

· 论 著 ·

联合 VEGF 反义寡核苷酸和 PDGF 三链形成寡核苷酸抑制大鼠脑胶质瘤生长

李维方^{1,2}, 周定标², 余新光², 金由辛³

(1. 解放军第 306 医院神经外科, 北京 100101; 2. 解放军总医院神经外科, 北京 100853; 3. 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所分子生物学国家重点实验室, 上海 200032)

[摘要] **目的:** 观察血小板源生长因子(PDGF) B 链基因(PDGF-B)的三链形成寡核苷酸(triplex forming oligonucleotide, TFO)PDGF-TFO 和血管内皮生长因子(VEGF)反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, AON)VEGF-AON 对大鼠脑胶质瘤生长的抑制作用。**方法:** 36 只雄性 SD 大鼠, 分为 4 组, 所有大鼠均在立体定向引导下右尾状核区微量灌注含 1×10^6 C₆ 胶质瘤细胞的生理盐水 20 μ l。在细胞接种后第 8 天, 实验 I 组 6 只大鼠原位注射含 PDGF-TFO 1.5 mg 的 20 μ l 生理盐水, 实验 II 组 12 只和实验 III 组 12 只大鼠则分别原位注射含 PDGF-TFO 1.5 mg + VEGF-AON 0.125 mg 和 PDGF-TFO 1.5 mg + VEGF-AON 0.25 mg 的 20 μ l 生理盐水。以后每隔 72 h 原位注射相同剂量的药物 1 次, 共注射 3 次。对照组 6 只大鼠仅在相同时间原位注射 20 μ l 生理盐水。实验 3 周时处死所有大鼠, 观察肿瘤的生长情况, 定性和定量观察肿瘤 PDGF-B、VEGF 和肿瘤核增殖抗原(PCNA)表达。**结果:** 实验 I 组的成瘤抑制率为 53.1%, 实验 II 组为 81.4%, 实验 III 组为 93.1%, 3 组比较有明显差异($P < 0.01$)。PDGF-TFO 对 C₆ 胶质瘤细胞 PDGF-B、VEGF、PCNA 表达有明显的抑制作用; 联合应用 PDGF-TFO 和 VEGF-AON 能更好地抑制 PDGF-B、VEGF、PCNA 表达。**结论:** 联合应用 PDGF-TFO 和 VEGF-AON 比单用 PDGF-TFO 能更有效地抑制肿瘤生长。

[关键词] 胶质瘤; 血小板源生长因子; 三链形成寡核苷酸; 血管内皮生长因子; 反义寡核苷酸**[中图分类号]** R 739.41**[文献标识码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2006)02-0160-05

Triplex forming oligonucleotide of PDGF-B chain combined with antisense oligonucleotide of VEGF inhibits glioma growth in rats

LI Wei-fang^{1,2}, ZHOU Ding-biao², YU Xin-guang², JIN You-xin³ (1. Department of Neurosurgery, No. 306 Hospital of PLA, Beijing 100101, China; 2. Department of Neurosurgery, General Hospital of PLA, Beijing 100853; 3. State Key Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032)

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the inhibitory effect of triplex forming oligonucleotide (TFO) of PDGF-B chain combined with antisense oligonucleotide (AON) of VEGF on glioma growth in rats. **Methods:** Thirty-six male SD rats received 1×10^6 C₆ glioma cells/20 μ l normal saline into the right caudate putamen by stereotactic technique. Group I ($n=6$) was treated *in situ* with 1.5 mg/20 μ l TFO for 3 times on 8, 11 and 14 d after glioma cell inoculation. Group II ($n=12$) and III ($n=12$) were respectively treated with TFO 1.5 mg + AON 0.125 mg/20 μ l and TFO 1.5 mg + AON 0.250 mg/20 μ l for 3 times on 8, 11 and 14 d after glioma cell inoculation. Control group ($n=6$) was treated with 20 μ l saline for 3 times at the same time points. Three weeks after cell inoculation, all rats were sacrificed to observe tumor growth and to determine the expression of PDGF-B, VEGF and PCNA. **Results:** The inhibition rate of tumor growth was 53.1% in group I, 81.4% in group II and 93.1% in group III, with significant difference found between the 3 groups ($P < 0.01$). PDGF-TFO had obvious inhibitory effect on the expression of PDGF-B, VEGF and PCNA in C₆ glioma cells; and PDGF-TFO combined with VEGF-AON had more potent inhibitory effect on the expression of PDGF-B, VEGF and PCNA in C₆ glioma cells. **Conclusion:** PDGF-TFO combined with VEGF-AON has more potent inhibitory effect on tumor growth than PDGF-TFO alone.

