

· 药理 ·

四妙勇安汤活性部位对一氧化氮合成酶抑制剂
诱导的高血压大鼠血管重构的作用

侯彦宏，沈晓旭，宫媛媛，赵明镜，吴爱明，娄利霞，金秋硕，吴圣贤*，聂波*
(北京中医药大学 东直门医院，北京 100700)

[摘要] 目的:探讨四妙勇安汤活性部位对一氧化氮合成酶抑制剂(*L*-NAME)诱导的高血压大鼠血管重构的作用及其机制。方法:48 只 Wistar 大鼠随机分为 6 组,分别为四妙勇安汤活性部位高、中、低剂量组(1,0.5,0.25 g·kg⁻¹·d⁻¹),卡托普利组(50 mg·kg⁻¹·d⁻¹),辛伐他汀阳性药物组(10 mg·kg⁻¹·d⁻¹)及模型组,各组动物饮水中给予 *L*-NAME(1 g·L⁻¹)。给药第 4 周后,测定动物体重、心脏质量、血压、心率;处死后,主动脉根部切片苏木素-伊红(HE)染色,测定主动脉厚度变化;马松(Masson)染色观察冠状动脉纤维化变化;免疫组化方法观察单核巨噬细胞抗原-1(ED-1)和增殖细胞核抗原(PCNA)的表达变化。结果:与模型组比较,仅卡托普利组具有减轻心肌肥厚的作用;卡托普利组、四妙勇安汤活性部位高、中剂量组具有一定降低舒张压和收缩压的作用;与模型组比较,给药各组对心率均没有影响;卡托普利组、四妙勇安汤活性部位高、中剂量组可明显降低主动脉壁厚;卡托普利组、四妙勇安汤活性部位高剂量组可降低可明显减少冠状动脉周边纤维化的形成;卡托普利组、四妙勇安汤活性部位高剂量组可明显抑制冠状动脉 ED-1 和 PCNA 的表达($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:四妙勇安汤活性部位具有降低高血压作用,改善血管重构,其机制可能与其抑制冠状动脉 ED-1 的抗炎作用和抑制 PCNA 的抗增殖作用相关。

[关键词] 四妙勇安汤活性部位; 高血压大鼠模型; 血管重构; 一氧化氮合成酶抑制剂; 单核巨噬细胞抗原-1; 增殖细胞核抗原

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2017)04-0112-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017040112

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161130.0907.006.html>

[网络出版时间] 2016-11-30 9:07

Effect of Active Fraction of Simiao Yongan Tang on Vascular Remodeling in
Hypertensive Rats Induced by Nitric Oxide Synthase Inhibitor

HOU Yan-hong, SHEN Xiao-xu, GONG Yuan-yuan, ZHAO Ming-jing, WU Ai-ming,
LOU Li-xia, JIN Qiu-shuo, WU Sheng-xian*, NIE Bo*

(Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect and mechanism of the active fraction of Simiao Yongan Tang (AFSM) on vascular remodeling in hypertensive rats induced by nitric oxide synthase inhibitor (*L*-NAME). **Method:** Forty-eight Wistar rats were randomly divided into six groups: AFSM high dose group, medium dose group and low dose group (1, 0.5, 0.25 g·kg⁻¹·d⁻¹), captopril group (50 mg·kg⁻¹·d⁻¹), simvastatin positive drug group (10 mg·kg⁻¹·d⁻¹) and model group. *L*-NAME was administered to the animals in each group. Their body weight, heart weight, blood pressure and heart rate were determined after four weeks of administration. After sacrificing, their aortic thickness changes were measured through HE staining on aortic root slice. Masson staining

[收稿日期] 20160518(005)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09103-318)

[第一作者] 侯彦宏,在读硕士,从事中医药防治心血管疾病研究,Tel:010-84013190,E-mail:724748253@qq.com

[通讯作者] * 吴圣贤,博士,主任医师,从事心脑血管疾病研究,Tel:010-84013190,E-mail:wushx@sina.com;

