

黄连解毒汤对自发性高血压大鼠血栓前状态的影响

张志伟, 岳桂华*, 罗远

(广西中医学院附属瑞康医院, 南宁 530011)

[摘要] 目的: 观察黄连解毒汤对自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rats, SHR) 血栓前状态 (prothrombotic state, PTS) 的影响。方法: 24 只 12 周龄雄性 SHR 随机分为黄连解毒汤组 ($15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、卡托普利组 ($0.0175 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和模型组 3 组, 8 只同龄雄性 Wistar-Kyoto (WKY) 大鼠为空白对照组, 通过 BP-6 动物无创血压测试仪测定各组治疗前血压, 连续 ig 给药 6 周, 每日 1 次, 第 1, 2, 4, 6 周的第 7 天下午定时测量各组血压, 6 周后由腹主动脉取血, 检测血清血栓素 A_2 (TXA₂), 6-酮前列环素 (6-K-PG), 一氧化氮 (NO), 内皮素-1 (ET-1), 纤溶系统激活剂 (t-PA), 纤溶系统抑制因子 (PAI-1), 同型半胱氨酸 (Hcy) 和血管性血友病因子 (vWF)。结果: 黄连解毒汤可控制 SHR 血压, 降低 TXA₂, ET-1, Hcy 和 vWF ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 增加 6-K-PG 和 NO ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 黄连解毒汤可降低 SHR 的血压, 改善其 PTS。

[关键词] 黄连解毒汤; 自发性高血压大鼠; 血压; 血栓前状态

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)02-0105-04

Effects of Huanglian Jiedu Decoction on Prothrombotic State in Spontaneous Hypertension Rats

ZHANG Zhi-wei, YUE Gui-hua*, LUO Yuan

(Affiliated Ruikang Hospital, Guangxi Traditional Chinese Medicine University, Nanning 530011, China)

[Abstract] Objective: To observe the effects of Huanglian Jiedu Decoction on prothrombotic state (PTS) in spontaneous hypertension rats (SHR). **Method:** Twenty-four SHR were randomly divided into the Huanglian Jiedu Decoction treated group, captopril treated group and model group; eight Wistar-Kyoto Rats were used as the blank group. The groups were treated by Huanglian Jiedu Decoction, captopril and distilled water respectively for six weeks. Blood pressure (BP) were measured at the beginning of the experiment and the end of every week in the experiment, and after six weeks, thromboxane A_2 (TXA₂), 6-Keto-prostaglandin (6-K-PG), nitric oxide (NO), endothelin-1 (ET-1), tissue type plasminogen activator (t-PA), Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), homocysteic acid (Hcy) and von Willebrand factor (vWF) of plasma were determined respectively. **Result:** Huanglian Jiedu Decoction could control the BP of the SHR and decrease the content of TXA₂, ET-1, Hcy, vWF ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) and increase the content of 6-K-PG, NO ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Huanglian Jiedu Decoction could control the BP and improve the PTS in the SHR.

[Key words] Huanglian Jiedu Decoction; spontaneous hypertension rats; blood pressure; prothrombotic state

[收稿日期] 20100725(001)

[基金项目] 广西科学基金项目(桂科自 0832177)

[第一作者] 张志伟, 硕士, 助理实验师, 研究方向: 生化药理, Tel: 13481081452, E-mail: wuqiong00009@163.com

[通讯作者] * 岳桂华, 博士, 副主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 中西医结合心血管疾病基础与临床研究, Tel: 15878551616, E-mail: sdygh1969@163.com

黄连解毒汤为唐代王焘所著《外台秘要》中所记载的一首名方,由黄连、黄柏、黄芩、栀子组成,功能清热燥湿、泻火解毒,主治三焦火毒热盛证,症见身大热,烦躁不安,神昏谵语;或外科疮痈疔疖具有红肿热痛者。近年来的研究表明,黄连解毒汤及其配伍成分在心血管疾病的防治中起着越来越重要的作用,在临床上已用于高血压、心绞痛的治疗^[1]。原发性高血压(essential hypertension, EH)是最常见的心血管疾病,具有较高的致残率和死亡率,血栓性事件是其严重威胁人类生命的常见并发症之一,这与 EH 患者体内存在着血栓前状态(PTS)密切相关^[2]。PTS 是指血栓事件发生前血液中促凝和抗凝物质失去平衡的一种状态,表现为内皮损伤、血小板聚集、抗凝及纤溶系统功能异常,其进一步恶化最终会引起 EH 患者系统性栓塞,威胁生命。本研究旨在通过观察黄连解毒汤对自发性高血压大鼠血压,血管内皮功能的相关因素一氧化氮(NO),内皮素-1(ET-1)和血管性血友病因子(vWF),凝血、抗凝和纤溶的相关因素,6-酮前列环素(6-k-PG)],血栓素 A₂(TXA₂)、纤溶系统激活剂(t-PA),纤溶系统抑制因子(PAI-1),同型半胱氨酸(Hcy)的改变,探讨黄连解毒汤对 PTS 的影响,以明确其防治 EH 的部分作用机制。