[KEY WORDS] glioma; platelet-derived growth factor; triplex forming oligonucleotide; vascular endothelial growth factor; antisense oligonucleotide

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(2): 160-164]

由于胶质瘤的形成与多种生长因子及其受体、癌基因及突变抑癌基因有关, 且这些因子往往异因同效, 故而单一因子的反义阻断往往不可能完全抑制或逆转肿瘤的生长。如果明确胶质瘤发病的几种

[基金项目] 全军医药科研“十五”规划课题(01MB066)。Supported by grants from Project of the “Tenth Five-Year Plan” for Medical Science Research of PLA(01MB066)。

[作者简介] 李维方, 博士, 副教授, 副主任医师。

E-mail: liwfzhj@163.com

关键因子,用反义核酸同时抑制或许会取得更好的效果^[1~3]。本实验拟以血小板源生长因子(PDGF) B链基因(PDGF-B)和血管内皮生长因子(VEGF)为靶标,观察 PDGF-B 的三链形成寡核苷酸(triplex forming oligonucleotide, TFO) PDGF-TFO 和 VEGF 的反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, AON) VEGF-AON 抑制大鼠颅内胶质瘤的血管生成和肿瘤生长的效果,以期为今后的进一步研究和临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 PDGF-TFO 的设计与合成^[2] 由中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所分子生物学国家重点实验室金由辛教授根据 c-sis/PDGF-B 原癌基因 5'端上游启动子核心区的特殊结构设计合成,并惠赠。其结构如下:5'-GAG AGG GAA GAG GAA A-3'。A: target(+)-39-5'-C TC TCC CTT CTC CTT T-3'-24; B: target(-) 3'-GAG AGG GAA GAG GAA A-5'。TFO 是据如上的靶基因序列设计的可与之以氢键结合呈反平行三链的寡核苷酸。

1.2 VEGF-AON 的设计与合成^[4] 由金由辛教授根据 VEGF 的序列,应用计算机程序设计出特异的互补于 VEGF 基因第三外显子(exon, E₃)的反义寡核苷酸。其序列:5'-GCA GTA GCT GCG CTG ATA GTG C-3'。由中国科学院上海细胞生物研究所合成全硫代的 VEGF 反义寡核苷酸。

1.3 大鼠 C₆胶质瘤脑内模型的建立^[5] 雄性 SD 大鼠(购自解放军总医院实验动物中心)36 只。大鼠经 2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(0.04 g/kg)后,固定于江湾 I 型大鼠脑立体定向仪。按前囟中点前 1.0 mm,矢状缝右旁开 3.5 mm,硬膜下 5.0 mm 的右侧尾状核的靶点坐标定位钻孔,孔径 1.2 mm,将细胞悬液(1×10⁶细胞/20 μl 生理盐水)以 1 μl/min 速度注入靶区,除针前留针 5 min。钻孔部位以骨蜡封闭,缝合头皮。

1.4 反义核酸的荷瘤大鼠胶质瘤原位治疗的实验分组及给药方法 大鼠在细胞接种后第 8 天按右侧尾状核的靶点坐标原位立体定向注射 20 μl 生理盐水。实验 I 组 6 只,在原位注射含 PDGF-TFO 1.5 mg 的生理盐水 20 μl;实验 II 组和实验 III 组各 12 只,分别原位注射含 PDGF-TFO 1.5 mg + VEGF-AON 0.125 mg 和 PDGF-TFO 1.5 mg + VEGF-AON 0.25 mg 的生理盐水 20 μl;对照组 6 只,原位注射 20 μl 生理盐水。以后各组每隔 72 h 按上述方

