

黄芩苷对肾性高血压大鼠血压及抑制左心室重构的作用

赫连曼, 王浩, 赵海鹰, 崔淑娴

(河南省人民医院高血压科, 河南省郑州市 450003)

[关键词] 黄芩苷; 肾性高血压; 左心室重构; 内质网应激; 纤维化

[摘要] **目的** 探索黄芩苷对肾性高血压大鼠血压及抑制左心室重构的作用。**方法** 雄性 Wistar 大鼠 40 只, 随机抽取 10 只为假手术组, 其余采用两肾一夹法造成肾性高血压大鼠模型, 6 周后将造模成功大鼠随机分为模型组和黄芩苷组, 最终存活大鼠假手术组 ($n=9$)、模型组 ($n=10$) 及黄芩苷组 ($n=11$), 连续给药 4 周。观察大鼠的一般情况, 分别于造模前、造模 6 周后及给药 4 周后检测各组大鼠血压变化; 给药 4 周后各组大鼠行高频超声心动图检查, 测定各项心功能指标; 处死大鼠, 取心脏, 行 HE、Masson 染色。用 TUNEL 法检测各组大鼠心肌细胞凋亡; real-time PCR 检测各组大鼠心肌细胞葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、葡萄糖调节蛋白 94 (GRP94) 表达; Western blot 检测各组大鼠心肌细胞内质网伴侣蛋白 GRP78、GRP94 及 CCAAT 增强子结合蛋白同源蛋白 (CHOP)、Caspase 3 表达。**结果** 与模型组相比, 黄芩苷组大鼠治疗后血压下降 ($P<0.05$), 心脏彩超结果显示左心室重构各项指标均有明显改善 ($P<0.05$)。与模型组相比, 黄芩苷组大鼠心肌纤维化病理积分及纤维化相关因子基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、基质金属蛋白酶 2 (MMP-2)、结缔组织生长因子 (CTGF) 和转化生长因子 (TGF- β 1) 表达明显下降 ($P<0.05$)。与模型组相比, 黄芩苷组大鼠心肌组织 GRP78、GRP94、CHOP 及 Caspase 3 表达及细胞凋亡明显减少 ($P<0.05$)。**结论** 黄芩苷具有一定降压作用, 可改善肾性高血压大鼠左心室重构, 减轻心肌病理变化, 缓解内质网应激, 减少心肌细胞凋亡。

[中图分类号] R544.1

[文献标识码] A

Effects of Baicalin on blood pressure and left ventricular remodeling in rats with renal hypertension

HE Lian-Man, WANG Hao, ZHAO Hai-Ying, CUI Shu-Xian

(Hypertension Department of Henan Province People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China)

[KEY WORDS] Baicalin; Renal hypertension; Left ventricular remodeling; Endoplasmic reticulum stress; Fibrosis

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of Baicalin on blood pressure and left ventricular remodeling in rats with renal hypertension. **Methods** Among 40 male Wistar rats 10 were randomly selected for sham operation group, which renal hypertensive rat model was established by using two kidney one clip method. The rats with renal hypertension were randomly divided into model group and Baicalin group after 6 weeks, eventually alive rats were divided into sham operation group ($n=9$), model group ($n=10$) and Baicalin group ($n=11$) for 4 weeks intervention. During the experiment, the general situation of rats was observed, and the blood pressure were detected before operation, operation after 6 weeks, and intervention for 4 weeks; high frequency echocardiography were detected after 4 weeks and the cardiac function indexes were measured. The rats were sacrificed and the heart was removed. The morphological changes of myocardial tissue was observed by using HE staining, Masson staining. The myocardial apoptosis was detected by TUNEL method and the expression of endoplasmic reticulum chaperone glucose regulated protein (GRP78), glucose regulated protein (GRP94) in myocardial cell of rats were also detected by real-time PCR and Western blot. The expression of CCAAT/enhancer binding protein homologous protein (CHOP) and Caspase 3 was monitored by Western blot. **Results** Compared with model group, there was significant change of blood pressure in Baicalin group ($P<0.05$), and the indexes of left ventricular remodeling were significantly improved after the echocardiography ($P<0.05$). Compared with model group, the integral of pathological myocardial fibrosis and fibrosis related factors matrix metalloprotein-9 (MMP-9), matrix metalloprotein-2

[收稿日期] 2016-11-11

[修回日期] 2016-12-09

[作者简介] 赫连曼, 硕士, 主治医师, 研究方向为高血压治疗研究, E-mail 为 helianman1983@126.com。

(MMP-2), connective tissue growth factor(CTGF) and transforming growth factor- β 1(TGF- β 1) expression was significantly decreased in Baicalin group($P<0.05$). Compared with model group, the expression of GRP78, GRP94, CHOP, Caspase 3 and apoptosis of cardiomyocyte were significantly decreased in Baicalin group($P<0.05$). **Conclusion** Baicalin had a certain antihypertensive effect, it could improve the left ventricular remodeling in renal hypertensive rats, reduce myocardial pathological changes, ease the endoplasmic reticulum stress and reduce apoptosis in myocardial cell.

