

实 验 研 究

3 种治法对自发性高血压大鼠血管重构影响的比较研究

王永霞¹ 党伟一² 陈召起³ 王世君⁴ 何立人⁵

摘要 目的:对比研究平肝潜阳法、化湿利水泄浊法及两者合法平肝化湿法对自发性高血压大鼠(SHR)血管重构(VR)的影响。方法:SHR 随机分为化湿组、平肝组、合方组、依那普利组和模型组,并设 Wistar-Kyoto(WKY)大鼠组作为正常对照,治疗 8 周。观察各组大鼠血压、主动脉胶原含量及其中膜血管平滑肌(VSM)、胶原纤维(CF)、弹力纤维(EF)的相对面积比值等变化。结果:模型组血压、主动脉胶原含量、VSM 及 CF 面积等显著高于其他各组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);模型组血管平滑肌细胞(VSMC)核个数显著少于 WKY 组、合方组及依那普利组,EF 变化仅模型组与 WKY 组间差异有显著性。结论:3 种治法均有降低血压及抑制主动脉胶原沉积和 VSMC 肥大的作用。

主题词 高血压/中医药疗法 中医治法

Comparative Study on Effects of Three Therapeutic Methods on Vascular Remodeling in Spontaneous Hypertension Rats

Wang Yongxia¹, Dang Wei-yi², Chen Zhaoqi³, et al.

(The First Affiliated Hospital of Henan College of TCM, Zhengzhou 450000; 2. Henan Provincial People's Hospital; 3. Henan Provincial Hospital of Tumor)

Objective: To compare effects of 3 therapeutic method of calming the liver and suppressing yang, method of resolving dampness and removing turbid, and combination of both methods on vascular remodeling (VR) in spontaneous hypertension rats (SHR). **Methods:** SHR were randomly divided into resolving dampness group, calming the liver group, calming the liver and resolving dampness group, Enalapril group and model group, with the Wistar-Kyoto (WKY) rats used as normal control group. They were treated for 8 weeks. Changes of blood pressure, aortic collagen content, and its vascular smooth muscle (VSM), collagen fibers (CF), area of elastic fibers (EF) were investigated in all groups. **Results:** The blood pressure, aortic collagen content, VSM and CF area in the model group were significantly higher than those in other groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); and the number of the nucleus of vascular smooth muscle cells (VSMC) in the model group was significantly less than that in WKY group, calming the liver and resolving dampness group, and Enalapril group. There was significant difference between model group and WKY group in changes of EF. **Conclusion:** All the 3 therapeutic methods have functions of decreasing blood pressure, inhibiting deposition of aortic collagen and overgrowth of VSMC.

Key Words Hypertension/TCM therapy; TCM treatment method

血管重构 (VR) 是高血压病靶器官损害的重要机制,是高血压维持、恶化及各种并发症的结构及病理基础^[1],预防和逆转 VR 是有效治疗高血压的重要目标之一。平肝潜阳法是中医药治疗高血压的有效传统疗法,化湿利水泄浊法是何立人教授根据高血压“土湿侮木”病机拟定的治疗高血压水湿痰浊内停的常用治法,可有效降低血压及降低血中内皮素-1 (ET-1)、增加 NO 含量,对肠系膜阻力血管重构具有一定的逆转作用^[2~4],对培养自发性高血压大鼠 (SHR) 的血管平滑

肌细胞 (VSMC) 增殖具有一定的抑制作用^[5]。为从反证的角度了解高血压的中医病因病机,并在临床实践中制定合理的治法,我们对比研究了平肝潜阳法、化湿利水法及两者合法平肝化湿法对 SHR VR 的影响,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组方法:10 周龄 SHR 45 只,体重 (176.48 ± 34.05) g,雄性 25 只,雌性 20 只。按雌雄比例 4:5 随机分为 5 组,每组 9 只,即平肝潜阳合剂组 (平肝组)、化湿利水泄浊合剂组 (化湿组)、平肝化湿合剂组 (合方组)、依那普利组、模型组;10 周龄 Wistar-Kyoto 大鼠 (WKY 组) 9 只,体重 (181.67 ± 33.73) g,雄性 5 只,雌性 4 只,均购自上海市高血压研究所及上海第二医科大学动物实验中心,清洁级饲养。

