

肝功能异常等因素也是造成消化道出血的可能原因。

综上所述,心血管疾病是 MHD 患者死亡的最主要原因,其次是严重感染和脑血管病。贫血、高血压、糖尿病、营养不良、低血压和高钾血症等是透析死亡密切相关的危险因素。经济条件差、社会医疗保障落后是造成 MHD 病死率增加的不容忽视的社会因素。充分透析,积极控制血糖、血压,加强营养、改善贫血、防治感染等是提高 MHD 患者生活质量,降低死亡率的有效措施。

#### 参考文献

- 1 左力,王梅.北京市血液透析的现状和存在问题[J].中国血液净化,2007,6(9):465-466.
- 2 何永成,廖履坦,丁小强,等.慢性肾功能衰竭维持性血液透析患者死亡原因分析[J].中国临床医学,2004,11(4):507-510.
- 3 Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease [J]. Am J Kidney Dis, 1998, 32 (Suppl 7): S1192 - S1193.
- 4 侯凡凡. 如何改善慢性肾衰竭患者心血管疾病的预后[J]. 中华内科杂志, 2002, 41(8): 507-508.
- 5 Meeus F, Kourilsky O, Guerin AP et al. Pathophysiology of cardiovascular disease in the hemodialysis patients [J]. Kidney Int, 2000, 58 (Suppl 76): S140 - S147.
- 6 陈江华. 提高血液透析患者长期生存率所面临的挑战[J]. 中华肾脏病杂志, 2006, 22(3): 133-134.
- 7 Vorwerk D, Adam A, Muller-Leisse C, et al. Hemodialysis fistula and graft: use of cutting balloons to dilate venous stenoses [J]. Radiology, 1996, 201(5): 864.
- 8 梅长林, 杨丽. 2006 年欧洲透析移植会议: 透析新信息[J]. 中国血液净化, 2007, 6(2): 56-60.
- 9 郑智华, 马祖等, 张涤华, 等. 血液透析患者营养状态与生存质量关系研究[J]. 中国血液净化, 2005, 4(4): 187-190.

[收稿日期 2009-05-15][本文编辑 宋卓孙 黄晓红]

## 临床研究

# 通心络对高血压大鼠血管内皮功能的保护作用研究

葛晓莉

作者单位: 110025 辽宁, 沈阳市铁西区中心医院内科

作者简介: 葛晓莉(1971-), 大学学历, 副主任医师, 研究方向: 心血管疾病诊治。E-mail: gexiaoli@126.com

**[摘要]** 目的 探讨通心络对高血压大鼠血管内皮的保护作用。方法 实验动物分为3组, 分别为自发性高血压大鼠组(SHR组), SHR服用通心络组(TXL组)和正常血压大鼠组(WKY组)。通过放射免疫及聚合酶链反应检测主动脉一氧化氮(NO)、内皮素(ET)、血管内皮生长因子(VEGF)基因表达。结果 SHR组NO水平低于WKY组, TXL组NO水平高于SHR组。SHR组及TXL组mRNA表达均高于WKY组, 以SHR组为最高。结论 通心络可能对高血压大鼠血管内皮功能有保护作用。

**[关键词]** 高血压; 大鼠; 通心络; 血管内皮功能

**[中图分类号]** R 544.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)10-1052-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.10.17

**The protective effect of tongxinluo on vascular endothelium of hypertensive rats** GE Xiao-li. Tiexi District Central Hospital, Shenyang Liaoning 110025, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the protective effect of tongxinluo therapy on vascular endothelium of hypertensive rats. **Methods** Two groups of twenty male spontaneously hypertensive rats were studied; ten with the tongxinluo therapy (TXL group) and ten without any treatment (SHR group). Another one group of ten male homogeneously healthy rats were introduced as the normal controls (WKY group). The concentration of NO, ET-1, VEGF in aortic wall and gene expression were measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** The NO level in SHR group were lower than those in both TXL and WKY group, while ET-1 level in SHR and TXL

group were higher than that in WKY group ( $P < 0.05$ ), but the gene expression of VEGF in SHR group were the highest ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Tongxinluo may have the protective effect on vascular endothelium of hypertensive rats.

