

半夏白术天麻汤通过 Ang II/TGF- β 1/smad 通路 干预合并血脂异常自发性高血压病大鼠心肌纤维化

英哲铭,宋因,曹媛,贾连群,杨关林

(辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847)

摘要:目的 探究半夏白术天麻汤通过调控 Ang II/TGF- β 1/smad 通路对高脂喂饲的自发性高血压病大鼠心肌纤维化的影响。方法 选取 10 只 Wistar-Kyoto(WKY)大鼠和 48 只自发性高血压病大鼠(SHR),将 SHR 大鼠随机分为 6 组,每组 8 只,分别为对照组(WKY-ND)、高血压病组(SHR-ND)、高脂高血压病组(SHR-HF)、半夏白术天麻汤低(BDL)、中(BDM)、高(BDH)剂量组和西药(Telmisartan)组。所有大鼠适应性喂养 1 周后,给予 WKY-ND 组和 SHR-ND 组大鼠普通饲料,其余各组给予高脂饲料,喂养 8 周。造模成功后,给予 WKY-ND 组、SHR-ND 组和 SHR-HF 组等体积生理盐水,其余各组给予药物干预 12 周。之后进行大鼠心肌组织取材,采用苏木素-伊红染色(HE)观察大鼠心肌细胞形态、采用马松(Masson)染色观察心肌组织胶原纤维的含量;ELISA 法检测血清中 Ang II、IL-6、TNF- α 、NO、ox-LDL、LOX-1、ROS 的含量;免疫组织化学方法检测心肌组织 α -SMA、Col I、Col III 的表达;采用 Western blot 检测心肌组织 TGF- β 1、p-smad2、p-smad3、MMP2、TIMP1 蛋白表达水平。结果 HE、Masson 染色显示,给药后心肌细胞大小更均匀,形态更完整,细胞核清晰,胶原纤维面积减少,以半夏白术天麻汤高剂量组给药后改变更为明显;与 SHR-ND 组相比,SHR-HF 组大鼠血清中 Ang II、IL-6、TNF- α 、ox-LDL、LOX-1、ROS 水平明显升高,NO 水平明显降低;与 SHR-HF 组相比,各给药组 Ang II、IL-6、TNF- α 、ox-LDL、LOX-1、ROS 水平明显降低,NO 水平明显升高;与 SHR-ND 组相比,SHR-HF 组大鼠心肌组织中 Col I、Col III、 α -SMA 蛋白水平显著升高;与 SHR-HF 组相比,各给药组 Col I、Col III、 α -SMA 蛋白水平显著降低;与 SHR-ND 组相比,SHR-HF 组大鼠心肌组织中 p-smad2、p-smad3、MMP2 的蛋白水平显著升高,TIMP1 的蛋白水平显著降低。与 SHR-HF 组相比,BD 组大鼠心肌组织中的 TGF- β 1、p-smad2、p-smad3、MMP2 显著降低,TIMP1 显著升高。结论 半夏白术天麻汤可通过调节 Ang II/TGF- β 1/smad 信号通路,影响高脂喂养 SHR 大鼠心肌纤维化。

关键词:半夏白术天麻汤;自发性高血压病大鼠;心肌纤维化;血脂异常;TGF- β 1/smad 通路

中图分类号:R256.2

文献标志码:A

文章编号:1673-7717(2024)09-0120-09

Banxia Baizhu Tianma Decoction(半夏白术天麻汤) Intervenes in Myocardial Fibrosis in SHR Rats Combined with Dyslipidemia through Ang II/TGF- β 1/smad Pathway

YING Zheming, SONG Nan, CAO Yuan, JIA Lianqun, YANG Guanlin

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China)