1.2 主要药物及给药方法:化湿利水泄浊合剂由苦参

1 河南中医学院第一附属医院心脏中心,郑州市人民路 19 号 (450000)

2 河南省人民医院

3 河南省肿瘤医院

4 中国人民解放军第四五五医院

5 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院

收稿日期:2005-04-05;修回日期:2005-08-01

15g、汉防己 18g、银杏叶 12g、虎杖 9g、泽泻 24g、玉米须 15g、生蒲黄 18g、生槐花 12g 组成,经浓煎醇提后含生药 3g/ml;平肝潜阳合剂由天麻 9g、钩藤 12g、生石决明 18g、生栀子 9g、黄芩 9g、朱茯神 9g、川牛膝 15g、杜仲 12g、益母草 30g、桑寄生 12g、夜交藤 12g 组成,经浓煎醇提后含生药 3.75g/ml;化湿平肝方由上述两方药物各半量组成,经浓煎醇提后含生药 3.375g/ml。以上合剂均由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院制剂室提供,批号:020712;依那普利片(每片 10mg)由江苏扬子药业公司提供,批号:020225。化湿组、平肝组、合方组、依那普利组给药量分别为每天 13g/kg、16g/kg、14g/kg、2mg/kg,相当于临床等效量的 7 倍、7 倍、3.5 倍、7 倍,模型组和WKY 组给予等容积生理盐水,灌胃给药,每日 2 次,疗程 8 周。

1.3 观察指标

1.3.1 体重测量:分别在治疗前及治疗 2 周、4 周、8 周后用电子天平各测量 1 次。

1.3.2 血压测量:用 RBP-1 型大鼠血压心率测定仪(中日友好临床医学研究所)测量 SHR 清醒状态下尾动脉收缩压。每只测 3 次,取血压波动小于 15mmHg 的数值,求平均值,分别在治疗前及治疗 2 周、4 周、8 周后各测量 1 次。

1.3.3 主动脉胶原含量测定^[6]:从主动脉起始部无菌分离胸主动脉,称取 1g,以消化法羟脯氨酸试剂盒测定主动脉胶原含量(试剂盒购于南京建成生物工程研究所)。

1.3.4 胸主动脉病理组织学观察^[7]:无菌分离胸主动脉(取横膈上 1cm),10%中性甲醛固定动脉标本,常规脱水、包埋,切片厚 4 μm。应用 Masson 三色改良法染色中膜血管平滑肌(VSM)、Ponceau's 染色液和 Victoria blue'B 染色液复合染色胶原纤维(CF)及 Weigert 间苯二酚复红染色弹力纤维(EF),观察其在中膜的相对面积比值,并用 Harris 苏木素染色观察 VSMC 核个数。每组随机选取 6 张切片,光镜下将病理特染切片图

像输入 HPIAS-1000 高清晰度病理图文分析系统,每张切片选取 4 个视野,放大 400 倍,计算每个视野 VSMC 核个数,并计算每张切片等长血管壁下 VSM、EF、CF 与场面积的相对面积比值。

1.4 统计学方法:采用 SPSS 11.0 统计分析软件,计量资料以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,先确定样本是否符合正态分布,再行方差齐性检验,根据方差齐性选用检验方法;组内治疗前后比较采用配对 *t* 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠体重及一般情况观察:实验中各组动物体重继续增加,活动及饮食情况未见明显异常。疗程结束后,平肝组、化湿组、依那普利组、模型组各有 1 只死于灌胃,各组大鼠体重比较差异无显著性($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠主动脉胶原含量比较:表 1 示,模型组主动脉胶原含量显著高于WKY 组($P < 0.01$),治疗后各组羟脯氨酸含量与模型组比较均显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),化湿组、平肝组与WKY 组比较差异无显著性($P > 0.05$)。

表1 各组大鼠主动脉胶原含量比较(μg/mg 蛋白, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	主动脉胶原(羟脯氨酸)含量
WKY 组	6	0.68±0.13**
模型组	6	1.64±0.44
化湿组	6	0.85±0.46**
平肝组	6	1.10±0.22*
合方组	6	1.16±0.20*△
依那普利组	6	1.15±0.57*△