[Key words] Hypertension; Rat; Tongxinluo; Vascular endothelium function

血管内皮功能不良与高血压的发生发展密切相关<sup>[1]</sup>。在诸多因素刺激下,内皮通过膜上的受体及复杂的细胞内途径合成释放一系列舒张或收缩血管的物质,调节其下面的平滑肌紧张度,其中一氧化氮(nitric oxide, NO)、内皮素(endothelin, ET)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在血管内皮功能中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。本研究通过大鼠高血压模型,给予通心络干预治疗,旨在从分子生物学水平探讨通心络多环节改善血管内皮功能的作用。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 取雄性自发高血压大鼠(SHR)20只和同类正常血压大鼠(WKY)10只,体重200~300g,周龄8周(购自上海高血压病研究所实验动物中心)。随机分为:(1)SHR组:10只(不给任何药物);(2)通心络治疗组(TXL):10只(实验过程中死亡1只),以通心络干粉 $0.5\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,灌胃;(3)WKY组:10只(不给任何药物)。

## 1.2 方法

**1.2.1 血压测定** 所有大鼠采用经颈总动脉插管,用RM-6000日本多导生理记录仪测颈总动脉血压。

**1.2.2 动物处死及取材** 喂养14d后,大鼠称重,戊巴比妥钠腹腔麻醉( $50\text{ mg/kg}$ ),4%多聚甲醛灌注血管,生理盐水冲洗5min,暴露胸腹主动脉,分别取胸腹主动脉3.0cm,置于液氮罐中冷冻后置于 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 深冻冰箱保存,备检测。

**1.2.3 血管组织NO含量测定** 采用铜离子活化镉还原法测定 $\text{NO}^3 - / \text{NO}^2 -$ 浓度反应NO水平。试剂盒购自解放军总医院东亚免疫技术研究所。

**1.2.4 血管组织ET-1含量测定** 采用放射免疫测定ET-1含量。药盒购自解放军总医院东亚免疫技术研究所,按说明书操作。

**1.2.5 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)对ET-1、VEGF基因表达的检测** 采用异硫氰酸胍一步法提取血管组织总RNA,紫外分光光度计定量,双 $2\text{ }\mu\text{g}$ 总RNA用于cDNA第一链合成。以 $\beta$ -actin为内对照基因扩增,所用引物序列如下:ET-1(546bp):5'-CGTTGCCTGC TCC TCCTTG ATGG-3,5'-AAG ATC CCA GCC AGC ATG GAGAGCG-3;VEGF(573bp):5'-ATG AAC TTT CTG CTC TCT TGG GT-3,5'-CTC

ACC GCC TTG GCT TGT CT-3; $\beta$ -actin(500bp):5'-GAG ACC TTC AAC ACC CCA GCC-3,5'-TCG GGG CAT CGG AAC CGC TCA-3;PCR反应体系为 $25\text{ }\mu\text{l}$ ;ET-1扩增条件: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  3min, $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  30s, $58\text{ }^{\circ}\text{C}$  1min, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  1min, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  1min,32个循环;VEGF扩增条件: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  3min, $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  30s, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  40s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  1min, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  2min,32个循环。取 $10\text{ }\mu\text{l}$ PCR扩增产物,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,进行溴化乙锭浸泡。凝胶在Eagle Eye II型图像分析系统上进行扫描分析。目的DNA的相对量计算公式:目的DNA的相对量 = 目的DNA条带的光密度值/ $\beta$ -actin条带的光密度值 $\times 100$ 。

