

[文章编号] 1007-3949(2002)10-06-0469-04

• 实验研究 •

肾性高血压大鼠血浆中降钙素基因相关肽与血管紧张素 ① 浓度及肾素活性的变化

秦旭平¹, 叶峰¹, 廖端芳², 朱炳阳², 李元建¹

(1. 中南大学药学院药理教研室, 湖南省长沙市 410078; 2. 南华大学药物药理研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[主题词] 高血压, 肾血管性; 降钙素基因相关肽; 肾素; 血管紧张素 ① ; 大鼠

[摘要] 降钙素基因相关肽与肾素—血管紧张素系统均参与血压的调节。在两肾一夹型肾性高血压大鼠模型, 观察大鼠血浆中的降钙素基因相关肽、血管紧张素 ① 浓度及肾素活性的水平, 以及用氯沙坦或培哚普利干预后这些活性肽在血浆中的变化, 进一步分析这些血管活性肽在该模型的变化机制。研究显示, 高血压组血浆中降钙素基因相关肽的浓度高于对照组, 而血管紧张素 ① 与对照组相比无显著差异。用氯沙坦和培哚普利治疗 6 周后, 血浆中肾素活性和血管紧张素 ① 及降钙素基因相关肽水平均升高。本研究发现在肾性高血压中期, 循环中肾素—血管紧张素系统对血压的影响已不是主要因素, 降钙素基因相关肽的释放增加可能是血压升高的代偿作用。应用氯沙坦和培哚普利后可增加血浆中血管紧张素 ① 浓度和肾素活性, 同时也增加降钙素基因相关肽的合成与释放, 这可能对其降压起一定的作用。

[中图分类号] R965

[文献标识码] A

The Changes of Plasma Concentration of Calcitonin Gene-related Peptide, Angiotensin ① and Renin Activity in Renal Vascular Hypertensive Rats

QIN Xu Ping¹, YE Feng¹, LIAO Duarr Fang², ZHU Bing Yang², and LI Yuan Jian¹

(1. The Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha, Hunan 410078; 2. The Institute of Pharmacy and Pharmacology, Nanhua University, Hengyang, Hunan 421001, China)

[MeSH] Hypertension, Renovascular; Calcitonin Gene-related Peptide; Renin; Angiotensin ① ; Rats

[ABSTRACT] **Aim** To explore the levels of neurotransmitter of sensory nerves and constrictor peptides of renin-angiotensin system in renal vascular hypertensive rats, and the changes of these peptides after treatment with losartan or perindopril. **Methods**

The 2-kidney, 1-clipped rats hypertensive model were used, and the plasma concentration of active peptides were determined by radioimmunoassay method. **Results** The plasma concentration of calcitonin gene-related peptide (CGRP) was slightly raised in hypertensive rats, compared with sham operation group, and treatment with losartan or perindopril had markedly elevated plasma concentration of CGRP as well as angiotensin ① and renin activity. **Conclusions** In the metaphase of renal vascular hypertension, the elevation of CGRP may be a compensation action due to increasing of blood pressure. Chronic treatment with losartan or perindopril not only affects the releasing of CGRP, but also activates the circular renin-angiotensin system in renal vascular hypertension.

肾素—血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 在维持机体血压方面起着重要作用, 其机制主要通过维持血管张力, 影响体内水、电解质平衡来实现。目前一致认为体内许多神经递质及内分泌肽形成网络联系, 共同参与对血压的调节。不同肽类对血压的调节机制不同, 且在高血压发生的不同阶段, 各种活性肽在体内的水平也发生波动。降钙

素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 是神经末梢释放的神经递质, 近 10 多年来发现它对阻力血管有很强的舒张作用^[1]。随后的研究发现 CGRP 在高血压动物模型和原发性高血压患者体内血浆中均降低^[2-4]。有学者用自发性高血压大鼠肠系膜血管实验发现, 长期口服卡托普利的大鼠, 可维持大鼠肠系膜血管对 CGRP 的舒张反应^[5]; 用胍乙啶耗竭血管神经末梢的去甲肾上腺素及电刺激能促进神经末梢 CGRP 的释放, 而血管紧张素 ① (angiotensin ① , Ang ①) 可抑制 CGRP 的释放, 用肽类 Ang ① 抑制剂 Sar¹-Ile⁸ Ang ① 则可取消这种抑制作用^[6], 说明 RAS 和含 CGRP 感觉神经系统存在相互调节。研究发现, 在其它高血压大鼠模型中, 如去氧皮质醇加盐高血压模型、肾次全切除术加盐大鼠高血压模