法原位注射相同剂量药物 1 次,共 3 次。细胞接种后 3 周处死检查。

1.5 组织病理学检查 大鼠麻醉后,解剖出大鼠全脑标本,按大鼠脑表面的接种穿刺点做冠状切口,按垂直和水平方向测量肿瘤大小,肿瘤体积 = $a^2 \times b \times \pi / 6$ (a 为肿瘤的短径, b 为肿瘤的长径),抑瘤率 = (对照组肿瘤体积 - 实验组肿瘤体积) / 对照组肿瘤体积 × 100%。实验 I 组和对照组大体标本经冠状切口切开后,一半做病理,另一半做流式细胞仪检测。实验 II 组、实验 III 组各取 6 只解剖出肿瘤组织做病理,另外 6 只解剖出肿瘤组织做流式细胞仪检测。

1.6 免疫组织化学检查 PDGF-B 和 VEGF 表达采用 LsAB 方法, PCNA 表达采用 SABC 法。一抗为山羊抗大鼠 PDGF-B、山羊抗大鼠 VEGF 抗体(均购自武汉博士德公司),小鼠抗大鼠 PCNA 抗体(购自武汉博士德公司)。二抗为生物素化兔抗山羊 IgG(购自中山生物公司),生物素化小鼠抗山羊 IgG(购自武汉博士德公司)。抗体的工作浓度均为 1:100。免疫组化的结果判定采用半定量方法:所有染色结果以 <50% 细胞染色为弱阳性, >50% 细胞染色为强阳性。

1.7 流式细胞仪检测 标本经碾磨后,以 500 目铜网过滤制成细胞悬液,各管调整细胞数为 1×10⁶/ml。经 1 500 r/min × 5 min 离心后,每管以 300 μl 生理盐水混悬细胞,300 μl 细胞混悬液用注射器迅速注入到 700 μl 4℃ 无水乙醇中固定,放入 4℃ 冰箱 24 h 保存后待测。各取 70% 的乙醇固定的细胞 200 μl, 1 500 r/min × 5 min 离心,去除上清, PBS 洗 2 次后,50 μl 的细胞悬液分别与 PDGF-B、VEGF 和 PCNA 的一抗 50 μl 混合,于室温保持 60 min,离心洗 2 次,50 μl 的细胞悬液分别与相应二抗 50 μl 混合,于室温避光保持 60 min,离心后洗 2 次,加 500 μl 生理盐水混悬细胞。另设空白对照组中的 3 孔仅加二抗,一抗用 PBS 代替,作为阴性对照。上流式细胞仪检测,测定 10 000 个细胞的平均荧光强度。

1.8 统计学处理 数据采用方差分析和 *t* 检验进行比较。

2 结果

2.1 肿瘤体积和抑瘤率的变化 实验 I 组、实验 II 组、实验 III 组、对照组的肿瘤体积分别为(110.3 ± 10.5)、(43.8 ± 5.2)、(16.1 ± 3.3)、(235.5 ± 21.4) mm³,各组比较均有非常显著的差异($P < 0.01$)。

实验 I 组的抑瘤率为 53.1%,实验 II 组的抑瘤率为 81.4%,实验 III 组的抑瘤率为 93.1%,各组比较均有非常显著的差异($P < 0.01$)。

2.2 PDGF、VEGF 和 PCNA 表达的定性检测 免疫组织化学检查表明:PDGF-B、VEGF、PCNA 的表达在对照组呈强阳性,PDGF、VEGF 在对照组的表达较为弥漫地分布在肿瘤组织中,强阳性染色的细

胞呈团簇状分布。PCNA 在肿瘤边缘和肿瘤内部的血管周围表达更加明显。而实验 I 组、实验 II 组、实验 III 组 PDGF-B、VEGF、PCNA 均呈弱阳性的表达,大多在肿瘤的浸润前缘即肿瘤边缘,在肿瘤内部密集成团的细胞群中可见零星分布的 PDGF-B、VEGF 表达阳性细胞(图 1)。