* 聂波,博士,副研究员,从事中医药防治心血管疾病研究,Tel:010-84013190,E-mail:nieboww_1977@163.com

was used to observe the changes of the coronary artery fibrosis, and the changes of the expression levels of monocyte macrophage antigen-1 (ED-1) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) were observed by immunohistochemistry method. **Result:** As compared with the model group, only captopril group could alleviate myocardial hypertrophy; captopril group, AFSM high dose and medium dose groups had certain effects in reducing diastolic and systolic blood pressure; there was no effect on heart rate in various treatment groups; captopril group, AFSM high dose and medium dose groups could significantly reduce the aortic wall thickness; captopril group and AFSM high dose group could significantly reduce the formation of peripheral fibrosis of the coronary artery; captopril group and AFSM high dose group could significantly inhibit the expression levels of ED-1 and PCNA in the coronary artery ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The AFSM active fractions can reduce hypertension and improve vascular remodeling. The mechanism may be related to inhibiting the anti-inflammatory effect of ED-1 and the anti-proliferative effect of PCNA.

[**Key words**] active fraction of Simiao Yongan Tang; hypertensive rat model; vascular remodeling; nitric oxide synthase inhibitor; monocyte macrophage antigen-1; proliferating cell nuclear antigen

血管重构是原发性高血压发生及发展的主要病理基础,故高血压及其所致的心血管重构是死亡率增加的独立危险因素。越来越多的研究证实与高血压及其并发症有紧密关系的是血管重构,高血压血管重构及其中药干预的研究成为近年研究的热点,也为临床高血压的防治及治疗提供更多的依据^[1]。研究表明,持续给予动物一氧化氮合酶(NOS)抑制剂后,大鼠会出现血压升高、心肌肥大、血管周围纤维化等心血管重构现象^[2-3]。四妙勇安汤收载于清代鲍相璈《验方新编》中,由金银花、玄参、当归和甘草组成,具有清热解毒、滋阴活血之功效,是治疗热毒型脱疽的经典验方。近年来,临床用于治疗动脉粥样硬化相关疾病,如冠心病、心绞痛、脑梗死、下肢缺血等疗效显著^[4-5]。有报道显示,高血压是一种以淋巴细胞系统和单核细胞系统激活为特征的慢性炎症过程^[6],以往研究也显示了四妙勇安汤具有抗炎、抗氧化应激等作用。课题组前期细胞水平实验研究表明,四妙勇安汤活性部位具有抑制基质金属蛋白酶-9(MMP-9),核因子- κ B(NF- κ B),细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达的作用^[7-8]。整体动物实验研究表明,四妙勇安汤活性部位可显著抑制ApoE^{-/-}小鼠主动脉动脉粥样硬化斑块的形成,同时具有较好的调节脂质作用^[9]。现代治疗高血压已不仅仅局限于控制血压,更关键的是纠正血管重构,从而降低其发病率和死亡率。因此,高血压血管重构的机制研究成为目前高血压病研究的重点。本实验以四妙勇安汤活性部位为处理因素,以卡托普利和辛伐他汀为对比因素,选用一氧化氮合成酶抑制剂(L-NAME)诱导的大鼠高血压模型,探讨四妙勇安汤活性部位对逆转高血压及其血管重构的作用

及其机制,并为临床治疗高血压提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,8 周龄,体重(290 ± 20) g,雄性,北京维通利华生物科技股份有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2007-0001。本研究获得北京中医药大学东直门医院动物伦理委员会的批准下进行[编号:京中内(2014)33 号]。

1.2 药物及试剂 辛伐他汀(默沙东公司,批号 H19990366),卡托普利(施贵宝公司,批号 H11020833),L-NAME(美国 Sigma 公司,批号 CAS 0051298625),4% 多聚甲醛(国药集团化学试剂有限公司,批号 F20090113),通用型免疫组化二抗试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号 BA1025),单核巨噬细胞抗原抗体(ED-1)和增殖细胞核抗原抗体(PCNA)(英国 Abcam 公司,批号分别为 Mab1432, 07-2162),四妙勇安汤活性部位(AFSM,由北京中医药大学东直门医院重点学科实验室提供)。

