

• 论著 •

药物对压力超负荷性心肌肥大的干预作用研究

王国平 曹荣辉 杜永刚 张子彦 吕吉元 陈树兰 乔中东

【摘要】目的 观察高血压心肌肥厚形成过程中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、血管紧张素 I (Ang I) 和内皮素-1(ET-1)水平及血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)与 β 受体阻滞剂干预作用的关系。**方法** 采用腹主动脉缩窄法复制压力超负荷性心肌肥大大鼠模型。63 只大鼠随机分为假手术组($n=15$)、压力负荷组($n=16$)、咪哒普利组($n=16$)和卡维地洛组($n=16$)；于术后 12 周分别测定各组动物的心肌肥大指数、左心室心肌 Ang I、TNF- α 和 ET-1 及血浆 Ang I、血清 TNF- α 和 ET-1 含量。心室肌与血浆 Ang I 和 ET-1 含量测定采用放射免疫法,心室肌与血清 TNF- α 含量测定采用酶联免疫吸附法。**结果** 术后 12 周压力负荷组左心室心肌明显肥大,心室肌 TNF- α 、Ang I、ET-1 含量,血清 TNF- α 、血浆 Ang I 以及 ET-1 含量均比假手术组增高(P 均 <0.01)。咪哒普利和卡维地洛均可显著抑制心肌肥大的发展,咪哒普利可使心室肌与血清 TNF- α 含量下降(P 均 <0.01)；卡维地洛使心室肌与血清 TNF- α 含量下降,但均未恢复到假手术组水平；咪哒普利干预可使心室肌与血浆 Ang I 含量下降,与压力负荷组比较差异有显著性($P<0.01$)；卡维地洛干预虽可使心室肌与血浆 Ang I 含量下降(P 均 <0.01)。但与压力负荷组比较差异不明显(P 均 >0.05)。咪哒普利组干预可使心室肌与血浆 ET-1 含量下降 24.4%和 15.6%；卡维地洛干预可使心室肌与血浆 ET-1 含量下降 29.3%和 23.5%。**结论** 压力负荷可增加 Ang I 含量,引起 TNF- α 含量升高,可能是压力超负荷性心肌肥大的主要调控路径之一。

【关键词】 心肌肥厚；大鼠；咪哒普利；卡维地洛；肿瘤坏死因子- α ；血管紧张素 I

Study of effects of drugs on myocardial hypertrophy due to overload WANG Guo-ping*, CAO Rong-hui, DU Yong-gang, ZHANG Zi-yan, LÜ Ji-yuan, CHEN Shu-lan, QIAO Zhong-dong. * Department of Cardiology, Changzhi People's Hospital, Changzhi 046000, Shanxi, China

【Abstract】Objective To study the relation of expression change of tumor necrosis factor- α (TNF- α), angiotensin I (Ang I), and endothelin-1 (ET-1), and the effect of imidapril on myocardial hypertrophy due to overload. **Methods** Sixty-three rats were randomly divided into four groups: sham operation ($n=15$), overload group ($n=16$), imidapril group ($n=16$), and Caweidiluo group ($n=16$). Hypertrophic myocardium was reproduced in rats by constricting abdominal aorta. Blood samples and heart were harvested 12 weeks after aorta constriction, and myocardial hypertrophy index, the contents of Ang I, ET-1 in the myocardium and plasma were determined by radioimmunoassay and TNF- α in the myocardium and plasma were determined by enzyme linked immunosorbent assay. **Results** Left ventricle showed obvious hypertrophy 12 weeks after operation. The contents of TNF- α , Ang I and ET-1 in the myocardium, and the content of TNF- α in serum, Ang I and ET-1 in plasma were increased compared with those of controls (all $P<0.01$). The treatment of imidapril and Caweidiluo could restrain the development of left ventricle hypertrophy after operation, and imidapril decreased the contents of TNF- α , Ang I and ET-1 in myocardium compared with overload group (all $P<0.01$). Imidapril lowered the contents of TNF- α in serum, Ang I and ET-1 in plasma, compared with overload group (all $P<0.01$), but not ET-1. Caweidiluo lowered the contents of TNF- α , Ang I and ET-1 in myocardium, the contents of TNF- α in serum, Ang I and ET-1 in plasma (all $P<0.01$) compared with overload group (both $P<0.01$). **Conclusion** The activation of rennin-angiotensin system (RAS) by over load results to an elevation of TNF- α contents in plasma and myocardium, and it is probably one of the major regulatory pathways of myocardial hypertrophy.

