

· 基础研究 ·

桑杞清眩液对自发性高血压大鼠
血清代谢组学的影响吴佳芸¹ 李玲玲¹ 乔佳君¹ 孙 瑞¹ 杨德爽¹ 姚睿祺¹ 黄 力²

摘要 **目的** 探讨桑杞清眩液对原发性高血压病的潜在作用机制。**方法** 采用随机数字表法将 12 只雄性自发性高血压大鼠 (SHR) 分为模型组与干预组, 每组 6 只; 另随机取 6 只雄性 WKY 大鼠作为空白对照组。模型组、空白组给予蒸馏水灌胃, 干预组给予 1.05 g/mL 的桑杞清眩液灌胃, 均持续干预 90 天。记录干预前后各组大鼠体重, 采用小动物无创血压分析系统检测各组大鼠收缩压 (SBP), 采集大鼠血清, 通过超高效液相质谱与串联质谱联用 (HPLC-MS) 的方法筛选出差异性代谢物并进行通路富集分析。**结果** 与空白组比较, 模型组 SBP 明显升高 ($P<0.01$), 干预后与模型组比较, 干预组大鼠一般情况改善, 且 SBP 降低 ($P<0.01$)。3 组大鼠的血清代谢谱呈现明显的分离趋势, 模型组稳定性良好。经桑杞清眩液干预后发现, 干预组大鼠整体代谢模式、代谢谱与模型组比较, 存在明显差异, 共鉴定出 20 个潜在标志代谢差异物, 其中涉及多种氨基酸的生物合成与代谢, 主要包括精氨酸的合成与代谢以及甘氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸代谢途径; 此外也影响丙酸代谢和 mTOR 信号通路。**结论** 桑杞清眩液可使 SHR 血清代谢趋向正常, 其机制可能与逆转 L-Arg/NO 途径异常、抑制氧化应激有关。

关键词 高血压; 桑杞清眩液; 血清; 代谢组学; 高效液相色谱-质谱联用; 氧化应激

Effect of Sangqi Qingxuan Decoction on Serum Metabolomics of Spontaneously Hypertensive Rats WU Jia-yun¹, LI Ling-ling¹, QIAO Jia-jun¹, Sun RUI¹, YANG De-shuang¹, YAO Rui-qi¹, and HUANG Li² 1 China-Japan Friendship College of Clinical Medicine Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 2 Department of Integrative Cardiology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029)

ABSTRACT **Objective** To investigate the potential effect mechanisms of Sangqi Qingxuan Decoction (SQQXD) on essential hypertension. **Methods** Totally 12 male spontaneously hypertensive rats (SHRs) were randomly divided into the model group ($n=6$) and the treatment group ($n=6$) using a random digit table and another 6 randomly-selected male WKY rats were served as the control group. The model and control group were orally administered with distilled water for 90 days while the treatment group received 1.05 g/mL SQQXD in the same time period. Body weight of rats before and after intervention were recorded, and systolic blood pressure (SBP) was measured by a caudal artery sphygmomanometer. Collected rat serum were detected by HPLC-MS, after which remarkable metabolites were screened out and underwent a pathway enrichment analysis. **Results** Compared with the control group, the SBP of the model group was markedly increased ($P<0.01$). SBP of the treatment group was dramatically reduced after intervention in comparison to the model group ($P<0.01$). Serum metabolic profiles of the 3 groups showed an evident separating trend and a good stability of the SHR model. Moreover, there were significant differences between the model group and the treatment group in the overall metabolic pattern and individual metabolites. In total, 12 potential landmark metabolites were identified, and key pathways involved were synthesis and metabolism of various amino acids including arginine, glycine, serine and phenylalanine, effects on propionic acid metabolism, and the mTOR signaling pathway.

作者单位: 1. 北京中医药大学中日友好临床医学院 (北京 100029); 2. 中日友好医院中西医结合心血管内科 (北京 100029)

通讯作者: 黄 力, Tel: 010-84205041; E-mail: lihstrong@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20210131. 032

Conclusion Serum metabolic profiles of SHR could be restored by SQQXD possibly through reversion of L-Arg/NO pathway abnormality and inhibition of oxidative stress.

KEYWORDS hypertension; Sangqi Qingxuan Decoction; serum; metabolomics; HPLC-MS; oxidative stress

高血压病 (hypertension, HTN) 是临床中发病率最高的心血管疾病, 也是脑卒中、冠心病等的重要危险因素, 其发病与炎症激活、氧化应激、内皮损伤等多环节密切相关, 引起的靶器官损害亦已成为患者死亡的主因^[1]。桑杞清眩液 (原名: 降压脉净液) 是中日友好医院黄力教授凝聚近 30 年临床经验而成, 疗效广受患者好评的院内制剂^[2]。课题组前期临床研究发现, 桑杞清眩液能有效改善 HTN 患者血压、整体症状和血管内皮功能, 并能有效降低血脂和升高过氧化物酶水平^[3,4]。基础研究发现其很可能是通过提高过氧化物酶体增殖体受体 (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 而降低转化生长因子 (transforming growth factor beta, TGF- β)、核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 等炎症因子水平发挥降低自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rat, SHR) 血压和减轻靶器官损害的^[5]。本研究首次采用代谢组学的方法探讨桑杞清眩液对 SHR 血清代谢物的影响, 从小分子生物代谢产物的角度全新阐释其治疗 HTN 的潜在作用机制, 为临床应用提供新的着眼点。

