

本文引用: 许甜甜, 李书国, 向芸娥, 等. β 受体阻滞剂对自发性高血压大鼠血管老化的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(1): 9-16. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.01.002.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-01-0009-08

· 实验研究 ·

β 受体阻滞剂对自发性高血压大鼠血管老化的影响

许甜甜, 李书国, 向芸娥, 邵文

三峡大学第一临床医学院宜昌市中心人民医院老年病科 三峡大学老年医学研究所, 湖北省宜昌市 443003

[摘要] **[目的]** 探讨 β 受体阻滞剂在自发性高血压大鼠 (SHR) 血管老化中的防治作用及其潜在机制。**[方法]** 将 24 只 3 月龄雄性 SHR 随机分为安慰剂组、硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组, 分别以食用淀粉、硝苯地平缓释片 60 mg、硝苯地平缓释片 40 mg+美托洛尔缓释片 75 mg、美托洛尔缓释片 150 mg 灌胃治疗, 普通饲料喂养 9 个月, 动态观察大鼠血压、心率及一般情况。HE 染色观察大鼠股动脉形态学特征, 离体股动脉血管环灌流实验检测血管舒缩功能, 免疫荧光组织学染色和实时聚合酶链反应 (RT-PCR) 测定衰老相关基因 p53、p21 及内质网应激相关基因 CHOP、XBP1 的表达。**[结果]** 与安慰剂组相比, 硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组收缩压下降约 30%, 舒张压下降约 20%, 心率分别下降了 9%、36%、41% (均 $P<0.01$)。与安慰剂组相比, 硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组舒缩功能显著改善, 内膜中膜厚度分别下降了 24%、14%、37% (均 $P<0.01$); 与硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组相比, 美托洛尔组舒缩功能显著改善, 内膜中膜厚度分别下降了 18%、27% (均 $P<0.01$)。与安慰剂组相比, 硝苯地平组 p53 蛋白、p53 mRNA、p21 蛋白、p21 mRNA、CHOP 蛋白、CHOP mRNA、XBP1 蛋白、XBP1 mRNA 的表达水平分别下降了 35% ($P<0.01$)、23% ($P<0.05$)、25% ($P<0.01$)、3% ($P>0.05$)、51% ($P<0.01$)、24% ($P>0.05$)、21% ($P<0.01$)、23% ($P>0.05$), 硝苯地平+美托洛尔组分别下降了 36% ($P<0.01$)、42% ($P<0.01$)、4% ($P>0.05$)、24% ($P<0.05$)、32% ($P<0.01$)、44% ($P<0.05$)、13% ($P<0.01$)、42% ($P<0.05$), 美托洛尔组分别下降了 47% ($P<0.01$)、43% ($P<0.01$)、42% ($P<0.01$)、49% ($P<0.01$)、78% ($P<0.01$)、56% ($P<0.01$)、32% ($P<0.01$)、81% ($P<0.01$)。与硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组相比, 美托洛尔组进一步抑制衰老和内质网应激相关基因的表达。**[结论]** SHR 的动脉存在明显老化, β 受体阻断剂在抑制 SHR 血管老化方面优于钙通道阻断剂, 且高剂量 β 受体阻断剂改善血管老化程度优于联合用药, 其机制可能与抑制内质网应激有关。

[关键词] β 受体阻断剂; 自发性高血压大鼠; 血管老化; 内质网应激

[中图分类号] R544.1

[文献标识码] A

Effects of β -blockers on vascular aging in spontaneously hypertensive rats

XU Tiantian, LI Shuguo, XIANG Yun'e, SHAO Wen

Department of Geriatrics, Yichang Central People's Hospital, The First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University & Institute of Geriatrics, China Three Gorges University, Yichang, Hubei 443003, China

[ABSTRACT] **Aim** To explore the preventive effect and potential mechanism of β -blockers in vascular aging of spontaneously hypertensive rat (SHR). **Methods** 24 three-month-old male spontaneously hypertensive rats were randomly divided into placebo group, nifedipine group, nifedipine+metoprolol group and metoprolol group, treated with edible starch, 60 mg nifedipine sustained-release tablets, 40 mg nifedipine sustained-release tablets+75 mg metoprolol sustained-release tablets and 150 mg metoprolol sustained-release tablets, respectively. The rats fed with common diets for 9 months, and the blood pressure, heart rate and other general condition of the rats were dynamically measured. HE staining was used to observe the morphological characteristics of femoral aorta in rats. The vasomotor function of isolated femoral artery was tested by circumferential perfusion, immunofluorescence histological staining and real-time polymerase chain

[收稿日期] 2023-07-27

[修回日期] 2023-10-04

[基金项目] 湖北省自然科学基金项目(2013CFB390)

[作者简介] 许甜甜, 硕士, 医师, 主要从事老年心血管疾病的诊疗和研究, E-mail: 1928104706@qq.com。通信作者李书国, 博士, 主任医师, 主要从事老年心血管疾病的诊疗和研究, Email: 492390311@qq.com。

