

本文引用: 刘越美, 姚昆鹏, 蔡虎志, 邓旭, 彭丽琪, 陈新宇. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨天牛止眩胶囊对自发性高血压大鼠心室重塑的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(10): 1816-1824.

基于 PI3K/Akt 信号通路探讨天牛止眩胶囊对自发性高血压大鼠心室重塑的影响

刘越美^{1,2}, 姚昆鹏², 蔡虎志¹, 邓旭¹, 彭丽琪², 陈新宇^{1*}

1. 湖南中医药大学第一附属医院, 国家中医心血管病临床医学研究中心分中心, 湖南长沙 410007;

2. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208

[摘要] **目的** 基于磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路探索天牛止眩胶囊对自发性高血压大鼠心室重塑的影响。**方法** 选取 30 只 7 周龄 SPF 级自发性高血压大鼠(SHR)以及 10 只同周龄 Wistar 京都(WKY)大鼠。WKY 大鼠为正常组(蒸馏水灌胃), SHR 均分为模型组(蒸馏水灌胃)、天牛止眩组(22.6 mg/mL 天牛止眩胶囊药物溶液灌胃)、依那普利组(0.11 mg/mL 依那普利药物溶液+蒸馏水灌胃), 每组均以 10 mL/kg 剂量每天灌胃 3 次。8 周后测定体质量及基础血压后, 取大鼠心肌组织及血清进行检测, 测定左心室质量指数(LVMI), HE 染色观察心肌组织病理变化, TUNEL 染色评估心肌细胞凋亡情况, ELISA 测定血清肾素(Renin)、血管紧张素 II(Ang II)、醛固酮(ALD)含量, Western blot 及荧光定量 PCR 检测 PI3K、Akt、核因子- κ B(NF- κ B)、B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、胱天蛋白酶(Caspase)-3、Caspase-9、原癌基因(FOS)、肿瘤蛋白 P53(TP53)的蛋白及 mRNA 表达量。**结果** 与正常组比较, 模型组血压、LVMI 升高($P<0.01$); 心肌纤维排列松散, 细胞肥大, 数量减少, 结缔组织增生明显; 细胞凋亡率增高($P<0.01$); 血清 Renin、Ang II、ALD 含量增加($P<0.05$, $P<0.01$); 心肌组织中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 mRNA 表达升高($P<0.01$), PI3K、Akt、NF- κ B、Bcl-2 mRNA 降低($P<0.01$); 心肌组织中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 蛋白表达升高($P<0.01$), p-PI3K、Akt、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白表达降低($P<0.01$)。与模型组比较, 天牛止眩组、依那普利组血压下降($P<0.01$); 心肌细胞排列相对整齐, 细胞形态相对正常, 结缔组织增生减少; 细胞凋亡率降低($P<0.01$); 血清 Renin、Ang II、ALD 含量降低($P<0.01$); 心肌组织中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 mRNA 表达降低($P<0.05$, $P<0.01$), PI3K、Akt、NF- κ B、Bcl-2 mRNA 升高($P<0.05$, $P<0.01$); 心肌组织中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 蛋白表达降低($P<0.01$), p-PI3K、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白表达升高($P<0.01$)。**结论** 天牛止眩胶囊在降压的同时, 可改善原发性高血压导致的心室重塑, 其作用机制可能与抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)激活, 减少心肌细胞凋亡有关。PI3K/Akt 信号通路可能是其发挥作用的重要信号通路。

[关键词] 原发性高血压; 天牛止眩胶囊; 肾素-血管紧张素-醛固酮系统; PI3K/Akt 信号通路; 细胞凋亡; 心室重塑

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.10.003

Effects of Tianniu Zhixuan Capsule on ventricular remodeling in spontaneously hypertensive rats through the PI3K/Akt signaling pathway

LIU Yue mei^{1,2}, YAO Kun peng², CAI Hu zhi¹, DENG Xu¹, PENG Li qi², CHEN Xin yu^{1*}

1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Branch Center of National Clinical Research Center for

[收稿日期] 2025-05-31

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81704061, 81173213); 国家重大疑难疾病慢性心力衰竭中西医结合临床协作试点项目(国中医药办医政发[2018]3号); 湖南省中医药科研计划项目(B2023065); 湖南省中医药管理局心病“四时调阳”重点研究室建设专项(湘中医药函[2020]51号)。