材料与方法

1 动物 SPF 级雄性 SHR 12 只, 8 周龄, 体重 180~200 g, 用小动物无创血压分析系统监测大鼠血压, 至 12 周, 体重 232~259 g 血压平稳后开始干预。SPF 级 WKY 大鼠 6 只, 8 周龄, 体重 185~205 g, 同样至 12 周, 体重 236~254 g 开始干预。动物购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: SYXK (京) 2016-0043, 实验动物合格证编号: SCXK (京) 2016-0006。分笼饲养于中日友好医院临研所动物实验中心 SPF 级实验室, 以标准饲料喂养, 每笼饲养 3 只, 环境温度控制在 23~28 °C、湿度控制在 (50 $\pm$ 5)%、12 h/12 h 光明黑暗循环, 食物和饮水可自由获取。本研究通过中日友好医院伦理委员会审批 (No. 180209)。

2 药物制备 桑杞清眩液成分包括中药桑寄生、枸杞子、决明子、丹参、野菊花。药材统一购于北京同仁堂药材有限责任公司, 由卫生部中日友好医院药理学制剂室制备。将上述桑寄生、枸杞子、野菊花加水煎煮 3 次, 每次 1 h, 滤过, 合并煎液, 滤液浓缩

至相对密度约 1.07 (60 °C 测), 待恢复室温后离心取上清液; 丹参、决明子等用醇提取 3 次后滤过, 得到滤液。将二者合并后继续浓缩至相对密度约 1.26 (60 °C 测) 的稠膏, 以 1:3 比例稀释得到混悬液, 灭菌后保存于 4 °C, 使用前先水浴加热恢复至室温。

3 主要试剂与仪器 甲醇、乙腈 (色谱纯, 美国 Merck 公司, 货号分别为: I1014107923、JB0886630); 标准品 (色谱纯, BioBioPha/Sigma-Aldrich 公司)。BP 2000 小动物无创血压分析系统: 美国 Vistitech Systems 公司; 广泛靶向代谢组质谱仪: QTRAP 6500+AB SCIEX 公司; 色谱仪: UPLC 30A SHIMADZU 公司; 色谱柱: Waters 公司 ACQUITY UPLC HSS T3 C18 1.8 μ m 规格: 2.1 mm $\times$ 100 mm; 离心机: Eppendorf 5427 R 台式高速冷冻离心机; 超高效液相色谱 (UPLC, Shim-pack UFLC SHIMADZU CBM30A, <https://www.shimadzu.com/>) 和串联质谱 (MS/MS, QTRAP, <https://sciex.com/>)。

4 动物分组及干预方法 12 只雄性 SHR 适应性喂养 1 周, 随后按随机数字表法选取其中 6 只作为模型组, 其余 6 只选入干预组。6 只雄性 WKY 大鼠适应性喂养 1 周, 作为空白对照组。在 12 周 SHR 血压稳定后, 开始给予空白对照组和模型组蒸馏水灌胃, 干预组则予桑杞清眩液灌胃。依据人和动物间体表面积折算的等效剂量比值表计算, 换算得出大鼠的服药剂量是人的 6.3 倍^[6]。经计算, 桑杞清眩液组大鼠每次给药剂量为 1.05 g/100 g 体重, 而模型组和正常组则以 1 mL/100 g 体重予以等量蒸馏水灌胃, 每天给药 2 次, 间隔 6 h, 共 90 天。

5 检测指标及方法

5.1 一般情况 观察大鼠体重、摄食饮食、精神状态、毛色、打斗情况及大便性状。

5.2 血压测量 每周在同一时间段、同一平台通道测量大鼠尾动脉血压 1 次 (使大鼠能充分适应平台刺激, 以保证血压值的稳定与可靠性)。最终取给药前、给药后 45、90 天测量所得收缩压 (systolic blood pressure, SBP) 结果用于分析, 其中每个时间点的每组大鼠取 10 组测量值, 以其中波形更符合良好判定标准的 6 组的均值作为血压值。

5.3 血清采集及代谢组学检测 末次给药后禁食 24 h, 不禁水。腹腔注射 10% 水合氯醛 (40 mg/kg)

麻醉大鼠后经腹主动脉采血, 常温静置血样 2 h 后 3 000 r/min 离心 10 min, 立即提取上清液分装在 200 μ L EP 管内 -80°C 保存。从 -80°C 冰箱中取出样本于冰上解冻, 解冻后涡旋 10 s 混匀。取样本 50 μ L 于 EP 管中, 加入 150 μ L 预冷的冰甲醇 (含 1 μ g/mL 的 2-氯苯丙氨酸作为内标)。涡旋 3 min 后 12 000 r/min, 4°C 离心 10 min。离心后吸取上清液到一个新的 EP 管中。将上清液在 12 000 r/min, 4°C 下再离心 5 min, 取上清液到进样瓶内衬管中, 用于质谱色谱联用分析。

