

氨氯地平与依那普利联用对肾性高血压大鼠主动脉重塑的影响

胡威¹, 商黔惠¹, 姜黔峰¹, 吴芹², 祝荣文³, 袁萍¹

(1. 遵义医学院临床医学研究所 遵义医学院附属医院心内科, 2. 遵义医学院药理学教研室, 3. 遵义医学院附属医院肾内科病理室, 贵州省遵义市 563003)

[关键词] 肾性高血压; 大鼠; 血管重塑; 腺苷三磷酸酶; 抗高血压药

[摘要] **目的** 观察氨氯地平单用及联用依那普利对肾血管性高血压大鼠(RHR)主动脉重塑及主动脉平滑肌细胞膜钠泵、钙泵活性和钠泵 $\alpha 1$ 亚单位及细胞质膜钙泵亚型 1 (PMCA1) mRNA 表达的影响, 探讨氨氯地平单用及联用依那普利改善动脉重塑的可能机制。**方法** 建立“两肾一夹(2K1C)”肾性高血压大鼠模型, 设立假手术组、模型组、氨氯地平组[5 mg/(kg·d)]、依那普利组[10 mg/(kg·d)]、氨氯地平+依那普利组[2.5 mg/(kg·d)+5 mg/(kg·d)], 每组 6 只, 药物连续干预 6 周。采用 HE 染色、免疫组织化学染色、Masson 染色法检测主动脉中膜形态及结构变化并测量中膜厚度与腔径比(ML/LD)、中膜面积与管腔面积比(MA/LA), 放射免疫法检测血管紧张素 II (Ang II) 含量, 酶学比色法检测细胞膜钠泵及钙泵活性, 实时 PCR 法检测钠泵 $\alpha 1$ 亚单位、PMCA1 mRNA 表达水平。**结果** RHR 血压显著升高, 主动脉 ML/LD、MA/LA 明显增加, 中膜组织钠泵、钙泵活性及钠泵 $\alpha 1$ 亚单位、PMCA1 mRNA 表达水平明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。氨氯地平及依那普利均能减小 RHR 主动脉 ML/LD、MA/LA, 改善平滑肌肥大和胶原沉积, 且均能降低主动脉中膜 Ang II 水平并升高主动脉中膜钠泵、钙泵活性(均 $P < 0.01$)。氨氯地平可显著升高 PMCA1 mRNA 表达水平, 依那普利上调钠泵 $\alpha 1$ 亚单位、PMCA1 mRNA 表达水平(均 $P < 0.01$)。氨氯地平及依那普利联合应用减小主动脉 ML/LD、MA/LA, 降低主动脉组织 Ang II 水平和升高钠泵、钙泵活性及 PMCA1 mRNA 表达水平存在协同作用(均 $P < 0.01$)。**结论** 氨氯地平联用依那普利改善主动脉重塑优于两药单用, 其机制可能与它们更有效阻断主动脉组织 RAS, 升高主动脉平滑肌细胞膜钠泵及钙泵活性有关。氨氯地平可能通过上调 PMCA1 mRNA 表达水平改善钙泵活性。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effects of Amlodipine and Enalapril on Aorta Remodeling in Renovascular Hypertensive Rats

HU Wei¹, SHANG Qian-Hui¹, JIANG Qian-Feng¹, WU Qing², ZHU Rong-Wen³, and YUAN Ping¹

(1. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College & Institute of Clinical Medicine of Zunyi Medical College; 2. Department of Pharmacology, Zunyi Medical College; 3. Department of Nephrology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi Guizhou 563003, China)

[KEY WORDS] Renovascular Hypertension; Rat; Remodeling; Adenosinetri Phosphatase; Antihypertensive Drugs

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of amlodipine only or with the enalapril on aorta remodeling and the activities of Na^+ pump and Ca^{2+} pump, and the mRNA expressions of $\alpha 1$ subunit of Na^+ pump and plasma membrane calcium pump isoform 1 (PMCA1), and investigate the possible mechanisms of aorta remodeling attenuation by amlodipine and enalapril. **Methods** Renovascular hypertensive rat model was induced by two-kidney-one-clip method, and rats were consecutively treated with normal saline(model group), amlodipine [5 mg/(kg·d)], enalapril [10 mg/(kg·d)] and amlodipine + enalapril [2.5 mg/(kg·d) + 5 mg/(kg·d)] for 6 weeks ($n = 6$). Sham-operated rats were treated with normal saline as controls ($n = 6$). Aortic morphology and structural changes in the aortic media, the ratio of media thick-