[通信作者] * 陈新宇, 男, 博士, 博士研究生导师, 主任医师, 教授, E-mail: chenxinyuchen@163.com。

Chinese Medicine Cardiology, Changsha, Hunan 410007, China; 2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] Objective To explore the effects of Tianniu Zhixuan Capsule (TNZXC) on ventricular remodeling in spontaneously hypertensive rats (SHR) based on the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway. **Methods** Thirty 7-week-old SPF SHRs and ten age-matched Wistar-Kyoto (WKY) rats were selected. The WKY rats served as the normal control group (intragastric administration of distilled water), while the SHRs were evenly divided into model group (intragastric administration of distilled water), TNZXC group (intragastric administration of 22.6 mg/mL TNZXC solution), and enalapril group (intragastric administration of 0.11 mg/mL enalapril solution plus distilled water). Each group received intragastric administration three times daily at a dose of 10 mL/kg. After eight weeks, body weight and basal blood pressure were measured. Then, the myocardial tissue and serum samples of rats were collected for analysis. The left ventricular mass index (LVMI) was measured. HE staining was used to observe the pathological changes in myocardial tissue, and TUNEL staining was employed to assess myocardial apoptosis. ELISA was used to determine the serum levels of renin (Renin), angiotensin II (Ang II), and aldosterone (ALD). The protein and mRNA expression levels of PI3K, Akt, nuclear factor- κ B (NF- κ B), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), Caspase-3, Caspase-9, FOS proto-oncogene protein (FOS), and tumor protein P53 (TP53) in the myocardial tissue were detected by Western blot and RT-PCR, respectively. **Results** Compared with the normal group, the model group exhibited increased blood pressure and LVMI ($P < 0.01$). The myocardial fibers were loosely arranged, with evident cardiomyocyte hypertrophy, reduced cell count, and significant connective tissue hyperplasia. The apoptosis rate was significantly elevated ($P < 0.01$), and the serum levels of Renin, Ang II, and ALD increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The mRNA expression levels of Bax, Caspase-3, Caspase-9, FOS, and TP53 in myocardial tissue were upregulated ($P < 0.01$), while those of PI3K, Akt, NF- κ B, and Bcl-2 were downregulated ($P < 0.01$). Additionally, the protein expression levels of Bax, Caspase-3, Caspase-9, FOS, and TP53 increased ($P < 0.01$), whereas those of p-PI3K, Akt, p-Akt, NF- κ B, and Bcl-2 decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the TNZXC and enalapril groups showed a decrease in blood pressure ($P < 0.01$). The myocardial cells were relatively neatly arranged, with relatively normal cell morphology and reduced connective tissue hyperplasia. The cell apoptosis rate decreased ($P < 0.01$), and the serum levels of Renin, Ang II, and ALD were reduced ($P < 0.01$). The mRNA expression levels of Bax, Caspase-3, Caspase-9, FOS, and TP53 in the myocardial tissue were downregulated ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while those of PI3K, Akt, NF- κ B, and Bcl-2 were upregulated ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Additionally, the protein expression levels of Bax, Caspase-3, Caspase-9, FOS, and TP53 decreased ($P < 0.01$), while those of p-PI3K, p-Akt, NF- κ B, and Bcl-2 increased ($P < 0.01$). **Conclusion** TNZXC can lower blood pressure and ameliorate ventricular remodeling caused by essential hypertension. Its mechanism of action may involve suppression of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) activation and reduction of cardiomyocyte apoptosis. The PI3K/Akt signaling pathway is likely to be a key pathway mediating its effects.

[Keywords] essential hypertension; Tianniu Zhixuan Capsule; renin-angiotensin-aldosterone system; PI3K/Akt signaling pathway; apoptosis; ventricular remodeling

高血压是全世界心血管疾病和过早死亡的主要原因^[1]。《中国心血管健康与疾病报告 2023 概要》指出:2020—2022 年,“中国居民心血管疾病及其危险因素监测”项目初步调查结果显示,我国 18 岁及以上的成人高血压患病率已达 31.6%^[2]。目前认为,该病的发病机制尚不明确,与遗传、高盐饮食、肥胖、精神压力等密切相关^[3]。

高血压患者肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 被激活,产生的大量血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)、醛固酮 (aldosterone, ALD) 等神经内分泌因子有利

于维持组织灌注,但是长时间的过度激活会升高血管张力、增加心肌耗氧,诱发心肌细胞凋亡;过多的 ALD 又会导致水钠潴留、循环血量增加、血管负荷加重,促使病情进展^[4],导致高血压心脏病甚至诱发心力衰竭。心室重塑是心脏对各种损伤和应激的一种适应性反应,表现为心肌细胞肥大、间质纤维化以及心脏几何形状和功能的改变,是许多心血管疾病如心肌梗死、高血压心脏病、心肌病等发展为心力衰竭的关键病理过程^[5]。湖南中医药大学第一附属医院陈新宇教授仿天麻钩藤饮之意,创制“天牛止眩胶囊(原名血压平胶囊)”,由天麻、怀牛膝、菊花、

黄连、汉防己、酸枣仁等组成,具有清肝平肝、滋养肝肾、明目定眩之功效^[6]。通过前期临床观察发现,天牛止眩胶囊在降压的同时,降低 Ang II 浓度,抑制 RAAS^[7]。动物实验显示,天牛止眩胶囊可降低高血压大鼠心肌胶原含量,防止左室肥厚的发生发展^[8]。天牛止眩胶囊是否通过调控磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路,抑制 RAAS 激活,介导心肌细胞凋亡,从而抗原发性高血压伴心室重塑尚不明确。为此,本研究通过动物实验验证天牛止眩胶囊对原发性高血压的疗效及潜在的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

选取 30 只 7 周龄 SPF 级雄性自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)与 10 只同周龄 Wistar 京都(Wistar-Kyoto, WKY)大鼠为研究对象。动物生产许可证号:SYXK(湘)2020-0010,动物伦理编号:伦审科第(202409119)号。动物于湖南中医药大学第一附属医院 SPF 级实验动物中心饲养,自由饮食、光/暗周期为 12 h/12 h(光照时间为 6:00~18:00)、温度 22~24 ℃、湿度 40%~70%,在避免噪声的环境下喂养 1 周以适应环境。笼具垫料使用碎刨花及锯末,每 2 天更换 1 次。

1.2 主要药物、试剂及仪器

天牛止眩胶囊(湖南中医药大学第一附属医院,规格:0.43 g×40 粒/瓶,批号:20240102);依那普利片(扬子江药业股份有限公司,规格:5 mg×16 片/盒,批号:23112611)。

Ang II、肾素(Renin)购自武汉华美生物工程有限公司(批号:CSB-E04494r、CSB-E08702r);ALD(武汉云克隆科技股份有限公司,批号:CEA911Ge);TUNEL 试剂盒(上海翊圣生物科技有限公司,批号:40306ES50);PBS、DAPI、BCA 蛋白定量试剂盒、蛋白上样缓冲液、ECL Plus 超敏发光液(长沙艾碧维生物科技有限公司,批号:AWI0129a、AWI0331a、AWB0104、AWB0055、AWB0005);Trizol 试剂盒(美国 Thermo 公司,批号:15596026);UltraSYBR 混合物、mRNA 逆转录试剂盒、miRNA 逆转录试剂盒(北京

