

罗格列酮对心肌梗死大鼠血流动力学及肾素 - 血管紧张素系统的影响

耿登峰, 伍 卫, 雷 娟, 张 燕, 王景峰

(中山大学附属第二医院心内科, 广东 广州 510120)

摘 要【目的】探讨过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 激动药罗格列酮对心肌梗死大鼠血流动力学及肾素 - 血管紧张素系统的影响。【方法】45 只 SD 大鼠随机分为假手术组(9 只)和心肌梗死组(36 只), 将制作心肌梗死模型后 24 h 仍存活的 21 只 SD 大鼠随机分为心肌梗死对照组(10 只)和罗格列酮组(11 只)。罗格列酮组术后 24 h 开始给予罗格列酮 3 mg/(kg·d) 共 8 周。8 周后测定血流动力学, 称量心脏、左室、右室、肺和肝质量, 用放射免疫法测定血浆及心肌血管紧张素 II、醛固酮以及血浆肾素活性。【结果】与心肌梗死对照组相比, 罗格列酮组明显改善左室 $\pm dp/dt_{max}$ [(-1 898 \pm 383) mmHg/s vs (-2 981 \pm 258) mmHg/s, $P < 0.05$, (2 110 \pm 461) mmHg/s vs (3 625 \pm 221) mmHg/s, $P < 0.05$]; 显著降低肺体比和肝体比($P < 0.05$); 明显抑制心肌局部血管紧张素 II [(0.23 \pm 0.02) ng/mg pro vs (0.14 \pm 0.01) ng/mg pro, $P < 0.05$] 及醛固酮水平 [(0.31 \pm 0.05) ng/mg pro vs (0.19 \pm 0.04) ng/mg pro, $P < 0.05$], 而对血浆肾素活性、血管紧张素 II 及醛固酮无明显影响($P > 0.05$)。【结论】PPAR γ 激动药罗格列酮改善心肌梗死大鼠血流动力学, 抑制心肌局部肾素 - 血管紧张素系统。

关键词: 罗格列酮; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; 心肌梗死; 肾素 - 血管紧张素 - 醛固酮系统; 血流动力学

中图分类号: R541.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)02-0114-05

Effects of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Activator Rosiglitazone on Hemodynamics and Renin-Angiotensin-Aldosterone System After Myocardial Infarction in Rats

GENG Deng-feng, WU Wei, LEI Juan, ZHANG Yan, WANG Jing-feng

(Division of Cardiology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the effects of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) activator rosiglitazone on hemodynamics and renin-angiotensin-aldosterone system after myocardial infarction in rats. 【Methods】Forty-five SD rats were randomly divided into two groups: sham-operated ($n = 9$) and myocardial infarction group ($n = 36$). Twenty-four hours after myocardial infarction, 21 surviving rats were randomly divided into two groups: infarction control ($n = 10$) and rosiglitazone group ($n = 11$). Rosiglitazone group had taken rosiglitazone 3 mg/(kg·d) for 8 weeks after myocardial infarction. Specimens were taken after measuring hemodynamic indexes and heart, left ventricle, right ventricle, lung and liver mass were measured. Plasma and myocardial an-

收稿日期: 2003-10-13

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目(20013137)

作者简介: 耿登峰(1976-), 男, 山东菏泽人, 博士生, 伍 卫, 教授, 博士生导师, 通讯作者. E-mail: wu.wei@medmail.com.cn

giotensin II and aldosterone as well as plasma renin activity were detected by radioimmunity. 【Results】 Compared with infarction ccontrol group, rosiglitazone group obviously ameliorated left ventricular $\pm dp/dt_{max}$ [(-1 898 \pm 383) mmHg/s vs (-2 981 \pm 258) mmHg/s, $P < 0.05$, (2 110 \pm 461) mmHg/s vs (3 625 \pm 221) mmHg/s, $P < 0.05$] and significantly decreased lung/body weight ratio and liver/body weight ratio ($P < 0.05$). Compared with infarction control group, rosiglitazone group markedly inhibited myocardial angiotensin II [(0.23 \pm 0.02) ng/mg pro vs (0.14 \pm 0.01) ng/mg pro, $P < 0.05$] and aldosterone [(0.31 \pm 0.05) ng/mg pro vs (0.19 \pm 0.04) ng/mg pro, $P < 0.05$] and had no effect on plasma renin activity, angiotensin II and aldosterone ($P > 0.05$). 【Conclusions】 PPAR γ activator rosiglitazone ameliorates left ventricular hemodynamics, inhibits renin-angiotensin-aldosterone system of rats after myocardial infarction.