[收稿日期] 2002-06-06 [修回日期] 2002-11-11

[基金项目] 国家 973 项目 (G2000056905) 和国家自然科学基金 (30070870) 资助。

[作者简介] 秦旭平, 男, 1964 年出生, 山西长治人; 1988 年毕业于山西医科大学, 获学士学位; 1998 年获湖南医科大学临床药理学硕士学位; 现为中南大学药学院心血管药理学博士研究生, 研究方向为血管活性肽对心血管作用的多样性。廖端芳, 男, 南华大学药理学教授, 博士生导师。李元建, 男, 中南大学湘雅医学院心血管药理学教授, 博士生导师。

型,背根神经节中 CGRP mRNA 表达升高^[7,8]。这说明在不同类型的高血压动物体内 CGRP 水平存在一定的差异。目前对肾性高血压大鼠血中 CGRP、Ang Ⅱ浓度及肾素活性(plasma renin activity, PRA)的变化特点研究还未见报道。本研究以 RAS 依赖性两肾一夹(2-kidney 1-clipped, 2K1C)肾血管性高血压大鼠为模型,以氯沙坦或培哚普利为工具药,阐明肾性高血压大鼠血浆中 CGRP、Ang Ⅱ水平及 PRA 变化,以及 RAS 抑制药对血浆中 CGRP、Ang Ⅱ水平和 PRA 的影响。

1 材料和方法

1.1 仪器、试剂及药物

鼠尾动脉测压仪(HX-1 型)购于中南大学湘雅医学院。生理记录二道仪由成都仪器厂生产。氯沙坦(纯品)由美国 Merck 公司 Ronald 博士提供。培哚普利购于法国施维雅制药公司。CGRP、Ang Ⅱ、PRA 检测试剂盒购于解放军总医院放射免疫研究所。其余试剂均为市售分析纯。

1.2 实验动物及高血压模型的建立

清洁型雄性 SD 大鼠,体重 200~250 g,购于中南大学湘雅医学院动物部。实验前在本实验室喂养 1 周,用鼠尾动脉测压仪测定其基础血压。大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(60 mg/kg)麻醉后,从腹部左侧切口,分离左侧肾动脉,用直径为 0.25~0.3 mm 的银夹套夹住肾动脉使其狭窄后,制造 2K1C 大鼠模型。术后 3 d,动物恢复后,从尾动脉测定收缩压,间隔 1 周观察血压的变化。高血压模型以手术后 4 周末大鼠血压维持在 160 mmHg 以上为准,其成功率达 80%,与国外文献报道接近。假手术大鼠与模型大鼠除不夹肾动脉外,其余手术步骤均相同。

1.3 给药方法

从高血压模型中随机分为给药组和非给药组,给药组术后 4 周通过饮水给予氯沙坦 20 mg/(kg·d),培哚普利 3 mg/(kg·d),连续 6 周。在 6 周末,大鼠颈动脉插管连接压力感受器于生理二道仪记录其平均动脉压,测定其平均动脉压后,然后放血 4 mL,分装于 2 个肝素处理过并含有抑肽酶的试管中,3 000 r/min 离心 10 min,取血浆保存于 -20℃待检测。

1.4 血管活性肽的测定

血浆中 CGRP 和 Ang Ⅱ含量按试剂盒要求来测定,PRA 通过单位时间内生成 Ang Ⅱ的速度来确定。

1.5 统计分析

数据资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间总变异通过 ANOVA 检验后,组与组之间的差异采用非配对性 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 实验期间血压的变化

各实验组手术前后及氯沙坦或培哚普利对高血压大鼠收缩压的影响如图 1(Figure 1)所示。手术 10 周末,各组大鼠的平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)见表 1(Table 1)。

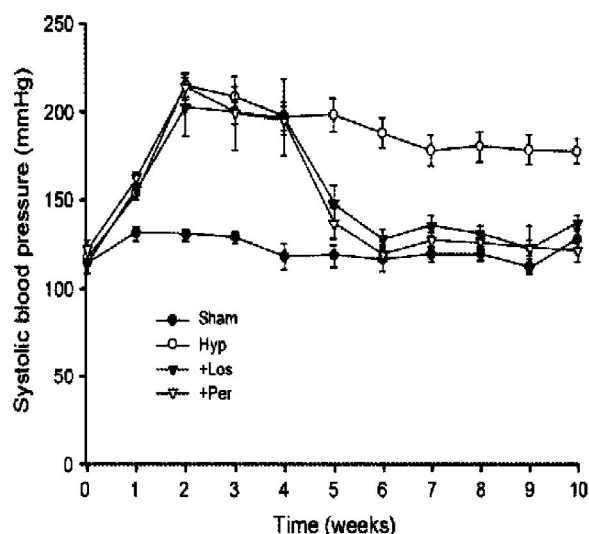


图 1. 氯沙坦或培哚普利对高血压大鼠收缩压的影响。

Figure 1. Effect of losartan or perindopril on the systolic blood pressure in hypertensive rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$) (1 kPa = 7.5 mmHg). Sham: sham operation group; Hyp: hypertension group; + Los: group treated with losartan; + Per: group treated with perindopril.

