

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.15.014

清肝滋肾中药对高脂喂养自发性高血压大鼠血清炎症因子的影响

张箫箫¹, 殷晓威¹, 严羽¹, 蒋卫民^{2*}

(1. 南京中医药大学, 江苏省南京市仙林大道 138 号, 210023; 2. 江苏省中医院)

摘要 目的 探讨清肝滋肾中药治疗原发性高血压病合并代谢紊乱的可能作用机制。方法 18 只自发性高血压大鼠随机分为正常组、模型组和中药组, 每组 6 只。正常组在普通饲料喂养基础上予 0.5% 纤维素钠安慰剂 1 ml 灌胃, 模型组在高脂饲料喂养基础上予 0.5% 纤维素钠安慰剂 1 ml 灌胃, 中药组在高脂饲料喂养基础上给予清肝滋肾中药 22.5 g/(kg·d) 混悬液灌胃, 各组均灌胃 8 周。灌胃 4 周及 8 周时, 测定血清中血管紧张素 II (Ang II)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6 (IL-6)、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1)、人纤溶酶原激活物抑制 1 (PAI-1) 水平。结果 高脂喂养后即 8 周时模型组大鼠血清 Ang II、TNF- α 、IL-6、PAI-1 水平较正常组均显著升高。而给予清肝滋肾中药干预后, 与模型组比较, 中药组大鼠血清 Ang II、TNF- α 、IL-6、PAI-1 水平显著降低, 其中 IL-6 与正常组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), TNF- α 显著低于正常组, PAI-1 显著高于正常组 ($P < 0.05$)。结论 清肝滋肾中药可以抑制高脂喂养自发性高血压大鼠炎症因子的表达, 可能是其治疗高血压病合并代谢紊乱作用机制之一。

关键词 原发性高血压病; 清肝滋肾中药; 代谢紊乱; 炎症因子

近年研究发现, 原发性高血压病 (essential hypertension, EH) 和炎症反应间存在不可忽视的相关性, 它们互为因果, 相互影响, 形成恶性循环^[1]。高血压病通过异常增高的动脉压力损伤血管内皮, 激活炎症因子的表达, 促进了炎症反应的发生^[2], 因此, 控制炎症反应成为治疗原发性高血压病的一个重要方面。而高脂饮食易造成原发性高血压合并代谢紊乱, 炎症反应的激活更是造成高血压病合并代谢紊乱的重要因素^[3]。清肝滋肾中药由鬼针草、鬼箭羽、女贞子、山萸肉等组成, 有清肝泄热、滋养肝肾的作用, 前期研究证实, 其可以改善高血压病合并代谢紊乱的临床症状^[4]。本实验通过观察清肝滋肾中药对高脂喂养自发性高血压大鼠炎症因子的调控作用, 探讨其改善高血压病合并代谢紊乱的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 4 周龄自发性高血压 (SHR) 大鼠 18 只, 体重 (102.50 $\pm$ 5.54) g, 由北京维通利华

实验动物技术有限公司提供, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2012-0001。于南京中医药大学 SPF 级动物房中饲养, 温度 23 ~ 27℃, 湿度 55%, 光照 12/24 h。

1.2 实验药物

清肝滋肾中药颗粒由鬼针草 10 g、鬼箭羽 30 g、女贞子 10 g、山萸肉 10 g、玄参 10 g、黄连 3 g 等组成, 由江苏省中医院药剂科提供, 批号: 20160615。0.5% 纤维素钠溶液, 山东东达纤维素有限公司, 批号 1204136。

1.3 主要试剂及仪器

血管紧张素 II (Ang II, 批号 SEB659)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α , 批号 KGE105)、白细胞介素 6 (IL-6, KGE441)、单核细胞趋化因子 1 (MCP-1, 批号 KGE801)、人纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAI-1, 批号 KGE1123) 试剂盒均购于江苏凯基生物发展有限公司。EL- α 800 酶标仪 (美国 BioTek 公司); THZ-312 台式恒温振荡器 (上海精宏实验设备有限公司); 5024R 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); 涡旋振荡器 XW-80A (中国海门其林贝尔仪器制造有限公司)。

基金项目: 国家自然科学基金 (81373605)

* 通讯作者: jwm0410@163.com

1.4 动物分组及给药

18 只大鼠给予普通饲料适应性喂养 1 周后,按随机数表法分为正常组、模型组、中药组,每组 6 只。实验期间正常组给予普通饲料喂养,模型组及中药组用高脂饲料(含有 60% 4 卡脂肪,由南京普克泰生物技术中心提供)喂养,喂养 4 周后开始灌胃。正常组和模型组予 0.5% 纤维素钠 1 ml 灌胃,中药组给予清肝滋肾中药颗粒(10 倍人体给药剂量) 22.5 g/(kg·d) 混悬液灌胃,各组均灌胃 8 周,每天 1 次,期间每周称重 1 次,根据体重调整药量。