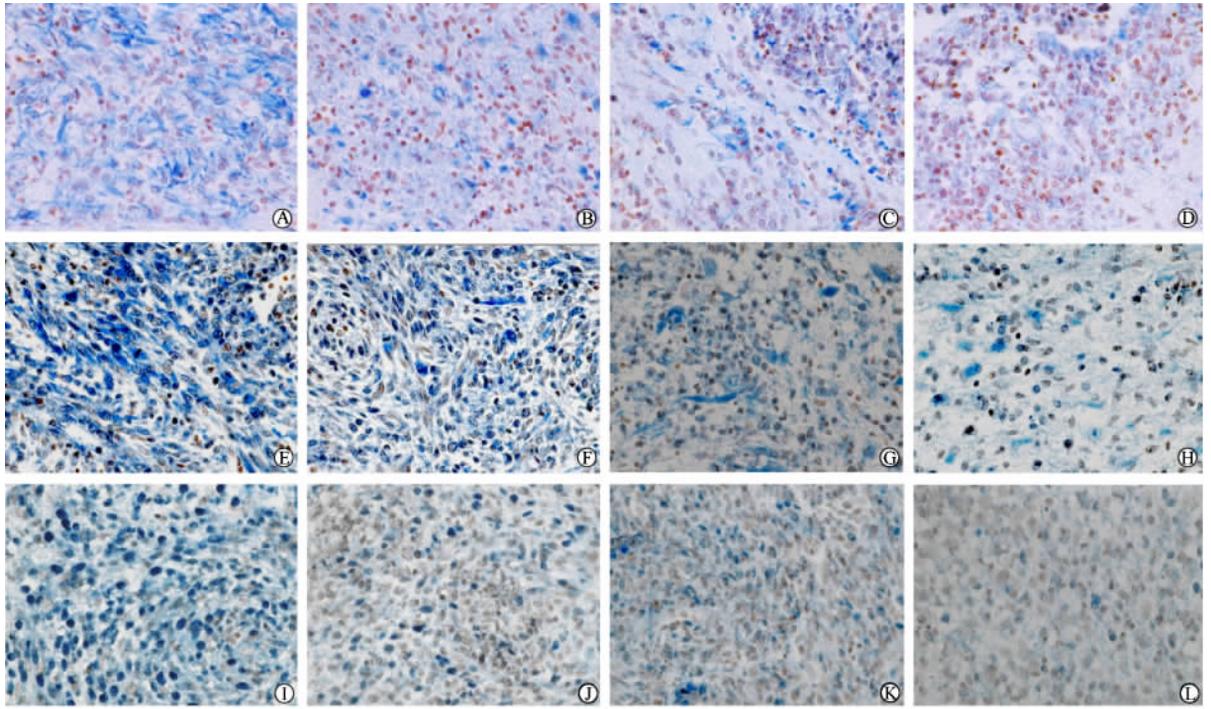


图 1 胶质瘤细胞 PDGF-B、VEGF 和 PCNA 的表达

Fig 1 Expression of PDGF-B, VEGF and PCNA in glioma samples (Immunohistochemistry staining, $\times 200$)

A: PDGF-B expression in control group, strongly positive; B: PDGF-B expression in group I, weakly positive; C: PDGF-B expression in group II, weakly positive; D: PDGF-B expression in group III, weakly positive; E: VEGF expression in control group, strongly positive; F: VEGF expression in group I, weakly positive; G: VEGF expression in group II, weakly positive; H: VEGF expression in group III, weakly positive; I: PCNA expression in control group, strongly positive; J: PCNA expression in group I, weakly positive; K: PCNA expression in group II, weakly positive; L: PCNA expression in group III, weakly positive

