

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.23.003

文章编号: 1005-8982(2016)23-0010-06

论著

白藜芦醇对实验性兔肺动脉高压 相关炎症因子表达的影响*

吴翔, 胡耀华, 邢红宇, 郑才玲, 卓书伟, 高戈
(海南省中医院 检验科, 海南 海口 570203)

摘要:目的 通过检测白藜芦醇(Res)干预后实验性兔肺动脉高压(PAH)模型肺组织中相关细胞因子表达水平的差异,探讨其在 PAH 发病机制中的作用。**方法** 将 36 只新西兰兔随机分为 6 组。对照组(A组):动物皮下注射二甲基亚砜 30 mg/kg。造模组:实验组动物适应性饲养 1 周后,皮下注射野百合碱 30 mg/kg,连续注射 7 d 造模,然后将造模动物随机分为 5 组:模型组(B组)、实验药物组(C组)、高剂量组(D1组)、中剂量组(D2组)、低剂量组(D3组),每组 6 只。注射后第 45 天,分别进行 B 超、心肌细胞苏木精-伊红染色和 Tunnel 染色,检测造模是否成功,造模成功后按体重计算给药剂量,受试药物高剂量 120 mg/(kg·d),中剂量 60 mg/(kg·d),低剂量 30 mg/(kg·d),阳性对照药物前列腺环素 1 mg/(kg·d) 喂饲相应的动物,1 次/d,连续 6 周,每日观察动物的食量、活动、毛色及大小便变化,每周称体重。每隔 2 周随机采集各组实验动物外周血样本,采用酶联免疫吸附法试剂盒,分别对实验动物血清 3 种生物学标志物[转录因子- κ B(NF- κ B)、环氧合酶-2(COX-2)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)]的含量进行检测。**结果** Res 干预实验性兔 PAH 模型后,NF- κ B、COX-2、iNos 血清表达水平改善,其中高剂量组改善效果优于阳性对照药物前列腺环素。且在实验中经对比发现,NF- κ B 的特异性最明显,其他指标虽然有变化,但显著性不如 NF- κ B。**结论** Res 抑制血清中分泌 NF- κ B、COX-2、iNos 的能力优于前列腺环素,Res 可以通过抑制 NF- κ B/iNOS/COX2 通路避免细胞损伤,改善 PAH 症状,表现出和前列腺环素相同或更好的作用。

关键词: 肺动脉高压;白藜芦醇;细胞因子

中图分类号: R544.1

文献标识码: A

Effect of resveratrol on expression of inflammatory factors related to pulmonary arterial hypertension in rabbits*

Xiang Wu, Yao-hua Hu, Hong-yu Xing, Cai-ling Zheng, Shu-wei Zhuo, Ge Gao
(Clinical Laboratory, Hainan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine,
Haikou, Hainan 570203, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of resveratrol on the expression of related cytokines in lung tissue of pulmonary arterial hypertension (PAH) rabbits, and to explore their roles in the pathogenesis of PAH. **Methods** Thirty-six New Zealand rabbits were randomly divided into six groups. In the model control group (group A), the rabbits were subcutaneously injected with DMSO (30 mg/kg). To build the pulmonary arterial hypertension (PAH) model, after one week of adaptive feeding in the experimental group, the rabbits had subcutaneous injection of monocrotaline (MCT, 30 mg/kg) for 7 consecutive days. Then the PAH model animals were randomly divided into 5 groups: model group (group B), positive drug control group (group C), high-dose group (group D1), medium-dose group (group D2), low-dose group (group D3) with 6 in each group. On the

收稿日期:2016-05-17

* 基金项目:海南省卫生计生行业科研项目(No:14A200026)

