

坎地沙坦对自发性高血压大鼠胰岛素敏感性及炎症因子的影响^{*}

李 凡¹, 叶 兰², 孟剑滢², 曾 强^{1**}

(1. 解放军总医院 国际医学中心, 北京 100853; 2. 贵阳医学院 药理学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘 要] 目的: 探讨血管紧张素 II 受体拮抗剂 (ARB) 坎地沙坦对自发性高血压大鼠 (SHR) 炎症因子水平及胰岛素抵抗的影响。方法: 30 只 SHR 随机分为模型组、坎地沙坦高剂量组及低剂量组, 10 只 WKY 大鼠作为对照组, 4 组大鼠均给与果糖喂养, 高、低剂量组同时给与对应剂量的坎地沙坦灌胃干预, 8 周后观察各组大鼠血压、胰岛素抵抗指数和炎症因子 IL-2、IL-6、CRP 的水平。结果: 模型组大鼠血压、胰岛素抵抗指数及血清 IL-6、CRP 均较对照组升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 坎地沙坦干预的大鼠与模型组大鼠相比, 以上指标则明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 坎地沙坦可能通过降低炎症因子 IL-6、CRP 的水平来改善胰岛素抵抗。

[关键词] 高血压; 坎地沙坦; 胰岛素; 白细胞介素-2; 白细胞介素-6; C 反应蛋白质

[中图分类号] R544.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2012)03-0263-04

Effects of Candesartan on Insulin Sensitivity and Inflammatory Cytokines in Spontaneously Hypertensive Rats

LI Fan¹, YE Lan², MENG Jianpai², ZENG Qiang^{1**}

(1. International Medical Center, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China;

2. Department of Pharmacology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of candesartan on inflammatory cytokines and insulin resistance in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods:** Thirty SHR were randomly divided into model group (group M), high dose of candesartan group (group H) and low dose of candesartan group (group L). Ten WKY rats served as control group. All rats were fed with fructose, while the rats in groups L and H were given corresponding doses of candesartan by gavage. After 8 weeks, blood pressure, insulin resistance index and serum levels of inflammatory cytokines including IL-2, IL-6 and C-reactive protein (CRP) of rats in the 4 groups were detected. **Results:** The blood pressure, insulin resistance index and serum levels of IL-6 and CRP in group M were significantly higher than those of control ($P < 0.01$). With the treatment of candesartan, the indicators mentioned above were decreased significantly in groups L and H ($P < 0.05$). **Conclusions:** Candesartan may improve insulin resistance by reducing the serum inflammatory cytokines IL-6 and CRP levels.

[Key words] hypertension; candesartan; insulin; interleukin-2; interleukin-6; C-reactive protein

流行病学调查表明, 大约 40% 的高血压患者同时患有 2 型糖尿病, 80% 的 2 型糖尿病和糖耐量异常患者也同时患有高血压, 两者之间有很强的“共生”关系, 而两种疾病均伴有不同程度的胰岛

素抵抗^[1]。多项临床试验结果证实, 血管紧张素 II 受体拮抗剂 (angiotensin II receptor blocker, ARB) 类降压药可在降低血压的同时改善病人的胰岛素抵抗, 从而降低高血压病人的 2 型糖尿病发病

* [基金项目] 北京市自然科学基金资助项目 (7122171)。

** 通讯作者 E-mail: zq301@126.com

率^[2,3]。这些试验结果提示了血管紧张素 II (angiotensin II, AngII) 及其受体 1 (angiotensin II type 1 receptor, AT1R) 与胰岛素抵抗密切相关,但具体机制尚不十分明确。坎地沙坦作为 ARB 类药物,在降低血压及减少 2 型糖尿病病人蛋白尿方面效果确切,近期还有研究认为它具有轻度的抗炎效应。本研究通过观察自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rat, SHR) 接受坎地沙坦治疗前后的胰岛素敏感性变化,以及细胞炎性因子 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2)、白细胞介素-6 (IL-6) 的改变,探讨坎地沙坦的抗炎作用及改善胰岛素抵抗的可能机制。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂和仪器 坎地沙坦西酯,天津武田制药有限公司生产,批号 024A;果糖,Promega 公司生产。大鼠血糖 (BG)、胰岛素 (Ins)、AngII、CRP、IL-2、IL-6 检测试剂盒,购自南京建成生物工程研究所。BESN-II 型多通道动物生理记录仪 (南京德赛生物技术有限公司产品)。

