

“调肝肾,祛痰瘀”复方血压峰值前给药 对自发性高血压大鼠肾脏 TGF- β_1 , CTGF 和 FN 的影响

吴棕冰^{1,2}, 潘毅^{1*}, 王志国¹, 阳涛³, 冯家伟¹, 邱建华¹, 李建平¹, 邓文思¹
(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001;
3. 萍乡市人民医院, 江西 萍乡 337000)

[摘要] **目的:**探讨“调肝肾,祛痰瘀”复方血压峰值前给药对自发性高血压大鼠肾脏转化生长因子- β_1 (TGF- β_1), 结缔组织生长因子 (CTGF) 和糖蛋白纤维连接蛋白 (FN) 的影响。**方法:**将 30 只 SHR (12 周龄), 随机分为复方组 (4 g·kg⁻¹), 氯沙坦组 (30 mg·kg⁻¹) 和模型组, 设 SD 大鼠 10 只为正常组, 治疗 12 周后, 采用 RT-PCR 和 Western blot 法分别检测肾组织中 TGF- β_1 , CTGF 和 FN 的 mRNA 和蛋白表达。**结果:**与正常组比较, 模型组 TGF- β_1 , CTGF 和 FN mRNA 表达均明显上调 ($P < 0.01$), CTGF, FN 蛋白表达均明显上调 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 复方组 TGF- β_1 , CTGF, FN 的 mRNA 的表达均明显下调 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), TGF- β_1 , CTGF, FN 蛋白表达均明显下调 ($P < 0.01$); 氯沙坦组 TGF- β_1 , FN mRNA 表达均明显下调 ($P < 0.01$), TGF- β_1 和 FN 蛋白表达均明显下调 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与氯沙坦组比较, 复方组 TGF- β_1 的 mRNA 表达较明显下调 ($P < 0.05$), CTGF 和 FN 的蛋白表达亦下调 ($P < 0.05$)。**结论:**“调肝肾,祛痰瘀”复方血压峰值前给药能够明显减少 ECM 聚积而改善 SHR 肾损害。其作用机制应是在中医阴阳升降机制协同下, 通过降低肾组织 TGF- β_1 , CTGF, FN 的表达而达致。

[关键词] “调肝肾,祛痰瘀”复方; 血压峰值; 自发性高血压大鼠; 转化生长因子- β_1 ; 结缔组织生长因子; 纤维连接蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)14-0087-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015140087

Effect of Tiaoganshen Qutanyu-formula on Transforming Growth Factor- β_1 , Connective Tissue Growth Factor and Fibronectin in Spontaneous Hypertensive Rats WU Liang-bing^{1,2}, PAN Yi^{1*}, WANG Zhi-guo¹, YANG Tao³, FENG Jia-wei¹, QIU Jian-hua¹, LI Jian-ping¹, DENG Wen-si¹ (1. *Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China*; 2. *Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China*; 3. *Pingxiang People's Hospital, Pingxiang 337000, China*)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Tiaoganshen Qutanyu-formula (TQF) on transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), connective tissue growth factor (CTGF) and fibronectin (FN) in kidney tissue in spontaneous hypertensive rats (SHR) administered before blood pressure peak. **Method:** A total of 30 12-week male SHR were randomly divided into 3 groups: the TQF group (4 g·kg⁻¹), the losartan group (30 mg·kg⁻¹) and the model group. Another healthy 10 SD rats were taken as the normal group. The mRNA and protein expressions of TGF- β_1 , CTGF and FN were detected by using RT-PCR and Western Blot after 12 weeks of treatment. **Result:** Compared with the normal group, the mRNA expressions of TGF- β_1 , CTGF and FN were obviously up-regulated, protein expressions of CTGF and FN were also up-regulated in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, mRNA and protein expressions of TGF- β_1 , CTGF and FN were down-regulated in TQF and losartan groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Moreover, the results were lower in the TQF group ($P < 0.05$). **Conclusion:** TQF taken before blood pressure peak could reduce the aggregation of extra cellular matrix and prevent kidney tissue injury in SHR. The mechanism might be the synergistic effect of Yin-yang theory

[收稿日期] 20141018(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173181)

[第一作者] 吴棕冰, 博士, 讲师, 从事中医药防治高血压的研究, Tel:13117710622, E-mail:ldhwlb@163.com

[通讯作者] * 潘毅, 博士, 博士生导师, 教授, 从事中医病因病机与治法研究, Tel:13533718763, E-mail:panyi111111@126.com

of the expression inhibition of TGF- β_1 , CTGF and FN in kidney tissue.

