

[文章编号] 1007- 3949(2000) - 01- 0035- 04

• 实验研究 •

## 氯沙坦对糖尿病大鼠血浆血管紧张素 $\text{Ang II}$ 及胸主动脉内皮功能的影响

刘世坤, 陈修, 周敏<sup>1</sup>, 家碌<sup>2</sup>

(湖南医科大学药理学教研室, 1. 湘雅医院内分泌科, 2. 病理生理学教研室, 长沙 410078)

[主题词] 糖尿病; 内皮; 主动脉; 大鼠; 血管紧张素 $\text{Ang II}$ 

[摘要] 为探讨血管紧张素 $\text{Ang II}$ 特异性受体 1 阻滞剂氯沙坦对血浆血管紧张素 $\text{Ang II}$ 及胸主动脉内皮功能的影响, 腹腔注射链脲佐菌素复制大鼠糖尿病模型, 分别于第 4、8、16 周处死动物, 取胸主动脉环测定乙酰胆碱引起的内皮依赖性舒张反应, 并测定血浆血管紧张素 $\text{Ang II}$ 浓度。结果发现, 糖尿病大鼠随病程进展, 其胸主动脉环乙酰胆碱引起的内皮依赖性舒张反应渐进性下降, 血浆中血管紧张素 $\text{Ang II}$ 浓度升高。提示, 氯沙坦可明显改善内皮依赖性舒张反应, 但对血浆血管紧张素 $\text{Ang II}$ 浓度无降低作用。

[中图分类号] R961

[文献标识码] A

### Protective Effect and Mechanism of Losartan on Dysfunction of Endothelium- Dependent Relaxation in Diabetic Rats

LIU Shi- Kun<sup>1</sup>, CHEN Xiu<sup>1</sup>, ZHOU Min<sup>2</sup> and YOU Jia- Lu<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmacology, 2. Department of endocrinology, The Affiliated Xiang Ya Hospital, 3. Department of Pathophysiology, Hunan Medical University, Changsha 410078, China)

**MeSH** Diabetes; Endothelium; Aorta; Rats; Angiotensin $\text{Ang II}$ 

**ABSTRACT** **Aim** The previous studies have demonstrated that the acetylcholine(Ach) - induced endothelium cells(EC) - dependent relaxation were injured in diabetic models. The present study was to investigate the effect of Losartan, a specific inhibitor of angiotensin $\text{Ang II}$  (Ang $\text{Ang II}$  receptor 1 (AT<sub>1</sub>), on dysfunction of EC- dependent relaxation in diabetic rats induced by streptozotocin(STZ) at different time. **Methods** The Ach- induced EC- dependent relaxation of rat aortic rings were tested in tissue bath, the concentration of plasma glucose and Ang $\text{Ang II}$  were measured. **Results** At 4 weeks, the function of EC- dependent relaxation was not injured in diabetic group, but the concentration of plasma glucose and Ang $\text{Ang II}$  were increased significantly compared with control group. The percent of Ach- induced relaxation was declined obviously compared with control group at 8, 16 weeks. Treatment with losartan significantly protected the function of EC- dependent relaxation, the percent of Ach- induced relaxation was obviously increased compared with diabetic group. The concentration of plasma glucose was not changed, but the plasma Ang $\text{Ang II}$  was increased compared with diabetic group. **Conclusion** Losartan could protect the function of EC- dependent relaxation in diabetic rats.

心血管并发症是糖尿病患者主要死亡原因之一, 可引起脑动脉、冠状动脉等血管受损及动脉粥样硬化<sup>[1, 2]</sup>。心血管组织和血浆中肾素- 血管紧张素系统除在维持心血管组织正常结构及功能方面起很重要的作用外, 同时也参与多种心血管疾病的发病过程, 包括糖尿病心血管并发症<sup>[3]</sup>。血管紧张素 $\text{Ang II}$  (angiotensin $\text{Ang II}$  Ang $\text{Ang II}$ ) 是肾素- 血管紧张素系统