与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与WKY 组比较,△ $P < 0.05$

2.3 各组大鼠治疗前后血压变化比较:表 2 示,模型组血压持续升高,高于同期各治疗组和WKY 组,而WKY 组血压无明显升高。治疗 2 周、4 周、8 周时依那普利组血压降低最明显,与各中药组比较差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);平肝组降压作用与化湿组比较差异无显著性($P > 0.05$),而合方组降压作用优

表2 各组大鼠治疗前后血压变化比较(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药量	治疗前	治疗后 2 周	治疗后 4 周	治疗后 8 周
WKY 组	9	—	113.00±7.26*	113.81±5.86*	117.37±6.32*	119.74±6.80*
模型组	8	—	161.94±6.44	174.96±6.46	179.71±5.46	190.67±7.43▲▲
化湿组	8	13g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	159.56±9.40#	151.11±5.97*#	147.11±5.69*#	147.74±6.69*#△▲▲
平肝组	8	16g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	161.85±8.65#	158.26±6.27*#	150.29±5.34*#	142.13±5.54*#△▲▲
合方组	9	14g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	162.56±7.78#	154.89±6.84*#	148.87±5.94*#	137.04±3.61*#△▲☆
依那普利组	8	2mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	161.15±6.86#	129.15±7.09*#	128.04±6.66*#	126.79±5.26*#△

与模型组同期比较,△ $P < 0.01$;与WKY 组同期比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与本组治疗前比较,△ $P < 0.01$;与依那普利组同期比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与化湿组同期比较,☆ $P < 0.01$

于化湿组 ($P < 0.01$) ; 各治疗组治疗前与治疗 8 周后血压差异均有显著性 ($P < 0.01$) 。

2.4 各组大鼠主动脉病理组织学观察: 等面积下模型组主动脉 VSMC 核个数明显少于 WKY 组, VSM、CF 和 EF 的相对面积均显著大于 WKY 组。治疗后各用药组 VSMC 核个数均有增加, 但仅合方组和依那普利组与模型组比较差异有显著性; 除平肝组外, 各治疗组中膜 VSM 面积显著减少, 与 WKY 组比较差异无显著性; 各治疗组对中膜 EF 无显著影响, 而各药物对 CF 增加均有显著抑制作用, 其中化湿组与 WKY 组比较差异无显著性。

3 讨论

何立人教授认为, 肝阳上亢、痰湿中阻是高血压的主要病机, 尤其水湿痰浊是高血压发生发展和靶器官损害的重要因素之一, 并结合临床实际和经验提出了高血压“土湿侮木”的病机。因时制宜分析, 现代人普遍饮食肥甘厚腻, 生活节奏紧张, 压力增大, 精神情志易发生改变, 损伤脾胃, 导致运化失常, 一则气血不化, 肝失所养而表现虚证; 一则水湿不化, 痰浊内阻反侮肝木, 木气失于调达, 郁而生热亢于上, 阳亢与湿浊胶着为患, 病程缠绵难解, 久之变生他疾, 是高血压进展及出现靶器官损害的主要原因, 临床阳亢与湿浊症状常兼见即为“土湿侮木”病机的佐证之一, 故“土湿侮木”亦为高血压临床常见病机, 在临床上具有重要意义。因此, 在临床治疗高血压时应切合病机。何立人教授注重清化平镇并进治疗高血压, 擅长利用化湿利水泄浊法祛除水湿痰浊之困, 应用平肝潜阳法调达肝木疏泄之性, 临床疗效颇佳。

异常的血液动力学因素是 VR 的重要刺激因素之一, 降低血压有助于改善血流动力学及减轻血管结构的适应性改变。我们发现, 各组 SHR 血压在治疗前后均显著高于 WKY 大鼠, 证实内在的遗传因素是高血压的重要病因。化湿组治疗后各时间点血压虽比模型组均有显著持续的下降, 但与依那普利组、WKY 组比较差异仍有显著性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) ; 在治疗 2 周时其降压作用优于平肝组, 8 周时其降压效果反而不及平肝组、合方组。我们分析后认为, 化湿利水泄浊法有明确的降压作用, 其短期内较理想的降压作用可能与其有效的化湿利水——快速减轻容量负荷有关。目前 SHR 尚无中医证型可辨, 各中药组均有明确的降压作用, 尤以合方组效果最佳, 提示 SHR 可能存在阳亢、湿浊病机, 平肝和化湿法从不同的途径影响血压, 两者并用疗效呈现一定的累加趋势。

