

降防保心中药复方对肾血管性高血压 大鼠肾素-血管紧张素系统的影响

陆 曙¹ 杨 笛² 翁晓生¹ 龚金兴¹ 徐 红² 张寄南²

(¹ 江苏省无锡市中医医院 214001; ² 南京医科大学第一附属医院心血管病研究所 210029)

摘要 降防保心中药复方(JF)能降低肾血管性高血压大鼠(RHR)的血压,使增高的 RHR 的左室重/体重比得以回降。RHR 左室心肌中血管紧张素 II (Ang II)水平显著降低;血管紧张素转换酶(ACE)活力在肺组织中显著下降,在左室心肌及血清中 ACE 亦呈下降趋势。

关键词 中药复方 高血压大鼠 左室肥厚 肾素-血管紧张素系统

江苏省中医管理局资助项目 No. 9539、江苏省科委新产品试制项目 No. Z951076

Effect of Jiangfang Baoxin Decoction on Renin Angiotensin System in Renovascular Hypertensive Rats

Lu Shu, Yang Di, Weng Xiaosheng, Gong Jinxing, Xu Hong, Zhang Jinan
(Wuxi Hospital of TCM, Wuxi, 214001)

Abstract: The study has investigated the effects of Jiangfang Baoxin decoction (JF) on blood pressure (BP), left ventricular hypertrophy (LVH), and renin angiotensin system (RAS) of circulation and left ventricle in renovascular hypertensive rats (RHR). The results indicated that JF can reduce BP of RHR, and decrease the enhanced left ventricular wet weight to body weight ratio of RHR. The level of angiotensin II (Ang II) was decreased significantly in left ventricle of RHR treated with JF for 10 weeks. Angiotensin converting enzyme (ACE) activity was also reduced in lung. The trend of ACE was decreased in left ventricle and serum, but no significance was observed.

Key words: Jiangfang Baoxin decoction, hypertensive rat, left ventricular hypertrophy, renin angiotensin system

肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS), 尤其是心脏局部 RAS 在心肌肥厚的发生中起着重要的作用^[1]。降防保心片具有养血活血、顺气柔肝、调畅心脉的功效, 对高血压病患者左室肥厚具有一定的防治效果⁽²⁾。因此本文采用二肾一夹肾血管性高血压大鼠 (RHR) 模型, 观察该方对 RHR 循环血及左室心肌组织 RAS 的影响。

1 材料与方法

1.1 实验用药 降防保心中药复方 (JF) 组方成分与降防保心片相同, 由降香、汉防己、当归、芍药、地黄、川芎、香附及葛根等中药组成^[2], 由南京中医药大学中医药研究院制备, 呈黄褐色粉末状, 其中主要含汉防己甲素、葛根素等生物碱及黄酮类成分, 每 1mg JF 相当于 0.75g 生药。

1.2 动物模型 选正常 SD 大鼠 (江苏省实验动物中心提供), 经 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉 (30mg/kg) 后, 游离左侧肾动脉, 以内径为 0.25mm 的银夹子夹住, 使之部分缩窄, 右侧肾不触及; 术后 4 周测尾动脉收缩压超过 22.6kPa (170mmHg) 者, 为二肾一夹肾血管性高血压大鼠 (RHR) 模型^[3]。

1.3 分组治疗 RHR 在术后饲养 8 周, 左室肥厚 (LVH) 已经形成^[4], 此时予分组治疗。动物随机分为 3 组: 正常对照组 (SD-C) 6 只, 肾血管性高血压大鼠治疗组 (RHR-T) 8 只和肾血管性高血压大鼠对照组 (RHR-C) 8 只。RHR-T 组在给药治疗期间, 首先将实验用 JF 掺入饲料, 制成预计消耗饲料总量 1/2 的含药饲料, 给药剂量以 JF 混合物计为每日 6.6mg/kg (以所含生药量计为每日 25g/kg), 大鼠进食不足部分添加正常饲料; 持续给药 10 周。RHR-C、SD-C 组饲料中不加药物, 其余饲养条件均与 RHR-T 组相同。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 血压 各组大鼠治疗前后及观察期间每隔 1 周, 采用尾动脉测压法测定 1 次大鼠尾动脉收缩压。仪器: MRB-ⅢA 大鼠电脑血压心率仪 (由上海市高血压研究所研制)。

1.4.2 标本取材 在 RHR-T 组持续给药 10 周后, 各组大鼠称重、测压。麻醉, 开胸, 自心脏取血 6ml, 分别置入加有抗凝、酶抑制剂的冰浴试管及普通试管中, 离心后待测血浆肾素 (PRA)、血管紧张素 II (Ang II) 以及血管紧张素转换酶 (ACE)。快速取出心脏, 立即以预冷的磷酸缓冲液 (PBS, pH7.4, 4℃)

反复灌洗至流出液无血色,软纸吸干,称取全心重,去除心房、残留大血管和右心室,称取左室重,然后立即置液氮冷冻, -70 C 保存备测。同样肺组织清洗后置液氮冷冻, -70 C 保存备测。