[收稿日期] 2011-05-04

[基金项目] 贵州省优秀科技教育人才省长专项资金项目和贵州省优秀青年科技人才基金项目[(2005)239, (2003)0316]

[作者简介] 胡威, 硕士, 主治医师, 研究方向为高血压发病机制, E-mail 为 wayne551981@hotmail.com。通讯作者商黔惠, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为高血压发病机制和药物干预, E-mail 为 qianhui-shang@hotmail.com。姜黔峰, 主任医师, 研究方向为高血压发病机制及先天性心脏病介入治疗, E-mail 为 jiangqianfeng2005@126.com。

ness/ luminal diameter (MT/ LD), and media area/ luminal area (MA/LA) were observed by HE staining, immunohistochemical staining and Masson staining. The content of angiotension II (Ang II) was measured by radioimmunoassay, the activity of Na⁺ pump and Ca²⁺ pump in aortic media were determined by enzyme colorimetry, and the mRNA expressions of α 1 subunit of Na⁺ pump and PMCA1 were detected by Real-time PCR, respectively. **Results** In the model group, the ratio MT/ LD and MA/ LA of aorta and the Ang II content were significantly increased while the activities and the mRNA levels of Na⁺ pump and Ca²⁺ pump were obviously decreased ($P < 0.05 \sim P < 0.01$). In the amlodipine group and the enalapril group, the blood pressure, the ratio MT/ LD and MA/ LA and the Ang II content were obviously decreased while the Na⁺ pump and Ca²⁺ pump activities were obviously increased (all $P < 0.01$). In the amlodipine group, the mRNA level of PMCA1 was significantly increased. But in the enalapril group, the mRNA levels of both sodium pump α 1-subunit and PMCA1 were obviously increased (all $P < 0.01$). In combination group, the amelioration of the ratio MT/ LD and MA/ LA, ion pump activity and mRNA levels of PMCA1 were significantly greater than in single-drug intervened group (all $P < 0.01$), and the Ang II content also was decreased more greater than in single-drug intervened group (all $P < 0.01$), and there were synergistic effects. **Conclusions** The combination of amlodipine and enalapril is better than single-drug therapy in the attenuation of aorta remodeling, and there may be some synergistic effects in inhibiting tissue RAS and increasing the activities of ion pumps. Ca²⁺ pump activity stimulated by amlodipine may be partially mediated through up-regulating PMCA1 mRNA.

动脉重塑既是高血压重要的靶器官损害形式之一,也是众多心脑血管事件独立的风险因子^[1],动脉平滑肌细胞内“钙超载”可介导高血压形成及动脉重塑,有效降低细胞内钙水平,可降压并改善血管重塑^[2,3]。钙通道阻滞剂(calcium channel blockers, CCB)被认为可通过阻滞细胞外钙内流,降低细胞内钙水平,改善血管重塑。而血管紧张素转换酶抑制剂(angiotension-converting enzyme inhibitor, ACEI)则被认为通过阻断动脉局部肾素,血管紧张素系统(renin-angiotension system, RAS),改善离子泵活性受抑,促细胞内钙外排,降低细胞内钙水平^[4,5],改善血管重塑。新近的研究表明 CCB 亦可阻断组织局部 RAS,并可改善细胞膜离子泵活性受抑^[6,7],因而 CCB 改善动脉重塑是否与其阻断动脉局部 RAS 和改善离子泵活性相关以及 CCB 类联用 ACEI 类降压药物是否较单药更好阻断 RAS,改善离子泵活性受抑及动脉重塑值得探讨。本研究通过建立“两肾一夹”肾血管性高血压大鼠(renovascular hypertensive rats, RHR)模型,观察氨氯地平单用及联用依那普利对主动脉重塑、主动脉中膜血管紧张素 II (angiotension II, Ang II)、Na⁺, K⁺-ATPase (钠泵)和 Ca²⁺-ATPase (钙泵)活性及其基因转录的影响,探讨氨氯地平单用及联用依那普利改善动脉重塑的疗效及可能的机制。

1 材料与方方法

1.1 主要材料

8~12 周龄雄性 SD 大鼠, 体重 180~220 g,

由第三军医大学动物中心提供,合格证号:SCXK-(军)2002008。依那普利及氨氯地平均由扬子江制药有限公司惠赠。ATP 酶测定及考马斯亮兰蛋白测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所。Ang II 放射免疫分析试剂盒购于北京北方生物技术研究所。1:200 兔抗鼠多克隆抗体 α -actin 购于 Santa Cruz 公司。Envision 复合物及 DAB 显色剂购于 DAKO 公司。RNA 提取试剂盒、逆转录、扩增试剂盒均购于大连宝生物。