[Key words] Tiaoganshen Qutanyu-formula; blood pressure peak; spontaneous hypertensive rats; transforming growth factor- β_1 ; connective tissue growth factor; fibronectin

高血压是一种常见病,多发病。其中肾脏为主要受累的靶器官之一,而各种原因造成的肾脏损害又会加重高血压^[1]。转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 和结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 是高血压肾损害病理进程中的关键因子,对肾小球细胞外基质 (extra cellular matrix, ECM) 过度聚积代谢起着重要的调节作用。在血压节律方面,大鼠与正常人同样呈现双峰一谷的昼夜节律,因昼伏夜动的生物特征,大鼠血压第一个峰值出现在 21:00 左右,然后在凌晨 2:00 左右出现一个次高峰^[2]。本课题的调肝肾、祛痰瘀复方前期实验已经证实能够有效降低 SHR 大鼠血压,并在血压时间节律调控方面有一定的意义。前期实验设了 3 组共 6 个不同给药时间:分别为血压峰值前 (19:00, 0:00) 给药,时间正常 1 组 (0:00, 12:00) 给药,时间正常 2 组 (6:00, 18:00) 给药,发现不同时间点降压效果及靶器官保护效应存在一定的差异。其中,以本研究所采取的剂量在峰值前 2 h 给药 (预设复方达至效果高峰而与血压峰值相重所需的时间) 降压效果和血压节律调控作用及抗肾脏形态学损害均较其他时间点及剂量的给药疗效更优^[3]。基于先前实验研究不同时间给药与效应间关系结果,本研究将大鼠血压峰值前 2 h 的 19:00 和 0:00 作为最佳给药时,在前期复方对肾形态学研究时效确定的基础上,进一步探究其肾保护的具体机制。方法是运用反转录酶-聚合酶链锁反应和蛋白印迹法观察复方对 SHR 大鼠肾组织 TGF- β_1 , CTGF 和 ECM 成分纤维连接蛋白 (fibronectin, FN) 的影响。

1 材料

1.1 动物 30 只 11 周龄雄性自发性高血压大鼠 (SHR), 体重 (220 ± 20) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2012-0001, 11 周龄 (SD) 大鼠 10 只, 体重 (220 ± 20) g, 购自广州中医药大学 (大学城) 实验动物中心, 合格证号 SCXK (粤) 2013-0020, SPF 级实验室分笼饲养, 适应性饲养 1 周。

1.2 药物及试剂 “调肝肾, 祛痰瘀” 复方 (成人 1 日量) 熟地黄 25 g, 龟板 30 g (先煎), 丹参 15 g, 瓜蒌 12 g, 田七 5 g, 钩藤 12 g (后下), 由广州市药材公

司中药饮片厂生产, 批号 13093120。并经过鉴定符合药典标准。常规煎药取汁后浓缩含生药 200 g · L⁻¹。药液冷却后, 置于 4 °C 冰箱内保存备用。生理盐水 (湖北科伦药业有限公司, 批号 B130821C), 氯沙坦 (由杭州默沙东制药有限公司生产, 批号 130101), TGF- β_1 抗体 (美国 CST 公司, 批号 3712S), CTGF 抗体 (美国 ABclonal 公司, 批号 A2880) 和 FN 抗体 (美国 ABclonal 公司, 批号 A0966), PCR 逆转录试剂盒 (批号 C0210A), 荧光混合物, GAPDH, TGF- β_1 , CTGF, FN 引物均购自上海生物工程公司, 组织总蛋白抽提试剂盒 (批号 P0013B), BCA 浓度测定试剂盒 (批号 P0010S), ECL 显色试剂盒 (批号 P0018) 均购自上海碧云天生物工程公司。

1.3 仪器 RNA 逆转录仪 (美国 ABI 公司), 2720 型 RT-qPCR 扩增仪 (美国 Applied Biosystems 公司), MK3 型酶标仪 (美国 Thermo 公司), ABI7300 型荧光定量 PCR 序列检测系统 (美国 Applied Biosystems 公司)。