reaction (RT-PCR) were used to determine the expression of aging related genes p53 and p21, as well as endoplasmic reticulum stress related genes CHOP and XBP1. **Results** Compared with placebo group, systolic blood pressure decreased by about 30%, diastolic blood pressure decreased by about 20%, and heart rate decreased by 9%, 36% and 41% (all $P < 0.01$) in nifedipine group, nifedipine+metoprolol group and metoprolol group, respectively. Compared with placebo group, the systolic and diastolic functions of nifedipine group, nifedipine+metoprolol group and metoprolol group were significantly improved and the intima-media thickness decreased by 24%, 14% and 37% (all $P < 0.01$), respectively. Compared with nifedipine group and nifedipine+metoprolol group, the systolic and diastolic functions of metoprolol group were significantly improved and the intima-media thickness decreased by 18% and 27% (all $P < 0.01$), respectively. Compared with the placebo group, the expression levels of p53 protein, p53 mRNA, p21 protein, p21 mRNA, CHOP protein, CHOP mRNA, XBP1 protein and XBP1 mRNA in nifedipine group decreased by 35% ($P < 0.01$), 23% ($P < 0.05$), 25% ($P < 0.01$), 3% ($P > 0.05$), 51% ($P < 0.01$), 24% ($P > 0.05$), 21% ($P < 0.01$) and 23% ($P > 0.05$), the nifedipine+metoprolol group decreased by 36% ($P < 0.01$), 42% ($P < 0.01$), 4% ($P > 0.05$), 24% ($P < 0.05$), 32% ($P < 0.01$), 44% ($P < 0.05$), 13% ($P < 0.01$) and 42% ($P < 0.05$), the metoprolol group decreased by 47% ($P < 0.01$), 43% ($P < 0.01$), 42% ($P < 0.01$), 49% ($P < 0.01$), 78% ($P < 0.01$), 56% ($P < 0.01$), 32% ($P < 0.01$) and 81% ($P < 0.01$). Compared with nifedipine group and nifedipine+metoprolol group, metoprolol group further inhibited the expression of genes related to aging and endoplasmic reticulum stress. **Conclusions**

The arteries of spontaneously hypertensive rats show significant aging. β -blockers are better than calcium channel blockers in inhibiting vascular aging of spontaneously hypertensive rats, and at high doses β -blockers improve the degree of vascular aging better than combination therapy, and their mechanism may be related to the inhibition of endoplasmic reticulum stress.

[**KEY WORDS**] β -blocker; spontaneously hypertensive rats; vascular aging; endoplasmic reticulum stress

血管老化是指随着生物体年龄增长,血管逐渐丧失其原有机能,导致动脉硬化和血管重塑,表现为动脉中膜增厚、血管重塑、血管僵硬增加、钙盐沉积、血管顺应性下降、血管收缩和舒张功能降低^[1-2]。血管老化的致病机制可能与自噬、细胞衰老、线粒体障碍、DNA 损伤、端粒缩短、表观遗传学改变、氧化应激、衰老相关分泌表型以及内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)有关^[3-4]。在血管紧张素 II 诱导的高血压模型中,ERS 通过促凋亡和纤维化信号机制促进动脉硬化^[5]。高血压血管老化引起的一系列心脑血管事件致死致残率高,给医疗保健及社会经济带来沉重的负担,通过药物途径改善动脉老化程度仍然是血管老化领域有待深入探索的难题。因此,本研究拟以自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)为研究对象,通过药物干预靶向抑制血管衰老为临床上针对高血压合并血管老化的患者提供新的防治手段。

1 材料和方法

1.1 实验动物

3 月龄雄性 SHR 24 只,体质量 250 ~ 290 g,购

于北京维通利华实验动物技术有限公司,符合国家医学动物使用标准,动物许可证号为 SCXK(京)2016-0006。

1.2 主要试剂和仪器

p53、p21 单克隆抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司;CHOP、XBP1 单克隆抗体购自 Novus 公司;荧光标记羊抗兔 IgG、荧光标记羊抗小鼠 IgG 购自武汉博士德生物工程有限公司;大鼠无创血压计(MiniTR)购自安徽赛昂斯医疗科技有限公司。

1.3 实验动物分组、标本收集与处理

24 只 SHR 随机分为安慰剂组、硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组,每组 6 只,分别以食用淀粉、硝苯地平缓释片 60 mg、硝苯地平缓释片 40 mg+美托洛尔缓释片 75 mg、美托洛尔缓释片 150 mg 灌胃治疗。4 组大鼠均给予普通饲料喂养,待 12 月龄时,使用 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉,在无菌条件下剪开胸、腹腔,由上至下用玻璃分针小心分离周围组织,暴露出完整的主动脉,取股动脉条备检。

1.4 大鼠股动脉 HE 染色

将各组股动脉组织进行石蜡包埋切片,采用二甲苯和不同浓度梯度的乙醇脱蜡,苏木精染核,1% 盐酸乙醇分化,自来水漂洗,1% 水溶性伊红复染,再次自来水漂洗,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,切片风

干后用中性树胶封片,显微镜下观察,拍片。

1.5 RT-PCR 检测 p53、p21、CHOP 及 XBP1 mRNA 表达

采用 Trizol 法提取股动脉组织总 RNA,反转录得到 cDNA,构建合适的反应体系,反应条件:50 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s,4 ℃ 10 min;RT-PCR 检测:95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 60 s,95 ℃ 15 s,重复循环 40 次;60 ~ 95 ℃ 绘制熔解曲线。每个样本检测 3 次,反应结束后,所得结果以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 mRNA 的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1. RT-PCR 引物序列

Table 1. RT-PCR primer sequences

基因	引物序列
p53	上游 5'-GCCATCTACAAGAAGTCACAA-3'
	下游 5'-CAGGCACAAACACGAACC-3'
p21	上游 5'-CTGGTGGCGTAGGCAAGA-3'
	下游 5'-ATGGCAAATACACAAAGAAAGC-3'
CHOP	上游 5'-AAACCTTCACTACTCTTGACCCTG-3'
	下游 5'-GTGCCACTTTCTCTCATTTCTC-3'
XBP1	上游 5'-GCGGAGGAAACTGAAAAACA-3'
	下游 5'-GCCTTACTCCATTCCCCTTG-3'
GAPDH	上游 5'-ACAGCAACAGGGTGCTGGAC-3'
	下游 5'-TTTGAGGGTGCAGCGAACTT-3'

1.6 免疫荧光组织学染色检测 p53、p21、CHOP 及 XBP1 蛋白表达

将股动脉组织进行石蜡包埋,切片后进行脱蜡、抗原修复、血清封闭,加入一抗 p53 (1 : 100)、p21 (1 : 100)、CHOP (1 : 100)、XBP1 (1 : 100) 后于 4 ℃ 湿盒中孵育过夜,滴加荧光二抗 (1 : 100),湿盒中 37 ℃ 孵育 1 h,PBST 缓冲液冲洗,加入 DAPI 避光孵育 5 min,PBST 冲洗,封片,荧光镜检。