1.2 动物和分组 30 只 12 周龄的清洁级雄性 SHR 大鼠,体重 (245.6 ± 23.5) g,10 只 12 周龄的清洁级雄性 WKY 大鼠,体重为 (250.9 ± 21.7) g,均购自北京维通利华实验动物中心,许可证号 SCXK (京)2007-0001。所有大鼠适应性喂养 1 周后 (即实验 0 周时),将 30 只 SHR 大鼠随机分为模型组、坎地沙坦高剂量组、坎地沙坦低剂量组,每组 10 只,另外 10 只 WKY 大鼠作为对照组,每组大鼠均给予标准大鼠饲料喂养。同时,将果糖结晶溶于饮用水中,配置为 10% 浓度的果糖溶液,各组大鼠均自由饮用。坎地沙坦高剂量组 (0.8 mg/kg) 及低剂量组 (0.4 mg/kg) 每日给予坎地沙坦灌胃,每日 1 次,连续给药 8 周。试验结束时各组大鼠均禁食 12 h 后处死并采血。

1.3 标本处理及观察指标 分别于实验 0 周,4 周,8 周时使用多通道动物生理仪测量一次大鼠尾动脉收缩压。第 8 周时处死各组大鼠后,采集血液标本,于低温离心机中 $4\ 000 \text{ r/min}$ 离心 10 min 以分离血清,分别检测空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG)、空腹血清胰岛素 (fasting insulin, FINs)、血清 CRP、IL-2 和 IL-6。以上指标的测定均按照相应试剂盒说明书操作。胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 通过公式计算得出, $\text{HOMA-IR} = \text{FPG}$

$\times \text{FINs} / 22.5$ 。

1.4 数据统计及处理 所得数据使用 Excel 2003 处理,以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,通过 SPSS 12.0 统计软件对每组实验数据进行 ANOVA 方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 对照组大鼠皮毛干净有光泽,精神状态良好,反应灵敏。模型组大鼠皮毛缺乏光泽,活动明显减少。至 8 周末实验结束时,模型组、高剂量组及低剂量组分别死亡 1 只、2 只、1 只,高剂量组及低剂量组大鼠死于灌胃操作不当。

2.2 坎地沙坦对大鼠血压的影响 实验 0 周时,模型组、坎地沙坦高剂量组和低剂量组大鼠血压均高于对照组 ($P < 0.01$);实验 4 周时,坎地沙坦高剂量组及低剂量组大鼠血压明显下降 ($P < 0.01$);实验 8 周时,坎地沙坦高剂量组大鼠的血压已经接近对照组水平。见表 1。

表 1 实验期间各组大鼠血压比较

Tab. 1 Effect of candesartan on blood pressure of SHR

组别	n	血压 (mmHg)		
		0 周 (mmHg)	4 周	8 周 (mmHg)
对照组	10	83.9 ± 7.8	82.6 ± 7.1	84.7 ± 6.5
模型组	9	$163.2 \pm 11.6^{(1)}$	$164.3 \pm 10.9^{(1)}$	$169.2 \pm 12.4^{(1)}$
高剂量组	8	$159.6 \pm 9.1^{(1)}$	$111.3 \pm 6.5^{(2)}$	$96.3 \pm 8.8^{(2)}$
低剂量组	9	$158.8 \pm 6.4^{(1)}$	$121.2 \pm 8.4^{(2)}$	$104.8 \pm 7.2^{(2)}$

注: ⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.01$; ⁽²⁾ 与模型组比较, $P < 0.01$ 。

2.3 AngII、FBG、FINs 及 HOMA-IR 实验 8 周时,模型组大鼠的 AngII、FINs 及 HOMA-IR 均较对照组明显升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),而给予坎地沙坦干预的两组大鼠 FINs、HOMA-IR 均较模型组降低,其中高剂量组与模型组的差异具有统计学意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),AngII 水平与模型组相比无明显改变 ($P > 0.05$)。各组大鼠的 FBG 水平无统计学差异 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.4 CRP、IL-2、IL-6 实验 8 周时,模型组大鼠血清 CRP、IL-6 水平较对照组明显升高 ($P < 0.01$),IL-2 下降 ($P < 0.01$);而给予坎地沙坦干预的两组大鼠 CRP、IL-6 水平则较模型组明显下降 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),差异具有统计学意义。给予坎地沙坦干预的两组大鼠 IL-2 与模型组相比有升高的趋势,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 2 各组大鼠 SHR 血清 AngII、FBG、FINs 及 HOMA-IR 比较
Tab. 2 Effect of candesartan on serum levels of AngII, FBG, FINs and HOMA-IR of SHR

组别	n	实验 8 周时			
		AngII(mIU/L)	FBG(mmol/L)	FINs(mIU/L)	HOMA-IR
对照组	10	158.9 ± 86.1	4.9 ± 0.9	9.0 ± 2.9	2.3 ± 0.9
模型组	9	292.3 ± 138.2 ⁽¹⁾	5.4 ± 0.6	13.3 ± 2.8 ⁽²⁾	3.3 ± 0.8 ⁽¹⁾
高剂量组	8	282.7 ± 107.9	4.8 ± 0.7	9.7 ± 2.6 ⁽³⁾	1.9 ± 0.6 ⁽⁴⁾
低剂量组	9	299.2 ± 113.5	4.5 ± 0.6	12.3 ± 2.5	2.6 ± 0.5