高血压病主要表现为血压持续上升并可引起诸多并发症的“心脑血管综合征”,据不完全统计,中国目前高血压患者超过 2 亿^[1]。在临床中观察到长期的主动脉血压升高可引起高血压病患者心室重构,严重者可导致高血压性心脏病及心力衰竭。目前对于高血压病尚无根治疗法与药物,临床治疗多以长期口服血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI)、ARB、 β 受体阻断剂及 Ca^{2+} 拮抗剂等维持血压,其中只有 ACEI 和 ARB 类药物可改善高血压病引起的左心室重构^[2]。但 ACEI 可引起刺激性呛咳及特殊条件下肾损害;ARB 则可导致心率减慢等副作用,使得上述两种药物在临床上使用受限。寻找一种可逆转心室重构且副作用少的降压药物,成为目前亟待解决的问题。黄芩苷是中药黄芩的有效提取物,已有研究表明,黄芩苷对心肌具有良好的保护作用^[3],但黄芩苷是否能改善肾性高血压所致的心室重构或心肌损害并未见报道。本研究采用单侧肾动脉结扎法建立肾性高血压大鼠模型,观察黄芩苷对肾性高血压大鼠心室重构、心肌纤维化及心肌细胞凋亡的影响,为扩大黄芩苷的临床用途提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 药品、材料与仪器

黄芩苷(江北药业,中国),VIVID E9 多普勒彩色超声(临床使用,也可用于小动物检测)和 ML6-15 浅表探头(GE,美国),光学显微镜(Olympus,日本),葡萄糖调节蛋白 78(glucose regulated protein, GRP78)、葡萄糖调节蛋白 94(glucose regulated protein, GRP94)、CCAAT 增强子结合蛋白同源蛋白(CCAAT/enhancer binding protein homologous protein, CHOP)、Caspase 3 及 GAPDH 内参抗体(ABCAM,美国),TUNEL 试剂盒(碧云天,中国),转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloprotein-9, MMP-9)、基质金属蛋白酶 2(matrix metalloprotein-2, MMP-2)和 ELISA 试剂盒(欣博盛,中国),Exicycler 96 荧光定

量 PCR 仪(BIONEER,韩国),WD-9405B 水平摇床和 WD-9413B 凝胶成像系统(北京六一,中国)。

1.2 肾性高血压大鼠模型制备及实验分组

肾性高血压大鼠模型制备参照丁露等^[3]方法,在大鼠腹正中切口,充分暴露腹腔,沿肾静脉下方钝性剥离左肾动脉,将针灸针(直径 0.25 mm)与肾动脉血管长轴平行放置,用手术线将针灸针和肾动脉结扎一起,随后抽出针灸针,使单侧肾动脉狭窄。假手术组重复同样操作,但不放置针灸针及不结扎任何血管。术后 3 天内腹腔注射青霉素钠(每天 3×10^4 U)预防感染,正常进食、饮水。

1.3 动物及分组

成年雄性 Wistar 大鼠 40 只,体重 220 ± 15 g,大鼠生长条件为 22°C ,常规饮食,每天日照时间为 14 h,实验室通风较好,湿度为 40%~55%,采购于吉林大学基础医学院实验动物中心,清洁级(II 级)。适应性喂养 1 周后,随机分为假手术组($n=10$)、肾性高血压模型组($n=30$)。手术 6 周后测血压,血压升高至 20 kPa 者确定为造模成功,肾性高血压模型组再随机分为模型组和黄芩苷组(100 mg/kg 黄芩苷 2 mL 与 0.9% NaCl 溶液混匀灌胃,每天 1 次,共 4 周),假手术组与模型组给予相同剂量 0.9% NaCl 溶液灌胃^[4]。

1.4 各组大鼠尾动脉血压测定

将大鼠置于熟悉环境中,采用无创血压仪,测量各组大鼠尾动脉收缩压,每只大鼠测 3 次,取其平均值。测定血压时间分别为造模前、造模 6 周后及给予黄芩苷灌胃 4 周后。

1.5 心脏超声心动图的测定

给药 4 周后,使用 GE Vivid E9 彩色超声显像仪,对每组大鼠进行经胸心脏超声心动图检查。经胸壁高频超声 ML6-15 探头,频率 13 MHz,图像深度 3.5 cm。10%水合氯醛 0.2 g/kg 腹腔注射麻醉大鼠,在二维超声引导下, M 型超声测定胸骨旁左心长轴切面室间隔厚度(interventricular septal thickness at diastole, IVSd)、左心室舒张期内径(left ventricular internal diameter at end-diastole, LVIDd)及舒张末期左心室后壁厚度(left ventricular posterior wall depth diastole, LVPWd),每个测定值均取 4 个连

