAO Xin-bin², YANG Hong², NI Min^{2*}

1. Department of Pharmacy, The Second Out-patient Clinics, General Logistics Department of PLA, Beijing 100071, China

2. Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] **Objective** To determine the role of different molecular compositions of K_{ATP} channels in reducing the blood pressure variability (BPV) in conscious, freely-moving sinoaortic denervated (SAD) rats. **Methods** SAD rat model was established. Computerized analytic system of blood pressure was used to observe the effects of unselective K_{ATP} openers (pinacidil) or Kir6.1/Sur2B and Kir6.1/Sur1 selective opener (diazoxide) on BPV of SAD rats. We also observed the effects of pinacidil and diazoxide on BPV of SAD rats pre-treated with selective Kir6.1/Sur1 antagonist 5-hydroxydecanoic acid (5-HD) and selective Kir6.2/Sur2A antagonist (HMR1098). **Results** Both pinacidil and diazoxide significantly decreased BPV in SAD rats ($P<0.01$), and pre-treatment with 5-HD+HMR1098 did not change the effect of either pinacidil or diazoxide on BPV of SAD rats. **Conclusion** Opening Kir6.1/SUR2B of vascular smooth cells can decrease the BPV levels in SAD rats.

[Key words] sinoaortic denervated; blood pressure variability; K_{ATP} channels; vascular smooth muscle

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(12):1315-1318]

ATP 敏感钾通道(K_{ATP})在血压、心肌缺血、血管和心肌重构等病理生理过程中具有重要意义^[1-3]。心血管系统 K_{ATP} 由不同的分子组成,血管平滑肌细胞 K_{ATP} 主要包括 Kir6.1/Sur2B 和 Kir6.2/Sur2B, 而心肌细胞 K_{ATP} 主要包括 Kir6.2/Sur2A 和 Kir6.1/Sur1^[4]。已证实心血管疾病的器官损伤程度与血压波动性(blood pressure variability, BPV)关系密切^[5],了解 K_{ATP} 通道在 BPV 过程中的作用,对于认识 K_{ATP} 通道特征、开发以 K_{ATP} 通道为靶点的降

压药物具有重要意义。本实验以 24 h 平均动脉压正常而 BPV 明显升高的去窦弓神经(sinoaortic denervated, SAD)大鼠为研究对象,应用计算机化清醒自由活动大鼠血流动力学监测技术,研究心血管系统中不同分子组成的 K_{ATP} 在 BPV 中的作用。

1 材料和方法

1.1 试剂和动物 非选择性 K_{ATP} 开放剂吡那地尔、Kir6.1/Sur2B 和 Kir6.1/Sur1 选择性开放剂二氮

[收稿日期] 2012-10-15

[接受日期] 2012-12-04

[作者简介] 张 伟, 硕士, 主管药师. E-mail: xingyue801110@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81871278, E-mail: momo111225@163.com

嗪、Kir6. 1/Sur1 选择性阻断剂 5-羟基癸酸盐 (5-HD) 均为美国 Sigma 公司产品, Kir6. 2/Sur2A 选择性阻断剂 HMR1098 由德国 Aventis Pharma 公司赠送。雄性 SD 大鼠 56 只, 8~10 周龄, 体质量 270~330 g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供。

1.2 SAD 大鼠模型制备 按 Krieger^[6] 所确立的方法制作 SAD 大鼠模型。将 SD 大鼠用盐酸氯胺酮 (50 mg/kg) 加地西洋 (5 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 同时腹腔注射硫酸阿托品 (0.5 mg/kg) 以抑制呼吸道腺体过多分泌。麻醉后的大鼠仰卧位固定, 颈部剪毛消毒, 长约 3 cm 长的正中切口, 彻底暴露胸骨乳突肌、二腹肌后腹肌、胸骨舌骨肌, 并将胸骨乳突肌和二腹肌后腹肌推向外侧, 以暴露肩胛舌骨肌外侧缘。先行左侧 SAD。在左肩胛舌骨肌头端外侧分离肌肉找出左侧喉上神经, 切断约 2 mm。从左侧颈动脉鞘中仔细分离出颈总动脉和迷走神经干, 将剩下的组织一并切断约 2 mm。取出左颈动脉分叉处内侧的颈上神经节。剥离左颈动脉分叉处血管外膜和周围组织, 使颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉、枕动脉完全游离约 5 mm, 并用神经毒试剂 10% 苯酚乙醇溶液涂擦这些血管四周以除去颈动脉窦周围残余神经末梢。同样方法去除右侧窦弓神经。最后, 缝合颈部切口, 后肢肌内注射青霉素钠 8 万单位, 完成整个 SAD 手术。术后 1 个月行腹主动脉 (BP 监测) 和股静脉 (给药) 插管。实验前 16 h 将大鼠连接至计算机化清醒自由活动大鼠血流动力学监测装置, 以 2~3 μ g/kg 新福林静脉注射, 使大鼠血压升高约 50 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), 若心率减慢少于 20 次/min, 则认为 SAD 模型制备成功。