的主要介质, 它通过收缩血管和调节水盐代谢而影响心血管系统的功能, 然而在病理状态下血管紧张素 $\text{Ang II}$ 可通过作用于靶细胞膜上的受体 1 (angiotensin $\text{Ang II}$  receptor 1, AT<sub>1</sub>) 诱导细胞增殖引起心血管组织的重构<sup>[4]</sup>。同时也可以通过其它机制损伤血管内皮细胞, 导致内皮功能不良, 表现为乙酰胆碱 (acetylcholine, Ach) 引起的血管内皮依赖性舒张功能的下降<sup>[5]</sup>。

大量临床及动物实验表明, AT<sub>1</sub> 特异性阻断剂氯沙坦 (Losartan) 对糖尿病心血管并发症有明显疗效, 可防治心肌肥大<sup>[6]</sup>。但对血管内皮细胞功能的影响

[作者简介] 刘世坤, 男, 1964 年 1 月出生。1986 年毕业于湖南医科大学医疗系, 并获学士学位; 1991 年毕业于湖南医科大学病理生理学休克专业, 并获硕士学位; 1996 年至 1999 年为湖南医科大学心血管药理学在职博士。共发表论文及文摘十余篇。

尚未见报道。本研究试图以糖尿病大鼠模型探讨氯沙坦对糖尿病大鼠血浆血管紧张素Ⅱ浓度及胸主动脉内皮舒张功能的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

纯种雄性 Sprague-Dawley 大鼠, 体重 180~200 g, 由湖南医科大学动物学部提供。二道生理记录仪: 成都仪器厂产品。链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ): Sigma 公司产品。氯沙坦 (losartan, LOS): 美国默沙东公司产品。血管紧张素Ⅱ放射免疫测定试剂盒: 北京北方生物技术研究所以生产。快速血糖仪: 美国强生公司 One Touch 型。其它试剂为国产分析纯。

### 1.2 糖尿病模型的复制

大鼠按 65 μg/g 体重一次性腹腔注射链脲佐菌素, 三天后取尾静脉血测血糖, 血糖 > 16 mmol/L, 尿糖强阳性定为糖尿病模型复制成功。饮水不限, 固定饲料, 每日监测尿糖, 注射胰岛素 (2 u/d) 以维持模型成功。动态观测尿糖变化。

### 1.3 离体血管环的制备

静脉注射 3% 戊巴比妥钠 (30 μg/g) 麻醉大鼠, 同时注射肝素 (1 000 u), 迅速打开胸腔取出胸主动脉, 置于通以 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 混合气体的 K-H 液 (含 NaCl 118 mmol/L、KCl 4.7 mmol/L、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.2 mmol/L、NaHCO<sub>3</sub> 25.0 mmol/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 mmol/L、CaCl<sub>2</sub> 2.5 mmol/L 及葡萄糖 11.0 mmol/L) 中, 仔细分离血管周围组织, 清除血管内血液, 剪成 3~4 mm 长血管环, 钢钩固定于含 K-H 液的浴皿中, 并通过张力换能器连于二道生理记录仪, 给予血管环 2 g 的静息张力, 平衡 90 min 后先以苯肾上腺素 (10<sup>-7</sup> mol/L) 收缩血管环, 然后分别用累加剂量的乙酰胆碱 (10<sup>-8</sup>

mol/L、5 × 10<sup>-8</sup> mol/L、10<sup>-7</sup> mol/L、5 × 10<sup>-7</sup> mol/L 及 10<sup>-6</sup> mol/L) 舒张血管, 记录血管舒张反应, 并以硝普钠 (sodium nitroprusside, SNP) 作为内皮非依赖性舒张反应的对照。浴皿在整个过程中始终通以 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 混合气体, 并使 K-H 液 37 °C ± 0.5 °C 恒温。

### 1.4 实验分组

对照组 (control group, n = 18): 大鼠腹腔注射等量生理盐水, 然后分别于第 4、8、16 周各处死 6 只大鼠; ④糖尿病组 (diabetes group, n = 24): 糖尿病模型复制成功后分别于第 4、8、16 周各处死 8 只大鼠; ④氯沙坦组 (losartan group, n = 8): 糖尿病模型复制成功后第 5 周开始每天给予氯沙坦灌胃 (20 μg/g), 第 16 周处死动物。