1.5 观察指标及方法

灌胃 4 周后,每组抽签法随机抽取 4 只大鼠,剩余大鼠于灌胃 8 周时,禁食 12 h 后眼眶取血,静置 2 h, 3000 r/min 离心 20 min 后分离血清,取上清液于 -80℃ 冰箱备用。测定 Ang II、TNF-α、IL-6、MCP-1、PAI-1,按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 进行统计学分析,所有数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析,两两比较方差齐者用 LSD 检验,方差不齐者用 Dunnett's *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

表 1 示,各组灌胃 8 周时 MCP-1、TNF-α、PAI-1、IL-6 水平及中药组灌胃 8 周 Ang II 水平均明显高于本组灌胃 4 周时 ($P < 0.05$)。灌胃 4 周时,各组 MCP-1 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);模型组、中药组 TNF-α 水平明显高于正常组,且模型组明显高于中药组 ($P < 0.05$);模型组 Ang II、IL-6、PAI-1 水平明显高于正常组和中药组,中药组 IL-6 水平明显高于正常组 ($P < 0.05$)。灌胃 8 周时,模型组和中药组 MCP-1 水平均明显低于正常组 ($P < 0.05$);模型组 TNF-α 水

平高于正常组,中药组 TNF-α 水平低于正常组和模型组 ($P < 0.05$);模型组和中药组 Ang II 水平均明显高于正常组,且模型组 Ang II 水平高于中药组 ($P < 0.05$);模型组 IL-6、PAI-1 水平高于正常组和中药组,但中药组 PAI-1 水平明显高于正常组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

清肝滋肾中药是江苏省中医院名老中医唐蜀华教授的经验方,以鬼针草、鬼箭羽为君药,具有清热解毒的作用^[8],均入肝经,黄连清热解毒兼泻心火,配山萸肉、女贞子、玄参滋阴降火、养阴益肾,全方共奏清肝滋肾之功,泄邪不伤正,滋补不伤中。

研究表明,高血压病合并代谢紊乱时,胰岛素抵抗通过增加交感神经兴奋性,促进水钠潴留,刺激血管平滑肌增生,损伤血管内皮,激活炎症反应^[6-7]。而炎症因子表达水平的增高,使得高血压病合并代谢紊乱进一步加重,研究表明,炎症反应参与了代谢紊乱的发生发展,并在介导胰岛素抵抗和糖脂代谢中起重要作用^[8]。研究发现,Ang II 可刺激血管平滑肌细胞产生 IL-6、MCP-1 等,与血管炎症有直接相关,并能够扩大炎症反应,使得血管平滑肌增生,血管壁增厚^[9]。TNF-α 通过直接的细胞毒性作用,损伤血管内皮,促进白细胞介素 1 的分泌,使得血管壁增厚,管腔狭窄,外周阻力增加,促进 EH 的发展^[9]。PAI-1 在 EH 的发展中,能抑制溶解纤维蛋白,增加血栓形成的风险^[10],从而使得心血管风险升高。由于自发性高血压会促进炎症反应,因此,空白组大鼠灌胃 8 周时较 4 周时 MCP-1、TNF-α、IL-6、PAI-1 升高。

本研究结果显示,高脂饲料喂养后模型组血清 Ang II、IL-6、TNF-α、PAI-1 水平均显著增高,与文献^[11]报导报道一致,而通过清肝滋肾中药干预之后,与模型组相比,中药组 Ang II、IL-6、TNF-α、

表 1 各组大鼠不同时间血清炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	MCP-1 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	AngII (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	PAI-1 (ng/ml)
正常组	灌胃 4 周	4	1916.56 ± 206.46	11.82 ± 2.42	11.77 ± 3.31	21.86 ± 8.16	1.13 ± 0.25
	灌胃 8 周	6	6585.28 ± 440.26*	293.14 ± 34.38*	12.57 ± 0.53	363.35 ± 1.30*	3.73 ± 0.37*
模型组	灌胃 4 周	4	1741.16 ± 154.74	106.30 ± 8.10 [△]	52.61 ± 9.98 [△]	133.86 ± 18.31 [△]	2.88 ± 0.68 [△]
	灌胃 8 周	6	5375.75 ± 273.42* [△]	412.23 ± 37.38* [△]	36.28 ± 7.70 [△]	665.33 ± 2.00* [△]	7.55 ± 0.72* [△]
中药组	灌胃 4 周	4	1846.78 ± 135.97	72.22 ± 8.09 ^{△▲}	10.83 ± 5.11 [▲]	56.93 ± 14.43 ^{△▲}	1.60 ± 0.32 [▲]
	灌胃 8 周	6	5505.18 ± 627.55* [△]	232.28 ± 47.78* ^{△▲}	24.70 ± 1.76* ^{△▲}	252.20 ± 1.31* [▲]	5.61 ± 1.10* ^{△▲}

注: MCP-1, 单核细胞趋化蛋白 1; TNF-α, 肿瘤坏死因子 α; Ang II, 血管紧张素 II; IL-6, 白细胞介素 6; PAI-1, 人纤溶酶原激活物抑制 1; 与本组灌胃 4 周比较, * $P < 0.05$; 与正常组同时间比较, [△] $P < 0.05$; 与模型组同时间比较, [▲] $P < 0.05$