Key words : rosiglitazone ; peroxisome proliferator-activated receptor γ ; myocardial infarction ; renin-angiotensin-aldosterone system ; hemodynamics

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2004, 25(2): 114-118]

过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 是由配体激活的核转录因子, 属于核受体超家族成员。PPAR γ 激动后, 与视黄酸类受体形成异二聚体, 然后与所调节基因启动子区的过氧化物酶体增殖反应元件结合而发挥转录调控作用。噻唑烷二酮类药物 (thiazolidinedione, TZDs), 包括曲格列酮、罗格列酮和帕格列酮等, 本来是胰岛素增敏剂, 近年来被证实是 PPAR γ 选择性激动药。动物实验表明, PPAR γ 激动药 TZDs 能够改善心肌梗死后心室重塑和心脏功能^[1], 但其机制尚不清楚。肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin angiotensin aldosteron system, RAAS) 特别是心肌局部 RAAS 与心肌梗死后心室重塑有密切的关系。PPAR γ 激动药 TZDs 与心肌局部 RAAS 的关系尚未见报道, 本实验探讨 PPAR γ 激动药罗格列酮对心肌梗死大鼠血流动力学及肾素血管紧张素系统的影响。

1 材料和方法

1.1 实验分组

选择体质量 220 ~ 250 g 的雄性 SD 大鼠 45 只 (中山医学院实验动物中心提供), 随机分为假手术组 (9 只) 和心肌梗死模型组 (36 只), 将制作心肌梗死模型后 24 h 仍存活的 21 只大鼠随机分为心肌梗死对照组 (10 只) 和罗格列酮组 (11 只)。随机方法: 将大鼠编号, 按随机数字表进行分组。

1.2 心肌梗死动物模型制作

以氯胺酮 (50 ~ 70 mg/kg) 腹腔麻醉, 气管插管, 呼吸机辅助呼吸, 开胸暴露心脏, 在肺动脉圆锥和左心耳之间找到左冠状动脉, 心肌梗死组于左心耳下缘 1 mm 处以 7-0 线结扎左冠状动脉造成心肌梗死模型, 假手术组仅在相应部位穿线但不结扎。

1.3 给药方法

心肌梗死对照组及假手术组饲以自来水。罗格列酮组于术后 24 h 开始饮水给予罗格列酮 3 mg/(kg · d), 连续给药 8 周。罗格列酮 (商品名: 文迪雅, 4 mg/片, 批号: 03010011) 由葛兰素史克公司馈赠。

1.4 血流动力学测定

大鼠麻醉后, 分离右侧颈总动脉, 插入聚乙烯导管进入左心室, 应用 BL-410 多道生理仪记录心率、动脉收缩血压、动脉舒张压、平均动脉压、左室收缩压 (left ventricular systolic pressure, LVSP)、左室舒张压 (left ventricular diastolic pressure, LVDP)、左室舒张末压 (left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)、左室最大压力上升和下降速率 ($\pm dp/dt_{max}$) 等指标。

1.5 心、肺和肝质量

1.5.1 心脏和左、右心室质量测定 迅速取出心脏, 用生理盐水清洗, 滤纸吸干, 称量; 沿房室环剪去心房, 称心室质量; 分别分离左、右心室并称量; 与体质量比值分别得出心脏质量指数 (heart mass index, HMI)、左室质量指数 (left ventricular mass in-

dex ,LVMI)和右室质量指数(right ventricular mass index ,RVMI)。

1.5.2 肺和肝质量测定 取出肺和肝,用生理盐水清洗,滤纸吸干,分别称肺和肝质量,与体质量比值分别得出肺体比和肝体比。

1.6 血浆及心肌 RAAS 测定

1.6.1 肾素活性 抽循环血液 1 mL,注入含有 EDTA、2-巯基乙醇、8-羟基喹啉的抗凝管中,离心,分离血浆。肾素活性以血浆中血管紧张素 I 的产生速率表示,即用 2 份血浆,1 份置于 0 °C 60 min 作对照管,另 1 份置于 37 °C 温育 60 min 后测定血管紧张素 I 的浓度称为测定管,肾素活性可用下列公式表示:

