

培哌普利联合厄贝沙坦治疗大鼠扩张型 心肌病近期和远期疗效

马国添¹, 谢秀梅¹, 巫相宏², 陈晓彬¹, 方叶青¹, 何晋¹

(1. 中南大学湘雅医院心内科, 长沙 410008; 2. 广西心血管病研究所, 南宁 530021)

[摘要] 目的:探讨培哌普利联合厄贝沙坦治疗扩张型心肌病(DCM)大鼠的近、远期疗效。方法:腹腔注射阿霉素建立大鼠 DCM 模型。实验大鼠分 4 组:A 组($n=14$)为正常大鼠,B 组($n=26$)为 DCM 大鼠,均无药物干预;C($n=24$),D($n=24$)组均为 DCM 大鼠,其中 C 组予以培哌普利 $2\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 灌胃,D 组予以培哌普利 $1\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 联合厄贝沙坦 $25\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 灌胃。酶联免疫吸附法检测血浆脑利钠肽(BNP)水平;检测血钾、血肌酐水平;心肌 HE 染色后进行病理评分;记录干预过程各只大鼠存活期。结果:药物干预 3 周后,D 组 BNP 水平低于 C 组($P<0.05$);各组干预前后血钾、血肌酐水平差异无统计学意义($P>0.05$);与 B 组比较,C 和 D 组心肌病理损害均减轻($P<0.01$),而 C 与 D 组间心肌病理损害的差异无统计学意义($P>0.05$)。对数秩检验显示:C 组存活期短于 D 组($P<0.05$);Cox 回归分析显示:联合用药或单用培哌普利为延长生存期因素,联合用药作用更明显。结论:培哌普利联合厄贝沙坦治疗 DCM 大鼠,在改善心功能及远期预后方面优于单用培哌普利,2 种方案均能减轻心肌病理损害且未见血钾、血肌酐升高不良反应。

[关键词] 血管紧张素转换酶抑制剂; 血管紧张素 II 1 型受体阻滞剂; 扩张型心肌病; 大鼠; 疗效

[中图分类号] R542.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-7347(2007)04-0594-05

Short- and long-term therapeutic effects of combination therapy with perindopril and irbesartan in a rat model of dilated cardiomyopathy

MA Guo-tian¹, XIE Xiu-mei¹, WU Xiang-hong²,
CHEN Xiao-bin¹, FANG Ye-qing¹, HE Jin¹

(1. Department of Cardiology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008;

2. Guangxi Cardiovascular Institute, Nanning 530021, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the short-term, and long-term therapeutic effects of combination therapy with perindopril and irbesartan in a rat model of dilated cardiomyopathy (DCM). **Methods** Sprague-Dawley rats were administered adriamycin intraperitoneally to develop DCM. Grouping of rats: Group A contained normal rats, and Group B contained DCM rats. Both Group A and B were not given drug treatment. Group C and D contained DCM rats, however, Group C was administered perindopril $2\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ while Group D was administered perindopril $1\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ and irbesartan $25\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$. Brain natriuretic peptide (BNP) was determined by enzyme linked

①收稿日期(Date of reception) 2006-07-05

作者简介(Biography) 马国添(1975-),男,广西梧州人,博士,主治医师,主要从事扩张型心肌病发病机制及治疗措施研究,现在广西心血管病研究所工作。

通讯作者(Corresponding author) 谢秀梅,E-mail: maguotian1998@yahoo.com.cn

基金项目(Foundation items) 湖南省教育厅“十五”重点学科建设项目;广西医疗卫生重点科研课题(重 200530) This work was supported by Department of Education of Hunan Province Key Program Foundation and Focus Research Foundation of Department of Public Health of Guangxi Province of P. R. China (Focus 200530)

immunosorbent assay; plasma potassium and creatinine were measured; the pathological lesions of cardiac muscle tissues were evaluated after HE staining; and the survival time of each rat during the intervention was recorded. **Results** After the three-week intervention, the plasma concentrations of BNP in Group D were lower than those in Group C ($P < 0.05$); In each group, plasma concentrations of potassium and creatinine showed no significant differences between pre-intervention and post-intervention ($P > 0.05$); pathological lesions of cardiac muscle tissues in both Group C and D were attenuated compared with those in Group B ($P < 0.01$), but pathological lesions of cardiac muscle tissues showed no significant differences between Group C and Group D ($P > 0.05$). Log-rank test showed that the life span of Group C was shorter than that of Group D ($P < 0.05$); Cox regression analysis showed that both combination therapy and monotherapy with perindopril could prolong the survival time, but the effect of combination therapy was more obvious. **Conclusion** Combination therapy with perindopril and irbesartan in a rat model of DCM can more effectively improve the cardiac function and long-term prognosis than those monotherapy with perindopril. Both these two treatment plans can attenuate the pathological lesions of cardiac muscle tissues, without elevating the concentrations of plasma potassium and creatinine.