1.7 血压测定

每月用无创血压计测量大鼠尾动脉血压,仪器及配件检验合格。测量血压时将固定筒中的大鼠置于 34 ℃ 恒温仓中,套上脉压套和脉搏传感器,关闭恒温仓门,尾部充气后缓慢放气通过高敏脉搏换能器得出脉搏曲线,记录脉搏波从完全消失到出现时对应的压力。重复测量 3 次后计算平均值,即为最终的血压值。

1.8 股动脉环的制备及张力测定

游离大鼠股动脉,将其置于 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气预饱和的 4 ℃ K-H 液中,剔除周围结缔组织,

制备 4 段 2.0 ~ 3.0 mm 的血管环,将血管环置于盛有 20 mL 持续通入混合气体的 37 ℃ K-H 液的浴槽中,予以 0 g 张力平衡 30 min,缓慢予以 2 g 张力平衡 60 min,每隔 15 min 换液一次。依次予以 10⁻¹⁰ ~ 10⁻⁵ mmol/L 苯肾上腺素 (phenylephrine, PE) 刺激血管收缩,收缩率 = (加药后张力 - 加药前张力) / 加药前张力 × 100%,记录累积给药收缩反应曲线。用 K-H 液冲洗至基线水平,平衡 45 min 后用 10⁻⁵ mmol/L PE 刺激股动脉环,达到最大收缩幅度后予以 10⁻⁵ mmol/L 乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 刺激血管舒张,舒张率 = (加药前张力 - 加药后张力) / PE 收缩张力值 × 100%。

1.9 统计学分析

血压和心率等资料组间比较采用重复测量资料方差分析,时间维度组内两两比较采用配对 *t* 检验,其他定量资料组间比较采用 ANOVA,内膜中膜厚度及横截面积采用 Image J 软件测量,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,GraphPad Prism 6.0 软件作图。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠血压和心率比较

大鼠喂养 1 个月时,与安慰剂组相比,硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组收缩压 (systolic blood pressure, SBP)、舒张压 (diastolic blood pressure, DBP) 分别下降约 30%、20% (*P* < 0.01),但美托洛尔组与硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。与安慰剂组相比,硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组心率 (heart rate, HR) 分别下降了 9%、36%、41% (均 *P* < 0.01);与硝苯地平组相比,美托洛尔组心率下降了 35% (*P* < 0.001);与硝苯地平+美托洛尔组相比,美托洛尔组心率下降了 8% (*P* < 0.05; 图 1)。

2.2 组织病理形态学观察

安慰剂组管腔狭窄,部分内皮细胞脱落,内、中膜层不均匀增厚,细胞外基质增多,血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 排列紊乱,弹力板断裂,可见部分 VSMC 向内膜层迁移;与安慰剂组相比,硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组血管内皮细胞排列整齐,VSMC 减少,基质未见明显增生,内、中膜层轻度增厚 (图 2)。

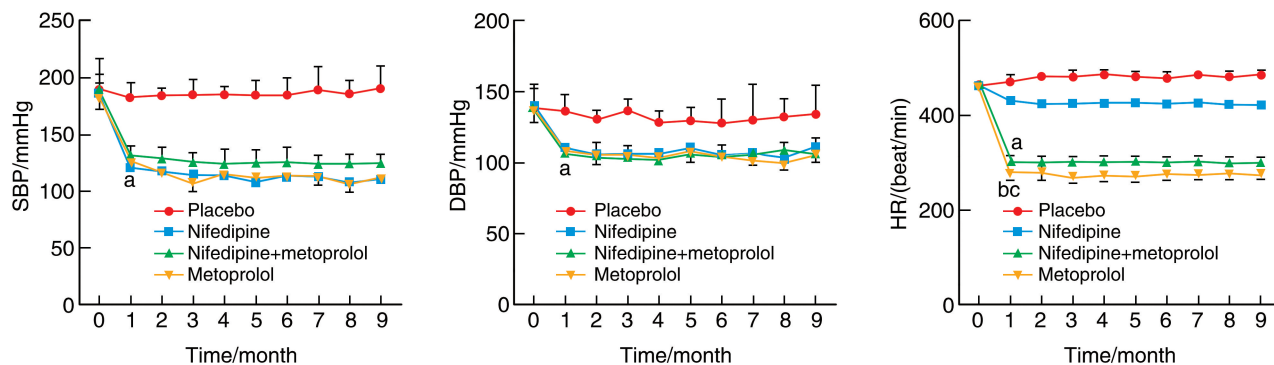


图 1. 各组大鼠收缩压、舒张压及心率比较

a 为 $P < 0.01$, 与安慰剂组比较; b 为 $P < 0.01$, 与硝苯地平组比较; c 为 $P < 0.05$, 与硝苯地平+美托洛尔组比较。

Figure 1. Comparison of systolic blood pressure, diastolic blood pressure and heart rate of rats in each group

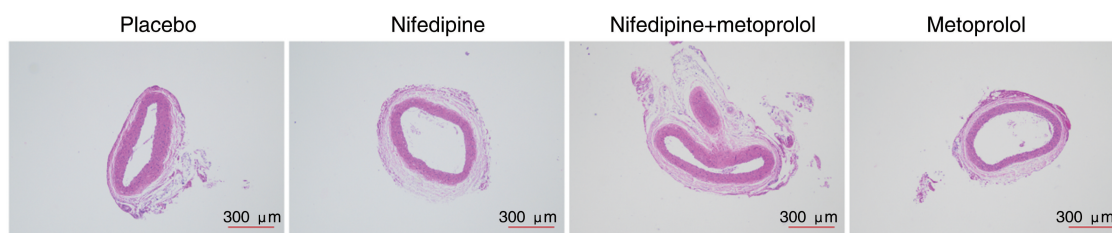


图 2. 各组大鼠股动脉 HE 染色

Figure 2. HE staining of rat femoral arteries in each group

2.3 大鼠股动脉内膜中膜厚度及横截面积比较

与安慰剂组相比,硝苯地平组股动脉内膜中膜厚度及横截面积下降了 24%、16% (均 $P < 0.01$),硝苯地平+美托洛尔组下降了 14%、12% (均 $P < 0.01$),美托洛尔组下降了 37%、25% (均 $P < 0.01$);与硝苯地平组相比,美托洛尔组股动脉中内膜中膜厚度及横截面积下降了 18%、10% ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);与硝苯地平+美托洛尔组相比,美托洛尔组股动脉中内膜中膜厚度及横截面积下降了 27%、15% ($P < 0.01$; 图 3)。

