

灯盏细辛注射液对自发性高血压大鼠 心室及血管重构的影响*

周建中 雷 寒 陈运贞 李法琦

内容提要 目的:观察灯盏细辛注射液对自发性高血压大鼠(SHR)心室及血管重构逆转作用。方法:将10月龄SHR 24只按性别、体重、初始收缩压配对分为灯盏细辛、福辛普利、依那普利和生理盐水(对照)4组,各给药组给药剂量为 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 腹腔内注射,连续8周。测定血压、心室重量指数及心肌细胞蛋白激酶C(PKC)活性,偏振光镜、透射电镜观察心脏、血管结构改变。图像分析计算心肌间质胶原面积及含量。结果:灯盏细辛、福辛普利、依那普利组左心室肥厚有不同程度的消退,心率、右心室心脏重量指数无明显变化($P>0.05$),福辛普利、依那普利组降压及减低左心室心脏重量指数比灯盏细辛组明显,但心肌细胞肥大、变性等镜下结构改善灯盏细辛组比福辛普利、依那普利组更明显。3种药物均能明显改善心肌间质及血管重构,灯盏细辛组心肌间质胶原面积、含量及胶原容积分数较对照组明显减少,3个用药组间差异无显著性($P>0.05$)。各用药组均能显著降低SHR心肌细胞膜PKC活性($P<0.01$),且灯盏细辛组较福辛普利、依那普利组更明显($P<0.05$)。结论:灯盏细辛可逆转SHR心肌、间质及血管重构,改善心肌僵硬度,具有心脏保护作用。

关键词 自发性高血压大鼠 心室重构及血管重构 灯盏细辛 福辛普利 依那普利 胶原

Effect of *Erigeron breviscapus* Injection on Ventricular and Vascular Remodeling in Spontaneous Hypertension Rats ZHOU Jian-zhong, LEI Han, CHEN Yun-zhen, et al *The First Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing (400016)*

Objective: To observe the ventricular and vascular remodeling reversal effect of *Erigeron breviscapus* injection (EBI), a protein kinase C inhibitor, in spontaneous hypertension rats (SHR). **Methods:** Twenty-four SHR were divided into 4 groups, they were treated respectively with EBI, Fosinopril, Enalapril and normal saline 10 mg/kg per day by intraperitoneal injection for 8 weeks. Systolic blood pressure (SBP), ventricular weight index (VWI) and protein kinase C (PKC) activity in myocardial cells were determined, ultrastructural changes of heart and vessel were observed by polaroscope and transmission electron microscope, and the area and content of myocardial interstitial collagen (MIC) were determined by image analyzer system. **Results:** The left ventricular hypertrophy was regressed to certain degree after EBI, Fosinopril and Enalapril treatment, but no significant change in heart rate and right VWI was found. Fosinopril and Enalapril were superior to EBI in lowering SBP and left VWI, and EBI was more obvious in improving myocardial ultrastructure such as hypertrophy and degeneration. All the 3 drugs could improve the MIC and vascular remodeling, the MIC area, content and collagen volume fraction in the EBI group were lowered after treatment, as compared with those in the control group, but comparison between the three groups showed no significant difference. The 3 drugs could reduce the PKC activity in myocardial cell membrane, and EBI showed the effect more significant than that of the other two ($P<0.05$). **Conclusion:** EBI could reverse the myocardial, interstitial and vascular remodeling, improve the rigidity of cardiac muscle, thus, has protective effect on heart.

