实验研究

补肾益心汤对自发性高血压大鼠血管内皮
功能损伤的干预作用冉旭^{1,2} 陈立³ 吕波⁴

(1 广州中医药大学, 广州, 510405; 2 中山市中医院, 中山, 528400; 3 贵阳中医学院第一附属医院, 贵阳, 550001; 4 贵阳中医学院, 贵阳, 550002)

摘要 目的:探索补肾益心汤对自发性高血压大鼠血管内皮功能障碍的干预作用。方法:选取健康自发性高血压大鼠 40 只,随机分为空白对照组及补肾益心汤大、中、小剂量组,每组 10 只动物,各组均喂饲基本饲料,补肾益心汤组大、中、小剂量组在喂饲基本饲料的基础上,每日加喂补肾益心汤 15 mL、10 mL、5 mL,分别于实验开始前及 8 周末测定血中一氧化氮(NO)及内皮素(ET)。结果:实验后药物组组内前后比较,NO 显著升高,血压、ET 水平显著降低,大剂量组变化更为显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:补肾益心汤能够显著提高自发性高血压大鼠血管内皮因子 NO 水平,而降低 ET 水平,从而改善血管内皮功能。

关键词 自发性高血压大鼠;补肾益心汤;一氧化氮;内皮素

Study on the Intervention Effect of Bushenyixin Decoction on the Vascular Endothelial Dysfunction in Spontaneously Hypertensive Rats

Ran Xu^{1,2}, Chen Li³, Lv Bo⁴

(1 Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2 Zhongshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhongshan 5284000, China; 3 No. 1 Hospital Affiliated of GuiYang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China; 4 GuiYang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of the Bushenyixin decoction on the vascular endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods:** A total of 40 rats with spontaneously hypertension were randomly divided into the blank control group, large, medium, and small dose Bushenyixin decoction group, with 10 rats in each group and each group was fed with basic feed. The large, medium, small dose Bushenyixin decoction groups were fed with the Bushenyixin Tang 15ml, 10ml, and 5ml addition to the basic feed daily. Blood nitric oxide (NO) and endothelin (ET) were measured before the experiment and on the 8th weekend after the start of the experiment. **Results:** The NO of the experiment groups was significantly increased after the experiment, and the blood pressure and ET level were significantly decreased. Changes in the large dose group was most significant. **Conclusion:** Bushenyixin decoction can significantly improve the NO level of vascular endothelial growth factor, reduce the level of ET in spontaneously hypertensive rats, so as to improve the function of vascular endothelium.

Key Words Spontaneously hypertensive rats; Bushenyixin Decoction; Nitric oxide; Endothelin

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2013.08.030

高血压是最常见的心血管疾病之一,其引起的血管结构及功能障碍是引起心血管事件发生和发展的主要危险因素,严重影响着人们的生命与健康,成为当前人类主要死亡原因之一,高血压可导致内皮功能受损出现功能失调,而内皮功能失调反过来可以加速高血压的发展进程,因此高血压治疗强调改善血管内皮功能^[1],大量研究表明血管内皮受损和内皮功能减退与

高血压的发生及发展密切相关^[2],同时研究证实一氧化氮(NO),内皮素(ET)等血管内皮因子在维持血管内皮功能中发挥重要作用^[3],对维持和恢复正常血管内皮功能对于防治高血压具有重要意义,因此,本研究应用补肾益心汤干预自发性高血压大鼠(SHR),旨在探讨补肾益心汤对自发性高血压大鼠血管内皮功能损害的干预情况作用。

1 材料与方 法

1.1 材料 健康自发性高血压大鼠 40 只(雌雄不拘, 体重 150 ~ 200 g), 由广州中医药大学实验动物中心提供; 大鼠饲料由广东省医学实验动物中心提供; 一氧化氮(NO)测定试剂盒由南京弘阳生物技术有限公司提供; 内皮素(ET)测定试剂盒由解放军总医院东亚免疫技术研究所提供; 酶标仪为瑞典 linBio128C 型。

