

天麻钩藤饮对高血压大鼠血管重构的影响

莫雪妮*, 杨益宝, 黄绍湘, 刘钧超
(广西中医学院附属瑞康医院, 南宁 530001)

[摘要] 目的:观察天麻钩藤饮对二肾一夹型(G-2K1C)高血压大鼠内皮素及重构的大中小动脉的影响并探讨其作用机制。方法:通过狭窄SD大鼠左肾动脉造成G-2K1C型高血压大鼠模型,以天麻钩藤饮加减($3.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)及培哌普利($1.54\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)进行干预8周,(单用及合用)测定大鼠血压、观察大鼠血浆内皮素(ET)及大鼠大、中、小动脉的病理变化。结果:与模型组比较,药物干预1月后,各组大鼠血压均有明显下降;治疗8周后,各治疗组大鼠血浆ET水平降低($P<0.01$);以合用组最明显;合用组对大鼠中小动脉的病变改善最显著。结论:长时间给药,天麻钩藤饮合培哌普利及两药单用对降低G-2K1C大鼠血压无明显差异;但对于降低血浆ET水平和中小血管病理的改变,两种药物合用疗效较为显著。

[关键词] 高血压;血管重构;天麻钩藤饮;内皮素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0149-04

高血压的主要病理变化之一是血管结构的改变,表现为:血管壁中膜平滑肌细胞肥大、增殖,结构重排和结缔组织含量增加,称为血管重构(vascular remodeling, VR)^[1]。现已证明,高血压病人VR几乎波及所有的组织器官,尽管治疗期间血压可以降至正常范围,但其血流储备却难恢复正常;这可以解释为什么血压已得到良好控制,而高血压病伴发的大脑肾等靶器官的损害尚未得到明显改善的原因。鉴于此现象,治疗高血压对逆转VR的研究已成为血管生物学的热点之一,同时也提出了高血压等治疗新观念——血管保护。现代医学认为高血压血管重构机制复杂,与内皮收缩因子释放增加,对神经激素的收缩反应增强及对代谢产物的舒张反应减弱有关。我们就天麻钩藤饮加培哌普利治疗高血压对血浆内皮素(ET)及VR的病理影响作研究。

1 材料与方 法

1.1 药物 培哌普利片(法国雅施达药厂)批号3M2268,临床成人剂量为 $4\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ 。大鼠剂量选用 $1.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (约为4倍等效剂量)。灌胃时以蒸馏水配至所需浓度。天麻钩藤饮加味(广西中医学院专家门诊药房)成人日用量为天麻10g,钩藤15g,石决明^{先煎}20g,黄芩10g,栀子10g,牛膝15g,杜

仲10g,桑寄生10g,益母草10g,夜交藤10g,茯神10g,夏枯草10g,大鼠ig剂量为生药 $3.6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2 试剂 内皮素(ET-1)放射免疫分析试剂盒,北京科美东雅生物技术有限公司,批号040925。

1.3 仪器设备 大鼠肾动脉缩窄小环:内径 $0.02\sim 0.024\text{ mm}$ ^[2];鼠尾测压仪:湖南中医学院生产;多道生理记录仪(SJ-41型),上海医用电子仪器厂生产;台式高速低温离心机(BioEuge stratos 2002型)德国产;彩色图像分析系统(NYD-1000型)美国产。

1.4 动物及分组 清洁级SD大鼠72只,雄性,3月龄,体重(200 ± 20)g。由广西医科大学动物实验中心提供,许可证号SCXK(桂)2003-0003。随机分成5组,培哌普利+中药(合用组18只),培哌普利组(18只),加味天麻钩藤饮组(18只),模型组(9只),假手术组(9只)。

1.5 造模 SD大鼠术前3d测血压,用1%戊巴比妥钠 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ip麻醉,右侧位固定于鼠台上,在触诊肾脏与脊柱平行方向切开皮肤 $1.5\sim 2.0\text{ cm}$ 。逐层分离,暴露肾脏,于腹膜后仔细分离肾动脉,在肾动脉自主动脉分叉处放置已制备好的小环,并用棉线扎住小环,依次缝合肌肉和皮肤。术后2d内每天ip青霉素 $10\sim 12$ 万u。术后4周血压较术前升高 30 mmHg 和/或达 140 mmHg 为造模成功。假手术组同样分离肾动脉,但不放置小环,依次缝合皮肤。

1.6 分组给药 造模成功后即开始给药,分别为加味天麻钩藤饮 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ +培哌普利片 $1.54\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (合用组)ig;培哌普利片 $1.54\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ig;加味

[收稿日期] 2010-11-25

[通讯作者] *莫雪妮,主治医师,硕士,从事中西医结合治疗心血管疾病研究, Tel: 13877116619, E-mail: moxueni0000@163.com