1.3 仪器 BX40 型显微镜和 Image G 型多功能彩色图像分析系统(日本奥林巴斯公司),BW-NIBP1106 型无创血压测量系统(软隆公司),MDF-6130 型低温冰箱(日本三洋公司),3K15 型低温高速离心机(美国 Sigma 公司)。

2 方法

2.1 动物模型制备、分组及给药 48 只大鼠,随机分为模型组,卡托普利组,辛伐他汀组,四妙勇安汤活性部位(AFSM)高、中、低剂量组,每组 8 只。于实验开始时各组动物饮水给予 L-NAME(1 g·L⁻¹),并同时灌胃(ig)给药,ig 剂量分别为卡托普利组(50 mg·kg⁻¹·d⁻¹),辛伐他汀阳性药物组(10 mg·

$\text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),AFSM 高剂量($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),AFSM 中剂量组($0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),AFSM 低剂量组($0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),模型组 *ig* 给予等量的生理盐水。共 *ig* 4 周,每天 1 次。

2.2 AFSM 样品的制备 四妙勇安汤原料药材加 8 倍量 55% 乙醇提取 4 次,每次 2 h,提取液浓缩后,加水混悬,过 AB-8 型大孔树脂,分别用水,30% 乙醇,60% 乙醇,95% 乙醇分别淋洗,分别获得 30% 乙醇部位,60% 乙醇部位,95% 乙醇部位。以上 3 个部位按照一定比例配伍后即获得本实验用 AFSM(详见发明专利 ZL 2012 1 0096533.5)。AFSM 1 g 相当于原方药材 12 g,相当于人临床用量的相当于 3.1 倍(原方为 $270 \text{ g}/70 \text{ kg} \approx 3.86 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。

2.3 指标检测

2.3.1 心脏质量指数检测 取材前,称量动物体重后,颈动脉放血处死动物,取出心脏,用滤纸吸干血液,放在电子天平上称心脏质量,并与体重比较,即得心脏指数。

2.3.2 对血压、心率的影响 使用无创血压测量系统,通过阻断大鼠尾部血流方法,于 2 周和 4 周时测定大鼠无创血压和心率。

2.3.3 主动脉组织病理 用生理盐水及 4% 多聚甲醛固定,取血管根部常规脱水,石蜡包埋,每只大鼠石蜡连续切片 $5 \text{ }\mu\text{m}$ 。常规苏木素-伊红(HE)染色,光学显微镜下观察心脏血管形态学变化。切片用 Image G 型多功能图像分析软件做形态测量分析,测量血管管壁厚度。

2.3.4 冠状动脉组织病理 对心脏冠状沟下约 1 mm 处心肌甲醛固定,对固定心脏中段心肌组织常规包埋和制片,组织经流水冲洗、脱水、透明、石蜡包

埋、制片,切片厚度 $5 \text{ }\mu\text{m}$,切片经马松(Masson)三色法染色,光镜下观察冠状动脉周边胶原的变化。利用 Image G 型多功能图像分析软件测量冠状动脉血管周围胶原面积和管腔面积之比,进行统计学分析。每张心肌切片标本均随机取 3 个视野测量,取平均值。

2.3.5 冠状动脉 ED-1 和 PCNA 蛋白表达变化 采用 SP 法检测 ED-1 和 PCNA 的蛋白表达。切片使用经 2% 的 3-氨丙基三氧硅烷(APES)丙酮溶液防脱片处理,免疫组化染色参照相应试剂盒操作步骤进行。染色结束后在光学显微镜下观测目的蛋白表达和分布情况。采用 Image Pro Plus 4.5 图像分析软件半定量分析目的蛋白的表达量,每张切片随机测定 5 个视野的阳性细胞的积分吸光度 *IA*,取平均值作为 ED-1 和 PCNA 的表达量。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行数据分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学差异。

