

## 氯沙坦钾对 5/6 肾切除慢性心衰大鼠心脏的保护作用

岳娟娟,崔寒玥,王 惠,叶 彬,陈丁丁\*

(中国药科大学基础医学与临床药学院,南京 210009)

**摘 要** 研究氯沙坦钾对 5/6 肾切除慢性心衰大鼠心脏的保护作用及其机制。将大鼠随机分为假手术组、模型组、氯沙坦钾组,除假手术组外,其余大鼠通过 5/6 肾切除手术建立肾衰合并心衰模型。6 周后,氯沙坦钾(50 mg/L)饮水给药两周。8 周末处理大鼠,测定血流动力学、心指数、血清肌酐、尿素氮,PCR 测定心脏 CD133、VEGFR2、Sox2 表达量变化,Western blot 测定的心脏 cleaved Caspase 3、Bcl-2 的蛋白量变化。结果显示,氯沙坦钾能明显改善 5/6 肾切除大鼠的心脏结构功能:心指数降低,LVDP、LVEDP 降低,LVSP 升高;肾功能:血清肌酐、尿素氮含量降低,并且上调心脏 CD133、VEGFR2、Sox2 基因表达量,Bcl-2 蛋白水平,下调 cleaved Caspase-3 蛋白水平。氯沙坦钾能够改善慢性心衰大鼠的心衰症状,其机制可能与动员骨髓干细胞,增加内皮祖细胞数量,修复内皮功能,抑制心肌细胞凋亡相关。

**关键词** 氯沙坦钾;慢性心衰;内皮祖细胞;凋亡

**中图分类号** R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)06-0734-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160617

**引用本文** 岳娟娟,崔寒玥,王惠,等. 氯沙坦钾对 5/6 肾切除慢性心衰大鼠心脏的保护作用[J]. 中国药科大学学报,2016,47(6):734-739.  
**Cite this article as:** YUE Juanjuan, CUI Hanyue, WANG Hui, et al. Protective effects of losartan potassium on 5/6 nephrectomy-induced chronic heart failure in rats[J]. *J China Pharm Univ*, 2016, 47(6): 734-739.

## Protective effects of losartan potassium on 5/6 nephrectomy-induced chronic heart failure in rats

YUE Juanjuan, CUI Hanyue, WANG Hui, YE Bin, CHEN Dingding\*

School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** The purpose of this research is to investigate the therapeutic effects of losartan potassium on 5/6 nephrectomy rats with chronic heart failure (CHF) and to explore the mechanism. 24 Rats were randomly divided into three groups namely sham group (Sham), pathology group (Nx) and losartan potassium group (Lst), respectively. CHF model in rats were induced by 5/6 nephrectomy. At the 7th week, rats of Lst group were given losartan potassium (50 mg/L) for consecutive 2 weeks. Then all rats were measured for hemodynamic parameters, cardiac index, creatinine, urea nitrogen in serum, and expressions of CD133, VEGFR2, Sox2, cleaved Caspase-3 and Bcl-2 in heart. Compared with Nx group, rats of Lst group improved cardiac and renal functions: decreased LVDP, LVEDP, cardiac index, creatinine, urea nitrogen and increased LVSP. Furthermore, losartan potassium up-regulated gene expression of CD133, VEGFR2, Sox2 and protein level of Bcl-2, and down-regulated cleaved Caspase-3 protein expression. Results suggest that losartan potassium can improve cardiac function of rats with CHF which may be correlated with mobilizing bone marrow stem cells, increasing endothelial progenitor cells (EPCs) level in heart, repairing endothelial function, and inhibiting myocardial apoptosis.

