

清肝益气降压方对自发性高血压大鼠肾内小动脉血管紧张素 II1 型受体蛋白表达的影响

韩涛*, 郭炜, 刘持年
(山东中医药大学, 山东 济南 250014)

[摘要] 目的: 观察清肝益气降压方对自发性高血压大鼠(SHR)肾内小动脉血管紧张素 II1 型受体蛋白表达的影响, 探讨本方的降压机制。方法: 30 只雄性 SHR 大鼠随机分为模型对照组、阳性对照组、清肝益气组、清肝泻火组和疏肝抑火组, 连续给药 6 周, 以 Wistar 大鼠作空白对照。测定各组大鼠血压、血管紧张素 II 水平, 用原位杂交技术检测血管紧张素 II1 型受体(AT1R)蛋白的表达。结果: 清肝益气降压方有确切的降压作用, 清肝益气组与模型对照组相比血压明显下降($P < 0.05$); 能明显降低 Ang II 水平($P < 0.05$), 能抑制 SHR 大鼠肾内小动脉 AT1R 蛋白的表达($P < 0.05$)。结论: 清肝益气降压方具有降压作用, 提示通过抑制 AT1R 蛋白的表达, 降低 Ang II 水平, 可能是该方的降压机制。

[关键词] 清肝益气降压方; 原发性高血压; 血管紧张素 II1 型受体

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)04-0043-03

The Effect of Antihypertensive Formula of Clearing Liver Fire and Supplementing Qi on the Expression of AT1R Protein of the Arteriolar in Kidney of Spontaneously Hypertensive Rat(SHR)

HAN Tao*, GUO Wei, LIU Chi-nian
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of antihypertensive formula of clearing liver fire and supplementing qi on the expression of AT1R protein of the arteriolar in kidney of spontaneously hypertensive rat(SHR), and to explore the antihypertensive mechanisms. **Methods:** Thirty male spontaneously hypertensive rats were randomly divided into five groups(model group, positive control group, clearing liver fire and supplementing qi group, clearing liver fire group, soothing the liver and restraining liver fire group), and were given the drugs for six weeks, and additional six Wistar rats were regarded as normol group. Blood pressure and Ang II in plasma were detected, and the effect on the expression of AT1R protein of the arteriolar in kidney were detected by in situ hybridization. **Results:** The formula showed antihypertensive effect, with marked blood pressure drop compared with the model ($P < 0.05$); and restrained the Ang II level and the expression of AT1R protein of the arteriolar in kidney($P < 0.05$). **Conclusions:** The formula of clearing liver fire and supplementing qi has good antihypertensive effect. The antihypertensive mechanism might be that the formula can restrain the expression of AT1R protein of the arteriolar in kidney and reduce the level of Ang II in plasma.

[Key words] Antihypertensive formula of clearing liver fire and supplementing Qi; essential hypertension; angiotensin II type 1 receptor(AT1R)

[收稿日期] 2006-07-18

[通讯作者] * 韩涛, Tel: (0531) 82622122; E-mail: ht526@sina.com

高血压状态下, 肾、心、脑以及血管等重要靶器官易受到侵害, 引发各种危重疾病。本研究针对高血病初期由于肝火炽盛, 耗伤正气出现的肝火气虚

证, 确立清肝益气治法。本实验研究通过观察本方对自发性高血压大鼠(SHR)肾内小动脉血管紧张素 II 1 型受体蛋白表达的影响, 探讨本方的降压机制。

1 材料

1.1 动物 雄性自发性高血压大鼠(SHR) 30 只, 体重 190~ 230 g, 购自北京维通利华实验动物有限公司, 动物合格证 No. 0048490。雄性 Wistar 大鼠 6 只, 体重 190~ 210 g, 购自山东大学医学院实验动物中心, 动物合格证 No: 0000014。

1.2 药物 实验药材钩藤为茜草科植物钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks 的带钩枝条, 黄芪为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge 的根, 玄参为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl 的根, 香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的根茎。经山东中医药大学药学院周凤琴教授鉴定。阳性对照药牛黄降压丸由天津达仁堂制药厂生产, 批号为 E545027。

1.3 药物制备与分组 空白对照组和模型对照组均给与蒸馏水, 阳性对照组给与牛黄降压丸, 清肝益气组给予清肝益气降压方由钩藤、黄芪、玄参、香附组成(15: 7: 6: 3), 清肝泻火组给予拆方 1 由钩藤、玄参组成(5: 2), 疏肝抑火组给予拆方 2 由钩藤、玄参、香附组成(5: 2: 1)。将全方组药物经 2 次煎煮, 合并药液后进行浓缩, 将浓度调至每 mL 相当于生药材 0.837 g; 清肝泻火组与疏肝抑火组的药物煎法与浓缩法同上, 最后将浓度分别调至每 mL 相当于生药材 0.567 g、0.675 g, 4 °C 冰箱保存备用。

1.4 仪器与试剂 HX- II 型清醒大鼠血压心率测定仪, 购自北京中日友好医院; FJ-2021 型 γ 放射免疫计数器, 国营西安 262 厂生产; Leica Qwin V3 图像分析软件, 山东省医学科学院提供; Masson 三色染色试剂盒, 购自上海竹春生物科技有限公司; Ang II 放射免疫分析试剂盒, 购自北京解放军总医院放射免疫研究所; 血管紧张素 II 1 型受体基因原位杂交检测试剂盒; 购自武汉博士德生物科技有限公司。