3 结果

3.1 对高血压大鼠体重及心脏指数的影响 各组体重随着喂养时间增加而增加,但初始时,2 周时及 4 周时,各组体重比较,差异不具有统计学意义;但心脏质量模型组增加最明显,其他给药各组比较模型组心脏质量均有所降低,其中卡托普利组和 AFSM 高剂量组与模型组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$);心脏指数模型组最大,卡托普利组与模型组比较,差异具有统计学意义($P < 0.01$),其他各给药组心脏指数比较模型组均有所下降,AFSM 高剂量组下降最多,但差异均不具有统计学意义。见表 1。

表 1 AFSM 对高血压大鼠心脏质量指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of AFSM on cardiac mass index in hypertensive rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	初始体重/g	2 周体重/g	4 周体重/g	4 周心脏质量/g	心脏指数
模型	—	292.2 ± 14.4	342.0 ± 9.2	409.5 ± 22.7	1.214 ± 0.109	0.002 96 ± 0.000 16
卡托普利辛伐他汀	50	298.9 ± 17.0	343.9 ± 16.0	398.0 ± 35.7	0.992 ± 0.073 ¹⁾	0.002 50 ± 0.000 16 ¹⁾
	10	295.5 ± 11.3	343.0 ± 16.8	396.6 ± 30.6	1.119 ± 0.091	0.002 83 ± 0.000 29
AFSM	1	292.0 ± 17.0	348.4 ± 14.5	392.1 ± 18.1	1.089 ± 0.054 ²⁾	0.002 78 ± 0.000 23
	0.5	297.1 ± 16.3	345.9 ± 15.3	411.5 ± 18.9	1.195 ± 0.108	0.002 90 ± 0.000 24
	0.25	291.8 ± 22.3	345.9 ± 20.1	411.6 ± 30.7	1.173 ± 0.094	0.002 85 ± 0.000 13

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$,²⁾ $P < 0.05$ (表 2 ~ 7 同)。

3.2 对高血压大鼠收缩压和舒张压的影响 模型组和给药各组收缩压和舒张压在实验过程中均持续升高,4 周时的血压均高于 2 周的血压,其中模型组

血压增高明显,卡托普利组降压效果最明显,与模型组比较,差异具有统计学意义($P < 0.01$),AFSM 高、中剂量组均具有一定的降压作用($P < 0.05$, $P <$

0.01),高剂量组降压效果优于低剂量组,但二者的作用效果均低于卡托普利组,而辛伐他汀组在各时间点均不具有降血压的作用,收缩压和舒张压与模型组比较,均不具有统计学意义。见表 2,3。

表 2 AFSM 对高血压大鼠收缩压的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 2 Effect of AFSM on systolic blood pressure in hypertensive rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	2 周	4 周
模型	—	155.9 ± 4.1	186.1 ± 13.1
卡托普利	50	127.9 ± 5.5 ¹⁾	134.5 ± 7.4 ¹⁾
辛伐他汀	10	151.9 ± 7.2	169.0 ± 17.3
AFSM	1	130.0 ± 11.5 ¹⁾	159.4 ± 20.5 ¹⁾
	0.5	137.9 ± 8.4 ¹⁾	162.4 ± 7.3 ¹⁾
	0.25	151.6 ± 10.5	181.3 ± 11.6

注:1 mmHg = 0.133 kPa(表 3 同)。

表 3 AFSM 对高血压大鼠舒张压的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 3 Effect of AFSM on diastolic blood pressure in hypertensive rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	2 周	4 周
模型	—	124.9 ± 9.4	151.4 ± 13.5
卡托普利	50	103.5 ± 5.0 ¹⁾	116.1 ± 8.8 ¹⁾
辛伐他汀	10	124.8 ± 9.8	143.5 ± 14.6
AFSM	1	109.4 ± 12.2 ²⁾	134.9 ± 16.7 ²⁾
	0.5	120.9 ± 5.0	138.4 ± 5.6 ²⁾
	0.25	124.4 ± 11.0	151.8 ± 14.7

3.3 对高血压大鼠心率的影响 模型组和给药各组 2 周和 4 周时的心率变化不大,与模型组比较,差异均无统计学意义。见表 4。

表 4 AFSM 对高血压大鼠心率的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 4 Effect of AFSM on heart rate in hypertensive rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