康为世纪公司,批号:CW2601、CW2569、CW2141);磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)、p-PI3K、Akt、p-Akt、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、B 淋巴细胞瘤-2 蛋白(B-cell lymphoma-2 protein, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、胱天蛋白酶(cysteine aspartic acid specific protease, Caspase)-3、Caspase-9、FOS 原癌基因蛋白(FOS proto-oncogene protein, FOS)、肿瘤蛋白 P53(tumor protein P53, TP53)(长沙艾碧维生物科技有限公司,批号:AWA11331、AWA58891、AWA 10126、AWA45006、AWA00848、AWA43352、AW58069、AWA 00678、AWA10096、AWA42269、AWA00218)。

台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:H1650R);全自动酶标洗板机、多功能酶标分析仪(深圳市汇松科技发展有限公司,型号:PW-812、MB-530);荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo 公司,型号:PIKOREAL96);水平琼脂糖电泳槽(北京六一生物科技有限公司,型号:DYCP-31DN);旋涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司,型号:GL-88B);生物样品均质仪(中国杭州奥盛仪器有限公司,型号:BioPrep-24);化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司,型号:ChemiScope6100)。

2 方法

2.1 动物造模及分组干预

依据文献报道及课题组前期研究基础^[9],本研究以 SHR 收缩压连续 2 周 ≥ 160 mmHg(6~8 周龄)为造模成功标准。选取符合上述标准的 30 只 7 周龄 SHR 适应性饲养 7 d 后开始实验,选取 10 只同周龄 WKY 大鼠为正常组。30 只 SHR 随机均分成 3 组,即:模型组、天牛止眩组、依那普利组。

实验大鼠具体给药剂量换算参考《药理实验方法学》^[10],以成人体质量 60 kg 临床用药剂量折合大鼠等效剂量,采用人-鼠体表面积换算法。天牛止眩胶囊:人每天的临床剂量为 430 mg×5×3/60 kg=107.5 mg/kg,大鼠等效剂量为 6.3×107.5 mg/kg=677 mg/kg;依那普利:人每天的临床剂量为 5 mg×2/60 kg=0.17 mg/kg,大鼠等效剂量为 6.3×0.17 mg/kg=1.07 mg/kg。

天牛止眩组按照 677 mg/(kg·d)给药,用蒸馏

水配制成浓度为 22.6 mg/mL 的天牛止眩胶囊药物溶液,以 10 mL/kg 灌胃,每天 3 次,共 8 周;依那普利组按照 1.07 mg/(kg·d)给药,用蒸馏水配制成浓度为 0.11 mg/mL 的依那普利药物溶液,以 10 mL/kg 药物溶液灌胃(每天 1 次)+10 mL/kg 蒸馏水灌胃(每天 2 次),共 8 周。正常组及模型组均以 10 mL/kg 蒸馏水灌胃,每天 3 次,共 8 周。

2.2 观察方法及指标

2.2.1 体质量及基础血压测定 大鼠于早晨未进食前、清醒状态下称重,采用大鼠尾动脉无创血压测量仪测量血压。室温下,将安静状态大鼠置于固定装置,将尾动脉无创血压测量仪的尾部气囊套入鼠尾近心端,脉搏换能器套入气囊装置内,缓慢加热至 39 ℃使鼠尾血管充分扩张,另一端通过生理四通道信号采集仪连于电脑,待电脑收集信号稳定后,充气加压,直到脉搏信号成为一条直线,然后逐渐放气减压,待脉搏信号出现规则波形时,电脑读出血压值,每只大鼠每 3 分钟测 1 次,重复 3 次取均值^[1]。

2.2.2 心室重塑相关指标测定 8 周后,对实验大鼠常规称量得到大鼠体质量。测量后开始麻醉,麻醉起效后,打开胸腔、取出心脏,用眼科剪依次剪去左右心房、右心室游离壁及脂肪血管等多余组织,保留左心室及室间隔,充分冲洗后用滤纸吸干水分,天平称取左心室质量(left ventricular mass, LVM),计算左心室质量指数(left ventricular mass index, LV-MI)=LVM/体质量。将心室组织切成小块后放置在-80 ℃冰箱中保存,用于后续检测。

2.2.3 心肌组织病理检测 采用 HE 染色观察大鼠心肌组织病理变化。将大鼠心脏组织切片,苏木素染色 5 min,使用盐酸乙醇分化,氨水返蓝,用蒸馏水清洗 5 min,梯度乙醇脱水,伊红染色 5 min 后,通过乙醇脱水,加入二甲苯使其透明,封片后置于光镜下观察大鼠心脏组织形态变化。

2.2.4 心肌细胞凋亡评估 采用 TUNEL 染色法进行检测。将大鼠心肌组织切片,PBS 漂洗两次,TUNEL 和 DAPI 共同染色以检测心肌细胞凋亡水平。每张切片随机观察 3 个视野(×400),计算细胞凋亡率(%)=凋亡细胞数/细胞总数×100%。

2.2.5 血清 Renin、Ang II、ALD 含量检测 采用 ELISA 法进行检测。末次给药后,实验动物禁食

12 h,用 10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉。腹主动脉采血,不抗凝,4 ℃静置 4 h 后,以 1 000×g 离心 10 min,分离血清,取上清于 1.5 mL EP 管中,-80 ℃保存备用。严格按照试剂盒说明书的步骤操作,测定血清中 Renin、Ang II、ALD 的含量。