**Key words** losartan potassium; chronic heart failure; endothelial progenitor cells; apoptosis

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)不是一个独立的疾病,而是各种病因引起的心血管疾病

的终末阶段,其发病率、病死率高,严重危及人类的生理健康。尿毒症导致的心血管并发症即心肾综合

征,是由于慢性肾功能衰竭时,机体代谢紊乱,尿毒症毒素损伤心脏和血流动力学的异常导致的,其最常见的症状是舒张功能障碍和左心室肥厚。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)的激活在慢性心衰的发展进程中发挥了重要的作用<sup>[1]</sup>。RAAS 是维护心血管和肾功能的关键调节系统,对心衰的治疗具有重要意义。氯沙坦是血管紧张素 II 受体阻断药,有文献报道,氯沙坦能改善患者心力衰竭的症状,临床治疗效果显著<sup>[2]</sup>,但是其具体的作用机制还有待进一步研究。

本研究通过采用 5/6 肾切除模型,研究氯沙坦钾对尿毒症引发的慢性心衰大鼠心脏的作用及机制。

## 1 材 料

### 1.1 药品与试剂

氯沙坦钾(杭州默沙东制药有限公司);肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)试剂盒(南京建成生物工程研究所);RIPA 细胞裂解液(强)、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液、PMSF、BeyoECL Plus(超敏 ECL 化学发光试剂盒)、彩色预染蛋白质分子量标准(碧云天生物技术研究所);兔抗大鼠 Caspase-3、Bcl-2 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司);兔抗大鼠  $\beta$ -actin HRP 标记羊抗兔 IgG 抗体(北京博奥森生物技术有限公司);Trizol Reagent RNA 提取试剂、HiFi-MMLV cDNA 第一链合成试剂盒、UltraSYBR Mixture 试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司);引物(上海捷瑞生物工程有限公司);其他试剂均为市售分析纯。

### 1.2 仪 器

BS124S 电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司);Medlab-U/4C501H 生物信息采集系统(南京美易科技有限公司);压力传感器(40 kPa,北京新航科技有限公司);752 型紫外分光光度计(上海菁华实验设备有限公司);天能 EPS300 电泳仪、天能湿式转膜槽、天能 5200 发光成像分析系统(上海天能科技有限公司);实时荧光定量 PCR 仪(德国 Eppendorf 公司)。

### 1.3 动 物

清洁级雄性 SD(Sprague Dawley)大鼠,体重(160 $\pm$ 10)g,由浙江省动物实验中心提供,动物许可证号:SCXK(浙)2014-0001;饲料为定制的高磷

高钙鼠饲料(Ca:1.13%;P:0.94%)。

## 2 方 法

### 2.1 动物分组

将实验动物随机分为假手术大鼠(Sham,  $n=8$ )和 5/6 肾切除大鼠( $n=16$ )。再根据给药方案,将 5/6 肾切除大鼠分为病理组(Nx,  $n=8$ )、氯沙坦钾治疗组(Lst,  $n=8$ )。

### 2.2 动物造模

本实验采用 5/6 肾切除术制造大鼠的慢性肾衰合并心衰模型,用 2% 的戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠后,切除大鼠左肾皮质的 2/3,约为 0.45~0.5 g。行左肾的 2/3 切除术 1 周后进行右肾摘除手术。假手术大鼠仅作背部切口,剥离左右两肾的肾包膜保留肾上腺而不切除肾组织。

### 2.3 动物给药方案

5/6 肾切除术后于第 7 周初, Lst 组大鼠饮水给药(50 mg/L),给药时间持续两周。Sham 组和 Nx 组每日灌胃给予等体积的纯水。

### 2.4 血清肌酐和尿素氮含量测定

5/6 肾切除手术后,8 周末颈总动脉取血,静置约 5~8 h,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,按照肌酐和尿素氮试剂盒说明书测定血清中肌酐和尿素氮的含量。

### 2.5 血流动力学测定

8 周末,行大鼠左心室插管术检测心脏功能。通过生物信息采集系统同步测定左心室血流动力学指标,包括左心室收缩压(LVSP)、左心室舒张压(LVDP)、左心室舒张末期压(LVEDP)、左心室最大压力上升速度( $dP/dt_{\max}$ )和左心室最大压力下降速度( $-dP/dt_{\max}$ )。

