

基础研究

DOI: 10.11699/cyxb20130313

坎地沙坦酯对急性心肌梗死大鼠血管内皮功能的干预影响

高电萨¹, 秦 俭², 兰 莉³, 刘春艳⁴, 陈运贞²(1. 重庆医科大学附属第一医院金山医院心内科, 重庆 401122; 2. 重庆医科大学附属第一医院心内科, 重庆 400016;
3. 四川省绵阳市第三人民医院心内科, 绵阳 621000; 4. 重庆市九龙坡区第一人民医院超声科, 重庆 400050)

【摘要】目的:研究坎地沙坦酯(candesartan cilexetil, CAN)对急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)大鼠血管内皮功能的干预。**方法:**将大鼠随机分为 AMI 组、CAN 组和假手术组, 干预 2 周后处死, 检测血压(blood pressure, BP)、血一氧化氮(nitric oxide, NO)、血管紧张素 II (angiotension II, Ang II)含量、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)活性、离体胸主动脉条片舒缩功能。**结果:**与假手术组比较, AMI 组血清 NO 含量、NOS 活性降低, 胸主动脉内皮依赖性舒张(endothelium-dependent diastole, EDD)功能减退, 血浆 Ang II 含量升高, 差异有统计学意义($P=0.0004$)。经 CAN 干预后血清 NO 含量、NOS 活性升高达假手术组水平, 胸主动脉 EDD 显著改善($P=0.0009$), 同时血浆 Ang II 含量升高, 各组 BP 并无明显变化。**结论:**CAN 在不影响 BP 的前提下显著改善大鼠 AMI 后的血管内皮功能。

【关键词】坎地沙坦酯; 心肌梗死; 内皮功能障碍**【中国图书分类法分类号】**R541.4**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2012-07-16

作者介绍: 高电萨, Email: roro0314@163.com,

研究方向: 冠心病防治和超声心动图的研究。

通信作者: 秦 俭, Email: hjqj2001@yahoo.com.cn。

[J]. Trends Neurosci, 2004, 27(10): 589-594.

[14] Chen M J, Nguyen T V, Pike C J, et al. Norepinephrine induces BDNF and activates the PI-3K and MAPK cascades in embryonic hippocampal neurons[J]. Cell Signal, 2007, 19(1): 114-128.

[15] Harrison M J, Marsden C D, Jenner P. Effect of experimental ischemia on neurotransmitter amines in the gerbil brain[J]. Stroke, 1979, 10(2): 165-168.

[16] Kanthan R, Shuaib A, Griebel R, et al. Evaluation of monoaminergic neurotransmitters in the acute focal ischemic human brain model by intracerebral in vivo microdialysis[J]. Neurochem Res, 1996, 21(5): 563-566.

[17] Nakata N, Suda H, Izumi J, et al. Role of hippocampal serotonergic neurons in ischemic neuronal death[J]. Behav Brain Res, 1997, 83(1-2): 217-220.

[18] Chen H I, Lin L C, Yu L, et al. Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: the role of down-regulated serotonin system in the limbic system[J]. Neurobiol Learn Mem, 2008, 89(4): 489-496.

[19] Baek S S, Jun T W, Kim K J, et al. Effects of postnatal treadmill exercise on apoptotic neuronal cell death and cell proliferation of maternal-separated rat pups[J]. Brain Dev, 2012, 34(1): 45-56.

[20] 马 强, 王 静, 陈学伟, 等. 体力运动和心理应激对大鼠海马去甲肾上腺素和 5-羟色胺水平的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(8): 1549-1552.

Ma Q, Wang J, Chen X W, et al. Alterations in rat hippocampal nore-

pinephrine and serotonin levels under physical exercise and psychological stress[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2008, 24(8): 1549-1552.

[21] Salazar-Colocho P, Del Río J, Frechilla D. Neuroprotective effects of serotonin 5-HT_{1A} receptor activation against ischemic cell damage in gerbil hippocampus: involvement of NMDA receptor NR1 subunit and BDNF[J]. Brain Res, 2008, 1199: 159-166.