天麻钩藤饮 10 mL·kg⁻¹ ig;模型组,假手术组生理盐水 ig;1 次/d,共 8 周。

1.7 指标检测及方法

1.7.1 测血压 测量大鼠清醒安静状态下尾动脉血压,采用杨绿化等^[2]报道的尾动脉搏动法测定,于造模前 3 d,造模术后 4 周,给药 4,8 周末各测 1 次,用 40 °C 温水浸泡鼠尾 5 min 后测量,每只重复测 8 次,取平均值。

1.7.2 ET 测定 给药 8 周后,抽取空腹静脉血 2 mL,注入含有 7.5% DETA-Na₂ 30 μL、抑肽酶 40 μL 的试管中,混匀,4 °C 下 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,分离血浆置 -20 °C 冰箱待测 ET,操作步骤按试剂盒说明书。

1.7.3 大鼠动脉病理标本采集 大鼠用水合氯醛(0.3 g·kg⁻¹, ip)麻醉,立即分离腹主动脉、右肾动脉、肠系膜 3 级小动脉,用 10% 中性福尔马林固定,4 °C 放置 24 h,0.1 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液冲洗,常规包埋,4 μm 制片,HE 染色, Olympus (B4-2) 光镜观察,并用彩色图像分析系统进行形态学分析。

1.8 统计学方法 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异及两两比较用 *q* 检验,动脉组织病理学检查采用秩和检验,使用华西医科大学的 PEMS 3.1 统计软件。

2 结果

实验过程中,模型组动物死亡 1 只,经解剖系灌胃误入气管导致死亡。

2.1 对模型大鼠血压的影响 造模前各组大鼠血压无显著差异。造模 4 周测血压,高于术前 30 mmHg,且高于 140 mmHg,为模型复制成功。药物干预 8 周后,干预组血压均明显下降,与模型组比较 *P* < 0.01,差异有显著性。合用组与培哌普利组比较,差异无显著性,血压已降至正常。见表 1。

2.2 对模型大鼠血浆 ET 含量的影响 给药 8 周后,各给药组大鼠血浆 ET 水平比模型组明显降低 (*P* < 0.01),其中合用组疗效优于培哌普利组、优于加味天麻钩藤饮组,合用组与假手术组比已无显著性差异。见表 2。

表 1 天麻钩藤饮对模型大鼠的血压影响 ($\bar{x} \pm s$)

mmHg

组别	<i>n</i>	剂量/g·kg ⁻¹	血压		
			造模后	给药 4 周	给药 8 周
合用	18	1.54 × 10 ⁻³ + 3.6	171 ± 15.40	110 ± 9.27 ^{2,4)}	99 ± 5.95 ^{2,4)}
培哌普利	18	1.54 × 10 ⁻³⁾	172 ± 10.91	126 ± 9.78 ^{2,4)}	106 ± 6.53 ^{2,4)}
加味天麻钩藤	18	3.6	165 ± 12.55	137 ± 22.27 ^{2,4)}	128 ± 7.48 ^{2,4)}
模型	8	-	167 ± 18.51	162 ± 11.60	162 ± 4.07
假手术	9	-	105 ± 5.59	108 ± 8.10	108 ± 5.79

注:与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01;与假手术组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01(表 2 同)。

表 2 G-2K1C 大鼠给药 4 周后血浆 ET 的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量/g·kg ⁻¹	ET/pg·L ⁻¹
合用	18	1.54 × 10 ⁻³ + 3.6	59.23 ± 5.58 ^{2,5,6)}
培哌普利	18	1.54 × 10 ⁻³⁾	71.86 ± 10.37 ^{1,4)}
天麻钩藤饮	18	3.6	75.59 ± 11.96 ^{1,3)}
模型	8	-	93.88 ± 9.95
假手术	9	-	52.81 ± 7.56

注:合用组与培哌普利组比较⁵⁾ *P* < 0.05;合用组与天麻钩藤饮组比较⁶⁾ *P* < 0.05。

2.3 大鼠动脉病理形态学观察

2.3.1 大动脉改变 腹主动脉 假手术组 (*n* = 9):所有标本管壁厚,内弹力膜丰富,内膜上可见内皮细胞、平滑肌细胞环绕管壁平行排列,未见增生和排列紊乱,外膜未见异常。模型组(8 例):3 例标本管壁仍厚,内弹力膜与平滑肌的厚度比例与正常组比,无明显改变。5 例平滑肌细胞排列紊乱,部分细

胞体积肥大,内弹力膜部分存在交叉排列现象,外膜未见明显异常。培哌普利 + 中药组(18 例):全部标本内弹力膜与平滑肌的厚度比无明显改变,内弹力膜清晰,平滑肌细胞排列稍紊乱,外膜未见异常。结论:假手术组、模型组和合用组的大动脉 3 者比较,仅模型组平滑肌细胞排列稍紊乱外,余未见明显异常改变。

