

• 实验研究 •

中医阴阳的实验性研究(V)

附子、肉桂对肾上腺再生高血压大鼠的作用

上海市高血压研究所 卞安堃 顾德官 宋代军 邱喜盛 黄 申

内容提要 用助阳药附子、肉桂对肾上腺再生高血压模型的实验表明,附桂二味或肉桂单味均明显减低高血压大鼠的血压($P<0.01$)和尿醛固酮排出($P<0.001$)。肉桂显著增高纹状体和下丘脑的脑啡肽含量($P<0.001$)。附子、肉桂明显改善胸主动脉内膜的高血压性损害。结果说明助阳药附子、肉桂对肾上腺再生高血压呈一定治疗效应,支持该模型可能属中医“阳虚”模型的观点。

通过对Goldblatt二肾一夹高血压大鼠的研究,初步看到“助阳”或是“滋阴”不同属性的药物对这一模型的某些生化因子(如脑组织脑啡肽或心肌羟脯氨酸等)有相反的效应。即助阳药对疾病的进程具加剧作用,而滋阴药有一定的治疗效果。从而由药物验证的观点看,二肾一夹肾血管性高血压模型可能是中医的阴虚模型⁽¹⁾。为进一步探索同一属性的药物对不同疾病模型可能具有的相反效应,我们对肾上腺再生性高血压(Skelton,1955)作了研究。本文介绍助阳药附子、肉桂对该模型血压、尿醛固酮、脑组织脑啡肽、血浆18-羟-脱氧皮质酮及胸主动脉内膜超微结构等的影响。结果支持该模型可能属中医“阳虚”模型。

材料和方法

实验用105~230g的Wistar纯种大鼠41只,雌性。以尾容积法测定间接动脉收缩压。大鼠测得正常血压后,其中11只大鼠作为正常对照,其余为肾上腺再生性高血压模型。手术将大鼠左侧肾脏和肾上腺切除,右侧肾上腺挖去髓质和大部分皮质,术后饮用1%氯化钠溶液⁽²⁾。术后7周时把高血压大鼠分成高血压、附桂二味和肉桂单味三组,分别用药液或饮水(高血压对照)灌胃观察。服药3周时,各组大鼠分别由集尿笼收集24小时尿液以备测定。3周末各组大鼠断头采血并选取脑组织和胸主动脉标本。

中药材附子、肉桂一次进货,由瑞金医院中药房提供。常法水煎并适当浓缩至便于灌服。每天按附子3.6g/kg和肉桂1.8g/kg剂量,分二次服,共3周。

尿标本作醛固酮(aldosterone,UA)放射免疫测定⁽³⁾和激肽释放酶(kallikrein,UKa)的测定⁽⁴⁾。血标本作18-OH-DOC的放射免疫测定⁽⁵⁾。脑组织按自然

界限分成脑干、纹状体和下丘脑三个区作亮脑啡肽(L-enkephalin,LEK)的放射免疫测定⁽⁶⁾。胸主动脉作常规电镜包埋,在LKB机上作超薄切片,用日立牌H-500型电镜作透射电镜观察。

结 果

1.血压:11只正常血压大鼠,在10周实验期间血压一直稳定在101~107mmHg,波动很小。高血压大鼠自造型术后第2周始测定血压,已有升高,至第6周即已接近或达到血压曲线均值,于第7周分组观察。正常和高血压对照组观察期间以普通饮水灌胃。高血压对照组的血压基本保持在原水平。附桂二味组的血压,在服药后第1周血压不变,于第2周血压有所下降,一直从服药前的 137 ± 7 mmHg($M\pm SD$,下同)明显降至服药后第3周 127 ± 7 mmHg($P<0.01$) (图1)。而肉桂单味组服药后第1周血压即明显下降,由服药前的 140 ± 6 mmHg显著下降至服药后3周的 120 ± 8 mmHg($P<0.001$)。