2.2 血管活性肽含量或活性

术后 10 周,2K1C 高血压大鼠血浆中的 CGRP 水平略高于假手术组,治疗组两组血浆中的 CGRP 明显升高;Ang Ⅱ浓度在 2K1C 高血压大鼠血浆中略有下降,两组治疗组血浆中的 Ang Ⅱ浓度却显著升高;PRA 在 2K1C 高血压大鼠显著升高,与假手术组比较, $P < 0.05$ 。两治疗组肾素活性升高更显著。见表 1(Table 1)。

3 讨论

血管活性肽对心血管系统的调节起着非常重要的作用。其相互作用、相互影响增加了这种调节作用的复杂性。初步研究发现在高血压和肾脏疾病时

表 1. 大鼠术后平均动脉压及血浆中血管紧张素 Ⅱ、降钙素基因相关肽和肾素活性的水平以及药物治疗 6 周后的变化。

Table 1. The levels of MAP, Ang Ⅱ, CGRP and PRA after 10 weeks of operation, and their changes after treatment with losartan or peridopril ($\bar{x} \pm s$, $n=6$).

Indexes	Sham	Hypertension	Treatment groups	
			Losartan	Peridopril
MAP (mm Hg)	112.9 ± 7.6	161.5 ± 8.1 ^a	121.1 ± 4.4 ^c	104.4 ± 7.0 ^c
Ang Ⅱ (pg/mL)	74.8 ± 6.3	69.1 ± 8.3	106.2 ± 13.3 ^c	98.9 ± 18.6 ^c
PRA (pg/mL)	11.9 ± 2.3	16.3 ± 3.7 ^b	19.5 ± 2.7 ^d	17.7 ± 3.2 ^d
CGRP (pg/mL)	46.7 ± 9.1	59.7 ± 9.5 ^b	103.4 ± 16.7 ^c	101.1 ± 13.6 ^c

a: $P < 0.01$, b: $P < 0.05$, compared with Sham; c: $P < 0.01$, d: $P < 0.05$, compared with hypertension. 1 kPa = 7.5 mmHg. Sham: sham operation group; Hypertension: hypertension group.

CGRP 和 Ang Ⅱ、肾素的释放存在相互影响^[9,10], 因此进一步研究它们在高血压时的变化, 对阐明它们在血压调节中的作用尤为重要。2K1C 肾血管性高血压模型是 RAS 依赖性高血压模型。在 RAS 中 Ang Ⅱ是最主要的活性物质, 其多种作用及信号转导通路也逐渐被阐明^[11]。在此模型中研究发现, 高血压大鼠血浆中的 CGRP 水平有所升高, 这可能是 CGRP 对继发性血压升高的代偿作用, 因为有人用微泵给大鼠皮下血管灌注低于升压剂量的 Ang Ⅱ可提高血浆中 CGRP 的浓度^[12]。氯沙坦是一种较新的 AT₁ 受体拮抗剂, 培哚普利也是一种新的血管紧张素转化酶抑制剂, 目前已用于临床。我们的研究发现用这两个药物治疗 6 周后, 血浆中的 CGRP 水平比高血压组显著升高。Kawasaki 等研究发现, Ang Ⅱ可影响自发性高血压大鼠肠系膜血管感觉神经末梢 CGRP 的释放^[6]。我们认为氯沙坦提升血浆中 CGRP 的水平可能与阻断感觉神经突触前膜 AT₁ 受体, 取消 Ang Ⅱ对 CGRP 释放的抑制有关; 而培哚普利对 CGRP 的影响可能与局部 Ang Ⅱ的生成减少有关。故也可认为, 氯沙坦和培哚普利增加外周血管壁 CGRP 的释放可能对它们降低血压起一定的作用。