1.2 两肾一夹肾血管性高血压大鼠模型的建立及标本采集

建立 RHR 模型:20%水合氯醛 0.18 mg/kg 腹腔麻醉大鼠,分离左肾动脉,并在左肾动脉与主动脉分叉处放置银夹。术后大鼠腹腔注射长效青霉素 12 万 u,预防感染。术前、术后每 2 周无创测压仪测定清醒状态下大鼠尾动脉压,术后第 6 周鼠尾动脉收缩压在 125 mmHg 以上且大于术前血压 20 mmHg 以上者确定已形成稳定高血压,即建模成功^[8]。将存活并建模成功的大鼠按血压水平分层随机化分成 4 组:RHR 模型组、氨氯地平组[5 mg/(kg·d)]、依那普利组[10 mg/(kg·d)]、联合用药组[氨氯地平 2.5 mg/(kg·d) + 依那普利 5 mg/(kg·d)],分别给予相应的药物灌胃,1 次/天,共 6 周(达术后 12 周)。每组 6 只,另设假手术组,仅分离左肾动脉,不安置银夹。模型组及假手术组均给予相同体积蒸馏水灌胃。术后 12 周各组大鼠麻醉处死,分别取出主动脉,剪取近心端主动脉环 5 mm 放入 4% 多聚甲醛中固定,其余部分用镊子剔除外膜,纵向剖开,棉签反复用力擦拭 2~3 次,去除内膜,即得中膜,用剪刀初步剪碎捣

匀,分为相等的两部分(各 50 mg 左右),一部分直接装入 EP 管,另一部分放入装有 0.5 mL Trizol 溶液的 EP 管,其后均放入超低温冰箱保存。

1.3 组织切片的制备及染色

经过固定的大鼠主动脉环予脱水、包埋、切片、脱蜡至水。各组大鼠主动脉环行 HE 染色。免疫组织化学染色:依次加入 3% H_2O_2 10 min, PBS 清洗, 1:200 兔抗鼠多克隆抗体 α -actin, 4℃ 孵育过夜, PBS 清洗, 加入 Envision 复合物, 37℃ 30 min, DAB 显色, PBS 清洗, 苏木精对比染色。Masson 染色: Weiger 铁苏木素染色, 流水冲洗后丽春红酸性品红染色, 1% 磷钼酸水溶液处理, 苯胺蓝液复染。用 Leica 光学显微镜采图, 并用 BI2000 图像分析系统对 HE 染色图片进行图像分析, 依次测定中膜厚度及腔径、中膜面积及管腔面积, 并计算中膜厚度与腔径比 (ML/LD)、中膜面积与管腔面积比 (MA/LA)。

1.4 主动脉中膜血管紧张素 II 含量、钠泵、钙泵活性测定

取出直接冻存的主动脉中膜(约 50 mg)在冰水浴中解冻,进一步剪碎后加 0.5 mL 生理盐水于手动玻璃匀浆器中匀浆(冰上操作),至组织完全匀浆化,离心半径 15.6 cm, 2500 r/min, 4℃ 离心 10 min, 取上清液按 1:4 加入生理盐水稀释,制成主动脉中膜组织匀浆液,用于蛋白定量、Ang II 含量及离子泵活性检测。考马斯亮蓝法测定匀浆液蛋白浓度;放射免疫法测定 Ang II 含量^[9],以每毫克总蛋白含 Ang II 量表示;酶学比色法测定离子泵活性,离子泵活性以每毫克总蛋白中每小时分解 ATP 产生的 Pi 的量表示。各步操作均按试剂盒说明书进行。