注:与对照组比较,⁽¹⁾ $P < 0.05$, ⁽²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,⁽³⁾ $P < 0.05$, ⁽⁴⁾ $P < 0.01$ 。

表 3 各组大鼠血清 CRP、IL-2 及 IL-6 比较
Tab. 3 Effect of candesartan on serum levels of CRP, IL-2 and IL-6 of SHR

组别	n	实验 8 周时		
		CRP(mg/L)	IL-2(ng/L)	IL-6(ng/L)
对照组	10	8.3 ± 1.6	5.9 ± 1.4	87.6 ± 7.4
模型组	9	19.4 ± 4.2 ⁽¹⁾	3.6 ± 0.9 ⁽¹⁾	145.7 ± 16.1 ⁽¹⁾
高剂量组	8	13.8 ± 3.3 ⁽³⁾	4.2 ± 1.0	97.7 ± 11.6 ⁽³⁾
低剂量组	9	15.6 ± 5.0 ⁽²⁾	3.7 ± 0.7	118.1 ± 14.2 ⁽³⁾

注:⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.01$;与模型组比较,⁽²⁾ $P < 0.05$, ⁽³⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

胰岛素抵抗作为一种心血管危险因素,被认为是高血压与 2 型糖尿病的共同病理生理学基础,也是两者之间关联性的重要指标^[4]。在本研究中,选择有先天性 AngII 异常升高的动物-SHR 作为实验对象,同时通过喂养果糖,建立了高血压与胰岛素抵抗并存的动物模型。从检测的结果来看,与对照组大鼠比较,实验第 8 周时模型组大鼠的血压明显升高,血清 AngII 与 HOMA-IR 指数均较对照组大鼠高,模型组大鼠出现了高血压和胰岛素抵抗的病理生理特征,而坎地沙坦干预组的大鼠 HOMA-IR 指数下降,胰岛素抵抗得到改善。由于 AngII 的不良生物学效应是通过 AT1R 介导的^[5],因此,降压和改善胰岛素抵抗的作用与坎地沙坦拮抗 AT1R 有关。

胰岛素敏感性下降又被称为胰岛素抵抗,表现为胰岛素促进葡萄糖代谢能力降低,其发病的分子生物学基础为胰岛素信号传导通路受损。身体循环中的胰岛素与其受体结合之后,胰岛素受体快速经酪氨酸磷酸化并激活该受体激酶,并与胰岛素受体底物(IRS)进行短暂作用。酪氨酸磷酸化的 IRS 与磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)作用,促进了 PI3K 的

活化以及蛋白激酶 B(Akt)的磷酸化,从而刺激细胞膜表面的葡萄糖转运载体-4(Glut-4)将葡萄糖转运至效应细胞内,完成对葡萄糖的吸收和利用,此过程被称为 PI3K 通路,是胰岛素发挥糖代谢作用的重要信号途径^[6]。当发生胰岛素抵抗时,PI3K 通路受到抑制,胰岛素无法产生正常的生物学效应。造成胰岛素抵抗的原因有很多,研究结果表明,慢性炎症反应是造成胰岛素抵抗的重要病因。临床上,肥胖病人常常伴随有胰岛素抵抗,而肥胖本身就是全身性慢性炎症反应,其脂肪组织中炎性因子如 CRP、IL-6 及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等均过度表达^[7]。研究表明,IL-6 可直接抑制 PI3K 信号通路及 GLUT-4 的活性,使胰岛素信号转导受阻,从而抑制细胞对葡萄糖的摄取和利用。此外,由于 IL-6 受体与瘦素受体有共同的细胞信号转导通路,因此 IL-6 的过度表达可以竞争性抑制瘦素,使得瘦素的生物学效应降低,造成胰岛素效应细胞对其反应性下降,引起胰岛素抵抗^[8]。CRP 则可以通过激活核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)来介导炎性因子 IL-6、TNF- α 等的产生。NF- κ B 是主要的炎症反应的调节器,其作用机制是转录激活至少 125 个基因,其中大部分是促进炎症反应的^[9]。因此,对于胰岛素抵抗的发生,CRP 与 IL-6 起到了协同的作用。

目前认为,高血压病人体内炎性因子增加明显,与肾素-血管紧张素系统(RAS)的激活密切相关。AngII 作为 RAS 的重要成分,可直接刺激巨噬细胞等炎性细胞产生和分泌多种炎性细胞因子。Guo 等发现在大鼠巨噬细胞培养基上,AngII 可以诱导 IL-6、CRP 和 TNF- α 等炎性因子的表达^[10]。同时,炎性因子又有可以激活体液系统及全身的 RAS,二者相互促进引起正反馈放大,加速高血压患者的胰岛素抵抗发展过程。本实验观察到模型组大鼠体内的 AngII 水平较对照组明显升高,同时