### 1.5 观察指标

取尾静脉血用快速血糖仪测血糖, 托盘天平称体重, 血管紧张素Ⅱ按血管紧张素Ⅱ放射免疫药盒说明书测定。

胸主动脉离体血管环 Ach- 引起内皮依赖性舒张反应的测定按方法 1.3 进行。

### 1.6 统计学分析

结果以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 用 one way ANOVA 进行统计学处理, 组间比较用 Student-New-Keuls 法检验,  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 氯沙坦对糖尿病大鼠血糖及体重的影响

由表 1 (Table 1) 可知, 注射链脲佐菌素后第 4、8、16 周大鼠体重均减轻 ( $P < 0.05$ ), 血糖则持续处于高水平 ( $P < 0.01$ ); 氯沙坦组大鼠体重及血糖与糖尿病组比无明显差异。说明氯沙坦对糖尿病大鼠血糖浓度及体重无明显影响。

表 1. 氯沙坦对不同时间糖尿病大鼠血糖及体重的影响

Table 1. The effect of Losartan on plasma glucose and body weight in diabetic rats at different time ( $\bar{x} \pm s$ )

Time	Groups	n	Glucose (mmol/L)	Body weight (g)
the 4th week	Control	6	5.7 ± 0.9	365.2 ± 41.8
	Diabetes	8	25.2 ± 4.9 <sup>b</sup>	206.0 ± 45.8 <sup>a</sup>
the 8th week	Control	6	6.5 ± 1.3	374.0 ± 39.6
	Diabetes	8	25.5 ± 4.9 <sup>b</sup>	195.0 ± 5.5 <sup>a</sup>
	Control	6	7.6 ± 1.4	442.2 ± 39.0
the 16th week	Diabetes	8	25.1 ± 2.1	209.4 ± 41.0 <sup>b</sup>
	Losartan	8	27.2 ± 3.5 <sup>b</sup>	225.0 ± 24.6 <sup>b</sup>

a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , compared with control group

2.2 氯沙坦对糖尿病大鼠胸主动脉内皮舒张功能的影响

从图 1 (Figure 1) 可见, 与对照组相比, 糖尿病大鼠第 4 周胸主动脉乙酰胆碱所致最大舒张百分率无明显差异( $P > 0.05$ ); 第 8、16 周内皮依赖性舒张反应明显减弱, 乙酰胆碱所致最大舒张百分率均下降( $P < 0.01$ )。但内皮硝普钠所致非依赖性舒张反应无明显影响(本文未列出)。说明糖尿病大鼠第 4 周内皮依

赖性舒张功能未受损, 而第 8 周后内皮功能受损。氯沙坦阻止糖尿病大鼠乙酰胆碱引起的内皮依赖性舒张反应降低, 与糖尿病组相比, 其舒张百分率明显增加( $P < 0.01$ )。表明糖尿病大鼠随病程延长内皮功能受损逐渐加重, 而内皮非依赖性舒张反应无变化, 氯沙坦可部分保护糖尿病大鼠内皮功能, 使内皮依赖性舒张反应得到改善。