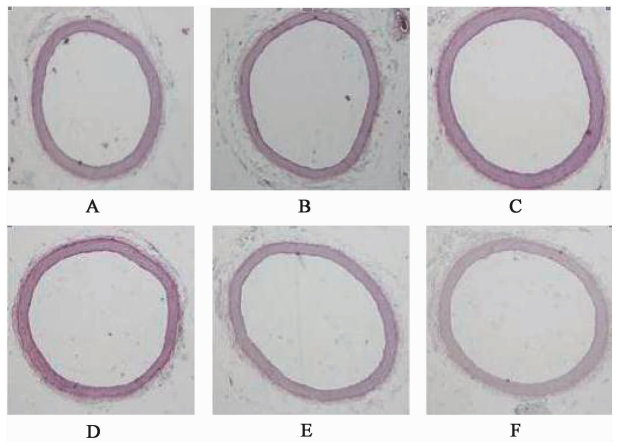
组别	剂量/g·kg ⁻¹	2 周	4 周
模型	—	378.0 ± 33.3	374.0 ± 39.3
卡托普利	50	393.9 ± 30.2	390.1 ± 31.8
辛伐他汀	10	379.8 ± 24.3	360.8 ± 30.8
AFSM	1	378.5 ± 30.7	375.3 ± 22.4
	0.5	384.8 ± 24.2	381.6 ± 18.9
	0.25	377.9 ± 30.0	365.3 ± 37.8

3.4 对高血压大鼠主动脉厚度的影响 实验 4 周后,模型组主动脉中膜及管壁明显增厚,管腔面积变小,血管环面积(外环面积-内环面积)明显增大。卡托普利及 AFSM 高、中剂量组的主动脉中膜及管壁明显变薄,管腔面积扩大,血管环面积明显降低,

与模型组血管环面积比较,差异明显,具有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$),其中卡托普利组作用效果最为明显,高剂量组次之。辛伐他汀组和低剂量组对主动脉厚度的作用不明显。见表 5 和图 1。

表 5 AFSM 对高血压大鼠主动脉厚度的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 5 Effect of AFSM on aortic thickness in hypertensive rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	血管环面积/mm ²
模型	—	166 967 ± 9 359.9
卡托普利	50	138 473 ± 13 661.8 ¹⁾
辛伐他汀	10	160 912 ± 16 215.4
AFSM	1	148 685 ± 4 234.1 ¹⁾
	0.5	151 713 ± 11 966.2 ²⁾
	0.25	157 586 ± 9 107.0



A. 模型组;B. 卡托普利组;C. 辛伐他汀组;D. AFSM 1 g·kg⁻¹ 组;E. AFSM 0.5 g·kg⁻¹ 组;F. AFSM 0.25 g·kg⁻¹ 组(图 2 ~ 4 同)

图 1 AFSM 对 L-NAME 诱导的高血压大鼠主动脉厚度的影响(HE, × 100)

Fig.1 Effect of AFSM on aortic thickness of L-NAME induced hypertension in rats(HE, × 100)

3.6 对高血压大鼠冠状动脉胶原纤维化的影响 Masson 染色中血管和心肌中的胶原纤维呈蓝色,肌纤维呈红色。模型组冠状动脉管壁增厚明显,管腔面积狭窄,胶原纤维分布增加明显,与管壁面积之比明显升高。卡托普利及 AFSM 高剂量组冠状动脉壁明显变薄,管腔面积扩大,胶原纤维分布明显减少,与管壁面积之比明显降低,与模型组比较,差异明显,具有统计学意义($P < 0.01$),其中卡托普利组作用效果最为明显,高剂量组次之。辛伐他汀组和中剂量组冠状动脉壁变薄,胶原纤维分布减少,与管壁面积之比降低,但与模型组比较,差异不明显,不具有统计学意义。低剂量组对冠状动脉胶原纤维的作用不明显。见表 6 和图 2。