2 方法

2.1 分组与给药方法 30 只雄性 SHR 大鼠编号后按照随机数字表随机分为 3 组: 复方组, 氯沙坦组和模型组, 每组均 10 只, SD 大鼠 10 只作为正常组。复方组以 4 g · kg⁻¹ 药量每日于 19:00 和 00:00 ig, 氯沙坦组以 30 mg · kg⁻¹ 清晨 1 次常规 ig^[4]; 模型组和正常组给予等量的生理盐水。所有大鼠均饲养在广州中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室。实验期间给予酪蛋白大鼠饲料, 自由饮水, 12 h 人工光照交替, 连续给药 12 周。

2.2 指标检测 ① RT-qPCR 法检测肾组织中 TGF- β_1 , CTGF 和 FN 的 mRNA 表达 7% 水合氯醛 (0.35 g · kg⁻¹) 经腹腔注射麻醉, 取各组大鼠肾脏组织, 置于 1 mL TRIzol 中, 提取总 RNA 并检测其纯度后, 经两步法逆转录 = 聚合酶链反应检测 mRNA 表达。按照逆转录试剂盒方法在 PCR 热循环仪中将其逆转录为 cDNA (表 1)。PCR 反应序为: 预变性 93 °C, 2 min。变性 93 °C, 30 s, 共 40 个循环。退火 55 °C, 45 s, 共 40 个循环。延伸 72 °C 30 s, 共 40 个循环。引物序列见表 1。反应完数据保存, 数据软件分析, 采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 相对定量分析。② Western blot 法检测肾

表 1 PCR 检测中引物序列

Table 1 Primer sequences of PCR detection

| 名称 | 引物 | 长度 /bp |
|----------------|--------------------------------|--------|
| TGF- β_1 | 上游 5'-GAAGTCACCCGCGTGCTAAT-3' | 115 |
| | 下游 5'-GCAGTCTTCCCGAATGTCT-3' | |
| CTGF | 上游 5'-GTGTGTGATGAGCCCAAGGA-3' | 105 |
| | 下游 5'-GCAGTTGGCTCGCATCATAG-3' | |
| FN | 上游 5'-CCGGCATTGACTATGACATCA-3' | 135 |
| | 下游 5'-GCATAGTGTCCGACCGATATT-3' | |
| GAPDH | 上游 5'-CTCCATTCTCCACCTTTG-3' | 105 |
| | 下游 5'-CCACCACCCTGTTGCTGTAG-3' | |

组织中 TGF- β_1 , CTGF 和 FN 的蛋白表达取组织提取蛋白然后用 BCA 法测蛋白浓度,经聚丙烯酰胺琼脂糖凝胶电泳后,转移到 PVDF 膜上,封闭液封闭。在 10 mL 一抗稀释液中把 PVDF 膜和一抗孵育,4 °C 过夜。1 × TBST 洗膜 3 次,然后孵育二抗,用 1 × TBST 稀释,1 h。1 × TBST 洗膜 3 次,排除过多的液体,在暗室中使其与 X 射线片在增感屏上紧密接触,曝光。应用凝胶图像分析系统照相和条带密度扫描,按下式计算目的蛋白表达相对水平,以此进行半定量分析。

相对系数 = 目的带表达强度 / GAPDH 表达强度

2.3 统计学分析 采用 SPSS 11.0 统计分析软件处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,SNK 法两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠肾脏组织中 TGF- β_1 , CTGF 和 FN 的 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组 TGF- β_1 , CTGF 和 FN 的 mRNA 表达均明显上调 ($P < 0.01$); 与模型组比较,复方组 TGF- β_1 的 mRNA 的表达均明显下调 ($P < 0.01$),且优于氯沙坦组 ($P < 0.01$); 复方组 CTGF 和 FN 的 mRNA 的表达均明显下调 ($P < 0.01$),和氯沙坦组没有统计学差异。见表 2 和图 1。

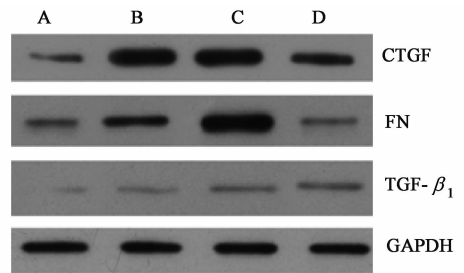
3.2 对大鼠肾组织中 TGF- β_1 , CTGF, FN 蛋白表达的影响 与正常组比较,CTGF, FN 蛋白表达均明显上调 ($P < 0.01$); 与模型组比较, TGF- β_1 , CTGF, FN 蛋白表达均明显下调 ($P < 0.01$); 氯沙坦组 TGF- β_1 , FN 蛋白表达均明显下调 ($P < 0.05, P < 0.01$)。与氯沙坦组比较 CTGF 和 FN 的蛋白表达明显下调 ($P < 0.05$)。见图 1,表 3。