2.4 大鼠股动脉环张力比较

低浓度的 PE 对各组血管收缩功能的影响无统计学差异,随着 PE 浓度的增加,与安慰剂组相比,硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组收缩率明显改善 ($P < 0.01$);与硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组相比,美托洛尔组收缩率显著改善 ($P < 0.01$; 图 4)。 10^{-5} mmol/L ACh 刺激血管后,与安慰剂组相比,硝苯地平组舒张率增加了 46%,硝苯地平+美托洛尔组舒张率增加了 81%,美托洛尔组舒张率增加了 84% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与硝苯地平组相比,美托洛尔组舒张率增加了 71% ($P < 0.01$);与硝苯地平+美托洛尔组相比,美托洛尔组舒张率明显增加了 18% ($P < 0.01$; 图 5)。

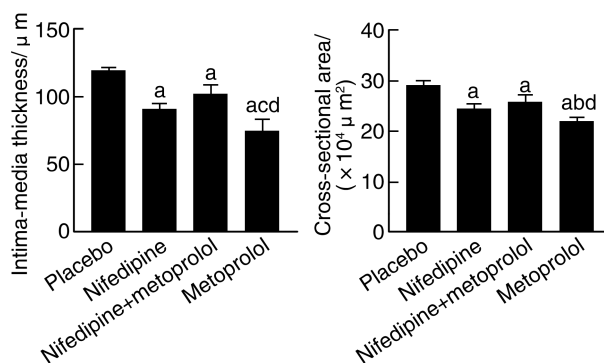


图 3. 定量分析内膜中膜厚度及横截面积

a 为 $P < 0.01$, 与安慰剂组比较; b 为 $P < 0.05$, c 为 $P < 0.01$, 与硝苯地平组比较; d 为 $P < 0.01$, 与硝苯地平+美托洛尔组比较。

Figure 3. Quantitative analysis of intima-media thickness and cross-sectional area

2.5 大鼠股动脉 p53、p21 蛋白表达

与安慰剂组相比,硝苯地平组股动脉 p53、p21 蛋白的表达水平下降了 35%、25% (均 $P < 0.01$),硝苯地平+美托洛尔组股动脉 p53、p21 蛋白的表达水平下降了 36% ($P < 0.01$)、4% ($P > 0.05$),美托洛尔组股动脉 p53、p21 蛋白的表达水平下降了 47%、42% (均 $P < 0.01$);与硝苯地平组相比,美托洛尔组股动脉 p53、p21 蛋白的表达水平下降了 18%、23% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与硝苯地平+美托洛尔组相

比,美托洛尔组股动脉 p53、p21 蛋白的表达水平下降了 17%、40% (均 $P<0.01$;图 6)。

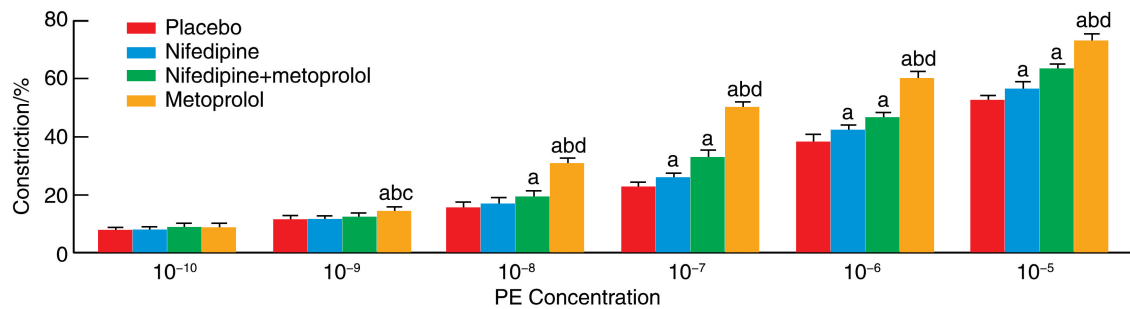


图 4. 各组大鼠股动脉收缩率

a 为 $P<0.01$,与安慰剂组比较;b 为 $P<0.01$,与硝苯地平组比较;c 为 $P<0.05$,d 为 $P<0.01$,与硝苯地平+美托洛尔组比较。

Figure 4. Contraction rate of femoral artery in each group

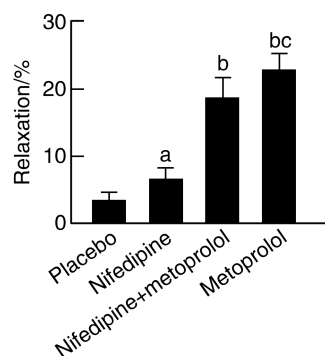


图 5. 各组大鼠股动脉舒张率

a 为 $P<0.05$,b 为 $P<0.01$,与安慰剂组比较;c 为 $P<0.01$,与硝苯地平组或硝苯地平+美托洛尔组比较。

Figure 5. Relaxation rate of femoral artery in each group

2.6 大鼠股动脉 CHOP、XBP1 蛋白表达

与安慰剂组相比,硝苯地平组股动脉 CHOP、XBP1 蛋白的表达水平下降了 51%、21% (均 $P<0.01$),硝苯地平+美托洛尔组股动脉 CHOP、XBP1 蛋白的表达水平下降了 32%、13% (均 $P<0.01$),美托洛尔组股动脉中 CHOP、XBP1 蛋白的表达水平下降了 78%、32% (均 $P<0.01$);与硝苯地平组相比,美托洛尔组股动脉 CHOP、XBP1 蛋白的表达水平下降了 56%、14% (均 $P<0.01$);与硝苯地平+美托洛尔组相比,美托洛尔组股动脉 CHOP、XBP1 蛋白的表达水平下降了 68%、21% (均 $P<0.01$;图 7)。

