

阿利吉仑与氨氯地平对肾动脉狭窄大鼠血脂、肾功能及 PRA 影响

郝 炎 杨乔岚 韩玉祯 余 翼 陈 明

摘 要 **目的** 探讨阿利吉仑与氨氯地平对肾动脉狭窄性大鼠甘油三酯、胆固醇(TC)、尿素氮、肌酐(Cr)及血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)的影响,拟为临床有效治疗动脉粥样硬化性肾动脉狭窄提供理论依据和策略。**方法** 将雄性 SD 大鼠随机分为一肾一夹(one kidney one clip, 1K1C)组、二肾一夹(two kidney one clip, 2K1C)组及对照组。各组大鼠均予注射维生素 D₃ 50 万 IU/kg 并高脂饲养 10 周建立动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)合并肾动脉狭窄动物模型。再分别随机分组给予干预措施:生理盐水组:0.9% 生理盐水(NS)2ml/d、阿利吉仑组:50mg/(kg·d)及苯磺酸氨氯地平组:6mg/(kg·d)。4 周后:心脏采血全自动生化分析仪检测甘油三酯、胆固醇、尿素氮及肌酐;放射免疫法检测血浆肾素活性。**结果** 造模前及干预后血脂水平相比,各组大鼠胆固醇水平均显著升高($P < 0.05$);与生理盐水组相比较,阿利吉仑组差异有统计学意义($P < 0.05$),而干预后氨氯地平组差异无统计学意义($P > 0.05$)。造模前及干预后肌酐水平相比,生理盐水组及氨氯地平组差异均有统计学意义($P < 0.05$),而阿利吉仑组差异无统计学意义($P > 0.05$);干预后肌酐水平相比,阿利吉仑组与生理盐水组差异有统计学意义($P < 0.05$);而与氨氯地平组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。比较干预后各组大鼠 PRA,与生理盐水组比较,阿利吉仑组 PRA 均显著下降($P < 0.05$),而 2K1C 及 1K1C 氨氯地平组则显著升高($P < 0.05$)。**结论** 阿利吉仑可显著降低 PRA,亦可抑制大鼠胆固醇上升并延缓肾功能恶化,与氨氯地平相比,其对肾动脉狭窄合并动脉粥样硬化更加有益。

关键词 肾动脉狭窄 动脉粥样硬化 阿利吉仑 苯磺酸氨氯地平 血浆肾素活性

[中图分类号] R9 [文献标识码] A

Effect of Aliskiren and Amlodipine on Blood Lipid, Renal Function and PRA in Rats of Renal Artery Stenosis. Hao Yan, Yan Qiaolan, Han Yuzhen, et al. The First Hospital of Zigong, Sichuan 643000, China

Abstract **Objective** To investigate the effects of aliskiren and amlodipine on serum triglyceride, cholesterol(TC), urea nitrogen, creatinine (Cr) and plasma renin activity(PRA) rats of glycerol renal artery stenosis, which provides a theoretics and strategies for clinical treatment of atherosclerotic renal artery stenosis. **Methods** Male SD rats were randomly divided into one kidney one clip (One Kidney One Clip, 1K1C) group, two kidney one clip (Two Kidney One Clip, 2K1C) group and control group. The rats were treated with injection of Vitamin D₃ 500000IU/kg and high fat diet for 10 weeks which to establish the animal model of AS with renal artery stenosis. Then the rats were divided randomly and intervened. Rats in control group were injected 0.9% NS 2ml/d; and those in aliskiren group 50mg/(kg·d), and in amlodipine besylate group 6mg/(kg·d). After 4 weeks of treatment, the serum triglyceride, cholesterol, urea nitrogen and creatinine from the heart of rats were detected by automatic biochemical analyzer and the activity of plasma renin by radioimmunoassay were detected. **Results** Compared with the lipid levels before and after intervened, the cholesterol level in rats increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the saline group, the difference of aliskiren group was significantly ($P < 0.05$), and the difference of amlodipine group was not significant ($P > 0.05$). Compared with creatinine levels before and after intervened, the differences with saline group and amlodipine group were significantly ($P < 0.05$), but the difference with aliskiren group was not significant ($P > 0.05$); compared with creatinine levels after intervened, there was significantly difference between the aliskiren group and saline group ($P < 0.05$); but the difference were significantly which compared with amlodipine group ($P > 0.05$). Compared the PRA by after intervened with the normal saline group, the PRA of aliskiren group decreased significantly ($P < 0.05$), while 2K1C and 1K1C amlodipine group increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** The aliskiren significantly reduced PRA. It also can inhibit the level of cholesterol and renal function in rats. Compared with amlodipine, it was more beneficial to the renal artery stenosis and atherosclerosis.