**1.3 统计学处理** 数据均以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学显著意义。

## 2 结果

**2.1 血管组织NO、ET-1水平测定结果** SHR组和TXL组血管组织NO水平均低于WKY组,TXL组NO水平显著高于SHR组。SHR组和TXL组ET-1水平明显高于WKY组,TXL组显著低于SHR组。各组间比较,差异均有统计学显著意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 血管组织NO、ET-1水平测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 例数 | NO( $\mu\text{mol/ml}$ )    | ET-1( $\text{pg/ml}$ )      |
|-----|----|-----------------------------|-----------------------------|
| WKY | 10 | $164.72 \pm 1.83$           | $223.55 \pm 4.80$           |
| SHR | 10 | $92.46 \pm 1.24^*$          | $394.64 \pm 8.61^*$         |
| TXL | 9  | $124.89 \pm 1.48^{*\Delta}$ | $276.17 \pm 6.62^{*\Delta}$ |

注:与WKY组比较,\* $P < 0.05$ ;与SHR组比较, $\Delta P < 0.05$

**2.2 血管组织ET-1、VEGF的RT-PCR的基因表达结果** 结果表明,WKY组未见ET-1 mRNA表达,SHR组和TXL组表达增强,以SHR组表达最为明显。WKY组未见VEGF mRNA表达,SHR组和TXL组mR-NA表达增强,以SHR组最为明显。各组间比较,差异均有统计学显著意义( $P < 0.05$ )。ET-1、VEGF mRNA的相对含量见表2。

表2 ET-1、VEGF mRNA的相对含量( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 例数 | ET-1 mRNA                 | VEGF mRNA                 |
|-----|----|---------------------------|---------------------------|
| WKY | 10 | $0.33 \pm 0.07$           | $0.22 \pm 0.04$           |
| SHR | 10 | $0.61 \pm 0.13^*$         | $0.56 \pm 0.06^*$         |
| TXL | 9  | $0.52 \pm 0.09^{*\Delta}$ | $0.40 \pm 0.05^{*\Delta}$ |

注:与WKY组比较,\* $P < 0.05$ ;与SHR组比较, $\Delta P < 0.05$

### 3 讨论

**3.1** 许多血管活性物质对血管的作用都依赖于血管内皮细胞存在。NO 通过激活鸟苷酸化酶而升高细胞内环磷酸鸟苷 (cGMP) 水平,使平滑肌细胞内钙减少,导致平滑肌松弛。ET 是内皮源性收缩因子,具有强大的缩血管作用,在缺氧、肾上腺素等多种刺激下释放<sup>[3]</sup>。通心络是沿用中医传统理论及配伍方式精制而成,药物成分为人参、全蝎、蜈蚣、水蛭、土鳖虫、蝉蜕、赤芍、冰片组成,可补心益气通脉络、解痉、逐瘀、散血。

**3.2** 本研究发现 SHR 组 NO 水平低于 WKY,说明 SHR 主动脉 NO 生成与释放减少,此结果表明 SHR 主动脉内皮细胞基础 NO 的生成与释放减少。NO 是一种很强的舒血管物质,能降低全身平均动脉压,抑制血管平滑肌细胞的增殖,NO 释放减少的机制尚不十分清楚,可能由于高血压时血管组织超氧负离子产生增多,超氧负离子可降解内皮细胞产生的 NO<sup>[4,5]</sup>。NO 合成减少,局部血管收缩,血小板黏附聚集。而 TXL 治疗组 NO 水平较 SHR 组显著升高,说明通心络促进 NO 生成与释放,故可能对血管内皮功能具有保护作用。

**3.3** SHR 组 ET-1 含量及基因表达均高于 WKY,说明 SHR 主动脉 ET-1 的合成与释放增加,SHR 存在着主动脉内皮细胞中的 ET-1 代谢异常,因此血管组织 ET-1 含量及基因表达增加,它们参与了高血压的发生与发展。ET-1 是血管内皮细胞分泌的作用最强、持续最久的缩血管性多肽<sup>[6]</sup>。Konhno 等<sup>[7]</sup>报道 SHR 大鼠血浆 ET 水平增高,提示 ET 释放增加。NO 和 ET-1 是一对最为重要的内皮依赖性舒血管因子和缩血管因子<sup>[8]</sup>,一旦两者平衡关系被打破,将导致血管收缩、管腔变细,外周阻力增大,引起血压增高,高血压又加重血管内皮细胞 (vascular endothelial cells, VEC) 损伤,使两者更趋不平衡,从而促进高血压的发展和恶化<sup>[9]</sup>。SHR 给予干预治疗后 ET-1 含量及基因表达明显下降,可见通心络可能抑制 ET-1 合成释放,从而改善血管内皮细胞功能。

