

清眩降压汤对自发性高血压模型大鼠肾脏的保护作用

褚剑锋^{1*} 吴广文¹ 郑国华¹ 郑良扑² 林薇²
黄梅雅² 黄云梅² 林如辉² 杨美玲³ 周常恩⁴

(1. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福建省福州市闽侯上街华佗路 1 号, 350108;

2. 福建中医药大学医学实验中心 3. 福建省福清市医院康复科; 4. 福建中医药大学中医学院)

基金项目: 陈可冀中西医结合发展基金 (CKJ2010033)

* 通讯作者: jianfengchu@126.com, (0591)22861166

[摘要] 目的 研究清眩降压汤对自发性高血压 (SHR) 大鼠血压的影响和肾脏保护作用。方法 40 只 SHR 大鼠随机分为清眩降压汤高剂量组 (5.372g/d)、低剂量组 (1.7g/d)、替米沙坦组 (2.4mg/d) 和模型组 (予矿泉水), 每组 10 只; 另设 10 只 Wistar 大鼠为正常组 (正常饲养); 连续给药 8 周。给药前、单次给药 2h、6h、12h、24h, 给药 3 天、1 周、4 周、8 周, 分别检测各组大鼠收缩压和舒张压; 最后一次检测血压后 10% 水合氯醛麻醉取血, 酶联免疫法和放射免疫法检测大鼠血清中血管紧张素 II (Ang II) 和血管紧张素 1-7 (Ang1-7) 的含量; HE 染色观察大鼠肾脏组织的病理改变; 免疫组织化学方法检测 Ang II 在肾脏的表达。结果 清眩降压汤给药 1 次, 各时间点大鼠血压未出现明显变化, 替米沙坦组大鼠给药后 2h 收缩压、舒张压均明显下降 ($P < 0.05$); 连续治疗 8 周后, 未发现清眩降压汤高、低剂量组大鼠血压明显变化, 替米沙坦组大鼠收缩压显著下降 ($P < 0.05$), 而模型组大鼠收缩压升高显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), Ang II 和 Ang1-7 在血压升高大鼠中较血压正常大鼠水平要低 ($P < 0.05$), 各给药组大鼠肾脏肾小球和肾小管增生程度较模型组大鼠均得到明显抑制。结论 清眩降压汤可以控制 SHR 收缩压的进一步升高, 抑制由于血压升高导致的大鼠肾小球和肾小管增生, 对 SHR 有潜在的肾脏保护作用。

[关键词] 清眩降压汤; 自发性高血压大鼠; 肾脏保护; 高血压; 血管紧张素 II; 血管紧张素 1-7

Protective Effect of Qingxuan Jiangya Decoction on Kidney of Spontaneous Hypertension Rats

CHU Jianfeng¹, WU Guangwen¹, ZHENG Guohua¹, ZHENG Liangpu², LIN Wei², HUANG Meiyi², HUANG Yunmei², LIN Ruhui², YANG Meiling³, ZHOU Changen⁴

(1. Academy of Integrative Chinese and Western Medicine, Fujian University of Chinese Medicine, Fujian Province 350108; 2. Experimental Research Center, Fujian University of Chinese Medicine; 3. Fuqing Municipal Hospital, Fujian Province; 4. College of Chinese Medicine, Fujian University of Chinese Medicine)