[通信作者] 高戈, E-mail: ggboxy@163.com

45th day after injection, ultrasonic examination and myocardial cell observation after HE staining and tunnel staining were used to make sure the success of modeling. After successful modeling, the dosage of drug was calculated according to body weight. The rabbits in the groups D1, D2 and D3 were fed with 120 mg/(kg·d) (high dose), 60 mg/(kg·d) (medium dose) and 30 mg/(kg·d) (low dose) of resveratrol respectively; prostacyclin 1 mg/(kg·d) was used to feed the rabbits in the positive drug control group, once a day for 6 week. The changes of food intake, activity, hair color, and urine and feces were observed daily, the rabbits were weighed weekly. Peripheral blood samples were randomly collected from each group every 2 weeks. ELISA kits were used to detect serum levels of transcription factor kappa B (NF- κ B), cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) respectively. **Results** The serum levels of NF- κ B, COX-2 and iNOS were significantly improved after resveratrol intervention in the PAH rabbits, and the effect in the high-dose group was better than that in the positive control group. And among the three indicators NF- κ B had the most obvious specificity. **Conclusions** Resveratrol inhibits serum levels of NF- κ B, COX-2 and iNOS, which is better than that of the prostacyclin. Resveratrol can prevent cell damage and improve symptoms of PAH by inhibiting the NF- κ B/iNOS/COX-2 pathway, which is the same as or better than the effect of prostacyclin.

Keywords: pulmonary arterial hypertension; resveratrol; cytokine

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 是一大类以肺动脉压进行性升高为特点的肺血管疾病^[1]。其主要特征是肺动脉阻塞引起的肺血管阻力进行性升高,同时伴有肺动脉平滑肌细胞的增殖增加、凋亡减少,导致不可逆的肺血管重构^[2]。在这种低氧状态下的炎症细胞浸润于重构的肺动脉周围,并释放出大量的细胞因子,发挥趋化和黏附作用,使肺血管内皮细胞损伤和平滑肌细胞增殖加剧^[3],最终导致患者右室心肌肥厚、心室重构、右心衰竭。现在越来越多的研究表明,多血清学因子参与的炎症机制导致的免疫反应是平滑肌细胞增生的重要原因^[4-5]。目前,对 PAH 的治疗主要集中在新型血管扩张剂,如前列环素类似物、5-羟色胺抑制剂等。该药物对 PAH 来说,虽然能短期改善血管环境,延缓患者病情,但不能从根本上解决 PAH 患者血管重构机制,达到治愈 PAH 的目标^[6]。新的药理学提出,新药物干预要着眼于对抗各种促增殖因子或抑制平滑肌细胞炎症因子的渗出,抑制平滑肌细胞增殖,阻抑炎症细胞因子的渗出,改善肺动脉微环境是治疗 PAH 新的方向。白藜芦醇 (Resveratrol, Res) 一种生物性很强的非黄酮类多酚化合物,是自然界多种植物抵抗外来侵害时产生的一种植物毒素^[7]。对 Res 药理作用的认识来自 1989 年世界卫生组织“世界心血管疾病控制系统 - monic PROJECT (莫尼卡项目)”,认为高脂饮食与冠状动脉粥样硬化性心脏病发生率呈负相关,进一步的研究发现,红葡萄酒中的 Res 对心脏具有保护作用^[8]。以后的研究证实,Res 具有抗氧化、阻滞细胞周期等多种作用^[9-10]。本实验通过检测 Res 干预实

验性兔 PAH 模型肺组织中相关细胞因子表达水平的差异,探讨其在 PAH 发病机制中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康新西兰兔 [中南大学湘雅二医院实验动物室提供,合格证:SCXK(湘)2015-0003] 36 只,雌雄各半,体重 1.5 ~ 2.0 kg。

1.2 实验药物

白藜芦醇 (中南大学化学化工学院研制,纯度 98.5%), 阳性对照药物 (前列腺环素胶囊,浙江海正药业股份有限公司,批号:0504081)。含药溶液的配制:白藜芦醇高剂 120 mg/kg,中剂量 60 mg/kg,低剂量 30 mg/kg,前列腺环素配成浓度 1 mg/ml 的溶液。

1.3 实验方法

1.3.1 模型复制与动物分组 36 只新西兰兔每日观察动物的食量、活动、毛色及大小便变化,每周称体重。随机选取 6 只为 A 组 (对照组):皮下注射二甲基亚砷 30 mg/kg。剩余 30 只实验动物适应性饲养 1 周后,皮下注射野百合碱 30 mg/kg,复制 PAH 动物模型,连续注射 7 d 后,将造模动物随机分为 5 组: B 组 (模型组)、C 组 (实验药物组)、D1 组 (高剂量组)、D2 组 (中剂量组)、D3 组 (低剂量组),每组 6 只。注射后第 45 天,分别进行 B 超、心肌细胞苏木精 - 伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE) 和 Tunnel 染色,检测造模是否成功。