### 2.6 心脏重量指数的测定

8 周末,取大鼠心脏,用生理盐水洗净淤血并去除多余脂肪或其他组织,用滤纸吸干心表面的水分,迅速剪取左心室,称量左心室和全心的重量,计算左心室重量指数:左心室重量/全心重(LVW/HW),左心室重量/体重(LVW/BW)和全心重/体重(HW/BW)。

### 2.7 心脏基因表达的测定

取心肌组织 0.1 g,加入 Trizol 1 mL,冰浴匀浆提取心肌细胞总 RNA,按照试剂盒说明书,反转录合成 cDNA,转录好的 cDNA 与相对应的引

物、Ultra SYBR Mixture 等通过实时定量 PCR 扩增。通过扩增曲线读出 Threshold Cycle, CT, 以 GAPDH 为参比基因, 计算各组心脏组织中各个基因的平均  $2^{-\Delta\Delta CT}$  值, 即相对表达值。PCR 引物序列, 见下表 1。

Table 1 PCR primer sequences of the targeted genes

| Targeted gene | Primer squence (5'→3')             |
|---------------|------------------------------------|
| Sox2          | Forward: ATTTAGAACTAGACTCCGGGCGATG |
|               | Reverse: GAATCAAAACCCAGCAAGAACCCT  |
| CD133         | Forward: CATCTCCCTCTTGCTGATTGTCTG  |
|               | Reverse: TGTTCCTGGTGTGTGTGATTGCCC  |
| VEGFR2        | Forward: GAGAACAAGAACAAACTGTGGTGA  |
|               | Reverse: ATGTAAGTGGGATAGTAAAGCCT   |
| GAPDH         | Forward: CAACGGGAACCCATCACCA       |
|               | Reverse: ACGCCAGTAGACTCCACGACAT    |

2.8 Western blot 测心肌细胞凋亡

取大鼠心脏组织 0.1 g, 加入 RIPA 裂解液 1 mL (事先加入 10  $\mu$ L PMSF), 置于冰水浴中匀浆, 至充分裂解。4  $^{\circ}$ C 12 000 r/min, 离心 10 min, 取总蛋白样品, BCA 法蛋白定量后, 加入上样缓冲液, 沸水浴 5 min, 制备蛋白样品。将蛋白样品在 12% 的 SDS-PAGE 凝胶电泳, 电转移至 PVDF 膜上, 5% 的脱脂奶粉封闭 2 h, 一抗 (Bcl-2、caspase-3、 $\beta$ -actin) 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜 4 次, 每次 10 min, 二抗室温孵育 2 h, TBST 洗膜 4 次, 每次 10 min, 用 Beyo ECL Plus 试剂盒 ECL 发光显色, 曝光成像, 对曝光结果进行定量分析, 使用  $\beta$ -actin 作为内参进行校正。

Table 3 Effects of Lst on left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular diastolic pressure (LVDP), left ventricular end diastolic pressure (LVEDP), maximal rate of rise of left ventricle pressure ( $dP/dt_{max}$ ), maximal rate of decrease of left ventricle pressure ( $-dP/dt_{max}$ ) ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

| Group | LVSP   | LVDP  | LVEDP   | $dP/dt_{max}$  | $-dP/dt_{max}$  |
|-------|--|---|---|--|---|
| Sham  | 142.11 $\pm$ 5.21                                      | -20.99 $\pm$ 2.42                                     | -16.69 $\pm$ 2.56                                     | 7 785.77 $\pm$ 282.05                                      | -7 495.90 $\pm$ 273.96                                      |
| Nx    | 115.89 $\pm$ 4.47 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup> | -7.16 $\pm$ 1.37 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup> | -4.96 $\pm$ 1.42 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup> | 5 328.25 $\pm$ 276.19 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup> | -5 030.29 $\pm$ 234.49 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup> |
| Lst   | 134.36 $\pm$ 2.73 <sup><math>**</math></sup>           | -16.07 $\pm$ 2.29 <sup><math>**</math></sup>          | -11.91 $\pm$ 1.98 <sup><math>**</math></sup>          | 7 041.41 $\pm$ 253.19 <sup><math>**</math></sup>           | -6 429.50 $\pm$ 256.04 <sup><math>**</math></sup>           |

