

依那普利、硝苯吡啶和洛伐他汀对家兔实验性动脉粥样硬化的影响

严 苏 王声愿 蒋文平 刘 强^① 邓海珍^①

(苏州医学院附属第一医院心内科, 苏州 215006)

主题词 动脉粥样硬化; 模型, 心血管; 钙通道阻滞剂; 依那普利; 硝苯吡啶; 洛伐他汀; 血管紧张素转化酶抑制剂; β 羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶; 家兔

摘 要 为探讨依那普利、硝苯吡啶和洛伐他汀对高胆固醇兔动脉粥样硬化的影响, 本文将37只新西兰雄性白兔随机分为正常饮食组、胆固醇组、依那普利组、硝苯吡啶组和洛伐他汀组, 后三组在高胆固醇饮食的基础上给相应药物。喂养16周后处死所有动物, 测定主动脉组织中胆固醇含量及斑块面积比。结果发现, 依那普利和硝苯吡啶不影响血脂水平, 洛伐他汀有降低胆固醇、甘油三脂及低密度脂蛋白的作用, 洛伐他汀组低密度脂蛋白/高密度脂蛋白的比值明显低于胆固醇组、依那普利组和硝苯吡啶组。各组主动脉组织中胆固醇含量分别为 1.06 ± 0.16 、 4.95 ± 1.19 、 2.57 ± 0.62 、 3.42 ± 0.90 、 3.12 ± 0.52 mg/g 主动脉湿重; 斑块面积百分比分别为 0 、 $38.93\% \pm 7.97\%$ 、 $19.98\% \pm 4.42\%$ 、 $27.79\% \pm 8.28\%$ 、 $18.94\% \pm 6.75\%$; 依那普利、硝苯吡啶和洛伐他汀三组的斑块面积均较胆固醇组明显减少 ($P < 0.01$)。结果提示, 洛伐他汀能抑制高胆固醇血症, 防止粥样斑块的形成, 而依那普利和硝苯吡啶不影响高脂血症, 却能保护动脉壁, 预防和减轻粥样斑块的形成, 它们抗动脉粥样硬化的途径是各不相同的。

Effects of Enalapril, Nifedipine and Lovastatin on Experimental Atherosclerosis in Rabbits

YAN Su, WANG Sheng-Yuan, JIANG Wen-Ping, LIU Qiang and DENG Hai-Zhen

(The First Affiliated Hospital of Suzhou Medical College, Suzhou 215006, China)

MeSH Atherosclerosis; Model, Cardiovascular; Calcium Channel Blockers; Enalapril; Nifedipine; Lovastatin; Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors; Hydroxymethylglutaryl CoA Reductases; Rabbits

ABSTRACT **Aim** To investigate enalapril, nifedipine and lovastatin had the effects on experimental atherosclerosis in cholesterol-rabbits. **Methods** Thirty-seven rabbits were divide into five groups accidentally. Group A received normal chow, group B received cholesterol, group C received cholesterol plus enalapril, group D received cholesterol plus nifedipine and group E received cholesterol plus lovastatin. All rabbits were fed for sixteen weeks. At the end of the study, all animals were killed to determine the aortas cholesterol concentration and the percentage of aortic lesions covering the intimal surface. **Results** Enalapril and nifedipine didn't affect lipid level. Lovastatin reduced total cholesterol, triglyceride, and LDL level. The LDL/HDL ratio was less in lovastatin group than that in cholesterol, enalapril, and nifedipine groups. The aortas cholesterol concentration and the plaque square in all drug groups were lower than in cholesterol group ($P < 0.05$). **Conclusion** These three drugs had the effects of prophylaxis in experimental atherosclerosis.

本文采用高胆固醇喂养的兔作为粥样斑块形成的模型, 分别喂以依那普利、硝苯吡啶和洛伐他汀, 观察它们对高胆固醇兔动脉粥样硬化的影响, 探讨其抗粥样斑块的机制。

1 材料和方法

1.1 动物及分组

精选37只新西兰雄性大耳白兔, 平均体重为 2.12 ± 0.22 kg, 随机分为五组, 分笼喂养。正常对照

组3只, 喂普通饲料; 胆固醇组9只, 高胆固醇饮食(胆固醇 1.5 g/只+猪油 2 g/只)^[1]; 依那普利组8只, 高胆固醇饮食+依那普利 20 mg/只^[2]; 硝苯吡啶组8只, 高胆固醇饮食+硝苯吡啶 40 mg/只^[3]; 洛伐他汀组9只, 高胆固醇饮食+洛伐他汀 30 mg/只^[4]。胆固醇粉和药物称量后混入定量猪油中, 再与饲料拌匀, 观察其完全吃完, 五组均喂养16周。