1.3.2 给药 将兔称重,造模成功后按体重计算给药剂量,受试药物按高剂量 120 mg/(kg·d)、中剂量 60 mg/(kg·d)、低剂量 30 mg/(kg·d),阳性对照药物

前列腺环素 1 mg/(kg·d) 喂饲相应的动物, 1 次 /d, 连续 6 周。

1.3.3 检测各模型组外周血各因子的水平 自给药开始, 每隔 2 周随机采集各组实验动物外周血样本, 采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒, 分别对实验动物血清 3 种生物学标志物[转录因子 - κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、环氧合酶 -2(Cyclooxygenase-2, COX-2)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)]的含量进行检测。每份标本双空白对照, 操作严格按试剂盒说明书进行。最后用酶标仪在 450 nm 波长测量各孔吸光度值并计算浓度。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较用重复测量方差分析, 方差齐则两两比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模情况

模型组动物在野百合碱注射后 90 d 出现呼吸困难, 有胸、腹水形成, 并有肝脏淤血、肿大, 心脏增大, 右室壁肥厚等心衰表现。

B 超检查显示, 模型组主要参数变化为三尖瓣

反流速率 >3.4 m/s, 肺动脉收缩压 >50 mmHg。其他参数包括肺动脉瓣反流速率的增加和右射血时间的短暂加速, 右心腔内径增大, 室间隔形状和运动的异常, 右心室壁厚度的增加和主肺动脉扩张。

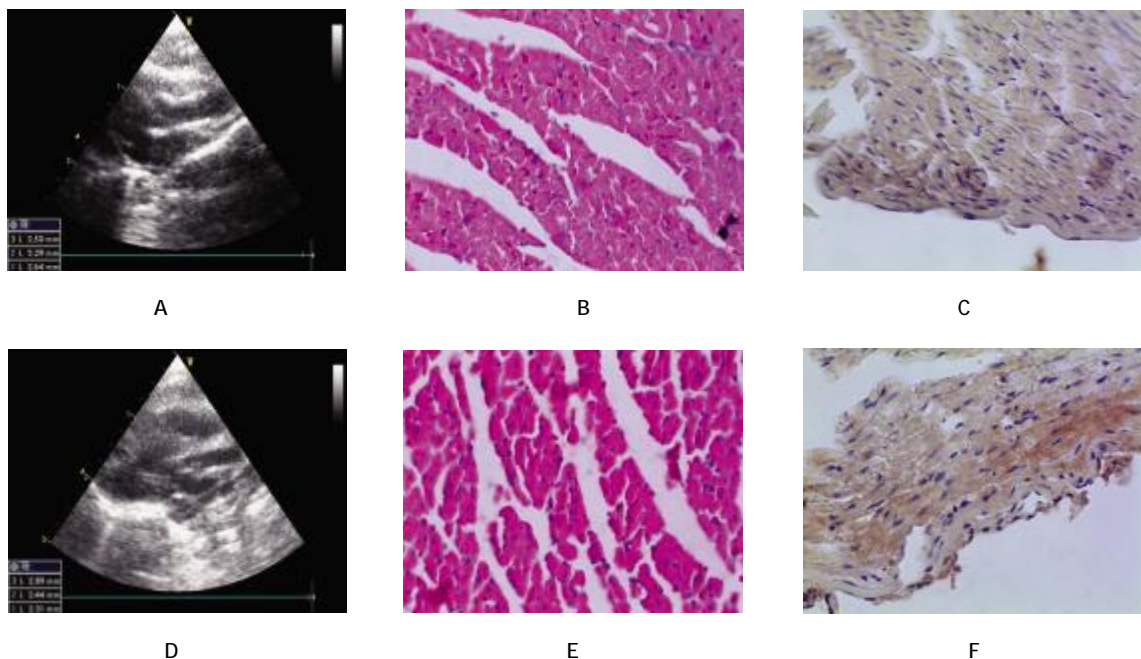
心肌细胞 HE 与 Tunnel 染色对比显示, 心肌细胞肥厚, 排列紊乱。Tunnel 染色显示, 心肌细胞凋亡增加。见附图。