有效逆转靶器官损伤是治疗高血压的最终目标。高血压时大动脉的重构使管壁组织在高应力的作用下应变能力下降, 顺应性亦随之下降, 减弱了主动脉的弹性腔作用, 这是造成高血压心脏肥厚和心功能不全的重要因素之一。高血压血管的重构性改变常累及弹性动脉和肌性动脉, 主要表现为 VSMC 肥大增生及 CF 等成分增加, VSM、EF 等收缩成分相对减少^[8]。高血压 VR 有血管重排和血管肥厚的不同, 我们前期研究发现, 光镜下 SHR 模型组管壁增厚, 而 WKY 组无增厚, 平肝法和化湿法对 SHR 主动脉管壁厚度/管外径、管壁面积/管腔面积、内腔面积/管腔面积等比值无明显影响; 但本研究通过病理特染发现, 3 种治法对主动脉的不同结构成分均有改善作用。本研究中 SHR 的 VSMC 核个数显著低于 WKY 组, 但血管壁却厚于 WKY 组, 中膜 VSM、CF、EF 的相对面积均显著大于 WKY 组, 提示 SHR 主动脉重构以血管壁肥厚为主, 尤其中膜细胞数未增加而细胞面积却增加, 更提示血管壁肥厚以 VSMC 肥大为主, 而非 VSMC 增殖, 与临床报道一致^[7]; 各药物组中化湿组、合方组、依那普利组对 VSMC 肥大均有抑制作用, 其中合方组、依那普利组效果尤佳, 而平肝组则无明显作用; 各组对 CF 沉积均有抑制作用, 尤以化湿组效果最佳, 接近 WKY 组; 各组对主动脉胶原含量均有改善, 仍以化湿组效果最佳; 提示化湿利水泄浊法可能是通过抑制 VSMC 肥大及胶原增生而改善 VR。综上所述, 化湿组对 VSM、CF 的影响优于平肝组, 而合方组的作用并非表现为两法作用的叠加, 其具体机制有待进一步研究。

参考文献

- 1 Izzard AS, Heagerty AM. Hypertension and the vasculature: arterioles and the myogenic response. J Hypertens, 1995, 13(1): 1~4.
- 2 钱义明, 张庆荣, 王世君, 等. 平肝潜阳、化湿利水泄浊法对自发性高血压大鼠肠系膜动脉血管结构影响的比较研究. 江苏中医药, 2003, 24(8): 55~58.
- 3 沈建雄, 钱义明, 王世君, 等. 平肝化湿法对自发性高血压大鼠血压与血脂的影响. 中医药学刊, 2003, 21(8): 1274, 1288.
- 4 何立人, 王世君, 钱义明. 化湿利水泄浊法对自发性高血压大鼠主动脉血管结构的影响. 上海中医药大学学报, 2003, 17(4): 45~48.
- 5 钱义明, 王永霞, 王世君, 等. 化湿利水泄浊法对培养 SHR 血管平滑肌细胞增殖的影响. 上海中医药大学学报, 2004, 18(2): 55~57.
- 6 徐品初, 金国琴, 赵伟康, 等. 补气方药对老年大鼠动脉胶原代谢的作用. 中药药理与临床, 2000, 16(1): 3~5.
- 7 冀凯宏, 姜宗来, 杨何群. 自发性高血压大鼠主动脉结构重建. 基础医学与临床, 2000, 20(4): 82~86, 90.
- 8 Intengan HD, Thibault G, Li JS, et al. Resistance artery mechanics, structure, and extracellular components in spontaneously hypertensive rats: effects of angiotensin receptor antagonism and converting enzyme inhibition. Circulation, 1999, 100(22): 2267~2275.