<sup>$\Delta\Delta$</sup>  $P < 0.01$  vs Sham group;  <sup>$**$</sup>  $P < 0.01$  vs Nx group

3.3 心指数

Nx 组大鼠心指数左心/全心 (LVW/HW) 和左心/体重 (LVW/BW) 均较 Sham 组大鼠有显著升高 ( $P < 0.01$ ), 全心/体重 (HW/BW) 较 Sham 组升高 ( $P < 0.05$ )。Lst 组大鼠 LVW/HW 与 LVW/BW 均较 Nx 组有显著降低 ( $P < 0.01$ )。结果见表 4。

3.4 心脏中 Sox2、CD133、VEGFR2 基因相对表达量

Nx 组 Sox2、CD133、VEGFR2 基因表达量较 Sham 组显著下降 ( $P < 0.01$ )。Lst 组 Sox2、CD133

2.9 统计学方法

实验数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 组间均数比较采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 血清肌酐、尿素氮含量

Nx 组大鼠血清肌酐、尿素氮含量均明显比 Sham 组高 ( $P < 0.01$ )。Lst 组血清肌酐、尿素氮含量较 Nx 组明显降低 ( $P < 0.01$ )。结果见表 2。

Table 2 Effects of Lst on level of creatinine and urea nitrogen in serum ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

| Group | $c(\text{creatinine})/(\mu\text{mol/L})$               | $c(\text{urea nitrogen})/(\text{mmol/L})$             |
|-------|--|---|
| Sham  | 63.04 $\pm$ 11.08                                      | 5.96 $\pm$ 0.86                                       |
| Nx    | 126.15 $\pm$ 8.76 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup> | 13.49 $\pm$ 1.30 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup> |
| Lst   | 85.18 $\pm$ 5.00 <sup><math>**</math></sup>            | 9.35 $\pm$ 0.62 <sup><math>**</math></sup>            |

<sup>$\Delta\Delta$</sup>  $P < 0.01$  vs Sham group;  <sup>$**$</sup>  $P < 0.01$  vs Nx group

Nx: Pathology group; Lst: Losartan potassium group

3.2 心功能参数

Nx 组较 Sham 组左心室舒张压 (LVDP)、左室舒张末期压 (LVEDP) 显著升高 ( $P < 0.01$ ), 左室收缩压 (LVSP)、左心室最大压力上升速度 ( $dP/dt_{max}$ ) 和左心室最大压力下降速度 ( $-dP/dt_{max}$ ) 的绝对值显著降低 ( $P < 0.01$ )。Lst 治疗组 LVSP、 $dP/dt_{max}$ 、 $-dP/dt_{max}$  的绝对值均较 Nx 组显著上升 ( $P < 0.01$ ), LVDP、LVEDP 较 Nx 组显著降低 ( $P < 0.01$ )。结果见表 3。

表达量较 Nx 组显著上升 ( $P < 0.01$ ), VEGFR2 表达量较 Nx 组上升 ( $P < 0.05$ )。具体结果见表 5。

3.5 心肌凋亡相关蛋白的表达

Nx 组的活化的 Caspase-3 (cleaved Caspase-3) 较 Sham 组显著增多 ( $P < 0.01$ )。Lst 组活化的 Caspase-3 较 Nx 组显著减少 ( $P < 0.01$ )。Nx 组的 Bcl-2 的表达量较 Sham 组显著减少 ( $P < 0.01$ )。Lst 组 Bcl-2 的表达量较 Nx 组增多 ( $P < 0.05$ )。结果见图 1。