Key words: angiotensin-converting enzyme inhibitors; angiotensin II type 1 receptor blockers; cardiomyopathy, dilated; rats; therapeutic effect

[*J Cent South Univ (Med Sci)*, 2007, 32(4):0594-05]

扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)的特征是心室腔扩大、收缩功能下降,散发的DCM可有多种病因:包括各类微生物感染、毒素、长期过量饮酒、化疗药物(如蒽环类)等^[1]。DCM对机体的危害主要是导致慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)。目前认为可将血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin-converting enzyme inhibitors, ACEIs)联合血管紧张素II 1型受体阻滞剂(angiotensin II type 1 receptor blockers, ARBs)治疗CHF^[2],以便获得更好疗效。但是,这种联合用药的方案存在不良反应增多的缺点^[3]。本研究将ACEIs中的培哌普利(perindopril)和ARBs中的厄贝沙坦(irbesartan)常用抗心衰剂量一半联合治疗CHF的DCM大鼠,探讨是否可以增强近、远期疗效而不增加不良反应。

1 材料与方法

1.1 材料 清洁级雄性SD大鼠由广西医科大学实验动物中心提供,体质量250~280 g。阿霉素由深圳万乐药业有限公司生产,培哌普利由法国施维雅制药有限公司生产,厄贝沙坦由扬子江药业集团江苏制药股份有限公司生产。96T AssayMax Rat BNP-32 ELISA试剂盒为美国Assaypro公司产品。

1.2 建立DCM动物模型 SD大鼠156只随机分为2组,对照组14只,造模组142只,对照组予以腹腔注射生理盐水;造模组参照文献^[4-5]予以腹腔注射阿霉素2.8 mg/(kg·week),用药11周后,停药观察2周。13周后,对照组全部存活,造模组存活并经超声心动图证实患DCM大鼠为74只。

1.3 药物干预实验及生存分析 将上述存活且符合条件的大鼠分为4组。A组($n = 14$)为正常大鼠,每天予以蒸馏水灌胃。DCM大鼠随机分为B($n = 26$),C($n = 24$),D($n = 24$)组。B组(DCM-对照)每天予以蒸馏水灌胃;C组(DCM-培哌普利)予以培哌普利常用抗心衰剂量2 mg/(kg·d)^[6]灌胃;D组(DCM-联合用药)予以培哌普利常用抗心衰剂量的一半1 mg/(kg·d)以及厄贝沙坦常用抗心衰剂量的一半25 mg/(kg·d)^[7]灌胃。自药物干预开始,详细记录每只大鼠的生存天数,比较各组生存期的差异。3周后,各组中仍存活的大鼠均处死11只,用于探讨光镜下心肌组织的病理改变。此批44只大鼠在Cox回归分析时作为截尾数据,剩余大鼠继续用于生存分析。B,C和D组大鼠,以干预前有否腹水、采取药物干预方案(无药物干预、单用培哌普利、联合用药)、左室舒张末径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左室收缩末径(left ventricular

end systolic diameter, LVESD)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)为协变量,通过Cox回归分析研究影响预后的因素。其中有否腹水,干预方案为分类变量,赋值:0 = “有腹水”,1 = “无腹水”;0 = “无药物干预”,1 = “单用培哚普利或联合用药”。LVEDD, LVESD 和 LVEF 作为连续型变量。

1.4 超声心动图检查 用 Agilent SONOS 5500 超声仪,频率为 12 MHz 探头对大鼠行超声心动图检查。记录造模期结束后大鼠 LVEDD, LVESD 和 LVEF。

1.5 脑利钠肽及生化指标检测 药物干预实验前,所有大鼠均经内眦取全血 1.5 mL,乙二胺四乙酸二钠抗凝。全血静置 30 min 后,3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆置 -70 °C 冰箱保存;药物干预 3 周后,采取同样方法分离处死的 44 只大鼠的血浆。酶联免疫吸附法检测血浆脑利钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)水平。血钾和血肌酐按常规方法检测。