2.尿醛固酮、激肽释放酶和血浆18-OH-DOC:服

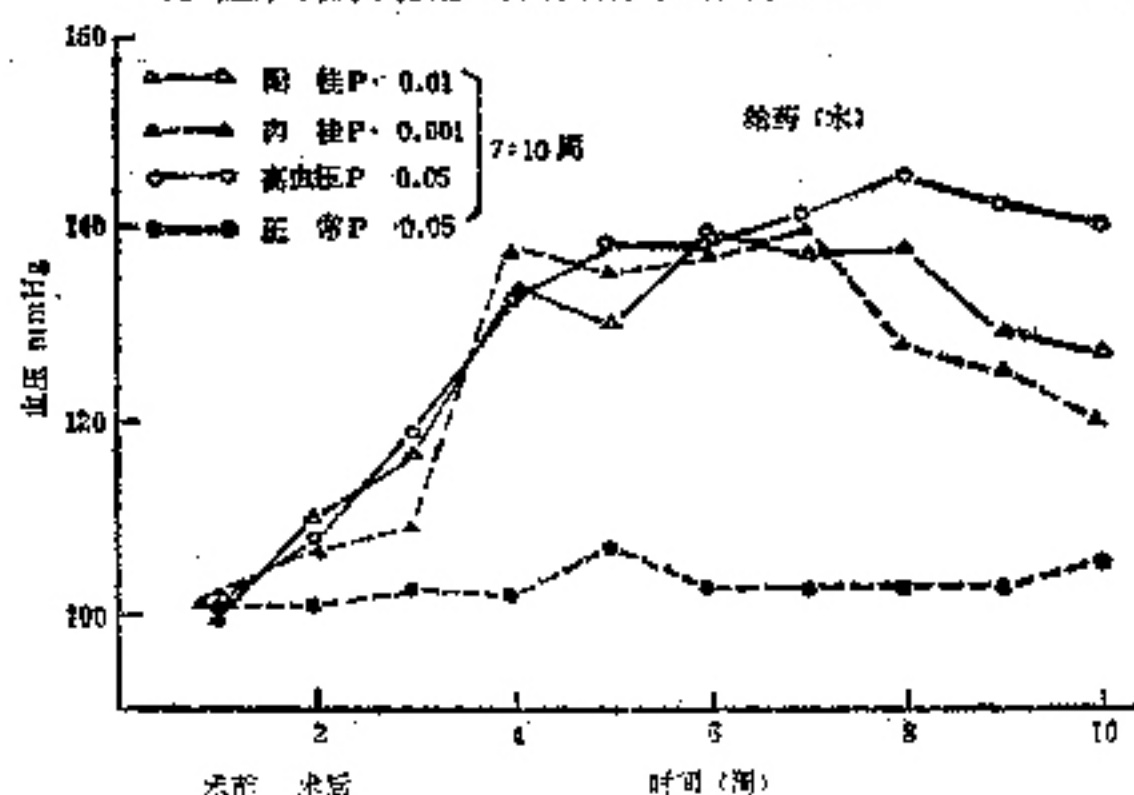


图1 附子肉桂对肾上腺再生高血压大鼠血压的影响

表1 附子、肉桂对醛固酮等的影响

组别	UA ng/24h	Uka μmol/min	18-OH-DOC ng/ml
正 常	177.50± 111.59 (10)	22.92± 8.16 (10)	53.09± 35.72 (11)
高血压	300.00± 52.87ΔΔ(11)	15.61± 6.11Δ(11)	51.82± 24.96 (11)
附 桂	122.78± 59.32*** (9)	19.47± 10.69 (10)	49.10± 23.76 (10)
肉 桂	153.89± 52.31*** (9)	17.86± 11.23 (9)	72.13± 28.18* (8)

正 常: 高血压 $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ 高血压: 给药组 $*P < 0.05$ $***P < 0.001$

() 内为动物数, 下同

药后第3周, 即术后10周各组的实验结果列于表1。醛固酮的尿排出24小时总量高血压组显著高于正常对照组($P < 0.01$)。在服药后3周无论是附桂二味组还是肉桂单味组均显著低于高血压对照组($P < 0.001$)。

肾上腺再生高血压大鼠的尿激肽释放酶, 以每分钟水解基质的微克分子量为单位, 则明显低于正常血压大鼠。附桂二味和肉桂单味服药3周后对UKa的影响虽未达统计显著, 但可看到有使它回升的趋势。

