

丹夏降压颗粒对自发性高血压大鼠收缩压及左心室肥厚的影响*

王艳炜¹, 吴变稳², 赵天资¹, 郭亚楠¹, 苗华为¹

(1. 河北省中医院 心内科, 河北 石家庄 050011; 2. 中国人民解放军联勤保障部队第九八零医院, 河北 石家庄 050000)

[摘要] **目的:** 探讨丹夏降压颗粒对自发性高血压大鼠 (SHR) 收缩压及左心室肥厚 (LVH) 的影响。**方法:** 16 只 12 周龄 SHR 大鼠随机均分为模型组与中药组, 另选 8 只同周龄 Wistar 大鼠作为对照组, 中药组每天给予丹夏降压颗粒溶液灌胃, 其余 2 组给予同等剂量蒸馏水处理, 连续给药 8 周; 分别于给药前、给药第 4 周及第 8 周时测量 3 组大鼠收缩压及心率; 于第 8 周灌胃结束时, 麻醉处死 3 组大鼠取左心室, 检测心脏指数 (HWI) 及左心室指数 (LVMI), 采用 Western blot 检测心肌细胞心肌营养素-1 (CT-1) 蛋白含量。**结果:** 与对照组比较, 模型组和给药组大鼠收缩压显著升高 ($P < 0.01$); 给药后中药组大鼠收缩压较给药前及同时段模型组显著降低, 且治疗第 8 周显著低于治疗第 4 周 ($P < 0.01$); 给药 8 周时, 模型组和给药组大鼠的 HWI 和 LVMI 均显著高于对照组大鼠 ($P < 0.01$), 中药组大鼠 HWI 和 LVMI 较模型组显著下降 ($P < 0.01$); 大鼠心肌细胞 CT-1 蛋白含量比较, 模型组和给药组均显著高于对照组大鼠 ($P < 0.01$), 中药组较模型组显著下降 ($P < 0.01$)。**结论:** 丹夏降压颗粒能有效降低收缩压、改善左心室肥厚, 其机制可能与其减少心肌 CT-1 的表达有关。

[关键词] 丹夏降压颗粒; 心脏指数; 左心室指数; 心肌营养素-1; 自发性高血压大鼠

[中图分类号] R54; R259 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2020)01-0083-04

DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2020.01.016

The Effects of Danxia Granules on the Left Ventricular Hypertrophy of Spontaneously Hypertensive Rats

WANG Yanwei¹, WU Bianwen², ZHAO Tianzi¹, GUO Yanan¹, MIAO Huawei¹

(1. Department of Cardiology, Hebei Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, Hebei, China;
2. 980 Hospital of PLA Joint Logistics Support Force, Shijiazhuang 050000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Danxia granules on the systolic blood pressure, the left ventricular hypertrophy (LVH) and the expression of cardiotrophin-1 of spontaneously hypertensive rats (SHR). **Method:** 16 twelve-week-old SHR were randomly divided into the model group ($n = 8$) and Danxia granules group ($n = 8$). Age-matched Wistar rats served as the normal blood pressure control group ($n = 8$). The Danxia granules group was fed with Danxia granules and the other two groups were fed with distilled water. The experiment lasted for 8 weeks. Systolic blood pressure and heart rate were measured before, the 4th week and 8th week after the experiment. After 8-week treatment, heart weight index (HWI) and left ventricular weight index (LVWI) were measured and cardiotrophin-1 (CT-1) was examined by Western blot. **Results:** The systolic blood pressure, HWI and LVWI all decreased significantly in Danxia granules group compared with the model group. Compared with the control group, the expression level of CT-1 in myocardial tissues were obviously higher in the model group and Danxia granules group ($P < 0.05$), and the expression level of CT-1 decreased in Danxia granules group compared with the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Danxia granules

*[基金项目] 河北省中医药管理局课题(2019054)
网络出版时间:2020-01-09 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20200109.2011.016.html>

showed a certain effect on the reduction of the systolic blood pressure and the expression level of cardiac partial CT-1. It reversed the LVH.