ABSTRACT **Objective** To study the protective effect of Qingxuan Jiangya Decoction (Decoction for treating dizziness and lowering blood pressure) on blood pressure and kidney of spontaneous hypertension rats (SHR). **Methods** Forty SHR were randomized into 4 groups, i.e. Qingxuan Jiangya Decoction high-dose group and low-dose group, accepted Qingxuan Jiangya Decoction 5.372g/d and 1.7g/d respectively, the telmisartan group, accepted telmisartan 2.4mg/d, and the model group, with 10 rats in each. Ten Wistar rats were taken into normal control group. The rats were treated with intragastric administration for 8 weeks in succession. Blood pressure was determined respectively before treatment, 2h, 6h, 12h, 24h after first treatment and 3d, 1 week, 4 weeks and 8 weeks treatment. After the last blood pressure examination, 10% chloral hydrate anesthesia was adopted to collect blood for enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and radioimmunoassay (RIA) tests to measure the Ang II and Ang1-7 contents. HE staining was used to observe the pathological changes of kidney tissue, and the immunohistochemical method was applied to determine the Ang II expression in the kidney. **Results** With the first time intragastric administration, blood pressure in the high-dose and low-dose of Qingxuan Jiangya Decoction was not significantly changed, while the systolic and diastolic pressure of the telmisartan group was significantly lowered ($P < 0.05$) 2 hours after treatment. After the treatment for 8 weeks in succession, blood pressure in the high-dose and low-dose Qingxuan Jiangya Decoction groups was not significantly changed ($P > 0.05$), the systolic pressure of the telmisartan group was significantly lowered ($P < 0.05$), and the systolic pressure of the model group was increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Ang II and Ang1-7 contents in the SHRs were lower than in the normal rats ($P < 0.05$); and the glomerular and tubular hyperplasia in all treatment groups were both significantly inhibited compared with those of the model group. **Conclusion** Qingxuan Jiangya Decoction is effective in controlling the further increase of SHR systolic pressure, inhibiting the hypertensive glomerular and tubular hyperplasia, thus providing a potential kidney protection for SHR.

Keywords Qingxuan Jiangya Decoction (Decoction for treating dizziness and lowering blood pressure); spontaneous hypertension rats (SHR); kidney protection; hypertension; Ang II; Ang1-7

肾损害是高血压病最常见的靶器官损害之一,约有18%的高血压病患者最终出现肾功能不全。血压升高已成为导致患者进入终末期肾疾病(ESRD)的独立因素,因高血压肾损害导致的慢性肾功能衰竭排在肾小球肾炎、糖尿病肾病之后,居第3位^[1]。清眩降压汤是陈可冀院士几十年临床工作的经验用方,可以改善高血压病患者的头晕、头痛等临床症状,前期研究发现该方可以控制自发性高血压大鼠(SHR)收缩压的进一步升高,减轻由于高血压引起的心肌肥厚^[2]。本研究在此基础上观察其对SHR肾脏保护作用。

1 材料与方法

1.1 动物

7周龄清洁级SHR(40只)、Wistar大鼠(10只),体重190~200g,购于上海斯莱克实验动物有限公司,实验动物许可证号:SCXK(沪)2007-005。

1.2 试剂

血管紧张素II(Ang II)放射免疫分析试剂盒(北京普尔伟业生物科技有限公司,批号:20080929);大鼠血管紧张素1-7(Ang1-7)酶联免疫试剂盒(上海西唐生物科技有限公司,批号:0808252);Ang II免疫组织化学试剂盒(圣克鲁兹生物科技有限公司);DAB显色试剂(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 药物

清眩降压汤颗粒剂由天麻30g、钩藤30g、苦丁茶30g、黄芩10g、牛膝10g、杜仲10g、夜交藤30g、生地黄30g、桑叶15g、菊花15g组成,购自香港培力(南宁)药业有限公司,诸药混合,开水冲泡,微波炉加热约15min至固体药物完全溶化,制成混悬液;替米沙坦片(苏州东瑞制药有限公司,批号:H20061185)用纯净水制成混悬液。

1.4 仪器

酶标仪ELX808U(美国BIO-TEK公司);鼠尾血压计ALC-NIBP(上海奥尔科特生物科技有限公司);光学显微镜YS100(Nikon);万能研究型显微镜BX51(Olympus);图像采集及分析系统(麦克奥迪)。

1.5 动物分组和用药^[3]

将40只SHR依随机数字表法分为中药高剂量组、中药低剂量组、替米沙坦组、模型组,每组10只。10只Wistar大鼠设为正常组。用药剂量根据《药理实验方法学》^[3]的标准动物的等效剂量折算系

数法,模型组给予矿泉水1ml/d,清晨灌胃;清眩降压汤低剂量组每只1.7g/d;清眩降压汤高剂量组每只5.372g/d,分早晚2次灌药,每次1.5ml;替米沙坦组每只给予替米沙坦2.4mg/d,晨起灌药1次,每次1ml。从9周龄开始,连续灌药8周;正常组不做干预。