2.3 PDGF、VEGF 和 PCNA 表达的定量检测 实验各组对 C₆胶质瘤细胞 PDGF-B、VEGF、PCNA 的表达有明显的抑制作用,与对照组比较有明显的差

异($P < 0.01$);且实验各组 C₆胶质瘤细胞 PDGF、VEGF、PCNA 的表达之间比较也有明显的差异($P < 0.01$).详见表 1。

表 1 各组胶质瘤细胞的 PDGF-B、VEGF 和 PCNA 的表达

Tab 1 Expression of PDGF-B, VEGF and PCNA in glioma samples in different groups

($n = 6, \bar{x} \pm s$)

Group	PDGF-B	VEGF	PCNA
Control	90.71 ± 3.72	68.16 ± 5.73	228.56 ± 11.51
Group I	73.63 ± 3.22**	52.57 ± 5.17**	133.59 ± 9.06**
Group II	41.72 ± 3.12**△△	36.91 ± 3.64**△△	79.69 ± 4.94**△△
Group III	24.30 ± 3.04**△△▲▲	20.62 ± 3.71**△△▲▲	24.97 ± 3.14**△△▲▲

** $P < 0.01$ vs control group; △△ $P < 0.01$ vs group I; ▲▲ $P < 0.01$ vs group II

3 讨论

肿瘤的反义基因治疗(antisense gene therapy)是指应用生物体合成或人工合成的反义核酸在转录和翻译水平阻断某些异常基因的表达,以阻断瘤细胞内的异常基因传导,使瘤细胞进入正常分化或引起细胞凋亡。在抗肿瘤治疗中,针对目前认识较为明确的对肿瘤发生、发展起重要作用的一些癌基因、突变的抑癌基因、自分泌和旁分泌生长因子及其受体,用反义核酸加以封闭而达到治疗效果,显示了良好的应用前景^[2, 4, 6]。在动物模型中,反义核酸可以通过静脉、皮下、肌肉、口服、瘤体内等途径给药。局部维持足够的具有完整生物活性的药物为取得理想的生物学效果所必需。Broaddus 等^[7]通过原位正压微量灌流脑内注射反义核酸于大鼠右尾状核区的实验,发现可以在较大的范围、较长的时间保持一个较高的浓度,即使 48 h 后仍能保持稳定且无不良反应。VEGF 是胶质瘤细胞分泌而作用于血管内皮细胞的血管生成的主要和关键的旁分泌生长因子^[8-10]。VEGF 反义基因疗法的研究已有报道,1996 年 Cheng 等^[11]用反义 VEGF cDNA 真核表达载体转染 U₈₇ 细胞后有明显的抗血管生成和抑瘤作用。治疗后缓慢生长的肿瘤再原代培养后重新接种仍有原先的成瘤率和 VEGF 的表达,说明原先缓慢生长的肿瘤仍可能恢复 VEGF 的表达能力。李维方等^[12]脑内使用 VEGF 反义寡核苷酸抑制荷瘤大鼠胶质瘤血管生成的实验提示反义寡核苷酸可以通过抑制 VEGF mRNA 的转录来抑制 VEGF 的表达,从而减少微血管的密度,达到抑制肿瘤的血管生成和生长的目的。当增加反义寡核苷酸的浓度,甚至可以阻断 VEGF 的表达,完全抑制肿瘤的血管生成,使肿瘤处于休眠状态。但是也发现休眠的瘤巢细胞仍具有增殖的能力。当休眠状态的肿瘤细胞的增殖和凋亡的平衡打破,在缺氧状态下的肿瘤细胞极有可能触发 VEGF 的表达而导致血管生成,进而促进肿瘤的生长。由于瘤细胞在这种治疗下并未被直接杀死,故为了根治肿瘤必须联合针对肿瘤细胞本身的治疗。这对预防和治疗胶质瘤及其复发有很好的临床应用前景^[9]。

PDGF-B 诱导胶质细胞转化的作用可能是通过自分泌环活性异常增加这一机制实现的,由此引起的细胞无限蓄积可能在胶质瘤发生和恶化进展过程中均起重要作用^[13]。李维方等^[14]在荷瘤大鼠脑内使用 PDGF-TFO 抑制肿瘤生长的实验表明,PDGF-TFO 通过抑制胶质瘤 PDGF-B 的表达来抑制胶质