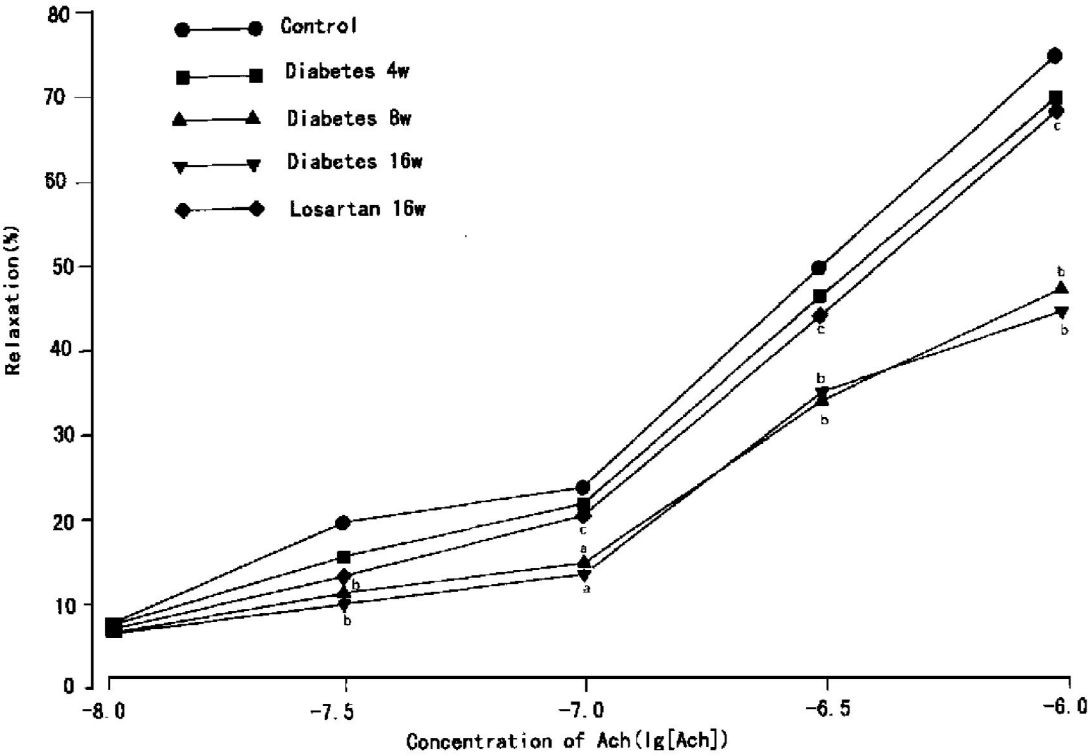


图 1. 氯沙坦对糖尿病大鼠胸主动脉内皮依赖性舒张反应的影响  
Figure 1. The effect of losartan on endothelium- dependent relaxation in aorta of diabetic rats  
a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , compared with control group; c:  $P < 0.01$ , compared with diabetes group at 16 week

2.3 氯沙坦对血浆血管紧张素 II 浓度的影响

由表 2(Table 2) 可知, 不同病程糖尿病大鼠血浆血管紧张素 II 浓度均升高( $P < 0.01$ ); 与糖尿病组相

比, 氯沙坦组血浆血管紧张素 II 浓度明显增加( $P < 0.01$ )。表明糖尿病大鼠血浆血管紧张素 II 浓度升高, 氯沙坦则有升高血浆血管紧张素 II 的作用。

表 2. 氯沙坦对不同时间糖尿病大鼠血浆血管紧张素 II 浓度的影响

Table 2. The effect of Losartan on the concentration of plasma Ang II in diabetes rats at different time				
Groups	n	The 4th week	The 8th week	The 16th week
Control	6	367.8 ±107.4	586.1 ±107.8	529.5 ±56.8
Diabetes	8	678.1 ±181.9 <sup>a</sup>	999.4 ±190.7 <sup>a</sup>	778.7 ±166.2 <sup>a</sup>
Losartan	8			1562.0 ±334.4 <sup>ab</sup>

a:  $P < 0.01$ , compared with control group; b:  $P < 0.01$ , compared with diabetes group

3 讨论

本研究发现, 糖尿病大鼠血糖升高, 体重减轻, 血浆血管紧张素 II 浓度升高, 早期胸主动脉内皮依

赖性舒张功能无明显改变,但随病程的进展,内皮功能逐渐受损,使其乙酰胆碱引起的舒张百分率下降。血管紧张素 $\text{①}$ AT<sub>1</sub>特异性受体阻断剂氯沙坦可部分保护糖尿病大鼠胸主动脉内皮功能,使乙酰胆碱引起的舒张百分率增加,但对血糖及体重无明显影响,且可使血浆血管紧张素 $\text{①}$ 浓度进一步升高。