Key words Aortic stenosis of renal artery; Atherosclerosis; Aliskiren; Benzene amlodipine; Plasma renin activity

动脉粥样硬化是一种动脉内膜疾病,其斑块的形成及破裂是肾动脉狭窄(renal artery stenosis,RAS)主要的病理基础。阿利吉仑作为一种新型抗高血压药物,从源头阻断肾素的产生,它具有降压和抗 AS 的双重作用。然而,其与钙通道阻滞剂在治疗 RAS 上的比较研究尚缺乏足够的证据,加之单、双侧肾动脉狭窄所致高血压的机制不同,造成临床上选择合适的降压药治疗 RAS 显得比较困难。为此,笔者采用不同手术方式复制单、双侧肾动脉狭窄并联合高脂饲养及注射维生素 D₃ 建立起动脉粥样硬化合并肾动脉狭窄动物模型,通过干预后测定血脂、肾功能及 PRA 的变化。探索阿利吉仑及苯磺酸氨氯地平对上述指标的影响及可能的机制,拟为临床合理、有效治疗动脉粥样硬化性肾动脉狭窄提供理论依据和策略。

材料与方法

1. 实验动物与试剂:8 周龄雄性 SD 大鼠,体重为 180 ~ 200g,购于泸州医学院实验动物中心;阿利吉仑购于瑞士诺华医药有限公司;苯磺酸氨氯地平购于昆明金殿制药有限公司;碘[¹²⁵I]血浆肾素活性免疫分析试剂盒购于北京普尔伟业生物科技有限公司。
2. 实验仪器:BP98A 无创血压仪;动物饲养笼;全自动生化分析仪;手术室及设备均由泸州医学院实验中心提供。
3. 建立肾动脉狭窄合并动脉粥样硬化动物模型:将 SD 大鼠随机分为对照组、1K1C 组、2K1C 组,对 1K1C 及 2K1C 组采用平行针灸结缩窄法造模^[1]。各组大鼠均予注射维生素 D₃ 50 万 IU/kg 并高脂饲养(10% 猪油 + 5% 白糖 + 2% 胆固醇 + 0.5% 胆酸钠)10 周。
4. 实验大鼠造模手术成功的判断标准^[2]:实验前及造模后均隔周 1 次使用 BP98A 无创血压仪采用尾套法测量大鼠收缩压及舒张压,每次重复 3 次,取其平均值。凡造模手术后血压比术前高 20mmHg(大于正常血压值 3 个标准差)以上且高于 115mmHg,并且主动脉有动脉粥样硬化形成伴狭窄侧肾脏外观无梗死灶及瘢痕者视为造模成功。对造模失败的大鼠进行淘汰。

5. 实验大鼠药物的干预:将动物按表 1 进行分组,保证各组 8 只大鼠。据国外相关文献^[3],并以 2K1C 组血压较药物干预前下降 3 个标准差为最适干预剂量,使用阿利吉仑 50mg/(kg · d);苯磺酸氨氯地平 6mg/(kg · d) 药物灌胃,对照组等量生理盐水灌胃。干预处理共 4 周。

表 1 SD 大鼠分组

假手术对照组	假手术阿利吉仑组	假手术氨氯地平组
1K1C 对照组	1K1C 阿利吉仑组	1K1C 氨氯地平组
2K1C 对照组	2K1C 阿利吉仑组	2K1C 氨氯地平组

6. 实验大鼠生化指标的检测:于试验前 1 周各组大鼠鼠尾采血 1 ~ 1.5ml,并于上述方案饲养及干预大鼠共 14 周后处死大鼠,处死前 8h 禁食、禁饮,45mg/kg 戊巴比妥行腹腔麻醉,麻醉满意后在无菌条件下将大鼠仰放于手术台上并固定,继之纵行剖开大鼠胸部,以 5ml 针筒心脏取血,血液标本均以 4000r/min 在普通离心机上离心 15min,分离出血清后送检。用 7060 型全自动生化分析仪测定血清总胆固醇、甘油三酯及尿素氮、肌酐水平,使用放射免疫法测定血浆肾素活性。