1.6 血压测量

给药前,单次给药2h、6h、12h、24h,给药3天、1周、4周、8周,分别检测大鼠清晨血压。采用尾套法,无创血压测量分析软件,恒温箱加热保持温度38℃,可以看到规律的连续正弦波形,检测6次,取均值,压力检测设定为90~230mmHg,加压速度为“快”,半自动模式。

1.7 取血和取材

给药8周后,所有大鼠用10%的水合氯醛(400mg/kg)腹腔注射麻醉,腹主动脉真空取血,冻存储备用。腹主动脉取血后,立即取左侧肾脏,沿肾脏长轴,做冠状切面(保留肾门),沿肾门下缘,再做横切,取保留肾门的部分,行HE染色和免疫组织化学检测。

1.8 生化指标检测

Ang II的检测是利用液相竞争抑制原理,采用平衡法对样品进行测定。Ang 1-7采用酶联免疫法测定。

1.9 肾脏组织HE染色和Ang II免疫组织化学检测

取肾组织,HE染色,光镜观察。微波法修复抗原,分别加一抗(1:200)和二抗,DBA显色,具体操作步骤按照试剂说明书进行。二甲苯脱水,中性树脂封片,麦克奥迪图像采集系统拍照($\times 200$),取5个视野,计算平均灰度值。

1.10 统计学方法

采用SPSS13.0统计软件处理,计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析和 t 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠单次给药和给药后3天血压比较

表1、表2示,与本组给药前比较,单次给药后2h、6h、12h、24h和给药3天后,各组大鼠收缩压和舒张压,除替米沙坦组给药后2h均下降外($P < 0.05$),其余各组组间及各时间点血压差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 连续给药8周各组大鼠血压比较

表3、表4示,与本组给药前比较,给药第1周、4周、8周后,清眩降压汤高、低剂量组大鼠收缩压未

表 1 各组大鼠单次给药前后不同时间收缩压比较(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药前	给药后 2h	给药后 6h	给药后 12h	给药后 24h	给药后 3 天
中药高剂量组	10	181.70±5.37	179.64±5.51	182.46±5.35	186.59±4.28	185.20±4.94	182.39±5.54
中药低剂量组	10	183.26±5.63	177.90±5.37	178.61±6.01	180.45±5.30	183.41±5.37	188.77±5.83
替米沙坦组	10	184.64±5.91	172.15±5.10*	178.44±6.28	180.99±6.49	186.29±6.65	183.12±6.01
模型组	10	180.83±4.66	181.93±4.09	183.47±4.96	183.93±5.93	187.81±6.08	187.44±6.86
正常组	10	148.06±8.64	146.85±7.92	144.36±6.88	146.39±7.02	144.53±6.72	149.70±7.83

注:与本组给药前比较, * $P<0.05$ 表 2 各组大鼠单次给药前后不同时间舒张压比较(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药前	给药后 2h	给药后 6h	给药后 12h	给药后 24h	给药后 3 天
中药高剂量组	10	144.36±4.69	148.37±5.88	149.46±6.35	151.38±7.00	154.41±6.82	147.35±5.76
中药低剂量组	10	147.41±5.77	151.60±5.06	141.27±6.99	144.50±6.13	149.56±5.97	153.45±6.37
替米沙坦组	10	151.19±5.77	147.53±5.82*	153.65±5.02	155.37±6.07	160.73±5.86	153.87±7.47
模型组	10	142.68±6.82	141.06±6.29	144.38±5.78	148.16±5.55	149.56±5.24	152.01±5.55
正常组	10	112.85±7.03	109.98±6.75	114.30±5.88	118.49±6.23	117.00±5.54	110.19±6.85

注:与本组给药前比较, * $P<0.05$ 表 3 各组大鼠给药 8 周后收缩压比较(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药前	给药 1 周后	给药 4 周后	给药 8 周后
中药高剂量组	10	181.70±5.37	182.12±6.04	182.96±5.75	185.38±7.41
中药低剂量组	10	183.26±5.63	183.16±6.06	190.11±6.56	192.47±5.67
替米沙坦组	10	184.64±5.91	176.52±6.34 Δ	171.72±6.01 Δ	169.88±6.35 Δ
模型组	10	180.83±4.66	188.75±6.83 Δ	204.69±6.68 Δ	211.04±7.87 Δ
正常组	10	148.06±8.64	145.66±6.39	146.50±6.73	151.64±6.45