Abstract: *Objective* To explore the effect of Banxia Baizhu Tianma Decoction(BD) on the myocardial fibrosis of the spontaneously hypertensive rats(SHR) fed with high fat by regulating angiotensin II(Ang II)/transforming growth factor- β 1(TGF- β 1)/smad pathway. *Methods* Ten Wistar Kyoto(WKY) rats were being as the control group(WKY-ND) and 48 SHR were randomly divided into six groups(eight in each group) including hypertension(SHR-ND), high-fat hypertension(SHR-HF), low dose(BDL), medium dose(BDM), high dose(BDH) and western medicine(telmisartan) groups. After 1 week of adaptive feeding, all rats in the WKY-ND and SHR-ND groups were given the regular feed, while the other groups were given high-fat feed for 8 weeks. After successful modeling, the WKY-ND, SHR-ND and SHR-HF groups were given the equal volumes of physiological saline, while the other groups were given medication intervention for 12 weeks. And then, the myocardial tissue samples were taken out from the rats. The morphology of myocardial cells was observed by hematoxylin eosin staining(HE), and the contents of collagen fibers in myocardial tissue was observed by Masson staining. ELISA was used to detect the levels of Ang II, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6(IL-6), nitric oxide(NO), oxidative modified low-density lipoprotein(ox-LDL), lectin like oxidized low density lipoprotein receptor 1(LOX-1) and reactive oxygen species(ROS) in the rat serums. The immunohistochemistry(IHC) method was used to detect the protein expressions of collagen type I(Col I), collagen type III(Col III) and α -smooth muscle actin(α -SMA). Western blot was used to detect the protein

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82074145);辽宁省自然科学基金项目(2020-MS-228);辽宁省教育厅项目(L202016)

作者简介:英哲铭(1994-),女(满族),辽宁沈阳人,医师,博士在读,研究方向:中西医结合防治心血管病。

通讯作者:杨关林(1962-),男(锡伯族),黑龙江肇东人,教授,博士研究生导师,硕士,研究方向:中西医结合防治心脑血管疾病。

E-mail: yang-guanlin@163.com.

贾连群(1975-),女,辽宁营口人,教授,博士研究生导师,博士后,研究方向:中西医结合防治心血管病。E-mail: jllq-8@163.com.

expressions of TGF- β 1, phosphorylation signal transduction molecule 2 (p-smad2), phosphorylation signal transduction molecule 3 (p-smad3), matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and recombinant tissue inhibitors of metalloproteinase 1 (TIMP1). **Results** HE and Masson stainings showed that the myocardial cells were more uniform in size, more complete in shape, clear in nucleus, and reduced in collagen fiber area after administration, obviously in BDH group. Compared with those of the SHR-ND group, the levels of Ang II, TNF- α , IL-6, ox-LDL, LOX-1 and ROS in the serum of the rats in SHR-HF group were significantly increased, while the levels of NO were significantly reduced. Compared with those of the SHR-HF group, the levels of Ang II, TNF- α , IL-6, ox-LDL, LOX-1 and ROS in each treatment group were significantly reduced, while the levels of NO were significantly increased. Compared with the SHR-ND group, the SHR-HF group significantly increased the levels of Col I, Col III and α -SMA proteins in the myocardial tissue of rats. Compared with those of the SHR-HF group, the levels of Col I, Col III and α -SMA proteins in each treatment group were significantly reduced. Compared with those of the SHR-ND group, the protein levels of p-smad2, p-smad3 and MMP2 in the myocardial tissue of the rats of SHR-HF group were significantly increased, while the protein levels of TIMP1 were significantly reduced. Compared with those of the SHR-HF group, the levels of TGF- β 1, p-smad2, p-smad3 and MMP2 in the myocardial tissue of rats in the BD group were significantly reduced, while TIMP1 was significantly increased. **Conclusion** BD can affect myocardial fibrosis in SHR rats fed with high fat by regulating Ang II/TGF- β 1/smud signaling pathway.

Keywords: Banxia Baizhu Tianma Decoction(半夏白术天麻汤); spontaneous hypertensive rats; myocardial fibrosis; dyslipidemia; TGF- β 1/smud pathway

目前,我国约有2.45亿高血压病患者,占心血管病患病人数的74.2%,是我国心血管病主要危险因素^[1],高血压病患者中合并至少一种血脂异常的患者占41.3%^[2]。研究表明,患有血脂异常的高血压病患者会加剧心脏靶器官的损伤,并增加心血管疾病和死亡的风险^[3-4]。心肌纤维化是高血压病过程中常见的并发症,可诱导心肌重塑,导致左心室顺应性、舒张和收缩功能障碍,进一步导致左心室失代偿,最终导致心力衰竭^[5]。

