

决明子水提液对高血压小鼠血压血脂及肾脏结构的影响

潘正军^{1*}, 陆祈, 潘丽, 徐璇璇, 庞金水
(淮阴师范学院生命科学学院, 江苏 淮安 223300)

[摘要] 目的: 检测决明子水提液对冷激诱导的高血压小鼠血压、血脂及肾脏结构的影响。方法: 制备决明子水提液备用。实验小鼠分为正常对照组、冷激对照组、冷激决明子饲喂组(5, 10, 20 mg·kg⁻¹), 对照组相应给予等量生理盐水, 连续饲喂 18 d。检测各组小鼠血压、血脂含量, 切片观察肾脏结构。结果: 冷激对照组血压显著高于正常对照组($P < 0.01$), 决明子水提液饲喂组小鼠的收缩压、舒张压、平均动脉压与正常对照组相比, 差异不显著。冷激对照组(TG)含量显著高于正常对照组($P < 0.01$), 而冷激饲喂组(TG)含量明显降低($P < 0.05$); 冷激饲喂(10, 20 mg·kg⁻¹)组 TC 含量降低($P < 0.05$); 冷激饲喂(10 mg·kg⁻¹)组 LDL 与 HDL 含量均降低, 其他饲喂组与冷激对照组相比含量虽有降低但无统计学意义。冷激对照组肾小管管壁水肿, 内腔极度缩小, 肾小球明显胀大, 肾小囊腔显著变窄, 决明子饲喂组肾小管水肿基本消失, 内腔明显增大, 肾小球、肾小囊结构趋于正常。结论: 决明子水提液具有降血压、降血脂、改善病变肾脏结构的作用。

[关键词] 决明子; 高血压小鼠; 血压; 血脂; 肾脏

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0203-04

Effects of Aqueous of *Cassia obtusifolia* on Blood Pressure, Blood Lipid and Renal Structure of Cold-induced Hypertensive Mice

PAN Zheng-jun^{*}, LU Qi, PAN Li, XU Xuan-xuan, PANG Jin-shui
(School of Life Science, Huaiyin Normal University, Huai'an 223300, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of aqueous extracts of *Cassia obtusifolia* on blood pressure, blood lipids, and kidney structure in cold-induced hypertensive mice. **Method:** *C. obtusifolia* water extracts was made. Mice were divided into normal control group, cold-stress control group, and cold-stress feeding groups (5, 10, 20 mg·kg⁻¹·DW), The control groups were given physiological saline as the control. After 18 days, blood pressure was measured by carotid intubation and the contents of serum triacylglyceride (TG), total cholesterol (CHO), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL) were also detected. Mice's kidney were observed by routine histology inspection. **Result:** The blood pressure of cold-stress control group increased significantly compared with normal control group ($P < 0.01$). Cold-stress feeding groups' systolic pressure, diastolic pressure and mean arterial pressure were not evident compared with normal control group. The content of TG in cold-stress control group increased than it in normal control group ($P < 0.01$), and the content of TG, TC in cold-stress feeding groups decreased compared with cold-stress control group ($P < 0.05$). The content of LDL and HDL in cold-stress feeding group (10 mg·kg⁻¹) decreased compared with cold-stress control group ($P < 0.05$), and the others had no statistical significance compared with cold-stress control group. Renal histologic changes caused by cold-stress show severely enlarged glomeruli, narrowed Bowman's spaces, and renal tubule edema. Nephrons of the cold-stress feeding groups were similar to the control group. **Conclusion:** The *C. obtusifolia* water extracts possesses the effects of decreasing blood pressure and modulating blood lipid contents and improving

[收稿日期] 20100719(004)

[通讯作者] * 潘正军, 硕士, 副教授, 主要从事动物生物学教学和研究, Tel: 0517-83525993, Fax: 0517-83525992, E-mail: zhengjunpan@

163.com

pathological changes of renal structure.

[Key words] *Cassia obtusifolia*; hypertensive mice; blood pressure; blood lipids; kidney

决明子为豆科植物决明 *C. obtusifolia* L. 或小决明 *Cassia tora* L. 的干燥成熟种子。决明子为常用中药, 始载于《神农本草经》, 为《中国药典》2010 年版一部收载品种, 具有清肝明目、润肠通便的作用。现代药理学研究表明其还具有降血压^[1]、降血脂^[2]、保肝^[3]、抗氧化^[4]、抗衰老^[5]、抑菌^[6]和增强免疫力^[7]等活性。同时决明子又是既可作药品又可作食品的中药, 民间习惯作为咖啡代用品, 近年来其保健功能也日益受到人们的重视。将实验动物反复置于低温条件下进行寒冷刺激可诱发实验性高血压^[8]及肾脏结构改变^[9]; 世界卫生组织的一份报告表明, 中国北方(寒冷)高血压的发生率显著高于南方地区^[10]。说明寒冷刺激可能是引起高血压的因素之一。作者建立了冷激诱导的小鼠高血压模型^[11], 该模型是非遗传、非药物性、无手术干预的, 更接近人类高血压发病的特点。用决明子水提液模仿人们茶饮方式, 检测其对高血压小鼠血压、血脂含量及肾脏结构的影响, 为临床用药和新药开发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 ICR 小鼠(清洁级), 雄性, 60 只, 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司, 合格证号 SCXK(沪)2007-0005. 25 饲养 1 周后开始实验。

