

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.01038

• 研究简报 •

丹红对高脂喂养自发性高血压大鼠代谢及血管功能的影响

董 皎*, 张建军, 段卫华, 张 莹

解放军第309医院中心门诊部, 北京 100082

[关键词] 丹红; 高血压; 代谢紊乱; 内皮依赖性血管舒张

[中图分类号] R 544.1

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2014)09-1038-04

Effect of *Danhong* on metabolism and vascular function of rats with high-fat diet-induced spontaneous hypertension

DONG Jiao*, ZHANG Jian-jun, DUAN Wei-hua, ZHANG Ying

Department of Out-patient, No. 309 Hospital of PLA, Beijing 100082, China

[Key words] *Danhong*; hypertension; metabolic disorder; endothelium-dependent vasodilation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(9):1038-1041]

高血压是目前最常见的一种心血管慢性疾病,也是心脑血管疾病的主要危险因素之一,其并发症有中风、冠状动脉粥样硬化性心脏病、心力衰竭、慢性肾功能不全等,这些并发症不仅致死、致残率高,而且消耗大量的医疗和社会资源,给家庭和社会带来了巨大经济和生活负担。根据《中国高血压防治指南 2010 版》^[1],目前我国有超过 2 亿高血压患者。徐兴森等^[2]研究发现,目前住院高血压患者中仅 20% 左右为单纯高血压,绝大部分患者合并有一种到几种代谢紊乱,这些代谢紊乱使高血压的靶器官损害更加严重。

丹红注射液^[3]是一种比较成熟的中成药,主要成分为丹参和红花,具有活血化瘀、通脉舒络的作用,临床上很多研究者观察到它还具有调节代谢、降低血压和改善血管功能的作用^[4-5]。但这些研究仅停留在症状的观察,部分动物实验只观察血压、血脂或血管功能等单一指标,本实验选择高血压的经典动物模型——自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR),使用高脂饲料诱导其代谢异常,然后使用丹红进行干预,来探讨丹红对代谢、血压及血管功能的影响,为临床使用提供有用的信息。

1 材料和方法

1.1 动物及干预方式 24 只 6 周龄雄性 SHR 购

自中国协和医科大学实验动物中心,动物许可证号 SCXK(京)2011-0004,体质量 150~200 g,随机分 3 组,每组 8 只:(1)普通饲料组,以普通饲料喂养;(2)高脂饲料组,以高脂饲料喂养,饲料配方^[6-7]:普通饲料 60%、猪油 12%、蔗糖 5%、奶粉 5%、花生 5%、鸡蛋 10%、麻油 1%、食盐 2%;(3)丹红+高脂饲料组,在给予高脂饲料喂养的基础上,每日经鼠尾静脉注射 1 mL/kg 的丹红注射液。SHR 先适应性喂养 1 周,然后根据分组给予干预,共干预 12 周。

1.2 实验仪器和试剂 丹红注射液(针剂,菏泽步长制药有限公司,批号 090114,规格 10 mL/支)。乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)、苯肾上腺素(phenylephrine, PE)、硝基左旋精氨酸甲酯(N^G-nitro-L-arginine methylester, L-NAME)、硝酸甘油(nitroglycerin, NTG)均购自美国 Sigma 公司。总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)均购自北京北方生物研究所;鼠尾血压测试仪(Powerlab2/25,澳大利亚);小血管张力测定仪(Multiwire myograph system, 丹麦);Power Lab 生物信号采集分析系统及张力换能器(Powerlab/8SP ADI, 澳大利亚);全自动生化测定仪(Beckman Coulter Synchron LX20, 美国)。

1.3 体质量及鼠尾收缩压的测定 SHR 每 2 周测

[收稿日期] 2014-03-10 [接受日期] 2014-07-01

[作者简介] 董皎, 硕士, 副主任药师。

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 010-66780167, E-mail: 2297895589@qq.com

量1次体质量,并使用鼠尾血压测试仪测量每只大鼠的鼠尾收缩压,测量3次,取平均值作为鼠尾血压。

1.4 血浆及血浆指标的测定 干预结束后,大鼠禁食12 h,用45 mg/kg戊巴比妥进行腹腔注射麻醉,从腹主动脉取血5 mL,加入抗凝管中,1 500×g离心10 min,分离血浆,存放于-70℃待测。血浆葡萄糖、TC、TG、HDL-C、LDL-C用全自动生化分析仪测定。

