

山麦胶囊对肾性高血压大鼠肾内小动脉血管重构的影响

曹雯¹, 秦秋华¹, 周燕^{1*}, 蒋伟哲¹, 龙凤鸣², 韦秀芝²

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 河池市第一人民医院, 广西 河池 546300)

[摘要] **目的:**探讨山麦胶囊对肾性高血压大鼠肾内小动脉血管重构的影响。**方法:**建立“两肾一夹”肾性高血压大鼠模型,随机分为模型对照组 8 只,卡托普利组(0.007 g·kg⁻¹)8 只,山麦胶囊高剂量组(1.8 g·kg⁻¹)8 只,中剂量组(0.9 g·kg⁻¹)7 只,低剂量组(0.45 g·kg⁻¹)6 只;另设假手术组 10 只。于造模第 5 周开始每日灌胃给药,定期测定大鼠尾动脉收缩压(SBP),给药 4 周后处死大鼠,酶联免疫法测定血浆中血管紧张素 II(Ang II)和内皮素(ET)含量,组织切片图像分析法评价肾内小动脉重构指标及其形态改变。**结果:**经肾动脉缩窄术后大鼠血压显著增高($P < 0.01$)。与模型对照组比较,山麦胶囊呈可逆性及浓度依赖性地降低肾性高血压大鼠的血压、血浆中 Ang II 和 ET 含量及肾内小动脉中层厚度(Mt),同时增加血管腔径(RAD)和腔面积(Lcsa),差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论:**山麦胶囊可以有效预防肾性高血压大鼠肾内小动脉血管重构,该作用可能与其降压作用及拮抗体内 Ang II 和 ET 水平有关。

[关键词] 山麦胶囊; 肾性高血压; 血管重构; 血管紧张素 II; 内皮素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0189-05

[doi] 10.11653/syfy2013180189

Effect of Shanmai Capsules on the Renal Arteriole Remodeling in Renovascular Hypertensive Rats

CAO Wen¹, QIN Qiu-hua¹, ZHOU Yan^{1*}, JIANG Wei-zhe¹, LONG Feng-ming², WEI Xiu-zhi²

(1. Department of Pharmacology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. Hechi First People's Hospital, Hechi 546300, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Shanmai capsules on the renal arteriole remodeling in renovascular hypertensive rats. **Method:** The two-kidney one-clip (2K1C) renovascular hypertensive rats were randomly divided into model group ($n = 8$), captopril group (0.007 g·kg⁻¹, $n = 8$), Shanmai capsules high (1.8 g·kg⁻¹, $n = 8$), middle (0.9 g·kg⁻¹, $n = 7$), low (0.45 g·kg⁻¹, $n = 6$) dosage group and the sham control group ($n = 10$). Treatment was started at the 5th week after surgery by intragastric administration. Systolic blood pressure (SBP) was measured periodically. Rats were sacrificed after the last administration. Angiotensin II (Ang II) and endothelin (ET) were measured by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). The morphometric measurements were performed in the renal arteriole remodeling. **Result:** The blood pressure of rats after renal artery narrow operation was significantly higher than before ($P < 0.01$). Compared with model group, the antihypertensive effect of Shanmai capsules on renal hypertensive rats was reversible with a concentration dependent manner. The Ang II and ET level in plasma and the renal arterial media thickness (Mt) were decreased, and lumen diameter (RAD) and luminal cross-sectional area (Lcsa) were increased, differences were statistically significant ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion:** Shanmai capsules could inhibit the renal arteriole remodeling in renovascular hypertensive rats, and its mechanism may be related to the antihypertensive effect and

[收稿日期] 20120424(010)

[基金项目] 广西自然科学基金(桂科自 0991264);广西自然科学基金(桂财教 2012GXNSFCA053004)

[第一作者] 曹雯,从事神经药理及心血管药理研究,Tel:0771-5358272,E-mail:mosquito1106@foxmail.com

[通讯作者] *周燕,博士,副教授,从事神经药理及心血管药理研究,Tel:0771-5358272,E-mail:1447043941@qq.com

reducing the levels of Ang II and ET *in vivo*.