7. 统计学方法:数据分析采用 SPSS 13.0 统计学软件包进行统计学分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,均数比较采用 *t* 检验;计数资料用 χ^2 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 实验大鼠血脂及肾功能的变化(表 2,图 1):造模前后血脂水平相比,各组大鼠胆固醇(TC)水平均显著升高(*P* < 0.05);与生理盐水组相比较,阿利吉仑组差异显著(*P* < 0.05),而造模后氨氯地平组则差异无统计学意义(*P* > 0.05)。造模前后肌酐(Cr)水平相比,生理盐水组及氨氯地平组差异均有统计学意义(*P* < 0.05),而阿利吉仑组造模前后差异无统计学意义(*P* > 0.05)。造模后肌酐(Cr)水平相比,阿利吉仑组与生理盐水组差异有统计学意义(*P* < 0.05),而与氨氯地平组间比较差异无显著性(*P* > 0.05)。

表 2 实验大鼠造模前、后血脂及肾功能的变化

组别	造模前				造模后			
	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	BUN (mmol/L)	Cr (μmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	BUN (mmol/L)	Cr (μmol/L)
生理盐水组	1.40 ± 0.10	0.89 ± 0.22	5.96 ± 0.49	24.13 ± 0.68	3.61 ± 1.41 [#]	0.73 ± 0.39	8.82 ± 5.84	49.56 ± 13.02 [#]
阿利吉仑组	1.49 ± 0.08	0.88 ± 0.07	5.95 ± 0.39	24.15 ± 0.43	2.45 ± 1.07 ^{*#&}	0.91 ± 0.31	7.11 ± 2.01 [*]	33.80 ± 10.38 [*]
氨氯地平组	1.50 ± 0.09	0.91 ± 0.09	5.83 ± 0.40	25.49 ± 0.93	4.34 ± 1.22 [#]	0.68 ± 0.39	8.90 ± 4.17 [#]	39.40 ± 11.68 [#]

各组大鼠造模前、干预后相比较,[#]*P* < 0.05;干预后与生理盐水组比较,^{*}*P* < 0.05;干预后阿利吉仑组与氨氯地平组比较,[&]*P* < 0.05

2. 各组大鼠血浆肾素活性水平(PRA)的变化(表 3,图 2):各组大鼠进行干预处理后血浆肾素水平比较,与生理盐水组比较,阿利吉仑组 PRA 均显著

下降(*P* < 0.05),而 2K1C 组及 1K1C 组氨氯地平组则显著升高(*P* < 0.05)。

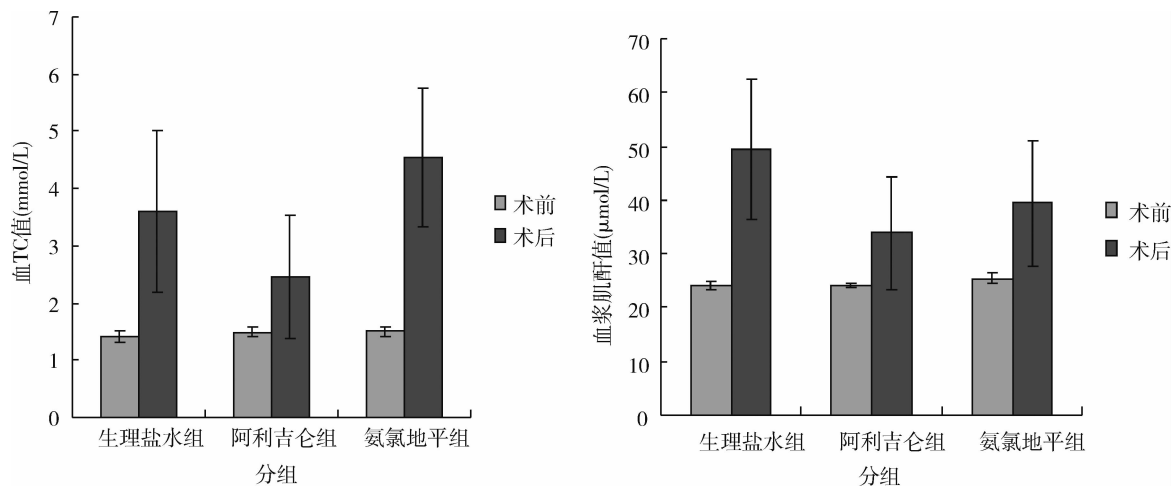


图1 实验大鼠血胆固醇及肌酐值的变化

表3 各组大鼠血浆肾素水平(PRA)的变化[ng/(ml·h)]

组别	生理盐水组	阿利吉仑组	氨氯地平组
对照组	0.39 ± 0.18	0.20 ± 0.046 [#] *	0.46 ± 0.15
1K1C组	0.46 ± 0.28	0.19 ± 0.16 [#] *	0.88 ± 0.23 [#]
2K1C组	0.51 ± 0.20	0.16 ± 0.13 [#] *	0.97 ± 0.24 [#]