1.5 血管环的获取 大鼠处死取血后,立即取出胸主动脉,置4℃ Krebs液中(NaCl 119 mmol/L, KCl 4.7 mmol/L, MgSO₄ 1.17 mmol/L, CaCl₂ 2.5 mmol/L, KH₂PO₄ 1.18 mmol/L, NaHCO₃ 25 mmol/L, 葡萄糖 5.5 mmol/L, EDTA 0.03 mmol/L),在解剖显微镜下迅速而小心地剔除血管周围结缔组织,剪取长约5 mm主动脉血管悬挂于张力检测仪中进行实验。

1.6 血管环张力实验 血管环置于浴槽中加入6 mL Krebs液,并持续通以混合气(5% CO₂ + 95% O₂),灌流器水温保持在37℃左右。调节血管环的初张力,并稳定在2 g,平衡约30 min。以60 mmol/L KCL溶液预激3次后测定血管的舒张功能。

1.6.1 内皮依赖性舒张功能 (1)在浴槽中加入PE(10⁻⁵ mol/L)使血管环收缩,到达收缩平台后以累积给药法依次加入Ach(10⁻⁹~10⁻⁵ mol/L),注意在加入下一剂量时必须等上一剂量反应到达平台期,观察血管环对Ach的反应性。(2)在浴槽中加入L-NAME 100 mmol/L预孵30 min,再重复步骤(1)的操作,考察在抑制内皮型一氧化氮合酶(eNOS)活性后各组的反应性。

1.6.2 非内皮依赖性舒张功能 先加入PE(10⁻⁵

mol/L)使血管环收缩,达收缩平台后加入不同浓度NTG(10⁻⁹~10⁻⁵ mol/L),观察血管环对NTG的反应性。

以PE的最高收缩值为分母,每一剂量的舒张幅值(峰值-最低值)为分子,计算舒张百分比。内皮依赖性的舒张反应以Ach所致舒张幅值占收缩幅值之比表示;非内皮依赖性的舒张反应以NTG所致舒张幅值占PE所致收缩幅值之比表示。

1.7 统计学处理 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用Graphpad Prism 5.0和SPSS 13.0软件进行制图和统计,组间的均数比较使用单因素方差分析(One-Way ANOVA),检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量的比较结果 较普通饲料组,使用高脂饲料喂养的SHR体质量增加,体型肥胖,在第10周和第12周两组之间的差异有统计学意义($P < 0.05$);加用丹红以后,可以有效防止高脂饲料引起的SHR体质量增加,在10周以后,丹红+高脂饲料组SHR体质量较高脂饲料组下降,差异有统计学意义($P < 0.05$,图1A)。

2.2 各组SHR鼠尾收缩压比较 图1B可见,SHR的血压随着成长逐渐升高并达到一个稳定的平台,普通饲料组SHR鼠尾收缩压逐渐升高并稳定在210 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)左右。高脂饲料喂养可以更一步的升高SHR的鼠尾收缩压,在第4周以后,与普通饲料组比较,两组差异有统计学意义($P < 0.01$)。丹红可以缓解高脂饲料引起的收缩压升高,在4周后丹红+高脂饲料组与高脂饲料组的鼠尾收缩压差异有统计学意义($P < 0.05$)。

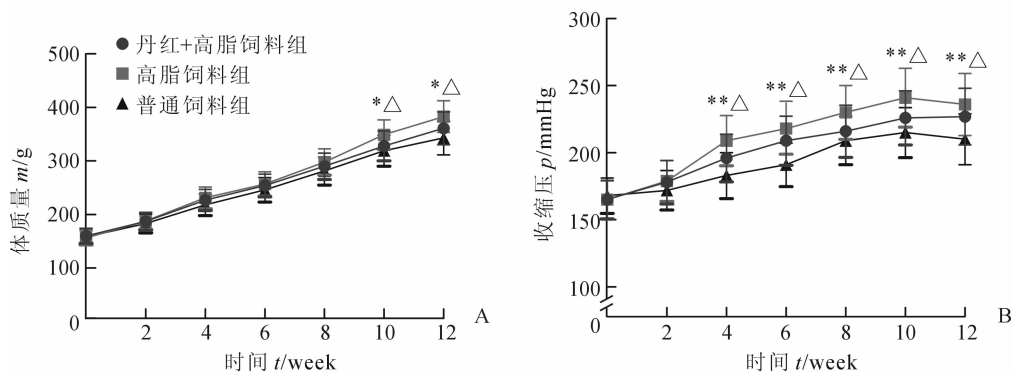


图1 各组大鼠的体质量变化(A)与鼠尾收缩压变化(B)结果

1 mmHg=0.133 kPa. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与普通饲料组比较; $\Delta P < 0.05$ 与丹红+高脂饲料组比较. $n=8$, $\bar{x} \pm s$