[Key words] Shanmai capsules; renovascular hypertension; vascular remodeling; angiotensin II; endothelin

高血压动脉血管重构是血管功能改变的病理基础,主要表现为动脉管壁增厚,管腔缩小,壁腔比增大以及随之产生的动脉功能改变^[1],而肾血管的重构可造成肾实质缺血,肾小球硬化,间质纤维化,最终引起肾衰竭^[2]。研究表明,血管紧张素 II (Ang II)能促进血管平滑肌细胞(VSMC)的肥大和胶原纤维增生^[3-4],而内皮素(ET)亦能促进 VSMC 的增殖^[5],因此 AngII 和 ET 与高血压动脉重构的关系非常密切。山麦胶囊以广西特色壮药龙眼参为主药,配以高良姜、牡蛎、葛根等辅药,常用于治疗高血脂症、高黏血症,本实验以肾性高血压大鼠为研究对象,观察山麦胶囊对其血压、AngII 和 ET 含量的影响及肾小动脉重构的形态学变化,探讨山麦胶囊降低血压和抑制肾性高血压的肾脏血管重构。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠 60 只,雄性,体重(170 ± 20)g,由广西医科大学医学实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(桂)2009-0002。

1.2 药品与试剂 山麦胶囊(南宁多灵生物科技有限公司,批号 20090605);卡托普利(山德士中国制药有限公司,批号 AK002);血管紧张素 II ELISA 测定试剂盒(美国 Rapidbio 公司,批号 20110226Q)内皮素 ELISA 测定试剂盒(美国 Rapidbio 公司,批号 20110301B)。

1.3 仪器 ALC-NIBP 无创血压测定分析系统(上海澳尔科特生物技术公司);精密天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);CL17R 型低温离心机(美国 Thermo 公司);MK3 型酶联免疫检测仪(美国 Thermo 公司);DMR + Q550 病理图像分析仪(德国 Leica 公司)。

2 方法

2.1 “两肾一夹”法制备肾性高血压大鼠模型 参照文献[6]的方法复制两肾一夹肾性高血压大鼠模型。10%的水合氯醛(3 mL·kg⁻¹)ip 麻醉,游离左肾动脉,用手术缝合线将直径为 0.25 mm 的针灸银针与肾动脉适度结扎,然后抽去银针,复位肾脏,缝合。假手术组仅游离左肾动脉但不结扎,其余手术步骤均同手术组。术后 3 d 内每天按 1.25 mL·kg⁻¹的剂量 ip 给予庆大霉素。术后 4 周凡大鼠收缩压(SBP)比造模前高 20 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa,

大于正常血压 3 个标准差)以上且高于 115 mmHg 者确认为两肾一夹高血压大鼠模型形成。

2.2 分组及给药 取手术组大鼠中造模成功的高血压大鼠共 37 只,随机分为 5 组,分别为模型对照组 8 只,阳性药对照组(卡托普利组)8 只,山麦胶囊高剂量组 8 只,山麦胶囊中剂量组 7 只,山麦胶囊低剂量组 6 只;另设假手术组 10 只。于第 5 周开始给药,给药剂量根据标准动物的等效剂量折算系数法计算,即山麦胶囊高、中、低剂量组(1.8, 0.9, 0.45 g·kg⁻¹·d⁻¹),卡托普利组 0.007 g·kg⁻¹·d⁻¹,模型对照组和假手术组大鼠灌以等体积生理盐水,连续 4 周灌胃给药。

2.3 检测指标

2.3.1 血压的测定 于造模前、造模后第 4 周和给药 4 周末用 ALC-NIBP 无创血压测定分析系统测定大鼠清醒状态下的尾动脉 SBP,重复测量 3 次,取平均值。

2.3.2 肾内小动脉血管重构指标的测定 处死大鼠后迅速分离左肾,用中性甲醛固定,蜡块包埋,切成 8 μm 厚的切片,HE 染色和 Masson 三色染色。经 Masson 染色后血管肌纤维、纤维素、红细胞呈现红色;弹力板呈蓝色,具有折光性,中层细胞纤维化呈深蓝色不具折光性;细胞核呈蓝黑色。400 倍光学显微镜下应用 DMR + Q550 图像分析仪选取外径小于 100 μm 的肾内小动脉,测量其动脉腔径(RAD)、中层厚度(Mt)及腔面积(Lcsa)。