研究表明,TGF- β 1是参与心肌纤维化的重要细胞因子,TGF- β 1/smud信号通路在高血压病心肌纤维化的病理形成过程中起关键性作用^[6]。半夏白术天麻汤在现代临床中被广泛应用于降低血压和改善血脂异常,且疗效显著。方中成分能够抑制炎症反应,保护血管内皮细胞和抑制心肌纤维化。因此,本研究建立高脂喂养自发性高血压病大鼠(SHR)模型,探究半夏白术天麻汤能否通过调控TGF- β 1/smud通路改善合并血脂异常的高血压病心肌纤维化,为临床应用半夏白术天麻汤防治心肌纤维化提供参考依据。

1 材料

1.1 动物 选取10只健康SPF级Wistar-Kyoto(WKY)大鼠和48只自发性高血压病大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR),6~8周龄,体质量(200±20)g,实验动物的来源和生产许可证号:SYXK(吉)2019-0007,购买自北京维通利华实验动物科技有限公司,动物饲养于长春维石科技生理实验室。本研究经长春维石检测技术服务有限公司动物伦理委员会批准(20201028-02)。实验前,所有动物都被适应性喂养了1周,自由获得标准水和食物。昼夜光照周期为12h。室内饲养环境温度22~24℃、相对湿度为40%~50%。

1.2 药物 半夏白术天麻汤方:半夏9g,白术18g,天麻6g,茯苓6g,橘红6g,炙甘草3g,所有药材均购买于辽宁中医药大学附属医院。药材经过浸泡煎煮,过滤,浓缩至含生药0.504g/mL,冷却后4℃保存,根据大鼠与人的体表面积比值表换算给药剂量,灌胃前加热至温热。替米沙坦片(规格:80mg/片,上海勃林格殷格翰药业有限公司,批号:J20180016)。

1.3 试剂 Elisa试剂盒包括血管紧张素II(Ang II)(YJ058803、源桔生物)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)(YJ300761、源桔生物)、氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)(YJ003011)、凝集素样氧化型低浓度脂蛋白受体1(LOX-1)(YJ923364)、活

性氧(ROS)(YJ028511、源桔生物)、白细胞介素-6(IL-6)(YJ102828、源桔生物)均购自上海远聚生物技术中心。一氧化氮(NO)(A013-2-1南京建成)购自南京建成生物工程研究院。抗体包括I型胶原(Col I)(ab260043,ab270993)、Ⅲ型胶原(Col III)(ab184993,ab6310)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)(Ms)(ab7817)、转化生长因子 β 1(TGF- β 1)(ab215715)、smad2(ab40855)、smad3(ab40554)和MMP2(ab86607)购自Abcam(上海)贸易有限公司。APS(A1030)、金属蛋白酶组织抑制剂1(TIMPI)(Absin,abs131990)、p-smad2(18338)、p-smad3(9520)和LC3A/B(12741)购自Cell Signaling Technology, Inc(CST)。ECL显色试剂盒(Thermo Scientific,34577),PVDF膜(Millipore,IPVH85R)。

1.4 仪器设备 酶标仪(上海科华实验系统有限公司,ST-360);石蜡切片机(德国Leica,RM2235);电泳仪(北京六一公司,DYY-6C)。

2 方法

2.1 分组、造模及药物干预方式 将48只SHR大鼠随机分为6组,每组8只,分别为高血压病组(SHR-ND)、高脂高血压病组(SHR-HF)、半夏白术天麻汤低剂量组(BDL)、中剂量组(BDM)、高剂量组(BDH)和西药组(Telmisartan),10只WKY大鼠作为对照组(WKY-ND)。给予WKY-ND组和SHR-ND组大鼠普通饲料,其余各组给予高脂饲料(15%猪油、20%蔗糖、1.2%胆固醇、0.2%胆盐、0.2%甲基硫氧嘧啶,混合83.3%),喂养8周。普通饲料,日2次,喂养8周,建立血脂异常合并高血压病大鼠模型。自由饮水,限制活动。造模成功后,给予WKY-ND组、SHR-ND组和SHR-HF组等体积0.9%生理盐水,给予BDL、BDM、BDH组大鼠半夏白术天麻汤(2.52、5.04、10.08g/kg⁻¹·d⁻¹)连续灌胃,西药组给予替米沙坦片8.4mg/kg⁻¹·d⁻¹连续灌胃,日1次,给药12周。