1.6 光镜下心肌组织病理改变 干预 3 周后,取被处死大鼠左心室前壁心肌,4% 多聚甲醛固定 24 h,苏木素-伊红(hematoxylin eosin, HE)染色后光镜下进行心肌病理评分。评分标准:0 级为无心肌损害;1 级为 1 或 2 个小病灶;2 级为数个小病灶;3 级为多个小病灶或严重的大病灶;4 级为多个大病灶,弥漫性浸润或坏死。

1.7 统计学处理 连续型变量形式的实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组数据间比较用两样本 t 检验;组内前后比较用配对 t 检验;多组间比较用单因素方差分析。多组分类变量的比较用多个独立样本秩和检验。两样本率比较用 χ^2 检验。各组生存期比较用对数秩检验;Cox 回归分析筛选影响生存期的因素。采用 SPSS 13.0 统计软件, $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 建立 DCM 模型成功率 142 只 SD 大鼠造模后存活并经超声心动图证实患 DCM 大鼠为 74 只,造模成功率 52%。造模组大鼠 LVEDD, LVESD 明显大于对照组大鼠($P < 0.01$);造模组大鼠 LVEF 明显小于对照组大鼠($P < 0.01$)(表 1)。

表 1 对照组和造模组大鼠 LVEDD, LVESD 和 LVEF 比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of LVEDD, LVESD and LVEF between the control group and the model group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LVEDD (mm)	LVESD (mm)	LVEF (%)
对照组	14	5.80 ± 0.26	3.54 ± 0.66	74 ± 8
造模组	74	6.63 ± 0.45 **	5.20 ± 0.53 **	49 ± 6 **

与对照组比较, ** $P < 0.01$

2.2 血浆 BNP, 血钾和血肌酐水平 与对照组相比,造模组(B, C, D 组)血浆 BNP 水平均明显升高($P < 0.05$)。C, D 组药物干预 3 周后血 BNP 水平明显下降($P < 0.01$),且 D 组 BNP 水平低于 C 组($P < 0.05$)。各组干预前后血钾、血肌酐水平差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。

2.3 心肌病理评分比较 B 组可见心肌细胞明显空泡变性、坏死、纤维化,炎症细胞浸润。C 组见心肌细胞空泡变性及炎症细胞浸润, D 组见心肌细胞空泡变性(图 1)。C 组病理评分平均秩和低于 B 组(14.59 vs 26.41, $P < 0.01$);D 组病理评分平均秩和也低于 B 组(10.00 vs 26.41, $P < 0.01$);C, D 组间病理评分平均秩和的差异无统计学意义(14.59 vs 10.00, $P > 0.05$)。

表 2 药物干预前后血浆 BNP, 血钾和血肌酐水平变化($\bar{x} \pm s$, $n = 11$)

Table 2 Changes of plasma levels of BNP, potassium, and creatinine between pre-intervention and post-intervention ($\bar{x} \pm s$, $n = 11$)

组别	BNP ($\mu\text{g/L}$)		血钾 (mmol/L)		血肌酐 ($\mu\text{mol/L}$)	
	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
A 组	0.21 ± 0.04	0.20 ± 0.04	4.48 ± 0.31	4.42 ± 0.35	48 ± 8	47 ± 7
B 组	0.39 ± 0.05 *	0.45 ± 0.07 *	4.23 ± 0.30	4.24 ± 0.27	41 ± 6	41 ± 6
C 组	0.38 ± 0.07 *	0.33 ± 0.07 * $\Delta\Delta\#$	4.48 ± 0.38	4.46 ± 0.37	41 ± 8	44 ± 8
D 组	0.39 ± 0.04 *	0.27 ± 0.05 * $\Delta\Delta\#\blacktriangle$	4.32 ± 0.38	4.26 ± 0.38	43 ± 6	42 ± 5

与 A 组比较, * $P < 0.05$;与药物干预前比较, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$;与 B 组比较, # $P < 0.05$;与 C 组比较, \blacktriangle $P < 0.05$