液相条件主要包括: 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C18 1.8 μ m, 2.1 mm $\times$ 100 mm; 流动相: A 相为超纯水 (0.04% 的乙酸), B 相为乙腈 (0.04% 的乙酸); 洗脱梯度: 0 min 水/乙腈 (95:5 V/V), 11.0 min 为 5:95 V/V, 12.0 min 为 5:95 V/V, 12.1 min 为 95:5 V/V, 14.0 min 为 95:5 V/V; 流速 0.4 mL/min; 柱温 40°C ; 进样量 2 μ L。质谱条件主要包括: 电喷雾离子源温度 500°C , 质谱电压 5 500 V (positive), -4 500 V (negative), 离子源气体 I 55 psi, 气体 II 60 psi, 气帘气 25 psi, 碰撞诱导电离参数设置为高。在三重四极杆中, 每个离子对是根据优化的去簇电压和碰撞能进行扫描检测。

6 代谢组分析

6.1 样本质控分析 在仪器分析的过程中, 每 10 个检测分析样本中插入一个质控样本 (quality control, QC), 以监测分析过程的重复性。QC 样本由全部样本的提取液等体积混合制备而成, 用于监测分析样本在相同的处理方法下的重复性。通过对不同质控 QC 样本质谱检测分析的总离子流图 (total ion chromatography, TIC) 进行重叠展示分析, 可以判断代谢物提取和检测的重复性。

6.2 代谢物数据定性定量分析与差异物筛选 基于自建数据库根据检测物质的保留时间 (retention time, RT)、子母离子对信息及二级谱进行代谢物定性分析。定量分析是利用三重四极杆质谱的多反应监测模式 (multiple reaction monitoring, MRM) 完成。利用软件 Analyst 1.6.3 预先处理质谱数据, 使用 R 包 (www.r-project.org) 和 MetaboAnalyst R 完成主成分分析 (principal component analysis, PCA)、聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least square discriminant analysis, OPLS-DA), OPLS-DA 前事先进行数据对数变换 ($\log_2$) 和均值定心。为避免过

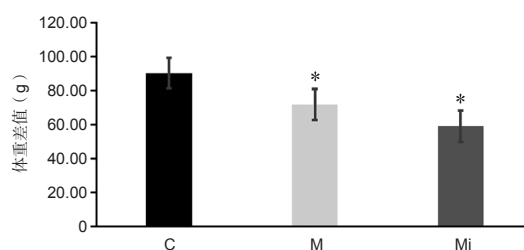
拟合, 进行 200 个排列检验。最后先以变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) >1 的标准初步筛选寻找差异代谢物; 再用 SPSS 进一步对上述差异性代谢标志物进行单变量统计分析, 得到 VIP >1 且 t 检验或非参数检验下 $P<0.05$ 或 fold change 值 ≥ 2 及 ≤ 0.5 的代谢物, 确定其为最终的差异性代谢物。

6.3 差异代谢物功能注释与通路富集 利用京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG, <http://www.genome.jp/kegg/>) 数据库对筛选出的差异代谢物进行注释并将注释结果按照 KEGG 中通路类型进行分类, 最后进行通路富集分析。

7 统计学方法 采用 SPSS 16.0 及 GraphPad Prism 6.0 进行统计分析, 呈正态分布的计量资料用表示, 两组比较采用 t 检验, 多组比较采用 ANOVA 方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般情况 (图 1) 与空白组比较, 模型组和干预组大鼠干预前后体重差值增加较少 ($P<0.05$); 模型组与干预组体重差值比较, 差异无统计学差异 ($P>0.05$)。模型组大鼠精神十分活跃, 反应快, 对声音刺激敏感, 情绪易激惹, 经常打斗, 部分皮肤可见抓痕或血痂, 易咬人; 毛发发黄、粗糙且欠缺光泽, 摄食较多但饮水较少, 大便成形且偏硬。空白组大鼠则精神较为平和, 对刺激的反应适中, 情绪较为稳定, 打斗较少; 毛发较软且有光泽, 饮水和摄食适中, 大便正常。干预组大鼠则脾性较为温和, 易激惹性降低, 打斗减少, 毛色改善, 饮水增加, 大便成形且偏软。



注: C 为空白组; M 为模型组; Mi 为干预组; 与 C 组比较, $*P<0.05$

图 1 各组大鼠干预前后体重差值比较

2 各组大鼠治疗前后 SBP 比较 (表 1) 在干预后 45、90 天与空白组比较, 模型组 SBP 均升高 ($P<0.01$), 模型成功且稳定; 与模型组同期比较, 干