2.2 HE、Masson染色观察大鼠心肌组织病理改变 取大鼠心脏组织,用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤,并在4%多聚甲醛中固定超过24h。然后将心脏脱水、石蜡包埋,切割4 μ m,进行HE、Masson染色,脱水、透明、封片,使用光学显微镜观察心肌细胞的形态变化和心肌胶原的分布。成像完成后使用Image-Pro Plus 6.0分析软件,分别测量每张切片中3个视野的胶原纤维面积,以及对对应视野的组织面积,并计算出胶原纤维的面积百分比(%)=胶原纤维面积/组织面积*100。

2.3 酶联免疫吸附实验(ELISA)测定大鼠血清中 Ang II、IL-6、TNF- α 、NO、ox-LDL、LOX-1、ROS 水平 根据 ELISA 试剂盒说明书操作,取大鼠血清样品置于 EP 管中,设定空白对照孔、标准孔和待测样品孔。将标准样品、待测样品加入酶标板中。用密封膜密封板,在 37℃ 下孵育 30 min。清洗,拍干。除空白孔外添加 50 μ L 的酶标记试剂,温育,洗涤,拍干。着色,终止。酶标仪经空白孔调零后,在 450 nm 的波长下依次测量每个孔的吸光度(OD)并分析。

2.4 免疫组织化学(IHC)方法检测大鼠心肌组织 Col I、Col III、 α -SMA 蛋白表达水平 取大鼠心脏,进行常规石蜡包埋切片,然后脱蜡至水,抗原修复,H₂O₂ 孵育,封闭,一抗二抗孵育,封片,镜检。

2.5 蛋白免疫印迹(Western blot)法检测大鼠心肌组织 TGF- β 1、smad2、p-smad2、p-smad3、smad3、MMP2、TIMP1 蛋白表达水平 取大鼠心脏组织,称重,加入蛋白裂解液提取总蛋白,BCA 试剂盒测定蛋白浓度,根据不同的蛋白质分子量制备不同浓度的 SDS-PAGE 凝胶。根据浓度调整加样量,按照每孔 30 μ g 蛋白质加入到每个孔中。进行电泳,转膜,封闭。在 3% BSA 中按比例稀释一抗,4℃ 层析柜中摇床过夜。二抗孵育,室温下,摇床孵育 1 h。蛋白质用 ECL 发光试剂检测。最后,通过 image j 分析条带灰度值。

2.6 统计分析 数据采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。通过正态分布和方差齐性检验后,各组实验的所有数据均表示为均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)。多组之间的比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠心肌组织形态学变化 HE 染色结果显示,WKY 组心肌组织形态完好,排列规则有序。与 SHR-ND 组相比,SHR-HF 组大部分心肌细胞分界不清,细胞核明显增大深染,边缘部分肌纤维溶解并出现严重纤维化。与 SHR-HF 组相比,给药组心肌细胞大小更均匀,形态更完整,细胞核清晰,肌纤维排列紧密,边缘区域有小面积分散性纤维化,基本没有炎症细胞浸润,其中 BXH 组和 Telmisartan 组的改善程度更为明显。见插页 XV 图 1。

Masson 染色结果显示,与 SNR-ND 组相比,SHR-HF 组的胶原纤维面积显著增加,整体深染,呈粗大网络状。药物干预后,与 SHR-HF 组相比,蓝染的胶原纤维面积减少,其中以 BXH 组改善程度更明显($P<0.05$, $P<0.01$)。见插页 XVI 图 2、插页 XVII 图 3。

3.2 半夏白术天麻汤对大鼠血清 Ang II、IL-6、TNF- α 、NO、ox-LDL、LOX-1、ROS 水平的影响 与 SHR-ND 组相比 SHR-HF 组大鼠血清中 Ang II、TNF- α 、IL-6、ox-LDL、LOX-1、ROS 水平均显著升高($P<0.05$, $P<0.01$),NO 水平显著降低($P<0.01$);与 SHR-HF 组相比各给药组 Ang II、TNF- α 、IL-6、ox-LDL、LOX-1、ROS 水平显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),NO 水平显著升高($P<0.01$)。见插页 XVII 图 4。

3.3 半夏白术天麻汤对大鼠心肌组织 Col I、Col III、 α -SMA 蛋白表达水平得影响 与 SHR-ND 组相比,SHR-HF 组 α -SMA、Col I 和 Col III 蛋白表达水平明显升高;与 SHR-HF 组相比,各给药组蛋白表达水平明显降低,以半夏白术天麻汤高剂量组最为明显。见插页 XVIII 图 5。