【Key words】 cardiac hypertrophy; mice; imidapril; Caweidiluo; tumor necrosis factor- α

基金项目:山西省长治市科技重点星火资助项目(04008)

作者单位:046000 山西省长治市人民医院心血管内科(王国平,曹荣辉,杜永刚);绍兴文理学院医学院附属医院(张子彦);山西医科大学第一医院心血管内科(吕吉元);宁夏医学院附属医院(陈树兰);上海交通大学分子生物学中心实验室(乔中东)

作者简介:王国平(1960-),男(汉族),山西省长治市人,医学硕士,副主任医师,主要从事高血压及心力衰竭的发病机制和防止研究。

心肌肥大是心肌细胞对持续负荷增加的一种适应性反应。初期的心肌肥大有一定代偿意义,但心肌肥大过程中发生的心肌重建(remodeling)最终可致心力衰竭。目前对心肌肥大的发病机制仍不完全明确。本研究中通过制备大鼠心肌肥大模型,观察咪哒普利及卡维地洛干预下肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与血管紧张素 I (Ang I)的变化及其相互关系。

1 材料和方法

1.1 动物模型:成年健康 Wistar 大鼠,体重 220~280 g,由浙江大学实验动物中心提供。随机分为 4 组,假手术组 15 只,其余各组 16 只。①压力负荷组:采用戊巴比妥钠复合麻醉后,于左肾动脉上方小心分离约 3 mm 长的腹主动脉,套以内径 0.8 mm 的银夹缩窄腹主动脉,术后常规饲养 12 周。②假手术组:除不以银夹缩窄腹主动脉外,其余操作同压力负荷组。③咪哒普利组:腹主动脉缩窄术后 6 周,以自由饮水方式给予咪哒普利 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。④卡维地洛组:腹主动脉缩窄术后 6 周,以自由饮水方式给予卡维地洛 $12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (上海罗氏公司生产)。各组分别在术后 12 周以戊巴比妥钠麻醉后称重,腹主动脉采血。测量全心重、右室游离壁重和左心室重(包括左室游离壁和室间隔),并计算心室重与体重比值(Hermann Wilson 公式)作为心肌肥大指数。

1.2 血浆及左室心肌组织 Ang II、ET-1 含量测定:将大鼠腹腔动脉血 2.5 ml 置于含抗凝剂和抑制剂[0.3 mol/L 乙二胺四乙酸二钠(EDTA·Na₂), 0.34 mol/L 8-巯基丙醇]的试管中,4 000×g 离心 15 min;另取左心室肌组织约 500 mg,剪碎,加入 0.1 mol/L 醋酸 3 ml,置于超声匀浆器制备组织匀浆,上述操作均在冰浴中进行;心肌匀浆 100 000×g 离心 20 min,取上清液以放射免疫法(试剂盒由北京福瑞生物公司提供)测定 Ang II 和 ET-1 含量。

1.3 血清及左心室肌组织 TNF-α 含量测定:将大鼠腹腔动脉血 1.5 ml 置于无热源试管中,4 000×g 离心 15 min;取左心室肌组织约 500 mg,剪碎,加入 3 ml 冰冻生理盐水,置于超声匀浆器中制备组织匀浆,13 800×g 离心 10 min。取上清液以酶联免疫吸附法(ELISA,试剂盒由深圳晶美生物公司提供)测定 TNF-α。

1.4 统计学处理:数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据处理根据方差齐性分析的结果,采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 腹主动脉缩窄术后 12 周各组心室重与体重比值变化($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Change of ratio of ventricular weight and body weight in each group($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	体重(kg)	心室重(g)	心室重/体重	左心室重/体重	右心室重/体重
假手术组	15	0.34±0.33	1.01±0.11	2.95±0.11	2.06±0.09	0.87±0.01
压力负荷组	16	0.35±0.33	1.49±0.20	4.40±0.53 [△]	3.40±0.04 [△]	0.86±0.01
咪哒普利组	16	0.33±0.34	1.02±0.12	3.20±0.30 [#]	2.39±0.03 [#]	0.82±0.11
卡维地洛组	16	0.33±0.34	1.03±0.13 [#]	3.30±0.40 [#]	2.40±0.02 [#]	0.82±0.11