2.3 各组大鼠血糖、血脂水平的比较 高脂饲料喂养除了影响体质量和血压外,对 SHR 的代谢也有明显的影响,高脂饲料可以增高 SHR 的空腹血糖水平[普通饲料组(5.46 ± 0.43)mmol/L vs 高脂饲料组(6.97 ± 0.72)mmol/L, $P < 0.01$],这种作用可以被丹红缓解[高脂饲料组(6.97 ± 0.72)mmol/L vs 丹

红+高脂饲料组(6.04 ± 0.62)mmol/L, $P < 0.05$].高脂饲料喂养还可增高 SHR 的 TG、TC、LDL-C,降低 HDL-C($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);丹红对血脂也有一定的调节作用,它可以降低高脂饲料喂养引起的 TC、LDL-C 升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,表 1)。

表 1 各组大鼠血脂水平的比较

分组	三酰甘油	总胆固醇	低密度脂蛋白胆固醇	高密度脂蛋白胆固醇
普通饲料组	0.868 ± 0.164	3.908 ± 0.858	1.678 ± 0.465	0.985 ± 0.238
高脂饲料组	$1.064 \pm 0.142^*$	$6.387 \pm 0.998^{**}$	$3.992 \pm 0.735^{**}$	$0.714 \pm 0.102^*$
丹红+高脂饲料组	0.956 ± 0.154	$5.402 \pm 0.816^\Delta$	$2.097 \pm 0.442^{\Delta\Delta}$	0.817 ± 0.110

$c_B / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}), n=8, \bar{x} \pm s$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与普通饲料组比较; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 与高脂饲料组比较

2.4 各组大鼠舒张功能变化情况 SHR 的内皮依赖性舒张功能本身就下降,当高脂饲料增加大鼠的体质量、血压、血糖和血脂后,内皮依赖性舒张功能进一步下降,差异有统计学意义($P < 0.01$);丹红可以部分改善这种作用,使主动脉的内皮依赖性舒张

功能得到一定的恢复,两组间差异有统计学意义($P < 0.05$,图 2A)。在使用抑制剂 L-NAME 后,这种差异消失(图 2B)。各组间非内皮依赖性的舒张功能差异无统计学意义(图 2C)。

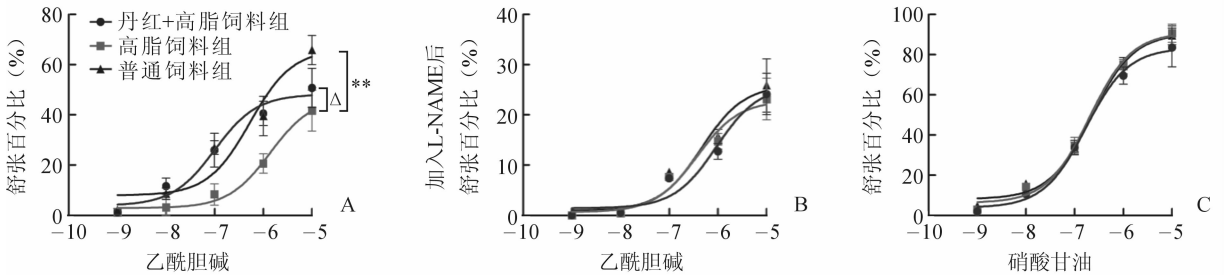


图 2 各组大鼠内皮依赖性舒张功能(A,B)和非内皮依赖性舒张功能(C)变化情况

A:乙酰胆碱诱导的自发高血压大鼠主动脉舒张功能;B:硝基左旋精氨酸甲酯(L-NAME)孵育后自发高血压大鼠主动脉舒张功能;C:硝酸甘油诱导的自发高血压大鼠主动脉舒张功能. ** $P < 0.01$ 与普通饲料组比较; $\Delta P < 0.05$ 与高脂饲料组比较. $n=8, \bar{x} \pm s$

3 讨论

国内外流行病学研究^[8-10]显示,随着经济的发展和生活方式的改变,肥胖、糖尿病、高脂血症、代谢综合征、高尿酸血症等的发病率逐渐升高,已经成为高血压的主要危险因素^[2],在《中国高血压防治指南 2010 版》^[1]及国外的多种高血压指南中均将肥胖、糖代谢异常、血脂异常等列为主要的心血管危险因素。本研究发现,丹红可以降低高脂饲料喂养的 SHR 的体质量、血压、血糖、血脂并能改善其主动脉

的内皮依赖性舒张功能,可能具有一定的心血管保护作用。

丹红注射液的主要化学成分有丹参酮、丹参酚酸、红花黄色素、红花酚苷和儿茶酚花等。丹参可以抑制细胞内源性胆固醇的合成,抗脂蛋白化,从而降低胆固醇,还可以加速脂类自由基的清除,具有抗氧化作用,阻止低密度脂蛋白的氧化。李黔云等^[11]研究证实,丹红有降低血脂、血液黏稠度作用;管高峰等^[5]发现,丹红可以降低新西兰雄性白兔的 TC 和 LDL-C;劳兆友^[12]和仲崇涛等^[13]分别证实,红花明

