

[文章编号] 1007-3949(2002)10-03-0231-03

• 实验研究 •

早期应用 Losartan 对高血压蛋白尿的影响

区碧如, 吴峻¹, 孙明¹

(广州医学院附属第一医院心内科, 广东省广州市 510120; 1. 中南大学湘雅医院心内科, 湖南省长沙市 410008)

[主题词] 高血压; 微量蛋白尿; 肾小球硬化; 血管紧张素 AT_1 受体, 拮抗剂

[摘要] 为探讨高血压病微量蛋白尿的形成机制及早期应用 Losartan 对其的保护作用, 观察不同月龄(3 月龄和 8 月龄) 高血压鼠的血压、尿蛋白和肾功能以及血管内皮和肾小球结构的不同改变。与同龄正常组相比较, 3 月龄高血压鼠电镜下已有血管内皮损害, 肾小球基底膜亦见轻度增厚, 尿蛋白增多, 且与血压及血管内皮病变呈正相关; 8 月龄高血压鼠无论血管内皮和肾小球均损害严重, 除基底膜增厚和系膜区扩张外还有系膜细胞增生肥大, 血肌酐无明显变化, 尿蛋白增高与血管内皮和肾小球病变密切相关, 与血压无显著相关。经 Losartan 治疗后不但尿蛋白明显减少, 而且血管内皮和系膜细胞的过度增生肥大被有效地抑制, 系膜区体密度及细胞外基质明显减小, 基底膜得到修复。提示高血压蛋白尿的出现与靶器官损害密切相关, 早期应用 Losartan 能改善肾循环, 保护血管、肾脏, 阻止后期的肾小球硬化。

[中图分类号] R544.1

[文献标识码] A

Effects of Early Intervention with Losartan for Hypertensive Microalbuminuria

OU BiRu, Wu Jun, and SUN Ming

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510120, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, China)

[MeSH] Hypertension; Microalbuminuria; Glomerulosclerosis; Angiotensin AT_1 Receptor, Antagonist

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the mechanisms of hypertensive microalbuminuria and the benefit of early intervention with losartan. **Methods** The investigation comprised normotensive control (WKY) and hypertensive group (SHR) of rats, of which blood pressure, microalbuminuria, renal function and relevant ultrastructural indexes in vessel and glomerulus with transmission electronic microscope were acquired at three-month old and eight-month old. **Results** In three-month old SHR, electronic microscopic observation demonstrated early impairment of vessel endothelium and slight lesion of glomerular basement membrane compared with age-matched controls. As a result, microalbuminuria that correlated with blood pressure and impairment of endothelium has been shown. At eight-month old, creatinine level has not elevated in spite of the aggravation of impairment of vessel endothelium and lesion of glomerulus, which was associated with microalbuminuria. However, microalbuminuria was unrelated to blood pressure at this stage. With the treatment of losartan, not only reduction of microalbuminuria was achieved but also decrease in volume density of vessel endothelium, mesangial cells and mesangial area was shown. **Conclusions** The mechanism led to microalbuminuria in hypertension may vary according to the severity of the hypertensive condition. Early intervention with losartan can inhibit glomerulosclerosis more than lower blood pressure.

微量蛋白尿最初被用于预示糖尿病早期肾损害的征兆和终末期肾衰竭的危险标志, 也是心血管病发病及死亡的信号, 近十年来越来越多的证据表明它不仅是糖尿病, 还是动脉粥样硬化和未成年人群死亡的独立危险因素^[1]。在高血压病研究领域, 有关蛋白尿形成机理仍存在争议, 而且微量蛋白尿是否也可预测高血压带来的不利后果有待我们进一步去证实。Losartan 是非肽类血管紧张素 AT_1 受体拮抗剂中的一种, 本实验通过对自发性高血压鼠和正常血压对照鼠用药前后的比较, 探讨蛋白尿形成的有

