

山麦胶囊对肾性高血压大鼠血压的影响

秦秋华¹, 杨昭坚², 谭红妮¹, 周燕^{3*}, 蒋伟哲³, 龙凤鸣⁴

(1. 容县人民医院药剂科, 广西 容县 537500; 2. 容县人民医院神外科, 广西 容县 537500;
3. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 4. 河池市第一人民医院, 广西 河池 546300)

[摘要] **目的:**观察山麦胶囊对用“两肾一夹”法制备的肾性高血压大鼠血压和心肌肥大模型的影响。**方法:**采用“两肾一夹”法制备肾性高血压大鼠模型,并用无创血压测量系统筛选出造模成功的大鼠,随机分为模型对照组(生理盐水,NS)、山麦胶囊高、中、低剂量组(1.8,0.9,0.45 g·kg⁻¹)及卡托普利组(7 mg·kg⁻¹),另设空白对照组(NS),连续 ig 给药 4 周。于造模前、造模后和给药 4 周末测量大鼠血压,并于 4 周末采集大鼠血清和心脏组织标本,用比色法测定血清一氧化氮(NO)含量,酶联免疫法测定血管紧张素 II(Ang II)和内皮素(ET)含量,用精密天平称量全心质量(HW)和左心室质量(LVW),应用病理学方法测定心肌纤维直径(MD)。**结果:**山麦胶囊高剂量能显著降低肾性高血压大鼠的血压($P < 0.01$)和血清 Ang II($P < 0.01$)、ET($P < 0.01$)的含量及 MD($P < 0.01$),同时增加血清 NO 含量($P < 0.05$)。**结论:**山麦胶囊对肾性高血压大鼠有降压作用,可抑制心肌肥大的形成。

[关键词] 山麦胶囊; 两肾一夹; 肾性高血压; 心肌肥大

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0250-04

[doi] 10.11653/syfyj2013120250

Effect of Shanmai Capsules on Blood Pressure in Renovascular Hypertensive Rats

QIN Qiu-hua¹, YANG Zhao-jian², TAN Hong-ni², ZHOU Yan^{3*}, JIANG Wei-zhe³, LONG Feng-ming⁴

(1. Pharmacy of Rongxian People's Hospital, Rongxian 537500, China;

2. Neurosurgery of Rongxian People's Hospital, Rongxian 537500, China;

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

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

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Shanmai capsules on blood pressure and myocardial hypertrophy in renovascular hypertensive rats induced by ‘two-kidney one-clip’ method. **Method:** Renovascular hypertensive models were established in rats by ‘two-kidney one-clip’ method, then the rat models successfully established were chosen by noninvasive blood pressure measurement system and randomly divided into model group (normol saline, NS), the high, middle, low dose group of shanmai capsules (1.8, 0.9, 0.45 g·kg⁻¹, respectively), captopril group (7 mg·kg⁻¹) and normal control group (NS), were all orally for 4 weeks. The blood pressure of rats were measured before, and after modeling as well as at the last day of drug delivery. Serum and heart specimens of rats were collected at the end of the 4 week to determined the levels of nitric oxide (NO), angiotensin II (Ang II) and endothelin (ET). The heart weight (HW) and left ventricular weight (LVW) were measured by precision balance. Remodeling of myocardial fiber diameter (MD) was detected by pathologically method. **Result:** Shanmai capsules at high dose could reduce the blood pressure ($P < 0.01$), MD

[收稿日期] 20120928(015)

[基金项目] 广西自然科学基金项目(桂科自 0991264)

[第一作者] 秦秋华, 硕士研究生, 药师, 从事心血管药理研究, Tel:18778517144, E-mail:yfl1115.student@sina.com

[通讯作者] *周燕, 硕士研究生导师, 副教授, 从事神经及心血管药理研究, Tel:0775-5338180, E-mail:zhouytl@yahoo.com.cn

($P < 0.01$) and the levels of Ang II and ET in serum ($P < 0.01$) obviously, meanwhile, increased NO ($P < 0.05$). **Conclusion:** Shanmai capsules could lower the blood pressure of renovascular hypertensive rats, inhibit the formation of myocardial hypertrophy.

