

การป้องกันภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดโดยในคาติป็นและ
ชิลาซาพริลในหนูแรทที่ถูกทำให้เป็นเบาหวาน

นางสาว กมลเนตร ภัคดีบำรุง



สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสรีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974 - 638 - 845 - 2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**PREVENTION OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS BY NICARDIPINE
AND CILAZAPRIL IN DIABETIC RATS**



Miss Kamonate Pukdeebamroong

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 1997

ISBN 974 - 638 - 845 - 2

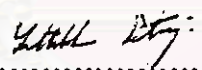
Thesis title : Prevention of Cardiovascular Complications by Nicardipine
and Cilazapril in diabetic rats
By : Miss Kamonate Pukdeebamroong
Department : Interdepartment of Physiology
Thesis Advisor : Assistant Professor Suthiluk Patumraj, Ph. D.


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



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

THESIS COMMITTEE


..... Chairman
(Professor Ratre Sudsuang, Ph.D.)


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


..... Thesis Co-Advisor
(Assistant Professor Wasan Udayachalerm B.Sc., M.D., M.Sc.)


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


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

กมลเนตร กักดีปารุง : การป้องกันภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดโดยไนคาดีปิน และซิลลาซาพริล ในหนูแรทที่ถูกทำให้เป็นเบาหวาน (PREVENTION OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS BY NICARDIPINE AND CILAZAPRIL IN DIABETIC RATS)

อ.ที่ปรึกษา : ศศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช อ.ที่ปรึกษาร่วม : ศศ.นพ. วสันต์ อุทัยเฉลิม,
99 หน้า. ISBN 974-638-845-2.

วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้เพื่อประเมินผลของไนคาดีปิน (ยาปิดกั้นแคลเซียม) และซิลลาซาพริล (ยาขับควาญฤทธิ์เอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติ้ง) ต่อภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในภาวะเบาหวาน ซึ่งได้แบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 6 ตัว โดยแบ่งเป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสเต็ปโตโซโคซิน กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับยาไนคาดีปิน 10 มิลลิกรัมค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และกลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับยาไนคาดีปิน 10 มิลลิกรัมค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ร่วมกับยาซิลลาซาพริล 10 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยใช้วิธีของแสงเกินครีออฟในการวัดค่าพลัดของระบบไหลเวียนเลือดของหนูทั้งสี่กลุ่มในช่วงอายุ 8 16 และ 20 สัปดาห์ หลังจากฉีดยาสเต็ปโตโซโคซิน

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อัตราการไหลของเลือดในหลอดเลือดแดงโคโรนารี ค่าของการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจเวนตริเคิลซ้ายในหนูเบาหวานได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมทั้ง 3 ช่วงอายุ สิ่งที่น่าสนใจพบว่า ค่าพลัดของระบบไหลเวียนเลือด จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูเบาหวานกลุ่มที่ได้รับไนคาดีปิน หรือไนคาดีปินร่วมกับซิลลาซาพริล ทั้งช่วง 3 อายุ นอกจากนี้ ผลทางพยาธิวิทยา จากกล้องจุลทรรศน์ พบว่า ความหนาของผนังหัวใจห้องล่าง และความหนาของผนังหลอดเลือดแดงลดลงในหนูเบาหวานที่ได้รับไนคาดีปิน หรือไนคาดีปินร่วมกับ ซิลลาซาพริล

จากการศึกษาครั้งนี้ สรุปได้ว่าทั้งไนคาดีปิน หรือไนคาดีปินร่วมกับซิลลาซาพริล สามารถช่วยในการป้องกัน ภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในภาวะเบาหวานได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... สาขาวิชา.....
สาขาวิชา..... สรีรวิทยา.....
ปีการศึกษา..... 2540.....

ลายมือชื่อนิสิต..... Kamonate Pukdebamrong
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... Yan Etj.
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... Chai Chaike.

C 745709 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEY WORD: CALCIUM CHANNEL BLOCKER / ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR / CARDIAC FUNCTION / DIABETIC RATS.

KAMONATE PUKDEEBAMROONG : PREVENTION OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS BY NICARDIPINE AND CILAZAPRIL IN DIABETIC RATS.

THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. SUTHILUK PATUMRAJ, Ph.D.

THESIS CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. WASAN UDAYACHALERM, B.Sc., M.D., M.Sc. 99 pp. ISBN 974-638-845-2.