续完整心动周期,测量平均值^[5]。

1.6 病理取材及切片制作

心脏超声心动图检查后,立即处死大鼠,在无菌状态下用眼科剪将大鼠左肋剪开,充分暴露心脏后将心脏取出,保留一部分心室肌组织并投入到固定液中(4%多聚甲醛溶液),经乙醇脱水、石蜡包埋后,置于切片机中连续切片,经脱蜡、二甲苯透明后进行 HE 及 Masson 染色,分别于不同倍数光镜下观察各组大鼠心肌病理变化,用 Image J 图像分析软件对 Masson 染色图片进行心肌组织胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)分析, $CVF(\%) = \text{胶原面积} / \text{总面积} \times 100\%$ 。其余心室肌组织部分制作组织匀浆用于检测实验相关蛋白。

1.7 TUNEL 检测心室肌细胞凋亡

各组大鼠心室肌组织经过 0.1% Triton X-100 透化后,用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,再滴加 3% H₂O₂ 200 μL,漂洗 3 次后,加入蛋白酶 K 工作液置于常温下 20 min;漂洗 3 次后加入 TUNEL 反应液(TdT+ 荧光素标记的 dUTP),于 37℃ 恒温箱中避光孵育 60 min;PBS 清洗 3 次后加入 DAPI,再次应用 PBS 漂洗 3 次,最后防荧光淬灭封片剂封片。随机移动组织切片,选取细胞分布较均匀的高倍视野计数 1000 个以上,在相邻的 10 个视野下,红褐色细胞即阳性细胞。凋亡指数计算:凋亡指数(AI)(%)=各视野阳性细胞数/视野所有细胞总数×100%。

1.8 检测大鼠心室肌组织 MMP-9、MMP-2、CTGF 和 TGF-β1 表达

ELISA 法检测各组大鼠心室肌组织匀浆中 MMP-9、MMP-2、CTGF 和 TGF-β1 表达,严格按照说明书操作^[6]。将 ELISA 法测得的数据导入 Heml 软件,对 MMP-9、MMP-2、CTGF 及 TGF-β1 进行热图分析。

1.9 real-time PCR 检测各组大鼠心室肌组织 GRP78、GRP94 的表达

经过总 RNA 提取后进行 RNA 浓度检测,反转录后将 cDNA 模板(1 μL)、上下游引物(10 μmol/L)(各 0.5 μL)加入到 SYBR GREEN mastermix(10 μL)中,再用 ddH₂O 补足至 20 μL。待 PCR 循环结束后,95℃ 10 min,60℃ 20 s;72℃ 30 s,4℃ 5 min,循环 40 次。每个样品基因行 6 个复孔平行实验,实验结果舍去较大误差数值后选取剩余均值,实验结果采用 2^{-ΔΔCt}法分析数据。引物信息见表 1。

表 1. 参照引物信息

Table 1. Reference primer information

蛋白名称	引物排列
GRP78	F:5'-GATAATCAGCCCACCGTAA-3' R:5'-TTGTTTCCTGTCCCTTTGT-3'
GRP94	F:5'-GATGTGGATGGCAGCGTAG-3' R:5'-GTTCCCTTATTTGTGATGCA-3'
β-actin	F:5'-CTACAATGAGCTGCGTGTGG-3' R:5'-CGGTGAGGATCTTCATGAGG-3'

1.10 Western blot 检测各组大鼠心室肌组织内 GRP78、GRP94、CHOP 及 Caspase 3 表达

加入 RIPA 裂解液及蛋白酶抑制剂 PMSF,提取蛋白质,测定浓度。取样 15 μL 以 10% SDS-PAGE 电泳,常规转膜后脱脂奶粉封闭,加一抗 anti-GRP78(1:500)、anti-GRP94(1:500)、anti-Caspase 3(1:500)及 anti-CHOP(1:200)4℃ 孵育过夜, TBST 洗脱 5 min×3 次,辣根过氧化物酶标抗二抗室温孵育 2 h, TBST 洗脱 10 min×3 次, ECL 化学发光显像^[7]。

1.11 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两比较采用 *t* 检验,多组之间两两比较采用 *q* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肾性高血压大鼠存活率

假手术组大鼠因感染死亡 1 只。模型组麻醉未苏醒 2 只,术后感染死亡 1 只,手术后第 3 周死亡 2 只,考虑可能由于大鼠脑出血所致。黄芩苷组麻醉未苏醒 1 只,血压低于 20 kPa 1 只,手术后第 6 周死亡 2 只,考虑可能由于大鼠脑出血所致。各组大鼠存活数量、造模数量、存活率、造模成功率详见表 2。

表 2. 各组实验大鼠的手术生存率和造模成功率[只(%)]

Table 2. Survival rate and success rate of the rats in the experiment[*n*(%)]

分组	<i>n</i>	手术成功	成模
假手术组	10	9(90.00)	9(90.00)
模型组	15	13(86.67)	10(66.66)
黄芩苷组	15	14(93.33)	11(73.33)

2.2 黄芩苷对肾性高血压大鼠血压的影响

与假手术组相比,模型组大鼠血压明显上升($P < 0.05$);与模型组相比,黄芩苷组大鼠治疗后血

压有所下降($P<0.05$;表3)。

表 3. 各组大鼠血压变化($\bar{x}\pm s$)

