

血管紧张素-(1-7)对异丙肾上腺素所致大鼠急性心肌缺血的保护作用

郭颂然, 马虹, 何建桂

(中山大学附属第一医院心内科心脏监护室, 广东 广州 510080)

摘要: **目的** 探讨血管紧张素-(1-7) [Ang-(1-7)] 对异丙肾上腺素所致大鼠急性心肌缺血的保护作用。 **方法** 96 只 Wister 大鼠随机分为对照组、培哌普利组、Ang-(1-7) 组、培哌普利 + Ang-(1-7) 组, 每组 24 只。异丙基肾上腺素 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔内注射以制备急性心肌缺血动物模型, 同时, 治疗组分别以培哌普利 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 口服灌注及 Ang-(1-7) 经植入式微泵以 $25 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 持续静脉注入; 对照组以等量生理盐水输注。分别在第 48 h、第 7 天和第 14 天各处死 8 只, 处死前检测颈动脉血压、心率, 采血测定肌酸激酶、乳酸脱氢酶、超氧化物歧化酶, 计算心肌梗死总体积占全心肌体积的百分比。 **结果** 异丙基肾上腺素导致心肌梗死、血压升高、心率增快, 肌酸激酶、乳酸脱氢酶增高, 超氧化物歧化酶下降, $P < 0.05$ 。48 h 后, 培哌普利和 Ang-(1-7) 治疗组心肌梗死范围缩小、血压回落、心率减慢, 肌酸激酶、乳酸脱氢酶下降, 超氧化物歧化酶上升, 这种优势随治疗时间延长而明显。治疗第 14 天, 对照组、培哌普利组、Ang-(1-7) 组、培哌普利 + Ang-(1-7) 组心肌梗死总体积占全心肌体积的百分比分别为 $(9.8 \pm 0.6)\%$, $(5.9 \pm 0.5)\%$, $(5.6 \pm 0.3)\%$, $(4.2 \pm 0.3)\%$, 与对照组相比, 差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。培哌普利组和 Ang-(1-7) 组间比较显示 Ang-(1-7) 与培哌普利无差异, 但二者合用效果增强。 **结论** 血管紧张素-(1-7) 具心肌保护作用, 与培哌普利的效果相同; 二者合用保护作用更明显。

关键词: 血管紧张素-(1-7); 异丙基肾上腺素; 大鼠; 心肌缺血, 急性

中图分类号: R541.1; Q463

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)04-0326-04

Effects of Angiotensin-(1-7) on Acute Myocardial Ischemia Induced by Isoprenaline in Rats

GUO Song-ran, MA Hong, HE Jian-gui

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: **Objective** To investigate the protective effects of angiotensin-(1-7) [Ang-(1-7)] in acute myocardial ischemia induced by isoprenaline in rats. **Methods** Ninety-six Wister rats were randomized to four groups as follow: ① control, ② perindopril, ③ Ang-(1-7), ④ perindopril + Ang-(1-7), 24 rats in each group. Peritoneal injection with isoprenaline ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) to prepare the model of acute myocardial ischemia, at the same time, perindopril was started orally with $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ and intravenous infusion of angiotensin-(1-7) was started continuously with $25 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ by implanted osmotic minipumps in the treatment groups, isometric saline was started intravenously in control group. Forty-eight hours, 7 days, and 14 days after treatment, 8 rats were killed separately, the carotid artery systolic and diastolic blood pressure, heart rate were measured before executing, and plasma was taken for determination of creatine kinase (CK), lactic dehydrogenase (LDH), superoxide dismutase (SOD), at last the percentage of total myocardial infarction volume in whole myocardium volume was measured. **Results** Isoprenaline induced area of myocardial infarction

收稿日期 2004-02-24

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20020558064)

作者简介: 郭颂然(1972-), 男, 澳门特别行政区人, 在读博士生; 马虹, 博士生导师, 项目负责人. E-mail: youngkuok@163.com

tion blood pressure, heart rate, CK, LDH increased, and SOD decreased, $P < 0.05$. After 48 hours treatment, area of myocardial infarction, blood pressure, heart rate, CK and LDH decreased, and SOD increased in perindopril and Ang-(1-7) groups, this advantage was obviously significant with the treatment time prolonged. In 14 days, the percentage of total myocardial infarction volume in whole myocardium volume in control, perindopril, Ang-(1-7), and perindopril + Ang-(1-7) groups were $(9.8 \pm 0.6)\%$, $(5.9 \pm 0.5)\%$, $(5.6 \pm 0.3)\%$, and $(4.2 \pm 0.3)\%$, respectively. Compared to the control group, the difference was significant, $P < 0.05$. There was no difference between perindopril and Ang-(1-7) groups using single drug, but perindopril + Ang-(1-7) group (both drugs using together) had synergistic effect. 【Conclusion】Angiotensin-(1-7) has the effect of myocardial protection. Its efficacy is the same of perindopril. The effect is more prominent in using both drugs.

