

多巴胺对内毒素孵育兔肺体动脉血管环张力的影响

陶炳东 张锦 佟冬仪 魏会霞 于泓波

【摘要】 目的 比较不同浓度多巴胺对大肠杆菌内毒素脂多糖(LPS)孵育的离体兔肺动脉、体动脉血管张力的影响。方法 选择 6 只雄性大耳白兔,制备离体肺动脉环和体动脉环各 36 个。把 36 个肺动脉环随机分为 6 组,测试不同浓度多巴胺(4×10^{-5} 、 8×10^{-5} 、 16×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$)对正常肺动脉张力的影响(分别为 PN-DOPA4、PN-DOPA8、PN-DOPA16 组)及对 LPS 孵育后肺动脉张力的影响(分别为 PL-DOPA4、PL-DOPA8、PL-DOPA16 组)。体动脉分组与肺动脉分组方法相同,包括正常组(SN-DOPA4、SN-DOPA8、SN-DOPA16)及内毒素组(SL-DOPA4、SL-DOPA8、SL-DOPA16)。结果 ①多巴胺对 PN-DOPA4 及 SN-DOPA4 组中的血管环均有一定的舒张作用;对 PN-DOPA8、PN-DOPA16、SN-DOPA8 和 SN-DOPA16 组的血管环均有收缩作用,随着浓度的加大而升高。②LPS 孵育后,多巴胺对 PL-DOPA4 和 SL-DOPA4 组血管环舒张作用消失,变为收缩[(22.60 ± 6.68)%比 $-(2.25 \pm 0.58)$ %、(3.80 ± 0.52)%比 $-(3.65 \pm 0.75)$ %、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$],对 PL-DOPA8 组收缩幅度较 PN-DOPA8 组减少(14.52 ± 0.59)%($P < 0.05$);对 SL-DOPA8 组收缩幅度较 SN-DOPA8 组增高(25.90 ± 1.75)%($P < 0.05$);对 PL-DOPA16 组和 SL-DOPA16 组的张力无显著影响。③LPS 孵育后,DOPA4 组的肺动脉张力变化(PL/PN)较体动脉张力变化(SL/SN)明显(-10.90 ± 5.06 比 -1.00 ± 0.24 , $P < 0.05$);在 DOPA8 组 SL/SN 较明显(1.80 ± 0.35 比 0.48 ± 0.17 , $P < 0.01$)。结论 低浓度的多巴胺对正常肺动脉及体动脉血管环有舒张作用;在 LPS 孵育后,低浓度的多巴胺对肺动脉及体动脉环的作用由舒张变为收缩,且对肺动脉环的张力变化影响最大;不同浓度的多巴胺对 LPS 孵育后的肺动脉及体动脉血管环均有收缩作用。

【关键词】 内毒素休克; 肺动脉; 多巴胺; 血管反应性

The comparison of the vasoactive effects of dopamine on isolated rabbit pulmonary and systemic arteries after incubation with lipopolysaccharide TAO Bing-dong, ZHANG Jin, TONG Dong-yi, WEI Hui-xia, YU Hong-bo. Anesthesiology Department, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning, China