预组大鼠 SBP 均有明显下降, 且干预后 90 天差异有统计学意义 ($P<0.01$)。

表 1 各组大鼠治疗前后 SBP 比较 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	治疗前	干预后 45 天	干预后 90 天
空白	6	176.50 $\pm$ 5.67	178.17 $\pm$ 4.25	175.33 $\pm$ 2.31
模型	6	233.50 $\pm$ 3.33*	234.67 $\pm$ 2.72*	232.67 $\pm$ 1.84*
干预	6	235.17 $\pm$ 1.19	226.67 $\pm$ 1.93	220.17 $\pm$ 4.44 Δ

注: 与空白组同期比较, * $P<0.01$; 与模型组同期比较, $\Delta P<0.01$

3 UPLC/MS/MS 结果 (图 2~4) 正常组与模型组大鼠色谱峰不同, 而桑杞清眩液干预后的干预组与模型组的峰形也存在明显差异。

4 各组大鼠血清代谢物多元统计分析结果 (图 5) 二维 PCA 和 OPLS-DA 结果显示, 三组大鼠血清代谢谱之间存在明显差异, 模型组代谢模式与空白组明

显分离, 而经桑杞清眩液干预的干预组其代谢模式趋向于正常 (空白组)。

5 血清差异代谢物鉴定与分析结果 (表 2, 图 6) 干预组与模型组比较, 两组之间的代谢模式及代谢产物种类有明显差异, 共鉴定出潜在生物标志物 20 个, 其中 2 个下调, 18 个上调。上调的有: 刺桐碱、丁香酸、肠二醇、肌酸、苯氧乙酸、N- 邻甲苯酰 - 甘氨酸、甲基丙二酸、L- 精氨酸、N- 乙酰鸟氨酸、茶氨酸、苯乙酰甘氨酸、N- 苯乙酰基 -L- 谷氨酰胺、1- 甲基组氨酸、N- 乙酰基 -L- 丙氨酸等; 下调的有: 吡啶 -3- 丙酸与 P- 醋氨酚 - β -D- 葡萄糖苷酸, 详细生物信息见表 2。VIP 值图、火山图分别展示了各个代谢物的 VIP 值及代谢物在模型组与干预组两组样品中表达水平的差异及其显著性, 图中红色的点代表上调差异表达代谢物, 绿色的点代表下调差异表达代

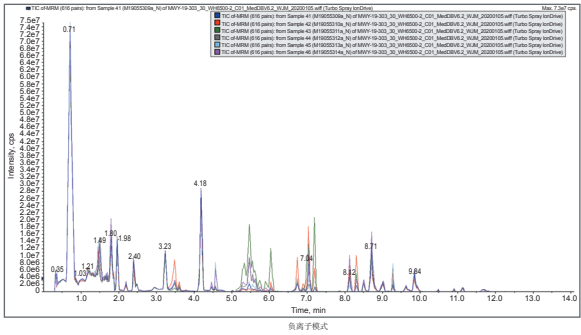


图 2 空白组 TIC 图

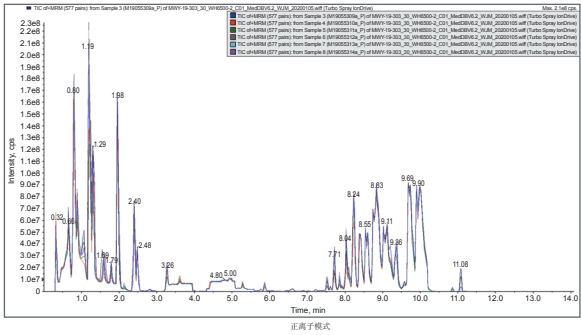


图 3 模型组 TIC 图

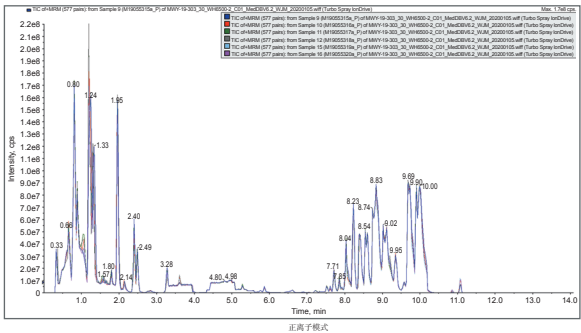
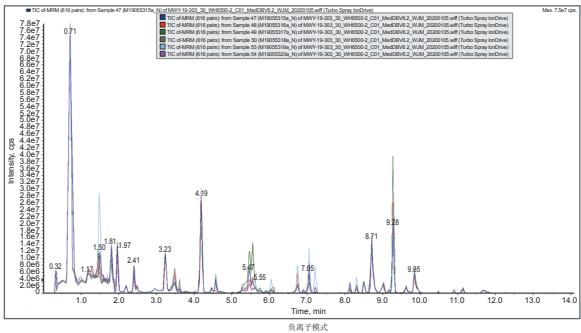