3.4 半夏白术天麻汤对大鼠心肌组织 TGF- β 1、p-smad2、p-smad3、MMP2、TIMP1 蛋白表达水平的影响 与 SHR-ND

组相比,SHR-HF 组大鼠心肌组织中 p-smad2、p-smad3、MMP2 的蛋白水平显著升高($P<0.05$),TIMP1 的蛋白水平显著降低($P<0.01$)。与 SHR-HF 组相比,半夏白术天麻汤高剂量(BD)组大鼠心肌组织中的 TGF- β 1、p-smad2、p-smad3、MMP2 显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),TIMP1 显著升高($P<0.01$)。见插页 XIX 图 6。

4 讨论

中医学中并没有高血压病、血脂异常和心肌纤维化三者的病名,目前,通常将高血压病对应中医学所说的“眩晕、头痛、脉胀和肝风”等,血脂异常对应中医“痰浊、膏脂和肥人”等,心肌纤维化被认为归属于“心悸、胸痹和络脉病”等范畴。中医认为,合并血脂异常的高血压病心肌纤维化这一并发症的病机,是由于饮食不节、喜食肥甘厚味,影响后天之本脾的运化功能,导致脾失健运,水津不布,津液代谢失常,进而聚湿生痰,痰湿循经上逆,闭阻清窍加重眩晕、头痛;同时若脾气太过,导致土壅侮木,使得肝郁化火生风从而夹痰上行;另外,痰湿黏滞,阻滞于脉络,使得血府狭窄,会加重脉胀,日久导致心络受损。

临床上主要应用半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型高血压病^[7-8],该方能够降低患者的血压和心率,改善血液流变减轻左室能量损耗^[9],能够调节血脂异常^[10],减轻氧化应激及炎症反应^[11]。同时,还具有明显改善盐敏感性,改善高血压病模型大鼠的血流动力学指标,降低大鼠血清中血管紧张素 II 和内皮素的含量,提高模型大鼠血清中 NO 的含量,调节肾素-血管紧张素系统,保护血管内皮,进而降低动脉压逆转左室肥厚的作用^[12-15]。本实验病理组织形态学结果显示,给予半夏白术天麻汤干预后,半夏白术天麻汤高剂量组大鼠心肌细胞大小、形态更为均匀和完整,细胞核也较为清晰,胶原纤维面积减少,排列更加有序,说明半夏白术天麻汤能够影响和减轻合并血脂异常 SHR 大鼠心肌纤维化程度。

高血压病心肌纤维化最突出的特点是肾素-血管紧张素-醛固酮系统高度激活,血管紧张素 II 是肾素-血管紧张素-醛固酮系统的主要效应器,在导致心肌重塑和纤维化的生物学过程中起主导作用^[16]。目前研究认为,TGF- β 1 是最重要的纤维化因子,也是心肌纤维化发生的主要使动因子^[17-19],TGF- β 1/smads 信号通路是高血压病心肌纤维化最重要的通路之一^[20]。当发生高血压病时,巨噬细胞在血管损伤部位激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统,血管紧张素 II 显著升高,与心肌成纤维细胞表面的 Ang II 1 型受体(AT1R)结合,血管紧张素 II 1 型受体是高血压病和纤维化的关键因素^[21],之后进一步激活 TGF- β 1,使其通过旁分泌和自分泌两种途径发挥作用。TGF- β 1 激活后与细胞膜上的 TGFR- β 2 型受体结合,使 TGF- β 2 型受体被活化,进一步募集并识别 TGFR- β 1 型受体,形成 TGFR- β 2 型受体-配体- β 1 型受体的异源三聚体,进一步使其甘氨酸-丝氨酸富集区域发生磷酸化反应,smad2,smad3 蛋白被活化的 TGFR- β 1 型受体磷酸化,与 smad4 蛋白结合共同形成 smad 复合物,smad 复合物与纤维化有关的靶基因结合后转移至细胞核内,启动相关的转录因子和细胞外基质合成相关的基因表达,导致细胞外基质的沉积,同时促进 α -SMA 的表达,心肌成纤维细胞转化为肌成纤维细胞,最终形成心肌纤维化^[19-22]。高血压病心肌纤维化的主要病理特征是心肌成纤维细胞的过度增殖和细胞外基质中胶原异常合成,使得心肌成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,肌成纤维细胞及其持续产生的纤维组织会导致进行性不良心肌重塑,心肌细胞外基质中以 I 型胶原和 III 型胶原为主的胶原纤维比例失衡,排列紊乱,伴有胶原过度沉积,基质硬度增加,当 I 型胶原/III 型胶