1 材料

1.1 药物与试剂 黄连解毒汤由黄连、黄芩、黄柏、栀子按 3 2 2 3 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,并经其鉴定,按吴洪元等^[3]报道的方法煎煮取汁,浓缩成浸膏(1 g 浸膏相当于 1.5 g 生药黄连解毒汤);卡托普利片,山西亚宝药业集团股份有限公司生产,批号 14020937;TXA₂ 试剂盒产品编号为 E1396r,6-K-PG 试剂盒产品编号为 E0574r,ET-1 试剂盒产品编号为 E0482r,t-PA 试剂盒产品编号为 E0526r,PAI-1 试剂盒产品编号为 E0532r 和 vWF 试剂盒产品编号为 E0883r 试剂盒,武汉中美科技有限公司生产;Hcy 试剂盒产品编号为 CSB-E088396r,美国 Cusabio 公司生产;NO 试剂盒,南京建成生物工程研究所生产,批号 20090611。

1.2 动物 雄性 12 周龄自发性高血压大鼠(SHR) 24 只,体重 200 ~250 g,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;雄性 12 周龄正常血压 WKY 大鼠 8 只,体重 200 ~250 g,购自广西医科大学动物实验中心,合格证号 SCXK

(桂)2006-0003。

1.3 仪器 BP-6 大鼠无创血压测试仪,成都泰盟科技有限公司生产;MK3 酶标仪,美国 Thermo 生产;1575 洗板机,美国 BIO-RAD 生产。

2 方法

2.1 动物分组及给药 24 只 SHR 随机分为黄连解毒汤组(根据临床成人剂量换算成大鼠用量为生药 15 g·kg⁻¹)、卡托普利组(0.0175 g·kg⁻¹)和模型组 3 组;8 只正常 WKY 大鼠为空白对照组。适应性饲养 1 周后,在实验前通过 BP-6 型动物无创血压测试仪测量清醒安静状态下各组大鼠的收缩压,测压之前加热大鼠尾部 10 min,使尾部动脉充盈以便测量。ig 给药 6 周,ig 量均为 20 mL·kg⁻¹,各组均自由饮水和普食饲养。

2.2 各组大鼠血压的测量 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,取其平均值为当次所测血压值。

2.3 样品采集与检测 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 置非抗凝管中,37 ℃ 水浴 10 min,血清析出,按 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上层血清,用于 TXA₂,6-K-PG,ET-1,t-PA,PAI-1,Hcy,vWF 和 NO 的检测。TXA₂,6-K-PG 产品编号为 E0574r,ET-1,t-PA,PAI-1,vWF 和 Hcy 测定采用酶联免疫吸附双抗体夹心法(ELISA)检测,操作步骤均严格按试剂盒说明书进行。血清 NO 检测采用硝酸还原酶法,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行,用可见光分光光度计测其吸光度。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 11.0 统计软件分析处理数据,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间数据的比较采用 *t* 检验,组内不同时间点数据的比较采用配对 *t* 检验。*P* < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 黄连解毒汤对 SHR 血压的影响 结果如表 1 所示,治疗前各组 SHR 血压均显著高于 WKY 大鼠(*P* < 0.05),模型对照组随着鼠龄的增长呈现血压进行性增高,而黄连解毒组和卡托普利组均能降低大鼠血压进行性增高的趋势。与治疗前比,黄连解毒组用药 1 周后即有显著的降压作用(*P* < 0.05),卡托普利组用药 2 周后产生了显著的降压作用(*P* < 0.05)。与同时间段空白组比,黄连解毒组用

药 4 周后恢复到空白组水平,卡托普利组用药 6 周后恢复到空白组水平。与同时间段模型组比,空白

组始终低于模型组水平,黄连解毒组和卡托普利用药 1 周后即有显著的降压作用($P < 0.05$)。

表 1 黄连解毒汤对 SHR 血压的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

mmHg

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	0 周	1 周	2 周	4 周	6 周
空白对照	-	119.83 \pm 2.02 ⁵⁾	120.13 \pm 3.84 ⁵⁾	119.90 \pm 2.42 ⁵⁾	120.74 \pm 2.37 ⁵⁾	121.99 \pm 5.13 ⁵⁾
模型对照	-	147.30 \pm 6.67 ²⁾	155.91 \pm 1.46 ²⁾	163.02 \pm 3.03 ²⁾	177.94 \pm 5.12 ²⁾	185.62 \pm 3.24 ²⁾
黄连解毒	15	146.77 \pm 5.55 ²⁾	140.28 \pm 2.18 ^{2,3,5)}	133.45 \pm 4.22 ^{2,4,5)}	116.80 \pm 6.88 ^{4,5)}	116.46 \pm 3.60 ^{1,4,5)}
卡托普利	0.017 5	146.87 \pm 7.44 ²⁾	141.68 \pm 2.70 ^{2,5)}	135.49 \pm 3.60 ^{2,4,5)}	128.88 \pm 2.77 ^{2,4,5)}	124.27 \pm 4.19 ^{4,5)}