2.3.3 Ang II, ET 的测定 连续给药 4 周,于末次给药后 12 h,10%水合氯醛 ip 麻醉(3 mL·kg⁻¹),经颈动脉插管取血,Ang II 和 ET 含量均采用酶联免疫法测定。

2.4 统计学处理 采用统计软件 SPSS 13.0 处理,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对肾性高血压大鼠 SBP 的影响 给药前除假手术组大鼠血压正常(106.36 ± 8.47) mmHg ($n = 10$)外,其余各组大鼠 SBP 均值在 150 ~ 152 mmHg,血压较肾动脉狭窄术前显著升高($P < 0.01$),且明显高于正常组,均为造模成功的肾性高血压大鼠;给药 4 周后,山麦胶囊高剂量 SBP

(141.52 ± 6.04) mmHg, 卡托普利组 SBP (142.85 ± 5.55) mmHg, 明显低于肾性高血压模型对照组 (150.87 ± 5.84) mmHg ($P < 0.01$)。

3.2 对 Ang II 和 ET 含量的影响 与假手术组比较, 模型对照组大鼠 Ang II 和 ET 含量显著升高 ($P < 0.01$)。给药 4 周后, 山麦胶囊各给药剂量组和卡托普利组与模型对照组相比均能显著降低高血压模型大鼠血浆中 ET 的生成 ($P < 0.01$), 山麦胶囊高、中剂量组亦能显著降低血浆中 AngII 的生成 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 山麦胶囊对肾性高血压大鼠 Ang II 和 ET 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	<i>n</i>	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	Ang II	ET
假手术	10	-	$555.26 \pm 106.25^{1)}$	$69.10 \pm 10.03^{1)}$
模型对照	8	-	981.93 ± 174.45	169.69 ± 27.15
卡托普利	8	0.007	$639.57 \pm 150.79^{1)}$	$93.96 \pm 14.11^{1)}$
山麦胶囊	8	1.8	$642.28 \pm 153.39^{1)}$	$98.17 \pm 8.91^{1)}$
	7	0.9	$736.35 \pm 167.54^{1)}$	$118.78 \pm 20.43^{1)}$
	6	0.45	847.76 ± 64.24	$126.65 \pm 17.45^{1)}$

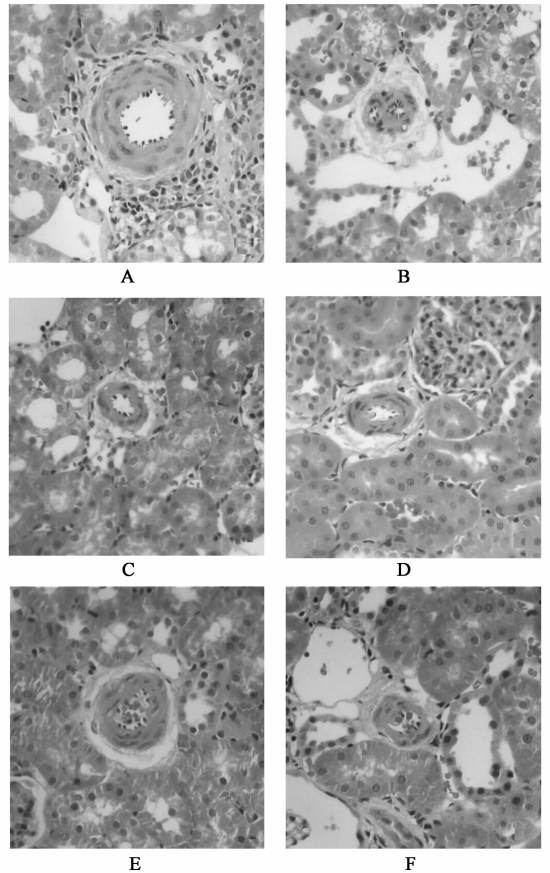
注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 对高血压模型大鼠肾内小动脉血管重构指标的影响 在 400 倍光学显微镜下用 DMR + Q550 图像分析仪观察大鼠肾内小动脉 HE 染色可知, 假手术组肾内小动脉血管内皮细胞规整排列, 内膜光滑, 中层平滑肌细胞无病理性改变。与假手术组相比, 模型对照组肾实质内小动脉血管有病变, 管腔明显缩小变形, 接近闭塞, 内膜纤维素样增生, 中层平滑肌细胞代偿性肥大, 中层明显增厚, 并可见空泡变性。与模型对照组比较, 山麦胶囊高、中剂量组和卡托普利组内皮细胞规整排列, 中层平滑肌细胞无病理性改变, 而低剂量组中层平滑肌细胞则出现肥大和增生。见图 1。方差分析表明, 各组大鼠肾内小动脉腔径 (RAD)、中层厚度 (Mt) 以及腔面积 (Lcsa)