注:与假手术组比较,[△] $P < 0.01$;与压力负荷组比较,[#] $P < 0.01$

2 结果

2.1 压力负荷增加后心室重与体重比值(表 1):大鼠腹主动脉缩窄术后 12 周,压力负荷组心室重/体重比值及左心室重/体重比值分别高出假手术组 49%和 65%;右心室重/体重比值与假手术组相比差异无显著性。咪哒普利组心室重/体重及左心室重/体重比值均显著低于压力负荷组(P 均 < 0.01);卡维地洛组心室重/体重比值及左心室重/体重比值也均显著低于压力负荷组(P 均 < 0.01)。

2.2 压力负荷增加致血浆和心肌 Ang II 含量变化(表 2):大鼠腹主动脉缩窄术后 12 周,压力负荷组血浆和心肌 Ang II 含量均较假手术组显著升高(P 均 < 0.01);术后咪哒普利组与卡维地洛组大鼠血浆和心肌 Ang II 浓度均较压力负荷组及假手术组明显降低(P 均 < 0.01)。

2.3 压力负荷增加致血清和心肌 TNF-α 含量变化(表 2):大鼠腹主动脉缩窄术后 12 周,压力负荷组血清和心肌 TNF-α 含量均较假手术组明显增加(P 均 < 0.01),使用咪哒普利干预后血清和心肌 TNF-α 含量均明显降低,而且与卡维地洛组比较更明显。

表 2 各组大鼠血浆、心肌 Ang II 和血清、心肌 TNF-α 含量变化($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of Ang II level in plasma and myocardial tissue as well as TNF-α level in serum and myocardium in each group($\bar{x} \pm s$) μmol/L

组别	动物数(只)	血浆 Ang II	心肌 Ang II	血清 TNF-α	心肌 TNF-α
假手术组	15	0.160±0.040	0.160±0.050	0.068±0.024	0.068±0.024
压力负荷组	16	0.320±0.050 [△]	0.310±0.050 [△]	0.480±0.150 [△]	0.544±0.170 [△]
咪哒普利组	16	0.132±0.023 [#]	0.127±0.034 [#]	0.105±0.130 [#]	0.102±0.120 [#]
卡维地洛组	16	0.221±0.022 [#]	0.227±0.031 [#]	0.153±0.020 [#]	0.172±0.030 [#]

注:与假手术组比较,[△] $P < 0.01$;与压力负荷组比较,[#] $P < 0.01$

2.4 压力负荷增加致血浆和心肌 ET-1 含量变化(表 3):卡维地洛组治疗后血浆及心肌 ET-1 含量较压力负荷组均明显下降(P 均 < 0.01);咪哒普利组治疗后血浆及心肌 ET-1 含量较压力负荷组也有明显下降($P < 0.01$),但不如卡维地洛组。

表 3 各组大鼠血浆和心肌 ET-1 含量变化($\bar{x} \pm s$)Table 3 Concentrations of ET-1 in plasma and myocardium in the each group($\bar{x} \pm s$) ng/L

组别	动物数(只)	血浆 ET-1	心肌 ET-1
假手术组	15	36.78 ± 9.60	36.70 ± 16.40
压力负荷组	16	76.75 ± 12.40 [△]	55.05 ± 11.60 [△]
咪哒普利组	16	64.80 ± 15.40 [#]	41.60 ± 10.30 [#]
卡维地洛组	16	58.70 ± 16.30 [#]	38.90 ± 7.80 [#]

注:与假手术组比较:△ $P < 0.01$;与压力负荷组比较:[#] $P < 0.01$

2.5 相关性分析:左心室重/体重比值与 TNF- α 、Ang II 和 ET-1 均呈明显正相关($r_1 = 0.681, P < 0.01; r_2 = 0.561, P < 0.05; r_3 = 0.556, P < 0.05$)。

3 讨论

高血压患者出现左室舒张功能障碍常常早于收缩功能障碍。本研究结果发现,大鼠腹主动脉缩窄术后 12 周压力负荷下导致明显心肌肥厚时,虽然未进行心功能测定,但接受压力负荷的各组均未出现明显的呼吸困难,未见肺淤血和水肿等表现。随着负荷时间的延长,首先出现心肌局部 Ang II、ET-1 和 TNF- α 表达上调,继而出现周围血循环中 Ang II、ET-1 和 TNF- α 的改变。

曾有报道,在大鼠腹主动脉缩窄术后 6 周,未检测到血清 TNF- α ^[1]。也有给予外源性 Ang-1~7 能减轻压力负荷增高所导致的心肌胶原网络重塑的报道^[2]。本研究结果显示,大鼠压力负荷下 12 周,各组均出现了血浆及心肌 Ang II、ET-1 以及血清和心肌 TNF- α 的改变;咪哒普利和卡维地洛干预治疗 6 周后,血浆及心肌 Ang II、ET-1 和血清及心肌 TNF- α 均有明显下降,且血清 TNF- α 与左心室重/体重比值的相关性要大于 Ang II 和 ET-1 与左心室重/体重的相关性,表明 TNF- α 与左心室重/体重比值可能更具有直接的关系。