Key words spontaneous hypertension rat, ventricular and vascular remodeling, *Erigeron breviscapus*, Fosinopril, Enalapril, collagen

有研究表明心肌细胞肥大、成纤维细胞(FB)增生

和胶原产生与血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、醛固酮(Ald)、成纤维细胞生长因子(FGF)、血小板衍生因子(PDGF)及转化生长因子(TGF- β)等有关,它们单独或协同作用于细胞表面受体,引起受体构象改变,再通过相应的

* 国家火炬计划课题(No. 9425302003)

重庆医科大学附属第一医院心血管内科(重庆 400016)

细胞内信号传递体系,调控基因表达,从而导致心肌、间质重塑。蛋白激酶 C(PKC)是细胞内信号传递体系中重要的中间环节⁽¹⁾,有研究证实灯盏细辛(*Erigeron breviscapus*)是 PKC 抑制剂^(2,3),本研究观察灯盏细辛对自发性高血压大鼠(SHR)心脏不良重构及间质胶原的逆转作用。

材料与方法

1 实验动物及分组 10 月龄 SHR 24 只(北京阜外医院心血管病研究所实验动物中心提供,雌雄各 12 只),体重 193.3 ~ 343.5g,收缩压(SBP)180 ~ 256mmHg。按性别、体重、初始 SBP 配对分成灯盏细辛注射液组(简称灯盏细辛组)、福辛普利组、依那普利组和生理盐水对照组(简称对照组)4 组,每组 6 只,分笼饲养。

2 药物、试剂及主要仪器 灯盏细辛注射液(9mg 总黄酮/2ml,深圳生物谷有限公司生产,批号 961030),福辛普利注射液(10mg/ml,上海施贵宝制药有限公司,批号 971272),依那普利注射液(10mg/ml,常州制药厂,批号 950802),偏振光显微镜(Olympus,日本),MD-20 计算机图像分析仪(德国),透射电子显微镜(H-600 日本)。

3 实验方法 灯盏细辛、福辛普利及依那普利均以 10mg·kg⁻¹·d⁻¹腹腔内注射给药 8 周,对照组以等量生理盐水,12 月龄时取材。给药前后每周测 1 次 SBP 和心率(HR,鼠尾容积法),大鼠血压、心率测定仪为 RMB-ⅢA 型(上海高血压病研究所研制),共测 9 次。实验结束时大鼠称重后腹腔内注射 10% 水合氯醛麻醉,开胸切取心脏,称左心室(含室间隔)湿重和右心室湿重。

3.1 计算左心室心脏重量指数(LVW/BW)和右心室心脏重量指数(RVW/BW)。

3.2 光镜观察 取左心室游离壁心肌,常规石蜡包埋,HE 及饱和苦味酸天狼猩红染色(PSR, Sigma 公司),偏振光镜下黄红色为 I 型胶原,绿色为 III 型胶原⁽⁴⁾。

3.3 透射电镜观察心脏、血管结构改变。

3.4 胶原面积、含量半定量分析 使用德国 MD-20 计算机图像分析系统(IAS)测量经 PSR 染色的组织切片。光镜下放大 160 倍,任选取 10 个视野中所有心肌胶原面积之和(不包括血管周围胶原面积),胶原容积分数(CVF,%)= 胶原面积/全视野面积 × 100%,同时测定同一视野下平均光密度(OD)代表胶原含量。万方数据

3.5 心肌细胞膜蛋白激酶 C(PKC_m)及胞浆蛋白激酶 C(PKC_c)活性测定 方法参照文献⁽⁵⁾。

4 统计学分析 应用 SAS 6.0 版统计软件,多组间比较用 F 检验,多组间两两比较用 q 检验。

结 果

1 灯盏细辛对 SBP、HR 及心脏重量指数的影响 见表 1。与用药前比较,灯盏细辛组 SBP 下降 16%($P < 0.05$),与对照组比较, LVW/BW 明显降低(11.2%),差异有显著性($P < 0.01$);福辛普利、依那普利的降压效果类似,降低 SBP 及 LVW/BW 较灯盏细辛更明显($P < 0.05$);3 种药物对 SHR HR 和 RVW/BW 无明显影响($P > 0.05$)。对照组实验前后比较 SBP、HR 差异无显著性($P > 0.05$)。

