

加味吴茱萸汤对高糖高脂及饮酒致大鼠 高血压和血管内皮功能的影响

吴浩杰¹, 周瑞堂², 倪 宁³

(1. 西安市第一医院心内科, 西安 710002; 2. 西安市第一医院中医科, 西安 710002

3. 西安交通大学医院内科, 西安 710049)

[摘要] 目的 探讨加味吴茱萸汤对高糖高脂饲料加饮酒致高血压模型大鼠血压及血管内皮功能的影响。方法 选择 SPF 级雄性 SD 大鼠 100 只, 20 只为正常对照组, 80 只制备高糖高脂饲料及梯度饮酒高血压模型。将造模成功的 80 只大鼠随机分为 4 组, 高血压模型组、加味吴茱萸汤低剂量治疗组、中剂量治疗组和高剂量治疗组, 每组 20 只。治疗组每日用不同浓度加味吴茱萸汤灌胃, 正常对照组和高血压模型组大鼠均以蒸馏水灌胃。测定实验前、造模成功后(给药前)及治疗后的收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、平均动脉压(MBP)和心率(HR)。酶联免疫吸附试验测定治疗前后血清中细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、内皮缩血管肽-1(ET-1)、一氧化氮(NO)、内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)水平。结果 与正常对照组比较, 造模后(给药前)各治疗组大鼠 SBP、DBP 和 MBP 明显升高($P < 0.05$)。与高血压模型组比较, 中剂量与高剂量加味吴茱萸汤治疗后大鼠的 SBP、DBP 和 MBP 明显下降($P < 0.05$)。各组大鼠在治疗前后 HR 差异没有统计学意义($P > 0.05$)。与正常对照组比较, 各治疗组大鼠 ICAM-1 和 ET-1 水平明显升高, NO 和 eNOS 水平明显降低($P < 0.05$); 与高血压模型组比较, 加味吴茱萸汤中剂量与高剂量治疗组大鼠的 ICAM-1 和 ET-1 水平明显升高, 而 NO 和 eNOS 水平明显降低($P < 0.05$)。结论 中剂量与高剂量的加味吴茱萸汤对高糖高脂及饮酒致高血压大鼠具有明显的降压效果。

[关键词] 加味吴茱萸汤; 高糖高脂饲料; 饮酒; 高血压; 血管内皮功能; 大鼠

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)05-0410-05

高血压(hypertension)是临床上慢性疾病中较为常见的一种, 也是多种疾病的主要危险因素。根据《中国心血管病报告 2016》^[1]概要显示, 我国目前已发现高血压患者约 2.7 亿例。随着社会发展, 人们的生活习惯也随之发生改变, 高血压患者越来越多, 且发病人群越来越趋向年轻^[2]。除严重损害和威胁人们的身体健康外, 从中冠心

病的药物治疗。高血压还会引发各种严重的并发症, 例如脑卒中、冠心病、慢性肾脏疾病以及视网膜病变等等^[3]。高血压疾病的发生发展机制较为复杂, 其中血管内皮功能的紊乱与高血压发病密切相关^[4]。有研究证实, 加味吴茱萸(*Tetradium ruticarpum*)汤对自发性高血压大鼠的血压具有一定的调节作用^[5]。本研究初步探讨加味吴茱萸汤对高糖高脂饮酒致大鼠高血压及血管内皮功能的影响。

[收稿日期] 2019-12-31

[作者简介] 吴浩杰(1977—), 女, 硕士, 从事冠心病的药物研究。E-mail: wuzh88@yeah.net

[通信作者] 倪 宁(1963—), 男, 硕士, 从事心血管内科相关工作。E-mail: jxjai004@163.com

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 100 只, 8 周龄, 体质

量 140~160 g, 由长沙天勤有限责任公司[SCXK(湘)2019-0023]提供, 饲养于屏障设施[SYXK(湘)2019-0013]内。每笼 5 只, 正常饲料适应性喂养, 自由饮水, 实验前观察 1 周, 各大鼠活动、进食、粪便以及一般情况均无异常变化后进行实验。