[**Key words**] Danxia granules; heart weight index; left ventricular weight index; cardiotrophin-1; spontaneously hypertensive rats (SHR)

根据心血管病数据统计的结果显示,2016 年我国高血压患者已达 2.7 亿人^[1],高血压损伤的靶器官主要是心脏、脑及肾脏^[2],其中左心室肥厚(left ventricular hypertrophy, LVH)是高血压的严重心脏损害之一^[3]。LVH 主要是由于主动脉压力增高,引起心肌细胞代偿性增大,持续进展出现间质细胞增生、胶质纤维合成增加,引起心室重构^[4-6];在此基础上,左心室顺应性进行性下降,最终导致心功能不全^[7]。目前已被证实, LVH 是心血管事件的独立危险因素^[8-10],在临床治疗的过程中,治疗高血压已从单纯的降低血压、提高到注重逆转 LVH、减轻靶器官损害、减少心血管事件的发生^[11]。心肌营养素-1(CT-1)得名于其能在体外诱导心肌细胞肥大^[12],他主要存在于心脏、参与调节心脏生理过程,促进心肌细胞增殖、生长^[13]。丹夏降压颗粒是河北省中医院苗华为教授的经验方,在临床治疗高血压的过程中已显示出显著的治疗效果,本研究旨在观察其对自发性高血压大鼠(SHR)血压及心室肥厚的影响,为该药的临床应用提供进一步的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物及分组 16 只 SHR 大鼠,12 周龄,雄性,体质量 200 ~ 250 g;8 只 Wistar 大鼠,12 周龄,体质量 270 ~ 300 g;均购于北京维通利华实验技术有限责任公司。将 SHR 大鼠随机均分为模型组和中药组,每组 8 只;8 只 Wistar 大鼠作为对照组。中药组大鼠给予以丹夏降压颗粒溶液灌胃,给药剂量按照《中药药理试验方法学》按人与大鼠的换算系数 0.018 计算,每日给药 1 次;模型组与对照组大鼠给予同等体积的蒸馏水,均连续 8 周。

1.1.2 主要试剂及仪器 丹夏降压颗粒成分:半夏 10 g、陈皮 10 g、竹茹 8 g、枳实 10 g、丹参 20 g、川芎 12 g、桃仁 10 g、红花 10 g,由河北省中医院药剂科提供。CT-1 和 β -actin 抗体(美国 Abcam 公司),其余试剂均为国产分析纯,恒压恒流电泳仪、凝胶成像系统(美国伯乐公司)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠血压测定 分别于给药前、给药第 4 周及第 8 周时,大鼠在安静、清醒的状态下应用无创尾动脉仪测量各组大鼠的收缩压及心率。每只大鼠测量 3 次,每次测量的时间间隔 5 min,取平均值作为大鼠的收缩压及心率。

1.2.2 心脏指数(HWI)和左心室指数(LVMI)测定 第 8 周灌胃结束时,麻醉大鼠,开胸取出心脏,以 4 ℃ PBS 冲洗心脏,剪去血管及脂肪组织,用滤纸吸干,称取全心质量。然后剪去心房及右心室,称取左心室质量。HWI 为全心质量与体质量的比值, LVMI 为左心室质量与体质量的比值。

1.2.3 CT-1 蛋白含量测定 采用 Western blot 检测大鼠心室肌细胞 CT-1 蛋白含量,将心室肌组织剪碎,加入细胞裂解液,摇匀置于冰上,匀浆 30 min,4 ℃ 离心收集上清,应用 BCA 检测法测定蛋白质含量,按比例配置分离胶及浓缩胶,取 50 μ g 蛋白行 SDS-PAGE 电泳,再将蛋白转移至硝酸纤维素膜上,用含 5% 脱脂奶粉的封闭液于摇床上封闭 1 h;按说明书稀释 CT-1 一抗抗体,加入一抗抗体,4 ℃ 过夜;加入辣根过氧化物偶联的二抗孵育 1 h 后洗膜,加入显影液进行曝光、扫描。以心肌细胞的 β -肌动蛋白(β -actin)作为内参,观察各组大鼠心室肌细胞 CT-1 蛋白的相对表达量。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,所有数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,2 组之间比较采用 t 检验; $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 收缩压和心率