1.2 决明子 购于淮安市天颐医药公司(特级, 产地: 宁夏中宁县)。经本院罗玉明教授鉴定为豆科植物决明 *C. obtusifolia* 的干燥成熟种子。

1.3 仪器 BL-420F 生物机能实验系统, PT-100 生物血压传感器(成都泰盟科技有限公司), TBA-120FR 全自动生化分析仪(TOSHIBA), 250D 数显光照培养箱(上海佳胜实验设备有限公司), TGL-16 台式高速离心机(上海安亭科学仪器厂), 电子天平(0.000 1 g, 北京赛多利斯仪器系统有限公司), YD-202A-III 型电脑快速冷冻、石蜡两用切片机(浙江金华市益迪医疗设备厂), 小鼠灌胃器(张家港市生物医学仪器厂), 电热恒温水浴锅(HH. S21-6)、电热鼓风干燥箱(101-3AS, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂), Olympus BX51 生物显微镜、Olympus C-7070 数码相机(日本)。

1.4 试剂 质量分数为 20% 的氨基甲酸乙酯, 0.9% 的氯化钠, 3.8% 的柠檬酸三钠, 无水乙醇, 苏

木色精, 曙红 Y(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司), 切片石蜡(上海华永石蜡有限公司), 质控血清、校准血清(上海丰汇医学科技有限公司)。

1.5 药物制备 决明子水提液制备 取决明子 100 g, 加入 1 000 mL 蒸馏水, 浸泡 30 min, 加热至沸腾, 煎煮 60 min, 倒出药液; 残渣再加入 1 000 mL 蒸馏水, 加热至沸腾煎煮 60 min。合并 2 次药液, 过滤、浓缩定容至 500 mL 滤液, 制成相当于 200 g·L⁻¹ 的决明子水提液, 冷却后 4℃ 保存备用, 临用前蒸馏水按比例稀释。

1.6 方法 将小鼠编号, 按随机数字表法把小鼠随机分为 5 组, 每组 12 只。正常对照组 25 饲养; 冷激对照组, 冷激决明子饲喂各剂量组每天上午 8 00—12 00 置于(4 ± 20)℃ 光照培养箱中, 随后取出放回 25℃ 环境中(各剂量组分别于每日 16 00 灌胃 5, 10, 20 mg·kg⁻¹ 决明子水提液, 正常对照组、冷激对照组每天灌胃等量生理盐水作对照); 所有组别正常投喂饲料, 饮自来水。

18 d 后按 5 mL·kg⁻¹ 体重腹腔注射质量分数 20% 氨基甲酸乙酯将小鼠麻醉, 颈动脉插管法测量并记录血压。随即剪断颈动脉放血, 用 1.5 mL 离心管收集, 置 4℃ 冰箱 15 ~ 30 min, 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取血清 - 20℃ 冰箱保存, 以备检测血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)含量。随即剖腹取小鼠肾脏, 迅速投入 4% 多聚甲醛固定 24 h, 梯度乙醇脱水至体积分数 70% 的乙醇, 冷冻保存。肾脏按常规石蜡切片操作, 6 μm 切片, HE 染色, 中性树脂封片, 55℃ 干燥 48 h, 镜检、拍照。

1.7 统计学方法 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 15.0 统计分析软件对各组数据进行 *t* 检验, 以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠血压值比较 见表 1。各组间体重、心率比较无统计学意义; 小鼠经寒冷刺激后血压显著升高, 与正常对照组相比 *P* < 0.05, 差异有统计学意义。决明子水提液饲喂各剂量组小鼠的收缩压、舒张压、平均动脉压与正常对照组相比, 差异不显著。说明决明子水提液对高血压小鼠有明显的降压

效果,但是在实验浓度范围内没有体现出用药剂量与降压幅度的关系。

2.2 对照组与实验各组小鼠血脂含量比较 见表

2。寒冷刺激后冷激对照组 TG 含量显著高于正常对照组 ($P < 0.05$), 而冷激饲喂组 TG 含量明显降低 ($P < 0.05$); 冷激饲喂 ($10, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组 TC 含量

