

参附注射液建立自发性高血压病大鼠肝阳上亢证模型的研究

周梦¹, 杨文丽², 刘晓庆¹, 肖长江²

(1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙, 410208;

2. 湖南省中医药研究院附属医院, 湖南 长沙, 410006)

[摘要] 目的:探讨参附注射液建立自发性高血压大鼠(SHR)模型的可能性。方法:将30只3月龄SPF级健康雄性自发性高血压大鼠称重,随机分为SHR组,附子汤组,参附注射液低、中、高剂量组,每组6只。各组采用对应药物灌胃进行模型制备,另取同品系同周龄雄性魏-凯二氏大鼠(WKY)6只作为正常对照组(WKY组)。观察参附注射液对SHR大鼠24h饮水量、易激惹程度、痛阈、睑结膜充血及收缩压的影响。结果:附子汤组及参附注射液中、高剂量组造模后均出现了易激惹程度增高、睑结膜充血程度增高、饮水量增多、痛阈降低、收缩压升高等肝阳上亢的表现,与WKY组及SHR组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明造模成功。结论:参附注射液可以制备新型高血压肝阳上亢证模型,但是具体造模机制以及造模药物用量需待进一步探讨确定。

[关键词] 原发性高血压;肝阳上亢证;动物模型;参附注射液

[中图分类号] R259.441⁺.1 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.12.051

A study of Shenfu injection in establishing a rat model of spontaneous hypertension with syndrome of upper hyperactivity of liver Yang

ZHOU Meng¹, YANG Wenli², LIU Xiaoqing¹, XIAO Changjiang²

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China;

2. The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the possibility of Shenfu injection in establishing a spontaneously hypertensive rat (SHR) model. Methods: A total of 30 specific pathogen-free healthy male SHRs aged 3 months were selected, weighed, and randomly divided into SHR group, Fuzi decoction group, and low-, middle-, and high-dose Shenfu injection groups, with 6 rats in each group. Each group was given the corresponding drug by gavage. A total of 6 male WKY rats with the same age were selected as normal controls (WKY group). The influence of Shenfu injection on 24-hour water intake, degree of irritability, pain threshold, conjunctival congestion, and systolic pressure was observed. Results: After modeling, the Fuzi decoction group and the middle- and high-dose Shenfu injection groups had significant increases in irritability, conjunctival congestion, water intake, and systolic pressure and a significant reduction in pain threshold, which were the manifestations of upper hyperactivity of liver Yang, and there were significant differences between the WKY group and the SHR group ($P < 0.05$), suggesting that a model was successfully established. Conclusion: Shenfu injection can be used to establish a model of hypertension with upper hyperactivity of liver Yang, but further studies are needed to clarify detailed mechanism and the dose of drug for modeling.

[Key words] primary hypertension; syndrome of upper hyperactivity of liver Yang; animal model; Shenfu injection

原发性高血压病(Primary Hypertension, PH)是一种由遗传、环境等多种因素共同造成的、以血压增高为特征的心血管疾病^[1],简称为高血压。据统计,高血压病中最常见的证型即肝阳上亢证,动物实验多采用鄢东红等^[2]所研究的灌服附子汤的方法造模,但需熬制中药汤剂,导致造模时间长,且在高温熬制煎剂的过程中药物易挥发,不能明确起作用的具体成分及用量。临床上参附注射液为治疗阳气亏虚证的常用方剂,但在其使用过程中亦会出现一系列不良反

应,如面部潮红、口干、头晕、头痛、头胀、发热等^[3],该药的一系列毒副作用相关文献报道^[4],此药的毒副作用基本符合高血压肝阳上亢证的症状。故有必要制造出更方便、科学的造模方法。本实验主要研究采用参附注射液建立高血压大鼠肝阳上亢证的模型及其造模机制,以期系统地建立病证结合的动物模型,更全面地研究原发性高血压病肝阳上亢证。

1 实验材料

1.1 动物 SPF级雄性自发性高血压大鼠30只,3月龄,体

质量 214 ~ 233g;同品种同月龄雄性 WKY 大鼠 6 只,体质量 216 ~ 232g,均由北京维通利华实验动物有限责任公司提供,许可证编号:SCXK(京)2012 - 0001。