1.4.3 PRA、Ang II 含量及血清 ACE 活力测定 PRA、Ang II 含量用放射免疫方法测定;血清 ACE 活力用紫外法测定。PRA 及 Ang II 检测试剂盒均购自中国北方同位素试剂所;ACE 检测试剂盒购自海军总医院。实验均按试剂盒说明书操作。

1.4.4 心肌及肺组织 ACE 活力测定 取液氮冷冻的左室心肌及肺组织块,分别称重后研碎,各置入含 PBS 的冰浴试管中(100mg/ml),匀浆(16000rpm)10s×3 次,高速离心、取上清,紫外法测定心肌及组织中 ACE 的活力。

1.4.5 心肌组织 Ang II 含量测定 将研碎的左室心肌,置入含 1mlHCl(0.1mol/L)的冰水浴试管内,再将试管置沸水浴中 10min 后,即置冰水浴中冷却,匀浆(16000rpm)20s×2 次,离心(12000rpm,4 C)60min,取上清,用放射免疫法测定 Ang II 水平。

1.4.6 心肌组织血管紧张素 I (Ang I) 含量测定 将液氮冷冻的左室心肌组织研碎后置入含 1mlPBS 冰浴试管中,匀浆(16000rpm)10s×3 次,离心(4000rpm,4 C)10min,留取 0.5ml 上清液,依次加入 50μlEDTANa₂ (20mmol/L), 50μlTris-HCl (4mmol/L pH7.4), 5μl 硫酸 8-羟基喹啉及 3μl 二巯基丙醇,混合后取 10μl,加二肾一夹大鼠血浆 45μl,置 4 C 冰浴孵育 24h 以上(使作用充分),加入 200μl 聚乙二醇(20mmol/L)并加入 PBS 使其容量达 1ml,离心(4000rpm,4 C)10min,留取上清液,以放射免疫法测定上清液中 Ang I 的含量,Ang I 检测试剂盒购自中国北方同位素试剂所。

1.4.7 以 Folin-酚法测定心肌组织蛋白。

1.5 统计分析 结果以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)

s)表示,治疗前后自身及组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 JF 对 RHR 血压的影响 见表 1。治疗前 RHR-C 及 RHR-T 组血压显著高于 SD-C 组。RHR-T 组在 JF 治疗 1 周后,血压较前下降,第 6 周降至 17.2±0.7kPa,有显著差异;与 RHR-C 组比较亦有显著差异;此后血压基本维持在这一水平直至治疗终点。观察期间 SD-C、RHR-C 组的血压无明显变化。

表 1 JF 对肾血管性高血压大鼠血压的影响($\bar{x} \pm s$, kPa)

组别	n	治疗前	治疗后			
			1 周	2 周	6 周	10 周
SD-C	6	16.0±0.6 ^{ΔΔ}	16.1±0.8 ^{ΔΔ}	15.7±1.3 ^{ΔΔ}	16.3±0.8 ^{ΔΔ}	16.5±0.7 ^{ΔΔ}
RHR-C	8	24.4±0.9	24.2±0.9	24.2±1.3	24.9±1.1	25.3±0.6
RHR-T	8	24.8±0.7	20.4±0.8 ^{*Δ}	18.0±0.7 ^{ΔΔ}	17.2±0.7 ^{Δ*}	17.3±0.8 ^{**Δ}

注:治疗前后自身比较 * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01; 与 RHR-C 组比较 ^Δ*P* < 0.05, ^{ΔΔ}*P* < 0.01(下同)

2.2 JF 对 RHR 左室重/体重(LVW/BW) 比的影响 SD-C、RHR-C 及 RHR-T 组的 LVW/BW(mg/g)分别为:1.98±0.17、2.97±0.44 及 2.32±0.22。RHR-C 组与 SD-C 组比较 *P* < 0.01。而 RHR-T 与 RHR-C 组比较 *P* < 0.05。

2.3 JF 对 RHR 心、肺、血清中 ACE 活力的影响 见表 2。ACE 活力在肺组织中 RHR-T 组明显低于 RHR-C 组。在心肌组织中,以 RHR-C 组为最高,明显高于 SD-C 组;RHR-T 组虽然较 RHR-C 组为低,但统计学处理无显著差异。血清 ACE 活力,以 RHR-T 为最低,但统计学处理无显著差异。

表 2 JF 对 RHR 心、肺、血清中 ACE 活力的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	ACE 活力(nmol/ml. min ⁻¹)		
	肺	心肌	血清
SD-C(6)	65.2±11.2	3.57±1.60 ^Δ	63.9±10.3
RHR-C(8)	77.3±12.6	6.46±2.87	67.3±10.3
RHR-T(8)	52.9±6.1 ^{ΔΔ}	4.43±2.06	55.2±15.0

注:()内为动物数(下同)