1.2 血清学检查

实验前测兔血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)及低密度脂蛋白

^①苏州医学院病理学教研室

(low density lipoprotein, LDL)水平。实验开始后每二周测 TC,第8周及第16周加测 TG、HDL 及 LDL。所有指标均采用《全国临床检验操作规程》中规定的酶法测定^[5]。

1.3 斑块面积比计算

取主动脉弓垂直部到髂动脉分叉一段血管,染色后用计算机转换为数字灰度图像,分别计算出斑块面积和血管总面积,即得斑块面积比。

1.4 主动脉组织中胆固醇含量测定

取主动脉瓣上2 cm 到主动脉弓垂直部起始处一段血管,经生理盐水漂洗、吸干后称重、剪碎,在超声粉碎机中匀浆2 min,然后加入脂质提取液抽提脂质^[6],测 TC 含量,最后换算出每克主动脉湿重组织中所含的胆固醇量。

1.5 光镜标本制作

动物过量麻醉致死,解剖并分离出主动脉,在主动脉弓下缘顶点处水平切下,固定后用苏丹Ⅳ染

色,然后取血管上缘2~3 mm 制成蜡块,行常规染色和组织化学特异性染色。

1.6 电镜标本制作

动物过量麻醉致死,迅速打开胸腹腔,在主动脉瓣及此上2 cm 处切断血管,浸入4%戊二醛固定,然后冲洗、脱水、包埋,制成标本用日立 H-600型电镜观察。

1.7 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间和组内实验前后比较用 t 检验,三组间比较采用 F 检验后继以秩和检验。

2 结果

2.1 各组血清总胆固醇测定值

由表1(Table1)可知,除正常组外,各组实验期 TC 浓度均高于实验前($P<0.0005$)。胆固醇、依那普利和硝苯吡啶三组间差异不显著($P>0.05$)。洛伐他丁组 TC 浓度明显低于前三组($P<0.01$)。

表1. 各组血清胆固醇值

Table 1. The concentration of total cholesterol in all groups ($\bar{x} \pm s$)

Weeks	Normal group	Cholesterol group	Enalapril group	Nifedipine group	Lovastatin group
0	1.78±0.06	1.94±0.40	1.85±0.16	1.80±0.16	1.91±0.25
2	1.80±0.14	6.07±2.51	8.20±2.27	4.37±1.42	2.91±0.72
4	1.86±0.13	9.63±3.61	9.05±3.06	9.73±1.87	2.84±0.99
6	1.94±0.04	19.91±5.83	16.00±3.34	19.69±2.53	3.17±1.19
8	1.90±0.06	24.24±5.19	18.10±3.35	21.24±3.33	4.63±2.32
10	1.91±0.10	22.75±4.00	19.96±2.15	23.99±3.01	4.30±1.87
12	1.94±0.11	24.22±6.40	21.63±2.40	20.23±2.73	4.04±1.39
14	1.91±0.09	23.20±3.27	22.43±1.82	22.16±3.02	4.04±1.54
16	1.90±0.19	23.02±3.21*	21.65±0.90*	22.24±1.51*	3.64±1.03*

a: $P<0.0005$, compared with normal group.

2.2 各组血清甘油三酯、低密度脂蛋白及低密度脂蛋白/高密度脂蛋白的测定值

由表2 (Table2)可知,胆固醇、依那普利和硝苯吡啶三组之间 TG 水平无显著性差异($P>0.05$),洛伐他丁组较前三组有明显的降 TC 作用($P<0.05$); LDL 在胆固醇组、依那普利和硝苯吡啶三组间无明

显差异($P<0.05$),洛伐他丁组 LDL 较前三组明显降低($P<0.05$)。除正常组外,各组 LDL/HDL 比值均较实验前明显升高($P<0.05$),但洛伐他丁组该比值较胆固醇、依那普利和硝苯吡啶三组明显低($P<0.05$),后三组无显著性差异。

表2. 各组血清甘油三酯、低密度脂蛋白和低密度脂蛋白/高密度脂蛋白测定值

Table 2. Comparison of TG, LDLC and LDL/HDL in rabbits at 0 and 16th week ($\bar{x} \pm s$)