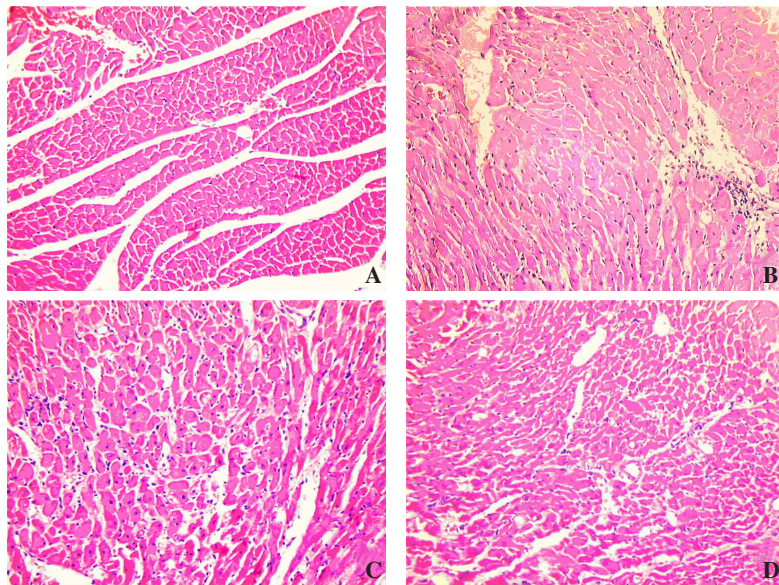


图1 药物干预后各组心肌组织病理改变(HE, $\times 200$) A:正常组;B:DCM-对照组;C:DCM-培哚普利组;D:DCM-联合用药组
Fig. 1 Each group's pathological changes of cardiac muscle tissues after drug intervention (HE, $\times 200$) A: Group normal; B: Group DCM-control; C: Group DCM-perindopril; D: Group DCM-combination therapy

2.4 生存分析 药物干预3周后,A,B,C和D组存活大鼠为14,14,18和20只,3周内存活率分别为100%,54%,75%和83%。B,C组3周内存活率差异无统计学意义($P > 0.05$)。D组3周内存活率大于B组($P < 0.05$)。每组取11只大鼠处死后剩余大鼠继续观察5周,A组仍存活大鼠3只,B,C和D组大鼠全部死亡。对数秩检验显示:C组生存期长于B组($P < 0.05$),但是短于D组($P < 0.05$)(图2)。Cox回归分析显示:减少生存时间的因素为有腹水;有助于延长生存时间的因素是联合用药,单用培哚普利和高的LVEF,联合用药所起作用最大(表3)。

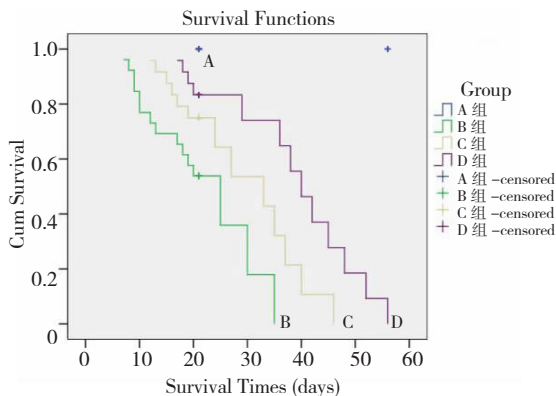


图2 药物干预后各组Kaplan-Meier生存曲线

Fig. 2 Kaplan-Meier survival curve of each group after drug intervention

表3 影响大鼠生存因素Cox回归分析

Table 3 Screening the factors that affect the rats' survival by Cox regression analysis

影响因素	B	Sig	Exp (B)	Exp(B)95%可信区间	
				上	下
腹水	2.666	0.000	14.385	3.867	53.503
LVEF	-0.180	0.009	0.835	0.730	0.956
单用培哚普利	1.129	0.010	3.092	1.307	7.316
联合用药	1.737	0.001	5.678	2.082	15.484

3 讨 论

DCM的预后很差,故需积极寻求治疗措施。目前,有关ACEIs联合ARBs治疗CHF的疗效尚存争议,故心衰治疗指南^[2]只把这种方案列为II b类治疗措施,有关这方面的研究尚需进行。另外,即使是最成功的ACEIs联合ARBs治疗CHF的临床试验—坎地沙坦降低心衰病死率和发病率的评估中的CHARM-Added研究发现在常规抗心衰基础上加用坎地沙坦可取得更好疗效,但可能因为药物剂量过大,该组7.8%患者血肌酐水平明显增高,3.4%患者出现高钾血症,24.2%患者因各种不良反应及化验异常退出研究,均高于常规治疗组^[3]。ACEIs,ARBs各取常用剂量的一半联合治疗DCM引起的CHF,是否可以取得更好疗效而不