2.2 血清 NF- κ B、COX-2、iNos 水平的变化

各项观察指标证明野百合碱动物模型造模成功。NF- κ B、COX-2、iNos 的浓度在第 2、4 和 6 周与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结合 B 超结果说明实验中第 2、4 和 6 周处于 PAH 发展过程的早期, 说明实验 PAH 模型中该 3 种生物标志物可间接反映 PAH 早期的病理变化, 对早期 PAH 的研究有重要价值。但 NF- κ B、TNF- α 、PGE2、iNOS 在第 6 周特异性更强。且在实验中经过比较发现, NF- κ B 的特异性最为明显, 其他指标虽有变化, 但显著性不如 NF- κ B。

2.2.1 静息状态下血清 NF- κ b 表达的 VAS 评分比较

①模型组与对照组造模后第 2、4、6、8、10 和 12 周静息状态下测量 VAS 评分比较, 经重复测量方差分析, 差异有统计学意义($F=24.643, P=0.000$)。模型组与对照组静息状态下 VAS 评分比较, 差异有统计学意义($F=92.923, P=0.000$), 相比在静息状态



A: 对照组 B 超; B: 对照组 HE 染色($\times 40$); C: 对照组 Tunnel 染色($\times 40$); D: 模型组 B 超; E: 模型组 HE 染色($\times 40$); F: 模型组 Tunnel 染色($\times 40$)

附图 B 超、心肌细胞 HE 和 Tunnel 染色结果

下 VAS 评分比较低。模型组与对照组 VAS 评分变化趋势比较,差异有统计学意义($F=13.576, P=0.000$)。②高、中、低剂量组与实验药物组静息状态下不同时间点 VAS 评分比较,经重复测量方差分析,差异有统计学意义($F=19.646, 21.321$ 和 $17.231, P=0.000$)。高、中、低剂量组与对照组静息状态下 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=88.432, 90.425$ 和 $92.421, P=0.000$),对照组与高、中、低剂量组相比在静息状态下 VAS 评分比较低。高、中、低剂量组与对照组 VAS 评分变化趋势比较,差异有统计学意义($F=13.213, 12.242$ 和 $14.381, P=0.000$)。③高、中剂量组与低剂量组(D3 组)静息状态下不同时间点间 VAS 评分比较,经重复测量方差分析,差异有统计学意义($F=19.995$ 和 $18.543, P=0.000$)。高、中剂量组与低剂量组静息状态下 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=90.311$ 和 $88.921, P=0.000$),高、中剂量组与低剂量组相比在静息状态下 VAS 评分比较低。高、中剂量组与低剂量组 VAS 评分变化趋势比较,差异有统计学意义($F=16.281$ 和 $17.521, P=0.000$)。见表 1。

2.2.2 静息状态下血清 COX-2 表达的 VAS 评分比较 ①模型组与对照组造模后第 2、4、6、8、10 和 12 周比较静息状态下不同时间点间 VAS 评分比较,经重复测量方差分析,差异有统计学意义($F=22.832, P=0.000$)。模型组与对照组静息状态下 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=89.221, P=0.000$),实验组与对照组相比在静息状态下 VAS 评分比较低。实

验组与对照组的 VAS 评分变化趋势比较,差异有统计学意义($F=15.932, P=0.000$)。②高、中、低剂量组与实验药物组(C 组)静息状态下测量 VAS 评分比较,采用重复测量数据的方差分析,不同时间点间的 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=20.021, 18.382$ 和 $19.736, P=0.000$)。高、中、低剂量组与对照组静息状态下 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=90.732, 89.291$ 和 $90.532, P=0.000$),高、中、低剂量组与对照组相比在静息状态下 VAS 评分比较低。高、中、低剂量组与对照组 VAS 评分变化趋势比较,差异有统计学意义($F=16.291, 15.388$ 和 $15.891, P=0.000$)。③中、低剂量组与实验药物组(C 组)静息状态下不同时间点间 VAS 评分比较,经重复测量方差分析,差异有统计学意义($F=17.861$ 和 $17.402, P=0.000$)。高、中剂量组与低剂量组静息状态下 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=92.762$ 和 $90.881, P=0.000$),高、中剂量组与低剂量组相比在静息状态下 VAS 评分比较低。高、中剂量组与低剂量组 VAS 评分变化趋势比较,差异有统计学意义($F=18.621$ 和 $18.832, P=0.000$)。见表 2。