注:与本组给药前比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ 表 4 各组大鼠给药后 8 周舒张压比较(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药前	给药 1 周后	给药 4 周后	给药 8 周后
中药高剂量组	10	144.36±4.69	146.01±4.78	150.46±4.28	145.97±7.86
中药低剂量组	10	147.41±5.77	148.25±3.94	140.74±4.39	144.67±7.02
替米沙坦组	10	146.19±5.47	145.26±4.53	144.68±3.94	149.83±6.35
模型组	10	142.68±6.82	150.93±5.17	142.38±4.74	143.49±6.94
正常组	10	112.85±7.03	114.39±4.33	117.28±3.73	119.68±4.73

表 5 各组大鼠给药后血清 Ang II、Ang1-7 和肾脏局部表达(灰度值)比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Ang1-7(ng/ml)	Ang II(pg/ml)	Ang II 灰度值
中药高剂量组	10	1.23±0.13	103.20±14.68 Δ	117.30±28.45
中药低剂量组	10	1.47±0.26	173.94±25.22	128.64±31.28
替米沙坦组	10	1.77±0.28	244.35±30.02 Δ	145.70±19.66
模型组	10	1.68±0.24	152.83±20.63	139.91±28.66
正常组	10	4.13±0.35*	221.73±26.58*	107.58±21.58

注:与模型组比较, * $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$

见显著下降($P>0.05$)。替米沙坦组大鼠从第 1 周给药结束后收缩压即降低,至第 8 周,降低约 10mmHg($P<0.05$)。模型组大鼠收缩压从第 1 周结束即出现明显升高($P<0.05$),至第 8 周,升高显

著($P<0.01$)。各组大鼠在连续给药 8 周期间舒张压均未出现显著变化。

2.3 各组大鼠血清 Ang II 和 Ang1-7 含量比较

表 5 示,给药后,替米沙坦组血清 Ang II 含量明显高于清眩降压汤高、低剂量组,与正常组含量相当。清眩降压汤不能升高血清 Ang1-7 水平,替米沙坦可以升高血清 Ang1-7 水平($P<0.05$)。

2.4 给药 8 周后各组大鼠肾脏病理改变和局部 Ang II 表达情况

给药结束后,肾脏病理组织学观察,模型组大鼠肾小球明显增大,肾小管明显增粗;清眩降压汤高、低剂量组和替米沙坦组大鼠肾小球均可见到一定程度的增大,肾小管增大不明显。

3 讨论

SHR 是目前高血压实验研究中最常用的模型,与人原发性高血压发病、发展和转归有着比较相似的特征。病证结合的动物模型对中医药的基础研究显得非常重要,要求该模型疾病和证候稳定、均一、可重现。SHR 作为自发性高血压模型,符合疾病的稳定和均一性,是建立病症结合的动物模型的理想途径。研究发现该型大鼠情绪较为紧张、小便偏黄量少、大便颗粒小而干、眼突明显、心率快、痛觉敏感,综合这些行为学特征和体征,通过观察临床高血压患者表现的眩晕头痛、面红目赤、烦躁易怒、便干尿赤的特征,初步判定该动物模型早期的高血压症状类似中医中肝火亢盛型高血压病特征^[4-5]。

现代人过食肥甘厚味,损伤脾胃,引起热盛伤阴,可发展成阴虚阳亢型高血压^[6]。清眩降压汤是陈可冀院士 60 余年临床工作中治疗高血压的经验方剂,主要治疗高血压病肝肾阴虚或阴虚上亢证患者,这与当今人群体质和高血压的发病特点相吻合。该方君药为天麻、钩藤、苦丁茶平肝潜阳熄风,辅以杜仲养肝肾,夜交藤安神,菊花、桑叶、黄芩清肝热,佐以生地黄滋阴清热,纵观全方,以清为主,兼以滋补肝肾,共奏平肝阳、清肝热、益肝肾之功^[2]。