2.2.6 通路相关蛋白表达检测 采用 Western blot 进行检测。取 0.015 g 组织,加 RIPA 裂解液研磨至无组织块,冰上裂解 10 min,离心,取上清液备用。制胶、电泳、转膜、封闭、孵育一抗[PI3K(1:1 000)、Akt(1:5 000)、NF-κB(1:1 000)、Bax(1:1 000)、Bcl(1:500)、Caspase-3(1:500)、Caspase-9(1:500)、FOS(1:500)、TP53(1:2 000)],孵育二抗[IgG(1:5 000)],化学发光成像系统获取蛋白条带,采用 ImageJ 软件进行分析。

2.2.7 通路相关 mRNA 表达检测 采用 RT-PCR 检测。组织匀浆液加 Trizol 裂解,以组织总 mRNA 为模板,逆转录 cDNA,以 GAPDH 为内参,采用 2^{-ΔΔCt}法检测 PI3K、Akt、NF-κB、Bax、Bcl、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 mRNA 表达水平。在 NCBI 上搜索目的基因的序列,运用 primer5 软件设计引物,由北京擎科合成引物。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

引物名称	引物序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	正向:ACAGCAACAGTGGGTGAC	252
	反向:TTGAGGGTGCAGCGAACT	
PI3K	正向:AGCCACAGATCCACTAACC	128
	反向:CTTGCTGTCCCCACTTACT	
Akt	正向:GTCACCTCTGAGACCGACC	115
	反向:GCCTCCGTTCACTGTCAC	
NF-κB	正向:CACCAAAGACCCACCTCACCG	155
	反向:CTTGCTCCAGGTCTCGCTTC	
Bax	正向:TTGCTACAGGTTTCATC	70
	反向:GCTCCAAGTCAGCTCAGT	
Bcl-2	正向:CTGTGGGACAATCGCTCT	100
	反向:ATAGTTCCAAGCATCCC	
FOS	正向:ACTACCTTCCCCAGCCACT	91
	反向:TTGCACTAGAGACGACAG	
P53	正向:CCGTCCCCCTCTTGCCAT	171
	反向:AGACCAGCAACTACCAACCAT	
Caspase-3	正向:ATCAGCTAATTACAGACC	144
	反向:TCTCCTTCCTACGCT	
Caspase-9	正向:ATACCCTGACTCGGAT	178
	反向:TTTCTTAGCAGTCAGGTCT	

2.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析,数据图表使用 GraphPad Prism 8.0 软件绘制。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组内前后比较采用配对 t 检验,组间比较若满足正态性与方差齐性,采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法;若不满足方差齐性,采用 $Dunnett's T3$ 法;若不符合正态性,采用 $Kruskal-Wallis H$ 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 天牛止眩胶囊对大鼠血压的影响

与正常组比较,模型组收缩压、舒张压升高($P<0.01$)。与模型组比较,依那普利组及天牛止眩组收缩压、舒张压下降($P<0.01$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠血压比较($\bar{x}\pm s, n=10, \text{mmHg}$)

Table 2 Comparison of blood pressure among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10, \text{mmHg}$)

组别	收缩压	舒张压
正常组	139.70±1.53	108.00±3.00
模型组	207.00±3.61**	159.00±3.61**
依那普利组	169.70±1.53***	135.70±4.04***
天牛止眩组	167.00±6.25***	135.00±2.00***

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,*** $P<0.01$ 。

3.2 天牛止眩胶囊对大鼠 LVM、LVMI 的影响

与正常组比较,模型组 LVMI 升高($P<0.01$)。各组 LVM 之间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠 LVM、LVMI 比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Comparison of LVM and LVMI among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	LVM/mg	LVMI
正常组	901.40±18.49	2.50±0.09
模型组	976.70±94.31	3.33±0.14**
依那普利组	874.90±76.97	3.18±0.27*
天牛止眩组	980.50±79.79	3.16±0.30*

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3.3 天牛止眩胶囊对大鼠心肌组织病理的影响

正常组大鼠心肌纤维排列有序而致密,心肌细胞形态正常、大小均匀,暂未出现肥厚现象。模型组

大鼠心肌纤维排列松散,细胞肥大、数量减少,结缔组织增生明显。与模型组比较,依那普利组及天牛止眩组心肌细胞排列相对整齐,细胞形态相对正常,结缔组织增生程度减轻。详见图 1。

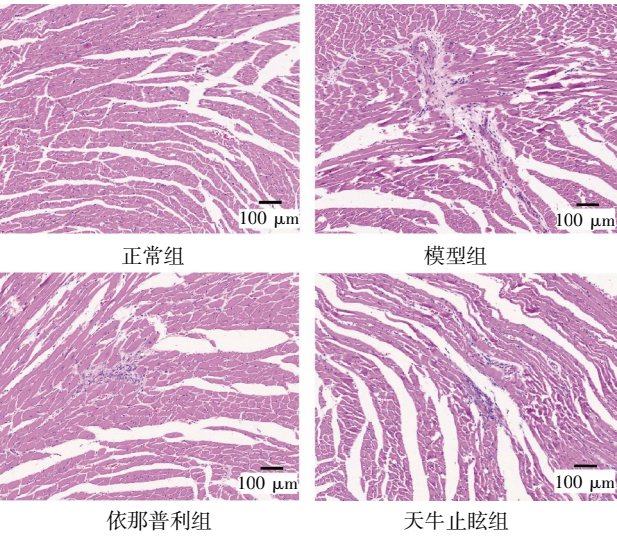


图 1 各组大鼠心肌组织 HE 染色结果($\times 100$)

Fig.1 HE staining results of myocardial tissue in each group of rats ($\times 100$)

3.4 天牛止眩胶囊对大鼠心肌组织细胞凋亡的影响

与正常组比较,模型组心肌组织细胞凋亡率增高($P<0.01$)。与模型组比较,依那普利组、天牛止眩组心肌组织细胞凋亡率降低($P<0.01$)。详见表 4、图2。