1.2 药物 附子汤、参附注射液均由湖南省中医药研究院附属医院中药房提供。(1)附子汤:将制附子 20g 浸泡于蒸馏水中 30min,先后进行 2 次煎煮共计 90min,将所得药液混合,浓缩为 100ml,每毫升所含生药 0.2g。(2)参附注射液:安瓿,10ml/支 × 5 支/盒,批准文号:国药准字 Z51020664。

1.3 仪器及设备 TF - 1000 型电子天平、TDZ4 - WS 低速自动平衡离心机,均由长沙湘仪仪器有限公司提供;FA104 型电子分析天平,上海精密科学仪器有限公司生产;中药煎煮仪,郑州成奥机械设备销售有限公司生产;电热恒温箱,广东宏展科技有限公司生产;RBP - 1B 型大鼠尾动脉测压仪,南京德宝生化器材有限公司生产;显微镜,鑫海中发仪器有限公司;二道生理记录仪(LMS - 2 B 型),成都仪器厂生产;清醒小动物血压测量器(HX - III 型,专利号 892118741),由湖南医科大学心脏生理研究室研制提供;痛阈测量仪(WQ - 9 型),北京海淀电子医疗仪器厂生产。

2 实验方法

2.1 动物分组 将 30 只实验鼠称重编号后随机分为 5 组:自发性高血压大鼠组(SHR 组),附子汤组,参附注射液低、中、高剂量组,每组 6 只;另取 WKY 大鼠 6 只作为正常对照组(WKY 组)。

2.2 给药方法 根据动物体表面积系数换算法,即动物药物剂量 = (人体药物剂量/60kg) × 9.225。WKY 组:正常进食、进水,不做任何处理。SHR 组:正常进食,不做任何处理。附子汤组:灌胃 10ml/(kg · d)附子汤剂,相当于生药 2g/(kg · d),每日给药 1 次,共 4 周。参附注射液低剂量组:腹腔注射参附注射液 5ml/kg,每天 1 次,共 4 周。参附注射液中剂量组:腹腔注射参附注射液 10ml/kg,每天 1 次,共 4 周。参附注射液高剂量组:腹腔注射参附注射液 30ml/kg,每天 1 次,共 4 周。

2.3 观测指标与方法 安全性指标:血、尿常规,肝、肾功能,电解质等。一般行为变化:观察大鼠的毛色、双眼睑结膜颜色的变化、24h 饮水量、易激惹程度、痛阈及动脉血压测量等。其中易激惹程度表现 I 级:捉持大鼠颈部时出现尖叫、惊跳等行为;II 级:捉持大鼠颈部时出现咬人行为;III 级:提尾时大鼠出现尖叫、惊跳不安等行为,并与同笼大鼠进行频繁打斗,甚至出现咬人行为。痛阈测定方法:采用尾电刺激法^[5],用痛阈测量仪作方波脉冲电流刺激;频率 8Hz,波宽 2ms,将电压调至零开始,从低到高逐步进行电流刺激,直至大鼠出现嘶叫,此时出现的电压值即为痛阈(需连续测量 3 次,其间隔时间为 5min,取平均值)。动态血压测量:采用杨绿化等^[6]报道的尾动脉搏动法,首先保持电热恒温箱恒定温度在 40℃,将大鼠尾部置于内 10min,充分扩张其尾动脉,再用 RBP - 1B 型大鼠尾动脉测压仪测量其尾动脉收缩压。正常情况下需测量 3 次,且 3 值之间的差值需 <

5mmHg,最终取其平均值。为保证实验大鼠血压测量的准确性,于正式实验前每天对实验鼠进行尾动脉测压训练 2 周,使其适应环境,待实验鼠血压稳定后,再进行每周 1 次的测量。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件分析处理。所有数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组内比较采用 *t* 检验,方差分析采用组间比较,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠造模前后 24h 饮水量的比较 附子汤组及参附注射液中、高剂量组造模后饮水量与造模前相比均明显增加,与 WKY 组、SHR 组相比,差异具有统计学意义。(见表 1)

表 1 各组大鼠造模前后 24h 饮水量的比较($\bar{x} \pm s$, ml)			
组别	<i>n</i>	造模前	造模后
WKY 组	6	30.12 ± 1.53	30.92 ± 2.17
SHR 组	6	29.24 ± 3.09	30.90 ± 2.69
附子汤组	6	30.97 ± 2.25	44.75 ± 1.34 ^{ab}
参附注射液低剂量组	6	30.81 ± 2.44	32.29 ± 4.68
参附注射液中剂量组	6	31.55 ± 1.91	43.82 ± 2.94 ^{ab}
参附注射液高剂量组	6	31.16 ± 2.20	45.18 ± 5.09 ^{ab}