图 4 干预组 TIC 图

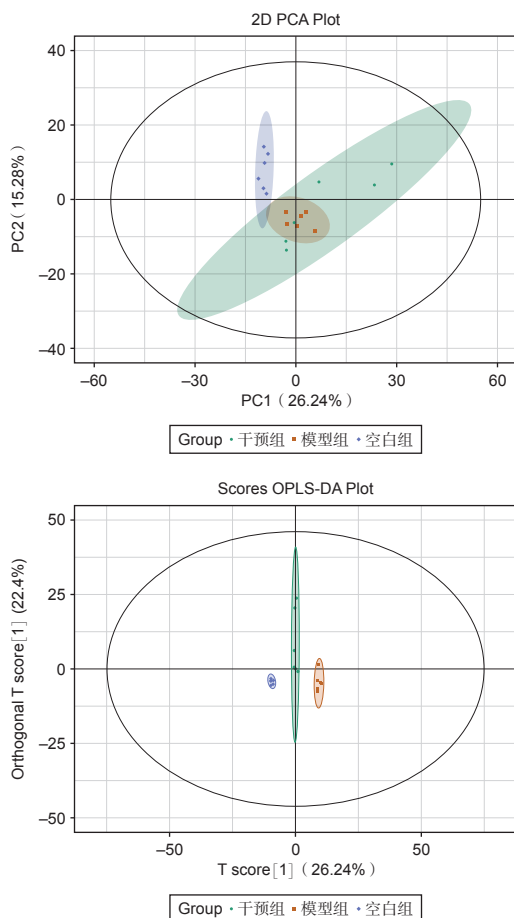


图5 各组二维 PCA 和 OPLS-DA 得分图

代谢物, 灰点代表检测到但两组差异不显著的代谢物。而从韦恩图可以看出 3 组大鼠代谢产物存在部分交集, 干预组与模型组、空白组比较后有 5 种共同的差异代谢物。聚类分析热图显示的是对代谢物在不同样本间的积累模式的聚类分析结果。

6 血清代谢物通路分析 (图 7) 桑杞清眩液干预 SHR 的体内代谢途径主要是参与作用于氨基酸的生物合成与代谢, 主要包括精氨酸的合成与代谢以及甘氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸代谢途径; 此外,

编号	物质名称	分子式	VIP 值	Fold change 值	趋势
MEDN083	丁香酸	$C_9H_{10}O_5$	1.47	2.82	↑
MEDN121	肠二醇	$C_{18}H_{22}O_4$	1.71	2730.93	↑
MEDN305	肌酸	$C_4H_9N_3O_2$	1.89	2.10	↑
MEDN335	甲基丙二酸	$C_4H_6O_4$	1.06	2.12	↑
MEDN720	N- 邻甲苯酰 - 甘氨酸	$C_{10}H_{11}NO_3$	1.17	3.23	↑
MEDN729	苯氧乙酸	$C_8H_8O_3$	1.35	5683.26	↑
MEDN827	N- 乙酰鸟氨酸	$C_7H_{14}N_2O_3$	1.16	2.53	↑
MEDP010	L- 精氨酸	$C_6H_{14}N_4O_2$	1.27	2.28	↑
MEDP059	茶氨酸	$C_7H_{14}N_2O_3$	1.32	2.18	↑
MEDP073	苯乙酰甘氨酸	$C_{10}H_{11}NO_3$	1.18	2.69	↑
MEDP077	N- 苯乙酰基 -L- 谷氨酰胺	$C_{13}H_{15}NO_6$	1.05	3.81	↑
MEDP084	氧化三甲胺	C_3H_9NO	1.18	4.57	↑
MEDP147	1- 甲基组氨酸	$C_7H_{11}N_3O_2$	1.51	3.09	↑
MEDP271	吡啶 -3- 丙酸	$C_{11}H_{11}NO_2$	2.16	0.44	↓
MEDP277	吡啶 -3- 乙酸	$C_{10}H_9NO_2$	1.71	2.34	↑
MEDP371	P- 醋酐酚 -β - D- 葡萄糖苷	$C_{14}H_{17}NO_8$	1.49	0.43	↓
MEDP525	N- 乙酰基 -L- 丙氨酸	$C_5H_9NO_3$	1.66	2.21	↑
MEDP541	δ - 戊丙酰胺	C_5H_9NO	1.46	2.28	↑
MEDP831	DL-1- 氨基 -2- 丙醇	C_3H_9NO	1.27	4.34	↑
MEDP874	刺桐碱	$C_{14}H_{18}N_2O_2$	2.90	72883.52	↑

还影响丙酸代谢, 并涉及调节 mTOR 信号通路发挥作用。

讨 论

本研究发现, 桑杞清眩液干预后大鼠血清中 L- 精氨酸 (L-arginine, L-Arg)、N- 苯乙酰基 -L- 谷氨酰胺、肌酸、1- 甲基组氨酸等与精氨酸 (arginine, Arg) 代谢、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 形成有