Corresponding author: ZHANG Jin, Email: jinzhang_cmu2h@yahoo.com.cn

【Abstract】 **Objective** To compare the vasoactive effects of dopamine (DOPA) of different concentrations on isolated rabbit pulmonary and systemic arteries after incubation with lipopolysaccharide (LPS). **Methods** Six white male rabbits were used. Thirty-six pulmonary arterial rings and 36 systemic arterial rings were prepared. The 36 pulmonary arterial rings were divided into six groups to determine the effect of different concentrations of DOPA (4×10^{-5} , 8×10^{-5} , 16×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$) on the tension of the normal pulmonary artery (PN-DOPA4, PN-DOPA8, PN-DOPA16 groups, respectively), and the tension of the pulmonary artery rings after being incubated with LPS (PL-DOPA4, PL-DOPA8, PL-DOPA16 groups, respectively). The 36 systemic arterial rings were also divided into six groups as the pulmonary arterial rings, including normal groups (SN-DOPA4, SN-DOPA8, SN-DOPA16) and LPS groups (SL-DOPA4, SL-DOPA8, SL-DOPA16). **Results** ① DOPA relaxed the arterial rings in PN-DOPA4 and SN-DOPA4 groups, while it produced contraction in PN-DOPA8, PN-DOPA16, SN-DOPA8 and SN-DOPA16 groups, and the contraction was more marked with the increase in concentration of DOPA. ② After preincubation with LPS, the relaxation property of DOPA in PL-DOPA4 and SL-DOPA4 groups was observed to be reversed to contraction [(22.60 ± 6.68)% vs. $-(2.25 \pm 0.58)$ %、(3.80 ± 0.52)% vs. $-(3.65 \pm 0.75)$ %、 $P < 0.05$ and $P < 0.01$]; the contraction response of DOPA in PL-DOPA8 group decreased compared with PN-DOPA8 group by (14.52 ± 0.59)% ($P < 0.05$), while increased by (25.90 ± 1.75)% in SL-DOPA8 group compared with SN-DOPA8 group ($P < 0.05$), and no response was observed in PL-DOPA16 and SL-DOPA16 groups. ③ After preincubation with LPS, changes in pulmonary arterial tension (PL/PN) in DOPA4 group were more obvious than those in systemic arterial tension (SL/SN), -10.90 ± 5.06 vs. -1.00 ± 0.24 , $P < 0.05$, while the SL/SN in DOPA8 group were more obvious (1.80 ± 0.35 vs. 0.48 ± 0.17 , $P < 0.01$). **Conclusion** DOPA in low concentrations had the function of relaxation on the pulmonary arterial and systemic arterial rings. After the arterial rings are preincubated with LPS, the relaxation response of DOPA of low concentrations is changed to be vaso-contraction, and the changes in pulmonary arterial rings are most marked. DOPA of different concentrations all produce contraction effect on LPS-preincubated arterial rings.

【Key words】 Endotoxic shock; Pulmonary artery; Dopamine; Vascular reactivity

感染性休克主要是由于内毒素作用使外周血管扩张,有效循环血容量减少,体循环压力剧降,进而发展为微循环障碍,组织灌注不足,直至出现多器官功能障碍、衰竭等一系列严重后果^[1]。多巴胺由于具有良好的血管收缩作用,多年来一直是感染性休克治疗中临床常用的血管收缩药。但近年来的文献报道,多巴胺并没有肾功能保护作用,且能造成腹部内脏供血减少等诸多负面影响^[2]。本实验室前期的研究表明,多巴胺能增加内毒素休克犬的肺循环阻力,但它对离体肺动脉张力的影响却不很清楚^[3]。本研究中采用内毒素脂多糖(LPS)孵育离体兔体动脉环及肺动脉环的方法建立内毒素休克模型,研究不同浓度多巴胺对 LPS 孵育后体动脉环和肺动脉环血管张力反应性的影响,进一步探讨多巴胺作为心血管活性药物用于感染性休克治疗的价值。

1 材料与与方法

1.1 主要实验药品:大肠杆菌 LPS(美国 Sigma 公司生产),改良克雷布-林格碳酸氢盐溶液(KRB 液),RPMI 1640 培养基(南京建成生物工程研究所),苯肾上腺素(PE,上海天丰制药厂),氯化乙酰胆碱(ACh,美国 Sigma 公司),重酒石酸去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(上海丰禾制药有限公司)。