临床研究发现,清眩降压汤联合西药较单用西医抗高血压药对肝肾阴虚、肝阳上亢证高血压病患者有更好的降压疗效,且能更好地改善患者临床症状,提高生存质量和增强左室舒张功能。能够改善更年期女性高血压动态特征,其中机制可能与抑制循环肾素—血管紧张素—醛固酮系统活性有关^[7-8]。

高血压的不良后果是导致心脑血管等重要脏器的损害,高血压防治的根本目的不仅仅是控制血压,更重要的是控制由于高血压导致的靶器官损害。本研

究发现该方剂不能降低 SHR 的舒张压,但从长期的角度来看,可以控制 SHR 的收缩压进一步升高,验证了前期的实验结果。与模型组对比,该方剂较好地抑制了由于高血压导致的肾小球和肾小管增生,其中机制可能与控制 SHR 收缩压的进一步升高有关。

本研究证实了清眩降压汤具有肾脏保护的作用,其中机制与其能够控制 SHR 收缩压进一步升高,抑制 Ang II 的升高相关,但并未发现其具有升高 Ang1-7 的作用。本研究证实了清眩降压汤控制血压保护肾脏的作用,其确切作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1]许顶立,任昊.高血压肾脏损害的防治[J].中华心血管病杂志,2004,32(2):190-192.
- [2]褚剑锋.清眩降压汤对 SHR 血压及心脏的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2009,7(5):553-554.
- [3]徐叔云,卞如廉,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2005:202-204.
- [4]Ye F, Du GZ, Cui AQ, et al. Study on the mechanism of compound mistletoe fluidextractin relieving hypertension [J]. J Tradit Chin Med, 2009, 29(4): 291-295.
- [5]屈会化,赵琰,曲荣波,等.自发性高血压大鼠早期中医证候的研究[J].中医杂志,2008,49(5):446-448.
- [6]武俊华,赵春英.辨证论治高血压[J].中医杂志,2010,51(S2):151-152.
- [7]余军,徐凤琴.清眩降压汤治疗肝肾阴虚肝阳上亢型高血压病的观察[J].中西医结合心脑血管病杂志,2010,8(1):1-3.
- [8]陶丽丽.清眩降压汤治疗更年期女性原发性高血压的临床研究[D].北京:中国中医科学院,2008.

(收稿日期:2011-03-22;修回日期:2011-08-24)

[编辑:行之]

欢迎邮购《中国现代名中医医案精粹》

《中国现代名中医医案精粹》(1-6集),由董建华、王永炎两位院士牵头,组织全国第一批、第二批、第三批全国老中医药专家学术经验继承工作指导老师编写,共收录434位名老中医的5172例医案。这些医案是现代中医名家灵活运用中医理法方药治病活人的真实记录。通过阅读这些医案,读者如同在名老中医的带领下一步一步走近患者,进行思考分析,对于广大的中医医生临床诊治、深入研究及成长发展具有重要的指导作用。医案中的按语或为名医本人所撰,或由后人、门徒所加;编者评注由丛书主编、副主编所撰。第1、2集主要收录146位名老中医的1850例医案,第3、4集主要收录142位名老中医的1884例医案,第5、6集主要收录146位名老中医的1438例医案。本丛书特点:①所选名中医在全国有广泛的影响,极具权威性。②各集内对名中医均按行政区划和军队分类编排。③每则医案均由名老中医亲自选定,真实、可靠。其中一部分名老中医已谢世,因此所收医案尤为珍贵。④每集正文后均有该集的病名病证索引,第6集书末附有丛书的总病名病证索引,方便读者查阅。

《中国现代名中医医案精粹》(1-6集)为精装16开本,已由人民卫生出版社于2010年12月出版。第1集694页,定价95元;第2集669页,定价92元;第3集720页,定价96元;第4集820页,定价108元;第5集619页,定价85元;第6集558页,定价75元。单购一集每本加邮挂号费5元,全套购买免邮费。款到寄书。汇款地址:北京市东直门南小街16号中医杂志北京医海林音像书店;邮政编码:100700;联系电话:(010)64013162,(010)64014411-3053。