表 1 灯盏细辛对 SHR SBP、HR 及心脏重量指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	SBP (mmHg)	HR (次/min)	LVW/BW (mg/g)	RVW/BW (mg/g)
灯盏细辛 疗前	210.17 ± 23.52	361.67 ± 37.39	—	—
疗后	177.18 ± 14.48 *	381.30 ± 37.59	3.41 ± 0.19 △	0.96 ± 0.18
依那普利 疗前	213.67 ± 26.45	380.67 ± 49.46	—	—
疗后	138.00 ± 11.15 **	353.00 ± 38.29	3.18 ± 0.12 △	0.73 ± 0.06
福辛普利 疗前	207.83 ± 24.56	370.17 ± 49.63	—	—
疗后	130.83 ± 10.52 **	335.83 ± 26.36	2.75 ± 0.34 △	0.65 ± 0.15
对 照 疗前	207.53 ± 23.86	368.17 ± 42.76	—	—
疗后	201.33 ± 23.75	375.17 ± 27.40	3.84 ± 0.28	1.00 ± 0.19

注:与本组疗前比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与对照组比较,△ $P < 0.01$;与灯盏细辛组同期比较,▲ $P < 0.05$,每组 $n = 6$

2 灯盏细辛对 SHR 心肌组织结构的影响 对照组心肌细胞肥大、变性、FB 增生呈反应性纤维化,偶见心肌细胞点状坏死,冠状动脉管壁不规则增厚,中膜、内膜向腔内局限性凸出,血管平滑肌细胞(VSMC)增生、核浓染。管腔明显狭窄,壁/腔比增加。偏振光显微镜下粗大 I 型胶原(红色)明显增多,平行或交错紊乱排列,灶性纤维增生,极少量 III 型胶原(绿色),I/III 比例增高。

灯盏细辛组与对照组比较,心肌细胞肥大、变性有减轻,但仍可见少量 FB 聚集,血管壁厚度比对照组变薄,管腔扩大,血管周围胶原减少,光镜下病理改变轻微,偏振光镜下血管外膜红色 I 型胶原明显减少,间质胶原网络中未见修复性纤维化。

依那普利、福辛普利组上述结构改善与灯盏细辛组类似,但心肌蜡样变性比灯盏细辛组明显,就心肌镜下结构总体改善来看,灯盏细辛组比依那普利、福辛普利组改善更明显。偏振光镜下:间质纤维化及血管周围胶原减少,血管壁变薄,管腔扩大,I 型胶原沿肌束间平行排列。

3 灯盏细辛对 SHR 心肌超微结构影响 对照组 心肌细胞线粒体数量增多,部分肿胀,较多肌丝溶解,部分 Z 线消失,毛细血管基本正常。灯盏细辛组:与对照组比较,心肌超微结构改变轻微,心肌细胞肌节、肌丝排列基本正常,个别线粒体肿大,部分心肌毛细血管可见退行性改变(髓样结构),多数毛细血管内皮细胞正常。福辛普利组、依那普利组心肌超微结构改善类似,两组病变轻微,可见少部分线粒体轻度肿大,局灶性肌丝溶解,Z 线、毛细血管结构正常,较对照组有明显好转。

4 灯盏细辛对 SHR 心肌间质胶原影响 见表 2。灯盏细辛、依那普利及福辛普利组与对照组比较,心肌间质胶原面积、胶原含量及 CVF 明显减少,差异均有显著性($P < 0.01$)。3 种药物组之间比较差异无显著性($P > 0.05$)。

表 2 灯盏细辛对 SHR 胶原的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	胶原面积 (μm^2)	CVF (%)	胶原含量 (IOD)
灯盏细辛	2627.42 ± 229.78 *	2.49 ± 0.22 *	2602.38 ± 165.80 *
依那普利	2437.24 ± 283.88 *	2.32 ± 0.27 *	2486.25 ± 554.11 *
福辛普利	2793.74 ± 405.17 *	2.65 ± 0.38 *	2672.75 ± 441.53 *
对 照	4297.23 ± 604.95	4.08 ± 0.57	3820.73 ± 783.32