1.2 实验动物及分组:雄性日本大耳白兔 6 只,体重 2.5~2.8 kg,由中国医科大学动物实验中心提供[动物合格证号:SYXK(辽)2008-0019]。6 只动物共制备离体肺动脉环和体动脉环各 36 个。把 36 个肺动脉环随机分为 6 组,其中 3 组(PN-DOPA4、PN-DOPA8、PN-DOPA16)测试不同浓度多巴胺对正常肺动脉环张力的影响,另外 3 组(PL-DOPA4、PL-DOPA8、PL-DOPA16)测试不同浓度多巴胺对 LPS 孵育后肺动脉环张力的影响。体动脉分组与肺动脉分组方法相同,包括正常组(SN-DOPA4、SN-DOPA8、SN-DOPA16)、内毒素组(SL-DOPA4、SL-DOPA8、SL-DOPA16)。

1.3 实验方法

1.3.1 血管环的制备:经耳缘静脉行空气栓塞处死动物,取出心、肺置于 4℃ KRB 液中。分离体动脉(胸主动脉)及肺动脉,制成 3 mm 血管环各 36 个。

1.3.2 内毒素模型的建立:采取 LPS 孵育离体兔体动脉环及肺动脉环的方法^[4]建立内毒素休克模

型。肺动脉正常组(PN 组)和体动脉正常组(SN 组)血管环用 RPMI 1640 培养液孵育;肺动脉内毒素组(PL 组)和体动脉内毒素组(SL 组)血管环用加入 4 mg/L LPS 的 RPMI 1640 培养液孵育,通入 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气体,孵育 4 h。

1.3.3 血管环张力反应测定:将经上述方法处理的血管环垂直悬挂于不锈钢环上,置于含有 5 ml KRB 液(37℃)的恒温浴槽中,一端固定,另一端连张力换能器,通入 95% O₂ 和 5% CO₂。血管环张力的调节从 0 开始,每隔 5 min 增加 0.5 g 张力,直至最适张力(体动脉为 2.0 g,肺动脉为 1.5 g),平衡 90 min,记录平衡后的张力值。加入终浓度为 1 μmol/L PE 检测血管活性,收缩幅度 < 0.3 g 张力者弃去。待收缩反应曲线至平台后加入终浓度为 10 μmol/L ACh 检测内皮细胞的完整性,若出现 60% 以上的舒张反应为内皮细胞完整,否则为不完整,将内皮细胞不完整的血管环弃去。用 KRB 液反复洗脱直至回到基础张力。由于多巴胺对动脉有舒张作用,为观察此效应,血管环先以 1 μmol/L PE 预收缩,待反应稳定达到平台后,加入不同浓度多巴胺(4 × 10⁻⁵、8 × 10⁻⁵、16 × 10⁻⁵ μmol/L),获得血管舒张率(药物引起舒张的张力/PE 引起收缩的张力 × 100%)。

1.3.4 多巴胺剂量的确定:多巴胺临床低、中、高剂量分别为 5、10、20 μg · kg⁻¹ · min⁻¹,参照实验动物与人用药量换算标准^[5]按照 60 kg 人换算到离体兔后,单次 1 min 内静脉注射多巴胺,使其达到的低、中、高有效血药终浓度分别为 4 × 10⁻⁵、8 × 10⁻⁵、16 × 10⁻⁵ μmol/L,用 DOPA4、DOPA8、DOPA16 表示。

1.3.5 PL 组与 PN 组张力变化(PL/PN)和 SL 组与 SN 组张力变化(SL/SN)的测定:以内毒素组的张力变化为分子,正常组的张力变化为分母,两者的比值可以反映 LPS 孵育后血管相对于正常血管的张力改变情况。对 PL/PN 和 SL/SN 做统计学分析,观察经 LPS 孵育后肺动脉张力变化相对于体动脉张力变化的情况。

1.4 统计学处理:本实验采用随机区组设计,实验数据用 SPSS 14.0 统计软件进行处理,各个指标用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间多项指标比较采用双因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度多巴胺对正常体动脉和肺动脉的作用变化比较(表 1):DOPA4 对正常肺动脉的舒张幅

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.08.007

基金项目:辽宁省沈阳市重点应用基础课题(071021)