血浆18-OH-DOC的含量, 肾上腺再生高血压与正常血压大鼠无明显差别。服药后附桂二味对其也无明显的影响, 只在肉桂单味组看到比高血压对照组或正常大鼠有明显区别($P < 0.05$)。

3. 脑组织脑啡肽的变化: 内啡肽是一类神经递质和调制物质, 影响身体许多生理功能, 也参与心血管活动的调节。对二肾一夹肾血管性高血压大鼠的实验观察到附子、肉桂对脑啡肽有明显的抑制性作用。本实验就肾上腺再生高血压作研究。结果(表2)表明, 正常血压大鼠LEK含量纹状体最丰富, 其次为下丘脑, 而脑干含量最低。这与文献报道和我们先前的工作相一致。本高血压模型大鼠脑组织LEK仍以纹状体最高,

表2 附子、肉桂对脑组织脑啡肽的影响

组 别	LEK pg/mg		
	脑 干	纹 状 体	下 丘 脑
正 常	102.64± 10.04 (11)	243.36± 32.78 (11)	206.35± 21.08 (11)
高血压	84.55± 13.31Δ (11)	172.18± 13.98ΔΔΔ (11)	167.27± 21.84ΔΔΔ (11)
附 桂	67.00± 12.73** (10)	162.10± 19.30 (10)	142.00± 21.27* (10)
肉 桂	84.50± 8.60 (8)	239.00± 25.97*** (8)	196.00± 9.21*** (8)

正 常: 高血压 $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ 高血压: 给药组 $*P < 0.05$ $**P < 0.001$

脑干最低。附子、肉桂的作用并不改变上述含量顺序。

表2可见, 术后10周肾上腺再生高血压大鼠, 各脑区LEK含量均显著低于正常血压大鼠, 尤以纹状体和下丘脑更甚。附子、肉桂二味组脑干和下丘脑的LEK减低, 对纹状体却并不明显。但单味助阳药肉桂除对脑干的LEK无明显影响外, 对纹状体和下丘脑的LEK却明显增高。即使纹状体和下丘脑的LEK含量显著回升并接近正常血压大鼠的LEK水平。

4. 胸主动脉内膜超微结构的改变: 胸主动脉为大动脉, 属弹性动脉, 管壁中含弹性组织最多。胸主动脉大致分为内膜、中膜和外膜三层。对内膜的研究很重要, 如内膜的内皮细胞层可以不同地对各种高血压性刺激起反应⁽⁷⁾。为此, 本文选取胸主动脉标本进行普通电镜观察, 探索其内膜在高血压和助阳药作用下的变化。对正常、高血压、附桂和肉桂四组大鼠各选取5只大鼠的胸主动脉标本。

图2显示电镜观察胸主动脉内膜的变化。正常血压大鼠内膜(A): 单层内皮细胞扁平或呈圆钝状稍向管腔隆起, 细胞界限清晰; 内弹力层清晰; 介于两者之间的内皮下层很薄, 其结缔组织细胞间隙少。而肾上腺再生高血压大鼠的胸主动脉内膜(B): 内皮下层增厚, 其结缔组织细胞间隙明显增大、增多; 内皮细胞向管腔突起, 甚者脱落, 细胞外形不规则且界线模糊。附桂二味药物灌服3周后的大鼠(C), 内皮下层变薄, 细胞间隙较之高血压组明显减少、变小; 内皮细胞的隆起转缓, 但不论细胞质或核其界限已清晰可见。尤其是肉桂组, 服药后其内膜的改善更为明显(D), 又可见到一些边界清晰的扁平状内皮细胞, 它们与内皮下层的接触紧密, 内皮下层虽还有少量结缔组织细胞间隙, 但较之高血压大鼠明显好转。

讨 论

在二肾一夹肾血管性高血压大鼠, 助阳药附子、肉桂进一步恶化它们的血压⁽⁸⁾。但却显著地降低肾上腺再生性高血压大鼠的血压。

醛固酮是十分重要的盐皮质激素, 其生理功能是潴钠排钾, 它在慢性高血压维持机制中起作用。二肾一夹肾血管性高血压大鼠和肾上腺再生高血压大鼠两者尿醛固酮排出都升高, 助阳药附子、肉桂使前者的尿醛固酮更高, 但却使后者的尿醛固酮的排出显著减低。