[**Key words**] Shanmai capsules; two-kidney one-clip; renovascular hypertension; myocardial hypertrophy

高血压是世界上最常见的心血管疾病。目前临床上治疗高血压主要以化学合成药为主,山麦胶囊作为中药方剂,无毒副作用。本课题组前期研究表明山麦胶囊具有血管内皮保护作用^[1],提示其可能通过保护心血管系统而具有降压作用。本实验拟观察山麦胶囊对用“两肾一夹”法制备的肾性高血压大鼠降压作用。

1 材料

1.1 药物与试剂 山麦胶囊(南宁多灵生物科技有限公司,批号 20090605,由龙眼参、姜粉、牡蛎、葛根粉、金银花、山楂等中药组成),卡托普利(山德士中国制药有限公司,批号 AK002)(一氧化氮,NO)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20110303),血管紧张素 II (Ang II) ELISA 测定试剂盒、内皮素(ET) ELISA 测定试剂盒(美国 Rapidbio 公司,批号 20110226Q、20110301B)。

1.2 动物 健康雄性 SD 大鼠,体重(180 ± 20)g,由广西医科大学医学实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(桂)2009-0002。

1.3 仪器 ALC-NIBP 型无创血压测定分析系统(上海澳尔科特生物技术公司),CL17R 型低温离心机、MK3 型酶联免疫检测仪(美国 Thermo 公司),722sp 型可见分光光度计(上海棱光技术有限公司),DMR + Q550 型病理图像分析仪(德国 Leica 公司)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 大鼠 50 只,适应性喂养 1 周,于造模前用 ALC-NIBP 无创血压测定分析系统测量各大鼠尾动脉收缩压(SBP)并记录。采用“两肾一夹”法制备肾性高血压大鼠模型^[2]。造模 4 周后,筛选出收缩压(SBP) > 120 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa)且造模后血压比造模前 > 20 mmHg 者为实验用鼠^[3],共 46 只,随机^[4]分为 5 组,分别为模型对照组 10 只,阳性药对照组(卡托普利组)9 只,山麦胶囊高剂量组 9 只,山麦胶囊中剂量组 9 只,山麦胶囊低剂量组 9 只;另有空白对照组 10 只(只游离单侧肾动脉,不做缩窄)。术后 4 周,待大鼠 SBP 稳定后,于给药前再次测定大鼠清醒状态下的 SBP。于第 5 周开始,每日固定时段各组同时 ig 给药 1

次,连续 4 周。模型组和空白组大鼠 ig 等量生理盐水,山麦胶囊高、中、低剂量组分别为 $1.8, 0.9, 0.45$ $g \cdot kg^{-1}$,卡托普利组 7 $mg \cdot kg^{-1}$ 。

2.2 血压测定 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 SBP 并记录。

2.3 血清 NO, Ang II 和 ET 含量的测定 连续给药 4 周末,于最后 1 次给药后 12 h,经颈动脉插管取血,低温离心机 4 $^{\circ}C$ $4\ 000$ $r \cdot min^{-1}$ 离心 10 min,分离血清,放 -80 $^{\circ}C$ 冰箱保存备用。用比色法测定 NO,用酶联免疫法测定 Ang II 和 ET,实验步骤按试剂盒说明书操作。

2.4 心肌纤维重塑指标的测定 取大鼠心脏,用精密天平称量全心质量(HW),剪除心房和右心室,保留左心室(含室间隔),称其质量(LVW),计算全心质量/体重(HW / BW)、左心室质量/体重,即左心室质量指数(LVI)。在左心室长轴中点处垂直方向切取 3~4 mm 厚组织片,用中性甲醛固定,常规制片,片厚 8 μm ,HE 染色,用光学显微镜(400 倍)和 DMR + Q550 图像分析仪观察,每张切片随机选取 5 个视野,测 30 个心肌纤维的直径(MD),取其平均值。

2.5 统计学方法 采用统计软件 SPSS 13.0 软件处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$,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 对高血压模型大鼠血压(SBP)的影响 造模前,大鼠的平均血压为 106.34 mmHg。造模 4 周后,大鼠的平均血压 151.44 mmHg,与空白对照组(106.36 mmHg)比较,血压变化有显著性差异($P < 0.01$)。给药 4 周后,山麦胶囊高剂量组、卡托普利组均产生明显的降压作用,与模型对照组比较,差异明显($P < 0.01$)。配对 t 检验表明,与自身给药前后血压相比较,山麦胶囊高剂量组、卡托普利组均存在显著性差异($P < 0.01$),见表 1。

3.2 对血清 NO, Ang II, ET 含量的影响 模型组大鼠 Ang II, ET 含量均较其他各组高。给药 4 周后,与模型组比较,山麦胶囊高、中剂量组和卡托普利组均能显著降低 Ang II, ET 的生成($P < 0.01$),

明显提高高血压模型大鼠血清 NO 含量 ($P < 0.05$)。而山麦胶囊低剂量组均能不同程度的降低 Ang II, ET 的生成 ($P < 0.01$), 血清 NO 水平亦有所提高, 但无统计学意义。见表 2。

3.3 对高血压模型大鼠心肌肥大模型的影响 山麦胶囊各剂量组和卡托普利组的 HW/BW, LVI 较模型组有所下降, 但无统计学意义。在 400 倍光学显微镜下观察发现, 模型组大鼠的心肌肥大变化最为明显, 胞浆染色加深, 细胞核略增大, 心肌纤维变

