

การรักษาภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในหนูเบาหวาน  
ด้วยซิลิคาซาพริลในขนาดต่าง ๆ

ร้อยตำรวจโทหญิง อรสา เวชการ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสารีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-404-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 17278892

TREATMENT OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS IN DIABETIC  
RATS BY VARIOUS DOSES OF CILAZAPRIL



POLICE LIEUTENANT ORASA VECHAKARN

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science

Interdepartment of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

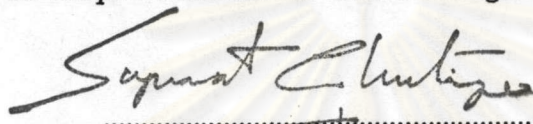
Academic Year 1996

ISBN 974-636-404-9

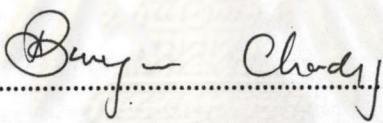
Thesis Title: Treatment of cardiovascular complications in diabetic rats by  
doses of cilazapril  
By Police Lieutenant Orasa Vechakarn  
Department Interdepartment of Physiology  
Thesis Advisor Assistant Professor Suthiluk Patumraj, Ph.D.

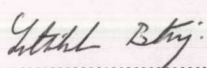
---

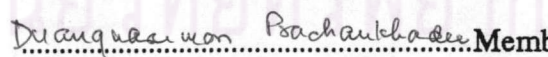
Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial  
Fulfillment of the Requirement for the Master's Degree.

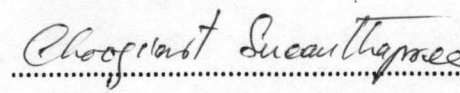
  
.....Dean of Graduate School  
( Professor Supawat Chutivong, M.D.)

THESIS COMMITTEE

  
.....Chairman  
( Professor Bungorn Chomdej, M.D., Ph.D.)

  
.....Thesis Advisor  
( Assistant Professor Suthiluk Patumraj, Ph.D.)

  
.....Member  
( Associate Professor Duangnarumon Prachankhadee, D.V.M.,  
Ph.D.)

  
.....Member  
( Assistant Professor Choogiart Sucanthapree, D.D.S., Ph.D.)



พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

orsa เวชการ : การรักษาภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในหนูเบาหวานด้วยซิลลาซาพริลในขนาดต่าง ๆ (TREATMENT OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS IN DIABETIC RATS BY VARIOUS DOSES OF CILAZAPRIL) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช

โรคหัวใจและหลอดเลือดรวมถึงความผิดปกติในการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจพบว่ามีอัตราการเกิดสูงในภาวะเบาหวาน เมื่อไม่นานมานี้พบการเปลี่ยนแปลงในระบบเรนิน-แองจิโอเทนซินเป็นสาเหตุที่สำคัญต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนนี้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาค้างนี้ เพื่อศึกษาผลของยาขับขางฤทธิ์เอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติ้งในการรักษาภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในหนูเบาหวาน รวมทั้งศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของยาขับขางฤทธิ์เอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติ้งในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังกล้ามเนื้อหัวใจและหลอดเลือดว่าเกิดจากการลดภาวะความดันเลือดสูงหรือเป็นผลโดยตรงจากการยับยั้งคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแองจิโอเทนซินทุ ค่าพลวัตของระบบไหลเวียนเลือด เช่น ค่าความดันเลือด อัตราการบีบตัวของหัวใจ อัตราการไหลของเลือดในหลอดเลือดแดงเออร์ตา อัตราการไหลของเลือดในหลอดเลือดแดงโคโรนารี ค่าการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจเวนตริเคิลซ้าย ผลทางพยาธิวิทยาเช่นการวัดขนาดความหนาของผนังกล้ามเนื้อหัวใจเวนตริเคิลซ้ายและขวา ผนังกันเวนตริเคิล และของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีที่อยู่ในเวนตริเคิลซ้ายด้วย