表 1 各组小鼠血压值比较 (1 mmHg = 0.133 kPa, 聊 ± s)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	体重 / g	心率 / min^{-1}	最大收缩压 / mmHg	最小舒张压 / mmHg	平均动脉压 / mmHg
正常对照	-	10	39.22 ± 2.17	591.44 ± 58.67	79.13 ± 6.42	70.63 ± 4.27	74.88 ± 5.67
冷激对照	-	10	40.60 ± 2.22 ¹⁾	540.50 ± 79.84 ¹⁾	91.50 ± 8.81 ¹⁾	82.40 ± 9.82 ¹⁾	86.80 ± 8.40 ¹⁾
决明子水提液	5	9	40.67 ± 3.32 ¹⁾	622.78 ± 77.98 ¹⁾	78.89 ± 14.33	68.89 ± 14.25	74.78 ± 14.22
	10	10	39.70 ± 2.26 ¹⁾	577.10 ± 57.91 ¹⁾	79.90 ± 10.21	67.80 ± 10.9	72.10 ± 9.87
	20	11	40.92 ± 2.97 ¹⁾	585.75 ± 62.16 ¹⁾	76.08 ± 10.54	69.08 ± 10.53	71.83 ± 10.75

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 各组小鼠血脂(血清)含量比较(聊 ± s)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	TG	TC	LDL-C	HDL-C
正常对照	-	10	0.853 ± 0.07	2.704 ± 0.19	0.284 ± 0.03	1.011 ± 0.09
冷激对照	-	10	1.263 ± 0.11 ¹⁾	2.536 ± 0.21	0.250 ± 0.06	0.965 ± 0.07
决明子水提液	5	9	0.946 ± 0.09 ²⁾	2.442 ± 0.19	0.212 ± 0.02	0.943 ± 0.09
	10	10	0.996 ± 0.16 ²⁾	2.077 ± 0.19 ²⁾	0.177 ± 0.01 ²⁾	0.784 ± 0.07 ²⁾
	20	11	1.085 ± 0.09 ²⁾	2.105 ± 0.09 ²⁾	0.234 ± 0.02	0.797 ± 0.05

注:与正常对照相比¹⁾ $P < 0.05$; 与冷激对照相比²⁾ $P < 0.05$ 。

降低 ($P < 0.05$); 冷激饲喂 ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组 LDL 与 HDL 含量均降低, 其他饲喂组与冷激对照组相比含量虽有降低但无统计学意义。说明决明子水提液可以降血脂, 与文献报道一致^[12]。

2.3 各组小鼠肾脏结构比较 肾脏在水盐电解质代谢和血压调节中起重要作用, 在高血压时受血流量减少之累, 其结构性变化较身体其他部位更为明显。正常对照组肾小管内腔明晰可见, 肾小球紧密, 肾小囊腔大而显著。冷激对照组肾小管管壁水肿, 内腔极度缩小, 肾小球明显胀大, 肾小囊腔显著变窄, 与文献报道一致^[13]。冷激饲喂组中 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 决明子组肾小管依然有些肿胀, 但肾小囊腔开始变大。 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 决明子组肾小管内腔增大, 肾小球边界清楚, 肾小囊腔扩大。 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 决明子组肾小管水肿基本消失, 内腔明显增大, 肾小球、肾小囊结构趋于正常(图 1)。

3 讨论

高血压是最常见的心血管疾病, 同时它又是脑卒中、心肌梗死、心力衰竭及慢性肾脏病的重要危险因素, 已成为威胁我国居民健康的重大疾病。高血压目前其发病有 2 个趋势, 一是发病年龄降低, 中青年患者增多; 二是发病率普遍上升, 严重患者最终多

死于脑血管病和心肾衰竭^[14]。由于化学药物具有降压迅速、效果明显的特点而成为临床应用的首选, 但其带来的毒副作用也不可小视, 产生药物依赖、停药后血压反弹也是病人担心的问题。有些传统中草药有良好的降压效果, 作用也比较温和, 得到人们普遍的认可。因此, 寻求显效降压的中医药治疗方法一直是临床工作者不懈追求的目标。决明子为常用中药, 性味甘、苦、咸、微寒, 归肝、大肠经, 具有清肝明目, 润肠通便的作用^[15]。现代药理研究证明决明子具有降血压、降血脂、保肝、抗衰老及增强免疫力等作用, 被应用于各种降脂减肥的成分制剂中。同时决明子又可作为食品, 是保健饮料的良好原料。