2.3.2 中动脉改变 右肾动脉 假手术组(9 例):9 例标本血管壁横截面厚薄均匀,内外弹力膜清晰可见;所有标本中膜平滑肌细胞排列整齐,未见增生和坏死。模型组(8 例):所有标本血管壁明显增厚,壁/腔比变大,5 例内膜的内皮细胞增生,局部呈乳头状增生突向管腔,中膜平滑肌细胞增生排列紊乱及基质增宽,部分细胞固缩。合用组(18 例):所有

标本管壁均匀,仍厚,但与模型组比较,壁腔比变小,平滑肌细胞未见明显增生,部分细胞肥大,排列稍紊乱,内外膜与假手术组相比未见明显改变。结论:模型组与假手术组比较管壁明显增厚。主要是由于中膜平滑肌重构引起,其次是由于内膜病变引起,经培哌普利+天麻钩藤饮组治疗后有明显形态学的改变。

2.3.3 小动脉改变 肠系膜下动脉 假手术组 ($n=9$):所有标本管壁稍厚,内皮细胞排列整齐,内弹力膜清晰可见,中膜平滑肌细胞围绕管腔平行排列,未见细胞及基质增生。模型组($n=8$):所有标

本管壁增厚,3例血管内皮细胞(含基质膜)向管腔内呈乳头增生,内皮细胞排列紧密,5例可见部分内皮细胞脱落,部分血管可见内膜下间质疏松水肿;中膜平滑肌细胞轻度增生,部分细胞变性(嗜酸性增强),排列紊乱,基质增生,但未见细胞肥大。合用组($n=18$):所有标本管壁变薄,壁腔比变小(与模型组比),未见内皮细胞增生,中膜平滑肌细胞未见增生和肥大。结论:模型组与假手术组比较:管壁明显增厚,主要是由于内皮细胞增生及中膜平滑肌细胞重构引起。合用组与假手术组比较,改变不明显。见图1。

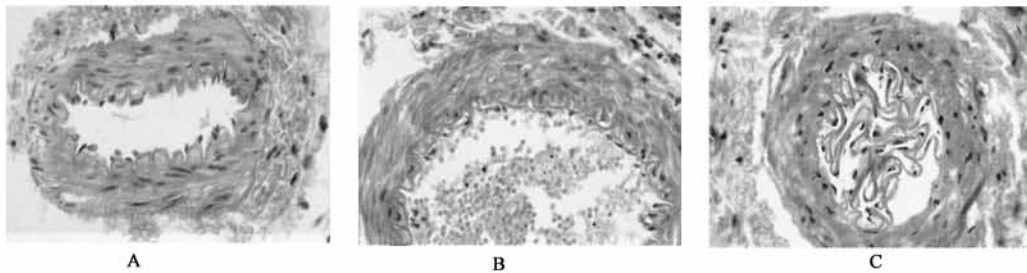


图1 各组大鼠肠系膜下动脉病理形态的变化(HE, $\times 40$)

A. 假手术组; B. 模型组; C. 天麻钩藤饮+培哌普利组

3 讨论

天麻钩藤饮出自《杂病证治新义》,由天麻,钩藤,石决明,牛膝,杜仲,茯神,夜交藤等10余味中药组成,被认为是中医治疗高血压病的名方,是治疗高血压病肝阳上亢的经典方。现有研究表明高血压病血管重构的过程可大致分为4个环节,即信号的感受、信号的转导、调节因子的释放和血管结构的变化。除异常动力因素之外,血液循环中的血管紧张素II、ET、血栓素、炎症因子、黏附因子、氧化低密度脂蛋白、脂蛋白(a)和高血糖等诸多因素均可作为信号、被感受器(主要是内皮细胞)感受,再通过多种信号转导途径转导至其他感受器和效应器,进而释放调节因子如生长因子、血管活性物质、细胞因子和基质调节因子等,引起血管结构和功能的变化;同时,调节子又可作为反馈信息,与感受器及信号发生作用,而调节子之间又可相互作用。以上4环节之间形成复杂的网络调控关系,调控血管重构的发生发展过程^[3]。天麻钩藤饮方中的钩藤具有较明显的降压作用,其降压特点是先降压,继之快速升压,然后持续下降。降压原理主要是直接和反射性的抑制