2.2.3 静息状态下血清 iNos 表达的 VAS 评分比较 ①模型组与对照组(A 组)造模后第 2、4、6、8、10 和 12 周比较静息状态下同时间点间 VAS 评分比较,经重复测量方差分析,差异有统计学意义($F=20.438, P=0.000$)。模型组与对照组静息状态下 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=91.125, P=0.000$),对照

表 1 静息状态下血清 NF- κ B 表达的 VAS 评分比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	第 2 周	第 4 周	第 6 周	第 8 周	第 10 周	第 12 周
A 组	3.77 ± 0.55	3.57 ± 0.67	3.63 ± 0.53	3.45 ± 0.63	3.67 ± 0.58	3.69 ± 0.47
B 组	145.65 ± 26.43	174.42 ± 25.32	183.21 ± 28.93	181.43 ± 23.18	163.43 ± 25.32	154.83 ± 21.33
C 组	65.64 ± 16.12	73.73 ± 18.42	76.64 ± 19.53	68.86 ± 17.43	63.76 ± 19.44	60.63 ± 18.94
D1 组	33.54 ± 6.48	36.82 ± 7.43	32.72 ± 5.93	31.73 ± 5.72	26.43 ± 4.92	25.93 ± 4.83
D2 组	43.54 ± 9.54	45.82 ± 9.26	48.63 ± 7.33	42.42 ± 7.38	38.21 ± 6.54	39.64 ± 6.65
D3 组	87.43 ± 17.43	88.83 ± 21.84	84.12 ± 22.37	76.73 ± 20.81	72.51 ± 19.44	70.72 ± 17.82

表 2 静息状态下血清 COX-2 表达的 VAS 评分比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	第 2 周	第 4 周	第 6 周	第 8 周	第 10 周	第 12 周
A 组	5.03 ± 1.56	5.23 ± 1.68	6.04 ± 1.57	5.37 ± 1.62	5.84 ± 1.89	5.18 ± 1.71
B 组	6.43 ± 1.87	6.84 ± 1.79	7.85 ± 1.99	8.03 ± 2.03	8.54 ± 1.67	9.03 ± 2.13
C 组	5.44 ± 1.63	5.37 ± 1.34	5.89 ± 1.73	5.63 ± 1.64	5.55 ± 1.93	5.51 ± 1.63
D1 组	5.07 ± 1.52	5.23 ± 1.62	5.57 ± 1.72	5.32 ± 1.67	5.17 ± 1.83	5.02 ± 1.49
D2 组	5.28 ± 1.54	5.35 ± 1.63	5.46 ± 1.69	5.22 ± 1.46	5.27 ± 1.53	5.11 ± 1.68
D3 组	6.05 ± 1.94	6.23 ± 1.98	7.15 ± 2.07	6.86 ± 1.56	6.62 ± 1.93	6.25 ± 1.77

组与模型组相比在静息状态下 VAS 评分较低。模型组与对照组的 VAS 评分变化趋势比较,差异有统计学意义($F=15.372, P=0.000$)。②高、中、低剂量组与实验药物组(C组)静息状态下不同时间点间 VAS 评分比较,经重复测量方差分析,差异有统计学意义($F=20.41220.448$ 、和 $19.821, P=0.000$)。高、中、低剂量组与对照组静息状态下 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=93.283, 93.295$ 和 $91.436, P=0.000$),对照组与高、中、低剂量组相比在静息状态下 VAS 评分比较低。高、中、低剂量组与对照组 VAS 评分变化

趋势比较,差异有统计学意义($F=15.392, 15.983$ 和 $15.837, P=0.000$)。③高、中剂量组与低剂量组(D3组)静息状态下不同时间点间 VAS 评分比较,经重复测量方差分析,差异有统计学意义($F=21.882$ 和 $20.179, P=0.000$)。高、中剂量组与低剂量组静息状态下 VAS 评分比较,差异有统计学意义($F=92.661$ 和 $91.827, P=0.000$)。高、中剂量组与低剂量组相比在静息状态下 VAS 评分比较低。高、中剂量组与低剂量组 VAS 评分变化趋势比较,差异有统计学意义($F=18.721$ 和 $16.429, P=0.000$)。见表 3。