与对照组比较,模型组和给药组大鼠收缩压显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);治疗后中药组大鼠收缩压较模型组显著降低,第 8 周时显著低于第 4 周,差异有统计学意义($P < 0.01$)。中药组给药后收缩压较给药前降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。3 组大鼠给药前后的心率比较,差异

无统计学意义($P>0.05$)。见表 1、表 2。

表 1 给药前后各组大鼠收缩压比较($\bar{x}\pm s$)

| 时间 | 收缩压/mmHg | | |
|----------|-----------|--------------------------|--------------------------------|
| | 对照组 | 模型组 | 中药组 |
| 给药前 | 115.9±1.8 | 177.0±2.3 ⁽¹⁾ | 184.0±3.7 ⁽¹⁾ |
| 给药第 4 周 | 118.2±2.3 | 184.2±2.5 ⁽¹⁾ | 161.5±1.9 ⁽¹⁾⁽²⁾ |
| 给药第 8 周 | 118.3±2.4 | 186.2±2.4 ⁽¹⁾ | 139.9±1.5 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾ |
| <i>F</i> | 0.41 | 4.03 | 74.35 |
| <i>P</i> | 0.67 | 0.03 | <0.01 |

注：⁽¹⁾与对照组比较， $P<0.01$ ；⁽²⁾与模型组比较， $P<0.01$ ；⁽³⁾与同组给药第 4 周比较， $P<0.01$ 。

表 2 治疗前后各组大鼠心率比较($\bar{x}\pm s$)

| 时间 | 心率/(次/min) | | |
|----------|------------|------------|-----------|
| | 对照组 | 模型组 | 中药组 |
| 给药前 | 430.3±16.9 | 458.3±18.3 | 434.2±8.0 |
| 给药第 4 周 | 418.0±10.7 | 414.8±10.4 | 423.9±7.4 |
| 给药第 8 周 | 421.4±15.6 | 440.8±11.3 | 422.4±7.7 |
| <i>F</i> | 0.19 | 2.52 | 0.69 |
| <i>P</i> | 0.83 | 0.10 | 0.51 |

2.2 HWI 及 LVMI

给药 8 周时,模型组和给药组大鼠的 HWI 和 LVMI 均显著高于对照组大鼠,差异具有统计学意义($P<0.01$)。中药组大鼠 HWI 和 LVMI 较模型组显著下降,差异具有统计学意义($P<0.01$)。见表 3。

表 3 治疗 8 周时各组大鼠 HWI 及 LVMI 比较($\bar{x}\pm s$)

| Tab.3 The comparison of left ventricular hypertrophy in each group($\bar{x}\pm s$) | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|
| 组别 | HWI/(mg/g) | LVMI/(mg/g) |
| 对照组 | 3.07±0.07 | 1.97±0.07 |
| 模型组 | 3.47±0.06 ⁽¹⁾ | 2.71±0.10 ⁽¹⁾ |
| 中药组 | 3.21±0.02 ⁽¹⁾⁽²⁾ | 2.23±0.04 ⁽¹⁾⁽²⁾ |
| <i>F</i> | 13.12 | 25.95 |
| <i>P</i> | <0.01 | <0.01 |

注：⁽¹⁾与对照组比较， $P<0.01$ ；⁽²⁾与模型组比较， $P<0.01$ 。

2.3 CT-1 蛋白含量

给药 8 周时,大鼠心肌细胞 CT-1 蛋白含量比较,模型组(0.428 ± 0.025)和给药组(0.365 ± 0.008)均显著高于对照组大鼠(0.303 ± 0.004),差异具有统计学意义($F=16.11,P<0.01$)。中药