1.2 主要药品、试剂和仪器

加味吴茱萸汤由西安市第一医院药剂科调配、煎制, 基本方组成: 吴茱萸 60 g, 石决明 60 g, 天麻 60 g, 黄芪 60 g, 夏枯草 60 g, 当归 60 g, 人参 60 g, 大枣 45 g, 丹参 50 g, 甘草 50 g。按此方比例称取药物, 加水煎煮 2 次, 每 1 次加 12 倍量蒸馏水。每次煎煮 1 h, 取滤液, 加工减压浓缩至相对密度 1.25~1.30(70 °C)备用(后面治疗组汤药每毫升相当于 0.5 g 原药)。红星二锅头酒(乙醇体积分数 52%, 北京红星股份有限公司)。细胞间黏附分子-1(ICAM-1)(CD54)免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德公司; ^{125}I 内皮缩血管肽-1(^{125}I -ET-1)放射免疫试剂盒购自北京北方生物技术研究所; 一氧化氮(NO)测试盒(一步法)购自南京赛维尔生物有限公司。内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)酶联免疫吸附试验试剂盒购自中国上海英展机电企业有限公司(EXCELL)。Medlab 大鼠无创血压测量系统购自中国南京卡尔文生物科技有限公司。高糖高脂饲料购自中国医学科学院实验动物研究所(基础饲料 68.8%, 蔗糖 10.0%, 蛋黄粉 10.0%, 猪油 10.0%, 胆固醇 1.0%, 胆盐 0.2%)。

1.3 模型建立及实验方法

100 只雄性 SD 大鼠适应性喂养后, 20 只大鼠作为正常对照组, 给予普通饲料, 自由饮水。其余 80 只大鼠给予高糖高脂饲料及梯度饮酒以制备高血压大鼠模型^[6]: 大鼠给予高糖高脂饲料, 同时给予勾兑成乙醇体积分数为 5% 的白酒, 连续 1 周后将酒的乙醇体积分数提升为 10%, 以后每隔 1 周将乙醇体积分数提升 2%, 直到 18%。然后每周将乙醇体积分数提升 1%, 直到 22%, 再连续喂养至 17 周完成造模。造模 17 周后, 通过无创血压测量系统连续 5 d 且同一时间点分别测量血压, 收缩压(SBP)持续高于 160 mmHg, 舒张压(DBP)持续高于 130 mmHg, 即认为高糖高脂饲料加饮酒诱导高血压模型成功。

将造模成功的大鼠随机分为 4 组, 每组 20 只, 分别为高血压模型组、低剂量治疗组[5 mL · kg⁻¹ · d⁻¹]、中剂量治疗组[10 mL · kg⁻¹ · d⁻¹]和高剂量治疗组[20 mL · kg⁻¹ · d⁻¹]。采用不同浓度的加味吴茱萸汤药液每日定时灌胃给药, 20 只正常对照组和高血压模型组大鼠以蒸馏水[10 mL · kg⁻¹ · d⁻¹]灌胃, 全部大鼠每日灌胃 1 次, 连续灌胃 6 周。

1.4 血压测定

实验前、造模后(给药前)及治疗完成后用动物无创血压测量系统连续 5 d 且同一时间点分别测量各组大鼠的 SBP、DBP、平均动脉压(MBP)和心率(HR), 并且记录数值。

1.5 血清 ICAM-1、ET-1、NO 及 eNOS 水平测定

末次给药后, 大鼠腹腔注射 8% 戊巴比妥钠(5 mL/kg)麻醉, 腹主动脉取血(过程中不注入抗凝剂)。5 mL 后室温下静置 20 min, 以 3 000 r/min 离心 15 min, 吸取上清液用于 ICAM-1、ET-1、NO 及 eNOS 的检测, 测定方法按相应的试剂盒说明书。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理。呈正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组正态分布计量资料使用单因素方差分析进行多组样本均数的比较, 采用 SNK-*q* 检验进行两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 SBP 和 DBP 比较

与正常对照组比较, 造模后(给药前)各组大鼠的 SBP 和 DBP 明显升高($P < 0.05$); 与高血压模型组比较, 在治疗后中剂量与高剂量治疗组的 SBP 和 DBP 明显下降($P < 0.05$)(表 1)。

2.2 各组大鼠 MBP 和 HR 比较

与正常对照组比较, 造模后(给药前)各组大鼠的 MBP 明显升高($P < 0.05$); 与高血压模型组比较, 在治疗完成后中剂量与高剂量治疗组的 MBP 明显下降($P < 0.05$)。各组大鼠在治疗前后 HR 的差异没有统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。