表 4 各组大鼠心肌组织细胞凋亡率比较($\bar{x}\pm s, n=10, \%$)

Table 4 Comparison of cardiomyocyte apoptosis rates among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10, \%$)

组别	细胞凋亡率
正常组	8.85±1.50
模型组	51.54±4.72**
依那普利组	24.02±1.83***
天牛止眩组	25.83±2.75***

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,*** $P<0.01$ 。

3.5 天牛止眩胶囊对大鼠 RAAS 的影响

与正常组比较,模型组 Renin、Ang II、ALD 含量增加($P<0.05, P<0.01$)。与模型组比较,依那普利组、天牛止眩组 Renin、Ang II、ALD 含量降低($P<0.01$)。详见表 5。

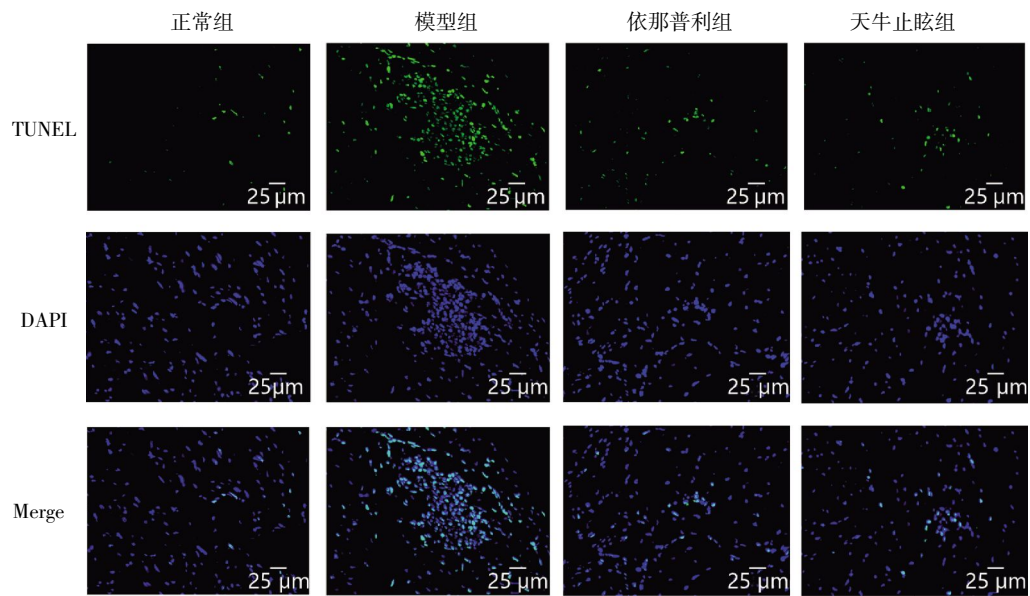


图 2 各组大鼠心肌细胞 TUNEL 染色结果($\times 400$)

Fig.2 TUNEL staining results of cardiomyocytes in each group of rats ($\times 400$)

表 5 各组大鼠 Renin、Ang II、ALD 含量比较($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 5 Comparison of Renin, Ang II, and ALD content among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

分组	Renin/(mU/mL)	Ang II/(pg/mL)	ALD/(pg/mL)
正常组	58.00 $\pm$ 3.85	34.12 $\pm$ 1.70	12.82 $\pm$ 1.13
模型组	145.30 $\pm$ 9.70**	69.23 $\pm$ 7.98*	28.70 $\pm$ 2.62**
依那普利组	92.47 $\pm$ 9.99***	51.36 $\pm$ 4.51**	18.60 $\pm$ 1.44***
天牛止眩组	88.12 $\pm$ 10.53***	47.39 $\pm$ 2.54***	20.22 $\pm$ 2.29***

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,*** $P<0.01$ 。

3.6 天牛止眩胶囊对大鼠心肌组织相关 mRNA 表达的影响

与正常组比较,模型组 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 mRNA 表达升高($P<0.01$),PI3K、Akt、NF- κ B、Bcl-2 mRNA 表达降低($P<0.01$)。与模型组比较,依那普利组及天牛止眩组 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 mRNA 表达降低($P<0.01$),PI3K、Akt、NF- κ B、Bcl-2 mRNA 表达升高($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 3。

3.7 天牛止眩胶囊对大鼠心肌组织相关蛋白表达的影响

与正常组比较,模型组 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 蛋白表达升高($P<0.01$),p-PI3K、Akt、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白表达降低($P<0.01$)。与模型组比较,依那普利组及天牛止眩组 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 蛋白表达降低($P<0.01$),p-

PI3K、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白表达升高($P<0.01$)。详见图 4—5。

4 讨论

天牛止眩胶囊可清肝平肝、滋养肝肾,本课题组常将其应用于一级、二级高血压,或三级高血压服用西药而不能控制者,临床取得良好的疗效。天麻平肝潜阳兼以养肝滋肾,具有抗焦虑抑郁、降血压、降血脂等多重功效^[12],其主要成分天麻素在体内外实验中可缓解 Ang II 诱导的高血压及心肌细胞凋亡^[13]。菊花可清肝明目,其内富含的怀菊花总黄酮可抑制 RAAS 激活,改善内皮损伤^[14]。菊花提取物可降低血压及 LVMI,减少心肌细胞横截面积^[15]。黄连主治心经实热,其主要成分小檗碱可降低 SHR 的动脉脉搏速度,增加动脉中膜弹性纤维含量,从而抗血管内皮损伤^[16]。酸枣仁养心平肝、宁心安神,其主要成分酸枣仁总皂苷具有降低 SHR 血压的功效^[17]。汉防己可利尿消肿、祛风止痛,其主要成分汉防己甲素能抑制钙离子通道,发挥舒张血管、保护心肌作用^[18]。怀牛膝补肝肾、活血通经、引血下行,其主要成分牛膝甾酮可通过抑制血管紧张素转换酶发挥舒张血管、降血压作用^[19]。因此,从现代药理学角度分析,天牛止眩胶囊组方所含中药本身对高血压具有良好的治疗作用,上述药物制成的复方则可能进一步发挥协同