1.2 方 法

1.2.1 分组 健康自发性高血压大鼠 40 只, 实验前适应性饲养 10 d, 饲养条件: 室温(22 ± 4) °C, 相对湿度(58% ± 6%), 光照与黑暗循环时间为 12 h, 饮水不限。40 只自发性高血压大鼠按随机数字表法分为空白对照组、补肾益心汤大、中、小剂量组共 4 组, 每组 10 只, 各组均喂饲富含多种维生素及微量元素的基本饲料, 补肾益心汤组大、中、小剂量组在喂饲基本饲料的基础上每日加喂补肾益心汤 15 mL, 10 mL, 5 mL, (主要由桑寄生 30 g、女贞子 15 g、墨旱莲 15 g、仙茅 12 g、淫羊藿 15 g、益母草 15 g、泽泻 15 g、豨莶草 15 g、地骨皮 30 g、杜仲 15 g 组成), 各组动物每日进食总量相等, 限制为 100 g, 分 2 次, 1 次/12 h。动物分笼饲养, 自由饮水, 实验周期为 8 周。

1.2.2 NO、ET 水平测定 于试验前、8 周末大鼠鼠尾动脉采血 5 mL, 注入含有 2 g/L EDTA - Na₂ 30 μL 和抑肽酶 40 μL 试管中混匀, 40 °C 3 kr/min 离心 10 min, 分离血浆, 立即冻存于 -70 °C 低温冰箱中备测, 测量前将样本置室温下复融, 再次 40 °C, 3 kr/min 离心 5 min, 取上清液, NO 测定采用硝酸还原酶法; ET - 1 测定采用放射免疫法; 具体方法严格按说明书进行, 所有操作均由专人严格按规程进行。

1.2.3 鼠尾血压测定 分别于实验前后测定各组大鼠血压, 将大鼠置于大鼠血压计的保温箱内加温 10 min(37 °C) 左右, 待尾动脉充分扩张, 鼠尾套入套袖, 动物安静后充气, 测定血压, 重复 3 次, 取其均值。

1.2.4 统计学处理 使用 SPSS 16.0 统计软件进行分析, 连续变量用($\bar{x} \pm s$)表示。组间连续变量之间的比较采用方差分析; 组内连续性变量之间的比较采用配对 *t* 检验; 所有分析都采用双侧检验法, 检验水平 α 取 0.05, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 4 组实验前后鼠尾收缩压比较 表 1 示, 实验前 4 组组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 实验后 4 组组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 且大剂量组血压降低更明显, 与其他 3 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 4 组实验前后收缩压水平比较($\bar{x} \pm s$, mmHg)

实验分组	实验前	实验后	<i>P</i> 值
对照组	208.6 ± 21.2*	205.5 ± 7.56#	0.666
小剂量组	205.1 ± 18.4	189.8 ± 12.0	0.007
中剂量组	203.0 ± 16.2	181.1 ± 11.39	0.002
大剂量组	200.3 ± 21.8	177.0 ± 10.59	0.001

注: 与同期其他各组比较, * $P > 0.05$, # $P < 0.05$ 。

2.2 4 组实验前后 NO、ET 水平比较 表 2 示, 4 组实验前 NO、ET 水平差异无统计学意义($P > 0.05$), 实验后, 药物大、中、小剂量组 NO 水平显著增高, ET 水平显著降低, 而大剂量组更为明显, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而对照组 NO、ET 水平前后无明显变化。

表 2 4 组 NO、ET 水平变化情况比较($\bar{x} \pm s$)

分组	实验前		实验后	
	NO(μmol/L)	ET(ng/L)	NO(μmol/L)	ET(ng/L)
对照组	41.73 ± 3.91	68.08 ± 3.29	40.86 ± 3.8**	63.88 ± 8.16**
小剂量组	42.88 ± 1.48	67.61 ± 8.04	63.41 ± 14.8	54.51 ± 4.85
中剂量组	42.13 ± 4.59	69.37 ± 12.29	66.46 ± 13.5	54.80 ± 5.33
大剂量组	43.23 ± 3.36	66.27 ± 5.56	79.4 ± 14.41	42.22 ± 4.62

