

实验研究

补肾活血法对单纯收缩期高血压大鼠 NO、Ang II 的影响

宋业琳^{1,2} 卢娜³ 徐伟俊¹ 魏陵博¹ 于广宇¹ 聂颖颖¹ 迟伟峰¹ 李洁¹

(1 天津中医药大学,天津,300193; 2 青岛市海慈医疗集团,青岛,266033; 3 青岛阜外心血管病医院,青岛,266034)

摘要 目的:探讨补肾活血法对单纯收缩期高血压(Isolated Systolic Hypertension,ISH)模型大鼠血管重塑的影响。方法:采用法华林和维生素 K 诱导动脉中层钙化法(WVK)法复制 ISH 大鼠模型,分为补肾活血汤组、氨氯地平组、补肾活血汤与氨氯地平联用组(两药联用组)、空白对照组、模型对照组,予以相应的药物干预,8 周后检测大鼠尾端血压、血清一氧化氮(Nitrogen Monoxide,NO)、血管紧张素 II(Angiotensin II,Ang II)水平。结果:补肾活血法能够增加 ISH 大鼠血清 NO 水平,降低 Ang II 水平,较模型组均有统计学意义($P < 0.05$),且中西药联用组效果更明显。结论:补肾活血法等够改善 ISH 大鼠的血管顺应性。

关键词 补肾活血法;单纯收缩期高血压;一氧化氮;血管紧张素 II;血管顺应性

Effect of Bushen Huoxue Method on Expression of NO and Ang II in Isolated Systolic Hypertension Rats

Song Yelin^{1,2}, Lu Na³, Xu Weijun¹, Wei Lingbo¹, Yu Guangyu¹, Nie Yingying¹, Chi Weifeng¹, Li Jie¹

(1 Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2 Qingdao Hiser Medical Group, Qingdao 266033, China;

2 Qingdao Fuwai Hospital, Qingdao 266033, China)

Abstract Objective: To explore effect of the Bushen Huoxue method on vascular remodeling of isolated systolic hypertension (ISH) rats. **Methods:** ISH rats model was established by WVK method, divided into Bushen Huoxue decoction group, amlodipine group, Bushen Huoxue decoction- amlodipine combination group, blank control group, and model control group, gave corresponding drug intervention, measured rat's tail blood pressure, serum NO level, Ang II level after 8-week treatment. **Results:** Bushen Huoxue decoction can significantly increase serum NO level and reduce the Ang II level in ISH rats compared with model group ($P < 0.05$). The Chinese and western medicine combination group was more effective. **Conclusion:** Bushen Huoxue method can improve vascular compliance in rats of isolated systolic hypertension.

Key Words Bushen Huoxue method; Isolated systolic hypertension; Nitric oxide; Angiotensin II; Vascular compliance

中图分类号:R243;R259;R289.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.02.024

ISH 是指收缩压 ≥ 140 mmHg,舒张压 < 90 mmHg,是高血压的一种特殊类型,常见于 60 岁以上的老年人,其发生常与血管重塑^[1]有关,如动脉中层弹力纤维减少,血管僵硬增加,弹性下降,血管顺应性降低等。本研究根据老年 ISH 患者“肾虚血瘀”的发病机制,探讨补肾活血法对单纯收缩期实验大鼠血管重塑之血管顺应性的影响。

1 材料

1.1 实验动物 选取健康 6~7 周龄 Wistar-Kyoto 大鼠(WKY)50 只,SPF 级,♂,体重 175~200 g,由青岛市药物检验研究所提供,动物合格证号 SCXK(鲁)20090007。大鼠饲养于青岛市海慈医疗集团动物房,金属鼠笼,分笼饲养,每笼 5 只,保持室内环境恒温(19 ± 3)℃,湿度在 50%~60%,通风良好,标准饲料,自由进食饮水。

1.2 药物 补肾活血汤(BSHXD)药物组成为生地黄

20 g、熟地黄 20 g、山茱萸 15 g、茯苓 15 g、泽泻 30 g、牡丹皮 12 g、菟丝子 20 g、益母草 15 g、当归 15 g、钩藤 15 g、淫羊藿 6 g,由青岛海慈医疗集团药剂科中药制剂室制备,浓度为生药 1.647 g/mL,质量标准按照 2010 版《中华人民共和国药典》;苯磺酸氨氯地平片,每片 5 mg,大连辉瑞制药有限公司(国药准字:H10950224);华法林钠片,每片 2.5 mg,山东齐鲁制药有限公司生产(国药准字:H37021314);维生素 K₁注射液,每支 1 mL:10 mg,山东鲁抗辰欣药业有限公司生产(国药准字:H37021988)。