1.3 动物分组及处理 制模成功的大鼠于次日上午开始数据采集, 实验共分 5 组, 每组 8 只。吡那地

尔组、二氮嗪组、5-HD + HMR1098 组动物于 8:00~8:05 静脉恒速给予 3 ml/kg 的生理盐水, 8:05 开始采集数据至 9:05; 9:05~9:10 静脉分别给予吡那地尔 (2 mg/kg)、二氮嗪 (20 mg/kg) 或 5-HD (12 mg/kg) + HMR1098 (15 mg/kg), 9:10 开始采集数据至 10:10。5-HD + HMR1098 + 吡那地尔组和 5-HD + HMR1098 + 二氮嗪组动物于 8:00~8:05 静脉恒速给予 3 ml/kg 的生理盐水, 8:05 开始采集数据至 9:05; 9:05~9:10 静脉给予 5-HD (12 mg/kg) + HMR1098 (15 mg/kg), 20 min 后, 给予吡那地尔 (2 mg/kg) 或二氮嗪 (20 mg/kg), 连续记录 1 h, 直至 10:30。

1.4 实验数据采集 将每个采集数据的实验阶段等分为两个 30 min 的时间段, 以后 30 min 时间段的数据作为最终实验结果。收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP) 和心动周期 (HP) 为每搏采样基础上该 30 min 内的平均值, 收缩压波动性 (SBPV) 和舒张压波动性 (DBPV) 为每搏采样基础上该 30 min 内 SBP 和 DBP 的标准差。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s_x$ 表示, 各组数据经过正态分布检验和方差齐性检验后, 进行方差分析, 检验水平 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 吡那地尔和二氮嗪对 SAD 大鼠 BP、HP 和 BPV 的影响 结果表明, K_{ATP} 开放剂吡那地尔和二氮嗪可降低 SAD 大鼠的 BP ($P < 0.01$), 并缩短 HP ($P < 0.01$, 表 1)。吡那地尔和二氮嗪可降低 SAD 大鼠的 SBPV 和 DBPV ($P < 0.01$, 图 1)。提示开放 K_{ATP} 通道能够降低 BPV。

表 1 吡那地尔和二氮嗪对 SAD 大鼠 BP 和 HP 的影响

Tab 1 Effects of pinacidil and diazoxide on BP and HP in SAD rats

$n=8, \bar{x} \pm s_x$

| Index | Pinacidil | | Diazoxide | |
|---------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| | Before administration | After administration | Before administration | After administration |
| SBP p /mmHg | 146.0 \pm 3.7 | 95.0 \pm 3.6** | 147.0 \pm 4.7 | 100.0 \pm 2.9** |
| DBP p /mmHg | 101.0 \pm 3.1 | 56.0 \pm 2.9** | 106.0 \pm 2.3 | 57.0 \pm 2.5** |
| HP t /s | 137.0 \pm 4.1 | 126.0 \pm 3.5** | 146.0 \pm 4.2 | 131.0 \pm 2.8** |

SAD: Sinoaortic denervated; BP: Blood pressure; HP: Heart period; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure. 1 mmHg=0.133 kPa. ** $P < 0.01$ vs before administration

2.2 5-HD + HMR1098 预处理对吡那地尔和二氮嗪作用的影响 结果显示, 5-HD + HMR1098 对

SAD 大鼠的 BP 和 HP 无明显影响 (表 2), 对大鼠的 SBPV 和 DBPV 亦无明显影响 (图 2)。提示阻断心

肌细胞 K_{ATP} 通道 Kir6. 1/Sur1 和 Kir6. 2/Sur2A 不影响 SAD 大鼠的 BPV。5-HD+HMR1098 预处理后,并不改变吡那地尔和二氮嗪对 SAD 大鼠的 BP、

HP、SBPV 和 DBPV 的影响(表 2、图 2)。提示吡那地尔和二氮嗪开放降低 BPV 的作用与心肌细胞 K_{ATP} 通道 Kir6. 1/Sur1 和 Kir6. 2/Sur2A 无关。