The objectives of this study are to evaluate the effects of nicardipine (Ca^{2+} blocker) and cilazapril (ACEI) on diabetic cardiovascular complications. The animals were separated into four groups of controls (n=6), streptozotocin (STZ) induced diabetic rats (n=6), STZ-rats received daily oral feeding of nicardipine, 10 mg/kg BW (n=6) or STZ-rats received daily oral feeding of cilazapril, 10 mg/kg BW combined with nicardipine, 10 mg/kg BW (n=6). By using modified Langendroff method, the values of hemodynamic parameters were monitored for all four groups at 8, 16 and 20 weeks after the STZ-injections.

The results showed that coronary flow rate (CFR), left ventricular isotonic contraction (LVIC) of STZ-rats were significantly decreased as compared to control at all three aged groups ($P < 0.05$). Interestingly, the effects of nicardipine and nicardipine combined with cilazapril STZ-rats were significantly increased in cardiovascular parameter as compared to STZ-rats at all three aged groups. Besides the results of morphological examination using light microscope also confirmed the effects of nicardipine or nicardipine combined with cilazapril in STZ-rats. Since the thickness of ventricular wall and arterial wall were significantly decreased in both treatments.

Therefore, it was concluded that both nicardipine and cilazapril could be beneficial as for prevention of diabetic cardiovascular complications.

ภาควิชา.....สทศสาขา.....

สาขาวิชา.....สรีรวิทยา.....

ปีการศึกษา.....2540.....

ลายมือชื่อนิสิต..... Kamonate Pukdeebamroong

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... Y. K. P. K.

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... O. K. K.



ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my gratitude and appreciation to my kind advisor, Assistant Professor Dr.Suthiluk Patumraj and Assistant Professor Dr.Wasan Udaychalerm , for their advice, guidance, encouragement and help throughout the study.

I would like to thank Miss Rosarin Chantharochvong and Miss Supang Maneesri for their assistance in processing of the pathological specimens.

I wish to thank Miss Patcharin Sernpukdeekul, Mr. Somchart Wongwanna, Miss Sopa Kludnin and my friends for their assistance, sincerity, friendship and encouragement.

My deepest appreciation is devoted to my dear parents, my brother and my sister for their loving support and encouragement which make my success possible

Finally, I would like to thank the Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for its constant cooperation and support.

CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	IV
ENGLISH ABSTRACT	V
ACKNOWLEDGEMENTS.....	VI
CONTENTS	VII
LIST OF TABLES	VIII
LIST OF FIGURES.....	X
ABBREVIATIONS	XV
CHAPTER	
I INTRODUCTION AND LITERATURE REVIEW.....	I
II RATIONALE	9
III MATERIALS AND METHODS.....	18
IV RESULTS.....	28
V DISCUSSION.....	83
VI CONCLUSION	89
BIBLIOGRAPHY.....	90
BIOGRAPHY.....	99

สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Tables	Page
4.1 Plasma glucose (mg/dl) of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	35
4.2 Body weight (BW, gm) of 8 - 20 weeks of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats, nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	36
4.3 Ratio of heart weight per 100 grams body weight (%) of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	37
4.4 Heart rate (beats/min) of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	38
4.5 Mean arterial pressure (mmHg) from common carotid artery of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.	39
4.6 Systolic blood pressure (mmHg) from common carotid artery of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	40
4.7 Diastolic blood pressure (mmHg) from common carotid artery of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	41
4.8 Aortic flow rate (ml/min) of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	42

LIST OF TABLES

Tables	Page	
4.9	Coronary flow rate (ml/min) of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	43
4.10	Left ventricular isotonic contraction (LVIC, gm/100 gm of heart weight) of 8-20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	44
4.11	Sizes of left and right ventricular wall and interventricular septum wall (μm) of 8 weeks of controls, STZ-rat, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	45
4.12	Sizes of left and right ventricular wall and interventricular septum wall (μm) of 16 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	46
4.13	Sizes of left and right ventricular wall and interventricular septum wall (μm) of 20 weeks of controls, STZ-rats, nicardipine treated STZ-rats, and nicardipine combined with cilazapril treated STZ-rats.....	47
4.14	Area of arterial wall thickening (μm^2) from 16 - 20 weeks of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ rats and nicardipine combined with cilazapril treated STZ rats.....	48

LIST OF FIGURES

Figures	Page
2.1 The molecular structure of streptozotocin.....	13
2.2 Chemical structure of nicardipine.....	14
2.3 Effects of nicardipine on the myocardium and the coronary and peripheral arterial system.....	15
2.4 Diagram of Renin - angiotensin system.....	16
2.5 Structural formula of cilazaprilat, the active methabolite of cilazapril.....	17
3.1 Conmulation procedure for perfusing the rat heart prior to isolation.....	23
3.2 Experimental set - up for constant pressure perfusion of isolated rat heart.....	24
3.3 The force of contraction of each heart was measured with the preload of 5 gram.....	25
4.1 Plasma glucose (mg/dl) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ -N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ-NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	49
4.2 Body weight (Bw, gm) of controls, STZ - rats nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	50
4.3 Ratio of heart weight per 100 grams body weight (%) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.	51