注:与 WKY 组比较,^a*P* < 0.05;与 SHR 组比较,^b*P* < 0.05。

3.2 各组大鼠造模后易激惹程度和睑结膜充血情况比较 附子汤组及参附注射液中、高剂量组造模后其易激惹程度出现较大改变,大部分表现为 III 级,且多出现了睑结膜充血,与 SHR 组及 WKY 组比较,差异具有统计学意义。(见表 2)

表 2 各组大鼠造模后易激惹程度、眼结膜充血情况比较(<i>n</i>)					
组别	<i>n</i>	易激惹程度			睑结膜充血
		I 级	II 级	III 级	
WKY 组	6	1	0	0	0
SHR 组	6	3	1	0	2
附子汤组	6	1	1	4 ^{ab}	5 ^{ab}
参附注射液低剂量组	6	4	1	0	2
参附注射液中剂量组	6	0	2	4 ^{ab}	5 ^{ab}
参附注射液高剂量组	6	0	1	5 ^{ab}	6 ^{ab}

注:与 WKY 组比较,^a*P* < 0.05;与 SHR 组比较,^b*P* < 0.05。

3.3 各组大鼠造模前后痛阈测定结果比较 附子汤组与参附注射液中、高剂量组造模后痛阈与造模前相比降低,与 WKY 组及 SHR 组比较,差异有统计学意义。(见表 3)

表 3 各组大鼠造模前后痛阈测定结果比较($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	造模前	造模后
WKY 组	6	57.77 ± 0.43	57.41 ± 0.59
SHR 组	6	57.74 ± 0.62	57.43 ± 0.74
附子汤组	6	57.62 ± 0.86	51.71 ± 0.84 ^{ab}
参附注射液低剂量组	6	57.54 ± 0.46	57.14 ± 0.53
参附注射液中剂量组	6	57.74 ± 0.64	51.91 ± 0.82 ^{ab}
参附注射液高剂量组	6	58.00 ± 0.47	51.36 ± 0.73 ^{ab}

注:与 WKY 组比较,^a*P* < 0.05;与 SHR 组比较,^b*P* < 0.05。

3.4 各组大鼠造模前后血压测定结果比较 附子汤组与参附注射液中、高剂量组造模后相比造模前收缩压有明显的提高,与 WKY 组及 SHR 组相比较,差异具有统计学意义。(见表 4)

表 4 各组大鼠造模前后血压测定结果比较($\bar{x} \pm s$, mmHg)

组别	n	造模前	造模后
WKY 组	6	124.50 $\pm$ 3.21	122.67 $\pm$ 4.59
SHR 组	6	159.33 $\pm$ 3.93	160.50 $\pm$ 4.55
附子汤组	6	159.00 $\pm$ 3.23	189.00 $\pm$ 2.10 ^{ab}
参附注射液低剂量组	6	159.33 $\pm$ 2.34	161.00 $\pm$ 3.03
参附注射液中剂量组	6	159.50 $\pm$ 3.02	189.33 $\pm$ 3.72 ^{ab}
参附注射液高剂量组	6	160.33 $\pm$ 2.66	191.17 $\pm$ 2.32 ^{ab}

注:与 WKY 组比较,^a $P < 0.05$;与 SHR 组比较,^b $P < 0.05$ 。

4 讨 论

目前中医药研究中,常采用临床观察与动物模型研究的方法,临床观察能直观表现出药物是否有效,而病证结合的动物模型开展,对某一疾病的深入研究具有重要意义^[7]。以往研究中常见的高血压肝阳上亢证的造模方法有附子汤法^[2]、两肾一夹加灌附子汤法^[8]、多巴胺注射法^[9]、慢性束缚应激法结合悬吊应激法^[10]、王钦茂的复合法^[11]等,以上方法中存在缺乏特异性理化指标、评判标准模糊、实验设计不严谨,或制作方法复杂、费时、费力,同时不能明确起作用的具体成分及用量等问题。

本实验通过对临床运用参附注射液不良反应的观察及参考参附注射液的毒副作用的相关文献报道,以鄢东红的附子汤灌胃造模方法为对照,采用国际公认最接近人类原发性高血压的自发性高血压大鼠腹腔注射参附注射液以制造肝阳上亢证模型,结果显示,在经过参附注射液腹腔注射后,中、高剂量组大鼠出现以易激惹程度增高、睑结膜充血、