表 2 “调肝肾,祛痰瘀”复方对大鼠肾组织 TGF- β_1 , CTGF 和 FN 的 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of Tiaoganshen Qutanyu formula on mRNA expression of TGF- β_1 , CTGF, FN in kidney tissue of rat ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | 2 ^{-$\Delta\Delta C_t$} | | |
|-----|------------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | | TGF- β_1 | CTGF | FN |
| 正常 | - | 11.20 ± 0.84 | 2.55 ± 0.20 | 15.43 ± 1.92 |
| 模型 | - | 53.72 ± 2.02 ²⁾ | 12.04 ± 1.93 ²⁾ | 85.59 ± 5.85 ²⁾ |
| 复方 | 4 | 13.99 ± 1.05 ⁴⁾ | 5.83 ± 2.47 ³⁾ | 42.04 ± 1.99 ⁴⁾ |
| 氯沙坦 | 0.03 | 18.23 ± 0.56 ⁴⁾ | 7.87 ± 1.32 | 39.88 ± 5.52 ⁴⁾ |

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。



A. 复方组; B. 氯沙坦组; C. 模型组; D. 正常组

图 1 大鼠肾脏 TGF- β_1 , CTGF, FN 的蛋白含量表达

Fig. 1 Protein Expression of TGF- β_1 , CTGF and FN in kidney tissue of rats

表 3 “调肝肾,祛痰瘀”复方对小鼠肾脏 TGF- β_1 , CTGF, FN 的蛋白相对表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of Tiaoganshen Qutanyu formula on protein relative expression of TGF- β_1 , CTGF, FN in kidney tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | TGF- β_1 | CTGF | FN |
|-----|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | /GAPDH | /GAPDH | /GAPDH |
| 正常 | - | 0.16 ± 0.02 | 0.66 ± 0.14 | 0.26 ± 0.06 |
| 模型 | - | 0.21 ± 0.06 | 1.38 ± 0.04 ²⁾ | 2.18 ± 0.14 ²⁾ |
| 复方 | 4 | 0.05 ± 0.03 ⁴⁾ | 0.29 ± 0.05 ⁴⁾ | 0.41 ± 0.11 ⁴⁾ |
| 氯沙坦 | 0.03 | 0.08 ± 0.02 ³⁾ | 1.48 ± 0.15 | 0.73 ± 0.01 ⁴⁾ |

4 讨论

高血压性肾损害的病理特征为广泛的人球小动脉透明样变和小叶间动脉内膜增厚,同时出现肾小球和肾小管间质缺血性表现^[5]。高血压状态下血流动力学异常等因素均可诱导转化生长因子 TGF- β_1 及其受体表达增加。TGF- β_1 能抑制 ECM 降解,促使 ECM 在系膜区聚积,最终导致肾小球硬化。TGF- β_1 具有促纤维化效应,抗增生,抗炎症等作用。而结缔组织生长因子 CTGF 是 TGF- β_1 重要

的下游因子,主要介导 TGF- β_1 的促纤维化作用,在高血压肾损害发病过程中起重要作用^[6],CTGF 能够促进细胞增生和 ECM 的合成,从而导致肾脏纤维化的发生^[7]。研究表明, FN 是最早出现在损伤组织中的基质蛋白成分^[8]。其合成增多在肾脏纤维早期即可出现明显变化, FN 是 ECM 早期表达增高的指标^[9]。因此,阻断 TGF- β_1 -CTGF-FN 信号转导通路,抑制其活性,可能是一种有效地防治肾损害纤维化的手段^[10]。

