

益气活血解毒方对幼龄自发性高血压大鼠内皮功能的影响

岳桂华^{1*}, 卓少元²

(1. 广西中医学院附属瑞康医院, 南宁 530011; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 研究益气活血解毒方对幼龄自发性高血压大鼠内皮功能的影响, 探讨益气活血解毒方预防高血压病的机制。方法: 雄性 6 周幼龄自发性高血压大鼠 (SHR) 16 只随机分为益气活血解毒方组、模型组, 治疗 6 周, 分别检测治疗前后的各组大鼠血压, 酶联免疫吸附 (ELISA) 法测定血清血管性假血友病因子 (vWF)、内皮素-1 (ET-1), 硝酸还原法测定一氧化氮 (NO) 的含量, 黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统检测超氧化物歧化酶 (SOD), 硫代巴比妥酸比色法检测丙二醛 (MDA)。并设同龄 Wistar-Kyoto (WKY) 大鼠 8 只做空白对照比较。结果: 幼龄 SHR 血浆中 vWF 和 MDA 升高, NO 和 SOD 降低, 益气活血解毒方可以降低幼龄 SHR 血浆 vWF 和 MDA, 升高 NO 和 SOD。结论: 幼龄 SHR 已存在内皮功能不全, 益气活血解毒方早期应用能改善 SHR 血管内皮功能。

[关键词] 幼龄自发性高血压大鼠; 血管性假血友病因子; 一氧化氮; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 内皮素-1

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 08-0154-03

Effect of Formula of Benefiting Qi and Promoting Blood Circulation and Detoxication on Endothelial Function in Younger Spontaneously Hypertensive Rats

YUE Gui-hua^{1*}, ZHUO Shao-yuan²

(1. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi Traditional Chinese Medical College, Nanning 530011;
2. Guangxi Traditional Chinese Medical College, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of the formula of benefiting Qi and promoting blood circulation and detoxication on juvenile spontaneously hypertensive rats (SHR) ' endothelium function, and further investigate the prevention mechanism of HBP by the formula. **Method:** 16 6ws-old male SHR rats were randomly divided into two groups, including the model group and the formula group. After 6 weeks, the changes in blood pressure before and after treatment were detected separately. Besides, the change of serum von Willebrand factor (vWF) and ET-1 concentration were tested by enzyme linked immunosorbent assay, the content of serum NO was tested by nitrous reductase chromatometry, the SOD was tested by xanthine and xanthine oxidase reaction system, and the MDA was tested by thiobarbital chromatometry. Meanwhile 8 same age WKY rats were used as the blank comparison. **Results:** In the juvenile plasma, vWF and MDA were significantly ($P < 0.05$) increased, NO and SOD were significantly ($P < 0.05$) decreased. After treatment with the formula of benefiting Qi and promoting blood circulation and detoxication, not only vWF and MDA were significantly ($P < 0.05$) decreased, but also NO and SOD were significantly ($P < 0.05$) increased in the SHR plasma. **Conclusion:** The insufficiency of endothelium in SHR exists in juvenile stage. The early application with the formula of benefiting Qi and promoting blood circulation and detoxication can improve vascular endothelial function in juvenile SHR.

[收稿日期] 2010-01-06

[基金项目] 广西基金项目 (桂科 0832176)

[通讯作者] ? 岳桂华, Tel (0771) 2238026; E-mail: sdygh1969@163.com

[Key words] juvenile spontaneously hypertensive rat; von Wilebrand factor; nitrous oxide; ultraoxydum dismutase; malondialdehyde; endothelin 1

原发性高血压是临床常见的心血管疾病之一,既往研究发现,高血压病存在血管内皮细胞功能障碍^[1],内皮功能障碍甚至成为高血压病人不良结局的预测因子,但其与高血压发病的因果关系却尚未明了。高血压和内皮功能障碍具有相似的病因和发病机制。目前多数认为高血压是内皮功能障碍的病因,但也有研究发现,内皮功能紊乱可出现在血压增高以前的一段时期^[2],既往临床研究表明益气活血解毒法对高血压的内皮有保护作用^[3]。但该方对高血压之前是否有同样的内皮保护作用,需进一步研究,因此作者以幼龄 SHR 为研究对象,探讨益气活血解毒方预防高血压病的机制。

1 材料

1.1 药品 益气活血解毒方由黄芪、杜仲、黄连、黄柏、蒲黄、三七、钩藤按 2 1.5 1.2 1 1 1 2 比例组成。其药材均购于广西中医学院附属瑞康医院药剂科,煎煮取汁浓缩。

1.2 试剂及仪器 ET-1 和 vWF 试剂盒,武汉中美科技有限公司; SOD 和 MDA 试剂盒,南京建成生物工程研究所; BP-6 大鼠无创血压测试仪,成都泰盟科技有限公司; MK3 酶标仪,美国 Thermo; 1575 洗板机,美国 BIO-RAD。