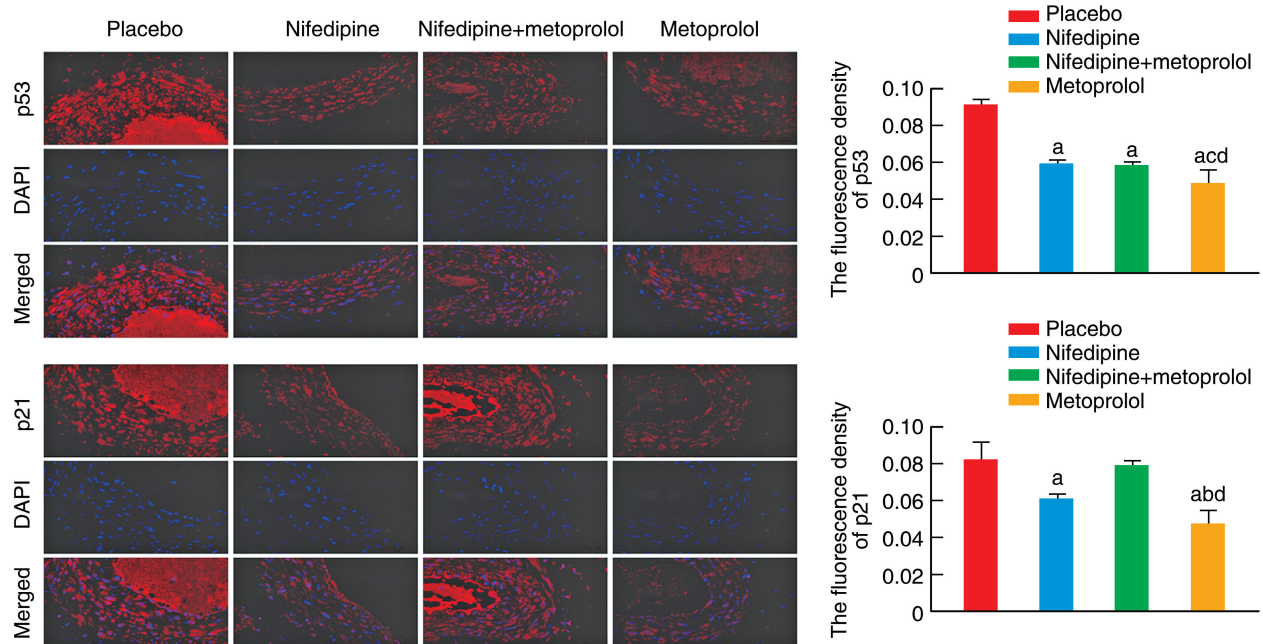


图 6. 各组大鼠股动脉 p53、p21 的免疫荧光检测及定量分析 (40×)

a 为 $P<0.01$,与安慰剂组比较;b 为 $P<0.05$,c 为 $P<0.01$,与硝苯地平组比较;d 为 $P<0.01$,与硝苯地平+美托洛尔组比较。

Figure 6. Immunofluorescence detection and quantitative analysis of p53 and p21 in femoral artery of rats in each group (40×)

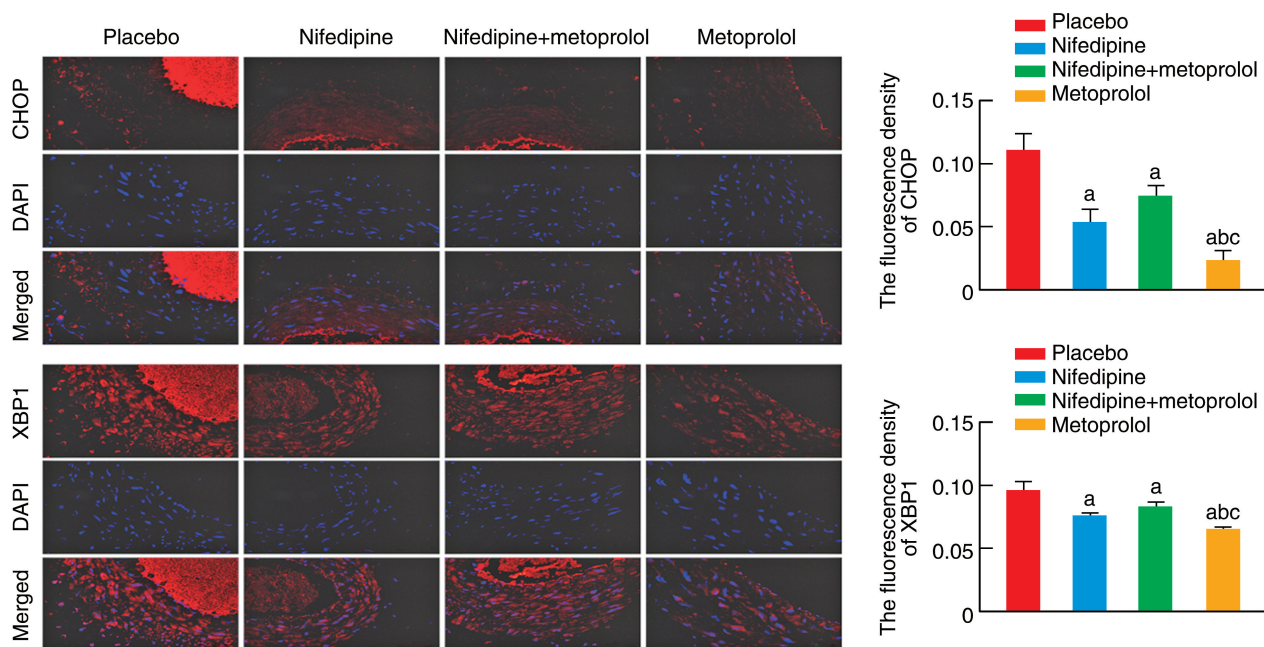


图7. 各组大鼠股动脉 CHOP、XBP1 的免疫荧光检测及定量分析(40×)

a 为 $P < 0.01$, 与安慰剂组比较; b 为 $P < 0.01$, 与硝苯地平组比较; c 为 $P < 0.01$, 与硝苯地平+美托洛尔组比较。