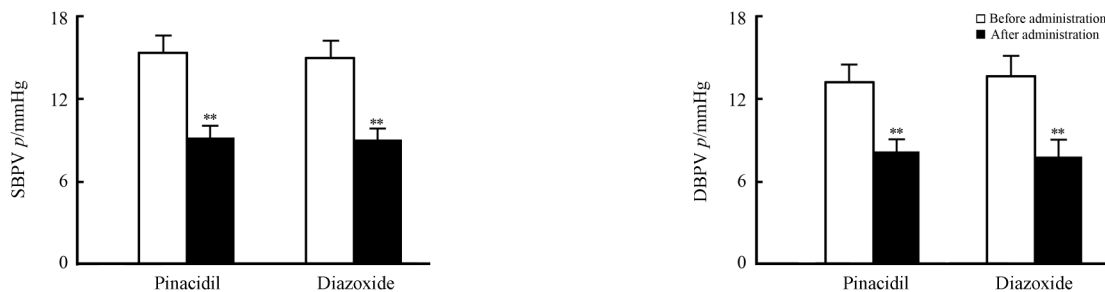


图 1 吡那地尔和二氮嗪对 SAD 大鼠 BPV 的影响

Fig 1 Effects of pinacidil and diazoxide on BPV in SAD rats

SAD; Sinoaortic denervated; BPV; Blood pressure variability; SBPV; Systolic blood pressure variability; DBPV; Diastolic blood pressure variability. 1 mmHg=0.133 kPa. ** $P < 0.01$ vs before administration; $n = 8$, $\bar{x} \pm s_x$

表 2 5-HD+HMR1098 预处理后吡那地尔和二氮嗪对 SAD 大鼠 BP 和 HP 的影响

Tab 2 Effects of pinacidil and diazoxide on BP and HP in SAD rats pre-treated with 5-HD plus HMR1098

$n = 8$, $\bar{x} \pm s_x$

| Index | 5-HD+HMR1098 | | 5-HD+HMR1098+PIN | | 5-HD+HMR1098+DIA | |
|------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| | Before administration | After administration | Before administration | After administration | Before administration | After administration |
| SBP p/mmHg | 145.0±3.9 | 148.0±4.1 | 149.0±3.3 | 88.0±2.3** | 143.0±3.3 | 97.0±2.8** |
| DBP p/mmHg | 102.0±3.5 | 104.0±2.9 | 100.0±2.9 | 53.0±1.7** | 101.0±3.4 | 63.0±3.5** |
| HP t/s | 140.0±4.2 | 140.0±4.5 | 145.0±2.0 | 130.0±3.3* | 147.0±5.1 | 136.0±4.8* |

SAD; Sinoaortic denervated; BP; Blood pressure; HP; Heart period; SBP; Systolic blood pressure; DBP; Diastolic blood pressure; 5-HD; 5-hydroxydecanoic acid; PIN; Pinacidil; DIA; Diazoxide. 1 mmHg=0.133 kPa. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs before administration

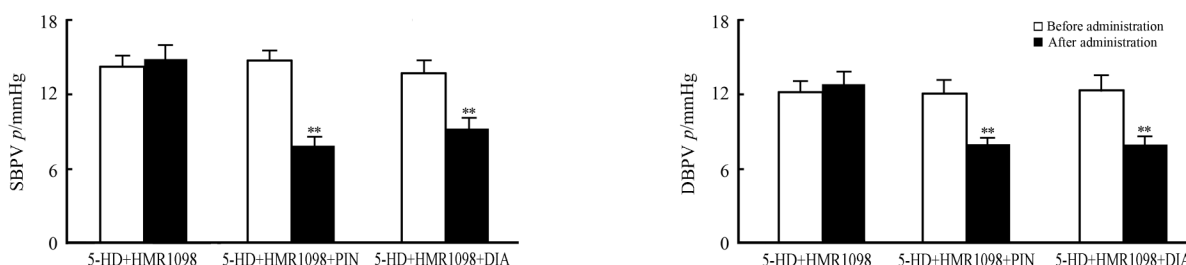


图 2 5-HD+HMR1098 预处理后吡那地尔和二氮嗪对 SAD 大鼠 BPV 的影响

Fig 2 Effects of pinacidil and diazoxide on BPV in SAD rats pre-treated with 5-HD plus HMR1098

SAD; Sinoaortic denervated; BPV; Blood pressure variability; SBPV; Systolic blood pressure variability; DBPV; Diastolic blood pressure variability; 5-HD; 5-hydroxydecanoic acid; PIN; Pinacidil; DIA; Diazoxide. 1 mmHg=0.133 kPa. ** $P < 0.01$ vs before administration; $n = 8$, $\bar{x} \pm s_x$

3 讨论

BPV 是指 BP 在一定时间内的波动程度,是随动态血流动力学监测技术而出现的研究心血管活动的指标。已证实 BPV 与心血管疾病的器官损伤程度相关^[5],且对于心血管事件的预测具有重要意