表 2 山麦胶囊对肾性高血压模型大鼠肾内小动脉的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	RAD/ μm	Mt/ μm	Lcsa/ μm^2
假手术	10	-	$21.18 \pm 6.81^{1)}$	$16.33 \pm 2.71^{1)}$	$298.2 \pm 48.0^{1)}$
模型对照	8	-	7.90 ± 3.59	25.08 ± 3.83	93.6 ± 34.3
卡托普利	8	0.007	$19.77 \pm 4.16^{1)}$	$17.11 \pm 2.40^{1)}$	$223.1 \pm 36.4^{1)}$
山麦胶囊	8	1.8	$19.34 \pm 4.58^{1)}$	$17.28 \pm 1.86^{1)}$	$213.4 \pm 50.6^{1)}$
	7	0.9	$16.47 \pm 5.19^{1)}$	$18.85 \pm 4.22^{1)}$	$178.6 \pm 70.4^{1)}$
	6	0.45	$11.44 \pm 3.21^{2)}$	$21.08 \pm 3.63^{2)}$	$145.0 \pm 41.2^{2)}$

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$ 。



A. 假手术组; B. 模型对照组; C. 卡托普利 $0.007 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 山麦胶囊 $1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 山麦胶囊 $0.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; F. 山麦胶囊 $0.45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组 (图 2 同)

图 1 山麦胶囊对高血压模型大鼠肾内小动脉 RAD, Mt, Lcsa 的影响 (HE, $\times 400$)

差异显著。模型对照组的 RAD 和 Lcsa 均明显小于另外 5 组 ($P < 0.05$), 而 Mt 明显大于另外五组 ($P < 0.05$), 见表 2。经 Masson 三色染色显示, 假手术组内外弹力膜呈蓝色, 中层平滑肌细胞呈红色, 中层未呈现明显的间质纤维化, 而模型对照组则中间间质纤维化明显, 呈蓝色并交织成网状, 包绕并镶嵌进红色的平滑肌细胞内; 山麦胶囊高、中剂量组和卡托普利组未出现显著的中层间质纤维化。见图 2。

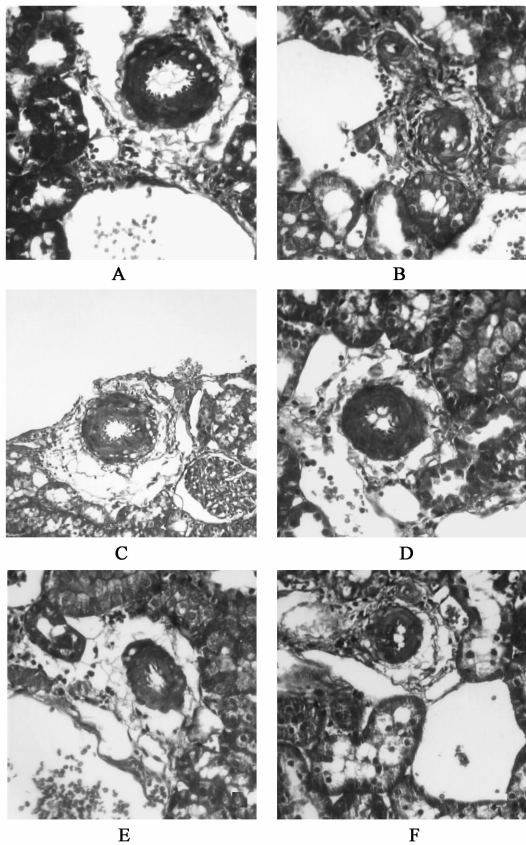


图 2 山麦胶囊对肾内小动脉中层纤维化程度的影响 (Masson, $\times 400$)