LIST OF FIGURES

Figures	Page
4.4 Heart rate (beats, min) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	52
4.5 Mean arterial pressure (mmHg) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	53
4.6 Systolic blood pressure (mg Hg) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	54
4.7 Diastolic blood pressure (mmHg) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	55
4.8 Aortic flow rate (ml/min) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	56
4.9 Caronary flow rate (ml/min) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	57
4.10 Left ventricular isotonic contraction (gm/ 100 gm of heart weight) of controls STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	58

LIST OF FIGURES

Figures	Page
4.11 Size of interventricular septum wall (μm) of controls, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rat (STZ-N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ-NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	59
4.12 Size of left ventricular wall (μm) of control , STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ -N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	60
4.13 Size of right ventricular wall (μm) of control, STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 8, 16 and 20 weeks.....	61
4.14 Area of arterial wall thickness per surface area of ventricular wall (μm^2) of control , STZ - rats, nicardipine treated STZ - rats (STZ - N) and nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats (STZ - NC) at 16 and 20 weeks.....	62
4.15 The cross - section of 8 - week control heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40).....	63
4.16 The cross - section of 16 - week control heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40).....	64
4.17 The cross - section of 20 - week control heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	65

LIST OF FIGURES

Figures	Page
4.18 The cross - section of 8 - week STZ - rat heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	66
4.19 The cross - section of 16 - week STZ - rat heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	67
4.20 The cross - section of 20 - week STZ - rat heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	68
4.21 The cross - section of 8 - week STZ - N rat heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	69
4.22 The cross - section of 16 - week STZ - N rat heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	70
4.23 The cross - section of 20 - week STZ - N rat heart showed left ventricle (LV), right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	71
4.24 The cross - section of 8 - week STZ - NC rat heart showed left ventricle (LV) , right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	72

LIST OF FIGURES

Figures	Page
4.25 The cross - section of 16 - week STZ - NC rat heart showed left ventricle (LV) , right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	73
4.26 The cross - section of 20 - week STZ - NC rat heart showed left ventricle (LV) , right ventricle (RV) and interventricular septum (IVS). (Eosin & Hematoxylin x 40)	74
4.27 Lightphoto micrograph of intramural coronary artery from left ventricular myocardium of 16 - week control heart. (Elastic x 400)....	75
4.28 Lightphoto micrograph of intramural coronary artery from left ventricular myocardium of 20 - week control heart. (Elastic x 400)....	76
4.29 Lightphoto micrograph of intramural coronary artery from left ventricular myocardium of 16 - week STZ-rat heart. (Elastic x 400).....	77
4.30 Lightphoto micrograph of intramural coronary artery from left ventricular myocardium of 20 - week STZ-rat heart.(Elastic x 400).....	78
4.31 Lightphoto micrograph of intramural coronary artery from left ventricular myocardium of 16 - week STZ - N rat heart. (Elastic x 400)	79
4.32 Lightphoto micrograph of intramural coronary artery from left ventricular myocardium of 20 - week STZ - N rat heart. (Elastic x 400)	80

LIST OF FIGURES

Figures	Page
4.33 Lightphoto micrograph of intramural coronary artery from left ventricular myocardium of 16 - week STZ - NC rat heart. (Elastic x 400)	81
4.34 Lightphoto micrograph of intramural coronary artery from left ventricular myocardium of 20 - week STZ - NC rat heart. (Elastic x 400)	82
5.1 Effects of angiotensin II on cardiac myocytes.....	88


 สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABBREVIATION

ACE	= Angiotensin - Converting enzyme
ACEI	= Angiotensin - Converting enzyme inhibitor
Ang I	= Angiotensin I
Ang II	= Angiotensin II
Ca²⁺ - blocker	= Calcium channel blocker
STZ - rats	= Streptozotocin - treated rats
STZ - N	= Nicardipine treated STZ - rats
STZ - NC	= Nicardipine combined with cilazapril treated STZ - rats
CAP	= Common carotid arterial pressure
HR	= Heart rate
AFR	= Aortic flow rate
CFR	= Coronary flow rate
LVIC	= Left ventricular isotonic contraction
LV	= Left ventricle
RV	= Right ventricle
IVS	= Interventricular septum
I.V.	= Intravenous
NSS	= Normal saline solution
mg/dl	= Milligram per decilitre
mg/kg	= Milligram per kilogram
ml/min	= Millilitre per minute
mm Hg	= Millimetre of mercury
um	= square micrometre
SD.	= Standard deviation