**Table 4** Effects of Lst on left ventricular weight/heart weight (LVW/HW), left ventricular weight/body weight (LVW/BW), heart weight/body weight (HW/BW) ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

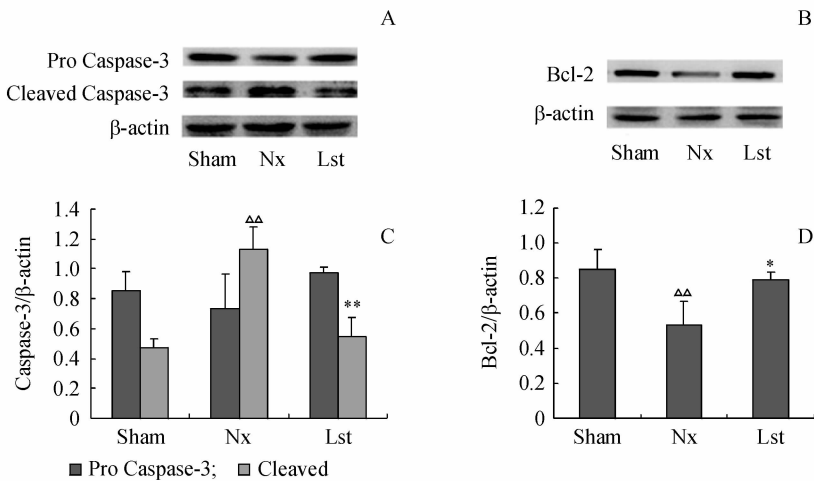
| Group | LVW/HW<br>(g/g)           | LVW/BW<br>(g/kg)          | HW/BW<br>(g/kg)          |
|-------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Sham  | 0.36 ± 0.02               | 0.95 ± 0.06               | 2.62 ± 0.13              |
| Nx    | 0.44 ± 0.02 <sup>ΔΔ</sup> | 1.28 ± 0.11 <sup>ΔΔ</sup> | 2.95 ± 0.30 <sup>Δ</sup> |
| Lst   | 0.37 ± 0.01 <sup>**</sup> | 1.00 ± 0.05 <sup>**</sup> | 2.65 ± 0.12              |

<sup>Δ</sup>*P* < 0.05, <sup>ΔΔ</sup>*P* < 0.01 vs Sham group; <sup>\*</sup>*P* < 0.01 vs Nx group

**Table 5** Effects of Lst on expressions of Sox2, CD133, VEGFR2 genes in rat heart ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| Group | Sox2 2 <sup>-ΔΔCT</sup>   | CD133 2 <sup>-ΔΔCT</sup>  | VEGFR2 2 <sup>-ΔΔCT</sup> |
|-------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Sham  | 1.00 ± 0.00               | 1.00 ± 0.00               | 1.00 ± 0.00               |
| Nx    | 0.20 ± 0.02 <sup>ΔΔ</sup> | 0.66 ± 0.02 <sup>ΔΔ</sup> | 0.59 ± 0.04 <sup>ΔΔ</sup> |
| Lst   | 1.28 ± 0.07 <sup>**</sup> | 1.13 ± 0.11 <sup>**</sup> | 1.13 ± 0.18 <sup>*</sup>  |

<sup>ΔΔ</sup>*P* < 0.01 vs Sham group; <sup>\*</sup>*P* < 0.05, <sup>\*\*</sup>*P* < 0.01 vs Nx group



**Figure 1** Apoptosis-related protein expressions in heart were determined by Western blot ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

A: Protein levels of Pro Caspase-3 and cleaved Caspase-3; B: Protein levels of Bcl-2; C-D: Protein levels quantified by band gray-value ratio to β-actin; C: Pro Caspase-3 and cleaved Caspase-3; D: Bcl-2