[22] Marco I, Valhondo M, Martín-Fontecha M, et al. New serotonin 5-HT_{1A} receptor agonists with neuroprotective effect against ischemic cell damage[J]. J Med Chem, 2011, 54(23): 7986-7999.

[23] 马 强, 陈学伟, 王 静, 等. 运动对大鼠海马长时程增强效应及其相关因子的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2008, 27(4): 451-453.

Ma Q, Chen X W, Wang J, et al. Effect of physical exercise on hippocampal long-term potentiation and related factor in rats[J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2008, 27(4): 451-453.

[24] 马 强, 陈学伟, 王 静, 等. 运动和应激对海马 5-羟色胺及其受体影响[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(7): 822-823.

Ma Q, Chen X W, Wang J, et al. Effects of exercise and stress on 5-HT and 5-HT_{1A} receptor[J]. Chinese Journal of Public Health, 2008, 24(7): 822-823.

[25] Ke Z, Yip S P, Li L, et al. The Effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model[J]. PLoS ONE, 2011, 6(2): e16643.

(责任编辑: 关蕴良)

Effects of candesartan cilexetil on vascular endothelial function in rats with acute myocardial infarction

GAO Diansa¹, QIN Jian², LAN Li³, LIU Chunyan⁴, CHEN Yunzhen²

(1. Department of Cardiology, Jinshan Hospital, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

3. Department of Cardiology, the Third People's Hospital of Mianyang City;

4. Department of Ultrasound, the First People's Hospital of Jiulongpo District)

[Abstract]**Objectives:** To study the effects of candesartan cilexetil (CAN) on vascular endothelial function in rats with acute myocardial infarction. **Methods:** Rats were randomized into acute myocardial infarction (AMI) group, sham-operation group and CAN group. Rats were sacrificed at two weeks after the intervention and blood pressure (BP), levels of blood nitric oxide (NO) and angiotension II (Ang II), activities of nitric oxide synthase (NOS), endothelial vasomotor function of isolated thoracic aorta strips were explored. **Results:** Compared with those in sham-operation group, levels of serum NO and activities of NOS were lower, function of endothelium-dependent diastoles (EDDs) was decreased seriously while levels of plasma Ang II were distinctly higher in AMI group, with significant statistical differences ($P=0.000\ 4$). After CAN treatment, levels of serum NO and activities of NOS were obviously higher, almost reaching the similar levels in sham-operation group; meanwhile function of EDDs in isolated aortic strips was improved greatly ($P=0.000\ 9$) and levels of plasma Ang II were increased significantly, however, BP in all groups was not affected. **Conclusions:** CAN can greatly improve the disordered endothelial function of rats with acute myocardial infarction without affecting BP.

[Key words] candesartan cilexetil; myocardial infarction; endothelial dysfunction

大量研究表明,内皮功能紊乱(endothelial dysfunction, ED)贯穿于急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)发生发展的全过程^[1]。已有研究表明血管紧张素 II 受体阻断剂(angiotensin II receptor blocker, ARB)——坎地沙坦酯(candesartan cilexetil, CAN)能保护高血压患者的血管内皮功能,但目前尚未见关于 AMI 后 ED 的发生及 CAN 对此干预效应的报道。本文旨在探讨 AMI 大鼠血管内皮功能及 CAN 对此干预的影响。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 实验动物 雄性清洁级 SD 大鼠 30 只,月龄 6~8 周,体质量(220 ± 20) g/只,购于第三军医大学大坪医院实验动物中心。许可证编号 SCXK(军 2002008)。