饮水量增多、痛阈降低、收缩压升高等为表现的肝阳上亢证症状,表明造模成功,但因实验采用的样本量不大,故增加了实验的偶然性与误差,其具体造模机制以及造模药物用量需待进一步探讨。

参考文献

- [1] Czarina Acelajado M, Calhoun DA. Treatment of resistant hypertension[J]. Minerva Cardioangiol, 2009, 57(6): 787-812.
- [2] 鄢东红, 金益强, 肖纯, 等. 自发性高血压大鼠肝阳上亢证模型的复制[J]. 湖南中医药大学学报, 1999, 19(4): 35-38.
- [3] 李廷谦, 马建昕, 周宇丹. 参附注射液临床应用及其不良反应调查[J]. 中国循证医学杂志, 2009, 9(3): 319-322.
- [4] 付莹坤, 谢雁鸣. 参附注射液临床应用及其不良反应文献分析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(18): 2796-2799.
- [5] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991.
- [6] 杨绿化, 邹沙舟. 无创测量大鼠收缩压和舒张压的新仪器和新方法[J]. 中国应用生理学杂志, 1991(1): 62-64.
- [7] 黄文权, 肖鸿, 袁林贵. 肝阳上亢证型实验动物模型研究初探[J]. 中国中医急症, 1996(1): 36-37.
- [8] 张振服, 刘启德, 杨蕾, 等. 高血压肝阳上亢证大鼠模型的血压节律特征及机理研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(2): 172-175.
- [9] 胡淑平, 吕圭源, 于平野, 等. 肝阳上亢型高血压模型及评价初探[J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(5): 698-701.
- [10] 何纲, 李桂英, 刘新波. 一种高血压脑出血肝阳上亢证大鼠模型的建立及其评价[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12(4): 218-222.
- [11] 王钦茂, 李莉, 赵勇, 等. 清化胶囊对三种因素复合制造大鼠高血压肝阳上亢证模型的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(3): 14-17. (收稿日期: 2018-05-17)

隔大黄油贴灸治静脉炎

静脉炎是血栓性静脉炎的简称,指静脉血管的急性无菌性炎症,根据病变部位不同可分为浅静脉炎和深静脉炎。其病理变化为血管内膜增生,管腔变窄,血流缓慢。临床可见患处局部(周围)疼痛、皮肤呈现充血性红斑(红肿)或静脉索状硬条或串珠状硬结等表现,少数患者可有浑身发热、白细胞总数增高等。

静脉炎属于中医学“脉痹”“恶脉”“漏脉”“血痹”范畴,《肘后备急方》形象记载:“恶脉病,身中忽有赤络脉起如虵状”“皮肉卒肿起狭长赤痛名漏”。中医学认为导致静脉炎的主要病机为血瘀气滞。湿热、寒湿之邪外侵致局部脉络损伤、血行不畅、经气阻滞故而不通则痛;邪毒凝聚,津液输布受阻,血溢肌肤或瘀血内蕴化热则出现局部红肿不散。

患者取舒适体位并将患部充分暴露,根据患部大小取一块自制大黄油贴(酒大黄研为细面,用芝麻油调为糊状,将无菌绷带或纱布裁成合适大小浸入其中,急火加热至油热后离火、备用)直接放于患部皮肤上。医者一手拇、食、中三指如持笔写字姿势手持艾条,使艾条点燃端与患部皮肤成45°角,施以螺旋式回旋灸,以患者自觉温热、舒服,患部泛红但不致烫伤为原则。灸毕再置大黄油贴于患部至温热感消失后去除,油迹任其自行渗透。每天1次。

酒大黄是生大黄经酒炙后的炮制品,具有解毒消痈、逐瘀通经、活血散结、清热除湿的功效。芝麻油古称胡麻,又称香油、麻油,有动脉血管的“清道夫”之誉,对软化血管和保持血管弹性、消除动脉血管壁上的沉积物均有较好的效果。大黄油贴直接放置患部皮肤上,再借艾条螺旋式回旋灸的温热刺激促使患部血液循环加快,同时软化血管和保持血管弹性,消除血管壁上的沉积物,减轻刺激、减少渗出,从而达到有效防治静脉炎的目的。(http://www.cntcm.com.cn/xueshu/2018-12/07/content_53847.htm)