脑啡肽的缺乏有利于交感活性增高, 即有利于某种类型高血压的产生⁽⁹⁾。助阳药肉桂十分显著地提高肾上腺再生高血压大鼠纹状体和下丘脑的脑啡肽含量, 有利于降压, 是可能的一种治疗作用。但它们却



图2 各组大鼠胸主动脉内膜的电镜观察 →内皮细胞 >内皮下层 ⇨内弹力层
A 正常 ×10000 B 高血压 ×6720 C 附桂 ×5000 D 肉桂 ×5000

明显的减低二肾一夹肾血管性高血压大鼠的脑组织脑啡肽。

对肾上腺再生高血压大鼠胸主动脉内膜的电镜观察表明,无论附桂二味或是肉桂单味均呈现治疗作用。它们使高血压大鼠内皮细胞和内皮下层病变好转。这与附桂对二肾一夹肾血管性高血压心肌的不利作用似乎明显不同⁽¹⁾。

综上所述,助阳药附子、肉桂对发病机理不同的肾血管性高血压和肾上腺皮质再生激素性高血压两种模型确有性质相反的作用。由药物验证观点看,这一结果支持后一种高血压可能属中医“阳虚”模型的推测。

我们在研究阴阳学说时以环核苷酸为指标,阳虚者 cAMP/cGMP 偏低,阴虚者偏高。用中药纠正甲减(阳虚)或甲亢(阴虚)及冠心病(阳虚型),这些疾病的临床症状均趋好转,同时不正常的环核苷酸也转化为正常或接近正常^(10,11)。通常这些药没有直接治疗上述疾病的作用,但一旦阴阳有所调整,就可获得一定疗效。我们对实验性高血压的研究得到类似结果。传统

医学的四诊八纲以辨阴阳为总纲,上述研究于某种意义上验证了中医的这一理论。当然中医的辨证是错综复杂的,有待进一步探索。可见阴阳虚证的实验性研究有一定的理论和实践价值。

(上海市内分泌研究所李果,本所茅守玉、陈贤妙、叶明浩协助工作,特此致谢。)

参 考 文 献

1. 邱安堃,等。中医阴阳的实验性研究(IV),中西医结合杂志1985; 5(3):167。
2. 顾德官,等。实验性高血压大鼠的血压观察。上海第二医学院学报1985; 5(2):102。
3. 丁 鑫,等。尿醛固酮放射免疫测定。上海医学1979; 2(6):47。
4. 宋代军,等。应用分光光度法测定大鼠尿激肽释放酶。上海第二医学院学报1985; 5(2):111。
5. 李 果,等。18-羟-11-去氧皮质酮的调节及病理变化。中华内科杂志1985; 24(2):94。
6. 陆以信,等。脑啡肽的放射免疫测定。生物化学与生物物理学报1980; 12(2):115。
7. Huttner I, et al. Aortic intima of the rat in various.

皮质类固醇激素的释放也减少^(5,8,9)。国内曾有人报道,外源性肾上腺皮质激素造成动物肾上腺皮质功能的“耗竭”^(9~11)。本实验采用地塞米松混悬液对动物灌胃,剂量为 $7.5\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重。在用药后7天和30天,D组动物的血浆皮质酮水平均明显地低于C组,表明动物的HPA轴功能已明显受抑。

本实验应用Feulgen反应这一组织化学专一性的单色染色法,在光镜下测量各实验组束状带细胞核的大小,避免了视野内其它有色物体的干扰,结果以7天实验DYi组及30天实验DYa组细胞核面积接近于C组。进一步观察束状带细胞的超微结构,发现给予地塞米松的D组动物束状带细胞线粒体含嵴数减少,线粒体内大量囊泡状嵴转变为管状嵴,脂滴数增多,细胞内出现致密螺旋膜状体等等变化。而给予地塞米松同时还分别给予滋肾阴或温肾阳中药,可见7天实验DYi组或30天实验DYa组的这些由激素引起的“耗竭”性变化要小得多。经统计学处理,证明这些细胞超微结构改变确实能反映一定的功能意义。