了血管运动中枢,以及阻滞交感神经及其神经节,使外周血管扩张,阻力降低;另外钩藤还通过抑制细胞内 Ca^{2+} 释放,产生直接扩血管作用,无内膜依赖性,又不影响血管内皮松弛因素,抑制内皮细胞的自由基增生,保护内皮功能^[4]。现已证明,ET对不同血管平滑肌细胞及系膜细胞有增殖作用,在盐型高血压大鼠,其血管肥大极严重,中层明显肥厚,为ET-1基因过度表达^[1]。同时盐型高血压大鼠和人严重高血压内皮损伤和重度高血压也会促使血管ET-1基因表达增加,并进入促升压和血管损伤的恶性循环^[5]。本研究结果提示天麻钩藤饮可以改善G-2K1C高血压大鼠中动脉、小动脉的血管重构现象。认为其机制可能与其降低血管局部组织ET的含量,从而抑制平滑肌细胞的增殖以及降压的保护机制有关。对大动脉的改善不明显,分析可能与用药时间较短有关。合用培哌普利(ACE-I)干预,也可使血管平滑肌对ET-1反应减低回复正常,提示它可能存在选择性使ET-1受体或信息传递改变的作用,使平滑肌细胞表型逆转回正常有关。其具体机制有待进一步的深入研究。

温胆汤对精神分裂症模型鼠海马谷氨酸和 N-甲基-D-天冬氨酸受体亚单位表达的影响

杨翠萍¹, 蔡长春², 杨晓金³, 万红娇^{1*}, 肖纯¹

(1. 江西中医学院, 南昌 330004;

2. 江西九江学院附属医院, 九江 332000;

3. 南昌大学医学院 2010 级研究生, 南昌 330006)

[摘要] 目的: 观察温胆汤对精神分裂症模型鼠海马谷氨酸(Glu)和 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体亚单位表达的影响。方法: 将 30 只 SD 大鼠, 随机分 3 组, 每组 10 只, 分别为正常组(A)、模型组(B)及温胆汤组(C), A, B 组 ig 生理盐水 20 mL·kg⁻¹, C 组 ig 温胆汤 20 g·kg⁻¹, 每天 1 次, 21 d 后地卓西马来酸盐(MK801) ip 诱发精神分裂症, 造模 3 d 后, 4 ℃ 4% 多聚甲醛磷酸盐缓冲液灌注固定、制备脑组织切片, 免疫组化染色, 观察各组大鼠海马 NMDA 受体 NR1、NR2B 亚单位的表达并进行病理评分。结果: 正常组评分为“-”, 模型组评分为 13+, 温胆汤组为 8+。与模型组比较, 差异有显著性(P<0.05)。各组大鼠海马 NMDA 受体 NR1、NR2B 亚单位的表达存在差异, 模型组海马细胞 Glu 降低, NMDA 受体代偿性增高, 呈强阳性反应; 正常组和温胆汤组呈弱阳性反应的趋势。结论: 温胆汤能调节离子型谷氨酸受体的表达水平, 对精神分裂症模型鼠海马的病理损伤有一定的保护作用。

[关键词] 温胆汤; 精神分裂症; 谷氨酸; N-甲基-D-天冬氨酸

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0152-04

Effect of Wendan Decoction on Receptor of Glutamic Acid and N-methyl-D-aspartate in Rats with Schizophrenia

YANG Cui-ping¹, CAI Chang-chun², YANG Xiao-jin³, WAN Hong-jiao^{1*}, XIAO Chun¹

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Affiliated Hospital of Jiujiang University, Jiujiang 332000, China;

3. 2010 Postgraduate of Medical School of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

[收稿日期] 20100612(003)

[第一作者] 杨翠萍, 讲师, 医学硕士, 主要从事中医药与免疫学研究, Tel: 13767055480, E-mail: yangcui ping2@sina.com.

[通讯作者] * 万红娇, 教授, 医学博士, 主要从事方剂学研究, Tel: 13576296677, E-mail: ann.wan@163.com.

[参考文献]

- [1] 曾洒宇, 秦旭平. 血管重构及其药物治疗[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(5): 769.
- [2] 杨绿化, 李云霞. 无创测量大鼠收缩压和舒张压的新仪器和新方法[J]. 中国应用生理学杂志, 1991, 7(1): 62.
- [3] Brekken R A, Sage E H. SPARC, a matricellular protein: at the crossroad of cell-matrix communication [J]. Matrix Biol, 2001, 19(8): 156.

- [4] Zhang W B, Chen C X, Sim S M, et al. *In vitro* vasodilator mechanisms of the indole alkaloids rhynchophylline and isorhynchophylline, isolated from the hoo of *Unearia rhynchophylla* (Miquel) [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2004, 369(2): 232.
- [5] Qin X P, Ye F, Hu C P. Effect of calcitonin gene-related peptide on angiotensin II-induced Proliferation of rat vascular smooth muscle cells [J]. Eur J Pharmacol, 2004, 488(1/3): 45.

(责任编辑 何伟)