Figure 7. Immunofluorescence detection and quantitative analysis of CHOP and XBP1 in femoral artery of rats in each group(40×)

2.7 大鼠股动脉 p53、p21 mRNA 表达

与安慰剂组相比,硝苯地平组股动脉 p53、p21 mRNA 的表达水平下降了 23% ($P < 0.05$)、3% ($P > 0.05$),硝苯地平+美托洛尔组股动脉 p53、p21 mRNA 的表达水平下降了 42% ($P < 0.01$)、24% ($P < 0.05$),美托洛尔组股动脉 p53、p21 mRNA 的表达水平下降了 43%、49% (均 $P < 0.01$);与硝苯地平组相比,美托洛尔组股动脉 p53、p21 mRNA 的表达水平下降了 26% ($P < 0.05$)、48% ($P < 0.01$);与硝苯地平+美托洛尔组相比,美托洛尔组股动脉 p53、p21 mRNA 的表达水平下降了 1% ($P > 0.05$)、33% ($P < 0.05$;图 8)。

2.8 大鼠股动脉 CHOP、XBP1 mRNA 表达

与安慰剂组相比,硝苯地平组股动脉 CHOP、XBP1 mRNA 的表达水平下降了 24% ($P > 0.05$)、23% ($P > 0.05$),硝苯地平+美托洛尔组股动脉 CHOP、XBP1 mRNA 的表达水平下降了 44%、42% (均 $P < 0.05$),美托洛尔组股动脉 CHOP、XBP1 mRNA 的表达水平下降了 56%、81% (均 $P < 0.01$);与硝苯地平组相比,美托洛尔组股动脉 CHOP、XBP1 mRNA 的表达水平下降了 42% ($P < 0.05$)、75% ($P < 0.01$);与硝苯地平+美托洛尔组相比,美托洛尔组股动脉 CHOP、XBP1 mRNA 的表达水平下降了 21% ($P > 0.05$)、67% ($P < 0.05$;图 8)。

3 讨论

高血压是中国心血管疾病死亡的最重要原因之一。在 35 ~ 79 岁高血压未控制的人群中,大约有 1/3 死于心血管疾病^[6]。一项前瞻性队列研究表明,血管老化增加不良临床事件风险,而同时合并有高血压和血管老化的患者发生卒中、非致死性心肌梗死、全因死亡的风险更高^[7]。血管老化是组织随着生物体年龄增长而发生的退行性变化,包括硬度增加、血管壁重塑、血管生成能力丧失和内皮依赖性血管舒张功能障碍^[8]。血管年龄是心脏、大脑和肾脏末端器官损害的一个新兴健康指标,也是高血压患者发生心血管事件和全因死亡的一个公认的有价值的独立预测指标^[9-10]。多项临床指南及共识均推荐 β 受体阻滞剂作为一线药物治疗老年慢性心力衰竭^[11]、高血压^[12]、高血压合并冠心病^[13]、ST 段抬高型心肌梗死^[14]、急性冠状动脉综合征^[15] 等心血管疾病。既往的研究大多基于循证医学证据证明 β 受体阻滞剂显著改善心血管疾病患者预后,忽视了对血管老化等方面的影响。

本研究从动脉的病理变化、内膜中膜厚度、衰老基因表达、血管功能等多方面验证血管老化的发生。结果发现 12 月龄 SHR 血管老化程度明显,内膜中膜增厚、横截面积增大,血管内皮细胞损伤,舒

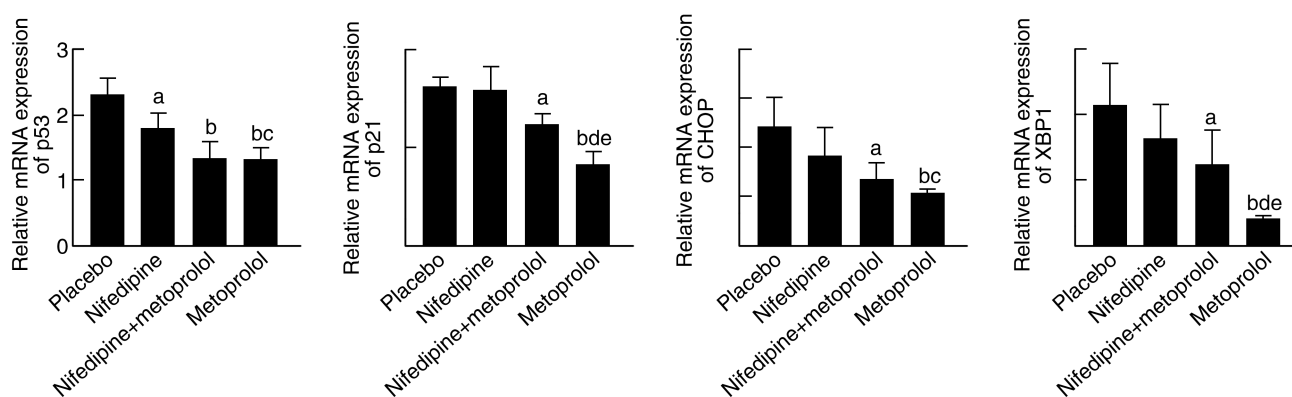


图 8. 各组大鼠股动脉壁 p53、p21、CHOP、XBP1 mRNA 的表达

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与安慰剂组比较; c 为 $P<0.05$, d 为 $P<0.01$, 与硝苯地平组比较; e 为 $P<0.05$, 与硝苯地平+美托洛尔组比较。