关机制及该药物对靶器官的保护作用。

1 材料与方法

1.1 对象及分组

实验大鼠购于北京中国医学科学院阜外医院动物实验科, 国家一级实验动物, 一月龄, 常规饲料喂养, 体重 90~105 g。

正常血压对照组共有 WKY 鼠(normotensive wistar-kyoto rat) 16 只, 雄性, 分为 3 月龄组(8 只)和 8 月龄组(8 只), 分别于 3 月和 8 月龄时处死, 并进行检测。自发性高血压鼠(spontaneous hypertensive rat, SHR)组简称 SHR 组, 共 26 只, 雄性, 随机分为 3 月龄组、8 月龄非治疗组和 8 月龄治疗组; 3 月龄组 8

[收稿日期] 2001-10-15 [修回日期] 2002-04-25

[作者简介] 区碧如, 女, 1963 年出生, 本科, 副主任医师, 主攻方向为高血压病研究。吴峻, 男, 1970 年出生, 博士研究生, 主治医师, 主攻方向为高血压病研究。

只, 不治疗, 于 3 月龄时处死、检测; 8 月龄非治疗组 10 只, 不治疗, 于 8 月龄时处死、检测; 8 月龄治疗组 8 只, 于 3 月龄始饲 Losartan (芦沙坦, 美国默沙东公司) 每天 20 mg/Kg, 连续 5 个月, 于 8 月龄时处死、检测。

1.2 血压及生物化学指标的检测

采用鼠尾血压计(HX-①型小动物血压测量计)测量血压。

处死前用代谢笼收集鼠 24 h 尿, 处死后迅速从主动脉及心腔抽血, 离心后取血清检测。尿微量白蛋白(urinary albumin, UAL)、血肌酐(creatinine, Cr)和尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)浓度经 HITACHI 7170A 自动生物化学分析仪测定, 试剂购于北京中生物生物工程高技术公司。

1.3 病理学改变

在腹主动脉建立的血管灌流系统以 100 cm H₂O 压力用 2% 多聚甲醛和 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液将肠系膜动脉作初步固定; 取 2 mm 肠系膜动脉和肾皮质部一小块置于含 2% 多聚甲醛和 2.5% 戊二醛的磷酸缓冲液中继续固定 2 h, 并切成 1 mm³ 的小块。将以上初步固定的标本用 0.2 mol/L 磷酸缓冲液充分漂洗后, 按生物样品常规处理, 制成切片, 于透射电镜下观察。体视学上体积的测量采用体密度作指标。即在参照系单位体积内平均某结构所占的体积。通过 HPIAS-1000 高清晰度彩色病理图文分析系统进行测量。

1.4 统计方法

所有资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 计量资料统计用组间 t 检验, 并采用直线相关分析, 取双侧、以 $P < 0.05$ 为统计学上有显著性意义。

2 结果

2.1 不同月龄大鼠收缩压、尿白蛋白及肾功能的改变

从表 1(Table 1) 可见, 与同龄正常组相比, 自发性高血压组收缩压及尿白蛋白浓度均显著升高, 而血肌酐和尿素氮未见显著差异; 治疗组高血压较同龄非治疗组血压下降, 尿蛋白减轻。

表 1. 不同月龄大鼠收缩压、尿白蛋白及肾功能的改变。

Table 1. Changes of Cr, UAL and renal function at different stages ($\bar{x} \pm s$).

Groups	SBP(mmHg)	UAL(mg/L)	Cr(μmol/L)	BUN(mmol/L)
WKYR 3 m	135 ± 15	2.2 ± 1.5	46.0 ± 11.6	9.0 ± 1.8
WKYR 8 m	132 ± 14	14.6 ± 8.8	47.8 ± 11.8	8.4 ± 1.8
SHR 3 m	165 ± 8 ^a	20.9 ± 6.2 ^b	50.7 ± 11.4	8.2 ± 2.1
SHR 8 m	182 ± 14 ^a	128 ± 45 ^b	42.7 ± 5.8	9.3 ± 1.8
SHR treated	130 ± 13 ^c	14.9 ± 8.8 ^c	37.5 ± 4.8	9.1 ± 1.1

a: $P < 0.01$, b: $P < 0.05$, compared with WKYR at same stage; c: $P < 0.01$, compared with SHR 8 months group.