注:与同时间段空白对照组比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与本组治疗前比³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与同时间段模型对照组比⁵⁾ $P < 0.01$; (1 mmHg = 0.133 kPa)。

3.2 黄连解毒汤对 SHR TXA₂, 6-K-PG, NO 和 ET-1 的影响 由表 2 结果所示,与空白组比,模型组 6-K-PG, 6-K-PG/TXA₂, NO 降低 ($P < 0.05$), ET-1 增加

($P < 0.05$),且 TXA₂ 有增高的趋势。与模型组比,黄连解毒和卡托普利均能够增加 6-K-PG, 6-K-PG/TXA₂, NO ($P < 0.05$),降低 ET-1, TXA₂ ($P < 0.05$)。

表 2 黄连解毒汤对 SHR 血清 TXA₂, 6-K-PG, NO, ET-1 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	n	NO / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	ET-1 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	TXA ₂ / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	6-K-PG / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	6-K-PG/TXA ₂
空白对照	-	7	24.276 \pm 5.065 ²⁾	76.771 \pm 11.869 ²⁾	8.042 \pm 0.420	104.453 \pm 13.872 ²⁾	13.011 \pm 1.760 ²⁾
模型对照	-	6	14.996 \pm 3.734	118.485 \pm 23.320	8.702 \pm 0.785	53.406 \pm 10.901	6.264 \pm 1.621
黄连解毒	15	8	34.659 \pm 16.633 ¹⁾	86.86 \pm 25.290 ¹⁾	7.519 \pm 0.506 ¹⁾	109.427 \pm 30.171 ²⁾	14.558 \pm 4.000 ²⁾
卡托普利	0.017 5	7	39.957 \pm 9.486 ²⁾	57.652 \pm 23.031 ²⁾	7.530 \pm 0.304 ¹⁾	113.679 \pm 22.851 ²⁾	15.148 \pm 3.224 ²⁾

注:与模型对照组比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)

3.3 黄连解毒汤对 SHR t-PA, PAI-1, vWF 和 Hcy 的影响 由表 3 结果所示,与空白组比,模型组 t-PA 降低 ($P < 0.05$), PAI-1, PAI-1/t-PA, vWF 和 Hcy 增加 ($P < 0.05$)。与模型组比,黄连解毒和卡托普利

均能够降低 vWF 和 Hcy ($P < 0.05$),且有增加 t-PA 和降低 PAI-1 的趋势,卡托普利能够降低 PAI-1/t-PA ($P < 0.05$),黄连解毒汤有降低 PAI-1/t-PA 的趋势。

表 3 黄连解毒汤对 SHR 血清 SOD, MDA, ANG-⁻, vWF 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	n	t-PA / $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	PAI-1 / $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	PAI-1/t-PA	vWF / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	Hcy / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
空白对照	-	7	6 010.204 \pm 1 109.402 ¹⁾	161.667 \pm 19.145 ¹⁾	0.027 \pm 0.003 ²⁾	3 247.326 \pm 947.788 ²⁾	21.865 \pm 4.282 ²⁾
模型对照	-	6	4 533.776 \pm 397.033	199.215 \pm 23.661	0.044 \pm 0.007	7 839.298 \pm 995.250	53.119 \pm 4.444
黄连解毒	15	8	5 216.637 \pm 766.868	183.492 \pm 28.920	0.036 \pm 0.007	5 453.413 \pm 682.405 ²⁾	25.398 \pm 6.196 ²⁾
卡托普利	0.017 5	7	5 270.715 \pm 753.561	177.971 \pm 17.467	0.034 \pm 0.006 ¹⁾	4 828.914 \pm 1 046.054 ²⁾	25.568 \pm 3.643 ²⁾