1.1.2 模型制备 大鼠适应性喂养 5~7 d 后,参照文献[2]的方法,结扎冠状动脉左前降支制作 AMI 模型,假手术组只穿线不结扎。

1.1.3 分组及给药方案 将术后 24 h 存活且证实为 AMI 的 17 只大鼠随机分为:AMI 组($n=8$);CAN 组($n=9$),给药剂量为 3 mg/(kg·d)。另设假手术组($n=7$)。将 CAN 原药研碎溶于助溶剂 0.5%羧甲基纤维素钠中配成混悬液,术后 24 h 起 1 d 1 次灌胃给药,假手术组及 AMI 组喂予同等体积助溶剂,共给药 2 周。实验结束时各组存活动物数分别为假手术组 6

只、AMI 组 5 只、CAN 组 7 只。

1.2 试剂和仪器

CAN(重庆圣华曦药业有限公司惠赠);盐酸去氧肾上腺素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号:4A10003);氯化乙酰胆碱(上海三爱思试剂有限公司,批号 20030620);亚硝基铁氰化钠(国药集团化学试剂有限公司,批号 F20050325);Kreb's 液(配方:g/L 氯化钠:6.895,氯化钾:0.354,氯化钙:0.282,磷酸二氢钾:0.162,硫酸镁:0.293,碳酸氢钠:1.05,葡萄糖:1.982);一氧化氮(nitric oxide, NO)与一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)试剂盒(南京建成生物研究所);含 95% O₂、5% CO₂ 的混合气;血管紧张素 II (angiotension II, Ang II)放射免疫试剂盒(中国人民解放军总医院科技开发中心放射免疫研究所);JZ100 型新航肌肉张力换能器(高碑店市新航机电设备有限公司);BL-410 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司);721A 型分光光度计(四川仪表九厂)。

1.3 实验方法

1.3.1 尾动脉收缩压测定 分别于术前、术后 24 h(灌胃前)、1 周、2 周测量尾动脉收缩压,单位为毫米汞柱(mmHg)。

1.3.2 血清 NO 含量、NOS 活性测定 术后 2 周经眼眶后静脉丛采血,分离血清,采用化学法测定,按试剂盒说明书进行。NO 单位为 $\mu\text{mol/L}$, NOS 单位为 U/ml。

1.3.3 血浆 Ang II 含量测定 采血方法同 1.3.2,取血浆采用放射免疫法测定,按试剂盒说明书进行,单位为 pg/ml。

1.3.4 胸主动脉条片离体灌流实验 术后 2 周麻醉大鼠后开胸,迅速取出胸主动脉 2~3 cm 放入预冷并充有含 95% O₂、5% CO₂ 混合气体的 Kreb's 液中,参考 Gschwend 等^[3]的方法,分别测定血管条片对去氧肾上腺素(phenylephrine, PE)的收

表 1 各组大鼠收缩压比较 (mmHg)

Tab.1 Comparison of systolic blood pressure in each group (mmHg)

组别	术前收缩压	术后 24 h 收缩压	术后 1 周收缩压	术后 2 周收缩压
假手术组 (n=6)	110.00 ± 10.00	105.00 ± 13.23	106.00 ± 7.21	105.00 ± 8.66
AMI 组 (n=5)	110.80 ± 11.45	102.00 ± 9.08	99.00 ± 12.12	108.60 ± 11.39
CAN 组 (n=7)	102.70 ± 11.39	101.40 ± 10.78	102.40 ± 6.11	105.00 ± 10.40

注:各组大鼠收缩压之间差异无统计学意义 ($P=0.132\ 5$)

缩反应和对乙酰胆碱 (acetylcholine, Ach) 及硝普钠 (sodium nitroprussiate, SNP) 的舒张反应。

1.3.4.1 血管条片对 PE 的收缩反应 PE 终浓度为 10^{-10} ~ 10^{-4} mol/L, 以各浓度引起的收缩幅度占最大收缩幅度的百分比表示, 并计算 EC_{50} (引起最大收缩效应一半的药物浓度) 和 E_{max} (最大收缩效应)。