Table 3. Changes of blood pressure in rats of each group($\bar{x}\pm s$)

分 组	<i>n</i>	造模前(kPa)	造模后(kPa)	治疗后(kPa)
假手术组	9	16.53±0.43	16.32±0.64	16.82±1.04
模型组	10	16.47±1.85	22.54±1.33 ^a	23.53 ± 1.94 ^a
黄芩苷组	11	15.91±1.32	23.53±2.42 ^a	19.67±0.76 ^b

a 为 $P<0.05$,与假手术组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较。

2.3 各组大鼠高频心脏超声测定结果

与假手术组相比,模型组 IVSd、LVPWd 明显增厚,LVIDd 明显增大($P<0.05$;表4),提示模型组大

鼠心室肌增厚,心腔扩大,符合高血压所致心室重构特点。与模型组相比,黄芩苷组大鼠 IVSd、LVPWd 增厚减轻,LVIDd 明显改善($P<0.05$)。彩超测定结果见图1。

表 4. 各组大鼠高频心脏超声数值变化($\bar{x}\pm s$)

Table 4. Ventricular structure and ejection fraction in rats with dilated cardiomyopathy($\bar{x}\pm s$)

分 组	<i>n</i>	IVSd (mm)	LVPWd(mm)	LVIDd(mm)
假手术组	9	1.93 ± 0.01	1.85 ± 0.04	4.85 ± 0.28
模型组	10	2.54 ± 0.02 ^a	2.37 ± 0.13 ^a	5.64 ± 0.31 ^a
黄芩苷组	11	2.05 ± 0.08 ^b	2.03 ± 0.09 ^b	5.03 ± 0.39 ^b

a 为 $P<0.05$,与假手术组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较。

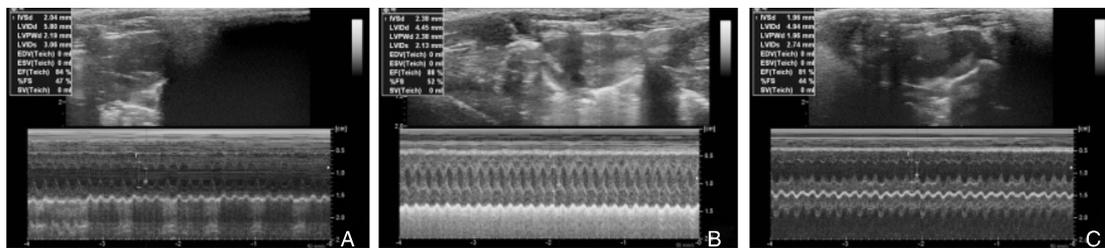


图 1. 各组大鼠心脏彩超测定结果 A 为假手术组; B 为模型组; C 为黄芩苷组。

Figure 1. Heart color Doppler ultrasound images

2.4 病理学改变

2.4.1 心脏大体改变 假手术组心脏外观无明显异常。模型组大鼠心脏颜色虽无明显变化,但心室明显扩大,且触及心室肌质地较硬,弹性较差。黄芩苷组心脏外观基本正常,质地较模型组有弹性,但与假手术相比仍弹性稍差。

2.4.2 光镜观察结果 光镜下观察 HE 染色结果:与假手术组相比,模型组心室肌纤维增粗,心肌纤维间隔增宽,细胞核排列紊乱,可见大量淋巴细胞浸润现象;黄芩苷组大鼠大部分心肌纤维排列整齐,间隙紧密有序,少数心肌细胞核固缩(图2)。

Masson 染色结果中胶原纤维呈蓝色,细胞质、肌纤维和红细胞呈红色,细胞核呈蓝褐色。假手术

组大鼠心室肌组织只见少许纤维组织并且呈均匀分布,CVF 为 $3.74\% \pm 0.41\%$ 。模型组大鼠可见大量纤维组织,聚集于血管和心肌细胞周围,CVF 为 $13.76\% \pm 1.37\%$,与假手术组相比心室肌组织纤维化严重($P<0.05$)。黄芩苷组大鼠心室肌 CVF 为 $8.63\% \pm 0.47\%$,与模型组比较,心肌纤维化程度明显降低($P<0.05$;图3)。

2.5 TUNEL 法检测各组大鼠心室肌细胞凋亡

假手术组大鼠心室肌细胞仅有少量凋亡的细胞(AI= $2.78\% \pm 1.14\%$);与假手术组相比较,模型组大鼠凋亡明显(AI= $21.98\% \pm 2.1\%$, $P<0.05$);与模型组大鼠相比较,黄芩苷组大鼠心室肌细胞 AI 为 $7.43\% \pm 0.72\%$,凋亡细胞量明显减少($P<0.05$;图4)。