瘤细胞的增殖和促进细胞的凋亡,来达到抑制肿瘤生长的目的。故本实验联合使用 VEGF-AON 和 PDGF-TFO,以期达到抑制肿瘤血管生成的同时抑制肿瘤细胞本身的生长,取得更好的治疗效果。

对照组的瘤体积大约是实验 I 组的 2 倍,实验 II 组的 5 倍,实验 III 组的 17 倍;抑瘤率实验 I 组是 53.1%,实验 II 组 81.4%,实验 III 组 93.1%,比较实验各组之间组的肿瘤体积有明显的差异,说明 PDGF-TFO 可以抑制肿瘤的生长,而联合应用 PDGF-TFO 和 VEGF-AON 可取得更好的抑制肿瘤生长的效果,且有明显的浓度依赖性。分析 PDGF-B、VEGF 和 PCNA 表达的定性和定量变化:在实验 I 组仅使用 PDGF-TFO 的情况下,PDGF-TFO 可以通过抑制 PDGF-B 的表达来抑制胶质瘤的生长,同时肿瘤的 PCNA 和 VEGF 的表达也明显降低,说明肿瘤的增殖能力减弱和血管生成同时减少。证实了 PDGF-B 是胶质瘤生长的重要因素,而且 PDGF-B 与肿瘤的恶化和血管生成有关^[15]。所以抑制 PDGF-B 的表达是胶质瘤反义基因治疗的一个有效途径和策略。实验 II 组的 PDGF-TFO 的剂量与 I 组相同,而联合使用了 VEGF-AON,实验 II 组不仅 VEGF 表达较 I 组减少,而且 PDGF-B、PCNA 表达也减少,这不仅说明阻断 VEGF 不仅能抑制肿瘤的大部分血管生成作用,而且能抑制 VEGF 与其他生长因子(包括 PDGF-B)的协同作用^[9]。也进一步证实了 VEGF 是胶质瘤血管生成最关键的因素,其他生长因子不能完成 VEGF 抑制后的血管生成的替补作用。实验 III 组与实验 II 组相比增加了 VEGF-AON 的剂量,则治疗效果更佳,不仅肿瘤体积更加缩小,而且肿瘤的 PDGF-B、VEGF、PCNA 表达更加减少,治疗效果与 VEGF-AON 存在浓度依赖性。由于肿瘤的血管内皮细胞对治疗不易产生耐药而没有一般化疗药物的不良作用和药物抵抗,所以在抗血管生成治疗的基础上结合抑制肿瘤细胞生长本身的治疗有望取得更好的肿瘤治疗效果。

[参考文献]

- [1] 姚培元,只达石,秦进喜.神经胶质瘤的反义治疗研究进展[J].中华神经外科杂志,1999,15:123-124.
- [2] Liu J, Xu R, Jin Y, et al. Triplex targeting of human PDGF-B (c-sis, proto-oncogene) promoter specifically inhibits factors binding and PDGF-B transcription [J]. Nucleic Acids Res, 2001, 29: 783-791.
- [3] Kapoor GS, O'Rourke DM. Mitogenic signaling cascades in glioma tumors [J]. Neurosurgery, 2003, 52: 1425-1435.
- [4] 董凡,许新,景乃禾,等.反义寡核苷酸抑制肿瘤细胞表达 VEGF 的研究[J].肿瘤,1997,17:63-66.