Key words : angiotensin-(1-7); isoprenaline; rats; myocardial ischemia, acute

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2004, 25(4): 326 - 329]

肾素-血管紧张素系统在心血管病的发生发展过程中起极其重要的作用。血管紧张素-(1-7) [Ang-(1-7)] 是肾素-血管紧张素系统中新发现的肽段。它可能是 Ang II 的内源性抑制因子,近年发现它具有许多与 Ang II 相拮抗的生理作用^[1]。我们对 Ang-(1-7) 也进行了系列研究,并发现 Ang-(1-7) 能抑制体外培养时 Ang II 诱导的心肌细胞肥大,减轻主动脉搏缩导致的心室肥厚并减轻心肌的缺血再灌注损伤^[2-4],因此我们推测在急性心肌梗死时 Ang-(1-7) 可能具有心肌保护作用。本实验应用改良的梗死范围计算方法,观察 Ang-(1-7) 对异丙基肾上腺素诱导的急性心肌缺血的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性 Wister 大鼠 96 只,8 周龄,体质量 250 ~ 280 g,由中山大学实验动物中心提供。实验药物 Ang-(1-7) 购于美国 Sigma 公司;植入式微量泵 (Model 2002) 及 100X Filling Tubes 购于美国 ALZET 公司;perindopril 由 Servier Company 惠赠;盐酸异丙基肾上腺素注射液 (isoprenaline hydrochloride, ISO) 购自上海禾丰制药有限公司;肌酸激酶、乳酸脱氢酶、超氧化物歧化酶测定试剂盒均购自南京建成生物制品研究所。

1.2 急性心肌缺血动物模型的制备

大鼠急性心肌缺血动物模型的制备参考 Rona 方法^[5],但改用较大剂量异丙基肾上腺素 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射 1 次。

1.3 实验分组和给药的途径

雄性 Wister 大鼠用随机表随机分为 4 组,每组 24 只。Ang-(1-7) 组、培哚普利 + Ang-(1-7) 组均在颈部皮下植入微量泵,经颈静脉插管持续注药,Ang-(1-7) 以 $25 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 持续微量泵经颈静脉注入,其余两组均行假手术,即在大鼠颈部植入微量泵,输注生理盐水;培哚普利组、培哚普利 + Ang-(1-7) 组将培哚普利溶于 1 mL 注射用水中,以 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌服,对照组、Ang-(1-7) 组口服灌注等量注射用水。

1.4 实验数据测定

在复制大鼠心肌缺血模型后 48 h、1 周和 2 周 (每次每组 8 只) 行颈动脉插管,测定主动脉收缩压、舒张压、心率,并经导管抽血查肌酸激酶、乳酸脱氢酶和超氧化物歧化酶,再以 100 g/L KCl 2 ~ 3 mL 经股静脉注入,使心脏停搏在舒张期;迅速开胸取出心脏,生理盐水清洗,吸干,放入量杯测量心脏容积 (包括心房和心室)。将心脏 8 等分后,用石蜡包埋,各等分均以心脏横轴面制作病理切片,共取 8 片,分别作 HE 染色。

心肌梗死体积占全心肌体积的百分比 (%) = Σ (每层心室肌梗死总面积 \times 每层的高度) / 整个心脏容积 $\times 100\%$, 每层心室肌梗死总面积 = (同层心室肌上下面的梗死面积 + 疤痕面积) / 2 (每层心室肌下面的梗死面积与疤痕面积为下一层心室肌上面的梗死面积与疤痕面积的投影)。以德国 Kaomrton IBAS2.5 型全自动图象处理系统对心室肌梗死面积、心室肌疤痕面积进行分析。方法:在相同的放大倍数下,将所有梗死灶的图象输入电脑,按 Rona 病理分级确定选定阳性部分^[5],测量心肌梗死、疤痕面积,求和得出每只大鼠心室肌梗死总

面积。

1.5 统计学方法

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析, 应用 SPSS 11.5 软件进行统计分析, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 血压、心率的变化

同组内比较, 经培哌普利和 Ang-(1-7) 治疗 14 d 后收缩压及心率较 48 h 时明显下降; 治疗第 14 天, 与对照组比较, Ang-(1-7) 组收缩压差异无统计学意义; 但培哌普利组及培哌普利 + Ang-(1-7) 组收缩压和心率差异有统计学意义。培哌普利 + Ang-(1-7) 组较单用培哌普利或 Ang-(1-7) 对收缩压及心率下降亦无明显影响, 见表 1。

表 1 用培哌普利和 Ang-(1-7) 后血压、心率的变化

Table 1 Effect of perindopril and angiotensin-(1-7) on blood pressure and heart rate ($n = 8$)