有研究报道, 在高血压急性期, 循环系统中 RAS 对血压的升高起主要作用, 而在慢性阶段, 血压的维持主要是依靠中枢下丘脑 RAS 的激活, 循环系统中 Ang Ⅱ的水平并不与血压的高低成比例^[13,14]。在我们的实验中也可看到高血压组与假手术组的 Ang Ⅱ浓度无差别。越来越多的证据表明组织局部的 RAS 对升高血压起着非常重要的作用。我们和其他学者都发现, 虽然氯沙坦和培哚普利可提升血浆中 Ang Ⅱ的水平, 但在用药后血压却显著下降, 说明此类药物还存在其它降压途径。氯沙坦提升血浆中 Ang Ⅱ的水平可能与阻断 AT₁ 受体后 RAS 的反馈调节有

关, 血管紧张素转化酶抑制剂提升血浆中 Ang Ⅱ的浓度, 可能与增加循环系统中其它途径(如糜蛋白酶途径)产生 Ang Ⅱ及降低其代谢有关, 其降压作用可能通过阻断组织局部血管紧张素转化酶和增加激肽、前列腺素的合成而实现^[15]。

肾素主要由肾动脉旁细胞分泌, 其分泌主要受交感神经系统支配, 局部 β 受体兴奋可引起肾素分泌增多。实验显示, Ang Ⅱ、CGRP 都参与肾素的分泌调节, 用 AT₁ 受体阻断剂氯沙坦和血管紧张素转化酶抑制剂培哚普利治疗后, 血浆中肾素活性增强, 提示这种变化可能与提升血浆中 CGRP 的水平有关, 因为有研究报道氯沙坦能提高自发性高血压大鼠的肾素分泌^[16]。动物和临床研究报道, CGRP 可刺激肾素的分泌^[17], 这与我们的实验结果一致。

在高血压的发病机理中, 血管活性肽网络间的相互作用还须深入探讨。除含 CGRP 神经系统和 RAS 系统外, 其它系统如交感神经系统等也参与对血压的影响。各系统中多种血管活性肽对血压的调节也相互影响, 如 RAS 中不仅仅是肾素、Ang Ⅳ、Ang Ⅱ, 目前发现的 Ang 1~7、Ang Ⅲ、Ang Ⅴ以及血管紧张素受体亚型这种分子内调控机制都对血压的调节起重要作用。有文献报道在高血压大鼠组织中, AT₂ 受体表达上调, 其降压机制与增加一氧化氮释放有关^[18,19], 这种上调是否对 CGRP 的合成和释放有影响还不得而知。综上所述, 中期肾性高血压大鼠血浆中 CGRP 和肾素活性均有升高; 用氯沙坦和培哚普利治疗后, 血浆中 PRA、CGRP 及 Ang Ⅱ的水平明显升高。其机制还须进一步探讨。

[参考文献]

- [1] Kawasaki H, Takasaki K, Saito A, et al. CGRP is a novel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance vessels of spontaneously hypertensive rats. *Nature*, 1988, **335**: 164-167
- [2] Yamada M, Ishikawa T, Fujimori A, et al. Enhanced depressor and hyperemic responses to calcitonin gene-related peptide in spontaneously hypertensive rats.

- Pptides*, 1998, **19**: 697-701
- [3] Kawasaki H. Effects of chronic administration of antihypertensive drugs on vasodilation mediated by calcitonin gene-related peptide containing vasodilator nerves in mesenteric artery in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1992, **19**: 569-573
- [4] Kawasaki H, Takenaga M, Araki H, et al. Angiotensin inhibits neurotransmission of calcitonin gene-related peptide-containing vasodilator nerves in mesenteric artery of spontaneously hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, **284**: 508-515
- [5] Supowit SC, Zhao H, Hallman DM, et al. Calcitonin gene-related peptide is a depressor of deoxycorticosterone-salt hypertension in the rat. *Hypertension*, 1997, **29**: 945-950
- [6] Supowit SC, Zhao H, Hallman DM, et al. Calcitonin gene-related peptide is a depressor in subtotal nephrectomy hypertension. *Hypertension*, 1998, **31**: 391-396
- [7] Palla R, Parrini M, Panichi V, et al. Acute effects of calcitonin gene-related peptide on renal haemodynamics and renin and angiotensin II secretion in patients with renal disease. *Int J Tissue React*, 1995, **17** (1): 43-49
- [8] 秦旭平, 廖端芳, 李元建. 血管平滑肌细胞增殖及其调控. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (5): 450-454
- [9] Wu W, Zhang Y, Ballew JR, et al. Development of hypertension induced by subpressor infusion of angiotensin II: role of sensory nerves. *Hypertension*, 2000, **36** (4): 549-552
- [10] Kagiya S, Varela A, Phillips MI, et al. Antisense inhibition of brain renin-angiotensin system decreased blood pressure in chronic 2-kidney, 1-clipped hypertensive rats. *Hypertension*, 2001, **37** (Part 2): 371-375
- [11] Mento PF, Wilkes BM. Plasma angiotensins and blood pressure during converting enzyme inhibition. *Hypertension*, 1987, **9** (Suppl 3): 442-48
- [12] Bauer IH, Reams GP, Wu Z, et al. Effects of losartan on the renin-angiotensin-aldosterone axis in essential hypertension. *J Hum Hypertens*, 1995, **9** (4): 237-243
- [13] Kurtz A, Muff R, Born W, et al. Calcitonin gene-related peptide is a stimulator of renin secretion. *J Clin Invest*, 1988, **82**: 538-543
- [14] Siragy HM, Carey RM. Angiotensin type 2 receptors: potential importance in the regulation of blood pressure. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2001, **10**: 99-103
- (此责任编辑 曾学清)