4 讨论

EH 是临床常见的心血管疾病之一,多易发血栓栓塞。研究表明,血栓形成是在血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC)、凝血、抗凝、纤溶系统以及血液流变学等多种改变的综合作用下发生的,这些因素在 PTS 已经发生不同程度的变化^[4]。因此,通过干预、改善 PTS 相关因素,对防止 EH 的血栓栓塞性并发症具有重要的临床意义。本研究表明,与治疗前比,黄连解毒组 SHR 在用药 1 周后血压显著降低,用药 2 周后,黄连解毒组产生了极其显著的降压作用。黄连解毒组用药 4 周后与空白对照组的血压无明显差异,其降压作用与临床研究结果

一致。

正常内皮细胞最重要的功能就是通过释放内皮衍生因子调节血管平滑肌细胞以维持血管张力,NO 被视为内皮舒张功能的重要标志物之一。ET-1 由血 VEC 产生,具有强力缩血管作用。NO 与 ET-1 合成释放作用的失衡是高血压产生、发展的最重要的环节,也是 VEC 受损的特征之一^[5]。vWF 在 VEC 和巨噬细胞合成并储存,正常生理状态下血浆中有低浓度 vWF,当内皮细胞受损,vWF 过度释放,血浆 vWF 升高,被认为是反映 PTS 血管内皮损伤的最特异指标^[6]。通过检测 NO, ET-1 和 vWF,黄连解毒汤能够增加 SHR 血清 NO,降低 ET-1 和 vWF,提示黄

连解毒汤可通过修复、保护血管内皮改善其功能而缓解 SHR 的 PTS。

6-k-PG 是体内前列腺素 PGI₂ 的代谢产物, PGI₂ 是体内最强的血小板解聚和血管扩张物质, TXA₂ 是体内强烈的血小板聚集和血管收缩物质, PGI₂ 与 TXA₂ 平衡在维持血流动力学及血管收缩方面起重要作用^[6], 是反映 PTS 的重要变化因素。通过检测 6-k-PG 和 TXA₂, 黄连解毒汤能够增加 SHR 血清 6-k-PG 和 6-K-PG/TXA₂, 降低 TXA₂, 提示黄连解毒汤可通过改善血流动力学维持凝血与抗凝的平衡来缓解 SHR 的 PTS。

t-PA, PAI-1 是一对反映纤溶活性的分子标志物, 其活性与心脑血管疾病 PTS 有直接的关系^[7], 两者功能平衡是防止血栓形成的重要条件。通过检测 t-PA 和 PAI-1, 黄连解毒汤有增加 SHR 血清 t-PA, 降低 PAI-1 和 PAI-1/t-PA 的趋势, 但未形成统计学差异, 提示黄连解毒汤在直接改善纤溶系统方面的作用不明显。如果能够延长药物作用时间或增加给药剂量, 有望能够明显改善 SHR 的纤溶系统。

高 Hcy 血症是血栓性疾病血栓形成的独立危险因素, 是心血管疾病的重要危险因素, 表现为促凝血作用增强而抗凝和纤溶作用减低, 是 PTS 的重要指标^[8]。通过检测 SHR 血清 Hcy, 提示黄连解毒汤可通过降低 Hcy 改善凝血和纤溶系统, 缓解 SHR 的 PTS。

综上所述, 黄连解毒汤可通过保护 VEC, 改善凝血系统、纤溶系统和血液流变学等多个方面缓解

SHR 的 PTS, 从而有效防止 EH 血栓性事件的发生。

[参考文献]

- [1] 许扬, 秦蒙, 赵英凯, 等. 黄连解毒汤及配伍成分的降脂及抗动脉粥样硬化的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(2): 74.
- [2] Sechi L A, Aingaro L, Catena C, et al. Relationship of fibrinogen levels and hemostatic abnormalities with organ damage in hypertension[J]. Hypertension, 2000, 36(6): 978.
- [3] 吴洪元, 姜晓群, 陈贤琼. 黄连解毒胶囊提取工艺研究[J]. 中成药, 1998, 20(11): 1.
- [4] 夏小杰, 邓海, 管沁, 等. 降压治疗对原发性高血压患者血浆 Fib、t-PA 及 PAI-1 浓度变化的影响[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(28): 6811.
- [5] 夏成霞, 陆曙. 中药改善高血压病血管内皮功能的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(4): 378.
- [6] 陶志强, 高想, 姜卫东, 等. 代谢综合征患者血管内皮功能与血栓前状态的相关性研究[J]. 心血管康复医学杂志, 2009, 18(4): 337.
- [7] 韩崇旭, 李锦堂, 苏天水, 等. 心脑血管疾病止血与纤溶相关指标的临床研究[J]. 中华血液学杂志, 2001, 22(3): 1475.
- [8] 费鲜明, 卢飞凤, 吴建国. 中老年高血压患者同型半胱氨酸水平与血栓前状态的关系[J]. 中国临床保健杂志, 2009, 12(4): 337.

[责任编辑 聂淑琴]