1.5 主动脉中膜钠泵 α 1 亚单位和细胞质膜钙泵亚型 1 mRNA 表达水平测定

取经 Trizol 溶液裂解后冻存的主动脉中膜(约 50 mg),冰上匀浆,按说明书对 RNA 进行提取及纯化,紫外分光光度计测定样本在 260 nm 和 280 nm 的吸光度值 (A_{260} 和 A_{280}),所得 A_{260}/A_{280} 在 1.80 ~ 2.20 之间认为纯度符合要求。RNA 完整性电泳鉴定 28 S 条带亮度为 18S 条带 2 倍,认为所得 RNA 完好、无降解。配置 40 μ L 50 μ g/L RNA 逆转录液。采用 real-time PCR 检测钠泵 α 1 亚单位、细胞质膜钙泵亚型 1 (PMCA1) mRNA 表达水平,引物序列及反应条件分别为: β -actin 上游 GGAGATTACTGC-CCTGGCTCCTA, 下游 GACTCATCGTACTCCTGCTT-GCTG, 扩增片段 150 bp; 95℃, 8.5 min \rightarrow (95℃ 15 s, 62.3℃ 1 min) \times 40 循环。钠泵 α 1 亚单位上游

GCCTCAACATTCAGTGAACCA, 下游 CCTAG-CAAAGACAATCTCCGTGTG, 扩增片段 137 bp; 95℃, 8.5 min \rightarrow (95℃ 15 s, 55.2℃ 1 min) \times 40 循环。PMCA1 上游 GGAAGTTTCCGGATCTTCAG-CA, 下游 ACTTTGGCCTCACCATTAGCACTC, 扩增片段 89 bp; 95℃, 8.5 min \rightarrow (95℃ 15 s, 57.9℃ 1 min) \times 40 循环。以 Ct 值为统计参数,依次计算下列数据:(1) Ct 平均 = (Ct1 + Ct2) / 2 (重复管); (2) dCt = Ct 平均 - 中间值; (3) 基因的表达 = 2^{-dCt} ; (4) 以目的基因的表达 / 内参基因的表达计算出钠泵 α 1 亚单位及 PMCA1 mRNA 表达的相对量。

1.6 统计学处理

全部实验数据的整理、分析均用 SPSS 13.0 统计软件进行。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,模型组与假手术组比较采用 *t* 检验;模型组与各用药组间比较采用析因设计方差分析,计算各因素的主效应与交互效应。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血压

模型组及各给药组大鼠术后 6 周血压明显高于假手术组(均 $P < 0.01$; 图 1),建模成功。析因方差分析表明:氨氯地平、依那普利,联合用药组均能降低术后 12 周(给药后 6 周)大鼠血压,且联合用药组降压效应明显大于两药单用组(均 $P < 0.01$; 图 1),但两药联用不具有协同效应。

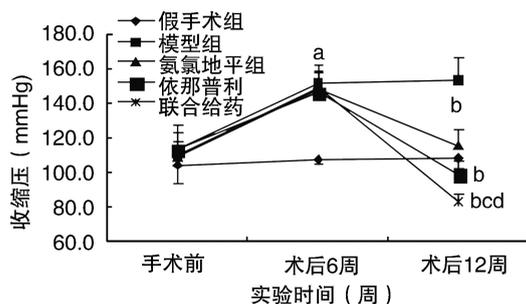


图 1. 各组大鼠血压比较 ($n=6$) a 为 $P < 0.01$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.01$, 与模型组比较; c 为 $P < 0.01$, 与氨氯地平组比较; d 为 $P < 0.01$, 与依那普利组比较。

Figure 1. The comparison of blood pressure from each group rats

2.2 各组大鼠主动脉形态比较

HE 染色显示,模型组动脉中膜明显肥厚(图

2), 模型组与假手术组相比, 主动脉中膜厚度、面积及 MT/LT、MA/LA 明显增加(均 $P < 0.01$; 表 1)。氨氯地平、依那普利及联合用药均明显改善动脉中膜肥厚(图 2), 析因方差分析表明: 依那普利组、氨氯地平组主动脉中膜厚度、面积及 MT/LT、MA/LA 均明显小于模型组, 而联合用药组明显小于两药单用组, 且两药联合效应大于两药单用效应之和(均 $P < 0.01$; 表 1)。

α -actin 染色显示, 血管平滑肌细胞质被染成棕

黄色、胞核被染成蓝色; 与假手术组相比, 模型组动脉中膜明显肥厚, 动脉平滑肌细胞体积增大, 排列紊乱; 与模型组相比, 氨氯地平及依那普利明显改善动脉平滑肌肥大及排列紊乱, 且两药联合优于两药单用。Masson 染色显示, 血管平滑肌细胞被染成红色, 胶原纤维被染成蓝色; 与假手术组相比, 模型组动脉中膜胶原纤维含量明显增多, 排列紊乱; 与模型组相比, 氨氯地平及依那普利明显减少动脉中膜胶原纤维含量, 改善胶原纤维排列紊乱(图 2)。