粗, 直径(MD)变大。用图像分析仪观察切片可知, 模型对照组大鼠 MD 显著高于其他各组, 山麦胶囊高剂量组和卡托普利组 MD 则较模型组缩小 ($P < 0.01$)。中、低剂量组亦低于模型组 ($P < 0.05$)。方差分析表明, 山麦胶囊高剂量组和卡托普利组与模型组 MD 比较均存在显著性差异 ($P < 0.01$), 说明山麦胶囊高剂量组和卡托普利均能抑制心肌肥大的形成, 抑制幅度分别为 37.95%, 36.54%, 见表 3, 图 1。

表 1 山麦胶囊对肾性高血压大鼠血压的影响 ($\bar{x} \pm s$)

mmHg

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	造模前	造模 4 周后	给药 4 周后
空白对照	-	10	106.70 ± 7.86	106.36 ± 8.47	107.91 ± 7.66 ²⁾
模型对照	-	8	105.82 ± 6.67	150.85 ± 5.43	150.87 ± 5.84
卡托普利	0.007	8	105.68 ± 5.22	151.84 ± 2.09	142.85 ± 5.55 ^{2,4)}
山麦胶囊	1.8	8	107.18 ± 5.86	151.80 ± 1.97	141.52 ± 6.04 ^{2,4)}
	0.9	7	106.34 ± 8.66	151.94 ± 1.45	147.88 ± 4.00
	0.45	6	106.71 ± 6.58	150.86 ± 7.40	149.08 ± 4.04

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;自身给药前后血压比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

表 2 山麦胶囊对高血压模型大鼠 NO, Ang II, ET 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	NO/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Ang II/ng·L ⁻¹	ET/ng·L ⁻¹
空白对照	-	10	36.71 ± 8.31	555.26 ± 106.25 ²⁾	69.10 ± 10.03 ²⁾
模型对照	-	8	25.31 ± 4.93	981.93 ± 174.45	169.69 ± 27.15
卡托普利	0.007	8	54.96 ± 15.76 ²⁾	639.57 ± 150.79 ²⁾	93.96 ± 14.11 ²⁾
山麦胶囊	1.8	8	40.76 ± 13.76 ¹⁾	642.28 ± 153.39 ²⁾	98.17 ± 8.91 ²⁾
	0.9	7	35.14 ± 3.20	736.35 ± 167.54 ²⁾	118.78 ± 20.43 ²⁾
	0.45	6	34.78 ± 14.35	847.76 ± 64.24	126.65 ± 17.45 ²⁾

表 3 山麦胶囊对高血压模型大鼠心肌肥大模型的影响 ($\bar{x} \pm s$)

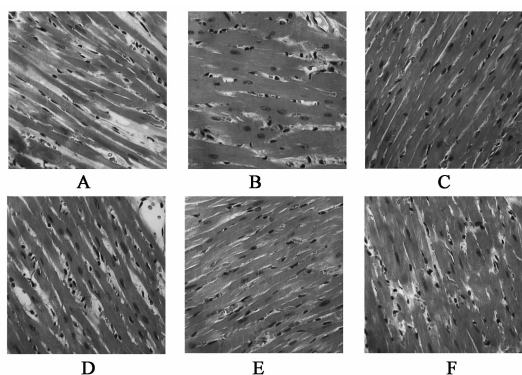
组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	HW/BW/mg·g ⁻¹	LVI/mg·g ⁻¹	MD/ μm
空白对照	-	10	3.20 ± 0.13 ¹⁾	1.58 ± 0.22 ²⁾	9.08 ± 0.62 ²⁾
模型对照	-	8	3.81 ± 0.50	1.96 ± 0.38	14.89 ± 1.03
卡托普利	0.007	8	3.58 ± 0.53	1.82 ± 0.07	9.45 ± 0.66 ²⁾
山麦胶囊	1.8	8	3.50 ± 0.41	1.80 ± 0.25	9.24 ± 0.57 ²⁾
	0.9	7	3.54 ± 0.49	1.85 ± 0.22	10.38 ± 0.41 ¹⁾
	0.45	6	3.68 ± 0.26	1.85 ± 0.26	11.92 ± 1.01 ¹⁾

4 讨论

“两肾一夹”法是实验中最常用的高血压模型制备方法。本实验建立的大鼠高血压左心室肥厚模型,就是通过丝线缩窄大鼠单侧肾动脉,促使肾动脉的血流通过减少,导致肾脏缺血,调动体内负反馈调节,从而激活 RAAS 系统,加重心脏的后负荷,导致动脉压升高及左心室肥厚^[6]。此模型的特点是可