原比值增高时,会出现心室顺应性下降,舒张功能受限^[23]。基质金属蛋白酶(MMPs)属于一个由超过25种锌依赖性蛋白水解酶组成的家族,是细胞外基质的主要降解蛋白酶。基质金属蛋白酶活性受到内源性金属蛋白酶组织抑制剂(TIMPs)的严格调节,MMPs与TIMPs的相互作用的平衡维持了间质组织稳态。MMPs和TIMPs水平之间的失衡导致蛋白水解活性失调,不利于细胞外基质重塑^[24-26]。本研究表明半夏白术天麻汤可抑制Col I、Col III、 α -SMA、TGF- β 1、p-smad2、p-smad3、MMP2的表达,同时增加TIMP1蛋白表达,使细胞外基质胶原沉积减少,维持细胞外基质平衡,说明半夏白术天麻汤可能通过调控Ang II/TGF- β 1/smads信号通路改善和延缓合并血脂异常的高血压病心肌纤维化。

凝集素样氧化低密度脂蛋白受体1(LOX-1)是氧化低密度脂蛋白(oxLDL)的特异性受体,可以结合和降解oxLDL,当高血压病合并血脂异常时,LDL被氧化修饰为oxLDL,oxLDL与LOX-1在高血压病损伤的血管内皮细胞膜表面结合,侵入并沉积在损伤的血管内皮细胞,抑制eNOS,减少NO产生,进一步损伤血管的舒缩功能^[27-28],使血压升高,进一步激活RAAS,从而加剧高血压病心肌纤维化。高血压病是一种复杂的疾病,其机制涉及炎症反应、氧化应激和内皮功能障碍^[29],而血脂异常能够通过刺激炎症和氧化应激的作用进而加速这一过程。有研究表明,降低LOX-1可抑制由Ang II诱导的老年小鼠的高血压病心肌纤维化^[30]。本研究结果显示,半夏白术天麻汤能够降低Ang II、TNF- α 、IL-6、ROS、LOX-1和ox-LDL水平,增加NO含量,说明半夏白术天麻汤能够减少炎症反应、氧化应激反应和减弱血管损伤。

综上所述,半夏白术天麻汤可能通过调节Ang II/TGF- β 1/smads通路干预高脂喂养SHR大鼠高血压病心肌纤维化,并减轻高血压病合并血脂异常病程中的炎症反应、氧化应激反应和血管损伤,今后还需进一步通过细胞实验深入研究。

参考文献

[1] 《中国心血管健康与疾病报告2021》概述[J]. 中国心血管病研究,2022,20(7):577-596.

[2] 陈源源,王增武,李建军,等. 高血压患者血压血脂综合管理中国专家共识[J]. 中华高血压杂志,2019,27(7):605-614.

[3] WANG M C, LLOYD-JONES D M. Cardiovascular risk assessment in hypertensive patients[J]. Am J Hypertens, 2021,34(6):569-577.

[4] WILLIAMS B, MANCIA G, SPIERING W, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension[J]. Eur Heart J, 2018,39(33):3021-3104.

[5] LEADER C J, WILKINS G T, WALKER R J. The effect of spironolactone on cardiac and renal fibrosis following myocardial infarction in established hypertension in the transgenic Cyp1a1Ren2 rat[J]. PLoS One, 2021,16(11):e0260554.

[6] HU H H, CHEN D Q, WANG Y N, et al. New insights into TGF- β /Smad signaling in tissue fibrosis[J]. Chem Biol Interact, 2018,292:76-83.

[7] 毛平,李芳. 半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型高血压病的疗效观察[J]. 内蒙古中医药,2022,41(11):20-21.

[8] 张国峰. 半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型高血压的研究进展[J]. 现代诊断与治疗,2022,33(7):972-974.