1.3.4.2 血管条片对 Ach 的舒张反应 Ach 终浓度为 10^{-9} ~ 10^{-4} mol/L, 以血管条片对累积浓度 Ach 舒张反应的幅度占血管条片对 PE 收缩幅度之比表示, 并计算 IC_{50} (引起最大舒张效应一半的药物浓度) 和 E_{max} (最大舒张效应)。PE 预收缩浓度为 10^{-5} mol/L。

1.3.4.3 血管条片对 SNP 的舒张反应 方法同 1.3.4.2, SNP 终浓度为 10^{-10} ~ 10^{-7} mol/L。

1.4 统计学处理

数据采用 SAS 8.2 统计软件包分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 除血压比较采用重复测量方差分析外, 其余数据组间比较均采用成组设计方差分析, 多重比较采用 SNK- q 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧), 以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠尾动脉收缩压

在 4 个不同时间点各组间比较差异无统计学意义。见表 1。

2.2 血清 NO、血浆 Ang II 含量及 NOS 活性

AMI 组血清 NO 含量及 NOS 活性较假手术组明显降低, NO 组间比较的 F 值为 12.04, P 值为 0.000 8; NOS 组间比较的 F 值为 8.94, P 值为 0.002 8; CAN 干预后, NO 含量及 NOS 活性逐渐恢复至假手术组水平。与假手术组比较, 其余两组血浆 Ang II 含量均显著增高; CAN 组与 AMI 组间差异有统计学意义, F 值为 13.74, P 值为 0.000 4。见表 2。

表 2 各组血 NO、NOS、Ang II 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of blood NO, NOS and Ang II levels

in each group ($\bar{x} \pm s$)			
组别	血清 NO 含量 ($\mu\text{mol/L}$)	血清 NOS 活性 (U/ml)	血浆 Ang II 水 平 (pg/ml)
假手术组 (n=6)	55.69 ± 10.40	23.80 ± 5.36	181.39 ± 32.70
AMI 组 (n=5)	24.46 ± 3.95 ^a	10.92 ± 5.96 ^a	281.14 ± 84.90 ^a
CAN 组 (n=7)	43.69 ± 13.32	17.74 ± 3.97	388.27 ± 83.24 ^{ab}

注: a, 与假手术组比较, $P < 0.05$; b, 与 AMI 组比较, $P < 0.05$

2.3 胸主动脉条片离体灌流实验

2.3.1 胸主动脉条片对 PE 的反应 各组间比较差异无统计学意义, F 值为 0.28, P 值为 0.762 1。AMI 组、假手术组和 CAN 组的 EC_{50} 分别为 $(7.70 \pm 0.01) \times 10^{-8}$ 、 $(6.98 \pm 0.02) \times 10^{-8}$ 和 $(7.51 \pm 0.02) \times 10^{-8}$ mol/L。见图 1。

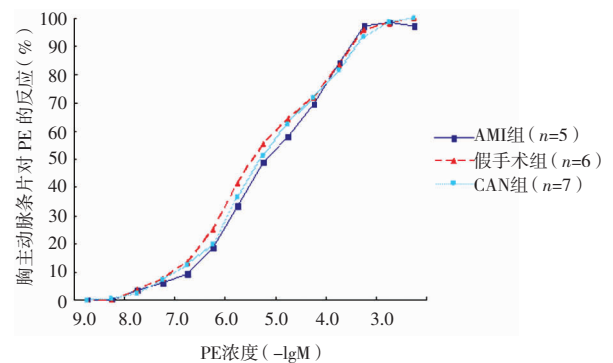
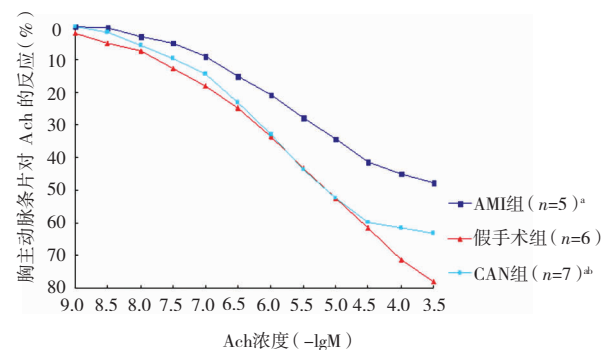