2.2 不同月龄大鼠血管内皮及肾组织形态学改变

3 月龄 SHR 可见血管内皮细胞增生肥大、肾小球系膜区扩张和基底膜轻微增厚, 但未见系膜细胞显著性增生肥大; 8 月龄 SHR 血管内皮和系膜细胞均明显肥大, 基底膜增厚、系膜区扩张进一步加重, 可见细胞外基质沉积。治疗后高血压鼠血管内皮、系膜细胞、系膜区体密度和基底膜厚度较非治疗组明显减小, 甚至血管内皮体密度小于老龄正常对照组。

表 2. 不同月龄大鼠血管内皮及肾组织形态学改变。

Table 2. Changes in vessel endothelia and glomeruli at different stages ($\bar{x} \pm s$).

Groups	Vessel endothelium Vv	Mesangial cells Vv	Mesangial area Vv	Basilar membrane (μm)
WKYR 3 m	0.307 ± 0.065	0.051 ± 0.024	0.183 ± 0.025	0.112 ± 0.007
WKR 8 m	0.394 ± 0.089	0.070 ± 0.016	0.297 ± 0.083	0.191 ± 0.026
SHR 3 m	0.456 ± 0.158 ^b	0.068 ± 0.018	0.252 ± 0.048 ^b	0.169 ± 0.027 ^b
SHR 8 m	0.559 ± 0.091 ^{bc}	0.108 ± 0.033 ^{bc}	0.453 ± 0.038 ^{ac}	0.264 ± 0.036 ^{ac}
SHR treated	0.286 ± 0.047 ^d	0.060 ± 0.031	0.307 ± 0.065	0.199 ± 0.016

a: $P < 0.01$, b: $P < 0.05$, compared with WKYR at same stage; c: $P < 0.01$, compared with SHR treated group; d: $P < 0.05$, compared with WKYR 8 months group.

2.3 自发性高血压大鼠微量白蛋白尿与血压、肾功能、血管内皮和肾形态学改变的相关性分析

3 月龄鼠尿白蛋白浓度与收缩压和血管内皮体密度呈正相关(分别为 $r = 0.848$, $P < 0.05$; $r = 0.$

851, $P < 0.01$); 与血肌酐、尿素氮、肾小球系膜细胞体密度、系膜区体密度和肾小球基膜厚度无显著相关(分别为 $r = 0.026$, $P > 0.05$; $r = 0.524$, $P > 0.05$; $r = 0.160$, $P > 0.05$; $r = 0.015$, $P > 0.05$; $r = 0.565$, $P > 0.05$)。

8 月龄鼠尿白蛋白浓度与收缩压、血肌酐和尿素氮均无显著相关(分别为 $r = 0.027$, $P > 0.05$; $r = 0.599$, $P > 0.05$; $r = 0.597$, $P > 0.05$)。而与血管内皮密度、肾小球系膜细胞体密度、系膜区体密度和肾小球基膜厚度呈正相关(分别为 $r = 0.870$, $P < 0.01$; $r = 0.885$, $P < 0.01$; $r = 0.822$, $P < 0.01$; $r = 0.633$, $P < 0.05$)。

3 讨论

虽然微量蛋白尿起初用于糖尿病肾病的早期诊断,但在高血压病中也体现了它的应用价值,有报导指出比糖尿病要轻微得多的尿蛋白在高血压病变中已具有相当大的临床意义^[2]。