SHR 大约在 20 周龄时,能形成较为明显的高血压肾损害的体征,符合临床报道的高血压肾损害大约在未控制的高血压病形成 5~10 年后出现^[11]。而 24 周龄的 SHR 则出现了明显的肾间质纤维化^[12],因此,本实验亦在 SHR 大鼠 24 周龄时取材。结果显示,与正常组比较,模型组 TGF- β_1 , CTGF, FN mRNA 表达均明显上调, CTGF, FN 蛋白表达均明显上调。与模型组比较,复方组 TGF- β_1 , CTGF, FN mRNA 的表达均明显下调, TGF- β_1 , CTGF, FN 蛋白表达均明显下调;氯沙坦组 TGF- β_1 , FN mRNA 表达均明显下调, TGF- β_1 , FN 蛋白表达均明显下调。与氯沙坦组比较,复方组 TGF- β_1 mRNA 明显下调,蛋白表达和氯沙坦组没有统计学差异, CTGF 和 FN 的蛋白表达优于氯沙坦组。表明经过调肝肾祛、痰瘀复方的干预,高血压肾损害得到一定程度的修复且与 TGF- β_1 , CTGF 和 Fn1 的表达下调相关。调肝肾、祛痰瘀复方有可能是通过这条信号通路来减少 ECM 积聚,从而达到延缓 SHR 大鼠肾脏损害的目的。

从中医角度看高血压性肾损害,病机特点不外乎本虚和标实。《素问·通评虚实论》说:“邪气盛则实,精气夺则虚”。肾脏损害之本虚多以肝肾亏虚为主;高血压性肾损害的邪实主要为痰凝,瘀结。本方的药物作用在于,方中君药熟地黄:益肾养阴、滋水以涵木,柔肝以制上亢之肝阳;臣药-龟板:益肾滋阴,潜降肝阳;丹参:入心经以活血祛瘀通脉;佐药瓜蒌:宽胸以散心胸之痰结;钩藤:助龟板以平降肝阳;田七:与丹参合用,增强活血通脉之功;使药龟板、丹参:引药入肾、肝、心经。全方共奏调补肝肾、滋阴潜阳、活血祛瘀之功,是临床治疗高血压的经验方。整个复方的功效不但蕴含中医针对高血压及靶器官保护的病机综合调治和阴阳升降调节的思想,方中各药的现代药理学研究也表明可针对高血压的病理多环节^[13-18]。本研究小组所用的调肝肾、祛痰瘀复方与高血压的中医病机完全契合,前期研究采取不同剂量和不同时间给药的方法,通过对各组大鼠降压

及靶器官保护效果的观察比较,已证实“调肝肾、祛痰瘀”复方高剂量为最佳量(本研究所采用的剂量),其组成及经反复摸索与验证的配伍分量具有稳定、持久的降压效应^[3]。

有研究表明应用植入式遥测技术观察自发性高血压大鼠血压的昼夜波动^[2],3 月龄的 SHR 大鼠血压和心律呈昼夜节律性变化,白昼阶段血压明显低于夜间阶段,血压在 1:30~2:30 和 20:30~21:30 时出现两个高峰期,14:00~14:30 时出现一低谷期,与先前本课题研究的结果是一致的。笔者认为高血压既然是气血升降异常之病,就可借助时间来调控机体气机升降之势以提高药效,本研究在 SHR 大鼠峰值前给药,正是为了能有效地抑其气血上升之势,从而减轻高血压的高峰现象,进而减少高血压对靶器官的损害。从研究意义上来说,本研究所证实的对 SHR 大鼠峰值前给药的效佳性也应对人类治疗高血压的时间给药提供重要启示,因为正常人血压同样具有时间生物学特点,遵循典型的昼夜周期而表现出特征性的 24 h 节律变化,呈现双峰一谷的节律,即:血压在 9:00~11:00 点左右达到一日中的最高峰然后平稳下降,在 16:00~18:00 点再次出现一个次高峰,其后血压持续下降,2:00~3:00 点达低谷,全天呈现“双峰一谷”的勺型曲线^[19]。当高血压发展得较严重时,夜间血压下降值小于日间血压的 10% 时,称为非勺型曲线^[20]而非勺型高血压更易导致靶器官受损。本课题先前运用 24 h 动态血压观察各组大鼠血压节律及治疗效应发现,血压峰值前给药组在改变血压昼夜节律,即减轻非勺型高血压方面略优于氯沙坦组^[3],这也印证了中医时间治疗学的观点,在峰值前给药,能有效抑制血压上升之势,使得血压更平稳,从而延缓非勺型高血压发展趋势。而本研究显示在靶器官保护方面的效应,也可反证峰值前给药对血压昼夜节律的较有效调控。故在临床上治疗高血压病人时,也可以本研究结果为参考,在人类的血压峰值前给药,使能有效地抑其气血上升之势,减轻高血压的高峰现象,保持血压节律稳定,从而减少高血压危险事件^[21],而人类的血压峰值均出现在白天,这也为本研究的临床应用提供了时间上的便利。

针对慢性病的治疗中医的给药方式多为日 2 服,或有翻渣(实质也是日 2 服)的习惯,本实验每日两次中药给药法为此法的今后推广应用提供了依据,亦可为临床用药提供可靠的时间药理学依据,从而减少传统用药中存在的局限性和盲目性,为传统

中医用药法增色,使中药治疗高血压肾损害的病理改变的针对性更强。

[参考文献]

[1] 刘巍,熊兴江,王阶. 高血压肾损害及其中医药防治进展[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(1): 14-19.