图 1 主动脉条片对 PE 的收缩反应

Fig.1 Contractive response of aorta strips to PE

2.3.2 胸主动脉条片对 Ach 的舒张反应 AMI 组较假手术组明显减弱, CAN 组较 AMI 组显著改善, 但较假手术组仍然减退, 差异有统计学意义, F 值为 11.50, P 值为 0.000 9。假手术组、AMI 组和 CAN 组的 IC_{50} 分别为 $(6.15 \pm 0.03) \times 10^{-8}$ 、 $(4.45 \pm 0.21) \times 10^{-7}$ 和 $(2.32 \pm 1.22) \times 10^{-7}$ mol/L。见图 2。



a. 与假手术组比较, $P < 0.05$; b. 与 AMI 组比较, $P < 0.05$

图 2 主动脉条片对 Ach 的舒张反应

Fig.2 Relaxant response of aorta strips to Ach

2.3.3 胸主动脉条片对 SNP 的舒张反应比较 各组间比较差异无统计学意义, F 值为 1.27, P 值为 0.308 4。假手术组、AMI 组、CAN 组的 IC_{50} 分别为 $(8.40 \pm 0.00) \times 10^{-10}$ 、 $(1.50 \pm 0.00) \times 10^{-9}$ 和 $(1.27 \pm 0.00) \times 10^{-9}$ mol/L。见图 3。

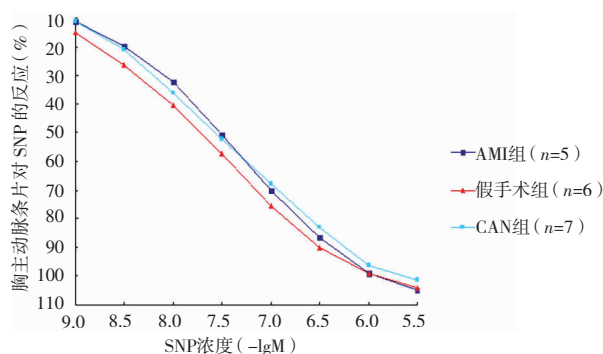


图 3 主动脉条对 SNP 的舒张反应

Fig.3 Relaxant response of aorta strips to SNP

3 讨论

凡使正常内皮功能遭到损害以致其维持的平衡失衡的状态均称为 ED, 以内皮依赖性舒张 (endothelium-dependent diastole, EDD) 功能减退为其特征性表现。研究表明, AMI 的发生并不完全取决于冠状动脉狭窄的程度, 而是与冠状动脉内皮功能失调的程度密切相关。这是由于内皮功能失调导致冠状动脉血管张力调节机能受损, 冠状动脉血管壁重塑, 血小板活化和聚集以及单核细胞和中性粒细胞活化和黏附, 使动脉粥样硬化斑块失去稳定性, 从而促使了 AMI 的发生。本实验采用健康 SD 大鼠, 通过结扎冠脉左前降支制作 AMI 模型, 结果显示与假手术组比较, AMI 组大鼠血清 NOS 活性、NO 含量均显著降低, 而血浆 Ang II 水平显著升高, 说明 AMI 后 2 周循环血中血管舒缩因子水平紊乱。离体组织灌流实验结果显示, AMI 组大鼠胸主动脉条片对 Ach 的舒张反应明显减弱, 说明 AMI 后发生了 ED。本研究还观察到, 大鼠离体胸主动脉条片对 PE 的收缩反应和对 SNP 的非内皮依赖性舒张反应与假手术组相比差异均无统计学意义, 表明 AMI 后 2 周血管平滑肌功能尚未受损伤, 为临床应用硝酸酯类药物治理 AMI 提供了实验依据。