表 6 AFSM 对高血压大鼠冠状动脉胶原纤维化的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 6 Effect of AFSM on collagen fibrosis in coronary artery in hypertensive rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	胶原纤维染色面积率/%
模型	—	64.8 ± 11.5
卡托普利	50	45.5 ± 8.1 ¹⁾
辛伐他汀	10	59.1 ± 8.2
AFSM	1	46.4 ± 6.3 ¹⁾
	0.5	59.2 ± 5.2
	0.25	64.2 ± 6.3

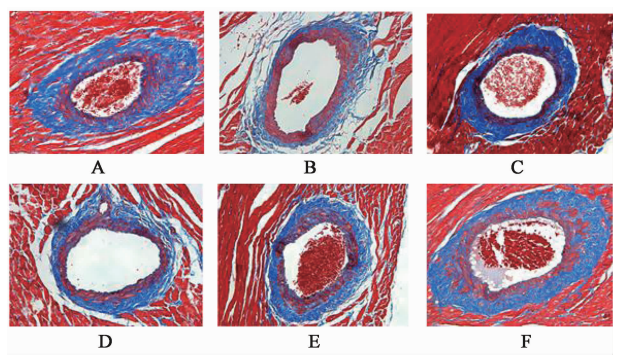


图 2 AFSM 对 L-NAME 诱导的高血压大鼠冠状动脉纤维化的影响 (Masson, × 100)

Fig. 2 Effect of AFSM on coronary artery fibrosis in L-NAME induced hypertensive rats (Masson, × 100)

3.7 对冠状动脉 ED-1 和 PCNA 蛋白表达变化 免疫组化染色中 ED-1 和 PCNA 阳染呈棕褐色。由表 7 和图 3,4 可见,模型组动物的心脏冠状动脉 ED-1 和 PCNA 阳性细胞表达明显增多,卡托普利和四妙勇安汤高剂量组 ED-1 和 PCNA 阳性细胞表达明显减少,与模型组比较,具有显著性差异($P < 0.05$);中、低剂量组和辛伐他汀组 ED-1 和 PCNA 阳性细胞表达也有减少,但与模型组比较,没有统计学意义。

表 7 AFSM 对高血压大鼠冠状动脉 ED-1 和 PCNA 蛋白 IA 值影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 7 Effect of AFSM on ED-1 and PCNA expression in coronary artery of hypertensive rats IA ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	PCNA	ED-1
模型	—	32.9 ± 3.2	35.1 ± 5.7
卡托普利	50	27.4 ± 4.9 ²⁾	29.1 ± 2.6 ²⁾
辛伐他汀	10	29.8 ± 6.8	31.2 ± 4.3
AFSM	1	28.2 ± 4.0 ²⁾	29.9 ± 3.3 ²⁾
	0.5	29.6 ± 6.7	30.2 ± 3.4
	0.25	30.6 ± 4.2	31.2 ± 3.7

4 讨论

高血压是以体循环动脉压增高为主要表现的临床综合症,是脑血管损害、缺血性心脏病和动脉硬化性周围循环障碍最主要的促危因素。血管重构是在

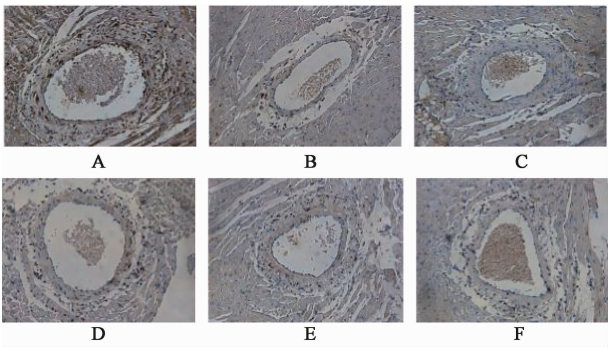


图 3 AFSM 对 L-NAME 诱导高血压大鼠冠状动脉 PCNA 表达的影响 (免疫组化, × 100)

Fig. 3 Effect of AFSM on expression of PCNA in coronary artery of hypertensive rats induced by L-NAME (IHC, × 100)