2.4 JF 对 RHR 血浆、心肌中肾素、血管紧

张素的影响 见表3。心肌组织 Ang II 及 Ang I 以每 mg 蛋白中的含量计算。左室心肌 Ang II 水平:RHR-C 组左室心肌中 Ang II 含量显著高于正常大鼠;经 JF 治疗后 RHR-T 组 Ang II 水平显著下降。血浆 Ang II 水平 SD-C 组明显低于 RHR-C 及 RHR-T 组,RHR-C 与 RHR-T 组间无差异。血浆肾素水平,SD-C 组明显低于 RHR-C 组;RHR-T 组虽有下降趋势,但无显著差异。左室 Ang I 水平,RHR-T 组在治疗后较 RHR-C 组有所升高。

表3 JF 对 RHR 血浆及左室心肌组织肾素

血管紧张素的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	左室心肌		血浆	
	Ang I (ng/mgpro)	Ang II (pg/mgpro)	Ang II (pg/ml)	PRA (ng/ml·h)
SD-C(6)	0.198±0.074	6.36±1.37 ^{ΔΔ}	147.0±23.9 ^{ΔΔ}	0.69±0.37 ^Δ
RHR-C(8)	0.176±0.039	13.36±5.10	376.7±61.4	1.22±0.28
RHR-T(8)	0.295±0.085 ^Δ	7.85±1.30 ^Δ	375.6±85.3	0.82±0.34

3 讨论

本结果表明:二肾一夹肾血管性高血压大鼠(RHR)的血压、LVW/BW 比明显高于正常 SD 大鼠,说明 RHR 存在显著的左室肥厚(LVH)。心肌肥厚时,心肌组织中肾素、血管紧张素原、ACE 及 Ang II 受体的 mRNA 表达增加,因而提示心脏局部 RAS 参与了心肌肥厚的形成^[5,6]。本研究发现:在 RHR 肥厚的左室心肌中,ACE 活力及 Ang II 水平也明显高于正常大鼠;而经 JF 治疗后的高血压大鼠,其血压及 LVH/BW 比明显降低,并且左室心肌中的 Ang II 也得以显著降低。这提示:降低左室心肌中 Ang II 的含量,可能是 JF 逆转肾血管性高血压大鼠 LVH 的重要机制。本文中 Ang I 水平在治疗后有所升高,这可能与 JF 阻断了心肌组织中 Ang I 向 Ang II 的转换有关。

本实验中,RHR 经 JF 治疗后血浆 Ang II 水平不降低;血浆肾素虽有所降低,但无统计学意义。然而在 RHR 肥厚的左室心肌中,

JF 可使 Ang II 的含量显著降低。这说明心脏 RAS 参与了左室肥厚的发展和逆转过程,循环 RAS 在此过程中不起重要作用。其原因可能与体内存在其它不依赖 ACE 的 Ang II 生成途径有关^[7,8]。

肺血管内皮表面存在丰富的 ACE,Ang I 经过肺循环时能被其水解转换为 Ang II。本实验 RHR-T 组经 JF 治疗后肺组织 ACE 活力明显下降;左室心肌及血清中 ACE 活力亦有下降趋势,该结果与我们既往所作的依那普利(ACE 抑制剂)的降压实验结果相类似^[3]。这表明:①JF 有一定的 ACE 抑制作用;②JF 是中药复方,成分较为复杂,因此 JF 可能并非是单一地通过阻断 ACE 途径而抑制心肌组织 Ang II 生成的。传统认为 Ang II 主要由 Ang I 在 ACE 的水解转换下生成,然而有资料表明,在鼠的心脏中,存在着不依赖于 ACE 的 Ang II 生成途径^[1]。目前认为:除 ACE 外,激肽释放酶、组织蛋白酶及 chymase 亦可催化 Ang II 的产生^[7],因此有关 JF 降低肾血管性高血压大鼠左室心肌 Ang II 的途径、机理及有效成分还有待作进一步的探讨。

参考文献

- 1 陈兰英. 心脏肾素-血管紧张素系统与心肌肥厚. 心血管病学进展,1996,17(6):336~339
- 2 陆曙,吴新欲,翁晓生,等. 降防保心片对高血压病左室肥厚影响的临床研究. 南京中医药大学学报,1998,14(1):16~18
- 3 张寄南,杨国平,苏峰郁,等. 依那普利降压途径和保护心肌的研究. 中华心血管病杂志,1990,18(2):84~86
- 4 Kuwajima I, Kardon MB, Pegram BL, et al. Regression of left ventricular hypertrophy in two kidney, one clip Goldblatt hypertension. Hypertension, 1982, 4(3Pt2):113
- 5 章友华,徐守春. 心脏肾素-血管紧张素系统与心肌缺血再灌注损伤. 中国循环杂志,1992,7(6):598~600

- 6 Sadoashima JI, Izumo S. Molecular characterization of Angiotensin II induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. *Circ Res*, 1993, 73: 413~423
- 7 Ruzicka M, Yuan B, Harmsen E, et al. The Renin-Angiotensin System and Volume Overload-Induced Cardiac Hypertrophy in Rat. *Circulation*, 1993, 87: 912~930
- 8 Nagano M, Higaki J, Mikami H et al. Converting enzyme inhibitors regressed cardiac hypertrophy and reduced tissue angiotensin II inspontaneously hypertensive rat. *J Hypertens*, 1991, 9: 595~599

(收稿: 1998-06-22)