1.3 动物 雄性 6 周 SHR 16 只和 6 周 WKY8 只,体重 80 ~130 g, SHR 购自北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号 SCXK(京) 2006 ~0009]。WKY 大鼠,购自广西医科大学动物实验中心[合格证号 SCXK(桂) 2006-0003]。

2 方法

2.1 分组与给药 SHR 随机分为益气活血解毒方组、模型组,每组 8 只。WKY 8 只为空白对照。益

气活血解毒方组 ig 10 mL · kg⁻¹,相当生药 2.75 g · kg⁻¹,SHR 对照组及 WKY 正常对照组等容积蒸馏水 ig,1 次/d,连续 6 周。

2.2 血压检测 分别于给药前及给药后 1,2,4,6 周,测量大鼠安静清醒状态下尾动脉收缩压(SBP)。每只鼠连续测量 SBP 3 次,间隔 60 s,取其平均值。

2.3 血清 NO, ET-1, vWF, SOD, MDA 检测 大鼠给药 6 周后,用 2% 戊巴比妥钠(45 mg · kg⁻¹) ip 麻醉,腹主动脉取血 6 mL,3 000 r · min⁻¹离心 10 min,用于 NO, ET-1, vWF, SOD 和 MDA 的检测。ET-1、vWF 测定采用酶联免疫吸附双抗体夹心法(ELISA), ET-1 产品编号为 E0482r, vWF 产品编号为 E0833r,均严格按试剂盒说明书进行。硝酸还原法测定 NO,黄 呤及黄 呤氧化酶反应系统检测 SOD,硫代巴比妥酸比色法检测 MDA。

2.4 统计学方法 数据以 ̄x±s 表示,两组间比较用 t 检验,采用 SPSS11.0 统计软件, P<0.05 为有显著统计学意义。

3 结果

3.1 益气活血解毒方对幼龄 SHR 血压的影响 治疗前各组血压没有统计学差异,模型对照组随着鼠龄的增长血压进行性增高,在实验开始第 2 周时表现出血压升高(P<0.05),第 6 周时血压升高明显(P<0.01)。而益气活血解毒组能降低大鼠进行性血压增高的趋势,与同时间段模型组比,在给药 4 周和 6 周对 SHR 产生了显著的降压作用(P<0.05)和 P<0.01;与空白对照组比,给药 6 周后,给药组血压水平与空白对照组水平相当。结果见表 1。

表 1 益气活血解毒方对幼龄 SHR 血压的影响(mmHg, ̄x±s, n=8)

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	0 周	1 周	2 周	4 周	6 周
空白对照	—	119.68 ±2.04	115.96 ±2.86	114.81 ±3.37	114.36 ±3.00	115.02 ±2.08
模型对照	—	121.78 ±5.51	122.47 ±8.32	124.66 ±9.31 ¹⁾	130.02 ±13.18 ¹⁾	136.64 ±2.72 ²⁾
益气活血解毒	2.75	123.73 ±6.01	120.64 ±6.40	121.39 ±7.06	118.54 ±5.54 ³⁾	119.36 ±6.21 ⁴⁾

注:与同时段空白对照组比¹⁾ P<0.05, ²⁾ P<0.01;与同时段模型组比³⁾ P<0.01, ⁴⁾ P<0.01, (下同)

3.2 益气活血解毒方对幼龄 SHR NO, ET-1, vWF, SOD, MDA 的影响 与空白组比,模型组幼龄 SHR 血浆中 vWF, MDA 升高(P<0.05 或 P<0.01), NO, SOD 降低(P<0.05), ET-1 无明显变化,表明 SHR

在高血压前期已存在内皮功能不全。与模型组比,益气活血解毒方能显著降低血浆 vWF(P<0.05),升高 NO, SOD(P<0.05)。结果见表 2。

表 2 益气活血解毒方对幼龄血清 SHR NO, ET-1, vWF, SOD, MDA 的影响 (聊±s, n= 8)						
组别	剂量 /g · kg ⁻¹	NO/ μmol · L ⁻¹	ET-1 /pg · mL ⁻¹	vWF/ng · mL ⁻¹	SOD/U · mL ⁻¹	MDA/nmol · mL ⁻¹
空白对照	—	31. 141 ±6. 964	73. 732 ±16. 262	2 740. 514 ±939. 512	132. 809 ±14. 692	2. 990 ±0. 453
模型对照	—	20. 795 ±7. 037 ¹⁾	86. 979 ±11. 941	6 940. 451 ±843. 673 ²⁾	114. 652 ±15. 261 ¹⁾	4. 170 ±0. 408 ¹⁾
益气活血解毒	2. 75	30. 682 ±7. 587 ³⁾	74. 230 ±15. 467	4 957. 610 ±1 482. 184 ³⁾	134. 919 ±13. 542 ³⁾	3. 247 ±0. 845