[2] 寿旗扬,潘永明,陆晔枫,等. 应用植入式遥测技术观察自发性高血压大鼠血压的昼夜波动[J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(4): 55-58.

[3] 阳涛. 中药复方择时给药对 SHR 血压节律调控及节和靶器官保护及其机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.

[4] 敖翔,孙明,周宏研. 自发性高血压大鼠血、尿 III 型前胶原水平变化及氯沙坦的干预作用[J]. 中国医师杂志, 2004, 6(8): 1064-1067.

[5] Jennette J C, Olson J L, Schwartz M M, et al. Hepintalls pathology of the kidney[M]. Philadelphia: Lippincott William Wilkins, 2007: 943-945.

[6] Weier Qi, Xinming Chen, Philip Poronnik, et al, Transforming growth factor- β /connective tissue growth factor axis in the kidney[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2008, 40(1): 12-15.

[7] C P Denton, D J Abraham. Transforming growth factor-beta and connective tissue growth factor: key cytokines in scleroderma pathogenesis [J]. Curr Opin Rheumatol, 2001, 13 (6): 508-510.

[8] M V Pavan B, Ghini M Castro, et al, Prevention of hypertension attenuates albuminuria and renal expression of fibronectin in diabetic spontaneously hypertension rats [J]. Am J Nephrol, 2003, 23: 427-429.

[9] 付治卿,周聊生. 高血压肾损害机制的探讨[J]. 临床荟萃, 2004, 19 (8): 470-473.

[10] 徐宏,韦丽丽,关建国,等. 益水生新饮对自发性高血压大鼠 TGF- β_1 CTGF FN 信号通路的影响[J]. 四川中医, 2013, 31(7): 45-47.

[11] 严冬,唐蜀华,陈晓虎,等. 降压益肾颗粒对 SHR 早期肾脏损害组织形态学影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(11): 40-43.

[12] 王敏莲,刘淑华,闫晗,等. 缬沙坦对自发性高血压大鼠肾间质纤维化及转化生长因子- β_1 表达的影响[J]. 武汉大学学报:医学版, 2009, 30(6): 746-749.

[13] 潘毅,吴丽丽,严灿,等. 活血祛痰法对自发性高血压大鼠心肌线粒体膜的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2001, 18(1): 61-64.

[14] 李剑,潘毅,严灿,等. 滋补肝肾,活血祛痰方药对原发性高血压大鼠左心室肥厚的影响[J]. 山西中医, 2003, 19(2): 56-58.

[15] 卢焯明,潘毅,梁颖瑜,等. 调肝肾,祛痰瘀治法提前干预对 SHR 血压及血管活性物质的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(9): 782-785.

[16] 潘毅,柳琳,蔡三郎,等. 调肝肾祛痰瘀复方发病前不同时段给药对 SHR 血管重构的整体药效学研究[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(3): 346-348.

[17] 潘毅,蔡三郎,柳琳. 调肝肾祛痰瘀复方含药血清对 SHR 血管平滑肌细胞肾素-血管紧张素系统的影响[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(6): 1138-1140.

[18] 潘毅,王文靖,阳涛,等. 血畅宁对两种高血压大鼠模型的血压及左室重构的影响[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(6): 1306-1309.

[19] White W B, Lund-Johansen P, Omvik P. Twenty-four-hour blood pressure load as a surrogate end-point in assessing antihypertensive therapy [J]. Hypertens, 1993, 11(1): 79-82.

[20] Weber M A, Neutel J M, Simth D H G, Controlling blood pressure throughout the day: issues in testing a new anti-hypertensive agent [J]. Hum Hypertens, 1995, 9(5): S30-S33.

[21] 阳涛,潘毅. 高血压当从气机升降运化论治[J]. 四川中医, 2013, 31(3): 37-39.

[责任编辑 周冰冰]