作者单位:110004 辽宁沈阳,中国医科大学附属盛京医院麻醉科

通信作者:张锦,Email:jinzhang_cmu2h@yahoo.com.cn

度比体动脉小(1.40±0.17)%, DOPA8 对正常肺动脉的收缩幅度比体动脉大(15.42±0.47)%, 而 DOPA16 对正常肺动脉的收缩幅度比体动脉小(15.29±3.39)%; 各浓度体动脉张力与肺动脉张力变化比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.2 不同浓度多巴胺对 LPS 孵育后体动脉和肺动脉的作用变化比较(表 1): 与同浓度多巴胺正常组比较, LPS 孵育后, DOPA4 对体动脉和肺动脉的舒张作用均消失, 变为收缩($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$); DOPA8 对体动脉收缩幅度增高(25.90±1.75)%, 而对肺动脉的收缩幅度却减少(14.52±0.59)% (均 $P < 0.05$); DOPA16 对 LPS 孵育后体动脉及肺动脉的张力无显著影响。

表 1 不同浓度多巴胺对离体兔体动脉和肺动脉张力变化的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	体动脉张力(%)	肺动脉张力(%)
正常组 DOPA4	6	-3.65±0.75 ^a	-2.25±0.58
DOPA8	6	11.70±3.73 ^b	27.12±4.20
DOPA16	6	41.19±5.64 ^b	25.90±9.03
内毒素组 DOPA4	6	3.80±0.52 ^d	22.60±6.68 ^c
DOPA8	6	37.60±5.48 ^c	12.60±3.61 ^c
DOPA16	6	39.30±8.36	43.90±11.80

注: DOPA4、8、16: 4×10^{-5} 、 8×10^{-5} 、 16×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$ 多巴胺; 与本组肺动脉张力比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$; 与正常组同浓度 DOPA 比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$

2.3 PL/PN 和 SL/SN 比较(表 2): 经 LPS 孵育并加入 DOPA4 和 DOPA8 后, PL/PN 与 SL/SN 比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。

表 2 不同浓度多巴胺对离体兔血管环 PL/PN 和 SL/SN 变化的影响($\bar{x} \pm s$)

多巴胺浓度	样本数	PL/PN	SL/SN
4×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$	6	-10.90±5.06	-1.00±0.24 ^a
8×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$	6	0.48±0.17	1.80±0.35 ^b
16×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$	6	1.80±0.92	0.97±0.26

注: PL/PN: 内毒素组与正常组肺动脉张力变化, SL/SN: 内毒素组与正常组体动脉张力变化; 与同浓度 PL/PN 比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

3 讨论

内毒素休克又称分布性休克, 与失血性休克不同, 其病理生理过程是血流分布障碍而引起的一系列器官功能改变, 在临床上主要表现为体循环阻力下降, 肺循环阻力增高^[1]。内毒素休克时存在血管低反应性, 体循环低血压引起周身组织缺血、缺氧, 因

此, 使用血管活性药调整血管的舒缩, 使周身器官得到适宜的灌注已成为治疗内毒素休克的重要部分^[6]。由于肺循环和体循环在血管结构和对炎症介质的反应等诸方面有不同的特性, 表现为肺动脉高压, 所以在血管活性药物的使用上既能提升体循环压力、使全身器官得到灌注, 又不使肺循环阻力升高则是使用血管活性药物的目标。本实验室的在体实验表明多巴胺能增加内毒素休克犬肺循环阻力^[3]; 本实验同样显示多巴胺对离体肺血管有收缩作用, 对内毒素休克时肺动脉高压起到加重的作用。观察不同剂量多巴胺对正常体动脉和肺动脉血管张力时则表现出不同结果。 4×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$ 多巴胺对正常肺动脉和体动脉表现为舒张作用, 但肺动脉舒张幅度小于体动脉。分析其原因, 多巴胺 1(DA-1)类受体主要位于体动脉平滑肌内, 所以 DA-1 类受体激动剂(FODA)在此血管床中的舒张效应是非内皮依赖性的, 然而肺动脉内的 DA-1 类受体以内皮分布为主^[7], 即仅肺动脉对 FODA 的舒张反应呈内皮依赖性。张转建等^[8]研究了 FODA 对犬肺动脉内皮依赖性舒张效应的可能途径, 认为 DA-1 类受体的作用机制可能为其通过内皮舒张因子(EDRF)一氧化氮(NO)实现, 而内皮超极化因子(EDHF)不参与这一过程。但到目前为止, 肺动脉 DA-1 类受体介导的内皮依赖性血管舒张反应的机制还不清楚。本研究提示, 8×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$ 、 16×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$ 多巴胺对正常肺、体动脉均为收缩作用, 体动脉呈现剂量依赖性增加, 在肺动脉则未见这种变化, 可能是由于多巴胺的作用效应虽与剂量密切相关, 但一种受体被激活, 另一种受体并未随之关闭, 而是一个受体作用大于另一个受体作用, 提示肺动脉上分布的 α 、 β 及 DA-1 类受体数量或密度可能与体动脉不同。