操作性强、造价低、模型稳定可靠,大鼠血压从造模后第 2 周开始稳定持久的上升,并在第 4 周达到稳定的高水平,与造模前相比,血压至少升高 40 mmHg,高血压形成率达 92%,证明该模型的建立方法是成功的。

在高血压患者和高血压动物模型中都出现了血管舒张功能降低和收缩功能增加,其中 NO, ET 是一



A. 空白对照组;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1 山麦胶囊对高血压模型大鼠

心肌纤维细胞 MD 的影响(HE 染色, $\times 400$)

对重要的舒张血管因子和收缩血管因子^[7]。动脉血管壁 NO 浓度的降低是导致内皮血管功能损伤的重要原因,内皮细胞损伤后,血管通透性增大,大分子物质如低密度脂蛋白、胰岛素等进入血管壁,血管壁结构发生变化,导致血压升高,进而形成高血压^[8]。ET 是目前所知道的体内最强的血管收缩因子,缩血管作用比 Ang II 强 10 倍,比去甲肾上腺素强 1 000 倍^[9]。近年来研究表明,缩血管物质 Ang II 是介导牵张引起的心肌重构的重要物质,Ang II 不仅可通过 AT_1 受体介导刺激心肌纤维细胞合成胶原蛋白,导致心肌细胞肥大,还可使内皮型一氧化氮合酶(eNOS)磷酸化,从而减少 NO 合成,介导 ET 生成增多^[10],ET 又可诱导 Ang II 的产生^[11]。因此,NO,ET,Ang II 和心肌肥大之间存在相互作用的关系,ET 和 Ang II 相互促进,NO 与 ET,Ang II 的拮抗效应的平衡是维持血管基础张力的关键。

本实验研究结果表明,山麦胶囊能够降低肾性高血压大鼠的血压,与模型对照组相比,山麦胶囊给药组尤其是高剂量组血清中的 Ang II 和 ET 含量、心肌纤维直径(MD)显著低于模型组;另一方面,高剂量组血清中的 NO 含量明显高于对照组。提示山麦胶囊可通过提高肾性高血压大鼠体内 NO 及降低 Ang II,ET 水平,降低血压的同时拮抗并逆转心肌细胞发生肥大作用。

与促进内源性舒血管物质的生成相比,山麦胶囊在抑制内源性缩血管物质方面更为明显,提示山

麦胶囊可能通过降低体内的内源性缩血管物质水平,进而降低肾性高血压大鼠的血压。Ang II,ET 等血管活性物质可通过调节血管张力导致血管内膜肥厚和血管平滑肌肥厚,致使血管管腔变小,血流压力随之升高;另一方面,Ang II,ET 参与调控心肌细胞,使之胶原基因的表达增强,心肌细胞胶原合成明显增加,致使心肌细胞发生肥大。山麦胶囊可通过降低体内内源性缩血管物质的水平,改善血管中膜间质纤维化,进而改善血管内膜肥厚,同时阻断细胞的胶原合成增加,改善心肌肥大和左室肥厚,进而保护心脏组织。随着研究的深入,山麦胶囊将为临床治疗高血压提供一条新思路。

【参考文献】

- [1] 施晓霞. 复方龙眼参散对动脉粥样硬化的干预机制研究[D]. 西宁:广西医科大学,2011:44.
- [2] 王文靖,潘毅,杨涛. 两肾一夹型高血压大鼠模型的改良及评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,8(1):203.
- [3] 顾德官,顾天华,宋代军,等. 试验性高血压大鼠的血压观察[J]. 上海第二医学院学报,1985,5(2):102.
- [4] 倪少凯,戴世忠. 用 Excel 快速实现组间样本量平衡的随机分组方法[J]. 广东医学院学报,2002,20(3):242.
- [5] 莫书荣,黄仁彬,邝晓聪,等. 实验生理科学[M]. 3版. 北京:科学出版社,2009:44.
- [6] Salguero G, Akin E, Templin C, et al. Renovascular hypertensive by 'two-kidney one-clip' enhances endothelin progenitor cell mobilization in a P_{47} phox-dependent manner[J]. Hypertens, 2008,26(2):257.
- [7] 张志伟,岳桂华. 益气活血解毒方对自发性高血压大鼠血管内皮功能保护作用的研究[J]. 中国药房,2012,23(3):200.
- [8] 李毅,秦俭. 血管内皮功能的研究进展[J]. 检验医学与临床,2010,7(13):1391.
- [9] 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.
- [10] 赵凌杰,商玮,蔡辉. 血管紧张素 II 在心肌纤维化形成中的作用[J]. 中国微循环,2004,8(1):5.
- [11] 甘金莲,樊有赋,陈晔,等. 内皮素的特性与生理病理作用[J]. 生物学教学,2009,34(4):2.

【责任编辑 李玉洁】