炎性因子 IL-6、CRP 的水平也相应增加,而胰岛素敏感性则较对照组明显降低,即发生了胰岛素抵抗。在应用坎地沙坦 8 周后,SHR 体内的 IL-6 和 CRP 水平下降,胰岛素抵抗得到改善,提示 AngII 介导的炎性因子异常可能参与了抑制胰岛素信号通路的过程,而这种胰岛素敏感性损害的效应在应用坎地沙坦干预后得到改善。同时观察到,应用 AT1R 拮抗剂坎地沙坦后,SHR 大鼠体内的 AngII 水平并没有明显下降,说明其降压、改善炎性因子表达等效应来源于对 AT1R 的抑制。

本实验发现模型组大鼠的血清 IL-2 水平较对照组有所降低,而坎地沙坦干预的高血压大鼠随着血压的下降,IL-2 水平则有所升高,这提示并非所有的炎性因子均参与了 AngII 介导的胰岛素抵抗。高血压大鼠 IL-2 水平降低的现象提示 RAS 过度激活会造成炎性因子的表达失衡,但其中的确切机制还需要进一步的研究予以揭示。

本实验通过建立高血压合并胰岛素抵抗的动物模型,并给予坎地沙坦干预,证实了 AngII 和 AT1R 结合除了造成血压升高以外,还可以诱发细胞炎性因子 IL-6、CRP 的异常升高,并可能由此引起胰岛素抵抗;而给予坎地沙坦抑制 AT1R 后,血清 IL-6 和 CRP 的水平降低,解除了它们对胰岛素信号通路的正向抑制作用,使胰岛素抵抗得到改善,这说明坎地沙坦所具有的抗炎作用是其预防高血压合并 2 型糖尿病的机制之一。

4 参考文献

- [1] Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition[J]. *Lancet*, 2005(366):1059–1062.
- [2] Ogiwara T, Nakao K, Fukui T, et al. Effects of candesartan compared with amlodipine in hypertensive patients with high cardiovascular risks: candesartan antihypertensive survival evaluation in Japan trial[J]. *Hypertension*, 2008(51):393–398.
- [3] Julius S, Weber MA, Kjeldsen SE, et al. The valsartan antihypertensive long-term use evaluation (VALUE) trial: outcomes in patients receiving monotherapy[J]. *Hypertension*, 2006(3):385–391.
- [4] Lastra G, Dhuper S, Johnson MS, et al. Salt, aldosterone, and insulin resistance: impact on the cardiovascular system[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2010(7):577–584.
- [5] Mogi M, Iwai M, Horiuchi M. New insights into the regulation of angiotensin receptors[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2009(2):138–143.
- [6] Stump CS, Henriksen EJ, Wei Y, et al. The metabolic syndrome: role of skeletal muscle metabolism[J]. *Ann Med*, 2006(38):389–402.
- [7] Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization[J]. *J Clin Invest*, 2007(117):175–84.
- [8] Banks WA, Willoughby LY, Thomas DR, et al. Insulin resistance syndrome in the elderly: assessment of functional, biochemical, metabolic, and inflammatory status[J]. *Diabetes Care*, 2007(9):2369–3373.
- [9] Cai D, Yuan M, Frantz DF, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB[J]. *Nat Med*, 2005(11):183–90.
- [10] Guo F, Chen XL, Wng F, et al. Role of Angiotensin II Type 1 Receptor in Angiotensin II-Induced Cytokine Production in Macrophages[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2011(4):351–361.
- (2012-03-09 收稿, 2012-04-23 修回)
- 编辑:潘 娅
- (上接第 251 页)
- [4] 陈玉满, 陈江, 毛光明, 等. 高山红景天的耐缺氧作用实验研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007(8):1494–1495, 1510.
- [5] 于海玲, 李华伟, 李雪, 等. 复方黄芪多糖对小鼠的抗疲劳和耐缺氧作用[J]. *延边大学医学学报*, 2009(3):160–162.
- [6] Tan W, Yu KQ, Liu YY, et al. Anti-fatigue activity of polysaccharides extract from *Radix Rehmanniae Preparata* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012(1):59–62.
- [7] 方伟进, 李艳, 曹珊珊, 等. 山茱萸果核提取物耐疲劳和耐缺氧作用研究[J]. *河南科技大学学报(医学版)*, 2011(3):167–169.
- [8] 张顺斌. 原发性高血压肾病患者红细胞 ATP 酶活性检测的临床意义[J]. *淮海医药*, 2008(6):477–478.
- (2012-03-21 收稿, 2012-05-16 修回)
- 编辑:潘 娅