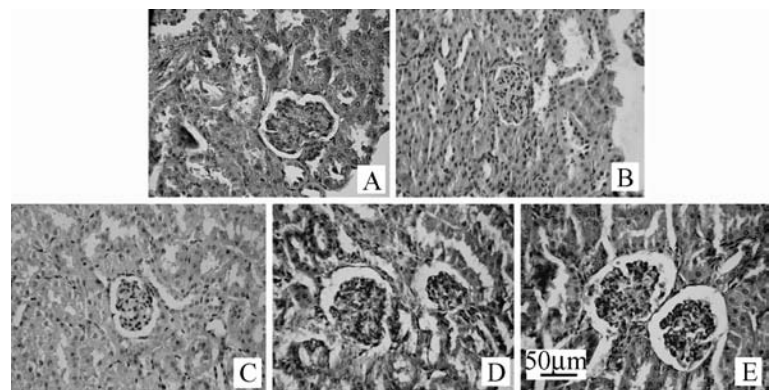


图 1 各组小鼠肾脏结构比较

(400 ×, HE 染色)

A. 正常对照组; B. 冷激对照组; C. 决明子水提液

$5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。

环境因素是引起高血压的一个重要方面,作者用交替性寒冷刺激诱导实验性高血压小鼠,这个模型是非遗传的、非药物性的、无手术干预的,对实验动物基本没有伤害,其基本原理是刺激交感神经系统、引起下丘脑-垂体-肾上腺轴释放儿茶酚胺,导致血压升高^[16]。这也与临床观察高血压患者的表现相一致^[17]。但至今未见决明子在该模型中的应用报道。

本研究证实了决明子水提液成分具有降血压、降血脂效应,与文献报道一致。更重要的是通过组织切片表明决明子中的有效成分可以显著改善高血压小鼠病变肾脏的组织结构,为其减少高血压导致的肾脏并发症提供了实验依据。本实验未发现实验结果呈现剂量效应,且决明子对肾脏的作用机制尚不明,还需进一步开展研究。

[参考文献]

- [1] 李续娥,郭宝江,曾志. 决明子蛋白质、低聚糖及蒽醌苷降压作用的实验研究[J]. 中草药, 2003, 34(9): 842.
- [2] 王玲,刘丽宏,杨玉萍. 复方决明子胶囊对高血脂症大鼠降脂作用的研究[J]. 中国药师, 2009, 12(10): 1393.
- [3] 牛艳芬,赵彤,曾涛,等. 决明子提取物对小鼠酒精性肝损伤保护作用的研究[J]. 毒理学杂志, 2010, 24(1): 58.
- [4] 李文,殷小杰,张村,等. 生、炒决明子水提物抗氧化及对一氧化氮、内皮素影响的比较研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(18): 2383.
- [5] 刘金珠,林湘,李续娥,等. 决明子蛋白质和蒽醌苷对 D-半乳糖衰老小鼠学习记忆及代谢产物的影响[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6): 516.
- [6] 汪长中,程惠娟,徐胜利,等. 中药水提物对白念珠菌生物膜抑制作用的研究[J]. 中国微生物学杂志, 2009, 21(11): 965.
- [7] 邓响潮,孙桂波,宋威. 决明子蒽醌苷对小鼠免疫功能的调节作用[J]. 中国药业, 2008, 11(17): 10.
- [8] Kanayama N, Tsujimura R, She L, et al. Cold-induced stress stimulates the sympathetic nervous system, causing hypertension and proteinuria in rats [J]. J Hypertens, 1997, 15(4): 383.
- [9] Selina Khatun, Naohiro Kanayama, Hossain Md, et al. Induction of preeclampsia like phenomena by stimulation of sympathetic nerve with cold and fasting stress [J]. Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1999, 86(5): 89.
- [10] Thorvaldsen P, Asplund K, Kuulasma A M, et al. Stroke incidence, case fatality and mortality in the WHO MONICA project: world health organization monitoring trends and determinants in cardiovascular disease [J]. Stroke, 1995, 26: 361.
- [11] 潘正军,陈忠科. 寒冷刺激对孕鼠子代生长发育的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2009, 25(2): 162.
- [12] 张荣,冯玛莉,武玉鹏,等. 决明子降血脂有效部位及其量效关系的实验研究[J]. 中国药物与临床, 2005, 5(3): 183.
- [13] Fregly M J, Kikta D C, Theatte R M, et al. Development of hypertension in rats during chronic exposure to cold [J]. J Appl Physiol, 1989, 66(2): 741.
- [14] 臧璞,秦永文. 青少年高血压的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2010, 31(3): 363.
- [15] 高艳青,刘俊. 决明子的药理作用及其研究进展[J]. 中国药业, 2008, 17(8): 63.
- [16] Kanayama N, Tsujimura R, She L. Cold-induced stress stimulates the sympathetic nervous system, causing hypertension and proteinuria in rats [J]. J Hypertens, 1997, 15(4): 383.
- [17] 李丽,王钦茂. 抗高血压中药的研究现状[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2002, 7(1): 94.

[责任编辑 邹晓翠]