各组大鼠造模前及干预后相比较, [#] $P < 0.05$; 干预后阿利吉仑组与氨氯地平组比较, * $P < 0.05$

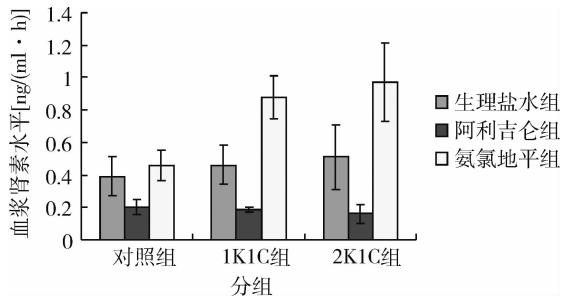


图2 各组大鼠血浆肾素活性的变化

讨 论

肾动脉狭窄由于肾脏缺血,从而刺激肾素分泌,致肾素-血管紧张素-醛固酮系统活化并外周血管收缩、水钠潴留,是常见的继发性高血压的病因。青年患者RAS的病因主要是肌纤维发育不良和多发性大动脉炎,但在中老年人,其病因则以动脉粥样硬化为主。动脉粥样硬化性RAS(ARAS)可引起缺血性肾脏病,已成为慢性肾脏病的重要病因,并且其所占比例日益增高。肾动脉粥样硬化的持续进展致斑块不稳定性增加是ARAS病情恶化的关键。因此,对于肾动脉粥样硬化进展的控制尤为重要,临床上用于控制AS进展的药物颇多,据研究显示,ARB类、CCB类、他汀类等均具有抗AS的作用^[4],而直接肾素抑

制剂阿利吉仑是一种于2007年在美国上市的新型抗高血压药物,它从源头直接阻断肾素的产生,从而抑制血管紧张素原向血管紧张素I(Ang I)的转化,并有效降低Ang II及醛固酮水平,同ARB类、CCB类相比,它可显著减低PRA,其降压作用平稳、持续且有效^[5]。不仅如此,它亦有抗AS的作用,然而,与CCB类相比其是否具有优越性有待于证实。

Gradman等^[6]通过以高血压患者为对象的临床研究发现,阿利吉仑具有良好的降压效果,其降压作用相似于ARB类及ACE I类及CCB类。但是,它可有效降低ARB类及ACE I类引起的反射性PRA升高。钙通道阻滞剂氨氯地平为二氢吡啶类抗高血压药物,它可通过阻滞血管平滑肌细胞外的钙离子进入细胞,导致血管平滑肌松弛,并抑制交感神经末梢去甲肾上腺素,使血浆儿茶酚胺下降,从而小动脉松弛和扩张,发挥降压作用,但其降压同时仍可刺激肾素分泌增加,继而导致PRA升高^[7]。不仅如此,氨氯地平还可升高血浆HDL水平,减少主动脉胆固醇含量,同时可能通过抑制胆固醇酯酶降低LDL,但对血浆总TC无明显影响,而且其尚具有减少巨噬细胞等炎症细胞在斑块部位的聚集及抑制纤维帽变薄等发挥着抗AS的作用^[8,9]。通过造模手术后高脂饲养并上述干预措施后,笔者发现,造模后各组大鼠TC均明显升高($P < 0.05$),而造模后阿利吉仑组TC升高程度小,与造模后生理盐水组及氨氯地平组比较差异有显著性($P < 0.05$)。阿利吉仑可能通过较氨氯地平更进一步的抑制胆固醇酯酶,从而减少主动脉斑块部位胆固醇含量及巨噬细胞聚集和泡沫细胞的形成,继而延缓了斑块核心的扩大,可能更有益于AS斑块的稳

定。不仅如此,笔者通过实验还发现,阿利吉仑具有显著降低 PRA 作用($P < 0.05$),而 2K1C 及 1K1C 氨氯地平组 PRA 水平干预后与造模前比较却显著升高($P < 0.05$)。同样,与造模前比较,造模后阿利吉仑组 Cr 无明显升高($P > 0.05$),但氨氯地平组 Scr 升高有显著性($P < 0.05$)。阿利吉仑从源头阻断肾素的产生,充分拮抗了肾素的转化,有效地降低了 PRA,它可使肾血管扩张,显著增加基础肾血浆流量,而且可减轻肾脏炎症反应、纤维化及蛋白尿^[10]。由此可见,阿利吉仑具有肾脏等靶器官保护作用。一项为期 36 周的临床研究发现,在糖尿病肾病的治疗上加用阿利吉仑可进一步减少糖尿病患者的蛋白尿,且与血压变化无关,这进一步从临床证实了阿利吉仑的肾保护作用,与笔者的研究一致。而氨氯地平虽然可以减少胆固醇在斑块部位的含量,但由于其降压作用可导致 PRA 反射性升高,而且由上述实验结果可见,其对 Scr 升高程度的抑制作用并不如阿利吉仑。由此可见,阿利吉仑对肾动脉狭窄合并动脉粥样硬化者无论在控制血脂、降低 PRA 及保护肾功能等方面均较氨氯地平有优势,可为临床该类疾病新的治疗方法提供更加优越的策略,但其机制尚有待进一步探索^[11]。