注: 组内前后比较, * $P < 0.05$; 组间同期比较, # $P < 0.05$ 。

3 讨 论

随着人民生活水平的提高和生活节奏的加快, 心血管疾病的发病率不断升高, 已经严重威胁了人类的生活和健康, 高血压引起的心脏和血管结构及功能障碍是引起心血管事件发生和的主要危险因素, 严重影响着人们的生命与健康, 成为当前人类主要死亡原因之一, 文献表明^[4], 血压的增高与心血管事件的发生呈正向关系, 血管内皮功能与高血压的相关性研究已成为心血管领域研究的热点, 血管内皮细胞功能紊乱被认为是高血压患者的一个重要病理生理特征^[5], 而完整的内皮系统在维持血管张力调节方面发挥重要作用, 研究证实血管内皮细胞是沿着血管内面呈单层排列的组织细胞, 它不仅具有分隔血液与间质组织的屏障功能, 还通过分泌多种血管活性物质调节血管张力、维持凝血与纤溶的平衡以及防止血小板黏附及血栓形成, 调节血管平滑肌细胞的增殖及迁移^[6], 在调节心血管功能、维持心血管稳态中发挥重要作用^[7]。有研究显示 NO 和 ET - 1 的分泌失衡是导致高血压的重要影响因素^[8]。NO 为主要的扩血管物质, 有强大的舒张血管的作用, 抑制 NO 的基础释放, 可引起外周血管收缩, 导致血压升高^[9], 研究表明, 内皮来源的血管活性物质在血压调节中起着重要作用, 其中一氧化氮(NO)和内皮素 - 1(ET - 1)在血压调节中的作用尤为重要^[10], 因此, 监测这些内皮标志物能够有效的评价血管内皮功能, 与此同时, 在高血压、冠心病等疾病的治

疗中发现,针对改善内皮功能的治疗往往能够取得显著的治疗效果^[11],改善血管内皮功能对高血压的早期诊疗及预后估计等都具有重要意义。

中医药防治内皮细胞损伤是目前较为关注的领域,许多研究证实,中医药对血管内皮细胞有着较为理想的调控作用,研究证实黄芪多糖能够干预内皮细胞炎症黏附作用,保护内皮功能^[12]、黄芪多糖对血管内皮细胞有明显保护作用,呈剂量依赖性增强内皮细胞活性、增加 NO 释放、抑制细胞 ET 释放、增加胞内游离钙浓度^[13]。中医学没有高血压病名,对此类病症大多属于中医学“眩晕、头痛”范畴,高血压病位以肝、肾,始终都有肝肾阴虚,水不涵木,随着中医药对高血压病研究的不断深入,肯定了高血压病的病位主要为肝、肾两脏,根源在肾,且涉及心、脾,其病机为本虚标实、肾气亏虚、精髓不足、水不涵木、肝阳上亢,风化风动,气血上升^[14],进而导致五脏功能失调^[15],所以多数情况下,肾虚是高血压病的始动因素。补肾益心汤由广州中医药大学第一附属医院吴伟教授根据多年诊治高血压病的临床经验,结合现代中药药理研制而成的,临床上对于高血压病有很好的疗效,主要由桑寄生、女贞子、泽泻、杜仲等药物组成,按照补肾、益心、清肝、利尿的治则制定的,组方严谨,选药精当,作用肯定,且简单、安全、无毒副作用,研究发现补肾益心汤所包含的单味中药桑寄生通过调节血清激素水平、血管活性物质的释放及碱性成纤维细胞生长因子的含量,达到保护中小动脉内皮细胞,逆转平滑肌细胞增殖,对抗动脉粥样硬化的效果,对高血压所致的心、脑、肾病变有积极的治疗和预防作用^[16]。研究表明杜仲糖苷能明显降低血压,具有抗氧化和自由基清除作用,能保护细胞膜不受氧化,其作用机制可能是降低血浆 ET 水平,升高血浆 NO 水平,调整体内 ET 与 NO 平衡状态,减轻血管内皮损伤,松弛血管平滑肌,从而达到降低血压保护内皮细胞和心、脑、肾等靶器官损害的作用^[17];同时现代药理研究证实,泽泻有降压、缓和血管硬化,利尿功用,减少血容量,进而减弱 RAAS 活性,使循环 Ang II 含量下降而实现降压效应,种种迹象表明补肾益心汤可能对高血压损伤的血管内皮功能存在某种程度的干预作用,从而在冠心病防治中发挥一定效应,本研究结果显示补肾益心汤大、中、小剂量组与对照组比较,能够显著增加血一氧化氮水平,而降低血中内皮素水平,改善自发性高血压大鼠内皮功能,降低自发性高