Index	Normal group		Cholesterol group		Enalapril group		Nifedipine group		Lovastatin group	
	0	16W	0	16W	0	16W	0	16W	0	16W
TG	2.670±0.15	2.85±0.12	3.07±0.70	4.14±0.30 ^a	2.92±0.28	3.85±0.60 ^a	2.61±0.24	5.05±2.48 ^a	2.85±0.40	2.10±0.58 ^b
LDL	0.83±0.10	0.91±0.19	1.00±0.44	21.29±0.83 ^a	0.83±0.10	19.12±0.39 ^a	0.93±0.10	20.53±1.68 ^a	0.94±0.18	2.71±0.94 ^b
LDL/HDL	0.05±0.01	0.05±0.00	0.06±0.01	0.55±0.00 ^a	0.050.00	0.52±0.00 ^a	0.06±0.00	0.71±0.00 ^b	0.05±0.00	0.12±0.00 ^b

a: $P<0.05$, compared with pre experiment; b: $P<0.05$, compared with Cholesterol, enalapril and nifedipine groups.

2.3 主动脉组织胆固醇含量及斑块面积比测定值

由表3 (Table3)可知,依那普利、硝苯吡啶和洛伐他丁三组 TC 含量及斑块面积比均较胆固醇组减少($P<0.05$),但三组间彼此无差别($P>0.05$)。

表3. 主动脉组织胆固醇含量和主动脉斑块面积比

Table 3. The aortas cholesterol concentration and the square percentage of the plaque in five groups

Groups	Concentration	Percentage
Normal	1.06±0.16	0
Cholesterol	4.95±1.19	38.93±7.97
Enalapril	2.57±0.62 ^a	19.98±4.42 ^a
Nifedipine	3.42±0.90 ^a	27.79±8.28 ^a
Lovastatin	3.12±0.52 ^a	18.94±6.75 ^a

a: $P<0.05$, compared with Cholesterol group.

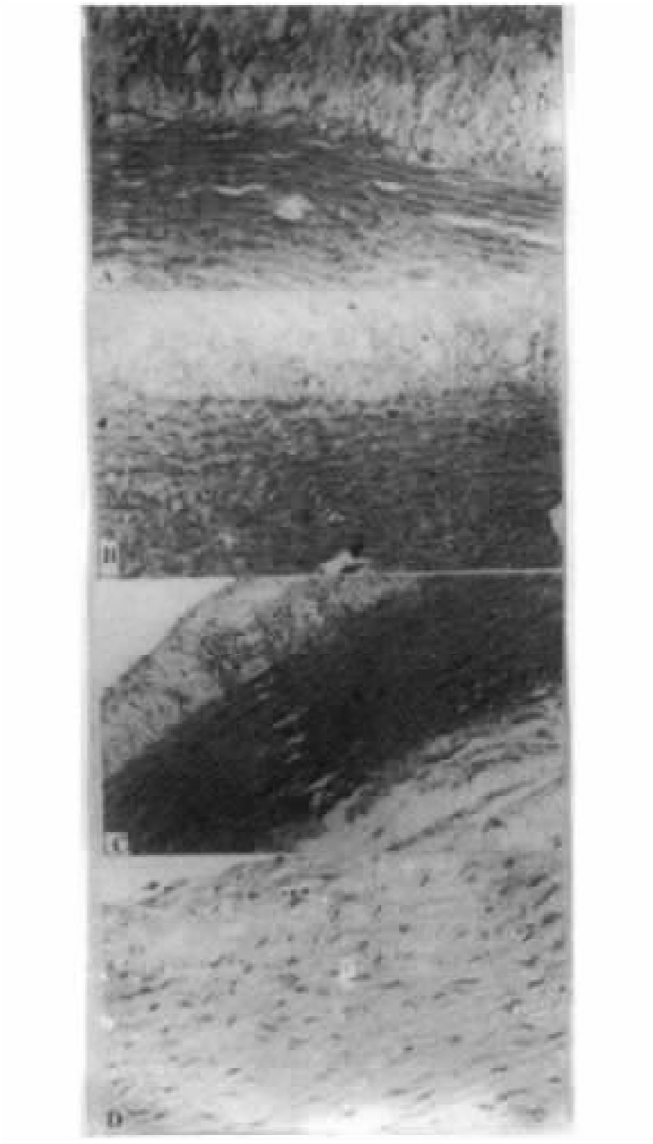


图1. 动脉内膜光学显微镜图像
Figure 1. Microscope graph of arteria lintime. A: cholesterol group(×200); B: nifedipine group(×100); C: enalapril group(×200); D: lovastation group(×200)

2.4 光镜和电镜标本结果

从动脉内膜的光镜标本中可以看出,洛伐他丁组内膜下层厚度及内膜下层中的泡沫细胞(foam cell, FC)和平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)数目明显减少(图1,Figure 1)。电镜图像显示,洛伐他丁组内皮细胞的肿胀、变形及内皮细胞间的联连较胆固醇组明显改善(图2, Figure 2)。