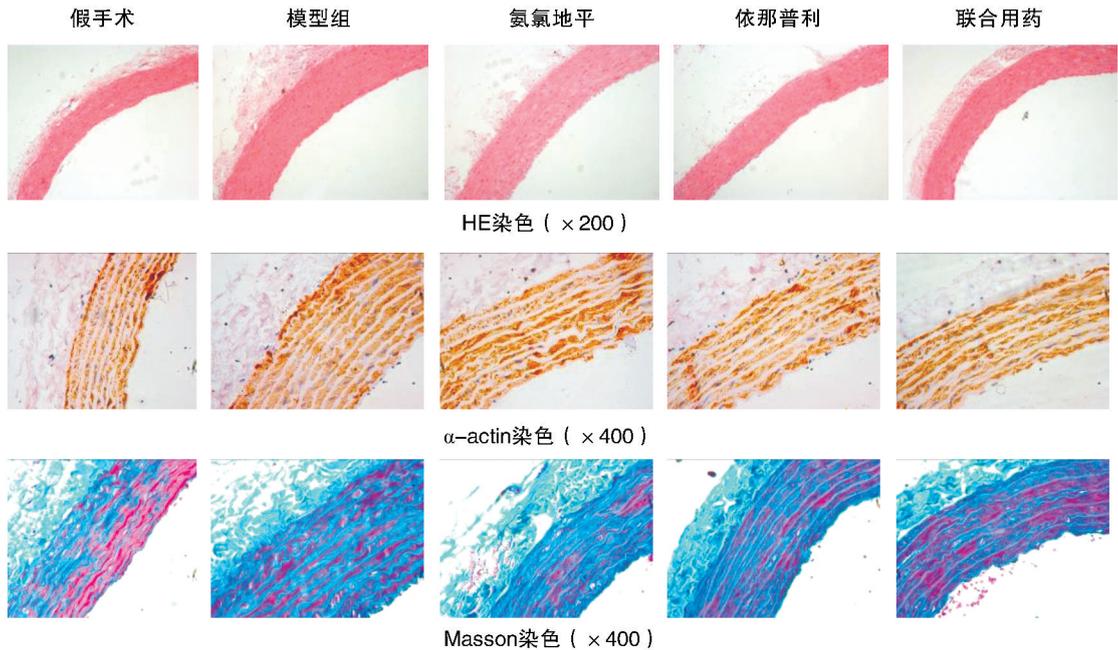


图 2. 主动脉 HE 染色、 α -actin 免疫组化染色及胶原纤维 Masson 染色对比

Figure 2. The comparison of aorta by HE staining, immunohistochemical staining and Masson staining

表 1. 各组大鼠 ML/LD 及 MA/LA 比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

Table 1. The comparison of ML/LD and MA/LA from each group rats

分 组	MT(μm)	LT(μm)	MT/LT	MA($\times 10^5 \mu\text{m}^2$)	LA($\times 10^5 \mu\text{m}^2$)	MA/LA
假手术组	108.4 \pm 5.6	734.7 \pm 20.3	15.05% \pm 0.47%	5.45 \pm 0.19	21.18 \pm 0.71	25.92% \pm 0.58%
模型组	144.3 \pm 6.0 ^a	692.3 \pm 15.4	20.81% \pm 0.78% ^a	7.05 \pm 0.26 ^a	18.55 \pm 0.55	38.37% \pm 1.13% ^a
氨氯地平组	134.0 \pm 3.2 ^b	705.0 \pm 17.7	19.01% \pm 0.65% ^b	6.84 \pm 0.16 ^b	19.10 \pm 0.64	35.81% \pm 0.91% ^b
依那普利组	131.1 \pm 4.6 ^b	704.2 \pm 16.2	18.53% \pm 0.57% ^b	6.44 \pm 0.23 ^b	19.33 \pm 0.59	33.20% \pm 0.71% ^b
联合用药组	120.75 \pm 4.0 ^{bcd}	720.1 \pm 18.3	16.60% \pm 0.53% ^{bcd}	5.50 \pm 0.21 ^{bcd}	19.77 \pm 0.60	27.58% \pm 0.63% ^{bcd}

a 为 $P < 0.01$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.01$, 与模型组比较; c 为 $P < 0.01$, 与氨氯地平组比较; d 为 $P < 0.01$, 与依那普利组比较。