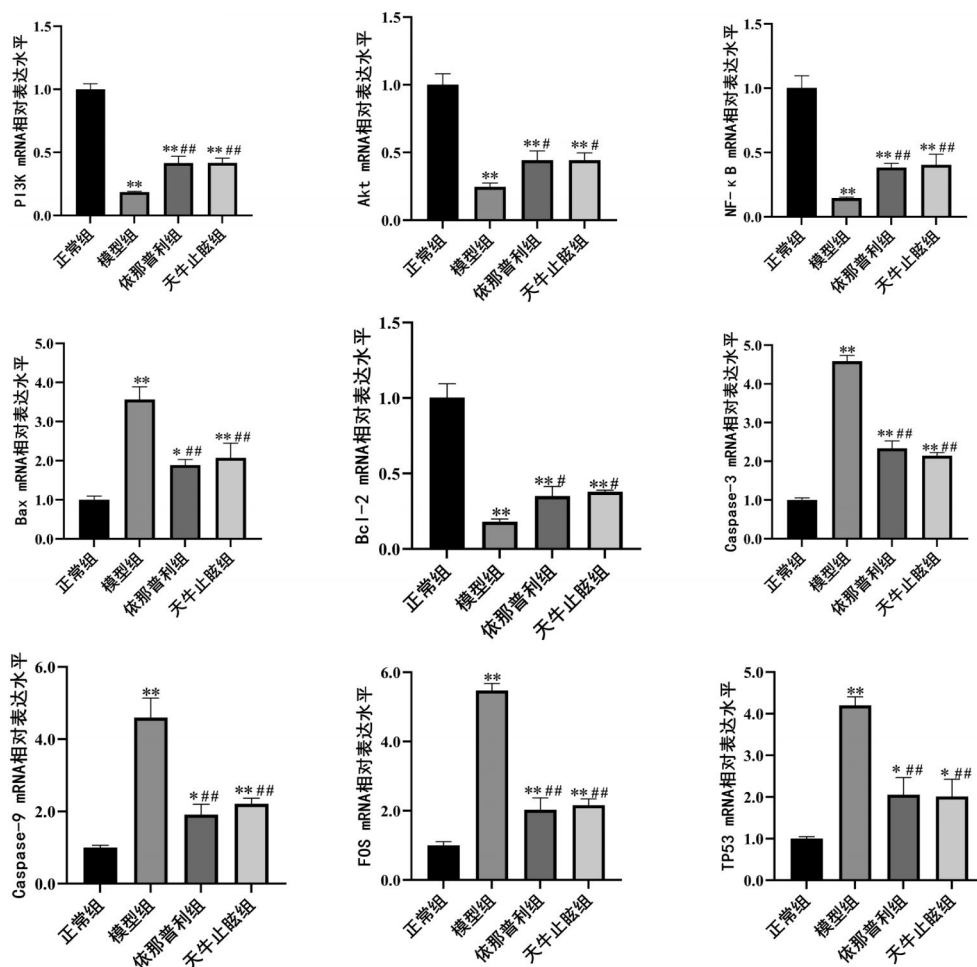


图3 各组大鼠心肌组织 PI3K、Akt、NF-κB、Bax、Bcl-2、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 mRNA 表达水平比较

Fig.3 Comparison of mRNA expression levels of PI3K, Akt, NF-κB, Bax, Bcl-2, Caspase-3, Caspase-9, FOS, and TP53 in myocardial tissue among different groups of rats

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

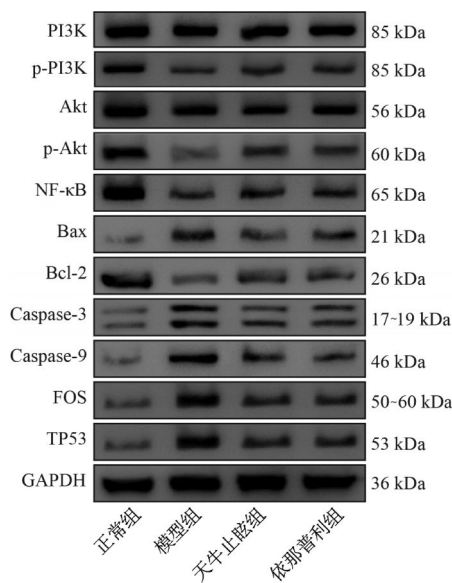


图4 各组大鼠心肌组织 PI3K、Akt、NF-κB、Bax、Bcl-2、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 蛋白表达条带图

Fig.4 Protein bands of PI3K, Akt, NF-κB, Bax, Bcl-2, Caspase-3, Caspase-9, FOS, and TP53 in myocardial tissue in each group of rats

降压效果。

RAAS 对心室重塑的不良影响主要源于 Ang II 表达的增加^[20]。在本研究中,以依那普利作为阳性药物,其为血管紧张素转化酶抑制剂类代表药物,可通过抑制 RAAS 激活,发挥抗高血压心室重塑的作用^[21]。本研究结果表明,与模型组比较,天牛止眩组 SHR 血压显著下降,血清 Renin、Ang II、ALD 含量降低,表明天牛止眩胶囊可抑制 RAAS 激活,从而发挥降压作用。