注:与对照组比较,* $P < 0.01$;每组 $n = 6$

5 灯盏细辛对 SHR 心肌细胞 PKC 活性的影响 见表 3。与对照组比较,灯盏细辛、福辛普利、依那普利均能显著降低 SHR 心肌细胞 PKC_m 活性($P < 0.01$),且灯盏细辛组心肌细胞 PKC_m 活性降低,较依那普利组和福辛普利组更明显($P < 0.05$);与对照组比较,3 种药物对 SHR 心肌细胞 PKC_c 活性均无显著影响($P > 0.05$)。

表 3 灯盏细辛对 SHR 心肌细胞 PKC 活性的影响 ($\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg pro}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	PKC _c 活性	PKC _m 活性
灯盏细辛	6	24.82 ± 2.68	143.60 ± 37.20 * △ ▲
依那普利	6	28.20 ± 3.92	178.88 ± 40.70 *
福辛普利	6	27.65 ± 3.43	174.35 ± 38.82 *
对 照	6	30.48 ± 3.47	222.82 ± 40.22

注:与对照组比较,* $P < 0.01$;与依那普利组比较,△ $P < 0.05$;与福辛普利组比较,▲ $P < 0.05$;PKC 活性单位表示为每毫克蛋白质每分钟催化³²P 转移到 Histon III-SS 中的 pmol 数

讨 论

灯盏细辛是从中药灯盏花中分离得到的黄酮类化合物,有效成分为 4,5,6-三羟基黄酮-7 葡萄糖醛酸甙^(2,3)。本实验结果表明,灯盏细辛 $10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 腹腔内注射可降低 SHR 血压,与文献报道一致⁽⁶⁾。对于该药的降压机制尚不清楚,可能与黄酮类物质能抑制

钙通道对钙离子转运⁽²⁾,从而使 SHR 心肌、血管平滑肌细胞钙通道受抑制后血管平滑肌舒张有关。

灯盏细辛在轻度降压的同时,可逆转 SHR 的左心室肥大,LVW/BW 明显降低($P < 0.05$),RVW/BW 也有所降低但差异无显著性($P > 0.05$)。3 组心肌间质纤维化均明显改善,主要是 I 型胶原减少,胶原半定量分析,灯盏细辛、依那普利、福辛普利组 CVF 分别下降 39%、43%、35%($P < 0.01$),3 种药物之间差异无显著性($P > 0.05$)。

高血压血管重构主要表现为 VSMC 肥大、增生及血管周围胶原增加。本研究结果示,灯盏细辛组血管壁变薄,管腔扩大,VSMC 减少,血管周围 I 型胶原减少,从而改善血管顺应性,逆转血管重构,与依那普利、福辛普利组类似,表明灯盏细辛可部分逆转 SHR 的血管重构。其逆转机制除与血压下降外,可能主要与血管平滑肌细胞 PKC 抑制有关。

本研究结果值得一提的是就心肌镜下结构总体改善而言,灯盏细辛组比依那普利、福辛普利组更明显,尽管 3 组光镜和电镜下均可见异常结构改变(这一结果是经我校病理学教授双盲证实)。心肌超微结构改善类似。说明灯盏细辛可以改善 SHR 心肌、间质重构,其逆转程度与血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)类似,镜下结构总体改善方面可能比 ACEI 更好。查阅近 10 年文献尚未见灯盏细辛逆转高血压心肌、间质及血管重构的报道。有关 ACEI 类药物逆转高血压心肌、间质及血管重构有较多的报道,至于灯盏细辛对 SHR 异常光镜结构改善比 ACEI 两药物还明显的原因不明,有待进一步研究。我们推测可能与 PKC 抑制作用及自由基清除有关。灯盏细辛对 PKC 抑制大于依那普利及福辛普利,文献报道与灯盏细辛是自由基清除剂,具有心肌保护有关^(6,7)。