组大鼠心肌细胞 CT-1 蛋白含量较模型组显著下降,差异具有统计学意义($P<0.01$)。

3 讨论

LVH 与高血压密切相关,但降压并不是逆转心室肥厚的唯一要素。参与这一复杂的病理生理过程的因素很多,如神经、体液、细胞因子等。CT-1 作为 IL-6 细胞因子家族的成员,是 1995 年 Pennica 等^[12]发现的细胞因子,得名于其能在体外诱导心肌细胞肥大,CT-1 存在于骨骼肌、卵巢、睾丸等多种组织,主要存在于心脏^[13],主要由心脏的心肌细胞和非心肌细胞生成^[14-15],具有广泛的生物学活性。CT-1 参与调节心脏生理过程,促进心肌细胞增殖、生长。在高血压、心肌梗塞、心力衰竭、心肌炎等多种病理情况下,CT-1 引起心室肥厚,一方面它能诱导心室肥厚的发生,且不同于 α 肾上腺素受体激活引起的心肌肥厚,CT-1 诱导的心肌肥厚主要是心肌细胞拉长^[16]。另一方面,CT-1 通过刺激心肌成纤维细胞的增殖及胶原蛋白的合成,加速心肌纤维化,从而影响心室重构^[17-18]。目前发现 CT-1 影响 LVH 的最重要机制是 CT-1 通过 Janus 激酶(janus kinase, JAK)-信号转导和转录活化因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)即 JAK-STAT 途径引起心脏肥大,CT-1 与其心肌细胞膜上的特异性跨膜受体即 gp130/白血病抑制因子受体(LIFR)结合^[19-20],激活胞浆内与 Jak 激酶家族成员 Jak1、Jak2 及 Tyk2 相关的酪氨酸激酶,使酪氨酸激酶磷酸化^[21],最后激活信号转导和转录激活因子 3(STAT3),形成二聚体,转导胞内信号。CT-1 通过 JAK-STAT3 通路可激活血管紧张素原基因的启动子,上调肾素-血管紧张素系统,促使血管紧张素原 mRNA 产生增多诱导心肌细胞肥大^[22]。

中医理论认为,痰浊、瘀血是引起高血压左室肥厚的重要病理因素高血压引起 LVH 的机制是痰浊和瘀血^[23],痰浊、瘀血阻塞脉道,胶结血脉,心气营运不畅,气、血、痰胶结遂导致心肌肥厚^[24-25]。鉴于此,丹夏降压颗粒中的主要成分是半夏、陈皮、竹茹、枳实,功效即是燥湿、清热、化痰,辅以丹参、川芎、桃仁、红花等活血化瘀理气药,诸药合用旨在通过清热化痰,活血化瘀以达到降压、逆转心室肥厚的目的。本研究结果表明,中药组给药后收缩压较给药前降低($P<0.01$);给药 8 周时,模型组和给药组大鼠的 HWI 和 LVMI 均显著高于对照组大

鼠($P < 0.01$);中药组大鼠 HWI 和 LVMI 较模型组显著下降($P < 0.01$);大鼠心肌细胞 CT-1 蛋白含量比较,模型组(0.428 ± 0.025)和给药组(0.365 ± 0.008)均显著高于对照组大鼠(0.303 ± 0.004),差异具有统计学意义($F = 16.11$, $P < 0.01$)。中药组大鼠心肌细胞 CT-1 蛋白含量较模型组显著下降,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

综上所述,丹夏降压颗粒降压效果明确,但对于心率的影响不大,可以有效的降低 HWI 及 LVMI,丹夏降压颗粒不仅能改善心室肥厚,亦能在分子水平抑制 CT-1 表达。