4 讨论

血管紧张度反应是小动脉对血管内压力改变而发生自主性收缩的一种内在特性,对于维持小动脉功能有重要作用。血管紧张度的大小与血管内压力关系密切,正常情况下,当压力在一定范围内波动时,小动脉可依据这种特性自动调节压力和血管管径之间的关系,进而保证器官血流量的稳定^[7,11]。而在高血压状态下,微小动脉血管可发生中膜肥厚、收缩反应性升高、血管周围神经支配增强等适应性改变,且由于动脉血管系统的血管跨壁压分布及负荷状态较正常情况下明显不同,这种血流动力学变化必将导致动脉血管进行结构和功能的重建来适应新的血流动力学环境^[12]。本实验研究采用“两肾一夹”法复制肾性高血压模型,术后 4 周大鼠血压明显升高($P < 0.01$);造模成功后给药观察药物对血管重构的抑制作用,结果显示模型对照组肾实质内小动脉血管有明显病变,小动脉管腔明显缩小接近闭塞,内膜纤维素样增生,中层间质纤维化明显,中层平滑肌细胞代偿性肥大,血管壁明显增厚并可见空泡变性。而山麦胶囊给药组尤其是高、中剂量组的肾内小动脉血管内皮细胞规整排列,内膜光滑,中

层平滑肌细胞无纤维化病变。对血压的观察结果显示,山麦胶囊高剂量组能明显降低肾性高血压大鼠的血压($P < 0.01$)。由于山麦胶囊在有效降压的同时亦可抑制肾内小动脉血管重构,提示该药的降压作用与其抑制血管重构作用相关,其机制可能是通过降低血压调节血管紧张度的代偿,保持血管跨壁压恒定,从而保证器官血流量稳定,抑制肾内小动脉血管重构。

ET 主要由血管内皮细胞分泌,是体内最强的血管收缩因子,具有强大的促进平滑肌增殖作用^[13]。ET 分泌异常,肾血流量减少,肾小球滤过率降低会造成肾组织损伤和肾间质成纤维细胞增殖^[14]。此外,ET 通过诱导 $TNF-\alpha$ 、AngII 的产生,进一步加重细胞外基质堆积、中层平滑肌增生和间质纤维化^[15-16]。近年研究已证实,高血压时血管重构过程中致间质细胞生成胶原的主要调控因子是 Ang II、ET 和醛固酮,拮抗这些内分泌因子可对预防血管中层纤维化起到很好的效果^[17]。实验结果显示,山麦胶囊高、中剂量组连续给药 4 周后可明显降低肾性高血压大鼠肾内小动脉血管结构的改变,与模型对照组相比血管内皮细胞规整排列,中层平滑肌细胞无纤维化病变,而山麦胶囊高、中剂量组血浆中 Ang II 和 ET 含量亦明显低于模型对照组($P < 0.01$),提示山麦胶囊可通过拮抗高血压大鼠体内的 Ang II 和 ET 水平,抑制 Ang II、ET 带来的细胞生长和血管中层纤维化病变,可有效预防肾性高血压大鼠肾内小动脉血管重构。

[参考文献]

- [1] 杨向群,陈尔瑜,姜宗来,等. 罗沙坦对自发性高血压肾小动脉重建的逆转作用[J]. 中国药理学通报, 2000,16(4):429.
- [2] 石咏军,马琼英,高鸣,等. 葛根素注射液抑制(延缓)自发性高血压大鼠肾脏血管重塑的实验研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2002,3(7):387.
- [3] Shin E Y, Lee C S, Park M H, et al. Involvement of beta PIX in angiotensin II-induced migration of vascular smooth muscle cells [J]. Exp Mol Med, 2009, 41(6):3876.
- [4] Briones A M, Rodríguez-Criado N, Hernanz R, et al. Atorvastatin prevents angiotensin II-induced vascular remodeling and oxidative stress [J]. Hypertension, 2009, 54(1):142.
- [5] Li Y, Lévesque L O, Anand-Srivastava M B. Epidermal growth factor receptor transactivation by endogenous vasoactive peptides contributes to hyperproliferation of vascular smooth muscle cells of SHR [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 299(6):H1958.