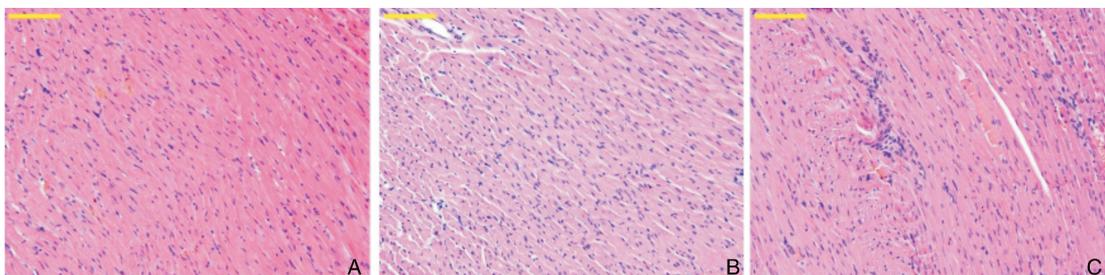


图 2. 各组大鼠心室肌光镜 HE 染色结果($\times 200$) A 为假手术组; B 为模型组; C 为黄芩苷组。

Figure 2. Results of light microscopic HE staining of ventricular muscle in each group($\times 200$)

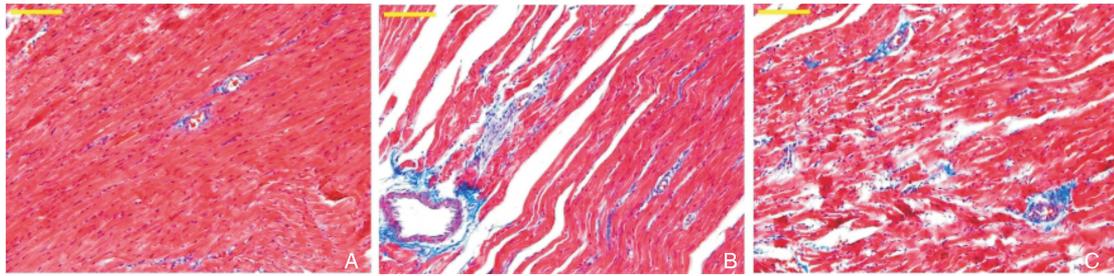


图 3. 各组大鼠心室肌光镜 Masson 染色结果 (x200) A 为假手术组; B 为模型组; C 为黄芩苷组。

Figure 3. Light microscopic Masson staining results of ventricular muscle of rats in each group (x200)

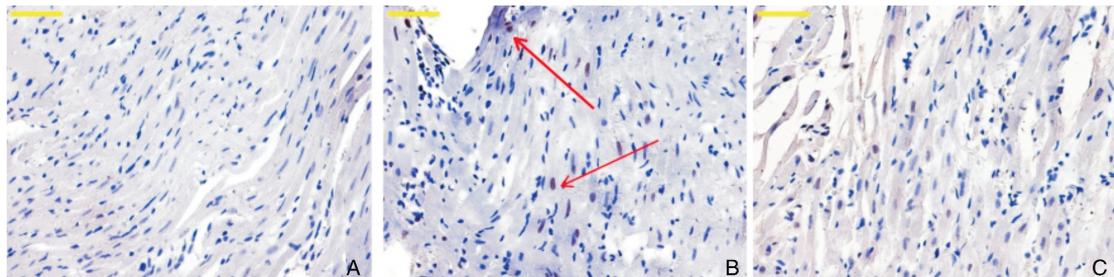


图 4. 各组大鼠心室肌细胞凋亡 (x400) A 为假手术组; B 为模型组; C 为黄芩苷组。箭头所示为凋亡细胞。

Figure 4. Apoptosis of ventricular myocytes in rats of each group (x400)

2.6 各组大鼠心室肌细胞 MMP-9、MMP-2、CTGF 和 TGF-β1 表达

与假手术组相比,模型组大鼠心室肌细胞 MMP-9、MMP-2、CTGF 和 TGF-β1 明显上升 ($P < 0.05$); 黄芩苷组 MMP-9、MMP-2、CTGF 和 TGF-β1 表达明显改善

($P < 0.05$; 表 5)。MMP-9 及 MMP-2 进行热图分析,图中蓝色越接近 1 端蓝色为低表达,越接近 1 端红色为高表达;CTGF 及 TGF-β1 进行热图分析,图中蓝色越接近 1 端蓝色为低表达,越接近 1 端橙色为高表达,图中黑色框为无数据表示(图 5)。

表 5. 各组大鼠心肌细胞 MMP-9、MMP-2、CTGF 和 TGF-β1 表达变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5. The relative expression of MMP-9, MMP-2, CTGF and TGF-β1 in myocardial cells of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