- [5] 李维方,张光霁,朱 诚,等.立体定向大鼠 C₆脑胶质瘤动物模型的建立[J]. 功能性和立体定向神经外科杂志,2000,13:63-66.
- [6] 刘 静,徐人欢,金由辛.抑制 c-sis/PDGF-B 原癌基因表达的 TFO 设计、体外三链形成及功能的检测[J]. 中国科学(C辑),2001,31:36-42.
- [7] Broaddus WC, Prabhu SS, Gillies GT, et al. Distribution and stability of antisense phosphorothioate oligonucleotides in rodent brain following direct intraparenchymal controlled-rate infusion[J]. J Neurosurg, 1998,88:734-742.
- [8] Jensen RL. Growth factor-mediated angiogenesis in the malignant progression of glial tumors; a review[J]. Surg Neurol, 1998,49:189-195.
- [9] Tsai JC, Goldman CK, Gillespie GY. Vascular endothelial growth factor in human glioma cell lines: induced secretion by EGF, PDGF-BB, and bFGF[J]. J Neurosurg, 1995, 82: 864-873.
- [10] Thompson WD, Li WW, Maragoudakis M. The clinical manipulation of angiogenesis: pathology, side-effects, surprises, and opportunities with novel human therapies[J]. J Pathol, 2000, 190:330-337.
- [11] Cheng SY, Huang HJS, Nagane M, et al. Suppression of glioblastoma angiogenicity and tumorigenicity by inhibition of endogenous expression of vascular endothelial growth factor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996,93:8502-8507.
- [12] 李维方,张光霁,朱 诚,等. VEGF 反义寡核苷酸抑制荷瘤大鼠胶质瘤血管生成的作用和效果[J]. 解放军医学杂志, 2003, 28(2):144-147.
- [13] Potapova O, Fakhrai H, Baird S, et al. Platelet-derived growth factor-B/v-sis confers tumorigenic and metastatic phenotype to human T98G glioblastoma cells[J]. Cancer Res, 1996,56:280-286.
- [14] 李维方,周定标,余新光,等. PDGF-B 链基因的 TFO 对大鼠脑胶质瘤细胞增殖和凋亡的影响[J]. 肿瘤,2005,25:19-23.
- [15] Gao P, Hu B, Gu W, et al. Platelet-derived growth factor-B enhances glioma angiogenesis by stimulating vascular endothelial growth factor expression in tumor endothelia and by promoting pericyte recruitment[J]. Am J Pathol, 2003,162:1083-1093.
- [收稿日期] 2005-07-09 [修回日期] 2005-11-23
[本文编辑] 孙 岩

Synergism of atenolol and nitrendipine on hemodynamic amelioration and organ protection in hypertensive rats

Xie HH, Miao CY, Jiang YY, Su DF (Department of Pharmacology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] OBJECTIVE: This study was designed to investigate the possible synergism of atenolol and nitrendipine on blood pressure (BP) and blood pressure variability (BPV) reductions, baroreflex sensitivity (BRS) amelioration, and organ protection in hypertensive rats. **METHOD:** The dose was 20 mg/kg for atenolol, 10 mg/kg for nitrendipine and 20 + 10 mg/kg for the combination of these two drugs. In an acute study, a single dose was given *via* a catheter previously inserted into the stomach in spontaneously hypertensive rats (SHR). In a subacute study, SHR, deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt rats, and two-kidney, one-clip (2K1C) rats were used. They received the same dose by gavage daily for 10 days. BP was measured 24 h after drug administration. In chronic studies, these drugs at the aforementioned dose were mixed into rat chow. SHR were treated for 4 months. BP was then continuously recorded for 24 h. After the determination of BRS, rats were killed for organ-damage evaluation. **RESULTS:** In the acute study, it was found that the combination of atenolol and nitrendipine had an obviously greater and longer BP reduction than treatment with each of these two drugs separately. In the subacute study, an effective decrease in BP 24 h after administration was found only in the rats treated with the combination. In chronic studies, it was found that the combination possessed the obvious synergism on BP and BPV reduction, BRS amelioration and organ protection in SHR. Multiple-regression analysis showed that the decrease in left ventricular hypertrophy was most significantly related to the decrease in systolic BPV and BP, the decrease in aortic hypertrophy was most significantly related to the increase in BRS and the decrease in systolic BPV, and amelioration in the renal lesion was most significantly associated with the restoration of BRS. **CONCLUSION:** Treatment with a combination of atenolol and nitrendipine exhibited a rapid and persistent antihypertensive effect and possessed an obvious synergism on BP and BPV reduction, BRS restoration and organ protection in hypertensive rats. The decrease in BPV and the restoration of BRS may importantly contribute to organ protection in SHR with chronic treatment.

[J Hypertens, 2005,23: 193-201]