肾素活性(ng/mL) = (测定管浓度 - 对照管浓度) / 温育时间(h)

1.6.2 血浆及心肌组织血管紧张素 II 及醛固酮浓度 抽循环血 2 mL,其中 1 mL 注入加有 EDTA、2-巯基乙醇、8-羟基喹啉的抗凝管中,另 1 mL 注入加有肝素的抗凝管中,离心,分离血浆。

取左室心尖部组织,按 1:15 的比例(V/W)加

入 0.2 mol/L 的冰醋酸,煮沸 15 min,组织匀浆机 14 000 r/s 匀浆 5 s × 3 次,4 °C 3 000 r/min(半径 92 mm)离心 15 min,取上清液。用放射免疫法测定血浆及心肌组织上清液血管紧张素 II 及醛固酮含量;用考马斯亮蓝法测定心肌组织上清液蛋白含量,结果用上清液中蛋白含量进行校正。试剂盒购于北京北方生物技术研究所。

1.7 统计学分析

以 SPSS11.0 统计软件进行统计学分析,计量资料用均数 ± 标准差表示;多组资料的检验用方差分析;P < 0.05 为差异有显著性。

2 实验结果

2.1 心肌梗死后脏器质量、血流动力学及 RAAS 系统的变化

与假手术组相比,心肌梗死对照组心脏质量指数、左室质量指数、肝体比和肺体比显著增高(P < 0.05),见表 1。

表 1 罗格列酮对心肌梗死大鼠心、肺和肝质量的影响

Table 1 Effects of rosiglitazone on heart, lung and liver mass of rats after myocardial infarction

Table with 7 columns: Groups, n, HM(mg · g⁻¹), LVMI(mg · g⁻¹), RVMI(mg · g⁻¹), Liver/body mass ratio(%), Lung/body mass ratio(%). Rows include Sham-operated, Infarction control, Rosiglitazone, F, and P values.

1)Compare with sham-operated group, P < 0.05 ; 2)Compare with infarction control group, P < 0.05

与假手术组相比,心肌梗死对照组左室舒张压和左室舒张末压明显升高(P < 0.05),而左

室 ± dp/dt_max 显著降低(P < 0.05),见表 2, 3。

表 2 罗格列酮对心肌梗死大鼠心率和血压的影响

Table 2 Effects of rosiglitazone on heart rate and blood pressure of rats after myocardial infarction

Table with 6 columns: Groups, n, Heart rate (min⁻¹), Systolic blood pressure (mmHg), Diastolic blood pressure (mmHg), Mean arterial pressure (mmHg). Rows include Sham-operated, Infarction control, Rosiglitazone, F, and P values.

表 3 罗格列酮对心肌梗死大鼠血流动力学的影响

Table 3 Effects of rosiglitazone on hemodynamic indexes of rats after myocardial infarction

Groups	<i>n</i>	LVSP (mmHg)	LVDP (mmHg)	LVEDP (mmHg)	+ dp/dt _{max} (mmHg/s)	- dp/dt _{max} (mmHg/s)
Sham-operated	5	103 ± 9	-1.4 ± 0.6	0.7 ± 1.3	4 330 ± 676	-3 697 ± 346
Infarction control	5	81 ± 5	10.5 ± 4.8 ¹⁾	12.5 ± 4.6 ¹⁾	2 110 ± 461 ¹⁾	-1 898 ± 383 ¹⁾
Rosiglitazone	5	95 ± 4	4.9 ± 1.9	6.2 ± 1.9	3 625 ± 221 ¹⁾²⁾	-2 981 ± 258 ¹⁾²⁾
<i>F</i>		2.671	3.954	3.962	5.372	7.399
<i>P</i>		> 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.01

1) Compare with sham-operated group, $P < 0.05$; 2) Compare with infarction control group, $P < 0.05$

与假手术组相比,心肌梗死对照组心肌局部血管紧张素 II 和醛固酮显著升高 ($P < 0.05$), 而血

浆肾素活性、血管紧张素 II 以及醛固酮无明显影响 ($P > 0.05$), 见表 4。

表 4 罗格列酮对心肌梗死大鼠肾素血管紧张素系统的影响

Table 4 Effects of rosiglitazone on plasma and myocardial renin-angiotensin-aldosterone system of rats after myocardial infarction