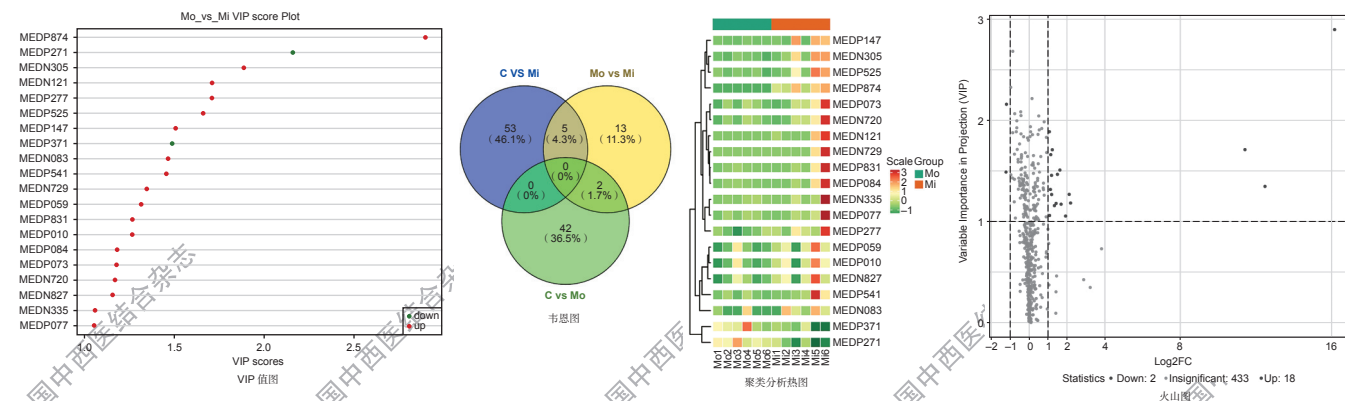


图6 差异代谢物韦恩图、VIP 值图、聚类分析热图与火山图

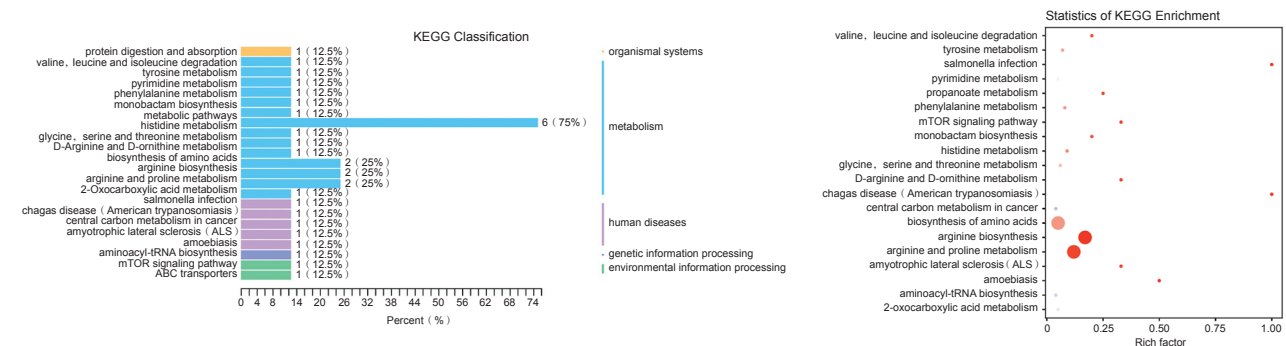


图 7 差异代谢物 KEGG 分类与富集分析结果

相关的代谢物水平显著升高，与既往大多有关 HTN 与这些物质之间联系的研究结果保持一致^[7,8]，这些提示桑杞清眩液干预后最主要影响的代谢途径是 Arg 合成与代谢，其主要可能是通过逆转 L-Arg/NO 途径异常，提高舒血管因子 NO 水平，并促进 GSH 水平和氧化还原系统稳定，对抗活性氧类（reactive oxygen species, ROS）引起的氧化应激来影响 SHR，降低其血压的。结合文献分 3 点分析讨论如下：首先是 Arg 代谢方面。Arg 是 Arg 在体内发挥生物活性的主要形式，也是内皮源性 NO 的主要合成底物^[9]。L-Arg/NO 途径正常是维持内皮生理功能、调节血管舒缩和张力、抗血栓形成的重要前提。HTN 是引发血管内皮损伤的始动因子，而内皮损伤后 L-Arg/NO 途径发生异常导致 NO 介导的内皮依赖性血管舒张功能失调（endothelium-dependent dilation, EDD）又是血压进一步恶化的原因^[10]，二者互为因果，互相促进，形成恶性循环。研究发现，内皮一氧化氮合酶（endothelial nitric oxide synthase, eNOS）基因打乱的小鼠清醒状态下平均血压比野生型小鼠高 20 mmHg^[11]；内皮细胞对 NO 的生物利用度降低可能引发高血压^[12]，而动物实验又证实 SHR 体内存在的 EDD 受损可能与 ROX 依赖的 ROS 大量产生有关^[13]。L-Arg 的缺乏与内皮炎症和氧化应激关系密切并可造成血流异常^[14]；而口服补充 Arg 可降低血压 5.39/2.66 mmHg^[9]，且可逆转 L-Arg/NO 异常，促进 NO 生成而降低内皮素（endothelin, ET），纠正不对称二甲基精氨酸与 L-Arg 之间的失衡，降低血压，还能抑制炎症因子表达，增加过氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）活性，清除体内 ROS^[15,16]。