Group	Systolic blood pressure (mmHg)			Diastolic blood pressure (mmHg)			Heart rate (min^{-1})		
	48 h	7 d	14 d	48 h	7 d	14 d	48 h	7 d	14 d
Control	131.3 ± 4.3	128.5 ± 4.2	126.7 ± 2.7 ¹⁾	97.1 ± 4.8	94.8 ± 3.2	94.3 ± 2.7	460 ± 17	448 ± 24	453 ± 15
Perindopril	126.5 ± 2.6	124.2 ± 2.8	122.1 ± 2.8 ^{1),2)}	94.9 ± 2.8	93.8 ± 3.2	92.6 ± 2.4	425 ± 9 ^{1),2)}	414 ± 11 ^{1),2)}	398 ± 8 ^{1),2)}
Angiotensin-(1-7)	129.0 ± 2.6	127.9 ± 2.1	126.1 ± 2.7 ¹⁾	94.5 ± 2.5	94.5 ± 2.1	92.9 ± 1.7	428 ± 8 ^{1),2)}	417 ± 6 ^{1),2)}	403 ± 7 ^{1),2)}
Perindopril + Angiotensin-(1-7)	124.1 ± 3.3 ²⁾	121.8 ± 3.1 ²⁾	120.3 ± 3.0 ²⁾	90.4 ± 2.2	89.8 ± 3.5	89.5 ± 2.2	400 ± 5 ²⁾	394 ± 5 ²⁾	393 ± 8 ^{1),2)}

1) Compared with the same group in different time, $P < 0.05$; 2) Compared with control, $P < 0.05$

2.2 CK、LDH 和 SOD 的变化

与对照组比较, 培哌普利组、Ang-(1-7) 组及培哌普利 + Ang-(1-7) 组治疗 48 h 后, 血清 CK、LDH 和 SOD 水平差异均有统计学意义, 反映损伤的指标 CK 及 LDH 均下降, 间接反映组织修复的指标 SOD 升高, P 均 < 0.05 ; 培哌普利组与 Ang-(1-7) 组差异无统计学意义, 但培哌普利 + Ang-(1-7) 联合用药优于单用培哌普利或 Ang-(1-7), $P < 0.05$, 见表 2。

表 2 用培哌普利和 Ang-(1-7) 治疗 48 h 后 CK、LDH 和 SOD 的变化

Table 2 Effect of perindopril and angiotensin-(1-7) on creatine kinase, lactic dehydrogenase and superoxide dismutase for 48 hours ($n = 8, \mu\text{g/L}$)

	Creatine kinase	Lactic dehydrogenase	Superoxide dismutase
Control	880.4 ± 26.4	358.2 ± 33.5	121.9 ± 8.2
Perindopril	605.8 ± 36.2 ¹⁾	311.0 ± 18.4 ¹⁾	151.3 ± 6.6 ¹⁾
Angiotensin-(1-7)	576.2 ± 28.1 ¹⁾	305.6 ± 20.5 ¹⁾	156.8 ± 6.0 ¹⁾
Perindopril + Angiotensin-(1-7)	555.1 ± 32.9 ¹⁾	304.3 ± 17.4 ¹⁾	187.6 ± 10.6 ¹⁾

1) Compared with control, $P < 0.05$

2.3 心肌梗死范围的变化

同组内不同时间点之间差异有统计学意义, 治疗时间越长心肌梗死范围越小。与对照组比较, 培哌普利组、Ang-(1-7) 组及培哌普利 + Ang-(1-7) 组心肌梗死总体积占心肌总体积的百分比差异有统计学意义, 且 Ang-(1-7) 组与对照组比较心肌梗死范围缩小 40%; 培哌普利组与 Ang-(1-7) 组差异无统计学意义, 但二者联合用药优于单用培哌普利或单用 Ang-(1-7), $P < 0.05$, 见表 3。

表 3 用培哌普利和 Ang-(1-7) 后心肌梗死范围的变化

Table 3 Effect of perindopril and angiotensin-(1-7) on the area of myocardial infarction ($n = 8, \%$)

	48 h	7 d	14 d
Control	13.3 ± 0.5	12.0 ± 1.2 ¹⁾	9.8 ± 0.6 ¹⁾
Perindopril	11.4 ± 0.4 ^{1),2)}	9.8 ± 0.4 ^{1),2)}	5.9 ± 0.5 ^{1),2)}
Angiotensin-(1-7)	10.7 ± 0.5 ^{1),2)}	9.4 ± 0.3 ^{1),2)}	5.6 ± 0.3 ^{1),2)}
Perindopril + Angiotensin-(1-7)	9.2 ± 0.3 ^{1),2),3)}	8.3 ± 0.3 ^{1),2),3)}	4.2 ± 0.3 ^{1),2),3)}