Groups	<i>n</i>	Plasma angiotensin II (ng/mL)	Myocardial angiotensin II (ng/mg)	Plasma renin activity (ng/mL)	Plasma aldosterone (ng/mL)	Myocardial aldosterone (ng/mg)
Sham-operated	7	0.50 ± 0.09	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0.05	0.64 ± 0.18	0.08 ± 0.02
Infarction control	7	0.58 ± 0.07	0.23 ± 0.02 ¹⁾	0.12 ± 0.04	1.14 ± 0.28	0.31 ± 0.05 ¹⁾
Rosiglitazone	7	0.60 ± 0.07	0.14 ± 0.01 ²⁾	0.10 ± 0.05	0.69 ± 0.22	0.19 ± 0.04 ²⁾
<i>F</i>		0.441	13.26	0.105	1.400	9.447
<i>P</i>		> 0.5	< 0.01	> 0.5	> 0.05	< 0.01

1) Compare with sham-operated group, $P < 0.05$; 2) Compare with infarction control group, $P < 0.05$

2.2 罗格列酮对脏器质量、血流动力学及 RAAS 系统的影响

与心肌梗死对照组相比,罗格列酮组明显降低肝体比和肺体比 ($P < 0.05$), 有降低心脏质量指数和左室质量指数的趋势, 但未达到统计学差异 ($P > 0.05$), 见表 1。

与心肌梗死对照组相比,罗格列酮组明显改善左室 $\pm dp/dt_{max}$ ($P < 0.05$); 有降低左室舒张压和舒张末压的趋势, 但未达到统计学差异 ($P > 0.05$); 对心率、动脉收缩压、动脉舒张压、平均动脉压和左室收缩压无明显影响 ($P > 0.05$), 见表 2, 3。

与心肌梗死对照组相比,罗格列酮组显著降低心肌局部血管紧张素 II 和醛固酮 ($P < 0.05$); 而对血浆肾素活性、血管紧张素 II 以及醛固酮无明显影响 ($P > 0.05$), 见表 4。

3 讨论

PPAR γ 是由配体激活的核转录因子, PPAR γ

与配体结合后, 在基因转录水平发挥转录调控作用。PPAR γ 最初由于无已知配体而被称为孤儿受体, 近年来发现 PPAR γ 存在多种配体和激活物, 可分为合成型和天然型配体两大类。天然型配体中 15-脱氧前列腺素 J α (15d-PGJ 2) 是 PPAR γ 的特异性配体; 合成型配体中噻唑烷二酮类药物 (TZDs) 是 PPAR γ 的特异性配体。以前认为 PPAR γ 仅存在于脂肪细胞, 调节脂肪细胞的分化, 近年发现 PPAR γ 广泛存在于多种细胞, 包括心肌细胞、心肌成纤维细胞、单核/巨噬细胞、内皮细胞、血管平滑肌细胞等。PPAR γ 除参与脂肪细胞的分化外, 对心血管系统许多基因的转录也有调节作用。

离体心脏实验表明, PPAR γ 激动药曲格列酮有直接的正性变力性、正性松弛性、负性变时性和冠状动脉扩张作用^[2]。PPAR γ 激动药通过抑制炎症反应而改善心脏功能。动物实验发现, 心肌缺血再灌注前给予 TZDs 或 15d-PGJ 2 均可明显缩小非糖尿病大鼠心肌梗死面积, 改善心脏功能, 其机制可能与抑制细胞间黏附分子-1、单核细胞趋化蛋白

-1 及诱导型一氧化氮合酶等基因表达有关^[3, 4]。Shiomi 等^[1]也发现,心肌梗死后给予帕格列酮虽然不缩小心肌梗死面积,但可以减轻心室重构和非梗死区纤维化,改善左室收缩和舒张功能;帕格列酮的效应可能与抑制左室心肌组织肿瘤坏死因子 α 、转化生长因子 β 1 和单核细胞趋化蛋白-1 基因表达有关。另外,PPAR γ 激动药通过改善心肌能量代谢而增强心脏功能。Zhu 等^[5]发现,使用曲格列酮 8 周后可增加非糖尿病猪心肌对乳酸的摄取,明显改善心肌缺血诱发的心功能不全。TZDs 治疗 6 个月至 48 周,明显改善糖尿病患者的心脏功能^[6]。