ผลการทดลองพบว่าค่าพลวัตของระบบไหลเวียนเลือดในหนูเบาหวาน 8 และ 20 สัปดาห์ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยาขับขางฤทธิ์เอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติ้งยังทำให้ภาวะคั่งกล้าวคิขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับซิลลาซาพริลในขนาดที่ลดความดันเลือดได้ และขนาดที่ไม่สามารถลดความดันเลือดได้ ก็สามารถลดความผิดปกติของโครงสร้างหัวใจและหลอดเลือดได้

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า ซิลลาซาพริลสามารถช่วยป้องกันและรักษาภาวะแทรกซ้อนต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดในหนูที่เป็นเบาหวานได้ อย่างไรก็ตามกลไกป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของระบบหัวใจและหลอดเลือด น่าจะเกิดจากการไปยับยั้งผลโดยตรงของแองจิโอเทนซินทุ

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ..... สหสาขา .....  
สาขาวิชา ..... สรีรวิทยา .....  
ปีการศึกษา ..... 2539 .....

ลายมือชื่อนิสิต ฐาภา พงษ์ อรสา เวชการ .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา สุทธิลักษณ์ ปทุมราช .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

## C645670: MAJOR PHYSIOLOGY

KEY WORD: CILIZAPRIL/CARDIOVASCULAR FUNCTION/ARTERY

WALL THICKNESS/INDUCED DIABETIC RATS

ORASA VECHAKARN, Pol.Lt. : TREATMENT OF  
CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS IN DIABETIC  
RATS BY VARIOUS DOSES OF CILAZAPRIL. THESIS  
ADVISOR : SUTHILUK PATUMRAJ, Ph.D. 127 pp.  
ISBN 974-636-404-9

Diabetes mellitus is associated with an increased incidence of cardiovascular complications including myocardial function. It has recently been showed to be associated with alteration of the renin angiotensin system. Therefore, the purpose of this study was to evaluate therapeutic effects of angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE-I) on cardiovascular changes in diabetic rats including to evaluate the major mechanism of ACE-I that can prevent the cardiovascular morphologic changes in diabetes due to the decrease of hypertension or due to the direct inhibition of trophic effect of angiotensin II (AngII). The hemodynamic parameters such as mean arterial pressure (MAP), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), heart rate (HR), aortic flow rate (AFR), coronary flow rate (CFR), left ventricular isotonic contraction (LVIC), pathological finding such as ventricular wall, interventricular septum and coronary arterial wall thickness were determined.

The results showed that all the hemodynamic parameters of STZ-rats were significantly different than the controls at 8 and 20 weeks after the STZ-injections. The ACE-I seemed to retard these changes. Besides, the STZ-rats treated with antihypertensive and non-antihypertensive doses of cilazapril also showed less diabetic abnormalities of ventricular and arterial wall hypertrophy.

It is concluded that cilazapril could prevent and treat the cardiovascular changes resulting from diabetic complications. The mechanism that can prevent the cardiovascular morphologic changes is most likely due to the direct inhibition of trophic effect of AngII.

ภาควิชา..... สหศึกษา

ลายมือชื่อนิสิต..... อ.ร. พงษ์ ธีระภา ธีระภา

สาขาวิชา..... สรีรวิทยา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... สุทธิรักษ์ณี ธีระภา

ปีการศึกษา..... 2539

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere appreciation to my advisor, Assistant Professor Dr. Suthiluk Patumraj and Assistant Professor Dr. Wasan Udayachalerm, for their kind advice, guidance, encouragement and help throughout the study.

I wish to thank the staff of the Division of Electron Microscope and Histo-Pathology, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University for their assistance in the processing of the pathological specimens.

I wish to thank Police Captain Sarawanee Tevit, Mr Prajuab Pawarangkoon and Miss Supang Maneesri for their assistance, sincerity, friendship and encouragement.