其次，Arg 代谢产生的谷氨酰胺本身既参与抑制炎症反应的过程^[17]，更是体内 GSH 的重要来源。GSH 是细胞内主要的氧化还原缓冲物质，是许多抗氧化酶的辅助因子。它自身可被氧化成二硫化物形

式（oxidative glutathione, GSSG），后又可通过还原性辅酶 II（nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH）和 FAD 依赖的谷胱甘肽还原酶（glutathione reductase, GR）转化，回归 GSH 的形式^[18]，这一过程在维持细胞氧化状态和控制线粒体 ROS 产生中至关重要^[19]。研究显示，HTN 与 GSH 代谢紊乱关系密切。HTN 患者体内 GSSG 升高，使得体内发生持久的氧化应激反应，抗氧化能力减弱^[20]；同时患者 GR 活性也存在异常，而降压治疗能减少氧化应激，提高 GSH 而降低 GSSG，并可显著改善 GR 活性^[21]。GSH 不足导致的 ROS 过多还会影响 eNOS 抑制 NO 生成。

再次，本研究中的其他多种氨基酸代谢产物亦参与血管炎症和能量代谢。甘氨酸主要通过丝氨酸途径合成，具有抗炎、免疫调节作用，参与 GSH 的合成^[22,23]，并能通过恢复 GSH 减轻大鼠血管氧化应激^[24]。丝、甘氨酸代谢正常，有助于抑炎并维持线粒体内氧化还原体系的平衡^[25]。丙氨酸是短链脂肪酸之一，参与促进脂肪与糖代谢^[26]。吡咯丙氨酸由肠道生孢菌降解色氨酸产生，它对肠道通透性有影响，且可促进系统炎症^[27]。苯丙氨酸不仅可调节血管活性物质合成，还与维生素合成有关，后者与 ROS 清除、抗氧化关系紧密。此外，其还可降低 SHR 血压，逆转左室肥厚^[28]。

此外，课题组前期观察了数百例 HTN 患者，并对桑杞清眩的临床作用特点和对血管内皮的影响进行了研究^[3,4,29,30]。其中一项对 78 例肝肾阴虚、痰浊内阻型 HTN 患者的研究发现，桑杞清眩治疗 4 周后治疗组与对照组自身前后比较，SBP 与舒张压（diastolic blood pressure, DBP）均显著降低（ $P < 0.01$ ， $P < 0.05$ ）。两组总有效率分别为 90.6% 和 85.7%，桑杞清眩有效率稍高且治疗后患者平均 SBP、DBP 均低于对照组，血清 ET 降低（ P 均 < 0.001 ），降钙素相关基因肽升高（ $P < 0.01$ ），SOD 亦有上升^[30]。另一研究

更发现, 桑杞清眩治疗 8 周后 HTN 患者总降幅分别为 10.64 mmHg 和 6.64 mmHg ($P < 0.01$); 24 h 晨峰平均 SBP 降低, 而谷峰比值升高 (P 均 < 0.05); 血流介导的血管舒张功能 (flow mediated dilation, FMD) 值治疗后明显上升 (绝对值 2.16, $P < 0.01$), 血清 SOD 有升高趋势, 但差异无统计学意义^[4]。

综上, 桑杞清眩液的主要针对对象是中医辨证为肝肾阴虚、痰浊内阻的 HTN 患者, 其可有效降压, 同时改善 ET 和 SOD 水平, 提高 FMD, 这与本研究结果相辅相成、互为呼应。本实验中经桑杞清眩液干预后 L-Arg 升高, 利于改善 HTN 状态下 L-Arg/NO 途径异常, 促进 NO 合成并降低 ET, 改善 EDD, 保护血管内皮。同时, 谷氨酰胺等的升高更有助于 GSH 合成和 SOD 增加, 进而减轻氧化应激所产生的血管和靶器官损害。由此推测, 桑杞清眩液对 SHR 发挥降压作用的机制可能是通过参与调节多种氨基酸尤其是调节 Arg 代谢、影响 GSH 形成和干预 mTOR 信号来实现的。本研究首次从血清代谢组学入手初步探索了桑杞清眩液对 HTN 的作用机制, 为 HTN 治疗提供了新思路, 具体的作用机制仍有待进一步实验验证。