CAN 是临床上常用的 ARB 之一, 在胃肠道吸收过程中水解为活性成分——坎地沙坦, 能高度选择性地阻止 Ang II 与 AT₁ 受体的结合, 从而拮抗 Ang II 对心血管系统的不良后果。目前已证实此药稳定、有效的降压作用, 可显著改善冠脉内皮功能障碍患者^[4]和冠脉支架植入术后猪^[5]EDD 功能, 对抗动脉硬化的进展^[6], 而有关 CAN 对 AMI 后血管内皮功能的保护作用尚未见报道。本研究结果显示, 与 AMI 组比较, CAN 干预后血清 NOS 活性及 NO 含量显著增高达假手术组水平, 离体胸主动脉条片 EDD 显著改善, 提示 AMI 后应用 CAN 可显著改善 AMI 大鼠血

管内皮功能, 但同时血浆 Ang II 含量却呈剂量依赖性升高, 可能系其高度选择性阻断了 Ang II 与 AT₁ 受体的结合, 使血中 Ang II 浓度反馈性增高, 大量游离 Ang II 与 AT₂ 受体结合, 激活缓激肽-NO 级联反应, 从而使 NOS 活性增加、NO 生成增加^[7]。这解释了为何 CAN 在升高血浆 Ang II 水平的同时亦可提高血清 NOS 活性及 NO 含量, 改善 AMI 后 ED。

值得一提的是, 在本实验应用剂量范围内, 各组大鼠血压比较无显著性差异, 表明其对 AMI 后血管内皮功能的保护效应独立于降血压效应之外, 这与 Perrone-Filardi 等^[8]的结果一致, 可能与本研究使用剂量较小有关。这提示或许临床治疗中即使应用不影响血压的小剂量 CAN 既可以对 AMI 患者发挥内皮保护效应, 亦为临床上小剂量运用于 AMI 后血压低的患者提供了实验依据。进一步研究 AMI 发生 ED 的信号通路机制及 CAN 改善 ED 的机理, 将为临床更好防治存在 ED 的心血管疾病提供实验依据。

参 考 文 献

- [1] Gardener S F, Franks A M. Olmesartan medoxomil: the seventh angiotensin receptor antagonist[J]. Ann Pharmacother, 2003, 37(1): 99-105.
- [2] Landmesser U, Engberding N, Bahlmann F H, et al. Statin-induced improvement of endothelial progenitor cell mobilization, myocardial neovascularization, left ventricular function, and survival after experimental myocardial infarction requires endothelial nitric oxide synthase[J]. Circulation, 2004, 110(14): 1933-1939.
- [3] Gschwend S, Buikema H, Henning R H, et al. Endothelial dysfunction and infarct-size relate to impaired EDHF response in rat experimental chronic heart failure[J]. Eur J Heart Fail, 2003, 5(2): 147-154.
- [4] Iino K, Watanabe H, Iino T, et al. Candesartan improves impaired endothelial function in the human coronary artery[J]. Coron Artery Dis, 2012, 23(4): 278-283.
- [5] Dohi T, Miyauchi K, Iesaki T, et al. Candesartan with pioglitazone protects against endothelial dysfunction and inflammatory responses in porcine coronary arteries implanted with sirolimus-eluting stents[J]. Circ J, 2011, 75(5): 1098-1106.
- [6] Suzuki T, Nozawa T, Fujii N, et al. Combination therapy of candesartan with statin inhibits progression of atherosclerosis more than statin alone in patients with coronary artery disease[J]. Coron Artery Dis, 2011, 22(5): 352-358.
- [7] De Gennaro Colonna V, Rigamonti A, Fioretti S, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin AT₁-receptor antagonism equally improve endothelial vasodilator function in L-NAME-induced hypertensive rats[J]. Eur J Pharmacol, 2005, 516(3): 253-259.
- [8] Perrone-Filardi P, Corrado L, Brevetti G, et al. Effects of AT₁ receptor antagonism with candesartan on endothelial function in patients with hypertension and coronary artery disease[J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2009, 11(5): 260-265.

(责任编辑: 冉明会)