参考文献

- 1 郝炎,杨乔岚,余翼,等. 肾动脉狭窄合并动脉粥样硬化大鼠模型的建立[J]. 重庆医学,2012,41(6):581-583
- 2 戴勇,彭武建,徐卓佳. “两肾一夹”肾性高血压大鼠模型改进[J]. 试验动物科学与管理,2006,23(2):60-62
- 3 Nussberger J, Aubert JF, Bouzourene K, *et al.* Renin inhibition by

- aliskiren prevents atherosclerosis progression comparison with irbesartan, atenolol, and amlodipine[J]. Hypertension, 2008, 51(5):1306-1311
- 4 Azizi NL, Menard J, Bissery A, *et al.* Pharmacologic demonstration of the synergistic effects of a combination of the resin inhibitor aliskiren and the ATI receptor antagonist valsartan on the angiotensin II—resin feedback interruption[J]. Am Soc Nephrol, 2004, 15(12):3126-3133
- 5 Subodh V, Milan K, Gupta. Aliskiren improves nitric oxide bioavailability and limits atherosclerosis [J]. Hypertension, 2008, 52: 467-469
- 6 Gradman AH, Sghmiedier RE, Lins RL, *et al.* Aliskiren a novel orally effective renin inhibitor, provides close - dependent antihypertensive efficacy and placebo—like tolerability in hypertensive patients[J]. Circulation, 2005, 111(8):1012-1018
- 7 Fishman WH, Bwdyn R, Brown RD, *et al.* Amlodipine versus atenolol in essential hypertension[J]. Am J Cardiol, 1994, 73(3):50A
- 8 Chiou SY, Lai GW, Lin LY, *et al.* Kinetics and mechanism of cholesterol esterase inhibition by cardiovascular drugs in vitro[J]. Indian J Biochem Bio - phy, 2006, 43(1):52-55
- 9 Yoshii T, Lwsi M, Li Z, *et al.* Regression of atherosclerosis by amlodipine via anti - inflammatory and anti - oxidative stress actions[J]. Hypertens Res, 2006, 29(6):457-466
- 10 黄俊, 张凌. 新型 RAS 阻滞剂肾素抑制剂研究进展[J]. 西部医学, 2009, 21(9):1595-1598
- 11 Hans - Henrik P, Brenner BM, McMurray JV, *et al.* Aliskiren trial in type 2 diabetes using cardio - renal endpoints (ALTITUDE): rationale and study design[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24: 1663-1671

(收稿日期:2013-09-28)

(修回日期:2013-11-20)

钛材料在人工唾液中抗腐蚀性能的体外研究

马国强 成晓敏

摘要 目的 了解钛材料在人工唾液中的抗腐蚀性,为临床选择合适的口腔修复材料提供实验依据和理论基础。**方法** 选择钛材料,配制不同 pH 值的人工唾液分别为 2.0、3.0、5.0、7.4,检测钛材料在不同人工唾液中 24、48、72h 钛离子的析出量;此外,检测钛材料与镍不同接触面积对钛离子析出量的影响。**结果** 钛离子的析出量 pH 2.0 > pH 3.0 > pH 5.0 > pH 7.4,而钛离子析出量在浸泡时间 72h > 48h > 24h, pH 值为 2.0、3.0、5.0 时差异有统计学意义($P < 0.05$);而 pH 值 7.4 条件下不同时间点的钛离子析出量差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外,钛与异种金属镍接触面积 50mm² 相比较,钛镍接触面积 100mm² 的钛离子析出量较大,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 酸性环境可加速钛离子析出量,影响钛材料的抗腐蚀性。镍钛结合面积的增加会加速钛离子的析出,建议镍过敏的患者慎用钛镍口腔修复材料。

作者单位:321000 浙江省金华市口腔医院

通讯作者:马国强,电子信箱:jhmqg@sina.com