分 组	MMP-9(μg/L)	MMP-2(μg/L)	CTGF(ng/L)	TGF-β1(ng/L)
假手术组	107.53±8.31	125.37±10.63	376.22±24.61	294.31±19.66
模型组	365.06±21.75 ^a	254.31±27.46 ^a	742.45±46.32 ^a	643.96±53.01 ^a
黄芩苷组	158.64±9.77 ^b	139.53±7.54 ^b	458.52±31.91 ^b	375.04±28.48 ^b

a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较。

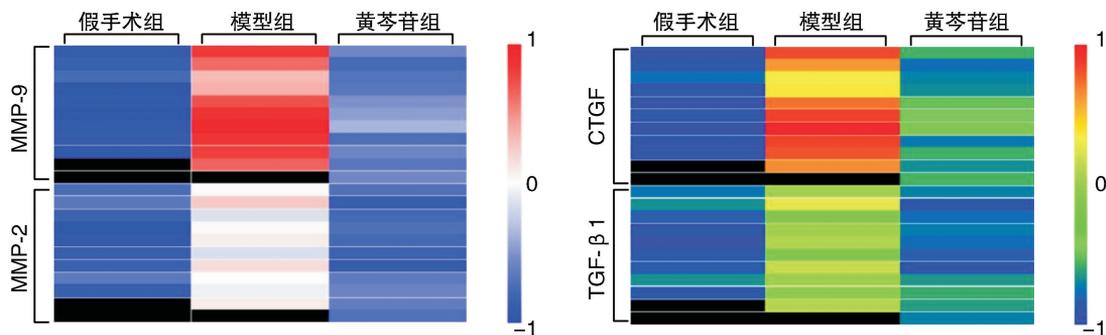


图 5. 各组大鼠差异热图

Figure 5. Heatmap of metabolites between each groups

2.7 各组大鼠心室肌细胞 GRP78、GRP94 表达

与假手术组相比,模型组大鼠心室肌细胞 GRP78 mRNA 与 GPR94 mRNA 表达明显增多,具有

统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,黄芩苷组大鼠心室肌细胞 GRP78 mRNA 与 GPR94 mRNA 趋于改善,且具有统计学意义($P<0.05$;图 6 和表 6)。

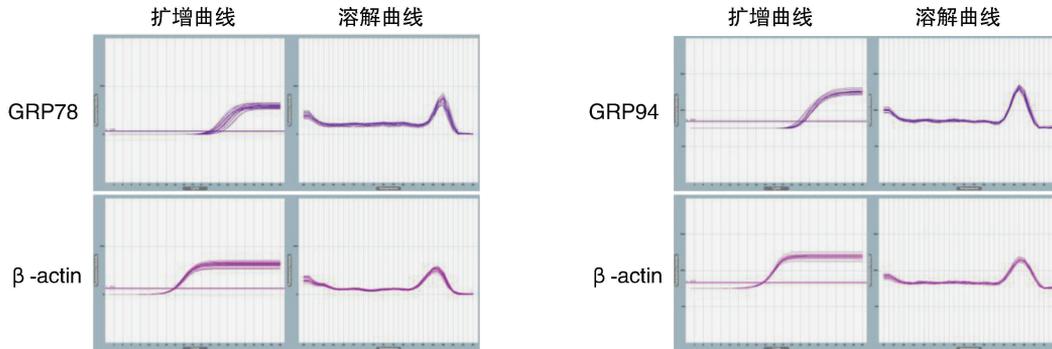


图 6. GRP78、GRP94 mRNA 扩增曲线与溶解曲线

Figure 6. The amplification curve and dissolution curve of GRP78 mRNA and GRP94 mRNA

表 6. 各组大鼠心室肌细胞中 GRP78、GRP94 mRNA 水平变化($\bar{x}\pm s$)

Table 6. The relative expression of GRP78 mRNA and GRP94 mRNA in myocardial cells of rats in each group($\bar{x}\pm s$)

分 组	GRP78 mRNA	GRP94 mRNA
假手术组	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.02
模型组	2.59 ± 0.12 ^a	1.45 ± 0.11 ^a
黄芩苷组	1.85 ± 0.08 ^b	1.17 ± 0.06 ^b

a 为 $P<0.05$,与假手术组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较。

2.8 各组大鼠心室肌组织 GRP78、GRP94、CHOP 和 Caspase 3 表达

与假手术组相比,模型组大鼠心室肌细胞 GRP78、GRP94、CHOP 及 Caspase 3 表达升高,有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,黄芩苷组大鼠心室肌细胞中 GRP78、GRP94、CHOP 及 Caspase 3 均明显降低($P<0.05$;图 7 和表 7)。