[9] 张希惠,王飞,丁文波,等. 半夏白术天麻汤对原发性高血压痰浊中阻证患者左心室能量损耗的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2023,30(11):162-166.

[10] 王琪格,隋国媛,丁思元,等. 半夏白术天麻汤通过FOXO1通路对血脂异常合并高血压大鼠DsbA-L/脂联素的影响[J]. 中华

中医药杂志,2022,37(5):2898-2902.

[11] 李继军,荣雅琪,孟尧卿,等. 半夏白术天麻汤下调ApoE^{-/-}小鼠TMAO代谢的作用研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2023,21(18):3336-3341.

[12] 蒋嘉烨,王现珍,罗珊珊,等. 半夏白术天麻汤对自发性高血压大鼠左心室肥厚的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2010,30(10):1061-1066.

[13] 熊兴江,王阶. 论半夏白术天麻汤在高血压病中的运用[J]. 中华中医药杂志,2012,27(11):2862-2865.

[14] JIANG Y H, ZHANG P, TAO Y N, et al. Banxia Baizhu Tianma decoction attenuates obesity-related hypertension[J]. Ethnopharmacol, 2021,10;266:113453.

[15] 孙纪伟,李信军. 半夏白术天麻汤加减对急性缺血性脑卒中老年患者脑血流灌注及血管内皮功能的影响[J]. 实用临床医学,2021,22(2):13-15.

[16] TESTAI L, BRANCALEONE V, FLORI L, et al. Modulation of EndMT by hydrogen sulfide in the prevention of cardiovascular fibrosis[J]. Antioxidants(Basel), 2021,10(6):910.

[17] WYNN T A, RAMALINGAM T R. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease[J]. Nat Med, 2012,18(7):1028-1040.

[18] TEN DIJKE P, ARTHUR H M. Extracellular control of TGF beta signalling in vascular development and disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007,8(11):857-869.

[19] AKHURST R J, HATA A. Targeting the TGF β signalling pathway in disease[J]. Nat Rev Drug Discov, 2012,11(10):790-811.

[20] HU H H, CHEN D Q, WANG Y N, et al. New insights into TGF- β /Smad signaling in tissue fibrosis[J]. Chem Biol Interact, 2018,25(292):76-83.

[21] MORALES M G, VAZQUEZ Y, ACUÑA M J, et al. Angiotensin II-induced pro-fibrotic effects require p38MAPK activity and transforming growth factor beta 1 expression in skeletal muscle cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012,44(11):1993-2002.

[22] MEHRA A, WRANA J L. TGF- β and the Smad signal transduction pathway[J]. Biochem Cell Biol, 2002,80(5):605-622.

[23] GONZÁLEZ A, SCHELBERT E B, DÍEZ J, et al. Myocardial interstitial fibrosis in heart failure: biological and translational perspectives[J]. J Am Coll Cardiol, 2018,71(15):1696-1706.

[24] POLYAKOVA V, LOEFFLER I, HEIN S, et al. Fibrosis in endstage human heart failure: severe changes in collagen metabolism and MMP/TIMP profiles[J]. Int J Cardiol, 2011,151(1):18-33.

[25] KREMASTIOTIS G, HANDA I, JACKSON C, et al. Disparate effects of MMP and TIMP modulation on coronary atherosclerosis and associated myocardial fibrosis[J]. Sci Rep, 2021,11(1):23081.

[26] U SEELAND, C HAEUSELER, R HINRICHS, et al. Myocardial fibrosis in transforming growth factor- β 1(TGF- β 1) transgenic mice is associated with inhibition of interstitial collagenase[J]. Eur J Clin Invest, 2002,32(5):295-303.

[27] KONUKOGLU D, UZUN H. Endothelial dysfunction and hypertension[J]. Adv Exp Med Biol, 2017,956:511-540.

[28] KATTOOR A J, GOEL A, MEHTA J L. LOX-1: regulation, signalling and its role in atherosclerosis[J]. Antioxidants(Basel), 2019,8(7):218.

[29] DINH Q N, DRUMMOND G R, SOBEY C G, et al. Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension[J]. Biomed Res Int, 2014,2014:406960.

[30] LI X, TANG X H, LIU B, et al. LOX-1 deletion attenuates myocardial fibrosis in the aged mice, particularly those with hypertension[J]. Front Cardiovasc Med, 2021,8:736215.