在心室重塑过程中,心肌细胞凋亡是导致心肌细胞数量减少、心脏功能受损的重要因素。在正常情况下,PI3K/Akt 信号通路的激活可促进心肌细胞的存活以及心肌细胞代谢,从而提高心肌细胞的能量供应,维持正常的结构和功能^[22]。PI3K 可激活其下游关键靶蛋白 Akt,活化的 Akt 通过磷酸化活化或抑制多个下游靶蛋白如 NF-κB、Bax、Caspase-3、

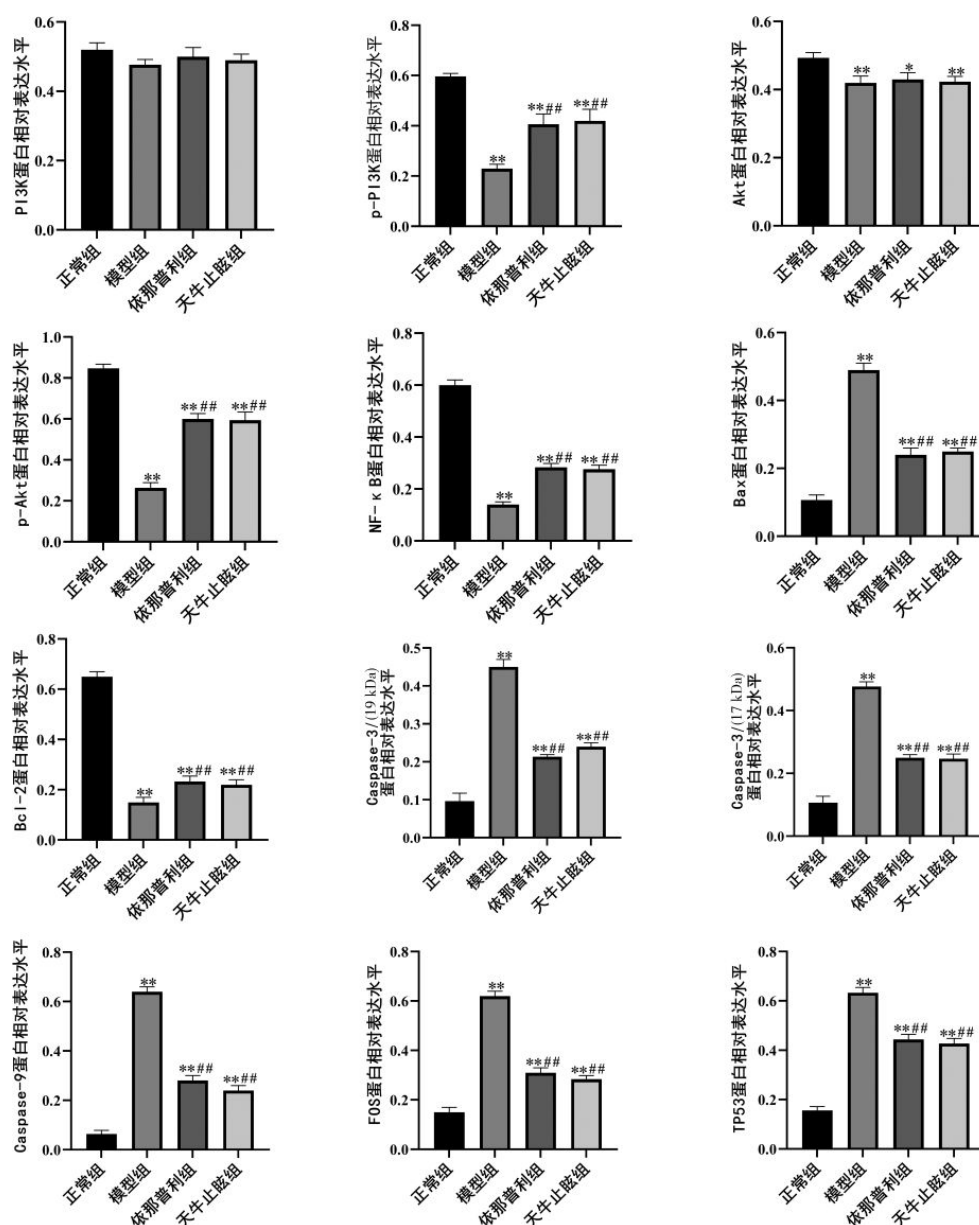


图5 各组大鼠心肌组织 PI3K、Akt、NF-κB、Bax、Bcl-2、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 蛋白表达水平比较

Fig.5 Comparison of protein expression levels of PI3K, Akt, NF-κB, Bax, Bcl-2, Caspase-3, Caspase-9, FOS, and TP53 in myocardial tissue among different groups of rats

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.01$ 。

Caspase-9 调控细胞凋亡^[23]。抗凋亡蛋白 Bcl-2 通过抑制 Bax 等促凋亡蛋白的寡聚化,控制上游细胞色素 C 的释放和下游 Caspase-3 蛋白酶的活化并介导细胞凋亡^[24]。FOS 调控细胞增殖、分化、凋亡和侵袭^[25]。TP53/Caspase 信号通路能诱导细胞周期发生停滞和促进细胞发生凋亡^[26]。WANG 等^[27]研究发现,使用 Ang II 对原代心脏微血管内皮细胞进行诱导,可使内皮细胞出现凋亡,下游 PI3K、Akt、p-Akt、Bcl-2、Bax、Caspase-3 表达受到抑制,当使用 PI3K 抑制剂后,内皮细胞凋亡减少。本研究中,与模型组比

较,天牛止眩组心肌细胞形态相对正常,细胞凋亡率降低;心肌组织中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、FOS、TP53 mRNA 及蛋白表达降低,PI3K、Akt、NF-κB、Bcl-2 mRNA 升高,p-PI3K、p-Akt、NF-κB、Bcl-2 蛋白表达升高。表明 PI3K/Akt 信号通路可能是天牛止眩胶囊发挥抗 RAAS 激活、抗心室重塑的潜在途径。