2.3 主动脉中膜 Ang II 含量、离子泵活性和离子泵 mRNA 表达水平的比较

模型组与假手术组相比, 主动脉中膜 Ang II 含量明显增加, 离子泵活性及 mRNA 表达水平明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$; 表 2)。析因方差分析表

明: 氨氯地平、依那普利均明显改善 RHR 主动脉中膜离子泵活性, 且两药联合应用效应大于两药单用效应之和, 表明两药存在协同作用(均 $P < 0.01$); 氨氯地平、依那普利均降低动脉中膜 Ang II 含量, 且两药联合应用效应大于两药单用效应之和, 表明两药

存在协同效应(均 $P < 0.01$); 氨氯地平升高主动脉中膜 PMCA1 mRNA 表达水平, 依那普利明显升高主动脉中膜钠泵 $\alpha 1$ 亚单位、PMCA1 mRNA 表达水平,

且两药联合应用升高 PMCA1 mRNA 表达水平效应大于两药单用效应之和, 表明两药存在协同作用(均 $P < 0.01$; 表 2)。

表 2. 各组大鼠主动脉中膜 Ang II 含量、离子泵活性及钠泵 $\alpha 1$ 亚单位、PMCA1 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. The comparisons of content of Ang II, ion pump activities and PMCA1 mRNA expression in the the aortic media from each group rats

分 组	Ang II (ng/g)	钠泵活性 [$\mu\text{molPi}/(\text{h} \cdot \text{mg})$]	钙泵活性 [$\mu\text{molPi}/(\text{h} \cdot \text{mg})$]	钠泵 $\alpha 1$ 亚单位 mRNA	PMCA1 mRNA
假手术组	23.58 \pm 2.39	5.75 \pm 0.74	6.14 \pm 0.83	1.081 \pm 0.213	0.625 \pm 0.121
模型组	69.35 \pm 2.97 ^b	4.19 \pm 1.00 ^b	4.57 \pm 0.81 ^a	0.462 \pm 0.073 ^b	0.373 \pm 0.086 ^b
氨氯地平组	58.44 \pm 3.75 ^c	6.96 \pm 0.43 ^c	7.17 \pm 0.46 ^c	0.437 \pm 0.060	0.482 \pm 0.141 ^c
依那普利组	27.34 \pm 3.90 ^c	5.83 \pm 1.22 ^c	6.98 \pm 1.58 ^c	0.631 \pm 0.143 ^c	0.732 \pm 0.082 ^c
联合用药组	15.29 \pm 2.86 ^{cde}	9.54 \pm 1.01 ^{cde}	11.07 \pm 0.79 ^{cde}	0.642 \pm 0.041 ^c	1.013 \pm 0.142 ^{cde}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与假手术组比较; c 为 $P < 0.01$, 与模型组比较; d 为 $P < 0.01$, 与氨氯地平组比较; e 为 $P < 0.01$, 与依那普利组比较。

3 讨 论

高血压时动脉平滑肌细胞膜离子泵功能紊乱, 肌浆网钙泵功能障碍及细胞膜钙离子通道异常等因素均可导致细胞内“钙超载”^[10], 而细胞内“钙超载”不仅可介导动脉平滑肌收缩性增强, 并且可通过不同信号转导途径介导动脉平滑肌增殖、肥大, 致血压升高及动脉重塑^[2,3], 因而各种致细胞内“钙超载”的因素成了近年高血压形成机制研究重点, 同时也是各种降压药物作用机制研究重要“靶点”, 有关细胞膜离子泵功能紊乱的研究及影响离子泵功能的相关降压药物的研究更成为关注的焦点。有研究表明高血压时动脉局部 RAS 等多种体液因子的激活及离子泵本身的基因表达水平的下降均可引起细胞膜离子泵功能紊乱^[4], Ang II 是 RAS 激活的主要效应分子^[11], 当其异常升高时, 通过 PKC 信号转导途径致细胞膜钠泵及钙泵活性受抑^[12], 而当钠泵、钙泵功能亚单位表达下降时, 经翻译生成蛋白量减少, 钠泵及钙泵活性亦受抑^[13], 细胞膜钠泵及钙泵活性受抑致细胞内钙外排障碍, 细胞内“钙超载”, 高血压形成及动脉重塑。ACEI 类降压药物直接作用于 Ang II 转换酶, 降低血浆及组织局部 Ang II 水平, 并被认为可影响多种在体和离体细胞离子泵活性及改善血管重塑, 但其改善动脉重塑是否与其影响动脉组织局部 Ang II 水平, 改善动脉平滑肌离子泵功能紊乱有关未见报道, 两肾一夹肾血管性高血压大鼠的形成被认为同循环及局部 RAS 激活密切相关^[14], 本研究证实: ACEI 类降压药物依那普利可通过降低 2K1C RHR 主动脉组织 Ang II 水平及提高