PKC 是钙/磷脂依赖性蛋白激酶,磷酸酶 C-蛋白激酶 C-钙(PLC-PKC- Ca^{2+}),在细胞增殖、分化等信号传递等生理、病理过程中发挥重要作用^(8,9)。本实验结果表明,灯盏细辛、依那普利、福辛普利均可抑制 PKC_m 活性,灯盏细辛对 PKC_m 活性抑制作用高于 ACEI($P < 0.05$),证实灯盏细辛是 PKC 抑制剂,与文献报道一致^(2,3)。

ACEI 逆转高血压心室肥厚、血管重构机制主要是心肌局部肾素-血管紧张系统(RAS)抑制,与循环 RAS 关系不大⁽¹⁾。ACEI 除通过传统途径使 Ang II 与受体结合减少,通过胞内信号传递使 PKC 活性降低以外,祝之明⁽¹⁰⁾及 Kanayama Y⁽¹¹⁾认为 ACEI 可直接抑制 PKC,提出这可能是 ACEI 类药物作用的新途径。

因此 ACEI 通过两个环节抑制 PKC(受体前 Ang II 及受体后 PLC-PKC-Ca²⁺),主要是前者。ACEI 和灯盏细辛均可抑制 PKC 活性,说明两者在抑制细胞内信号传递中间环节(PKC)中有共同途径,从而抑制 PLC-PKC-Ca²⁺ 信号传递通路,抑制心肌细胞、FB、VSMC 肥大和增生,逆转高血压心肌、间质及血管重构。

参 考 文 献

1. 张茜. 血管紧张素 II 受体与血管平滑肌细胞的增生、肥大. 高血压杂志 1997; 2(1): 64—67.
2. 徐光, 张礼萍, 沈慧芬, 等. 野黄芩甙元及其类似物对蛋白激酶 C 的抑制作用. 上海医科大学学报 1993; 20(4): 187—191.
3. 陈康宁. 蛋白激酶 C 和脑缺血. 国外医学内科学分册 1996; 23(4): 164—167.
4. 许增禄. 显示胶原及其类型的苦味酸、天狼猩红-偏振光方法. 基础医学与临床 1996; 16(1): 75—76.
5. GU X, Bishop SP. Increased protein kinase C and isozyme re-

distribution in pressure overload cardiac hypertrophy in rat. Circ Res 1994; 75(5): 926—931.

6. 李玲, 陈必义, 吴婉玲, 等. 灯盏花总黄酮抗大鼠心肌缺血及对正常大鼠血流动力学的影响. 昆明医学院学报 1995; 16(3): 45—49.
7. 黄震华, 徐济民. 灯盏细辛注射液抗心肌缺血的实验研究. 上海第二医科大学学报 1987; 7(4): 313—318.
8. 刘国仗. 高血压左心室肥厚的发生机制、诊断和治疗. 中国循环杂志 1998; 13(1): 2—3.
9. 高广道, 卢兴. 高血压左室肥厚心肌间质网络的改建及其意义. 中国高血压杂志 1994; 2(Suppl): 5—8.
10. 祝之明, 祝善俊. 血管紧张素转换酶抑制剂对血管紧张素 II 介导的钙信号传导的作用及其机理研究. 中华心血管病杂志 1996; 24(5): 380—383.
11. Kanayama Y, Negoro N, Okamura M, et al. Modulation of protein kinase C in aorta of spontaneously hypertensive rats with enalapril treatment. Osaka City Med J 1994; 40(2): 83—97.