Figure 8. Relative mRNA expression of p53, p21, CHOP and XBP1 in femoral artery of rats in each group

缩功能下降,衰老相关标志物 p53、p21 表达水平显著增加。SHR 血管重塑改变明显,一方面,高血压通过诱导血管胶原合成、弹性蛋白断裂、细胞外基质重分布等一系列变化,最终导致血管厚度增加和动脉硬化的发生^[16];另一方面,VSMC 受循环压力增加的影响,导致血管紧张素 II 和转化生长因子 β 局部产生增多,细胞外基质的合成速率增加,从而引起血管壁增厚^[17]。此外,长期高血压慢性刺激引起血管细胞外基质成分改变, I 型胶原、III 型胶原以及纤维连接蛋白合成增多,弹性蛋白含量减少,导致血管顺应性降低,动脉僵硬以及血管纤维化的发生^[18]。SHR 血管老化的致病机制复杂,可能与自噬、细胞衰老、线粒体障碍、DNA 损伤、端粒缩短、ERS、表观遗传学改变、氧化应激、衰老相关分泌表型、慢性炎症以及外泌体 microRNA 等有关^[3-4,19]。探索靶向干预药物减轻血管老化是老年心血管领域亟待解决的关键难点。

本研究中,分组浓度设置基于体内降压治疗剂量,硝苯地平组、硝苯地平+美托洛尔组、美托洛尔组血压降至同一水平的情况下评估其血管老化程度的差异,结果发现 β 受体阻滞剂在防治 SHR 血管老化的过程中发挥重要作用。本研究还发现,与钙通道阻滞剂硝苯地平相比, β 受体阻滞剂美托洛尔在降压的同时可以防止内膜中膜增厚,显著抑制血管重塑,改善血管舒缩功能,降低 p53、p21 等衰老相关标志物的表达水平,抑制血管老化。美托洛尔通过抑制交感神经兴奋,减少儿茶酚胺释放,降低外周阻力及炎症介质表达,降低血管剪切力,抑制血管重塑,从而达到良好的抗血管老化的效果。内膜中膜厚度不仅是有效的评估血管老化的指标,而且是心血管事件的不良预测因子。Chen 等^[20]的研究

证明美托洛尔治疗可明显抑制颈动血管内膜中膜厚度,本研究结果与其基本一致。Ke 等^[21]的研究也表明在 L-NAME 诱导的高血压模型中,美托洛尔可显著降低中膜/管腔比值,减少心脏血管周围纤维化。一氧化氮(nitric oxide, NO)是由内皮细胞合成的最强大的血管扩张剂,有助于维持血管张力。美托洛尔能恢复 ACh 对内皮依赖性血管舒张反应的损害,这可能是由于增加了 NO 的生物利用率。Funovic 等^[22]研究结果显示美托洛尔可逆转高龄大鼠 eNOS 解偶联,增加 NO 的产生速率和浓度,并增加 NO/ONOO⁻ 的总比率,保护衰老过程中功能失调的内皮细胞。多项研究已经证实美托洛尔可以显著降低炎症介质 IL-6 的表达,增加 eNOS 磷酸化水平,改善血管内皮功能^[23-24]。本研究同时检测了 CHOP、XBP1 蛋白和 mRNA 的表达水平,结果显示,与安慰剂组相比,美托洛尔可显著下调 CHOP、XBP1 的表达水平;与硝苯地平组相比,美托洛尔能进一步抑制 CHOP、XBP1 的表达水平,说明 β 受体阻滞剂美托洛尔抑制血管老化可能与 ERS 有关。内质网是机体参与蛋白质产生、折叠和组装的重要场所,与细胞内稳态的维持以及健康和疾病之间的微妙平衡有着不可分割的联系^[25]。机体在慢性炎症、氧化应激、NO 生物利用率降低、血管舒缩因子失衡等众多因素刺激时,容易诱导 ERS 的发生。越来越多的证据表明慢性 ERS 激活导致细胞功能障碍和死亡,最终影响血管功能^[26]。Carlisle 等^[27]的研究进一步证明 ERS 抑制剂通过下调 GRP78、CHOP 等 ERS 标志物显著改善 SHR 阻力血管收缩和舒张功能,从而降低血压。