主动脉组织钠泵和钙泵功能亚单位(钠泵 $\alpha 1$ 亚单位、PMCA1) mRNA 表达水平, 改善动脉平滑肌钠泵、钙泵活性受抑, 并最终改善动脉平滑肌增殖、肥大及纤维母细胞纤维合成增加, 减轻动脉重塑。

既往认为钙通道阻滞剂通过阻滞细胞外钙内流, 降低细胞内钙水平, 降压并改善血管重塑。氨氯地平是目前临床应用最广泛的第 3 代钙通道阻滞剂, 其选择性阻断细胞膜 L 型钙通道^[5], 国内外研究表明氨氯地平还具有除 L 型钙通道阻滞剂以外的血管生物学特性^[6,7], 其中有学者观察到氨氯地平可引起自发性高血压大鼠血浆及肾脏局部 Ang II 水平降低^[15], 另外还有研究表明氨氯地平可增加 EH 患者红细胞膜 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性^[16], 上调自发性高血压大鼠心肌细胞膜 Na^+ , K^+ -ATPase 的基因表达^[12,17], 对动脉平滑肌细胞的 Na^+ , K^+ -ATPase 活性也有一定改善作用^[18]。因而推测其降压及改善血管重塑可能有类似 ACEI 类降压药物因素参与。本研究观察到: 氨氯地平明显减小 2K1C RHR 主动脉 ML/LD、MA/LA, 改善动脉中膜平滑肌肥大及和胶原纤维含量增加及排列紊乱, 且降低主动脉中膜 Ang II 含量, 升高 RHR 主动脉中膜钠泵、钙泵活性, 上调 PMCA1 mRNA 表达水平。因而我们考虑: 氨氯地平可能部分通过降低动脉组织局部 Ang II 水平, 改善动脉平滑肌钠泵、钙泵活性受抑, 而改善动脉重塑; 并且其升高钙泵活性水平可能同其上调 PMCA1 mRNA 表达水平有关。

有关氨氯地平与其它降压药物的联合用药是高血压研究的另一热点问题之一^[19], 国外两项大型临床试验 ASCOT 及 ACCOMPLISH 公布的数据表明:

氨氯地平结合 ACEI 类降压药物的联合用药可进一步增加降压效果,减少心血管事件的发生率和死亡率^[20,21]。在高血压靶器官保护方面,有研究表明:氨氯地平同 ACEI 类降压药物联用时更有助于逆转心室肥厚及左心室舒张功能不全^[22],然而有关氨氯地平联用 ACEI 类降压药物对血管重塑的影响及相关机制的探讨甚少。本研究观察到:氨氯地平联用依那普利较单药明显减小主动脉 ML/LD、MA/LA,并改善动脉平滑肌肥大及胶原纤维含量增加、紊乱,降低主动脉组织局部 Ang II,减轻钠泵、钙泵活性受抑,升高 PMCA1 表达水平。因而推测:上述两药联用更好改善血管重塑可能与它们更有效阻断主动脉组织局部 RAS,降低 Ang II 水平,改善动脉平滑肌细胞膜钠泵、钙泵活性有关。但国内谢良地等^[23]的研究表明:ACEI 类降压药物苯那普利在抗动脉重塑的同时改善动脉平滑肌细胞 L 型钙离子通道功能亚单位 $\alpha 1C$ 的血管重构效应,因而还不能除外氨氯地平联用依那普利改善血管重塑的协同作用还可能部分源自它们对 L 型钙离子通道的协同作用的结果,因而有待进一步探讨。

[参考文献]

[1] Williams B, Lacy PS, Thom SM, et al. Differential impact of blood pressure lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study[J]. *Circulation*, 2006, 113(9): 1 213-225.

[2] 葛长江, 吕树铮, 陈韵岱. 阿托伐他汀对高血压大鼠动脉血压和平滑肌细胞离子泵活性的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, 14: 413-416.

[3] 郑红花, 李映红, 罗德生, 等. 川芎嗪对血管紧张素 II 诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖中 CaN 活性及增殖细胞核抗原表达水平的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(8): 154-154.