本研究还表明, LPS 孵育后, 4×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$ 多巴胺对肺动脉的舒张反应消失, 转而出收缩反应, 且幅度明显高于体动脉。这是由于 LPS 孵育后, 肺动脉内皮受损, DA-1 类受体通过 NO 介导的内皮依赖性舒张减弱或消失, 表现为收缩, 本研究结果证实了这种观点。但曹惠芳等^[9]认为, 细菌内毒素造成急性肺损伤时, 肺动脉高压的作用机制复杂, NO 作为参与因素之一, 不一定起主导作用。而体动脉的舒血管效应减弱程度小于肺动脉, 因此内毒素休克时肺血管和体血管对 4×10^{-5} $\mu\text{mol/L}$ 的效应有明显差异。白晓光等^[10]报道, 当吸入较低浓度 NO 降低肺动脉高压时, 加入 $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的多巴胺会影响这种降压效果, 提示低剂量多巴胺并不能降

低肺动脉高压。

多巴胺由于具有良好的升压作用,可持续静脉给药,调控性也好,至今在临床仍普遍采用。但近年来关于其副作用也多有报道^[11],主要是在保证心、脑供血同时,其他腹部内脏供血减少,对轻度休克或短时间应用或许能收到预期效果^[12],但在危重症患者和(或)长时间应用时将明显影响预后。过去认为在感染性休克时使用小剂量多巴胺能使患者尿量增加从而起到保护肾功能的作用^[13]。然而最近研究表明,小剂量多巴胺能使肾脏内部血流重新分布,肾皮质血流增加,外髓血流向内髓分流,因为外髓部代谢活动高,对缺血非常敏感,所以实质上是加重肾损害^[14]。多巴胺虽然有时可能使尿量增加,但并不能完全代表患者肾功能的改善,Bellomo 等^[15]对重症监护病房(ICU)感染性休克患者进行的前瞻性大样本研究显示,小剂量多巴胺既不能预防或逆转急性肾衰竭也不能改善预后。吴丽娟等^[12]研究表明,多巴胺可增加氧输送、尿量及肌酐清除率,NE 可增加内脏灌注及组织氧合;认为对少尿和(或)肾功能不全的脓毒性休克患者应用多巴胺是较好的选择,而对于有快速心律失常或组织缺氧严重的脓毒性休克患者,NE 则可能是更好的选择。诸多动物实验表明,多巴胺能增加内脏和肝血流^[16-17],但并不伴有黏膜灌注改善^[18]。

4 结论

低浓度的多巴胺对正常肺动脉及体动脉血管环有舒张作用;在 LPS 孵育后,低浓度的多巴胺对肺动脉及体动脉环的作用由舒张变为收缩,且肺动脉环的张力变化最大;不同浓度的多巴胺对 LPS 孵育后的肺动脉及体动脉血管环均有收缩作用。