义^[7],对于抗高血压药物的合理选择具有指导作用^[8]。SAD 大鼠具有 BPV 升高而 24 h 平均动脉压基本不变的特点,是研究 BPV 的理想模型。

K_{ATP} 是血管系统中一类重要的钾离子通道^[1-3],血管平滑肌细胞 K_{ATP} 的分子组成主要包括 Kir6. 1/Sur2B 和 Kir6. 2/Sur2B,其在维持血管床基础张力

和调节缺氧时重要脏器血管阻力具有重要作用;心肌细胞 K_{ATP} 的分子组成主要包括 Kir6.2/Sur2A 和 Kir6.1/Sur1,前者存在于心肌细胞膜,后者则位于线粒体膜,研究证实无论是开放心肌细胞膜还是线粒体膜, K_{ATP} 通道均具有显著的抗心肌缺血再灌注损伤作用^[4]。本研究发现非选择性 K_{ATP} 开放剂吡那地尔(对上述4种 K_{ATP} 分子组成类型均具有开放作用)能够降低 SAD 大鼠的 BPV;具有一定选择性 K_{ATP} 开放剂二氮嗪(能够开放 Kir6.1/Sur2B 和 Kir6.1/Sur1)同样能够降低 SAD 大鼠的 BPV,表明只要开放血管平滑肌细胞 Kir6.1/Sur2B 和心肌细胞 Kir6.1/Sur1 就能够降低 SAD 大鼠 BPV。我们也发现,5-HD 和 HMR1098 作为选择性 K_{ATP} 阻断剂,分别选择性阻断心肌细胞 Kir6.1/Sur1 和 Kir6.2/Sur2A 分子组成的 K_{ATP} 通道,二者合用本身对 SAD 大鼠的 BPV 无显著影响。经 5-HD 和 HMR1098 预处理阻断心肌 K_{ATP} 通道后,吡那地尔降低 SAD 大鼠 BPV 的作用并无改变,表明只要开放血管平滑肌细胞 Kir6.1/Sur2B 和 Kir6.2/Sur2B 就能够降低 SAD 大鼠的 BPV。5-HD 和 HMR1098 预处理后不改变二氮嗪的作用则表明仅开放血管平滑肌细胞 Kir6.1/Sur2B 就能够降低 SAD 大鼠的 BPV。

本研究结果提示,不同分子组成的 K_{ATP} 通道在降低 BPV 的过程中作用不同,心肌细胞膜和线粒体膜 K_{ATP} 通道状态对 BPV 并无显著影响;血管平滑肌细胞存在两类 K_{ATP} 通道,其状态均可影响 BPV。这对 K_{ATP} 通道开放剂的临床选择具有一定的提示和指导作用。由于本实验设计仅以心脏和血管 K_{ATP} 通道的分子组成作为研究目标,因此不能够排除吡那地尔和二氮嗪开放心血管系统以外 K_{ATP} 通道可能导致的对 BPV 的作用。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Parati G, Ochoa J E, Bilo G. Blood pressure variability, cardiovascular risk, and risk for renal disease progression[J]. *Curr Hypertens Rep*, 2012, 14: 421-431.
- [2] Lader J M, Vasquez C, Bao L, Maass K, Qu J, Kefalogianni E, et al. Remodeling of atrial ATP-sensitive K^+ channels in a model of salt-induced elevated blood pressure[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301: H964-H974.
- [3] Sanbe A, Marunouchi T, Yamauchi J, Tanonaka K, Nishigori H, Tanoue A. Cardioprotective effect of nicorandil, a mitochondrial ATP-sensitive potassium channel opener, prolongs survival in HSPB5 R120G transgenic mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6: e18922.
- [4] Park W S, Hong D H, Son Y K, Kim M H, Jeong S H, Kim H K, et al. Alteration of ATP-sensitive K^+ channels in rabbit aortic smooth muscle during left ventricular hypertrophy[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 303: C170-C178.
- [5] Liu Y, Ren G, O'Rourke B, Marbán E, Seharaseyon J. Pharmacological comparison of native mitochondrial K_{ATP} channels with molecularly defined surface K_{ATP} channels[J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 59: 225-230.
- [6] Krieger E M. Neurogenic hypertension in the rats[J]. *Circ Res*, 1964, 15: 511-521.
- [7] Rothwell P M. Limitations of the usual blood-pressure hypothesis and importance of variability, instability, and episodic hypertension[J]. *Lancet*, 2010, 375: 938-948.
- [8] Webb A J, Fischer U, Mehta Z, Rothwell P M. Effects of anti-hypertensive drug class on interindividual variation in blood pressure and risk of stroke: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet*, 2010, 375: 906-915.

[本文编辑] 商素芳, 孙岩