关于我刊对学术研究论文英文摘要的写作要求的告示

本刊编辑部

国家标准 GB7713-87 规定:“为了国际交流,科学技术报告、学位论文和学术论文应附有外文(多用英文)摘要。”遵照这一规定,我刊从创刊号起,就十分注重英文摘要。1997 年第 5 卷第 1 期起将概括式英文摘要改为四项结构式英文摘要后,给作者带来了写作上的方便,作者们认真撰写出了一些质量较高的英文摘要。然而,我刊的英文摘要距参与国际交流的目的还有一定差距,主要体现在以下几个方面:第一、英文摘要的要素虽全,但繁简失当;部分摘要方法写得详细,而结果简单;第二、有的英文摘要整篇只有五六个句子,二三十个单词,信息量有限;第三、部分英文摘要出现文法错误;如此等等。

英文摘要存在的上述问题,说明我刊英文摘要的质量有待提高。而提高英文摘要的质量,需要编辑和作者共同努力,其中作者是关键。最近,中国科协学会学术部下发了关于进一步提高期刊学术论文英文摘要写作质量的通知。遵照通知精神,结合我刊英文摘要的实际,现就研究论文英文摘要的写作提出以下几点要求,请广大作者参照执行。

一、英文摘要是应用符合英文语法的文字语言,以提供文献内容梗概为目的,不加评论和补充解释,简明扼要地论述文献重要内容的短文;写作时必须符合“拥有与论文同等量的主要信息”的原则。我刊规定,英文摘要(ABSTRACT)应按照目的(Aim)、方法(Methods)、结果(Results)和结论(Conclusions)四项要素结构式来写,重点是结果(Results)和结论(Conclusions)。在有些情况下,英文摘要可包括研究工作的主要对象和范围,以及具有情报价值的其它很需要的信息。

二、英文摘要的句型力求简单,少用从句。写作时建议采用第三人称和被动语态,少用我(I)或我们(We),少用或不用主动语态。描述结果时少用或不用显示(to display),多用被发现(be discovered)。一篇标准的英文摘要一般应有 10 个以上意义完整、语句通顺的句子。即目的(Aim)有 1~2 个句子,方法(Methods)有 2 个以上句子,结果(Results)有 5 个以上句子,结论(Conclusions)有 2 个以上句子。

三、英文摘要不应有引言中出现的内容,也不要对论文内容作诠释和评论,目的(Aim)不得简单重复题名中已有的信息;不用非公知公用的符号和术语,不用引文。对于缩写词、略称和代号,除了相邻专业的读者也能清楚理解(如 ATP、RNA、DNA 等)之外,在首次出现之前必须写出全文。科技论文写作时应注意的其他事项,如采用国际标准计量单位,正确使用语言文字和标点符号等,也同样适用于英文摘要的编写。

四、对英文摘要中结果(Results)的叙述应详细,除了不能使用插图和表格外,论文结果中的所有信息都应在英文摘要的结果(Results)中得到表述,尤其是结果数据。也就是说,汉英两种文字的结果应基本一致。

五、研究论文的英文摘要是写给非汉语人群看的,因此,写作英文摘要时既要注意英文语法,又要符合使用英语的人群的语言习惯;还要注意多义词在科技英语与文学英语中的用法差别。

以上是我刊对研究论文的英文摘要的写作要求,供广大作者在撰写研究论文英文摘要时参考。由于我刊对汉英两种文字的摘要采取了不同的格式,因此,我刊不要求汉英文摘要一致。