表 3 静息状态下血清 iNos 表达的 VAS 评分比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	第 2 周	第 4 周	第 6 周	第 8 周	第 10 周	第 12 周
A 组	67.43 ± 13.23	78.73 ± 14.83	75.62 ± 14.66	80.62 ± 15.34	78.73 ± 17.75	79.61 ± 18.18
B 组	118.21 ± 19.21	125.43 ± 21.02	136.72 ± 26.87	149.32 ± 29.36	140.54 ± 25.82	142.12 ± 30.27
C 组	88.43 ± 21.68	95.62 ± 20.81	103.66 ± 21.93	117.82 ± 23.87	104.72 ± 22.83	97.32 ± 19.73
D1 组	72.63 ± 11.83	76.83 ± 13.72	80.73 ± 14.29	84.66 ± 17.24	76.23 ± 15.32	73.74 ± 17.69
D2 组	80.43 ± 18.43	85.32 ± 20.32	88.32 ± 19.48	92.84 ± 22.32	85.39 ± 17.43	82.93 ± 19.73
D3 组	103.72 ± 26.37	104.32 ± 23.28	107.94 ± 27.43	109.43 ± 21.56	93.84 ± 19.94	85.83 ± 17.81

3 讨论

成功复制肺动脉高压的实验模型是进行肺动脉高压相关性研究的前提和基础。据文献报道,复制肺动脉高压动物模型一般有低氧模型、高肺血流模型、野百合碱诱导联合高肺血流模型及野百合碱诱导模型 4 种方法^[11-13]。本实验选择野百合碱诱导引起肺血管内皮损伤、血管重构,导致肺血管阻力增加,这与课题组研究人肺动脉高压发病的病理生理机制类似,由细胞、炎性介质等多种因素相互作用引起 PAH^[14]。故本实验采用野百合碱诱导兔的肺动脉高压模型,在保证动物实验模拟病理机制的同时,也可同时观察白藜芦醇干预药物的作用机制和效果,为后期动物机制的研究提供足够的保证。本实验结果显示,在 B 超检查中,PAH 组右心室壁增厚,主动脉扩张,心肌细胞增厚,排列紊乱。心肌细胞 HE 与 Tunnel 染色显示,心肌细胞凋亡增加,符合肺动脉高压的病理学特征:肺动脉内膜增生、中膜肥厚及特征性丛样病变,重构的肺动脉周围炎症细胞浸润明显^[15]。

本实验测得的 3 种因子在 PAH 的形成中有着紧密的联系。NF- κ B 是一种参与免疫反应和炎症反应基因转录的重要转录因子,其转录产物参与 PAH 的形成。有研究表明,肺动脉高压大鼠肺动脉内皮细胞 NF- κ B 活性增加,可抑制血管活性物质

前列环素的表达^[16]。并且 NF- κ B 本身也可被低氧环境激活,其激活可抑制肺血管平滑肌细胞凋亡,并促进其增殖,导致肺血管重构。肺血管结构重构的重要组成部分中,胶原量的改变和分布形式的变化是其改变的关键因素之一^[17]。而 I 型胶原蛋白和前胶原的 mRNA 的增加,能调控胶原降解的金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)和金属蛋白酶抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinase 1, TIMP-1)表达失调,并且 TIMP-1 mRNA 表达的升高幅度明显高于 MMP-1^[17]。TNF- α 能增加肺血管的反应性,减少肺动脉平滑肌细胞前列腺素的合成,诱导肺血管收缩^[18]。环氧合酶是前列腺素合成初始步骤中的关键限速酶,在 PAH 形成中出现 COX-2 水平相应的增高^[19]。iNOS 是一种关键限速酶,在生理状态下表达量少,而在缺氧等病理状态下可以出现表达的异常升高,从而促进 NO 的过度产生,过量的 NO 与氧自由基相结合,生成过氧亚硝酸盐,通过其细胞毒性作用引起组织损伤^[20]。

实验结果显示,PAH 组各因子的浓度与对照组比较,差异有统计学意义,所测得的 3 种因子在整个测定的时间段内与对照组比较,差异有统计学意义,每组数据与对照组相对比均处于高值,表明 3 种因子在 PAH 中具有一定特异性。分组对比结果显示,