利益冲突: 本研究不存在任何利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 白尧勇, 龙超年. 我国高血压病流行特征及防治策略[J]. 疾病监测与控制, 2016, 10 (9): 722-725.
- [2] 李琳, 冯润, 黄力. 桑杞清眩颗粒干预自发性高血压大鼠心肌细胞凋亡的实验研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13 (6): 743-745.
- [3] 黄力, 杨学青, 毛建生, 等. 降压脉净液治疗高血压病的临床观察[J]. 北京中医药大学学报 (中医临床版), 2006, (2): 16-18.
- [4] 李艳君. 桑杞清眩颗粒治疗原发性高血压及对血管内皮功能影响的临床观察[D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [5] Chen LY, Pan CS, Wei XH, et al. Sang-qi Granula reduces blood pressure and myocardial fibrosis by suppressing inflammatory responses associated with the peroxisome proliferator-activated receptors and nuclear factor kappa B protein in spontaneously hypertensive rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 721-729.
- [6] 徐叔云主编. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 203.
- [7] Lekakis JP, Papathanassiou S, Papaioannou TG, et al. Oral L-arginine improves endothelial dysfunction in patients with essential hypertension[J]. Int J Cardiol, 2002, 86 (2-3): 317-323.
- [8] Rodrigo R, Prat H, Passalacqua W, et al. Relationship between oxidative stress and essential hypertension[J]. Hypertens Res, 2007, 30 (12): 1159-1167.
- [9] Khalaf D, Kruger M, Wehland M, et al. The effects of Oral L-Arginine and L-Citrulline supplementation on blood pressure[J]. Nutrients, 2019, 11 (7): 1679.
- [10] Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86 (9): 3375-3378.
- [11] Huang PL, Huang Z, Mashimo H, et al. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase[J]. Nature, 1995, 377 (6546): 239-242.
- [12] Chaudhary P, Pandey A, Azad CS, et al. Association of oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension[J]. Anal Biochem, 2020, 590: 113535.
- [13] Mukohda M, Mizuno R, Ozaki H. Increased blood pressure causes lymphatic endothelial dysfunction via oxidative stress in spontaneously hypertensive rats[J]. Hypertension, 2020: A11914636.
- [14] Sepandi M, Abbaszadeh S, Qobady S, et al. Effect of L-Arginine supplementation on lipid profiles and inflammatory markers: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Pharmacol Res, 2019, 148: 104407.
- [15] Strohle A, von Bibra H, Hahn A. L-Arginine and vascular health[J]. Med Monatsschr Pharm, 2016, 39 (12): 515-520.
- [16] Gokce N. L-arginine and hypertension[J]. J Nutr, 2004, 134 (10 Suppl): 2807S-2811S.
- [17] Singleton KD, Beckey VE, Wischmeyer PE. Glutamine prevents activation of NF-kappaB and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis[J].

- Shock, 2005, 24 (6): 583–589.
- [18] Robaczewska J, Kedziora-Kornatowska K, Kozakiewicz M, et al. Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense systems in hypertension[J]. J Physiol Pharmacol, 2016, 67 (3): 331–337.
- [19] Yu Q, Lee CF, Wang W, et al. Elimination of NADPH oxidase activity promotes reductive stress and sensitizes the heart to ischemic injury[J]. J Am Heart Assoc, 2014, 3 (1): e555.
- [20] Redon J, Oliva MR, Tormos C, et al. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension[J]. Hypertension, 2003, 41 (5): 1096–1101.
- [21] Chaves FJ, Mansego ML, Blesa S, et al. Inadequate cytoplasmic antioxidant enzymes response contributes to the oxidative stress in human hypertension[J]. Am J Hypertens, 2007, 20 (1): 62–69.
- [22] 范小庆, 扈金萍. 甘氨酸生理功能与代谢研究进展[J]. 国际药理学杂志, 2018, 45 (2): 102–107.
- [23] Hasegawa S, Ichiyama T, Sonaka I, et al. Cysteine, histidine and glycine exhibit anti-inflammatory effects in human coronary arterial endothelial cells[J]. Clin Exp Immunol, 2012, 167 (2): 269–274.
- [24] Ruiz-Ramirez A, Ortiz-Balderas E, Cardozo-Saldana G, et al. Glycine restores glutathione and protects against oxidative stress in vascular tissue from sucrose-fed rats[J]. Clin Sci (Lond), 2014, 126 (1): 19–29.
- [25] Wang F, Zhou H, Deng L, et al. Serine deficiency exacerbates inflammation and oxidative stress via Microbiota-Gut-Brain axis in D-Galactose-Induced aging mice[J]. Mediators Inflamm, 2020, 2020: 5821428.
- [26] 刘鸿飞, 魏云林, 卢磊磊, 等. 短链脂肪酸受体 GPR43 的研究进展[J]. 生命科学研究, 2014, 18 (6): 557–564.
- [27] Dodd D, Spitzer MH, Van Treuren W, et al. A gut bacterial pathway metabolizes aromatic amino acids into nine circulating metabolites[J]. Nature, 2017, 551 (7682): 648–652.
- [28] Stevens SM, Reinier K, Chugh SS. Increased left ventricular mass as a predictor of sudden cardiac death: is it time to put it to the test?[J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2013, 6 (1): 212–217.
- [29] 杨学青. 降压脉净冲剂治疗高血压的临床研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2003.
- [30] 黄力. 降压脉净治疗高血压的临床观察及干预高血压心肌纤维化的实验研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2006.
- (收稿: 2020-06-29 在线: 2021-03-31)
责任编辑: 白 霞