

## 牛蒡根水提物对高血压大鼠血管重塑的影响

马维红<sup>1</sup>, 赵娜<sup>1\*</sup>, 苏赢<sup>2</sup>, 赵凯<sup>1\*</sup>, 刘鑫<sup>1</sup>, 覃晓莹<sup>3</sup>

1. 桂林医学院附属医院, 广西 桂林 541001

2. 临沂市沂水中心医院, 山东 临沂 276400

3. 桂林医学院临床医学院, 广西 桂林 541001

**摘要:** 目的 观察牛蒡根水提物对高血压大鼠血管重塑的影响及其机制。方法 50只雌性Wistar大鼠用N-硝基-L-精氨酸(L-NNA)建立高血压大鼠模型, 随机分为模型组, 阳性对照组(卡托普利15 mg/kg), 牛蒡根水提物低、中、高剂量(0.5、1.0、2.0 g/kg)组, 连续ig给药6周, 检测大鼠收缩压(SBP), 血清血管紧张素II(Ang-II)、内皮素-1(ET-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平, 左心室质量指数(LVWI)及胸主动脉中膜厚度。结果 与对照组比较, 模型组大鼠SBP, 血清Ang-II、ET-1、TNF- $\alpha$ 水平, LVWI及胸主动脉中膜厚度显著升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠SBP、血清Ang-II、ET-1、TNF- $\alpha$ 水平, LVWI及胸主动脉中膜厚度均显著降低( $P < 0.05$ )。结论 牛蒡根水提物可改善高血压大鼠血管重塑。

**关键词:** 牛蒡根水提物; 高血压; 血管重塑; 血管紧张素II; 内皮素-1; 肿瘤坏死因子- $\alpha$

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)13-1954-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.13.017

## Effect of aqueous extract from roots of *Arctium lappa* on vascular remodeling in hypertensive rats

MA Wei-hong<sup>1</sup>, ZHAO Na<sup>1</sup>, SU Ying<sup>2</sup>, ZHAO Kai<sup>1</sup>, LIU Xin<sup>1</sup>, QIN Xiao-ying<sup>3</sup>

1. The Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, China

2. Yishui Central Hospital of Linyi, Linyi 276400, China

3. 2010 Undergraduate of Clinical Medicine, Guilin Medical University, Guilin 541001, China

**Abstract: Objective** To observe the effect of aqueous extract from roots of *Arctium lappa* (AERAL) on vascular remodeling in hypertensive rats. **Methods** The hypertensive rat model was induced by N-nitro-L-arginine from 50 female Wistar rats, and randomly divided into model control group, positive control group (15 mg/kg), low-, mid-, and high-dose AERAL (0.5, 1.0, and 2.0 g/kg), groups. After six weeks of continuous gavage administration, rat tail artery systolic pressure, angiotensin II (Ang-II), endothelin-1 (ET-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), left ventricular mass index (LVWI), and thickness of thoracic aortic tunica media (TTATM) were detected. **Results** Compared with the normal control group, Ang-II, ET-1, TNF- $\alpha$ , LVWI, and TTATM were increased and rat tail artery systolic pressure was elevated in the model control group, with significant differences between the two groups ( $P < 0.05$ ); Compared with the model control group, rat tail artery systolic pressure in each treatment groups declined, serum Ang-II, ET-1, TNF- $\alpha$ , LVWI, and TTATM were all lowered, showing significant differences among them ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** AERAL can significantly improve vascular remodeling in rats with hypertension.

**Key words:** aqueous extract from roots of *Arctium lappa*; hypertension; vascular remodeling; angiotensin II; endothelin-1; tumor necrosis factor- $\alpha$

高血压血管重塑是指高血压导致血管血流动力学、生长因子或血管活性物质等的改变而发生的血管结构的变化, 同时血管重塑既是高血压病的病理

生理基础, 也是高血压病维持和加剧的结构基础<sup>[1]</sup>, 因此, 抑制血管的不良重塑也应成为防治高血压病的重要靶点。牛蒡 *Arctium lappa* L. 是菊科 (Asteraceae)

收稿日期: 2015-01-26

基金项目: 广西中医药民族医药传承创新专项立项课题 (GZLC14-38); 2014年国家级大学生创新创业训练计划项目 (G201410601005); 广西壮族自治区大学生创新创业训练项目 (201410601019)

作者简介: 马维红 (1964—), 女, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为心血管疾病防治。Tel: (0773)2815539 E-mail: gxgylq@163.com

\*通信作者 赵娜 Tel: (0773)2823731 E-mail: 529029628@qq.com  
赵凯 Tel: (0773)2823731 E-mail: zkpossible@163.com

牛蒡属 *Arctium* L. 2年生草本植物,牛蒡根为牛蒡的肉质直根,具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、降低血糖及尿酸、扩血管等作用<sup>[2-6]</sup>。但国内外未见有关牛蒡根水提物对高血压血管重塑影响机制研究的文献报道。本研究旨在观察牛蒡根水提物对 *N*-硝基-*L*-精氨酸 (*L*-NNA) 致高血压模型大鼠收缩压 (SBP)、左心室质量指数 (LVWI)、胸主动脉中膜厚度及胸主动脉形态学变化及血管紧张素 II (Ang-II)、内皮素-1 (ET-1)、肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ ) 表达水平的影响,探讨其对高血压大鼠血管重塑的保护作用及机制,为牛蒡根水提物的临床应用提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 动物