参考文献

[1] 齐晓非,张锦. 感染性休克时肺动脉改变及调节机制的研究进展. 中国危重病急救医学,2008,20:630-633.
 [2] 李茂琴,史载祥,许继元,等. 小剂量多巴胺和多巴酚丁胺对非少尿型肾功能衰竭的影响. 中国危重病急救医学,2006,18:51-53.
 [3] 陶炳东,张锦,张秉钧. 多巴胺对内毒素休克犬肺动脉压力的影

响. 中国危重病急救医学,2009,21:544-547.
 [4] 谷振勇,凌亦凌,孟爱宏,等. 八肽胆囊收缩素对脂多糖诱导离体兔肺动脉反应性变化的影响. 中国病理生理杂志,1999,15:484-487.
 [5] 徐叔云,卞如廉,陈修. 药理实验方法学. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002. 15-35.
 [6] 刘毓和,吴新民,杜敏逸. 多巴胺合用去甲肾上腺素对犬毒素休克犬血流动力学的影响. 中国危重病急救医学,2002,14:471-473.
 [7] Ricci A, Collier WL, Amenta F. Endothelial dopamine DA-1 receptor sites in the rabbit pulmonary artery: autoradiographic demonstration. J Pharmacol Exp Ther,1992,261:830-834.
 [8] 张转建,李玉根,刘芳洲. 多巴胺 1 受体激动剂对犬肺动脉内皮依赖性舒张反应的影响. 中国现代药物应用,2008,2:39-41.
 [9] 曹惠芳,徐凤珍,刘超,等. 血浆内皮衍生性收缩因子对急性肺损伤患者肺循环动力学及呼吸力学的影响. 中国呼吸与危重监护杂志,2003,2:87-90.
 [10] 白晓光,熊利泽,巩固,等. 多巴胺对一氧化氮降低缺氧性肺动脉高压作用的影响. 第四军医大学学报,1996,17:447-449.
 [11] Debaveye YA, Van den Berghe GH. Is there still a place for dopamine in the modern intensive care unit? Anesth Analg, 2004,98:461-468.
 [12] 吴丽娟,何权瀛,李刚,等. 多巴胺及去甲肾上腺素对脓毒性休克患者血流动力学及组织氧合的影响. 中国危重病急救医学,2008,20:18-22.
 [13] Ichai C, Passeron C, Carles M, et al. Prolonged low-dose dopamine infusion induces a transient improvement in renal function in hemodynamically stable, critically ill patients: a single-blind, prospective, controlled study. Crit Care Med, 2000,28:1329-1335.
 [14] 黄英姿,邱海波,周韶霞,等. 多巴胺、去甲肾上腺素、多巴酚丁胺及肾上腺素对严重感染患者肾功能的影响. 中国危重病急救医学,2001,13:686-689.
 [15] Bellomo R, Chapman M, Finfer S, et al. Low-dose dopamine in patients with early renal dysfunction: a placebo-controlled randomised trial. Lancet,2000,356:2139-2143.
 [16] Johnson DJ, Johannigman JA, Branson RD, et al. The effect of low dose dopamine on gut hemodynamics during PEEP ventilation for acute lung injury. J Surg Res,1991,50:344-349.
 [17] Giraud GD, MacCannell KL. Decreased nutrient blood flow during dopamine-and epinephrine-induced intestinal vasodilation. J Pharmacol Exp Ther,1984,230:214-220.
 [18] 杨毅,邱海波,谭焰,等. 多巴酚丁胺联用去甲肾上腺素和多巴胺对感染性休克绵羊内脏器官灌注的影响. 中国危重病急救医学,2003,15:658-661.

(收稿日期:2010-03-08)

(本文编辑:李银平)

欢迎订阅 2010 年《中国中西医结合急救杂志》
 中国科协主管,中国中西医结合学会主办,国家级核心期刊
 全国各地邮局订阅,邮发代号:6-93,定价:每期 9.00 元,全年 54.00 元
 2010 年以前的刊物可在本刊社邮购部购买,电话:022-23197150
 社址地址:天津市和平区睦南道 122 号 邮编:300050