正常心血管功能的维持有赖于机体缩血管与舒血管物质间的平衡及血管对其具有良好的反应性。血浆及组织中血管紧张素 $\text{①}$ 可引起血管收缩并导致血管平滑肌细胞的增殖,在动脉粥样硬化等疾病中起很重要的作用;内皮细胞产生释放的前列环素及一氧化氮则可引起血管舒张,预防心血管疾病的发生。大量人体及动物实验证实,糖尿病时血浆及组织中血管紧张素 $\text{①}$ 浓度升高<sup>[7]</sup>。虽然早期内皮释放的一氧化氮并无明显下降,但随着病情的发展,内皮释放一氧化氮减少,可引起血管内皮功能受损,内皮下平滑肌细胞增殖,导致高血压及动脉粥样硬化。本实验结果也证实,糖尿病时血浆血管紧张素 $\text{①}$ 浓度升高,早期内皮依赖性舒张反应无明显变化,随病程的发展内皮功能受损,乙酰胆碱引起的舒张百分率下降。

糖尿病内皮功能受损的机制不完全清楚,有实验证实,糖尿病动物和糖尿病患者血浆及组织血管紧张素酶的活性及血管紧张素 $\text{①}$ 浓度升高,同时组织AT<sub>1</sub>表达上调。血管紧张素 $\text{①}$ 可通过受体1介导引起血管壁增厚,损伤血管舒缩功能。因此血管紧张素 $\text{①}$ 在糖尿病心血管并发症的发生发展过程中具有很重要的作用。

组织细胞膜上有两种不同的血管紧张素 $\text{①}$ 受体(AT<sub>1</sub>和AT<sub>2</sub>),两者与血管紧张素 $\text{①}$ 结合后所产生的效应有所不同,AT<sub>1</sub>与之结合则引起细胞增殖,而AT<sub>2</sub>与之结合则有抗增殖作用。大量临床研究及动物实验证实,AT<sub>1</sub>特异性阻断剂氯沙坦对糖尿病心血

管并发症有明显疗效<sup>[6]</sup>。其机制一方面是完全阻断了由AT<sub>1</sub>受体介导血管紧张素 $\text{①}$ 的有关血压调节、细胞有丝分裂、细胞内钙动员及蛋白质合成等效应,即阻断了促增殖作用;另一方面,血管紧张素 $\text{①}$ 与AT<sub>2</sub>亲和力增高,从而相应地增强了AT<sub>2</sub>介导的抗增殖作用<sup>[8]</sup>,但有关氯沙坦对糖尿病血管内皮功能影响的研究未见报道。

本研究首次发现AT<sub>1</sub>受体阻断剂氯沙坦可改善糖尿病所损伤的胸主动脉内皮功能,但同时也使血浆血管紧张素 $\text{①}$ 浓度有所上升,对血糖无明显影响,其具体机制尚不清楚,有待进一步的探讨。

#### 参考文献

- [1] Lukovits TG, Mazzone TM, Gorelick TM. Diabetes mellitus and cerebrovascular disease [J]. *Neuroepidemiology*, 1999, **18**: 11-14
- [2] Haak E, Haak T, Rusterer K, et al. Microcirculation in hyperglycemic patients with IDDM without diabetic complications- effects of low-dose angiotensin-converting enzyme inhibition [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1998, **106**: 145-150
- [3] Sowers J, Epstein M. Diabetes mellitus and associated hypertension, vascular disease and nephropathy [J]. *Hypertension*, 1995, **26** (pt 1): 869-879
- [4] Blaufarb IS, Sonnenblick EH. The renin-angiotensin system in left ventricular remodeling [J]. *Am J Cardiol*, 1996, **77**: 8C-16C
- [5] 李振光. 内皮细胞功能障碍与动脉粥样硬化 [J]. 国外医学生理病理学与临床分册, 1997, **17** (2): 139
- [6] Kohzuki M, Yasujima M, Liu PF, et al. Cardiovascular and renal protective effects of losartan in spontaneously hypertensive rats with diabetes mellitus [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1995, **22** (suppl 1): s366-367
- [7] Anderson S. Role of local and systemic angiotensin in diabetes renal disease [J]. *Kidney Int suppl*, 1997, **63**: s107-110
- [8] Borghi C, Ambrosioni E. Evidence-based medicine and ACE inhibition [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998, **32** (suppl 2): s24-35

(此文 1999-09-24 收到, 2000-02-17 修回)

(此文编辑 文玉珊)