综上所述,SHR 动脉存在明显老化, β 受体阻滞剂在抑制 SHR 血管老化方面优于钙通道阻断剂,

且高剂量 β 受体阻断剂改善血管老化程度优于联合用药,其机制可能与 ERS 有关。未来对于 β 受体阻滞剂与血管老化相关信号通路方面的联系有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] IZZO C, CARRIZZO A, ALFANO A, et al. The impact of aging on cardio and cerebrovascular diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 481.
- [2] 刘菊菊, 李书国, 邓娟娟, 等. 人参皂甙 Rg3 对高龄大鼠血管结构与功能的影响[J]. *临床心血管病杂志*, 2016, 32(11): 1154-1158.
LIU J J, LI S G, DENG J J, et al. Effects of ginsenoside Rg3 on the morphology and vasomotor function of arteries in aged rats[J]. *J Clin Cardiol*, 2016, 32(11): 1154-1158.
- [3] TIAN X L, LI Y. Endothelial cell senescence and age-related vascular diseases[J]. *J Genet Genomics*, 2014, 41(9): 485-495.
- [4] UNGVARI Z, TARANTINI S, SOROND F, et al. Mechanisms of vascular aging, a geroscience perspective: JACC focus seminar[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(8): 931-941.
- [5] SPITLER K M, WEBB R C. Endoplasmic reticulum stress contributes to aortic stiffening via proapoptotic and fibrotic signaling mechanisms[J]. *Hypertension*, 2014, 63(3): e40-e45.
- [6] LEWINGTON S, LACEY B, CLARKE R, et al. The burden of hypertension and associated risk for cardiovascular mortality in China[J]. *JAMA Intern Med*, 2016, 176(4): 524-532.
- [7] ZHOU Z, XING A J, ZHANG J N, et al. Hypertension, arterial stiffness, and clinical outcomes: a cohort study of Chinese community-based population[J]. *Hypertension*, 2021, 78(2): 333-341.
- [8] LI A, YAN J, ZHAO Y, et al. Vascular aging: assessment and intervention[J]. *Clin Interv Aging*, 2023, 18: 1373-1395.
- [9] CHI C, LI D, JIANG Y, et al. Vascular smooth muscle cell senescence and age-related diseases: state of the art[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(7): 1810-1821.
- [10] UPADHYA B, PAJEWSKI N M, ROCCO M V, et al. Effect of intensive blood pressure control on aortic stiffness in the SPRINT-HEART[J]. *Hypertension*, 2021, 77(5): 1571-1580.
- [11] 中华医学会老年医学分会心血管疾病学组, 老年慢性心力衰竭诊治中国专家共识编写组. 老年人慢性心力衰竭诊治中国专家共识(2021)[J]. *中华老年医学杂志*, 2021, 40(5): 550-561.
The Cardiovascular Disease Group of the Geriatrics Branch of the Chinese Medical Association, and the Chinese Expert Consensus Writing Group for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure in the Elderly. Chinese expert consensus on the diagnosis and treatment of chronic heart failure in the elderly (2021)[J]. *Chin J Geriatr*, 2021, 40(5): 550-561.
- [12] 《中国高血压防治指南》修订委员会. 中国高血压防治指南 2018 年修订版[J]. *心脑血管病防治*, 2019, 19(1): 1-44.
Revision Committee of Chinese Guidelines for the Prevention and Treatment of Hypertension. The revised 2018 edition of Chinese guidelines for the prevention and treatment of hypertension[J]. *Prevent Treat Cardio-Cerebral Vasc Dis*, 2019, 19(1): 1-44.
- [13] 中国医疗保健国际交流促进会心血管病学分会. 高血压合并冠心病患者血压管理中国专家共识[J]. *中华医学杂志*, 2022, 102(10): 717-728.
Cardiovascular Disease Branch of China Association for International Exchange and Promotion of Healthcare. Chinese expert consensus on blood pressure management in patients with hypertension and coronary heart disease[J]. *Natl Med J China*, 2022, 102(10): 717-728.
- [14] 中华医学会, 中华医学会临床药学会, 中华医学会杂志社, 等. ST 段抬高型心肌梗死基层合理用药指南[J]. *中华全科医师杂志*, 2021, 20(4): 397-409.
Chinese Medical Association, Chinese Society of Clinical Pharmacy, Chinese Medical Journals Publishing House, et al. Guideline for rational medication of ST-segment elevation myocardial infarction in primary care[J]. *Chin J Gen Pract*, 2021, 20(4): 397-409.
- [15] 中华医学会, 中华医学会临床药学会, 中华医学会杂志社, 等. 非 ST 段抬高型急性冠状动脉综合征基层合理用药指南[J]. *中华全科医师杂志*, 2021, 20(4): 410-422.
Chinese Medical Association, Chinese Society of Clinical Pharmacy, Chinese Medical Journals Publishing House, et al. Guideline for rational medication of non-ST-segment elevation acute coronary syndrome in primary care[J]. *Chin J Gen Pract*, 2021, 20(4): 410-422.
- [16] LATTANZI S, BRIGO F, SILVESTRI M. Hypertension and arterial stiffness[J]. *J Clin Hypertens*, 2019, 21(10): 1481-1483.
- [17] HUMPHREY J D. Mechanisms of vascular remodeling in hypertension[J]. *Am J Hypertens*, 2021, 34(5): 432-441.
- [18] INTENGAN H D, SCHIFFRIN E L. Structure and mechanical properties of resistance arteries in hypertension: role of adhesion molecules and extracellular matrix determinants[J]. *Hypertension*, 2000, 36(3): 312-318.
- [19] 倪宇晴, 刘幼硕. 外泌体 microRNA 在血管老化及其相关性疾病中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(2): 163-168.
NI Y Q, LIU Y S. The role of exosomal microRNA in vascular aging and related diseases[J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(2): 163-168.
- [20] CHEN Q, FAN L, XU Y. Efficacy of metoprolol plus atorvastatin for carotid atherosclerosis and its influence on carotid intima-media thickness and homocysteine level[J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(8): 5511-5519.
- [21] KE F, KUANG W, HU X, et al. A novel vaccine targeting betal-adrenergic receptor[J]. *Hypertens Res*, 2023, 46(6): 1582-1595.
- [22] FUNOVIC P, KORDA M, KUBANT R, et al. Effect of β -blockers on endothelial function during biological aging: a nanotechnological approach[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2008, 51(2): 208-215.
- [23] YAN L, DONG Y F, QING T L, et al. Metoprolol rescues endothelial progenitor cell dysfunction in diabetes[J]. *Peer J*, 2020, 8: e9306.
- [24] BINDER N K, MACDONALD T M, BEARD S A, et al. Pre-clinical investigation of cardioprotective beta-blockers as a therapeutic strategy for preeclampsia[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(15): 3384.
- [25] ALMANZA A, CARLESSO A, CHINTHA C, et al. Endoplasmic reticulum stress signalling—from basic mechanisms to clinical applications[J]. *FEBS J*, 2019, 286(2): 241-278.
- [26] LUCHETTI F, CRINELLI R, CESARINI E, et al. Endothelial cells, endoplasmic reticulum stress and oxysterols[J]. *Redox Biol*, 2017, 13: 581-587.
- [27] CARLISLE R E, WERNER K E, YUM V, et al. Endoplasmic reticulum stress inhibition reduces hypertension through the preservation of resistance blood vessel structure and function[J]. *J Hypertens*, 2016, 34(8): 1556-1569.

(此文编辑 文玉珊)