血压大鼠血压,而这种降压作用可能与其改善血管内皮舒缩功能有关,改善高血压的预后,对高血压的治疗大有裨益。

参考文献

- [1] Hsueh WA, Lyon CT, Manuel J, et al. Insulin resistance and the endothelium[J]. *Am J Med*, 2004, 117(2): 109.
- [2] 闫韵洪, 张利华. 血浆同型半胱氨酸与冠状动脉粥样硬化的相关性[J]. *心脏杂志*, 2002, 14(4): 303-304.
- [3] 陈健, 张金枝, 程龙猷. 高同型半胱氨酸血症: 心脑血管疾病的独立危险因素[J]. *心血管病学进展*, 2000, 21(2): 75-78.
- [4] 范维琥. 中西医结合治疗高血压的需求与探索[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2012, 10(3): 257-257.
- [5] 康国强, 陈树强, 林志鸿, 等. 氯沙坦对高血压患者血清一氧化氮、内皮素-1 和血管内皮功能的影响[J]. *中国心血管病研究*, 2010, 8(6): 419-421.
- [6] 王齐敏. 血管内皮功能与冠状动脉粥样硬化关系研究的进展[J]. *心血管康复医学杂志*, 2003, 12(2): 187-189.
- [7] 高爱社, 沈晓君. 黄芩苷对氧化低密度脂蛋白诱导的血管内皮细胞凋亡的防护作用[J]. *世界中医药*, 2009, 4(5): 289-290.
- [8] 杨金果, 李运伦. 中药提取物对高血压血管内皮细胞保护作用研究现状[J]. *山西中医*, 2013, 29(1): 52-54.
- [9] 马雪玲, 李玉波, 陈建新, 等. 自发性高血压大鼠中医证候及其理化指标相关性研究[J]. *世界中医药*, 2013, 8(2): 134-137.
- [10] 张继业, 王宇, 梁继超, 等. 脉君安片对自发性高血压大鼠内皮素-1 和一氧化氮合酶表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(7): 1073-1076.
- [11] Trepels T, Zeiher AM, Fichtlscherer S. The endothelium and inflammation[J]. *Endothelium*, 2006, 13(6): 423-429.
- [12] 刘蓓, 朱海燕, 高永红, 等. 黄芪多糖对 TNF- α 诱导心脏微血管内皮细胞黏附分子基因转录及 p38MAPK 信号通路的影响[J]. *世界中医药*, 2011, 6(3): 263-265.
- [13] 李眺, 陈利国, 李权, 等. 川芎嗪配伍黄芪多糖对血管内皮细胞的保护作用[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(11): 2672-2675.
- [14] 谷万里, 史载祥, 余云旭, 等. 原发性高血压的中医证型特征[J]. *中西医结合学报*, 2010, 9(8): 842-847.
- [15] 马国教. 补肾活血降压汤治疗老年性高血压 156 例[J]. *陕西中医*, 1997, 18(3): 106.
- [16] Julli P, Sterchi R, Dieppe P. Systematic review of celecoxib for osteoarthritis and rheumatoid arthritis[J]. *BMJ*, 2003, 326(7384): 334.
- [17] 潘龙, 支娟娟, 许春国, 等. 杜仲糖苷对肾性高血压大鼠血压及血浆 ET、NO 的影响[J]. *陕西中医学院*, 2010, 30(2): 54-56.

(2013-04-02 收稿)