上述电镜与光镜的观察结果,一方面从形态学角度说明了D组动物肾上腺皮质功能处于低下状态,HPA轴受抑动物模型成立;另一方面,联系各实验组血浆皮质酮水平:7天实验DYi组及C组均显著高于D组;30天实验C组及DYa组均显著高于DYi组与D组,说明了各实验组不同功能状态和形态结构改变具有一致性。

至于7天实验DYa组血浆皮质酮水平高于D组,而束状带超微结构观察结果却表明此时DYa组肾上腺皮质已处于受抑状态;对这一现象的解释,是否由于:不同的实验指标对事物变化的敏感程度各异,出现这些变化的时间亦可前后参差。7天动物实验DYa组血浆皮质酮水平这一指标尚高于D组时,束状带超微结构观察这一微观指标却已显示出受抑的变化;也可能是,在整个肾上腺皮质功能还处于一种代偿状态时,部分束状带细胞的超微结构已显示出一定受抑变化;此外,温补肾阳药是否可能干扰血浆皮质酮的测定,这些都有待于进一步研究。

三、关于补肾中药配合激素应用的不同阶段效应

上海第一医学院脏象专题组1960年以后的研究表明:肾阳虚患者有HPA轴功能低下和紊乱⁽¹¹⁾。应用温补肾阳药治疗后,则可使大部份患者的功能紊乱从症状或临床检验上得到改善或纠正⁽¹¹⁾。动物实验还观察到:长期大剂量喂饲激素可引起肾上腺皮质明显萎缩,而以滋阴泻火或温补肾阳中药与激素同时喂饲,则可在一定程度上对抗激素对肾上腺皮质的抑

制作用,使皮质的萎缩程度明显减轻。

本实验设计除对照组外,设D组、DYi组和DYa组,实验分短期(7天)和长期(30天)两大组,以了解补肾中药配合激素应用的不同阶段效应。综合7天实验和30天实验各组形态学和功能定量分析结果,可以看出,7天实验的DYi组及C组,其功能明显优于DYa组及D组;30天实验的DYa组及C组,其功能显著优于DYi组及D组。这些结果表明,补肾中药能部分拮抗地塞米松对肾上腺皮质功能的抑制,对动物的HPA轴起一定的保护作用;滋肾阴中药的这种保护作用,在配合激素应用的早期(7天)为好,在后期(30天)以温肾阳中药为突出。至于应用激素的早期与后期之间的确切期限,目前还难以定出截然界线,这可能还与种系(人与大鼠)以及个体原来素质倾向有关,有待于今后进一步研究。(本文图见插页1)

参 考 文 献

1. 沈自尹等:肾阳虚病人的垂体—肾上腺皮质系统的改变. 上海中医药杂志 2:34, 1979
2. Kahr: A C: Selective inhibition by chloramphenicol of ACTH-induced reorganization of inner mitochondrial membranes in fetal adrenal cortical cells in tissue cultures, Am J Anat 127:103, 1970
3. Fujita H: Adrenal Cortex, in Kurosuni K and Fujita H(Ed.): An Atlas of Electron Micrographs—Functional Morphology of Endocrine Glands, Chapt 9, PP. 300-342, IGAKU SHOIN LTD, Tokyo, 1974
4. Nusadorfer G G, et al: A Stereologic study of the effects of ACTH and cyclic adenosine-3', 5'-monophosphate on adrenal cortical cells of intact and hypophysectomized rats, Lab Invest 26: 45, 1972
5. Moses H L, et al: Adrenal cholesterol: localization by electron microscope autoradiography, Science 163: 1,203, 1969
6. Deane H W: in Paley S L (Ed.): Frontiers in Cytology, P. 227, Yale Univ Press, New Haven Connecticut, 1958
7. Rhodin J A G: The ultrastructure of the adrenal cortex of the rat under normal and experimental conditions, J Ultrastr Res 34: 23, 1971
8. Dallman M F, et al: Corticosteroid feedback control of ACTH in the rat, Endocr 91: 961, 1972
9. 邢安堃等:某些助阳药对于大剂量皮质激素所致耗竭现象的影响. 中华内科杂志 11(2):113, 1953
10. 上海中医学院正常人体学教研组:阳虚、阴虚造型以及某些助阳药和滋阴药作用的初步研究. 新医学杂志 (9):33, 1977
11. 姜春华等:《祖国医学肾的研究》, 第二版, 上海科学技术出版社, 上海, 1981