本实验中,高血压鼠在早期(3 月龄)已有血管内皮的损害,而肾脏损害比血管内皮相对轻些,细胞增生现象不明显,此时血生物化学指标未见改变,仅以尿白蛋白的升高为表现。微量蛋白尿可能是由于肾小球对蛋白的通透性增大所致^[3],而且这种损害是全身血管内皮功能障碍的一个局部表现^[4]。较高的系统血压固然可以损伤肾小球,但早期由于小球前动脉的缓冲作用,小球内压力并未出现升高,而事实上,在肾小球内却已经出现了早期动脉硬化的病理迹象。在肾小球,系膜细胞及上皮细胞是基质积聚的主要物质基础,细胞的增生活跃带来了胞外基质的聚积和系膜区扩张,是形成肾小球硬化及血管重塑的主要病理基础^[5]。

实验结果证实血肌酐浓度变化相对滞后,微量蛋白尿可作为内皮功能不全的标志物^[4]。尿蛋白增高是判定高血压靶器官损害的信号,它可以反映血管内皮功能及血流动力学的改变,除了压力因素外,各种促生长因子亦参与了蛋白尿的形成机制。

有研究显示,对于轻度高血压和无心血管合并

症者,蛋白尿的主要决定因素是压力负荷,通过药物降压后能快速减少其尿蛋白量,进一步证实了该观点^[6]。但到本实验后期(8 月龄),肾小球损害普遍加重并构成了尿蛋白升高的主要原因。有人认为高血压患者尽管在血压得到控制后,肾功能仍旧会继续下降^[7]。另外,不少药物能有效地减少蛋白尿,但是蛋白尿的减少能否阻止肾功能的进一步损害或高血压合并症的出现仍有争论。长期观察发现,血管紧张素转化酶抑制剂或血管紧张素 iv 不但能降低系统血压,而且对肾脏局部的血流动力学改变也是很有利的,包括增加有效肾血浆流量,稳定肾小球滤过率,使滤过分数下降等^[5]。另外,蛋白尿不仅是反映肾损害的窗口,本身也是促成肾硬化的因素,控制尿蛋白可延缓慢性肾衰恶化速率。

综上所述,导致高血压蛋白尿的发病机制可能是依病情的严重程度不同及有无危险因素的出现而不同,早期(尤其是无心血管合并症者)可能只是血流动力学负荷增加或/和全身血管内皮功能障碍的一个局部表现,造成肾小球对蛋白的通透性增大所致;到后期则主要与肾小球硬化及血管重塑有关,且蛋白尿与肾、血管损害互相促进。经及早、持续地应用 Losartan 治疗后,血管重塑被逆转,肾小球硬化被抑制,尿液表现为微量白蛋白的减少。

[参考文献]

- [1] Hartland A, Gosling P. Microalbuminuria: yet another cardiovascular risk factor? *Ann Clin Biochem*, 1999, **36**: 700-703
- [2] Alderman MH, Cohen H, Madhavan S. Epidemiology of risk in hypertensive: experience in treated patients. *Am J Hypertens*, 1998, **11**: 874-876
- [3] Bianchi S, Bigazzi R, Campese MV. Microalbuminuria in essential hypertension: significance, pathophysiology, and therapeutic implications. *Am J Kidney Dis*, 1999, **34**: 976-995
- [4] Kario K, Matsuo T, Kobaishi H, et al. Activation of tissue factor induced coagulation and endothelial cell dysfunction on non insulin dependent patients with microalbuminuria. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 1114-120
- [5] Egidio J. Vasoactive hormones and renal sclerosis. *Kidney Int*, 1996, **49**: 578
- [6] Redon J. Treatment of patients with hypertension and microalbuminuria. *Drugs*, 1997, **54**: 857-866
- [7] Bigazzi R, Bianchi S, Baldari D, et al. Microalbuminuria predicts cardiovascular events and renal insufficiency in patients with essential hypertension. *J Hypertens*, 1998, **16**: 325-333

(此文编辑 朱雯霞)