综上所述,本研究结果表明,天牛止眩胶囊在降压的同时,可改善原发性高血压导致的心室重塑,其作用机制可能与抑制 RAAS 激活、减少心肌细胞凋

亡有关,PI3K/Akt 信号通路可能是其发挥作用的重要信号通路。

参考文献

- [1] MILLS K T, STEFANESCU A, HE J. The global epidemiology of hypertension[J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2020, 16(4): 223–237.
- [2] 国家心血管病中心, 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2023 概要[J]. *中国循环杂志*, 2024, 39(7): 625–660.
- [3] HASELER E, SINHA M D. Hypertension in children and young adults[J]. *Pediatric Clinics of North America*, 2022, 69(6): 1165–1180.
- [4] 蔺金玲, 刘永铭. 沙库巴曲缬沙坦治疗难治性心力衰竭患者疗效及安全性的 Meta 分析[J]. *中国心血管病研究*, 2022, 20(3): 266–271.
- [5] KIRKPATRICK J N, ST JOHN SUTTON M. Assessment of ventricular remodeling in heart failure clinical trials[J]. *Current Heart Failure Reports*, 2012, 9(4): 328–336.
- [6] 陈新宇. 血压平治疗高血压病临床疗效观察[J]. *湖南中医药导报*, 1999, 5(4): 18–19.
- [7] 陈新宇, 郭振球, 朱梅菊, 等. 养肝清肝平肝法治疗精神紧张性高血压病及其对血管紧张素 II 的影响[J]. *湖南中医学院学报*, 2001, 12(4): 41–44.
- [8] 陈新宇, 郭振球, 谢小兵, 等. 养肝清肝法对实验性高血压大鼠降压效果及其对左心室肥厚等的影响[J]. *中国中医急症*, 2002, 11(1): 45–46, 80.
- [9] 朱智显, 张小琴, 蔡虎志, 等. 天牛止眩胶囊对自发性高血压大鼠心肌 lncRNA MEG3/miR-21 调控 PTEN 诱导左心室肥厚的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(3): 437–442.
- [10] 徐叔云, 卞如谦, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 826–827.
- [11] 危致芊, 李佑飞, 蔡虎志, 等. 血压平胶囊对自发性高血压大鼠心肌 Toll 样受体 2、4、MyD88 表达的影响[J]. *中成药*, 2017, 39(5): 1067–1070.
- [12] SUN X, JIA B, SUN J, et al. *Gastrodia elata* Blume: A review of its mechanisms and functions on cardiovascular systems[J]. *Fitoterapia*, 2023, 167: 105511.
- [13] XU N, XIE Q, CHEN Y, et al. Gastrodin alleviates angiotensin II-induced hypertension and myocardial apoptosis via inhibition of the PRDX2/p53 pathway in vivo and in vitro [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, 17(9): 1200.
- [14] 张留记, 张海波, 屠万倩, 等. 怀菊花总黄酮对自发性高血压大鼠的降压作用及机制研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2015, 27(4): 592–597.
- [15] GAO T, ZHU Z Y, ZHOU X, et al. *Chrysanthemum morifolium* extract improves hypertension-induced cardiac hypertrophy in rats by reduction of blood pressure and inhibition of myocardial hypoxia inducible factor-1 α expression[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2016, 54(12): 2895–2900.
- [16] ZHANG G, LIN X, SHAO Y, et al. Berberine reduces endothelial injury and arterial stiffness in spontaneously hypertensive rats[J]. *Clinical and Experimental Hypertension*, 2020, 42(3): 257–265.
- [17] 张典, 袁秉祥, 孙红. 酸枣仁总皂甙对原发性高血压大鼠的降压作用[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2003, 24(1): 59–60.
- [18] 张翔宇, 曹世杰, 王小莹, 等. 汉防己甲素及其衍生物的研究进展[J]. *中国药物化学杂志*, 2022, 32(1): 43–52.
- [19] 黄莉, 谭辉, 孙宇洁, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨怀牛膝治疗高血压的物质基础和作用机制[J]. *现代中医药*, 2023, 43(3): 97–105.
- [20] AMES M K, ATKINS C E, PITT B. The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression[J]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2019, 33(2): 363–382.
- [21] CAREY R M, MORAN A E, WHELTON P K. Treatment of hypertension: A review[J]. *JAMA*, 2022, 328(18): 1849–1861.
- [22] QIN W, CAO L, MASSEY I Y. Role of PI3K/AKT signaling pathway in cardiac fibrosis[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2021, 476(11): 4045–4049.
- [23] 钟缘, 蒋鹏飞, 赵盼, 等. 基于 PI3K/AKT 信号通路探讨益气养阴活血利水方抑制早期糖尿病视网膜病变大鼠微血管周细胞凋亡的作用机制[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(11): 2024–2033.
- [24] LEE H J, LEE E K, SEO Y E, et al. Roles of Bcl-2 and caspase-9 and -3 in CD30-induced human eosinophil apoptosis[J]. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*, 2017, 50(2): 145–152.
- [25] DURCHDEWALD M, ANGEL P, HESS J. The transcription factor Fos: A Janus-type regulator in health and disease[J]. *Histology and Histopathology*, 2009, 24(11): 1451–1461.
- [26] LV Y, ZHOU Y B, JIN Z Y, et al. Structural characterization of galactomannan sulfated modification products with different molecular weight fractions and their in vitro anti-lung cancer activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 315(Pt1): 144326.
- [27] WANG Y, FAN Y, SONG Y, et al. Angiotensin II induces apoptosis of cardiac microvascular endothelial cells via regulating PTP1B/PI3K/Akt pathway[J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 2019, 55(10): 801–811.

(本文编辑 周旦)