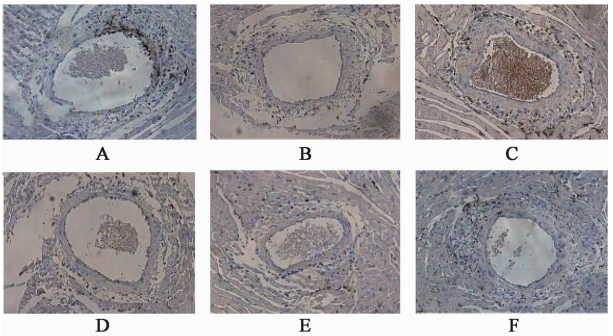


图 4 AFSM 对 L-NAME 诱导高血压大鼠冠状动脉 ED-1 表达的影响 (免疫组化, × 100)

Fig. 4 Effect of AFSM on expression of ED-1 in coronary artery of hypertensive rats induced by L-NAME (IHC, × 100)

血流动力学及体液因子作用下血管的动态构型变化过程,是血管壁对血流动力学及体液和局部内分泌因素改变的一种较长期的适应性反应,主要表现为血管壁细胞的迁移、增殖、肥大,细胞外基质的合成与降解,外膜的改变等,使管腔比例和几何形状发生改变。目前认为,血管重构是高血压心脏等靶器官损害的一种重要机制,且是高血压维持及病情恶化发展的结构基础。药物逆转心血管重构对于心血管疾病的治疗和预后具有重要意义^[10-11]。

临床及实验研究均表明,高血压患者及动物存在内皮依赖性的血管舒张功能障碍,在持续诱导 NO 合成下降的过程中,内皮功能障碍可加强压力反射,通过损害机体自稳机制中的血管舒张效应而引起高血压,升高的血压又可以进一步损害内皮细胞的 NO 合成能力,出现冠脉微小血管中膜肥厚、血管周围纤维化、心肌肥大等心血管系统重构现象,进而导致高血压、动脉硬化等相应疾病的发生^[12-13]。本实验利用 L-NAME 诱导高血压大鼠模型,发现 2 周时大鼠的舒张压和收缩压均明显稳定升高,4 周

时舒张压和收缩压继续持续稳定升高,说明该模型制备方法可靠。

四妙勇安汤是古代治疗热毒型脱疽的良方,由金银花、玄参、当归、甘草 4 味药组成,具有清热解毒,活血通络之功效。AFSM 是利用现代提取分离手段,获得活性部位,初步成分分析显示含有黄酮类和酚酸类。基于动脉粥样硬化和脱疽均属于血管病变这同一病理基础,开展了运用 AFSM 治疗动脉粥样硬化的系列基础研究,发现 AFSM 具有降低血压的作用。高血压的中医基本病机是血脉瘀阻。血脉瘀阻的病理因素包括痰阻血脉、血瘀血脉、气滞血脉、寒凝血脉,导致血行不畅,导致“心主血脉”功能异常,在“心主神志”的功能调节作用下,通过加强心气的推动力,或者调节心跳频率,主动或被动地增加泵血量以维持五脏六腑、四肢百骸的血液供应,形成了高血压。无论是肝气郁滞、痰湿内盛、肝肾亏损、阴阳失调,均可病及血脉,瘀滞不行,形成瘀血。临床辨证用药多配伍活血化瘀药^[14]。高血压的基本病机与四妙勇安汤的组方及方解相符。

单核/巨噬细胞作为一种主要的炎症细胞,参与高血压介导的心脏纤维化和血管重构的病理过程。ED-1 可用于评价单核细胞向巨噬细胞的分化情况,单核巨噬细胞浸润加重细胞外基质沉积,进而加重血管纤维化重构^[15]。PCNA 是一种存在于细胞核中的非组蛋白,是评价平滑肌细胞增殖的常用指标^[16]。已有研究显示四妙勇安汤具有抗炎、抗氧化应激等作用。AFSM 含有黄酮、酚酸类成分,这些成分具有抗炎作用^[4,7-8]。由此,笔者推测 AFSM 具有较好的降低舒张压和收缩压的作用,显著抑制高血压大鼠主动脉的增厚和冠状动脉纤维化的形成。其作用机制可能是通过减轻冠状动脉巨噬细胞浸润 ED-1 的阳性表达,抑制血管内皮炎症反应,进而抑制 PCNA 的阳性表达,从而抑制血管平滑肌细胞分化,抑制细胞外基质分泌,从而抑制血管重构。但具体降压的信号通路有待于深入研究。