1.3 试剂 大鼠用血清 NO 测定试剂盒,购自湖北武汉博士德试剂有限公司;大鼠用血清 Ang II 试剂盒(批号 201007171),购自青岛市百瑞达医疗器械有限公司。

2 方法

2.1 模型制备 WVK 法诱导动脉中层钙化法^[2]。华

法林钠片研成粉末,蒸馏水配成悬浊液,按照华法林钠片 15 mg/(kg·d)灌胃,1次/d;予以维生素 K₁ 注射液,按 10 mg/(kg·d)背部皮下注射,每天 1 次。维生素 K₁ 比华法林提前 1 周用药,每 2 周测量并记录血压 1 次,6 周后判定造模结果。收缩压升高并持续大于 18.67 kPa(140 mmHg)为造模成功。

2.2 分组及给药

2.2.1 分组 实验大鼠随机分为 5 组。随机选取其中的 10 只做空白对照组,其余 40 只进行高血压造模。按随机数字表法分为:补肾活血汤组、氨氯地平组、补肾活血汤与氨氯地平联用组(中西药联用组)、模型对照组,每组 10 只。

2.2.2 给药 根据人和动物间按体表面积折算的等效剂量分别灌胃给药:补肾活血汤组给予 16.47 g/(kg·d);氨氯地平组给予 0.45 mg/(kg·d);中西药联用组给予 BSHXD 16.47 g/(kg·d)和氨氯地平 0.45 mg/(kg·d);余组给予蒸馏水 10 mL/(kg·d);配制成 10 mL/(kg·d),1次/d,给药 8 周。

2.3 指标检测 ELISA 法检测大鼠血清 NO、Ang II 实验大鼠最后 1 次给药后,予以禁食 12 h,用 10% 水合氯醛(0.2 mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠,腹部正中切口,腹主动脉取血约 5 mL,3 500 r/min 离心 10 min,将大鼠血清置于 -70 °C 低温下冷冻备用;严格按照免疫组化试剂盒说明的操作步骤,测定血清 Ang II 含量。

2.4 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据处理,所有结果以($\bar{x} \pm s$)表示,数据之间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-t。

3 结果

3.1 各组大鼠血清 NO 水平 与空白对照组比较,模型对照组 NO 浓度较低,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型对照组比较,各治疗组 NO 浓度均增高,差异有统计学意义($P < 0.01$);两药联用组较氨氯地平组升高明显,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

表 1 各组大鼠血清 NO、Ang II 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	NO($\mu\text{mol/L}$)	Ang II (pg/mL)
空白对照组	10	95.58 ± 26.98	36.01 ± 12.21
模型对照组	8	51.26 ± 9.35**	289.55 ± 72.23**
补肾活血汤组	9	164.71 ± 27.85 $\Delta\Delta$	140.23 ± 10.71 $\Delta\Delta$
氨氯地平组	10	98.54 ± 6.23 $\Delta\Delta$	147.28 ± 12.97 $\Delta\Delta$
两药联用组	9	201.27 ± 27.20** $\Delta\Delta\Delta\Delta$	48.35 ± 13.29** $\Delta\Delta\Delta\Delta$

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$;与模型对照组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$;与氨氯地平组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

3.2 各组大鼠血清 Ang II 水平 与空白对照组比较,模型对照组 Ang II 升高,差异有统计学意义($P <$

0.01);与模型对照组比较,各治疗组 Ang II 均有所降低,其中两药联用组降低最为明显,与空白对照组比较无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

4 讨论

ISH 的发生主要与动脉僵硬增加有关^[3]。随着年龄的增长,老年人大动脉的结构也发生了变化^[4-5];如动脉中层弹力纤维减少,血管僵硬增加、弹性下降^[6],血管顺应性降低^[7]等。老年 ISH 时肾素-血管紧张素系统等神经体液因子的激活促进了动脉僵硬程度的增加^[8]和血管收缩功能紊乱。这与中医病机“肾虚血瘀”相辅相成。老年单纯收缩期高血压患者天癸衰竭^[9-10],虚则气血运行不畅,血留而不行致瘀,因此肾虚是形成血瘀的重要因素。肾虚和血瘀相互影响,肾虚为本,血瘀为标,由虚致瘀,血瘀是肾虚的必然结果,而血瘀的存在又加重了肾虚。因此,肾虚血瘀是老年人单纯收缩期高血压病的根本病机。