腹主动脉缩窄术后咪哒普利及卡维地洛干预使心肌肥大程度显著减轻,也使心肌及血清中 TNF- α 的表达基本维持在假手术组水平。这一结果提示压力负荷性心肌肥大、心肌 Ang II、ET-1 和 TNF- α 四者之间存在着内在的相互联系。

目前认为,组织局部的神经内分泌激素在导致左室肥厚中作用更重要,参与了心肌肥厚的形成过程,尤其是 Ang II、ET-1 等。ET-1 可增加血管平滑肌、心肌细胞、成纤维细胞中的 DNA 合成,诱导蛋白质合成,可引起原癌基因的表达及细胞的增生、肥大。通过自分泌或旁分泌作用于局部的 ET-1 要比循环中的 Ang II、ET-1 更重要^[3]。Ca²⁺ 是心肌细胞中许多重要的信号传导通路的调节因子,细胞内

Ca²⁺ 超载是促使心肌肥厚的重要因素之一^[4]。咪哒普利是一种含羧基的血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI),可抑制 Ang II 的生成。本研究结果也证实 Ang II 是介导心肌肥厚的主要因子,因此具有抑制左心室重构的作用,可抑制动脉粥样硬化,改善左心室功能,我们在研究中曾经发现咪哒普利可降低 Na⁺-Ca²⁺ 交换体基因表达,降低压力超负荷大鼠心室肌细胞内游离钙的浓度;而且疗效不受基础 Ang II 转换酶活性、血钠及血肌酐浓度的影响^[5]。

β 受体阻滞剂卡维地洛可降低血浆儿茶酚胺水平,降低心肌耗氧量,降低血浆 Ang II、ET-1 及血清 TNF- α 水平;同时卡维地洛是一个强有力的抗氧化剂,可减少心血管氧化损伤,减少心肌细胞死亡和凋亡,从而改善心脏功能而延续病情的发展^[6]。

本实验研究由于样本量少,观察时间短有待积累大样本进一步观察。在今后的研究中还观察其对心血管和肾脏的保护作用,以利于针对血管重塑的关键环节如内皮不良功能、细胞生长和凋亡的不平衡等对高血压疾病进行积极有效的防治;重点探讨受钠蛋白、受钙蛋白及神经钙调节蛋白之间改变的相互关系^[7,8],以便进一步阐述心肌结构重塑与心肌电重塑和神经重塑的关系,为心肌肥厚的治疗提供理论支持。

参考文献:

- 1 苏兴利,高广道,张润歧,等.压力超负荷性肥大心肌中血管紧张素 I 和肿瘤坏死因子 α 表达的变化及其相互关系[J].中国动脉硬化杂志,2003,11:317-319.
- 2 何建桂,黄艺仪,马虹,等.血管紧张素-(1-7)对压力负荷增高大鼠心肌胶原网络重塑的影响[J].中国危重病急救医学,2004,16:523-526.
- 3 Kudoh S, Komuro I, Mizuno T, et al. Angiotensin I stimulates c-jun NH₂-terminal kinase in cultured cardiac myocytes of neonatal rats[J]. Circ Res, 1997, 80: 139-146.
- 4 黄艳,季勇.阿米洛利对大鼠压力超负荷性心肌肥厚的抑制作用[J].江苏药学与临床研究,2003,11:764-769.
- 5 Hirota Y, Kawamura K, Ooyasi A, et al. Phase I study of TA-6366(1)-single oral administration[J]. J Clin Ther Med, 1992, 8: 507-522.
- 6 王国平,尹长珍,吕吉元.卡维地洛治疗慢性心力衰竭的疗效研究及其血浆 sFas 的干预作用[J].中国药物与临床杂志,2004,4:544-546.
- 7 Varagic J, Frohlich E D. Local cardiac rennin-angiotensin system: hypertension and cardiac failure[J]. J Mol Cell Cardiol, 2002, 34: 1435-1442.
- 8 Zou J, Hiroi J, Uozumi H, et al. Calcineurin plays a critical role in the development of pressure overload-induced cardiac hypertrophy[J]. Circulation, 2001, 104: 97-101.

(收稿日期:2005-06-14 修回日期:2005-07-22)

(本文编辑:李银平)