<sup>ΔΔ</sup>*P* < 0.01 vs Sham group; <sup>\*</sup>*P* < 0.05, <sup>\*\*</sup>*P* < 0.01 vs Nx group

4 讨 论

心血管并发症是终末期肾衰竭即尿毒症的一个严重并发症,慢性肾衰后期出现心衰。笔者实验室前期研究表明,5/6 肾切除大鼠不仅表现出慢性肾衰,而且在后期心血管也出现病理变化,心肌细胞肥大、心肌纤维化、心脏结构发生重构、心脏负荷加大<sup>[3]</sup>。上述结果在本实验中得到进一步证实,Nx 组与 Sham 组相比,大鼠血清肌酐、尿素氮含量显著上升,提示肾功能下降。LVW/HW、LVW/BW 和 HW/BW 均升高,提示 Nx 组大鼠左心室心肌重塑,心肌肥厚,LVDP、LVEDP 升高,LVSP、dP/dt<sub>max</sub> 和 -dP/dt<sub>max</sub> 的绝对值降低,提示 Nx 组大鼠心功能受损。总之,5/6 肾切除大鼠发生了慢性肾功能衰竭,即尿毒症,且并发了慢性心功能衰竭。

给予模型大鼠氯沙坦钾治疗后,与 Nx 组相比,给药组血清肌酐、尿素氮含量显著降低。心指数 LVW/HW 与 LVW/BW 显著降低,心功能参数 LVSP、dP/dt<sub>max</sub>、-dP/dt<sub>max</sub> 的绝对值上升,LVDP、

LVEDP 降低,表明心脏收缩和舒张功能得到了改善,心脏容量负荷降低。这些结果提示氯沙坦钾治疗对尿毒症大鼠肾衰和心衰情况有较好的改善作用。心衰是一种复杂的临床症状群,其发生发展与多种因素相关,其中 RAAS 被激活发挥了十分重要的作用。血管紧张素 II (Ang II) 是 RAAS 的效应分子,当 RASS 被激活时 Ang II 表达增加,参与机体内液体和电解质平衡,协调心脏、血管和肾脏之间的功能<sup>[4]</sup>。此外,Ang II 还参与心肌的重塑、生长和凋亡<sup>[5]</sup>。氯沙坦钾是口服血管紧张素 II 受体 (angiotensin II receptor blocker, ARB) 阻断药,阻断循环及组织中 Ang II 介导的作用,改善肾脏血流动力学,减少机体水钠潴留,减轻心脏前负荷,改善心脏重构及血管内皮功能。

内皮功能受损是充血性心衰患者的一个关键特征。内皮功能受损导致外周血灌注不足,加重心衰,且运动能力下降,心肌灌注受损,心室后负荷增加<sup>[6]</sup>。另外,血管生成功能和内皮修复机制也继发受损,内皮功能及其受损后修复与内皮祖细胞密