2 方法

2.1 实验方法 各组大鼠均喂以普通饲料, 室温保持在 25 °C 左右, 实验期间所有动物不限饮食。在正式实验之前测量各组大鼠的基础血压值, 连续给药 45 d, 测量给药后的血压值。末次给药 24 h、禁食 12 h 后, 以水合氯醛 40 mg/kg 腹腔注射麻醉动物, 自下腔静脉取血 3.5 mL, 分离取出血浆。采用均相竞争

放射免疫分析法直接测定血浆 Ang II 的含量, 严格按照试剂盒说明书操作。采用原位杂交技术检测 AT1R 蛋白表达, 标本经固定、常规切片、HE 染色后, 常规脱水、浸蜡、包埋, 切片厚度 6~ 8 μ m, 石蜡切片经常规脱蜡, 室温下灭活内源性酶, 暴露 mRNA 核酸片段, 后固定, 预杂交, 杂交。杂交后洗涤, 滴加封闭液, 滴加 SABC, 滴加生物素化过氧化物酶, DAB 显色, 苏木素复染, 脱水、透明、封片, 显微镜观察, 拍照。用 Leica Qwin V3 图像分析软件计灰度值。

2.2 统计学方法 所有数据用($\bar{x} \pm s$)表示, 采用组间 *F* 检验进行统计处理。

3 结果

3.1 清肝益气降压方对 SHR 收缩压的影响 由表 1 可见, 治疗后, 各用药组与模型对照组相比血压明显下降($P < 0.05$), 清肝益气组血压下降最明显($P < 0.01$)。因空白组大鼠生长速度大于试验组, 试验用 Wistar 大鼠购入时周龄偏小, 故空白组大鼠给药前平均血压较正常值偏低。

表 1 疗程给药对 SHR 血压的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 (g/kg)	给药前 (kPa)	给药后 45 d (kPa)
空白对照组	—	10.51 \pm 0.69	16.89 \pm 1.10
模型对照组	—	16.23 \pm 0.96	26.87 \pm 1.18
阳性对照组	0.29	15.56 \pm 1.86	25.27 \pm 1.30 ¹⁾
清肝益气组	8.37	15.56 \pm 0.74	24.74 \pm 1.07 ²⁾
清肝泻火组	5.67	15.56 \pm 0.41	25.27 \pm 0.89 ¹⁾
疏肝抑火组	6.75	15.69 \pm 0.64	25.40 \pm 0.65 ¹⁾

与模型对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

表 2 对血浆 Ang II 及 AT1R 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 (g/kg)	Ang II (pg/mL)	AT1R(灰度值)
空白对照组	—	36.1 \pm 5.46	145.7 \pm 3.62
模型对照组	—	52.41 \pm 15.67	164.15 \pm 0.51
阳性对照组	0.29	44.51 \pm 14.59	166.09 \pm 33.96
清肝益气组	8.37	31.31 \pm 11.78 ¹⁾	134.65 \pm 12.07 ¹⁾
清肝泻火组	5.67	35.17 \pm 16.28	157.84 \pm 1.86 ¹⁾
疏肝抑火组	6.75	42.18 \pm 7.53	159.73 \pm 5.69

3.2 清肝益气降压方对血浆 Ang II 及 AT1R 蛋白表达的影响 由表 2 可见, 治疗后, 清肝益气组 Ang II 水平与模型组相比明显降低($P < 0.05$), 清肝益气

组、清肝泻火组的 AT1R 蛋白表达水平与模型对照组相比明显降低($P < 0.05$)。

4 讨论

肾素-血管紧张素系统(RAS)在血压调节机制中起重要的作用,在引起高血压的诸多因素中占重要地位。因此,抑制 RAS 系统活性,降低血浆和组织血管紧张素 II 的水平,成为治疗高血压及逆转靶器官损害的正确选择。血管紧张素(Ang),尤其是血管紧张素 II(Ang II)对心脏、血管、肾脏、肾上腺和神经系统具有广泛的作用。这些作用是通过血管紧张素受体(Ang 受体)介导的。国际药理学联盟(IUPHAR)在对受体的分类依据中强调^[1]:AT1 受体是 Ang II 的主要作用部位,存在于血管壁,心脏、肾脏、脑、肺和肾上腺皮质。Ang II 的主要生理药理作

用是通过 AT1 受体亚型起作用,包括心血管、肾脏及中枢神经的作用,其中心血管活动包括升压效应,促进平滑肌细胞(SMC)收缩,醛固酮释放,体液调节以及左心室肌和动脉壁细胞的生长和繁殖。本研究表明,清肝益气降压方有降压作用。连续给药 45 d 后与模型对照组比较,清肝益气组大鼠血浆 Ang II 浓度水平明显下降,清肝益气组大鼠的 AT1R 蛋白表达水平与模型对照组相比明显降低,提示通过抑制 AT1R 蛋白的表达,干预对 Ang II 的介导作用,降低 Ang II 水平,可能是本方降压作用的重要机制。

[参考文献]

- [1] 陈修,陈维洲,曾贵云,等. 心血管药理学[M]. 北京:人民卫生出版社,1997. 7-8, 239-265.