I 型过敏试验动物模型比较研究

帅维维¹, 朱丹凤¹, 蒋宝平^{1,2,3}, 程建明^{1*}

(1. 南京中医药大学, 南京 210029; 2. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 南京 210029;
3. 江苏省名医验方研究与产业化工程实验室, 南京 210029)

【摘要】 目的: 通过观察速发型过敏反应发生时的敏感指标的含量变化, 比较常用于中药注射剂速发型过敏反应的几种动物模型的优劣。方法: ①以卵蛋白为致敏原, 直接对 SD 大鼠、BN 大鼠、豚鼠进行致敏和激发, 通过观察过敏反应的症状, ELISA 法测量血清中的 IgE、组胺、类胰蛋白酶以及 β -氨基己糖苷酶的含量变化。②SD 大鼠皮下注射致敏后的动物血清进行被动皮肤过敏试验, 观察大鼠皮下是否出现蓝斑以及蓝斑面积。结果: ①在致敏和激发途径、注射卵蛋白的剂量、次数、间隔时间相同的情况下, SD 大鼠、BN 大鼠、豚鼠血清中 IgE、组胺、类胰蛋白酶以及 β -氨基己糖苷酶的含量与相应的生理盐水组比较具有显著性的差异。其中豚鼠血清中 IgE、类胰蛋白酶以及 β -氨基己糖苷酶的变化率均高于 SD 大鼠和 BN 大鼠。BN 大鼠血清中的组胺变化率高于豚鼠和 SD 大鼠。②被动过敏试验显示: BN 大鼠卵蛋白组在 SD 大鼠上可造成明显的蓝斑。结论: 仅采用豚鼠作为评价中药注射剂过敏反应的动物模型尚不能完全反映注射剂是否能引起过敏反应, 增加不同品种试验动物以及相关检测指标, 能更加全面的评价中药注射剂的致敏性。

【关键词】 过敏试验; 致敏性评价; 动物模型

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2013)18-0193-05

【doi】 10.11653/syfj2013180193

【收稿日期】 20130428(011)

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81173540); 国家自然科学基金青年基金(81102885); 江苏省中医药局科技项目(LZ11194)

【第一作者】 帅维维, 硕士研究生, 从事中药注射剂过敏反应研究, Tel: 025-86798011, E-mail: wweishuai@126.com

【通讯作者】 * 程建明, 博士, 从事中药新产品开发, Tel: 025-86798011, E-mail: cjm7895@163.com

- [6] 秦秋华, 蒋伟哲, 施晓霞, 等. 肾性高血压大鼠模型制备方法的改进[J]. 广西医科大学学报, 2011, 28(5): 671.
- [7] 柳占彪, 马涛, 贾晓旭, 等. 牛黄降压方对自发性高血压大鼠肾小动脉影响的病理形态观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 122.
- [8] 莫雪妮, 杨益宝, 黄绍湘, 等. 天麻钩藤饮对高血压大鼠血管重构的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 149.
- [9] Foudi N, Louedec L, Cachina T, et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibition directly increases human vascular reactivity to norepinephrine during acute inflammation [J]. Cardiovasc Res, 2009, 81(2): 269.
- [10] Hassoun P M, Mouthon L, Barbera J A, et al. Inflammation, growth factors, and pulmonary vascular remodeling[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(1): 10.
- [11] 林乐健, 唐发宽, 华宁, 等. 自发性高血压大鼠肠系膜小动脉血管肌源性紧张度的时程变化[J]. 生理学报, 2012, 64(1): 62.
- [12] Sonoyama K, Greenstein A, Price A, et al. Vascular remodeling: implications for small artery function and target organ damage [J]. Ther Adv Cardiovasc Dis, 2007, 1(2): 12.
- [13] 宋雪云. 钩藤方提取物对自发性高血压大鼠降压作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 216.
- [14] 唐琳, 张翠翠, 郭青, 等. 血管紧张素 II、内皮素 1 及缺氧诱导因子 1 α 在糖尿病肾病肾组织的表达及意义[J]. 中华肾脏病杂志, 2011, 27(5): 374.
- [15] Debeer V C, Sorop O, Pijnappels D A, et al. Integrative control of coronary resistance vessel tone by endothelin and angiotensin II is altered in swine with a recent myocardial infarction [J]. Heart Circ Physiol, 2008, 294(5): H2069.
- [16] Bemadet-Monrozies P, Rostaining L, Kamar N, et al. The effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the progression of chronic renal failure [J]. Presse Med, 2002, 31(36): 1714.
- [17] 万昕红, 刘晓惠, 李延辉, 等. 安体舒通对左旋硝基精氨酸甲酯(L-NAME)/高盐致高血压大鼠肾内小动脉重塑的影响[J]. 高血压杂志, 2004, 12(4): 335.

[责任编辑 聂淑琴]