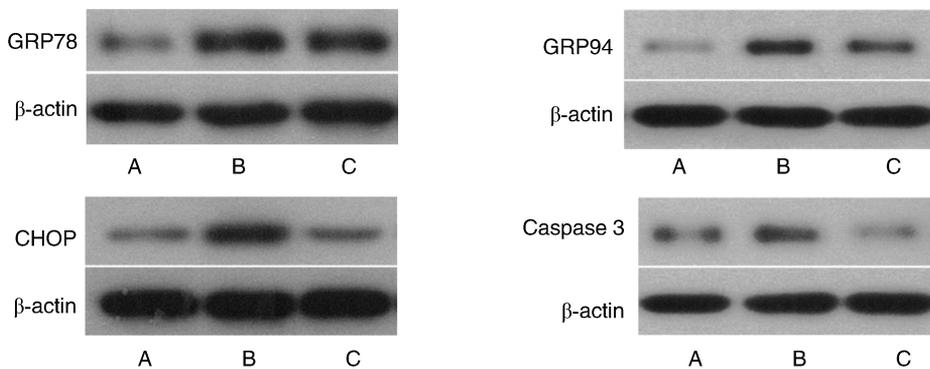


图 7. 各组大鼠心室肌细胞 GRP78、GRP94、CHOP 和 Caspase 3 表达 A 为假手术组; B 为模型组; C 为黄芩苷组。

Figure 7. The expression of GRP78, GRP94, CHOP and Caspase 3 in myocardial cells of rats in each group

表 7. 各组大鼠心室肌组织 GRP78、GRP94、CHOP 和 Caspase 3 相对表达($\bar{x}\pm s$)

Table 7. The relative expression of GRP78, GRP94 and Caspase 3 in myocardial cells of rats in each group($\bar{x}\pm s$)

分组	GRP78/ β -actin	GRP94/ β -actin	CHOP/ β -actin	Caspase 3/ β -actin
假手术组	1.00±0.05	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.03
模型组	3.69±0.25 ^a	2.36±0.18 ^a	2.84±0.09 ^a	1.93±0.02 ^a
黄芩苷组	1.95±0.22 ^b	1.54±0.08 ^b	0.94±0.02 ^b	0.86±0.15 ^b

a 为 $P<0.05$,与假手术组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较。

3 讨论

高血压病在世界范围内是危害人类健康的重大疾病,心脏是其主要的靶器官。由于血压升高使高血压患者心脏前后负荷增加,致使心肌代偿性肥厚,发生左心室重构,而一旦心脏进入失代偿期,可导致心力衰竭的发生,降低患者生活质量,甚至引起不良事件^[8]。因此,逆转左心室重构成为目前治疗高血压病的研究热点。黄芩苷是中药黄芩的有效成分,具有抗病毒、抗氧化、抗肿瘤、抗凋亡及降血压等作用^[9-13],但在国内并未引起重视,有深入研究价值。

心室重构是指心室由于压力、供血不足、药物损伤等情况下所产生的形态结构和组织结构等一系列变化,其本质是是病变修复和心室整体代偿及继发的病理生理反应过程。已有研究证实,心室重构与心肌细胞凋亡及心肌纤维化有着密切关系^[14]。凋亡的产生机制复杂,文献^[15]报道内质网应激反应介导的细胞凋亡是一条新的细胞凋亡信号转导通路。蛋白质在内质网内一级结构折叠成成熟的3、4级结构后,分泌到内质网外。当内质网稳态失衡时,内质网正确折叠蛋白质功能异常,可致错误折叠蛋白在内质网内异常聚集,同时内质网应激性蛋白分泌增加,识别错误折叠蛋白,并通过蛋白酶体将其降解,上述一系列反应过程即内质网应激反应(endoplasmic reticulum stress, ERS)。ERS发生后,内质网通过上调分子伴侣蛋白 GRP78 及 GRP94 表达、抑制蛋白质合成、加速错误折叠和未折叠蛋白质降解等方式缓解 ERS。然而持续或较严重的 ERS 则触发凋亡信号,诱导 CHOP、Caspase 3 等促凋亡因子的表达及活化,引起细胞凋亡^[16-17]。MMP-9、MMP-2 是重塑细胞外基质的关键因子^[18], TGF- β 1 是公认的致纤维化因子之一,参与了多个器官或组织纤维化的形成^[19]。CTGF 具有促进有丝分裂、心脏成纤维细胞增殖和细胞基质合成等作用,并且使成纤维细胞向肌纤维细胞转化,促进心肌纤维化^[20]。

本研究通过对大鼠尾动脉测量血压发现黄芩苷对于肾性高血压大鼠具有一定降压效果。心脏超声观察到黄芩苷组大鼠 IVSd、LVPWd 及 LVIDd 各项指标明显改善,同时发现黄芩苷可以使肾性高血压组大鼠心肌纤维排列紊乱得到明显改善,变性、坏死心肌细胞减少,心肌细胞间质水肿减轻,间质纤维化明显减少,纤维化相关因子 MMP-9、MMP-2、CTGF 和 TGF- β 1 表达明显减少,这与 Masson 染

色结果趋势相同;应用 Western blot 与 real-time PCR 技术证实个组大鼠心肌细胞 GRP78、GRP94 的蛋白表达水平与 mRNA 的转录水平趋势相同,说明黄芩苷可缓解 ERS,减少 GRP78、GRP94 的表达,使促凋亡因子 CHOP、Caspase 3 表达减少,进而减少心肌细胞凋亡,抑制心室重构。