NF- κ B 的最佳测定时间是第 4 周,此时特异性最明显。本研究结果表明,NF- κ B、COX-2、iNos 在模型组动物的血清中有明显表达;在正常动物的血清中只有极少量的表达;高、中剂量的受试药物能够抑制血清中 NF- κ B、COX-2、iNos 的分泌。阳性对照药物(前列腺环素)是治疗骨 PAH 的改善病情药物。本实验结果显示,受试药物抑制血清中分泌 NF- κ B、COX-2、iNos 的能力优于阳性对照药物。白藜芦醇是否有前列腺环素相同或更好的作用,有待进一步研究。PAH 机制十分复杂,早期症状不明显,但是各细胞因子之间的具体作用机制、白藜芦醇在肺动脉高压发病过程中的活化过程仍需进一步探索。

参 考 文 献:

- [1] PRICE L C, WORT S J, PERROS F, et al. Inflammation in pulmonary arterial hypertension[J]. *Chest*, 2012, 141(1): 210-221.
- [2] PIZARRO C, MEYER Z H G M, SCHUELER R, et al. Impact of macitentan on right ventricular myocardial function in pulmonary arterial hypertension[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 214: 438-441.
- [3] ATAYA A, PATEL S, COPE J, et al. Pulmonary arterial hypertension and associated conditions[J]. *Dis Mon*, 2016, 12(4): 1-24.
- [4] MATHAI S C, GHOFRANI H A, MAYER E, et al. Quality of life in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension[J]. *Eur Respir J*, 2016, 48(2): 526-537.
- [5] VOELKEL N F, TAMOSIUNIENE R, NICOLLSM R, et al. Challenges and opportunities in treating inflammation associated with pulmonary hypertension[J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2016, 14(8): 939-951.
- [6] HUMBERT M, SITBON O, SIMONNEAU G, et al. Treatment of pulmonary arterial hypertension[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(16): 1425-1436.
- [7] KOPP P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the French paradox[J]. *Eur J Endocrinol*, 1998, 13(8): 619-620.
- [8] BERTELLI A A, GIOVANNINI L, STRADI R, et al. Kinetics of trans and cisresveratrol (3, 4', 5 trihydroxystibene) after red wine oral administration in rats[J]. *Int J Clin Pharmacol Res*, 1996, 16(425): 77-81.
- [9] GAO G, WANG X, QIN X Q, et al. Effects of trimethoxystilbene on growth and apoptosis in pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2012, 6(4): 101-106.
- [10] 高戈,徐克前,田静,等. 藜芦醇对兔实验性骨关节炎白细胞介素-1 β 表达的研究[J]. *中国老年病杂志*, 2012, 32(14): 1083-1087.
- [11] 袁冰,李开,林方北. 超声心动图对肺动脉高压的诊断价值[J]. *临床超声医学杂志*, 2013, 15(2): 141.
- [12] FRICKER M, DEANE A, HANSBRO P M, et al. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2014, 9(6): 629-645.
- [13] RUNGATSCHER A, LINARDI D, MILANI E A, et al. Chronic overcirculation-induced pulmonary arterial hypertension in aorto-caval shunt[J]. *Microvasc Res*, 2014, 9(4): 73-79.
- [14] RYAN J J, MARSBOOM G, ARCHER S L. Rodent models of group 1 pulmonary hypertension[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2013, 21(8): 105-149.
- [15] 李松华,石仁华,朱琴,等. 野百合碱注射建立大鼠肺动脉高压模型的方法[J]. *解放军医学院学报*, 2015, 36(2): 171-174.
- [16] 伊金萍,于晓晓,董孟,等. NF- κ B 对肺动脉高压大鼠肺动脉组织前列腺环素表达的影响[J]. *山东医药*, 2015, 55(42): 930-932.
- [17] DU J B, YAN H, WEI B, et al. Effect of L-arginine on collagen of high flow-induced pulmonary arterial remodeling[J]. *Circ J*, 2005, 69(5): 603-608.
- [18] LTOH A, NISHIHARA J, MAKITA H, et al. Effects of IL-1, TNF- α and macrophage migration inhibitory factor on prostacyclin synthesis in rat pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Respirology*, 2003, 8(4): 467-472.
- [19] SUDAR E, DOBUTOVIC B, SOSKIC S, et al. Regulation of inducible nitric oxide synthase activity/expression in rat hearts from ghrelin-treated rats[J]. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2011, 67(2): 195-204.
- [20] 桑葵,周英,李明霞. 缺氧诱导因子 1 α 及其调控因子在新生大鼠缺氧性肺动脉高压发病机制中作用的研究[J]. *中华儿科杂志*, 2012, 50(12): 919-924.

(童颖丹 编辑)