增加不良反应,值得探讨。

本研究显示,培哌普利和厄贝沙坦各取常用剂量的一半联合治疗 CHF 的 DCM 大鼠,与单用培哌普利比较,使血浆 BNP 水平下降更明显。提示联合用药可以更明显减轻心室负荷,改善心功能。无论何种治疗方案,均观察到心肌的变性、坏死、纤维化减轻,体现出 ACEIs 和 ARBs 这 2 类药物在减轻 DCM 心肌病理损害的良好作用。联合用药似乎在减少心肌炎症细胞浸润方面优于单用培哌普利,但 2 组病理评分的差异无统计学意义,有待进一步扩大样本含量。另外,DCM-联合用药组未见干预后血钾、血肌酐升高不良反应,减半剂量联合的方案克服了以往联合用药的缺点,显示出其安全性。评价治疗 DCM 的疗效,最关键还在于 DCM 病例生存时间是否得到延长。通过 3 周内存活率比较以及对数秩检验,均显示 DCM-联合用药组生存期长于 DCM-培哌普利组。Cox 回归分析进一步显示:DCM-培哌普利组的死亡危险度是 DCM-对照组的 0.32 倍;而 DCM-联合用药组的死亡危险度是 DCM-对照组的 0.18 倍。可见联合药物治疗 DCM 大鼠,在改善远期预后方面优于单用培哌普利。联合用药产生更好的治疗 CHF 的疗效,目前认为主要机制是^[8]: ARBs 可以阻断通过旁路生成的血管紧张素 II 的作用,阻断肾素-血管紧张素系统更加完全; ARBs 通过阻滞 AT₁ 受体,使 AT₂ 受体有益的作用得以发挥;单用 ARBs,不引起缓激肽积聚,而 ACEIs 可使缓激肽积聚,缓激肽起扩血管作用,有益于心衰治疗。因此,这 2 类药物虽然均作用于肾素-血管紧张素系统,但是有良好的互补协同作用。

Matsumura 等^[9]报道由于广泛使用 ACEIs, ARBs 以及 β 受体阻滞剂,日本近 10 年来 DCM 的 5 年、10 年生存率分别升至 80.9% 和 65.3%。相信培哌普利联合厄贝沙坦治疗 DCM 患者同样能获得良好的疗效,这一设想需通过临床试验加以验证。

参考文献:

- [1] Maron B J, Towbin J A, Thiene G, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies [J]. *Circulation*, 2006, 113 (14): 1807-1816.
- [2] Hunt S A, Abraham W T, Chin M H, et al. ACC/AHA 2005 guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult [J]. *Circulation*, 2005, 112 (12): e154-235.
- [3] McMurray J J, Ostergren J, Swedberg K, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial [J]. *Lancet*, 2003, 362 (9386): 767-771.
- [4] Schwarz E R, Pollick C, Dow J, et al. A small animal model of non-ischemic cardiomyopathy and its evaluation by transthoracic echocardiography [J]. *Cardiovasc Res*, 1998, 39 (1): 216-223.
- [5] Teraoka K, Hirano M, Yamaguchi K, et al. Progressive cardiac dysfunction in adriamycin-induced cardiomyopathy rats [J]. *Eur J Heart Fail*, 2000, 2 (4): 373-378.
- [6] Watanabe K, Saito Y, Ma M, et al. Comparative effects of perindopril with enalapril in rats with dilated cardiomyopathy [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2003, 42: S105-109.
- [7] Berthouneche C, Sulpice T, Tanguy S, et al. AT₁ receptor blockade prevents cardiac dysfunction after myocardial infarction in rats [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2005, 19 (4): 251-259.
- [8] Scow D T, Smith E G, Shaughnessy A F, et al. Combination therapy with ACE inhibitor and angiotensin-receptor blockers in heart failure [J]. *Am Fam Physician*, 2003, 68 (9): 1795-1798.
- [9] Matsumura Y, Takata J, Kitaoka H, et al. Long-term prognosis of dilated cardiomyopathy revisited: an improvement in survival over the past 20 years [J]. *Circ J*, 2006, 70 (4): 376-383.

(本文编辑 郭 征)