PAI-1 水平显著降低, 其中 IL-6 与正常组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), TNF- α 显著低于正常组, PAI-1 显著高于正常组 ($P < 0.05$), 提示高脂喂养的 SHR 大鼠更易形成脂质代谢紊乱, 而清肝滋肾中药能够降低高脂喂养原发性高血压大鼠血清炎症因子水平, 调节代谢紊乱, 从而抑制血压升高。既往研究显示, 高血压病合并代谢紊乱患者 MCP-1 水平应高于单纯高血压病患者^[12], 而本研究中模型组 MCP-1 水平却低于正常组, 可能与因血清量少导致检测误差、样本量小、血清样本反复冻融等原因相关, 将会在以后的研究中进一步明确。

参考文献

- [1] 李婕, 方祝元, 蒋卫民. 炎症因子与原发性高血压的关系及中药干预研究进展 [J]. 江苏中医药, 2012, 45(2): 76-77.
- [2] 周兆鹏, 许祖健, 戴小华托. 原发性高血压与炎症因子相关性及其中医药干预研究 [J]. 中医药临床杂志, 2015, 27(3): 207-309.
- [3] 王晓珂. 炎症反应与高脂饮食诱导的肥胖和胰岛素抵抗关系的研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2011: 118-123.
- [4] 唐蜀华, 蒋卫民, 陈晓虎, 等. 针箭颗粒改善高血压病胰岛素抵抗的临床研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(7): 511-514.
- [5] 蒋卫民, 唐蜀华, 汪云翔, 等. 针箭颗粒对高血压患者胰岛素抵抗热证候及炎症因子的影响 [J]. 中国中医急诊, 2010, 19(12): 2011-2012.
- [6] 赵丽, 张翥. Ang II 介导的高血压炎症反应机制 [J]. 高血压杂志, 2005, 13(9): 533-535.
- [7] 李翠芳. 缬沙坦联合二甲双胍对高血压合并代谢综合征患者血清炎症因子与糖脂代谢的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(17): 1843-1845.
- [8] 陈康. 血管紧张素 II 受体拮抗剂对脂肪组织和脂肪细胞糖代谢及炎症因子的影响 [D]. 北京: 军医进修学院, 2009: 29-31.
- [9] 李晓霞, 韩阳. 炎症细胞因子与高血压 [J]. 高血压杂志, 2006, 14(6): 426-428.
- [10] 童国相, 刘慧霞. 脂肪因子在代谢综合征中的新进展 [J]. 中国医师杂志, 2014, 16(4): 562-565.
- [11] 王艳莉, 翟成凯, 陈哈, 等. 高脂饲料喂养大鼠诱导的脂代谢紊乱对糖代谢及炎症因子的影响 [J]. 卫生研究, 2008, 37(2): 190-193.
- [12] 杜健, 冷吉燕, 李修英等. 老年高血压伴肥胖患者血清 MMP-1、MCP-1 水平的变化及其临床意义的研究 [J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(9): 1510-1513.

Effect of Chinese Herbs for Clearing Liver and Nourishing Kidney on Serum Inflammatory Factors in High-Fat Fed Spontaneous Hypertensive Rats

ZHANG Xiaoxiao¹, YIN Xiaowei¹, YAN Yu¹, JIANG Weimin²

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210000; 2. Chinese Medicine Hospital of Jiangsu Province)

ABSTRACT Objective To explore the possible functional mechanism of clearing liver and nourishing kidney Chinese herbs in treating primary hypertension with metabolic disorder. **Methods** Randomly divided 18 spontaneous hypertensive rats into normal group, model group and Chinese medicine group, with 6 rats in each. The normal group was given 0.5% sodium cellulose placebo 1ml for gavage in addition to standard diet. The model group was given 0.5% sodium cellulose placebo 1ml for gavage in addition to high fat diet. The Chinese medicine group was given suspension of clearing liver and nourishing kidney Chinese herbs 22.5 g/(kg · d) for gavage in addition to high fat diet. Each group was gavaged for 8 weeks. Measured the levels of angiotensin II (Ang II), tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6), monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), and human plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) at the 4th and the 8th week of gavage. **Results** After being fed with high fat diet, serum Ang II, TNF- α , IL-6 and PAI-1 levels of rats in the model group all remarkably increased compared with those of the normal group. Compared with the model group, serum Ang II, TNF- α , IL-6 and PAI-1 levels of rats in the Chinese medicine group remarkably decreased after receiving clearing liver and nourishing kidney Chinese herbs. Among them, the difference of IL-6 level between the Chinese medicine and the normal group was not statistically significant ($P > 0.05$), with TNF- α remarkably lower than the normal group and PAI-1 remarkably higher than the normal group ($P < 0.05$). **Conclusion** Chinese herbs for clearing liver and nourishing kidney could inhibit expression of inflammatory factors in high-fat fed spontaneous hypertensive rats. This might be one of the functional mechanism in treating hypertension with metabolic disorders.

Keywords primary hypertension; clearing liver and nourishing kidney Chinese herbs; metabolic disorders; inflammatory factors

(收稿日期: 2017-02-09; 修回日期: 2017-04-21)

编辑: 王利芬