1) Compared with the same group in different time, $P < 0.05$; 2) Compared with control, $P < 0.05$; 3) Compared with perindopril and angiotensin, $P < 0.05$

3 讨论

本实验在计算急性心肌梗死范围的方法上作了改进创新。既往在结扎冠状动脉分支造成急性心肌梗死的模型中,一般用质量法估计梗死范围。把肉眼所见坏死部分剪下后称其质量与心脏总质量的比来计算梗死范围的百分比,其缺点是操作时分割不准确以及肉眼所见的坏死区并不能真正代表坏死区,因此误差较大。由异丙基肾上腺素(ISO)导致急性心肌缺血模型中,常用梗死面积来评估梗死的范围,但梗死灶是散在的,且范围小、大小不一,无法分割,故用面积法估计梗死范围并不准确。本实验应用体积观念来评估梗死的范围,比质量法或面积法精确可靠。

血管紧张素-(1-7) [Ang-(1-7)] (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro) 是肾素-血管紧张素系统(RAS)的新成员,由Ang II或Ang I在血管紧张素转换酶2(ACE2)、中性内肽酶(NEP)、羧基肽酶的作用下转化而成^[6],它具有扩张血管(包括冠状动脉)^[7]、降低血压作用^[8]、利尿、利钠、调节水钠平衡作用,抑制血管平滑肌细胞增殖^[9]等作用。大量临床和实验结果证实,血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)对缺血心肌具有显著的保护作用。用ACEI后,可以减少Ang I转化为Ang II,使Ang I转化为Ang-(1-7)的量增多^[10]。Ang-(1-7)是ACEI抗心肌缺血机理中的一个重要环节。儿茶酚胺类药物异丙基肾上腺素可引起心肌损伤,造成弥漫性、局灶性、心肌坏死,直接或间接激活RAS,使心肌组织中由Ang I生成Ang II水平增高。

我们以往的工作证实,Ang-(1-7)能抑制体外培养时Ang II诱导的心肌细胞肥大,减轻主动脉狭窄导致的心室肥厚,对缺血再灌注损伤的心肌有明显的保护作用^[2-4]。本实验采用异丙基肾上腺素(ISO)制备急性心肌缺血模型,通过口服培哌普利和Ang-(1-7)持续静脉注射来观察其对大鼠急性缺血心肌的保护作用。实验结果显示,Ang-(1-7)能明显降低动物血清肌酸激酶、乳酸脱氢酶的水平,增强超氧化物歧化酶的活性,使心肌梗死范围缩小40%,其效果与大剂量培哌普利相当,若二药合用,

可使心肌梗死范围缩小55%,表明Ang-(1-7)和ACEI在抗心肌缺血方面有明显的增强作用,其具体机制有待进一步阐明。

参考文献:

- [1] Roks A J, vanGeel P P, Pinto Y M, *et al.* Angiotensin-(1-7) is a modulator of the human rennin angiotensin system [J]. *Hypertension*, 1999, 34(2): 296-301.
- [2] 廖新学, 马虹, 何建桂, 等. 血管紧张素-(1-7)对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2003, 24(5): 451-4.
- [3] 何建桂, 马虹, 廖新学, 等. 血管紧张素-(1-7)对腹主动脉缩窄大鼠的抗心肌肥厚效应[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2003, 5(4): 262-4.
- [4] 曾武涛, 马虹, 何建桂, 等. 血管紧张素-(1-7)在血管紧张素II诱导心肌细胞肥大中的作用[J]. *中华心血管病杂志*, 2000, 28(6): 460-1.
- [5] Rona G, Chappe C I, Balazs T, *et al.* An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat [J]. *Arch Pathol*, 1959, 67(4): 443-55.
- [6] Benter I F, Diz D I, Ferrario C M. Cardiovascular actions of angiotensin(1-7) [J]. *Peptides*, 1993, 14(4): 679-84.
- [7] Buikema H, Monnink S H, Tio R A, *et al.* Comparison of zofenopril and lisinopril to study the role of the sulfhydryl-group in improvement of endothelial dysfunction with ACE-inhibitors in experimental heart failure [J]. *Br J Pharmacol*, 2000, 130(6): 1999-2007.
- [8] Iyer S N, Ferrario C M, Chappell M C. Angiotensin-(1-7) contributes to the antihypertensive effects of blockade of the rennin angiotensin system [J]. *Hypertension*, 1998, 31(2): 356-61.
- [9] Tallant E A, DizDebra I, Ferrario C M. Antiproliferative actions of angiotensin-(1-7) in vascular smooth muscle [J]. *Hypertension*, 1999, 34(4, Part 2): 950-7.
- [10] Luque M, Martin P, Martell N, *et al.* Effects of captopril related to increased levels of prostacyclin and angiotensin-(1-7) in essential hypertension [J]. *J Hypertens*, 1996, 14(6): 799-805.

(编辑 黄小延)