2.3 各组大鼠血清 ICAM-1、ET-1、NO 和 eNOS 水平

与正常对照组比较, 各治疗组大鼠的 ICAM-1

和ET-1水平明显升高, NO和eNOS水平明显降低($P < 0.05$); 与高血压模型组比较, 中剂量与高剂量治疗组的ICAM-1和ET-1水平明显升高, 而NO和eNOS水平明显降低($P < 0.05$)(表3)。

表1 各组大鼠治疗前后的SBP、DBP水平比较

Table 1 The systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) in each group of rats before and after different treatments

组别	n	SBP/mmHg			DBP/mmHg		
		实验前	造模后(给药前)	治疗后	实验前	造模后(给药前)	治疗后
正常对照	20	125.41 ± 12.11	124.90 ± 17.13	126.22 ± 11.33 ^b	104.30 ± 9.11	107.13 ± 9.21	105.61 ± 9.50 ^b
高血压模型	20	127.32 ± 11.71	169.13 ± 15.32 ^a	163.72 ± 12.13 ^a	103.43 ± 8.71	135.42 ± 18.10 ^a	137.42 ± 18.72 ^a
低剂量治疗	20	124.52 ± 13.53	166.72 ± 18.53 ^a	155.82 ± 11.71 ^{ab}	104.82 ± 9.52	134.92 ± 16.62 ^a	131.83 ± 16.12 ^a
中剂量治疗	20	126.13 ± 12.83	164.51 ± 16.40 ^a	146.42 ± 13.33 ^{ab}	106.32 ± 9.82	138.60 ± 17.52 ^a	125.33 ± 9.72 ^b
高剂量治疗	20	125.64 ± 12.32	167.23 ± 19.21 ^a	130.11 ± 12.60 ^b	105.71 ± 9.33	135.31 ± 15.31 ^a	110.21 ± 9.12 ^b

注: 与同时时间点正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与同时时间点高血压模型组比较, ^b $P < 0.05$; SBP: 收缩压; DBP: 舒张压。

表2 各组大鼠治疗前后的MBP、HR水平比较

Table 2 The mean arterial pressure (MBP) and heart rate (HR) in each group of rats before and after different treatments

组别	n	MBP/mmHg			HR/(次·min ⁻¹)		
		实验前	造模后(给药前)	治疗完成后	实验前	造模后(给药前)	治疗完成后
正常对照	20	111.61 ± 9.62	152.21 ± 9.13	114.71 ± 9.53	415.32 ± 14.82	416.52 ± 15.24	421.32 ± 13.73
高血压模型	20	112.23 ± 11.22	145.62 ± 11.53 ^a	144.72 ± 12.12 ^a	417.43 ± 11.23	412.61 ± 11.71	416.82 ± 13.72
低剂量治疗	20	114.34 ± 11.24	143.12 ± 12.13 ^a	135.31 ± 12.91 ^a	414.71 ± 15.10	416.52 ± 17.23	415.61 ± 12.65
中剂量治疗	20	113.51 ± 11.23	146.52 ± 11.90 ^a	127.72 ± 13.22 ^b	426.22 ± 18.41	421.32 ± 15.92	424.60 ± 11.71
高剂量治疗	20	112.72 ± 11.20	143.23 ± 10.84 ^a	119.23 ± 11.50 ^b	411.54 ± 16.14	421.40 ± 12.34	421.50 ± 16.12

注: 与同时时间点正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与同时时间点高血压模型组比较, ^b $P < 0.05$; MBP: 平均动脉压; HR: 心率。

表3 各组大鼠治疗后血清中ICAM-1、ET-1、NO、eNOS水平比较

Table 3 The serum contents of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), endothelin-1 (ET-1), nitric oxide (NO) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in each group of rats before and after different treatments

组别	n	ICAM-1/(ng·L ⁻¹)		ET-1/(ng·L ⁻¹)		NO/(μmol·L ⁻¹)		eNOS/(U·mL ⁻¹)	
		实验前	造模后(给药前)	实验前	造模后(给药前)	实验前	造模后(给药前)	实验前	造模后(给药前)
正常对照组	20	252.42 ± 21.32	30.25 ± 8.26	39.11 ± 4.31	146.11 ± 11.20				
高血压模型组	20	323.17 ± 24.18 ^a	45.33 ± 7.91 ^a	7.37 ± 1.16 ^a	104.72 ± 12.53 ^a				
低剂量治疗组	20	311.51 ± 18.24 ^a	40.22 ± 6.88 ^a	15.73 ± 5.91 ^a	111.81 ± 11.72 ^a				
中剂量治疗组	20	291.29 ± 22.52 ^b	37.39 ± 7.58 ^b	23.58 ± 7.86 ^b	126.23 ± 9.91 ^b				
高剂量治疗组	20	267.21 ± 20.61 ^b	33.92 ± 7.86 ^b	35.77 ± 7.19 ^b	135.22 ± 12.71 ^b				