(收稿 2001-06-04 修回 2001-10-08)

胃舒康治疗糖尿病性胃轻瘫 41 例临床观察

沈玉明

笔者于 1996~2000 年应用胃舒康治疗糖尿病性胃轻瘫患者 41 例,并与西沙必利治疗 30 例作对照观察,获得比较满意的疗效,现小结如下。

临床资料 (1)符合 WHO 1985 年糖尿病诊断暂行标准(全国高等医药院校教材.内科学,第 4 版.北京:人民卫生出版社,1999:725—726)。(2)临床表现除糖尿病本身固有症状外,伴有以胃排空延缓为特征的症候群,以早饱、厌食、恶心、呕吐、上腹部饱胀、餐后加剧、暖气为主要症状。(3)X 线钡餐检查有胃收缩无力、蠕动减弱,钡剂滞留时间延长(>6h)。(4)胃镜、B 超检查排除有胃流出道梗阻、消化性溃疡及肝胆胰器质性病变。71 例均为我院门诊 2 型糖尿病患者,随机分为两组。治疗组 41 例,其中男性 19 例,女性 22 例;年龄 32~69 岁,平均(51±15)岁;病程 1~18 年,平均(8.6±5.3)年;空腹血糖平均值(8.8±4.2)mmol/L。对照组 30 例,其中男性 13 例,女性 17 例;年龄 34~69 岁,平均(49±17)岁;病程 2~25 年,平均(9.1±5.8)年;空腹血糖平均值(8.5±3.9)mmol/L。两组患者在性别、年龄、病程、空腹血糖水平等方面基本一致,具有可比性。

治疗方法 71 例患者均服消渴丸(含黄芪、地黄、天花粉、优降糖(每 10 丸含 2.5mg),广州中药一厂生产,批号:951211107)1.25g,每日 3 次,4 周为 1 个疗程。治疗组加服本院自制胃舒康口服液(组成:党参、炒白术、姜半夏、广木香、炒枳壳、甘松、莪术、蒲公英、山楂、麦冬,每毫升含生药 2.33g)治疗,每日 3 次,每次 10ml,饭前 30min 服。对照组加服西沙必利

(每片 5mg,西安杨森制药有限公司生产,批号:960111430),每日 3 次,每次 5mg,饭前 30min 服用,均以 4 周为 1 个疗程。治疗期间停用一切影响胃肠功能的药物,观察纪录患者症状变化。停药 1 周后进行 X 线钡餐检查,测定排空时间,同时复查空腹血糖水平。

结果 疗效标准:显效:临床症状消失,X 线钡餐检查胃蠕动或胃排空时间<4h。有效:临床症状明显好转,X 线钡餐检查胃蠕动较前增强,胃排空时间恢复到 4~6h。无效:临床症状无明显减轻,X 线钡餐检查胃排空时间无改善。

治疗结果 血糖 治疗组由治疗前(8.8±4.2)mmol/L 降至(6.0±2.9)mmol/L;对照组由(9.1±5.8)mmol/L 降至(6.2±3.2)mmol/L。胃轻瘫 治疗组 41 例,显效 21 例(51.22%),有效 19 例(46.34%),无效 1 例(2.44%),总有效率 97.56%;对照组 30 例,显效 13 例(43.33%),有效 12 例(40.00%),无效 5 例(16.67%),总有效率 83.33%;两组总有效率比较差异有显著性($\chi^2=4.53$, $P<0.05$)。

体会 本病属中医学“痞满”、“呕吐”等范畴,主要病机为脾胃虚弱为本,湿困、瘀血、气滞、痰阻食滞为标。胃舒康口服液以健脾和胃为主,兼以化湿祛瘀、理气消食化痰,组成药物中以党参、白术健脾益气,广木香、炒枳壳、甘松理气和胃,姜半夏和胃降逆,止呕化痰,莪术、山楂消食散瘀,蒲公英清热除湿;麦冬养阴生津。诸药合用,使脾气健运、运化正常、清升浊降,取得良效。

(收稿 2001-05-18 修回 2001-10-24)