切相关。内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 是一种骨髓干细胞, 通常在外周循环血中数量很少, 但在某些生理或病理的刺激下, 骨髓中休眠的 EPCs 被动员进入外周血中, 归巢到特定的位点进行增殖分化, 形成内皮细胞或者通过分泌细胞因子, 促进血管发生。EPCs 能促进心肌肥厚患者血管内皮细胞的整合与分化, 参与心肌血管形成。一些小分子介导的重编的小鼠和人 EPCs, 血管生成及功能活性增加, 而且重编后的 EPCs 更有利于向心肌细胞分化, 显著改善微管系统及心脏结构功能<sup>[7]</sup>。有文献报道, Ang II 通过诱导氧化应激加速 EPCs 的衰老<sup>[8]</sup>, 还可能通过诱导凋亡减少 EPCs 数量<sup>[9]</sup>。EPCs 的数量及功能是多种心血管疾病风险的重要的生物标志。现今一般采用 CD34、CD133、VEGFR2 等几种抗原联合的方式对 EPCs 进行鉴定。CD133 和 VEGFR2 表达量增加提示 EPCs 数量增多。2006 年, Takahashi 等<sup>[10]</sup>筛选出 4 种转录因子 Oct4, Sox2, kLF4 和 C-Myc (SKOM), 将这 4 种转录因子基因导入成熟大鼠皮肤成纤维细胞将使之重编程转化为胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 样细胞, 称为诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs)。在 ESC 和 iPSC 中, Oct4 和 Sox2 发挥着关键转录因子的调节作用<sup>[11]</sup>。有研究者只用 Sox2 一个因子, 诱导小鼠胚胎成纤维细胞直接编程为具有自我更新能力和多分化潜能的神干细胞<sup>[12]</sup>。Sox2 能维持上胚层细胞的未分化状态, 在干细胞自我更新过程中发挥作用, 具有干细胞调控的特性, Sox2 表达增多提示干细胞数量增加。本实验中, Lst 治疗组 Sox2、CD133、VEGFR2 表达量均较 Nx 组上升, 提示氯沙坦钾可能具有动员骨髓干细胞, 增加归巢到心脏的 EPCs 的数量, 进而修复心肌受损血管及内皮功能的作用。目前认为: EPCs 与造血干细胞 (haematopoietic stem cells, HSCs) 均来自血管原细胞, EPCs 从骨髓动员的机制<sup>[13]</sup>: 大多数的 EPCs 在骨髓的干细胞窝休眠, 血液中 HSCs 迁移回骨髓中, 被黏附分子锚定到基质细胞, 基质细胞刺激诱导增殖, 转化成具有再生潜能, 可迁移, 归巢至受损部位的功能性细胞, 但是这个过程还未完全研究清楚。EPCs 的动员、归巢是一个复杂的过程, 受多种分子调控: 细胞因子/趋化因子, 蛋白酶, 细胞黏附分子, 如基质细胞衍生因子/趋化因子受体 4

(CXCR4) 轴, 金属蛋白酶 9 (MMP9), 血管内皮舒张因子 (VEGF), NO 等。RAAS 系统激活后, 引起氧化应激, 快速减少 NO 水平<sup>[14]</sup>, 另外醛固酮可以引起 VEGFR2 表达减少<sup>[15]</sup>, 因而使用 ARB 类药物<sup>[16]</sup>能增加外周 EPCs 数量。虽然, 以前已有研究表明氯沙坦对冠心病、高血压患者或大鼠的 EPCs 具有积极的作用, 但是在本试验中, 首次发现氯沙坦钾对尿毒症引发的慢性心衰大鼠有明显的改善作用, 显著增加 EPCs 数量。

心衰患者左心室收缩功能进行性衰退, 心肌细胞凋亡在其衰退进程中发挥着重要的作用, 心肌细胞绝对数量逐渐减少, 心肌收缩力下降。Ang II 在心衰时被激活, 诱导心肌细胞凋亡<sup>[5]</sup>。Bcl-2 家族中的 Bcl-2 为抗凋亡基因, 其表达水平增高, 则抑制细胞凋亡。Caspase-3 是 caspase 家族中的一个关键分子, 是凋亡下游级联反应中最重要的执行者。本实验中, 氯沙坦钾治疗后 Bcl-2 的表达明显上调, Caspase-3 的活化明显减少, 提示氯沙坦钾能抑制心肌细胞凋亡。

总之, 5/6 肾切除大鼠并发了慢性心衰, 氯沙坦钾能够改善其心功能, 其机制可能与动员骨髓干细胞, 增加 EPCs 数量, 改善内皮功能, 并且抑制心肌细胞凋亡有关, 但是本实验缺少对氯沙坦钾的量效关系的验证, 因而还有待进一步研究。目前, 氯沙坦钾多用于治疗高血压及其引起的并发症, 如高血压肾病、心衰等, 但是本实验表明氯沙坦钾对尿毒症也有一定的疗效, 对于尿毒症引起的心衰疗效显著, 对氯沙坦钾的进一步应用具有重要意义。