显降低 TC、TG 和血液黏稠度;葛卉晖等^[4]在统计分析了大量文献后得出,丹红注射液能降低胆固醇、TG 和 LDL-C 的水平,提高 HDL-C 的水平。本研究结果显示,丹红可以降低高脂饲料诱导的 SHR 高 TG 和高 LDL-C,与上述国内研究结果基本一致。管高峰等^[5]研究证实,丹红注射液可以调节血管内皮细胞生成和释放一氧化氮(NO)、内皮素(ET),保护血管内皮细胞功能,改善血管舒张功能。陈荣花等^[14]证实,丹红可以增加 NO、ET-1、降低 C 反应蛋白(CRP)和调节血脂,改善血流介导的内皮依赖性舒张功能。本研究发现,丹红除了调节代谢外,还可改善高脂诱导的 SHR 主动脉内皮依赖性舒张功能,当其被 L-NAME 抑制或使用非内皮依赖性舒张剂硝酸甘油后,各组间没有差异,结合上述研究我们推断:丹红可以通过改善代谢和内皮功能来恢复高血压所致的血管功能损伤。黄禄勇等^[15]研究发现,丹红可以通过增加患者的抗氧化能力、缓解血管超负荷指数和动脉弹性来改善血压的异常升高,降低原发性高血压患者的血压,我们也发现丹红对高脂饲料诱导的 SHR 具有一定的降压作用,但我们推测这种血压的降低更多获益于代谢的改善和血管舒张功能的恢复。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 刘力生. 中国高血压防治指南 2010[J]. 中华高血压杂志, 2011, 19: 701-708.

[2] 徐兴森, 杨万涛, 刘道燕, 钟健, 田志强, 闫振成, 等. 高血压合并代谢紊乱及对心肾血管的影响[J]. 中华高血压杂志, 2006, 14: 894-898.

[3] 邵明辉, 刘兰梅, 马仁强, 李雪, 庞建新, 徐江平. 丹红注射液一般药理学实验研究[J]. 第一军医大学学报,

2005, 25: 335-338.

- [4] 葛卉晖, 嵇宏亮, 留永咏. 丹红注射液对血脂影响的 Meta 分析[J]. 中国药业, 2012, 21: 14-16.
- [5] 管高峰, 华先平, 王琳, 杜令, 孔祥辉. 丹红注射液对动脉粥样硬化家兔脂代谢及血管内皮功能的影响[J]. 临床心血管病杂志, 2007, 23: 304-306.
- [6] 孙志, 张中成, 刘志诚. 营养性肥胖动物模型的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2002, 18: 466-467.
- [7] 程志清, 黄科. 高血压合并肥胖大鼠动物模型的建立[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31: 291-292.
- [8] 赵秀丽, 陈捷, 崔艳丽, 武峰, 胡大一. 中国 14 省市高血压现状的流行病学研究[J]. 中华医学杂志, 2006, 86: 1148-1152.
- [9] Egan B M, Zhao Y, Axon R N. US trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension, 1988-2008[J]. JAMA, 2010, 303: 2043-2050.
- [10] Schlaich M P, Grassi G, Lambert G W, Straznicki N, Esler M D, Dixon J, et al. European Society of Hypertension Working Group on Obesity Obesity-induced hypertension and target organ damage: current knowledge and future directions[J]. J Hypertens, 2009, 27: 207-211.
- [11] 李黔云, 李冰. 丹红注射液治疗冠心病 30 例疗效观察[J]. 云南中医中药杂志, 2006, 27: 26.
- [12] 劳兆友. 红花注射液治疗冠心病心绞痛合并高脂血症 100 例临床观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2004, 2: 318-319.
- [13] 仲崇涛, 闫洪泉. 丹红注射液加脑心痛胶囊治疗 1 期糖尿病足疗效观察[J]. 人民军医, 2010, 53: 687-688.
- [14] 陈荣花, 宋巧凤, 冯计辰, 潘荟丞, 肖四海, 魏民. 丹红注射液对高脂血症内皮功能影响的观察[J]. 人民军医, 2011, 54: 590-591.
- [15] 黄禄勇, 张智. 丹红注射液对原发性高血压患者抗氧化能力及血管超负荷指数, 动脉弹性的影响[J]. 海南医学院学报, 2012, 18: 1704-1707.

[本文编辑] 尹茶