NO 是调节血管顺应性的重要因子,通过对血管平滑肌细胞的调控作用调节机体器官的血流量,使其保持相对稳定,使血管自身调节作用得到发挥,可以调节机体的血压水平,NO 缺乏时,这种调节作用减弱甚至缺失,导致血管顺应性下降,在某种程度上导致了高血压病的发病^[11]。血清中的 NO 可以阻滞细胞生长^[12],高血压血管重塑是刺激因子和抑制因子间比例失衡的结果。在一般情况下,血管持续受到血流的冲击,由于某些原因导致血压突然的升高时,NO 发挥其有效的调节血管作用^[13],保持机体各器官,尤其是心、脑、肾等重要脏器的血流量的相对稳定性,发挥血管自身调节血流量的作用,这不仅能够有效降低体循环血压水平^[14],还能改善局部血流分布,调节微循环的血流量,起到有效调节血压的作用。Ang II 是潜在的促生长因子,分泌过多^[15],会导致血管平滑肌紧张度增高,血管强烈收缩,长期的刺激,血管壁的平滑肌细胞发生代偿性的增生,细胞肥大,其在高血压血管重塑^[16-17]中发挥重要作用^[18]。

本实验表明补肾活血汤能够提高血液中 NO 含量,从而起到调节血压,降低血管重塑的作用;且作用优于氨氯地平组药物,可能与方剂中含有的类内源 NO 物质有关^[19]。补肾活血汤能够有效降低 Ang II 的水平,发挥其降压作用,由此推测,其降压作用可能与改善肾素-血管紧张素系统有关,同时能够减少血管重构,中西药物联用作用更强。综上所述,补肾活血法能够通过提高 NO 水平,减低 Ang II 的水平从而达到调节血管顺应性、改善血压的作用。

(下接第 217 页)

- [4] Xu X F, Cai B L, Guan S M, et al. Baicalin induces human mucocoeidermoid carcinoma Mc3 cells apoptosis in vitro and in vivo[J]. Invest New Drugs, 2011, 29(4): 637 - 645.
- [5] Ikezoe T, Chen SS, Heber D, et al. Baicalin is a major component of PC SPES which inhibits the proliferation of human cancer cells via apoptosis and cell cycle arrest[J]. Prostate, 2001, 49(4): 285 - 292.
- [6] 王英俊, 付莉, 华海婴. 黄芩苷诱导结肠癌细胞株 SW1116 凋亡的研究[J]. TCM Res, 2007, 20(6): 22.
- [7] Wei PY, Pu HQ, Wei X, et al. Apoptosis - inducing effect of Scutellaria-bata extract human lung cancer SPC - A - 1 cells and the expression of apoptosis associated genes[J]. Zhongyaocai, 2007, 30(10): 1270.
- [8] Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics[J]. CA Cancer Clin, 2010, 60: 277 - 300.
- [9] Janssen - Heijnen ML, Coebergh JW. The changing epidemiology of lung cancer in Europe[J]. Lung Cancer, 2003, 41: 245 - 258.
- [10] Devesa SS, Bray F, Vizcaino AP, et al. International lung cancer trends by histologic type; male or female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising[J]. Cancer, 2005, 117: 294 - 299.
- [11] Liu JJ, Huang TS, Cheng WF, et al. Baicalein and baicalin are potent inhibitors of angiogenesis: Inhibition of endothelial cell proliferation, migration and differentiation [J]. Int J Cancer, 2003, 106(4): 559 - 565.
- [12] Jui Chao, Su WC, Liu HF. Baicalein induces cancer cell death and proliferation retardation by the inhibition of CDC2 kinase and survivin associated with opposite role of p38 mitogen - activated protein kinase and AKT[J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6(11): 3039 - 3048.
- [13] Chiu YW, Lin TH, Huang WS, et al. Baicalein inhibits the migration and invasive properties of human hepatoma cells[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2011, 255: 316 - 326.
- [14] Baek MJ. Prognostic Role of MMPs in colorectal cancer[J]. Korean Soc Coloproctol, 2011, 27: 105 - 106.
- [15] Roomi MW, Monterrey JC, Kalinovsky T, et al. Inhibition of invasion and MMPs by a nutrient mixture in human cancer cell lines: a correlation study[J]. Exp Oncol, 2010, 32: 243 - 248.
- [16] Gao M, Zhang JH, Zhou FX, et al. Angelicasinensis suppresses human lung adenocarcinoma A549 cell metastasis by regulating MMPs/TIMPs and TGF - β 1[J]. Oncol Rep, 2012, 27: 585 - 593.
- [17] Yin J, Lu K, Lin J, et al. Genetic variants in TGF - beta pathway are associated with ovarian cancer risk[J]. PLoS One, 2011, 6: e25559.
- [18] Scollen S, Luccarini C, Baynes C, et al. TGF - beta signaling pathway and breast cancer susceptibility[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2001, 20: 1112 - 1119.
- [19] Fang F, Yu L, Zhong Y, et al. TGFBI 509 C/T polymorphism and colorectal cancer risk: a meta - analysis[J]. Med Oncol, 2010, 27: 1324 - 1328.
- [20] Bhayal AC, rabhakar B, Rao KP, et al. Role of transforming growth factor - beta1 - 509 C/T promoter polymorphism in gastric cancer in south Indian population[J]. Tumour Bio, 2011, 32: 1049 - 1053.
- [21] Lin M, Stewart DJ, Spitz MR, et al. Genetic variations in the transforming growth factor - beta pathway as predictors of survival in advanced non - small cell lung cancer [J]. Carcinogenesis, 2011, 32: 1050 - 1056.