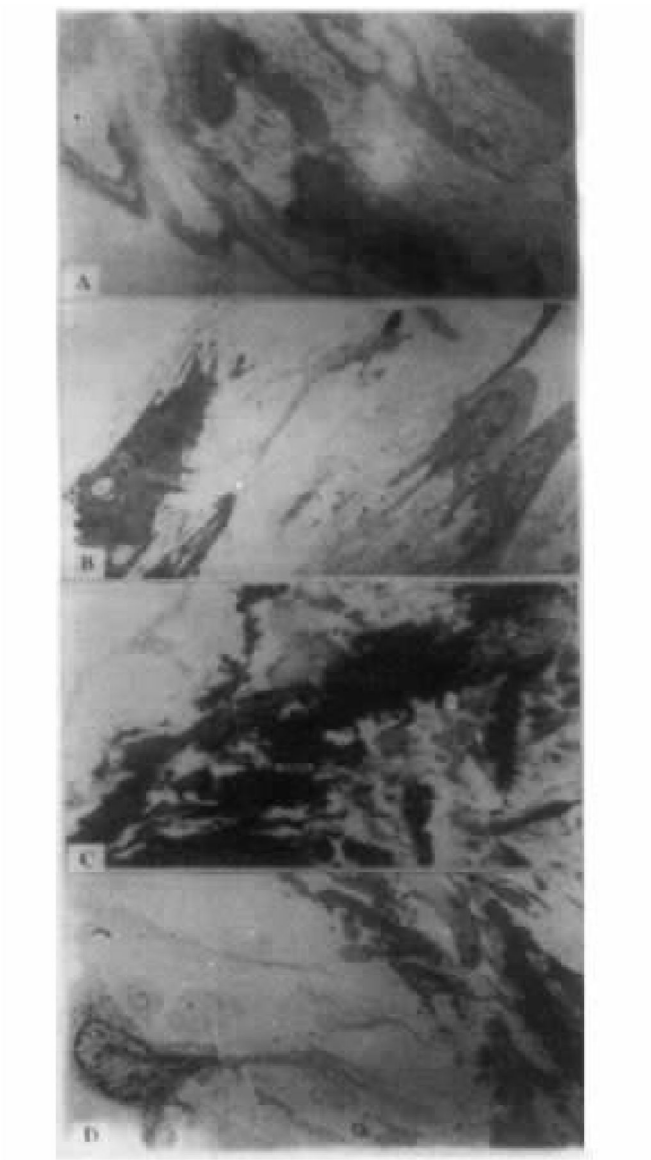


图2. 动脉内膜电镜图像
Figure 2. Electron micrograph of arteria lintima. A: cholesterol group(×6000); B: enalapril group(×4500); C: nifedipine group(×5000); D: lovastatin group(×5000)

3 讨论

高胆固醇血症、高 LDL 血症及 LDL/HDL 比值增高是致 As 的危险因素。本实验洛伐他丁组 TC、LDL 水平及 LDL/HDL 比值和斑块面积比均明显小于胆固醇组。说明洛伐他丁可以通过降 TC、LDL 水平及 LDL/HDL 的比值,改善脂质紊乱的状

态,从而减少 As 斑块的形成。Mevalonate 是胆固醇的中间代谢物,又是 DNA 合成和细胞增生必不可少的物质,而 SMC 的增殖是 As 的关键条件。洛伐他丁可影响 Mevalonate 的代谢,抑制 As^[7]。洛伐他丁还可降低红细胞的聚积和血液粘滞度,从而减低 As 的危险性或延缓其进程^[8]。

动脉壁重构的一系列因素中,平滑肌的迁移和增生是最重要的^[9]。钙拮抗剂抑制动脉壁重构的机制可能是其抗钙沉积、抑制 SMC 移动和增殖的作用^[10]。As 涉及的各种细胞活动均需要钙的参加^[11],钙拮抗剂可阻断钙内流,使钙依赖的细胞活动减弱,防止或延缓 As 的发生和发展。血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)也具有抑制动脉壁重构的作用,不仅可使血管紧张素 I (angiotensin I, Ang I)转变为 Ang II,还可通过激肽酶 II 的作用使缓激肽失活^[12]。ACEI 可使循环中缓激肽水平升高,刺激内皮细胞舒张因子(endothelium-derived relaxing-factor, EDRF)合成,抑制 SMC 增殖,中断 As 的过程。体内外研究均显示,Ang II 可引导原癌基因 c-fos^[13]、c-myc^[14]和 mas^[15]等基因的表达,激活一系列生长因子引起血管 SMC 的增殖,这是粥样斑块形成的必要环节。而 ACEI 可使循环中 Ang II 水平下降,从而抑制血管 SMC 的增殖,并降低单核细胞趋化作用,增加巨噬细胞的移动性,减少 FC 数目,阻止 As 的发生。