Finally, I would like to express my infinite thanks and gratitude to my parents for their love, kindness and understanding.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT .....	IV
ENGLISH ABSTRACT .....	V
ACKNOWLEDGEMENTS .....	VI
CONTENTS .....	VII
LIST OF TABLES .....	VIII
LIST OF FIGURES .....	X
ABBREVIATIONS .....	XVII
CHAPTER	
I. INTRODUCTION AND LITERATURE REVIEW .....	1
II. RATIONALE .....	16
III. EXPERIMENTAL .....	24
IV. RESULTS .....	36
V. DISCUSSION .....	110
VI. CONCLUSION .....	116
BIBLIOGRAPHY .....	117
BIOGRAPHY .....	127


## LIST OF TABLES

Table	Page
3.1 Define the dose of non-antihypertensive effect of cilazapril .....	25
4.1 Plasma glucose (mg/dl) of 8,20 wks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	40
4.2 Body weight (BW,g) of 8,20 wks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	41
4.3 Mean arterial pressure (mmHg) of 8,20 wks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	42
4.4 Systolic pressure (mmHg) of 8,20 wks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	43
4.5 Diastolic pressure (mmHg) of 8,20 weeks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	44
4.6 Heart rate of 8,20 wks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	45
4.7 Aortic flow rate (ml/min) of 8,20 wks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	46
4.8 Coronary flow rate (ml/min) of 8,20 weeks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	47
4.9 Left ventricular isotonic contraction (LVIC.g/g of heart weight) of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	48
4.10 Ratio of heart weight per 100 g. body weight (%) of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	49
4.11 Side of left and right ventricular wall and interventricular septum wall ( $\mu\text{m}$ ) of 8, 20 wks of Controls, STZ-rats and Cilazapril treated STZ-rats.....	50



## LIST OF TABLES

Table	Page
4.12 Thickness of intramural coronary artery (d= 50-70 $\mu\text{m}$ ), arteriole (d=10-20 $\mu\text{m}$ ) , and capillary wall (d=5-10 $\mu\text{m}$ ) from left ventricular myocardium of 8,20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	51



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
2.1 The Renin-angiotensin-aldosterone system and the mechanism of action.....	21
2.2 Diagram of Renin-angiotensin system.....	22
2.3 Structural formula of cilazaprilat, the active metabolite of cilazapril.....	23
3.1 Define the dose of non-antihypertensive effect of cilazapril .....	25
3.2 Cannulation procedure for perfusing the rat heart prior to isolation.....	31
3.3 Experimental set-up for constant pressure perfusion of the isolated rat heart.....	32
3.4 The force of contraction of each heart was measured with the preload of 5 gram.....	33
3.5 The heart was divided equally into four pieces.....	34
3.6 The example of five positions were randomly selected for measuring of wall thickness of left ventricle (LV), right ventricle (RV), and interventricular septum.....	35
4.1 Mean $\pm$ SD of body weight (BW,g) of 8, 20 weeks of Control, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	52
4.2 Mean $\pm$ SD of plasma glucose (mg/dl) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	53
4.3 Mean $\pm$ SD of mean arterial pressure (mmHg) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	54
4.4 Mean $\pm$ SD of systolic pressure (mmHg) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	55

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
4.5 Mean $\pm$ SD of diastolic pressure (mmHg) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	56
4.6 Mean $\pm$ SD of heart rate(beats/min) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	57
4.7 Mean $\pm$ SD of aortic flow rate(ml/min) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	58
4.8 Mean $\pm$ SD of coronary flow rate(ml/min) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	59
4.9 Mean $\pm$ SD of left ventricular isotonic contraction (LVIC g/g of heart weight) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	60
4.10 Mean $\pm$ SD of ratio of heart weight per 100g/100g body weight(R,%) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	61
4.11 Mean $\pm$ SD of side of left, right, and interventricular septum wall of 8 weeks of Controls, STZ-rats.....	62
4.12 Mean $\pm$ SD of side of left ventricular wall (um) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	63
4.13 Mean $\pm$ SD of side of right ventricular wall (um) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	64
4.14 Mean $\pm$ SD of side of interventricular septum wall(um) of 8, 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	65
4.15 Mean $\pm$ SD of thickness of intramural coronary artery (d=50-70um), arteriole (d=10-20um), and capillary(d=5-10um)	