Experimental Research on Yin-Yang of TCM (V)
Effect of *Aconitum Carmichaeli* and *Cinnamomum Cassia* on Hypertensive Rats
Induced by Adrenal Regeneration

Kuang Ankun (邝安堃), Gu Deguan (顾德官), et al
Shanghai Institute of Hypertension, Shanghai

The experiment showed that *Aconitum carmichaeli* and *Cinnamomum cassia* markedly reduced the blood pressure ($P < 0.01$) and urinary aldosterone (UA, $P < 0.001$) in the hypertensive rats induced by adrenal regeneration. The level of L-enkephalin (LEK) in brain tissue was lower in the hypertensive rats than in the normal rats, while the *Cinnamomum cassia* obviously increased it ($P < 0.001$). The electron microscopy of aortic intima in rats showed that endothelial cells and subendothelial layer of the lesion caused by hypertension were improved by using these two medicinal herbs. These Yang tonifying drugs might cure hypertensive rats induced by adrenal regeneration, it suggested that this animal model possibly belongs to the Yang deficiency model of TCM, also supported the hypothesis that the Yin or Yang tonifying drug may exert allopathic effect on the Yin or Yang deficiency model of hypertensive rats, which conforms to the theory of TCM. Hence, the right choice of drug can cure Yin or Yang deficiency both in man or animal models, as shown in this and our preceding papers. (Original article on page 353)

Experimental Study on Acute Blood Stasis Model in Rabbits

Bao Jun (鲍军), et al
Research Laboratory of TCM, Second Affiliated Hospital of
Zhejiang Medical College, Hangzhou

Based on the close relationship between hypercoagulation and blood stasis, the author devised the acute blood stasis model of rabbit by injecting dextran of high molecular weight mixed with thrombin into the vein of rabbit's ear. ATIII, KPTT, PT, Fbg, FDP were tested constantly as observing criteria. The change of these indices caused by injection is statistically significant ($P < 0.05 \sim 0.001$).

The rabbit became inactive after injection and cyanosis appear in the rabbit's ears, blood stasis and hemorrhage could be seen in the lungs, liver, kidneys and other internal organs of rabbits. Thrombosis and congestion could be observed under the light microscopy. The platelet counts decreased and the majority of platelets broke into fragments. the pseudopodia formation and dense aggregation occurred in a minor part of platelets under the scanning electron microscopy. PO₂ and SO₂ lowered as well.

All the changes described above appeared immediately after injection and persisted for 6~12 hours and is corresponding with the diagnostic criteria of blood stasis set by the Specialized Committee of Promoting the Blood Circulation and Relieving the Stasis. So it could be taken as an acute blood stasis model.

This model is recommendable for the following advantages: The material is easy to get, the method is simple, and the experimental animal does not die from injection. (Original article on page 357)

Influence of the Zhibao Sanbian Pill (至宝三鞭丸) on Immunological Function in Mice

Wang Long (王 龙), Dong Zaizhen (董再珍), Zheng Baocan (郑宝灿), et al
Department of Biology, Shandong University, Jinan

The experimental results indicated that: (1) The Zhibao Sanbian Pill (20% solution) markedly promoted phagocytosis of the peritoneal macrophage of mice when it was administered into stomach at a dose of 0.5 ml/mouse per day for 6 days. (2) When the said dose was administered into stomach for 11 days, it could promote antibody-forming cells to produce specific antibody markedly. (3) The phagocytosis of peritoneal macrophage of mice would be suppressed when hydrocortisone was intramuscularly injected at a dose of 0.25 mg/mouse per day for 7 days, but the suppressing effect could be counteracted when the Zhibao Sanbian Pill was used at the same time.

It is thus possible to assume that the Zhibao Sanbian Pill might be a good immunopotentiator, and could be used widely in the prevention and treatment of tumors and other diseases.

(Original article on page 360)