综上所述,黄芩苷可通过减少肾性高血压大鼠心肌细胞凋亡,抑制心肌纤维化的发生,进而改善心室重构的发生。但上述实验结果只能部分解释黄芩苷逆转心室重塑和提高心功能的机制,至于黄芩苷是如何抑制 ERS 凋亡信号通路或其他细胞凋亡通路,使心肌细胞凋亡减少及则有待后续实验加以阐明。

[参考文献]

- [1] 邱华丽, 潘晓彦. 高血压病防治研究现状[J]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9(2): 210-212.
- [2] Ye Y, Gong H, Wang X, et al. Combination treatment with antihypertensive agents enhances the effect of qiliqiangxin on chronic pressure overload-induced cardiac hypertrophy and remodeling in male mice[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2015, 65(6): 628-639.
- [3] 丁露, 郑青青, 李洋, 等. 儿茶酚胺在大鼠肾性高血压中的作用及可能机制[J]. 中国应用生理学, 2016, 32(3): 214-218.
- [4] 王鹏, 马军军, 杜亚明. 黄芩苷对再灌注心肌细胞保护作用及与心肌细胞自噬的相关性[J]. 中国循环, 2016, 31(7): 701-705.
- [5] 王伊林, 崔晓雪, 柴花, 等. 丹参酮 II A 磺酸钠对阿霉素心肌病大鼠心室肌闰盘保护作用的研究[J]. 临床心血管病杂志, 2016, 32(8): 843-847.
- [6] 王伊林, 单晓彤, 柴花, 等. 丹参酮 II A 磺酸钠对阿霉素心肌病大鼠心功能及左室纤维化作用研究[J]. 山东医药, 2016, 56(7): 34-36.
- [7] 段洪霞, 葛李, 崔传宝, 等. 2 型糖尿病大鼠肠系膜动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道 α 、 β 1 亚基蛋白及 mRNA 表达水平变化[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(16): 1-5.
- [8] 吴爱平, 刘伟琦, 玛琦琳. 原发性高血压患者血浆网膜素 1 水平与左心室肥厚的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(7): 698-704.
- [9] 王沛明, 陈文, 孟宪丽. 黄芩有效成分在炎症通路中的作用靶点研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17): 193-197.
- [10] 闵冬雨, 贾连群, 宋囡. 黄芩苷对 CoCl₂ 诱导的 SHSY-5y 细胞损伤的保护作用及其对自由基的影响[J]. 中

- 华中医药学刊, 2016, 34(9): 2 079- 081.
- [11] 朱磊, 沈洪, 顾培青, 等. 黄芩苷对溃疡性结肠炎模型大鼠 NF- κ B 表达的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2016, 32(5): 447-450.
- [12] Lin H, Shen S, Lin C, et al. Baicalein inhibition of hydrogen peroxide-induced apoptosis via ROS-dependent heme oxygenase 1 gene expression [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 17(7): 1 073-086.
- [13] Chen Z, Su Y, Lau C, et al. Endothelium-dependent contraction and direct relaxation induced by baicalein in rat mesenteric artery[J]. Eur J Pharmacol, 1999, 374(1): 41-47.
- [14] Liang T, Zhang Y, Yin S, et al. Cardio-protect effect of qiliqiangxin capsule on left ventricular remodeling, dysfunction and apoptosis in heart failure rats after chronic myocardial infarction[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(5): 2 046-058.
- [15] 刘磊, 王洪军, 赵明, 等. 病毒性心肌炎所致小鼠心力衰竭心肌组织内质网应激相关的凋亡关系的研究[J]. 中国应用生理学杂志, 2014, 30(5): 461-464.
- [16] 牛晓峰, 赵雅君, 赵明, 等. 黄芪总黄酮通过抑制内质网应激对小鼠病毒性心肌炎保护作用的实验研究[J]. 临床心血管病杂志, 2015, 31(2): 129-132.
- [17] 周晓敏, 陶谢鑫, 赵明, 等. 黄芪总黄酮与丹参酮 II A 磺酸钠对病毒性心肌炎小鼠心肌细胞内质网伴侣蛋白及 L-型钙通道表达的作用[J]. 临床心血管病杂志, 2015, 31(3): 254-256.
- [18] 孙喆莹, 孙健. 阿托伐他汀对急性心肌梗死 CD40L、MMP-9、CRP 水平的影响[J]. 中国医药导报, 2009, 6(16): 102-103.
- [19] 熊英, 杨琳. 心脏成纤维细胞与心肌细胞偶联的致心律失常作用[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2013, 27(6): 471-474.
- [20] Bradham DM, Igarashi A, Potter RL, et al. Connective tissue growth factor: a cysteine-rich mitogen secreted by human vascular endothelial cells is related to the SRC-induced immediate early gene product CEF-10 [J]. Cell Biol, 1991, 114(6): 1 285-294.
- (此文编辑 朱雯霞)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

作者声明

发表在我刊 2016 年第 8 期第 788 页《骨髓间充质干细胞移植对大鼠脑缺血损伤和 IL-10、TGF- β 1 表达的影响》一文由湖南省自然科学基金项目(11A106)资助,特此更正。