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
wall from left ventricular myocardium of 8 weeks of Controls, STZ-rats.....	66
4.16 Mean $\pm$ SD of thickness of intramural coronary artery wall (d=50-70 $\mu$ m) from left ventricular myocardium of 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	67
4.17 Mean $\pm$ SD of thickness of intramural coronary arteriole wall (d=10-20 $\mu$ m) from left ventricular myocardium of 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	68
4.18 Mean $\pm$ SD of thickness of intramural capillary wall(d=5-10 $\mu$ m) from left ventricular myocardium of 20 weeks of Controls, STZ-rats, and Cilazapril treated STZ-rats.....	69
4.19 The cross-section of 8 weeks control heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	70
4.20 The cross-section of 8 weeks STZ-rat heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	71
4.21 The cross-section of 20 week control heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	72
4.22 The cross-section of 20 week STZ-rat heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	73
4.23 The cross-section of 20 week STZ-C1 0.01 mg heart showed left	

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	74
4.24 The cross-section of 20 week STZ-C1 1 mg heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	75
4.25 The cross-section of 20 week STZ-C1 10 mg heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	76
4.26 The cross-section of 20 week STZ-C8 0.01 mg heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	77
4.27 The cross-section of 20 week STZ-C8 1 mg heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	78
4.28 The cross-section of 20 week STZ-C8 10 mg heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x4).....	79
4.29 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 8 week control rat.....	80
4.30 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 8 week STZ-rat.....	81
4.31 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week control rat.....	82
4.32 Scanning electron microscope showed the thickness of	

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-rat.....	83
4.33 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 0.01 mg rat.....	84
4.34 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 1 mg rat.....	85
4.35 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 10 mg rat.....	86
4.36 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 0.01 mg rat.....	87
4.37 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 1 mg rat.....	88
4.38 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary artery ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 10 mg rat.....	89
4.39 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 8 weeks control rat.....	90
4.40 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 8 week STZ-rat.....	91
4.41 Scanning electron microscope showed the thickness of	

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week control rat.....	92
4.42 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-rat.....	93
4.43 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 0.01 mg rat.....	94
4.44 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 1 mg rat.....	95
4.45 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 10 mg rat.....	96
4.46 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 0.01 mg rat.....	97
4.47 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 1 mg rat.....	98
4.48 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural coronary arteriole ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 10 mg rat.....	99
4.49 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 8 week control rat.....	100
4.50 Scanning electron microscope showed the thickness of	

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 8 week STZ-rat.....	101
4.51 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week control rat.....	102
4.52 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-rat.....	103
4.53 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 0.01 mg rat.....	104
4.54 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 1 mg rat.....	105
4.55 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C1 10 mg rat.....	106
4.56 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 0.01 mg rat.....	107
4.57 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 1 mg rat.....	108
4.58 Scanning electron microscope showed the thickness of intramural capillary ( $\mu\text{m}$ ) from 20 week STZ-C8 10 mg rat.....	109



## ABBREVIATIONS

ACE	=	Angiotensin-converting enzyme
ACE-inhibitor	=	Angiotensin-converting enzyme inhibitor
Ang I	=	Angiotensin I
Ang II	=	Angiotensin II
STZ-rats	=	Streptozotocin-treated rats
CAP	=	Common carotid arterial pressure
HR	=	Heart rate
AFR	=	Aortic flow rate
CFR	=	Coronary flow rate
LVIC	=	Left ventricular isotonic contraction
R	=	Ratio of heart weight per 100 gram body weights
LV	=	Left ventricle
RV	=	Right ventricle
IVS	=	Interventricular septum
I.P.	=	Intraperitoneal
I.V.	=	Intravenous
NSS	=	Normal saline solution
mg/dl	=	Milligram per decilitre
mg/kg	=	Milligram per kilogram
ml/min	=	Millilitre per minute
mmHg	=	Millimetre of mercury