心肌局部的 RAAS,特别是血管紧张素 II 和醛固酮,与心肌梗死后心室重塑有密切的关系。一方面,血管紧张素 II 促进心肌细胞蛋白的合成及细胞表型的转变,即从收缩型表型向合成型表型转变,使肌肉最大缩短速度和张力发展速度减慢,最后导致心肌收缩功能下降。另一方面,血管紧张素 II 及醛固酮均使心肌间质胶原合成增加,血管紧张素 II 同时可以降低胶原酶活性,影响胶原的清除,导致心肌细胞外基质成分的改变及心肌间质纤维化。动物实验发现,心肌梗死大鼠左、右心室胶原含量和总量明显增加,且与心肌局部血管紧张素 II 变化基本一致,表明心肌血管紧张素 II 在心肌胶原生化改建的过程中可能起着重要的作用^[7]。心肌梗死后,在应用血管紧张素转换酶抑制剂的基础上加用醛固酮受体拮抗剂能更显著减少胶原的合成,缩小左室容积,表明醛固酮在心肌梗死后心室重塑中起重要作用^[8]。血管紧张素 II 是促进心室重塑的重要因子,体外实验发现,TZDs 和 15d-PGJ2 均可抑制血管紧张素 II 诱导的心肌细胞蛋白合成及骨骼肌型 α -actin 的表达^[9]。本实验发现,PPAR γ 激动药罗格列酮抑制心肌梗死大鼠心肌局部血管紧张素 II 水平。PPAR γ 激动药不但直接抑制血管紧张素 II 的促心室重塑作用,还通过下调心肌局部血管紧张素 II 水平而抑制心室重塑。

本研究发现,PPAR γ 激动药罗格列酮改善心肌梗死大鼠血流动力学,其机制部分可能与抑制心肌局部的 RAAS 系统,从而进一步抑制心肌梗死后心室重塑有关。PPAR γ 激动药罗格列酮抑制心肌局部血管紧张素 II 及醛固酮的机制尚不清楚,推测可能在基因水平抑制血管紧张素转换酶基因的表

达,进而抑制血管紧张素转换酶活性而实现的。有关 PPAR γ 激动药罗格列酮抑制心肌局部 RAAS 的确切机制,有待进一步实验证实。

(本实验肾素血管紧张素系统的测定得到中山大学附属第二医院内分泌实验室薛声能技师的大力帮助,谨此致谢)

参考文献:

- [1] Shiomi T, Tsutsui H, Hayashidani S, et al. Pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor γ agonist attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2002, 106(24): 3126-32.
- [2] Shimoyama M, Ogino K, Tanaka Y, et al. Hemodynamic basis for the acute cardiac effects of troglitazone in isolated perfused rat hearts[J]. *Diabetes*, 1999, 48(3): 609-15.
- [3] Yue T L, Chen J, Bao W K, et al. *In vivo* myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone[J]. *Circulation* 2001, 104(21): 2588-94.
- [4] Wayman N S, Hattori Y, McDonald M C, et al. Ligands of the peroxisome proliferator-activated receptors reduce myocardial infarct size[J]. *FASEB J*, 2002, 16(9): 1027-40.
- [5] Zhu P, Lu L, Xu Y, et al. Troglitazone improves recovery of left ventricular function after regional ischemia in pigs[J]. *Circulation* 2000, 101(10): 1165-71.
- [6] Hirayama H, Sugano M, Abe N, et al. Troglitazone, an antidiabetic drug, improves left ventricular mass and diastolic function in normotensive diabetic patients[J]. *International J Cardiol* 2001, 77(1): 75-9.
- [7] 黄英, 雷立权, 高广道等. 心肌梗死大鼠心室胶原生化改建与心脏肾素-血管紧张素系统的关系[J]. *华西医科大学学报* 2001, 32(1): 9-11.
- [8] Grazia M M, Fesc F, Pietro A, et al. Aldosterone inhibition limits collagen synthesis and progressive left ventricular enlargement after anterior myocardial infarction[J]. *Am Heart J* 2001, 141(1): 41-6.
- [9] Yamamoto K, Ohki R, Lee R T, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor γ activators inhibit cardiac hypertrophy in cardiac myocytes[J]. *Circulation*, 2001, 104(14): 1670-5.

(编辑 黄小延)