本实验依那普利组和硝苯吡啶组动脉内膜中 FC、SMC 数目及内膜下结缔组织基质成份均较胆固醇组明显减少,说明两者可能通过上述的途径阻止了 As 斑块的形成,抑制动脉壁的重构。

内皮细胞能合成多种酶和生理活性物质,具有许多复杂的功能,如屏障功能和抗血栓功能。当各种损伤因素反复、长期作用于动脉内膜时,引起内皮细胞通透性改变和/或内皮细胞坏死、脱落,促发 As 斑块的形成。ACEI 对血管内皮细胞的保护作用体现在使其细胞内缓激肽水平增加,促进一氧化氮和前列腺素的产生,而稳定的一氧化氮和前列腺素可抑制高胆固醇饮食动物脂肪条纹的形成,延缓或阻止 As 斑块的发生^[16]。本实验胆固醇组动脉内膜的电镜图像显示内皮细胞肿胀、失去正常形态,内皮细胞间联结疏松、断裂,通透性增加。而依那普利组和硝苯吡啶组动脉内皮细胞的形态、内皮细胞间联结均较胆固醇组改善,说明两者可减少高胆固醇对动脉内膜的损害,改善内皮细胞的通透性,维持内皮细胞的形态,部分保存内皮细胞的正常功能。

参考文献

- 1 南京医学院病理生理学教研组. 家兔动脉粥样硬化模型复制——实验性高胆固醇性. 见:人类疾病的动物模型. 人民卫生出版社,1982, 120—129
- 2 Joseph RS, Dolores JB, Gregory EF, et al. Differential effects of Renin-Angiotensin System blockade on atherogenesis in cholesterol-fed rabbits. *J Clin Invest*, 1993, **91**: 1 453—458
- 3 Henry PD, Bentley KL. Suppression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbit treated with nifedipine. *J Clin Invest*, 1981, **68**: 1 366—369
- 4 John AO, Paul HL, Martin RS, et al. Cardiovascular effects of acute hypercholesterolemia in rabbits. *J Clin Invest*, 1989, **83**: 465—473
- 5 叶应妩,王毓之,等. 全国临床检验操作规程. 中华人民共和国卫生部医政司编,东南大学出版社,1991.
- 6 Jordi F, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipides animal tissues. *J Biol Chem*, 1956, **23**: 497—509
- 7 Alberto C, Marco R, Maurizio RS, et al. Pathogenesis of atherosclerosis and the role of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Am J Cardiol*, 1995, **76**(2): 21A—28A
- 8 Koppenshteiner R, Minar E, Ehringer H. Effect of lovastatin on hemorheology in type hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis*, 1990, **83**: 53—58
- 9 Munro JM. The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. *Invest*, 1988, **58**: 249—261
- 10 Ram CVS. Antiatherosclerotic and vasculoprotection action of calcium antagonists. *Am J Cardiol*, 1990, **66**(21): 29I—32I
- 11 Parmley WW. Vascular protection from atherosclerosis potential of calcium antagonists. *Am J Cardiol*, 1990, **66**(21): 16I—21I
- 12 Rodolfo DF, Oscar AC, Khang LH, et al. Role of kinins and nitric oxide in the effects of ACE I on neointima formation. *Circ Res*, 1993, **72**: 1 202—210
- 13 Kawahara Y, Sunako M, Tsuda T. Angiotensin II induces expression of the c-fos gene through protein kinase C activation and calcium mobilization in cultured vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **150**: 52—59
- 14 Allen JN, Richard EP, Victor JD. Induction of platelet-derived growth factor A-chain and c-myc gene expressions by Angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 1989, **83**: 1 419—424
- 15 Jackson TR, Blair LAC, Marshall J, et al. The mas oncogene encodes an angiotensin receptor. *Nature*, 1988, **335**: 437—442
- 16 ark Ck, Robert IG, Gunnar A. Fosinopril reduces plasma cholesterol and captopril inhibits macrophage-foam cell accumulation independently of blood pressure and plasma lipids. *Atherosclerosis*, 1994, **108**: 61—72

(此文1998—10—21收到, 1999—02—15修回)

(此文编辑 文玉珊)