4 参考文献

- [1] KHERA R, LU Y, LU J, et al. Impact of 2017 ACC/AHA guidelines on prevalence of hypertension and eligibility for antihypertensive treatment in United States and China: nationally representative cross sectional study[J]. BMJ, 2018,362:k2357.
- [2] 王艳红. Intermedin 对大鼠肾小管上皮细胞缺氧复氧损伤保护作用及机制的研究[D]. 太原:山西医科大学, 2013.
- [3] 施伟丽. 葛根素对自发性高血压大鼠血压的干预作用及机制研究[D]. 北京:中国中医科学院,2017.
- [4] 魏世杰,周家伟,甘梦月,等. 苦参碱对心脏肥厚大鼠的心功能和左室重塑的改善作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2017,33(4):338-342.
- [5] 王惠枢. 右美托咪定对严重烫伤大鼠心肌损伤的影响及其机制的研究[D]. 广州:南方医科大学, 2014.
- [6] 周刚,徐卫亭. 高血压诱导心肌组织内质网应激反应对大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2017,26(24):2634-2636;2639.
- [7] 赫连曼,王浩,赵海鹰,等. 黄芩苷对肾性高血压大鼠血压及抑制左室重构的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017,25(7):693-700.
- [8] DRAPER T S, SILVER J S, GAASCH W H, et al. Adverse structural remodeling of the left ventricle and ventricular arrhythmias in patients with depressed ejection fraction[J]. Card Fail, 2015,21(2):97-102.
- [9] TOMASIK A, JACHE E W, WOJCIECHOWSKA C, et al. Randomized placebo controlled blinded study to assess valsartan efficacy in preventing left ventricle remodeling in patients with dual chamber pacemaker-Rationale and design of the trial[J]. Contemp Clin Trials, 2015,42(1):239-243.
- [10] SUPASYNTH O, WANG J, HAFEEZ K, et al. Efficacy and safety of Sacubitril/Valsartan(LCZ696) compared with olmesartan in elderly Asian patients (≥ 65 years) with systolic hypertension[J]. Am J Hypertens, 2017,30(12):1163-1169.
- [11] 张亮,陈坤,马子霖,等. 启心饮对高血压左室肥厚模型大鼠左室重构的干预作用[J]. 上海中医药大学学报, 2018,32(6):40-49.
- [12] PENNICA D, KING K L, SHAW K J, et al. Expression cloning of cardiotrophin 1, a cytokine that induces cardiac myocyte hypertrophy[J]. Proc Natl Acad Sci UAS, 1995,92:1142-1146.
- [13] 刘和,莫丹,梁荣寿. 芍药苷对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌肥大的抑制作用及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015,21(16):88-92.
- [14] 郭志鹏. 心肌营养素-1 在心血管疾病中的研究进展[J]. 中国循环杂志, 2015,30(3):293-295.
- [15] 韩红亚,周玉杰,卜聪亚,等. 心肌营养素-1 与心血管系统关系的研究进展[J]. 心肺血管病杂志, 2011,30(2):165.
- [16] 余良主,石春蓉. 粉防己碱对高血压大鼠左室心肌营养素-1 及其受体 gp130/LIFR 表达的影响[J]. 2014, 20(11):151-155.
- [17] 颜素娟,李菊香,罗伟. 心肌营养素-1 在心室重塑中的作用[J]. 岭南心血管病杂志, 2003,9(4):298-300.
- [18] 门素珍,刘巍. 心肌肥大和纤维化相关因素的研究进展[J]. 医学研究杂志, 2017,46(6):180-182.
- [19] 顾明,马鸿雁,李玉芹,等. 卡托普利预处理对急性心肌损伤大鼠 CT-1 及凋亡相关基因表达的影响[J]. 中国地方病防治杂志, 2011,26(3):172-175.
- [20] 曾勇,谭元生,任卫琼,等. 复方钩藤降压片对大鼠心肌 CT-1/JAK-STAT 通路蛋白表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2019,39(2):206-210.
- [21] 王丽丽,张翠丽,富路. JAK-STAT 信号通路和心肌葡萄糖代谢医学综述[J]. 医学综述, 2015,21(23):4263-4266.
- [22] 叶炳华,钱亚东,王大荣. 心肌营养素-1 与高血压左室肥厚的相关性及卡维地洛干预研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2011,19(11):1846-1848.
- [23] 李雪莹. 原发性高血压合并左室肥厚的临床特点及中医证型研究[D]. 北京市:北京中医药大学, 2018.
- [24] 李苏,王雯,谭元生. 复方钩藤降压片对 SHR 左室肥厚及血清瘦素和脂联素的影响[J]. 中医药导报, 2018, 24(15):53-58.
- [25] 贾蕊,王洪博,徐伟超,等. 潜阳通络方对肝阳上亢证 SHR 左室肥厚及心肌内皮素受体蛋白表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2012,32:5212-5214.

(2019-11-08 收稿,2020-01-03 修回)

中文编辑:吴昌学;英文编辑:丁廷森