(2013 - 10 - 10 收稿 责任编辑: 王明)

(上接第 212 页)

参考文献

- [1] Baumbach GL, Heistad DD. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension[J]. Hypertension, 1989, 13: 968 - 972.
- [2] Essalihi R, Dao HH, Yamaguchi N, et al. A new model of isolated systolic hypertension induced by chronic warfarin and vitamin K1 treatment[J]. Am J Hypertens, 2003, 16(2): 103 - 110.
- [3] 何杰, 陈明. 老年单纯收缩期高血压研究进展[J]. 心血管病学进展, 2011, 32(4): 558 - 561.
- [4] 马民. 老年男性高血压病与中医肾虚血瘀证相关性研究[J]. 中国老年学杂志, 2004, 24(6): 511 - 512.
- [5] 张蕴慧, 薛金贵, 李文彪. 中老年高血压病与肾虚血瘀证相关性研究[J]. 山东中医杂志, 1999, 18(6): 26 - 27.
- [6] Krieger JE, Dzau VJ. Molecular biology of hypertension[J]. Hypertension, 1991, 18(3): 13 - 17.
- [7] Safar ME. Pulse pressure, arterial stiffness and wave reflections (augmentation index) as cardiovascular risk factors in hypertension[J]. Ther Adv Cardiovasc Dis, 2008, 2(1): 13 - 24.
- [8] Wallace SM, Yasmin, Mceniery cm, et al. Isolated systolic hypertension is characterized by increased aortic stiffness and endothelial dysfunction[J]. Hypertension, 2007, 50: 228 - 233.
- [9] 徐强, 张秋月, 王保和. 高血压中医证候特点的现代文献研究[J]. 世界中医药, 2013, 8(2): 125 - 126.
- [10] 谷万里, 史载祥, 余云旭, 等. 原发性高血压的, 中医证型特征[J]. 中西医结合学报, 2010, 9(8): 842 - 847.
- [11] 李法琦, 陈运贞. 灯盏花素对自发性高血压大鼠心肌细胞凋亡和心室重构的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2002, 27(4): 400.
- [12] Hu WY, Fukuda N, Kanmatsuse K. Growth characteristics, angiotensin II - generation, and microarray - determined gene expression in vascular smooth muscle cells from young spontaneously hypertensive rats[J]. Hypertens, 2002, 20: 1323 - 1333.
- [13] 冉旭, 陈立, 吕波. 补肾益心汤对自发性高血压大鼠血管内皮功能损伤的干预作用[J]. 世界中医药, 2013, 8(8): 939 - 941.
- [14] 柳锋, 郑智, 钟强. 丹参酮 IIA 对自发性高血压大鼠左心室肥厚心肌细胞凋亡的影响[J]. 中华实用中西医杂志, 2004, 17(4): 1097.
- [15] Dzau VJ. The odorecooper lecture: tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: a unifying hypothesis[J]. Hypertension, 2001, 37(4): 1047 - 1052.
- [16] Trepls T, Zeiher AM, Fichtlscherer S. The endothelium and inflammation[J]. Endothelium, 2006, 13(6): 423 - 429.
- [17] 李承德, 康白, 毛淑梅, 等. 地龙降压蛋白对自发性高血压大鼠血管紧张素及内皮素含量的影响[J]. 中国医药导报, 2008, 5(21): 11 - 13.
- [18] 徐浩, 陈可冀. 中西医结合防治高血压病的进展、难点与对策[J]. 世界中医药, 2007, 2(1): 3 - 5.
- [19] Der Sarkissian S, Huentelman MJ, Stewart J, et al. ACE2: Anovel therapeutic target for cardiovascular diseases[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2006, 91: 163 - 198.

(2013 - 06 - 19 收稿 责任编辑: 徐晖)