本实验证明辛伐他汀不具有降低高血压及抑制心脏血管重构的作用,与文献报道相符。本实验发现 4 周时卡托普利组心脏质量及心脏质量指数与模型组差异明显,而 AFSM 仅高剂量组心脏质量与卡托普利组有差异,尽管中、低剂量的心脏质量和心脏指数,高剂量组的心脏质量指数与模型组比较没有显著差异,但均显示出抑制心肌肥大的趋势。分析其原因,中药的作用比较西药起效慢,可能与治疗时间偏短有关。

[参考文献]

[1] 孟云辉,于慧卿,刘真,等. 镇肝熄风汤对自发性高血压大鼠血管重构的影响[J]. 河北中医,2010,32(7): 1065-1066.

[2] 刘晓霞,席加喜,王硕,等. 青钱柳叶水提取物对 N ω -硝基左旋精氨酸甲酯盐酸盐诱导的高血压大鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(8):174-178.

[3] Shyamal C, Gopi K, Paul M, et al. Hydrogen sulfide stimulates ischemic vascular remodeling through nitric oxide synthase and nitrite reduction activity regulating hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis[J]. J Am Heart Assoc, 2012,1(5):e004093.

[4] 尤寅骏,张建忠. 四妙勇安汤临床应用的研究进展[J]. 浙江中医药大学学报,2013,37(7):942-944.

[5] 蔺爽,李辉,于森,等. 四妙勇安汤研究进展[J]. 世界中西医结合杂志,2012,7(1):84-86.

[6] 田心,王长海,李蕊,等. 菊藤胶囊对自发性高血压大鼠炎症因子的影响[J]. 第四军医大学学报,2009,30(22):2660-2662.

[7] 朱海燕,聂波,徐冰,等. 四妙勇安汤提取物抑制巨噬细胞 NF- κ B 活化和 MMP-9 分泌的初步研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2013,11(1):52-54.

[8] 聂波,徐颖,徐冰,等. 四妙勇安汤提取物对脂多糖诱导的巨噬细胞表达 ICAM-1 和 MMP-9 的影响[J]. 辽宁中医杂志,2013,40(7):1479-1481.

[9] 刘蓓,陈立新,郭鹏,等. 四妙勇安汤活性部位对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化的药效学研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2013,11(4):450-451.

[10] Katragadda S, Arora R R. Role of angiotensin-converting enzyme inhibitors in vascular modulation: beyond the hypertensive effects [J]. Am J Ther, 2010, 17(1): e11-e23.

[11] 陈鹏,李洪涛,王芝静. ACEI 逆转心血管重构的研究进展[J]. 河北医药,2015,37(8):1226-1228.

[12] QU C, Leung S W, Vanhoutte P M, et al. Chronic inhibition of nitric-oxide synthase potentiates endothelium-dependent contractions in the rat aorta by augmenting the expression of cyclooxygenase-2 [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2010,334(2):373-380.

[13] 白晓彦,王森,伍会健. 一氧化氮相关的内皮功能障碍与高血压[J]. 生命的化学,2014,34(6):744-748.

[14] 张振千. 高血压病病因病机及中医治疗体会[J]. 陕西中医,2013,34(1):126-128.

[15] Jonbert A, Bianchi P, Marltz C, et al. Influence of pmstaglandin A2 on Bax, Bel-2 and PCNA expression in MCFa cells[J]. Biomed Res, 2006,27(4):157-1562.

[16] 莫雪妮,杨益宝,黄绍湘. 天麻钩藤饮对高血压大鼠血管重构的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):149-152.

[责任编辑 周冰冰]