**3.4** 本研究结果表明,SHR 的 VEGF 基因表达较 WKY 增强,VEGF 可能在高血压的发生中起着一定的作用。SHR 血管组织 VEGF 表达增强,不仅与内皮细胞 NO 含量下降及高血压的发生有关,而且与动脉粥样硬化及心肌肥厚的发生发展存在着一定的

联系<sup>[10]</sup>。VEGF 不仅促进内皮细胞的增殖与迁移,也抑制内皮细胞的凋亡,抑制内膜平滑肌细胞增殖<sup>[11]</sup>。通心络可抑制血管组织 VEGF 表达增强,可能与其调节内皮细胞表型,增加内皮细胞一氧化氮合酶 (NOS) 的产生,减轻高血压时内皮功能损伤,改善内皮依赖性的血管功能有关<sup>[12]</sup>。

### 参考文献

- Allister AS, Atkinson AB, Johnson GD, et al. Relationship of endothelium and endothelial function to birth weight in humans [J]. *Diabetes Care*, 2007, 22 (3): 2061 - 2062.
- Taddei S, Virdis A, Mattei P, et al. Defective L-arginine oxide in offspring of essential hypertension patients [J]. *Circulation*, 2004, 94 (22): 298 - 303.
- Fortepiani LA, Rodri90 E, Ortiz MC, et al. Pressure natriuresis in nitric oxide-deficient hypertensive rat; effect of antihypertensive treatment [J]. *Am Soc Nephrol*, 2005, 10 (5): 21 - 27.
- Jamali AH, Tang WH, Khot UN, et al. The role of angiotensin receptor blockers in the management of chronic heart failure [J]. *Arch Intern Med*, 2001, 161 (34): 667 - 672.
- Zubkov AY, Oigara K, Tumu P, et al. Bloody cerebrospinal fluid alters contractility of cultured arteries [J]. *Neuro Res*, 2007, 21 (6): 553 - 558.
- Yue TL, Gu IL, Wang C, et al. Extracellular matrix-induced cardiomyocyte hypertrophy, endothelin and phenylephrine [J]. *Biol Chem*, 2004, 275 (16): 37895 - 37901.
- Kohno M, Murakawa K, Horio T, et al. Plasma immunoreactive endothelin-1 experimental malignant hypertension [J]. *Hypertension*, 2006, 18 (2): 93 - 100.
- Octavio HP, Dolores PS, Javier NA, et al. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells [J]. *Clin Invest*, 2007, 101 (26): 2711 - 2719.
- Lim HW, New K, Han J, et al. Calcineurin enhances MAPK phosphorylation and P38 MAPK inactivation in cardiomyocytes [J]. *Biol Chem*, 2006, 276 (43): 15913 - 15919.
- Lenmy F, Ata KA, Funa K, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor (flt-1 and flk-1) following permanent and transient occlusion of the middle cerebral artery in the rat [J]. *Neuropathol Exp Neurol*, 2006, 57 (21): 874 - 882.
- 张曼, 周爱儒, 朱国英, 等. 血管内皮生长因子基因防治兔髂动脉狭窄 [J]. *中华医学杂志*, 1998, 78 (10): 749 - 752.
- 姚恩辉. 通心络对高血压大鼠血管内皮功能的影响 [J]. *福建医药杂志*, 2002, 24 (5): 103.

[收稿日期 2009-06-30][本文编辑 谭毅 刘京虹]