4 讨论

SHR 是目前国际公认的最接近于人类原发性高血压的动物模型。该种大鼠出生后 3 ~4 周血压开始升高, 12 ~24 周时达到高峰, 因此出生后 4 ~12 周是血压持续升高的阶段, 因此作者采用了 6 周龄的 SHR 作为研究对象。

作者在临床研究发现高血压不仅具有热毒的特征^[4], 且由于高血压病程长, 热毒耗伤气阴, 久病气耗, 久病入络, 气虚则无力推动血液运行而致血流迟缓, 运行涩滞, 血瘀则脉络瘀痹, “虚”、“毒”、“瘀”导致脉络运行不畅, 进一步导致了血管闭阻的并发症。故此作者提出了益气活血解毒的高血压治法, 用益气活血解毒方进行了临床和实验研究, 方中重用黄芪为君治本, 以杜仲补益肝肾, 协助君药增强补益之功, 蒲黄、三七活血止血, 祛瘀生新, 三者共为臣药; 以钩藤清解肝热, 黄连清泻心火, 兼泻中焦之火, 黄柏泻下焦之火, 三药合用, 可清泻三焦之热毒; 全方补泻兼施以调其虚实, 是为本方的配伍特点, 具有益气活血、清热解毒之功, 实验表明, 该方能控制幼龄 SHR 高血压的上升趋势。

高血压病和内皮细胞功能障碍之间有密不可分的关系, 高血压是内皮损伤的始动因素之一^[5]。内皮损伤程度可反映高血压患者病情严重程度。原发性高血压患者内皮功能减退, NO 生成减少或生物利用度降低, 可能与氧化应激有关。其机制是高血压内皮损伤后, 自由基生成增多, SOD 缺乏致超氧阴离子生成, NO 生成减少和活性被破坏, 导致内皮依赖性舒血管作用下降。高血压病患者 SOD 水平下降, MDA 增加, 提示高血压病患者存在氧化反应增强及抗氧化能力降低, 体内活性氧增加, 引起并加重内皮功能失调。

对有原发性高血压家族史的血压正常的子代的研究发现, 其基础 NO 分泌减少, 除提示内皮功能障碍有遗传倾向外, 同时也说明 NO 分泌减少、内皮依赖性的舒张功能受损也是导致高血压的危险因素^[6]。NO 和 ET-1 的分泌失衡是导致高血压的重要因素。内皮细胞损伤后, 内皮细胞释放的很多活性物质如凝血酶、5 羟色胺等缩血管作用增强, 从而影响 ET-1, NO 的平衡状态, 导致血管张力调节的紊乱, 内皮依赖性舒张功能下降, 收缩功能增强, 血管壁结构发生变化, 导致血压的升高。当血管内皮受损时, Weibel-Palade 小体发生变形性损害, vWF 被释放, 血浆中 vWF 水平升高, 因此, 血浆 vWF 是反映血管内皮细胞受损的重要指标。

作者观察到 6 周龄的 SHR 模型组血浆中 NO 和 SOD 降低, vWF 和 MDA 上升, 表明 SHR 在血压达到高峰前已存在内皮功能不全。ET-1 虽有上升的趋势, 但无统计意义, 结果仍需进一步研究。提前应用益气活血解毒方不仅能控制幼龄 SHR 血压的进一步升高, 且通过提高 NO 和 SOD, 降低 vWF 和 MDA, 从而改善受损的内皮功能, 进一步减少高血压并发症的发生, 体现了中医的“治未病”的思想和理念。

[参考文献]

[1] Tanner F C, Boulanger C M, Luscher T F. Endothelium-derived nitric oxide, endothelin, and platelet vessel wall interaction: Alteration in hypercholesterolemia and atherosclerosis [J]. Seminars in thrombosis and hemastasis. 1993, 19: 167.

[2] 陈明, 胡申江, 张健, 等. 不同危险度的高血压人血管内皮功能[J]. 高血压杂志, 2006, 14(4) : 257.

[3] 岳桂华, 管琳, 张爱珍. 益气活血解毒法对高血压内皮保护的临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2007, 5(8) : 50.

[4] 岳桂华, 秦小慧. 高血压病“毒”的物质基础[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(2) : 133.

[5] Spencer C G, Martin S C, Felmeden D C, et al. Relationship of homocysteine to markers of platelet and endothelial activation in “high risk” hypertensives: a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial [J]. Int J Cardiol, 2004, 94 (223) : 293.

[6] McAllister A S, Atkinson A B, Johnston G D, et al. Basal nitric oxide production is impaired in offspring of patients with essential hypertension [J]. Clin Sci (Lond), 1999, 97(2) : 141.

[责任编辑 何伟]