[4] 胡威, 商黔惠, 姜黔峰, 等. 依那普利、厄贝沙坦单用及联用对高血压大鼠主动脉重塑与中膜钠泵及钙泵的影响[J]. *中华高血压杂志*, 2010, 18(6): 528-533.

[5] 刘德敏, 崔炜, 鲁静朝, 等. 联合应用氨氯地平与阿托伐他汀改善自发性高血压大鼠动脉弹性功能及主动脉重构[J]. *中华高血压杂志*, 2009, 17(5): 410-415.

[6] Sobal G, Menzel EJ, Sinzinger H. Calcium antagonists as inhibitors of in vitro low density lipoprotein oxidation and glycation[J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61(3): 373-379.

[7] Wada Y, Kato S, Okamoto K, et al. Diltiazem, a calcium antagonist, inhibits matrix metalloproteinase-1 (tissue collagenase) production and collagenolytic activity in human vascular smooth muscle cells[J]. *Int J Mol Med*, 2001, 8(5): 561-566.

[8] 孙敬芳. 动物实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001; 564.

[9] 冯兵, 陈意生, 何作云, 等. 急性压力超负荷诱导心肌内分泌活化[J]. *中国病理生理学*, 1999, 15(10): 891-893.

[10] 商黔惠, 刘晓鹏, 方宁, 等. 高血压大鼠动脉平滑肌细胞钙超载与腺苷三磷酸酶[J]. *高血压杂志*, 2006, 5(4): 379-384.

[11] 李瑾, 方宁远, 陆惠华, 等. 依那普利对自发性高血压大鼠心脏局部血管紧张素转换酶及左室肥厚的作用[J]. *中国现代医学杂志*, 2004, 11(24): 1 053-055.

[12] Caroline N, Gemma A, Liu CC, et al. Angiotensin II inhibits the $Na^+ - K^+$ pump via PKC-dependent activation of NADPH oxidase[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296(4): C693-C700.

[13] Liu X, Songu ME. Alterations in alpha subunit expression of cardiac $Na^+ - K^+$ ATPase in spontaneously hypertensive rats: effect of antihypertensive therapy[J]. *Eur J Pharmacol*, 1997, 327(2-3): 151-156.

[14] Wang P, Tang FT, Li RF, et al. Contribution of different Nox homologues to cardiac remodeling in two-kidney two-clip renovascular hypertensive rats: Effect of valsartan[J]. *Pharmaceutical Research*, 2007, 55(5): 408-417.

[15] 宁兆琪, 牟善初, 王喜群, 等. 氨氯地平、依那普利对自发高血压大鼠肾脏组织裂素活化蛋白激酶、血管紧张素 II、内皮素的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2000, 25(4): 296-298.

[16] 朱思云, 李瑜林, 李治民. 氨氯地平与硝苯地平对高血压病红细胞钙内流与钙泵活性及血压影响的研究[J]. *中华心血管病杂志*, 2000, 28(1): 68.

[17] Khalil MF, Samant DR, Gadqil UG, et al. Effects of diltiazem on cation transport across erythrocyte membranes of hypertensive humans[J]. *Hypertension*, 1987, 9(1): 18-23.

[18] Pan M, Janis RA. Stimulation of $Na^+ - K^+$ ATPase of isolated smooth muscle membranes by the Ca^{2+} channel inhibitors, nifedipine and nitrendipine[J]. *Biochem Pharmacol*, 1984, 33(5): 787-912.

[19] 徐贤雄, 欧雅莉, 杨天伦. 氯地平与厄贝沙坦对原发性高血压患者血清基质金属蛋白酶的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 20(14): 2 201-203.

[20] Dahlöf B, Sever PS, Poulter NR, et al. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicentre randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2005, 366(9 489): 895-906.

[21] Kenneth J, Michael AW, George LB, et al. Benazepril plus Amlodipine or Hydrochlorothiazide for Hypertension in High-Risk Patients[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(4): 2 417-428.

[22] 张磊, 黎瑶, 戴祖荣, 等. 氨氯地平与依那普利联合治疗高血压病左心室舒张功能不全的疗效[J]. *心脏杂志*, 2009, 21(5): 683-685.

[23] 谢良地, 欧阳秋芳, 赵红佳, 等. 氟伐他汀、苯那普利对自发性高血压大鼠血管平滑肌细胞 L 型钙通道 $\alpha 1C$ 表达的影响[J]. *中华高血压杂志*, 2008, 16(12): 1 100-104.

(此文编辑 李小玲)