注: 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与高血压模型组比较, ^b $P < 0.05$; ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; ET-1: 内皮素-1; NO: 一氧化氮; eNOS: 内皮型一氧化氮合成酶。

3 讨论

目前, 全球高血压患者已超 10 亿人, 中国成人高血压患病率高达 33.5%, 患病人数近 3.3

亿^[7-8]。研究^[9-10]表明, 高血压患者具有明显的血管内皮损伤情况, 因此与血管内皮损伤相关的因子表现出异常的表达状态。在临床检测指标中与血管内皮功能相关的因子相对较多, 例如 ICAM-1、

ET-1、NO 和 eNOS 都是评估血管内皮功能的常用指标^[11-12]。其中 ICAM-1 在炎症反应介导过程中发挥重要作用, 同样在白细胞与血管内皮之间的粘附过程中也发挥重要作用, 另外, 对病理状态下导致的血管内皮炎性损伤具有更重要的评估意义^[13-14]。eNOS 由血管内皮细胞生成, eNOS 过度表达后 eNOS 含量、NO 活性和 cGMP 水平均上调。血管中氧自由基产生过多, 氧化应激反应损伤血管内皮功能, 并促进血管平滑肌细胞增殖和肥大, 导致血管重构, 从而参与高血压病发生、发展和靶器官损害^[15-16]。

目前, 药物治疗加上健康的生活方式管理是针对高血压最主要的治疗方法。中药在心血管病的治疗中有着独特优势。已有文献^[17-18]报道, 加味吴茱萸汤用吴茱萸疏肝降气、温胃散寒, 人参和大枣补气健脾, 石决明和天麻平肝潜阳, 黄芩和夏枯草清肝郁热, 当归和丹参养血活血, 甘草调和诸药, 故能起到降肝气之上逆, 健中气以运脾, 补阴血以养肝肾的标本兼治作用, 因而具有显著的降压效果。基于此理论, 本实验采用加味吴茱萸汤治疗诱发的大鼠高血压, 取得了较好的疗效。

本研究发现, 中剂量与高剂量的加味吴茱萸汤对高糖高脂饲料及饮酒致高血压模型大鼠的 SBP 和 DBP 都具有一定的调节作用。与高血压模型组比较, 在治疗完成后中剂量与高剂量治疗组大鼠的 SBP 和 DBP 呈现明显下降趋势。通过检测各组大鼠血液中 ICAM-1、ET-1、NO 和 eNOS 的水平, 发现治疗完成后中剂量与高剂量治疗组大鼠的 ICAM-1 和 ET-1 水平明显低于高血压模型组, 且趋近于正常组, 而 NO 和 eNOS 水平明显高于高血压模型组。该结果为临床高血压患者的治疗用药提供了一定的参考。

参考文献:

- [1] 陈伟伟, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2016》概要[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(6):521-530.
- [2] 李秀芹. 糖尿病合并高血压患者发生视网膜病变的相关危险因素分析[J]. 中国保健营养(下旬刊), 2014, 24(7):3822.
- [3] 冯国明. 高血压并发症及其预防和治疗研究[J]. 心血管病防治知识(学术版), 2016(2):13-15.
- [4] Bleakley C, Hamilton PK, Pumb R, et al. Endothelial function in hypertension: victim or culprit?[J]. J Clin Hypertens, 2015, 17(8):651.
- [5] 汪晓芬, 和渝斌, 张源波, 等. 高血压发病机制及诊疗研究的新认识[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2015, 7(2):281.
- [6] 浙江中医药大学. 一种饮酒加高糖高脂饮食导致的生活性高血压动物模型: CN201210164078.8[P]. 2013-12-04.
- [7] 卢婉君, 龚书豪, 李娟, 等. 伴高血压的原发性膜性肾病临床病理特点及高血压发生的影响因素分析[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2019, 48(6):655-660.
- [8] 杨红霞, 景策, 刘睿, 等. 高血压发病机制研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(22):4483-4487.
- [9] 李超民, 罗薇, 李慧, 等. 人参皂苷 Rg2 对 SHR 大鼠血压及肾脏 MMP2、MMP9 表达的影响[J]. 心脏杂志, 2017, 29(1):44-47.
- [10] 刘娟, 罗云梅, 潘承正, 等. 人参皂苷 Rg1 抗野百合碱诱导大鼠肺动脉高压的作用机制[J]. 中国新药与临床杂志, 2014, 33(8):578-582.
- [11] 雍苏南, 房赤, 龙远雄, 等. 高血压病中医病性证素分布与血管内皮相关性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(12):21-25.
- [12] 陈勇, 方汉云, 潘建生, 等. 血管紧张素转化酶抑制剂对高血压患者氧化应激水平及血管内皮功能的影响[J]. 重庆医学, 2019, 48(23):4054-4056, 4061.
- [13] 戴志强, 张旋, 冯阳, 等. 高盐诱导自发性高血压大鼠脑出血及脑微血管构筑改变[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(21):2291-2296.
- [14] 蔺晓源, 刘丹, 曾勇. 复方七芎降压片保护自发性高血压大鼠血管内皮损伤的作用研究[J]. 中国中医急症, 2016, 25(12):2220-2222.
- [15] 崔晓云, 谭弘, 范文英, 等. 高血压与心脏舒张功能障碍的相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(12):4414-4416.
- [16] 黄建跃, 丁胜鸿. 微创血肿清除术对高血压脑出血患者氧化应激指标及神经功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(15):3628-3630.
- [17] 李明懋. 加味吴茱萸汤治疗高血压病患者的达标率分析[J]. 成都中医药大学学报, 2008, 31(1):11-12.
- [18] 管建飞, 和会静, 王岩. 吴茱萸汤治疗对老年高血压患者血压及并发症的影响[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(19):145-146.

Effects of Modified Wuzhuyu Decoction on Blood Pressure and Vascular Endothelial Function in Rats with Hypertension Induced by High Sugar and Fat Diet and Alcohol Drinking

WU Haojie¹, ZHOU Ruitang², NI Ning³

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Xi'an No.1 Hospital, Xi'an 710002, China; 3. Internal Medicine Department, The Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Correspondence to: NI Ning, jxjai004@163.com

[Abstract] Objective To investigate the effects of modified Wuzhuyu (*Tetradium ruticarpum*) decoction on blood pressure and vascular endothelial function in rats with hypertension induced by high sugar and fat diet and alcohol drinking. **Methods** One hundred SPF male SD rats were selected, 20 were used as control group, and 80 were used for establishing hypertension model induced by high sugar and fat diet and gradient alcohol drinking. The successfully induced model rats were randomly divided into 4 groups with 20 rats in each: hypertension model group, modified Wuzhuyu decoction low-dose treatment group, middle-dose treatment group, and high-dose treatment group. The rats of treatment group were oral gavaged daily with different concentrations of modified Wuzhuyu decoction, and the normal control group and hypertension model group were oral gavaged with distillation respectively. The systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), mean arterial pressure (MBP), and heart rate (HR) were detected before the experiment, after the successful modeling (before administration), and after treatment. The serum intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), endothelin-1 (ET-1), nitric oxide (NO), and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) were detected by ELISA. **Results** Compared with the control group, the SBP, DBP, and MBP in each experimental group were significantly increased after modeling (before administration) ($P<0.05$). Compared with the hypertension model group, the SBP, DBP, and MBP in the medium-dose and high-dose treatment groups decreased significantly after treatment ($P<0.05$). There was no significant difference in HR between the groups of rats before and after treatment ($P>0.05$). After treatment, compared with the control group, the levels of ICAM-1 and ET-1 in each experimental group increased significantly, and the levels of NO and eNOS decreased significantly ($P<0.05$). Compared with the hypertension model group, the levels of ICAM-1 and ET-1 in the medium-dose and high-dose treatment groups were significantly increased, while the levels of NO and eNOS were significantly reduced ($P<0.05$). **Conclusion** Medium-dose and high-dose modified Wuzhuyu decoction has obvious antihypertensive effect on hypertensive rats induced by high sugar and fat diet and alcohol drinking.

[Key words] Modified Wuzhuyu (*Tetradium ruticarpum*) decoction; High sugar and high fat diet; Alcohol drinking; Hypertension; Vascular endothelial function; Rats