## 参考文献

- [1] Unger T, Li J. The role of the renin-angiotensin-aldosterone system in heart failure [J]. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2004, **5** (Suppl 1): S7-10.
- [2] Lund L, Benson L. Losartan vs candesartan for heart failure [J]. *JAMA*, 2012, **308** (4): 336-337.
- [3] Wang JJ, Chen DD. Cardiorenal syndrome in 5/6 nephrectomized rats [J]. *Chin J Mod Drug Appl* (中国现代药物应用), 2009, **3** (15): 1-4.
- [4] Remuzzi G, Perico N, Macia M, et al. The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2005, **68** (Suppl 99): S57-65.
- [5] Zhao YH, Lu CX, Lei T, et al. The study of angiotensin II inducing apoptosis in neonatal rat cardiomyocytes [J]. *Molecular Cardiol China* (中国分子心脏病学杂志), 2008, **8** (2): 83

- 86.

- [6] Drexler H. Endothelium as a therapeutic target in heart failure [J]. *Circulation*, 1998, **98**(24):2652-2655.
- [7] Thal M, Krishnamurthy P, Mackie A, et al. Enhanced angiogenic and cardiomyocyte differentiation capacity of epigenetically reprogrammed mouse and human endothelial progenitor cells augments their efficacy for ischemic myocardial repair [J]. *Circ Res*, 2012, **111**(2):180-190.
- [8] Imanishi T, Hano T, Nishio I. Angiotensin II accelerates endothelial progenitor cell senescence through induction of oxidative stress [J]. *J Hypertens*, 2005, **23**(1):97-104.
- [9] Endtmann C, Ebrahimian T, Czech T, et al. Angiotensin II impairs endothelial progenitor cell number and function *in vitro* and *in vivo*; implications for vascular regeneration [J]. *Hypertension*, 2011, **58**(3):394-403.
- [10] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, **126**(4):663-676.
- [11] Rao JH, Zhou X. The key cell factors of stem cells Oct4 and Sox2 [J]. *Prog Veterinary Med* (动物医学进展), 2012, **33**(3):114-119.
- [12] Liu C, Rong LM, Liu B. Sox2 induce mouse embryonic fibroblasts direct reprogrammin into neural stem cells [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2015, **31**(1):87-92.
- [13] Tilling L, Chowienczyk P, Clapp B. Progenitors in motion: the mechanisms of mobilization of endothelial progenitor cells [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2009, **68**(4):484-492.
- [14] Kasal DA, Schiffrin EL. Angiotensin II, aldosterone, and anti-inflammatory lymphocytes: interplay and therapeutic opportunities [J]. *Int J Hypertens*, 2012, **2012**:829786.
- [15] Marumo T, Uchimura H, Hayashi M, et al. Aldosterone impairs bone marrow-derived progenitor cell formation [J]. *Hypertension*, 2006, **48**(3):490-496.
- [16] Yu Y, Fukuda N, Yao EH, et al. Effects of an ARB on endothelial progenitor cell function and cardiovascular oxidation in hypertension [J]. *Am J Hypertens*, 2008, **21**(1):72-77.



# 中國藥科學學報

中国精品科技期刊 中国高校精品科技期刊  
中国中文核心期刊 中国科学引文数据库核心期刊

传播医药科技创新研究成果的优秀媒体

药学前沿

提供药学领域的前沿信息 反映最新的药学研究进展

创新成果

展示医药科技最新成果 构建学术交流的平台

研究论文

科学研究原创论文 国家重大药学研究基金产出论文

邮发代号: 28-115, 欢迎订阅, 欢迎投稿!