Wistar 大鼠 60 只,雌性,SPF 级,12 周龄,体质量 270~300g,由桂林医学院实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK (桂) 2013-0001。

### 1.2 药品与试剂

牛蒡根水提物 (批号 20140106),西安昌岳生物科技有限公司; *L*-NNA (批号 N009711),北京华迈科生物技术有限责任公司;卡托普利 (批号 MB1527),大连美仑生物技术有限公司;大鼠 Ang-II (批号 JX1747)、ET-1 (批号 DS0588) 酶联免疫检测试剂盒,均由武汉博士德生物工程有限公司提供;大鼠 TNF- $\alpha$  酶联免疫检测试剂盒 (批号 ERC102a),由欣博盛生物科技有限公司提供。

### 1.3 仪器

ALC-HTP 动物恒温系统及 ALC-NIBP 无创血压测量分析系统,上海奥尔科特生物科技有限公司;电子分析天平,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;生化培养箱,广东省医疗器械厂;光栅型连续波长酶标仪,美国伯乐;微量台式高速冷冻离心机,Thermo 公司;光学显微照相系统及 Olympus BX60 型光学显微镜,日本 Olympus 公司。

## 2 方法

### 2.1 分组及造模

Wistar 大鼠,60 只,雌性,按随机数字法选取 10 只作为对照组,其余 50 只参考文献方法<sup>[7-8]</sup>制备高血压大鼠模型。用 *L*-NNA 15 mg/(kg·d) 分 2 次 ip 给药,在大鼠清醒、安静、恒温 (温度 37 °C 左右) 状态下,于每日 17:00 用 ALC-NIBP 无创血压测量分析系统监测尾动脉血压,连续测量 3 次,每次间隔 60 s,取平均值作为测压结果。造模成功后,随机分为模型组,阳性对照组,牛蒡根水提物低、

中、高剂量组。

### 2.2 给药

实验前大鼠先适应性喂养 1 周。实验开始均采用 ig 给药的方法,阳性对照组给予卡托普利 (15 mg/kg),牛蒡根水提物组分别给予低、中、高剂量 (0.5、1.0、2.0 g/kg) 牛蒡根水提物,对照组和模型组给予等体积生理盐水。各组大鼠均每日 9:00 时用大号灌胃针 2 mL/300 g 给药,每周称体质量 1 次,随体质量调整给药量,连续给药 6 周。

### 2.3 指标检测

**2.3.1 血压测定** 采用 ALC-NIBP 无创血压测量分析系统检测各组大鼠尾动脉血压。在恒温环境中,大鼠安静、清醒状态下检测,每周测量血压 1 次,观察大鼠血压变化。

**2.3.2 血清 Ang II、ET-1、TNF- $\alpha$  检测** 末次给药后禁食 12 h,按 3 mL/kg ip 给予 10%水合氯醛麻醉,腹主动脉取血 4 mL,静置,分离血清,ELISA 法测定血清中 Ang-II、ET-1、TNF- $\alpha$  水平,严格按照试剂盒说明书进行操作。

**2.3.3 胸主动脉中膜厚度检测** 大鼠取血后,迅速切取胸主动脉,置入 10%中性多聚甲醛中固定、脱水透明及石蜡包埋切片,HE 染色后于 200 $\times$ 高倍镜下观察组织形态学变化,用 BI2000 图像分析系统测定胸主动脉中膜厚度。

**2.3.4 LVWI 测定** 迅速取出大鼠心脏,沿房室交界处去除大血管、心房及右心室,用生理盐水充分冲洗,滤纸吸干,称左心室 (包括室间隔) 的湿质量,以左心室质量与体质量之比作为 LVWI。

### 2.4 统计学处理

计量资料结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 SPSS 17.0 统计学软件进行单因素方差分析。

## 3 结果

### 3.1 对高血压大鼠 SBP 的影响

各给药组大鼠 SBP 较模型组显著降低 ( $P < 0.05$ )。牛蒡根水提物高剂量组、阳性对照组大鼠 SBP 与对照组比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 1。

### 3.2 对高血压大鼠血清 Ang-II、ET-1、TNF- $\alpha$ 水平的影响

模型组大鼠血清 Ang-II、ET-1、TNF- $\alpha$  表达水平高于对照组 ( $P < 0.05$ ),连续用药 6 周后,牛蒡根水提物高、中、低剂量组大鼠血清 Ang-II、ET-1、TNF- $\alpha$  表达水平均低于模型组 ( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 1 各组大鼠 SBP、LVWI 及胸主动脉中膜厚度比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Comparison on levels of systolic blood pressure, LVWI, and TTATM of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	SBP/mmHg	LVWI/(×10 <sup>-3</sup> )	胸主动脉中膜厚度/μm
对照	—	110.83 ± 1.57	2.76 ± 0.07	88.35 ± 2.80
模型	—	201.42 ± 2.01**	3.24 ± 0.31**	107.25 ± 3.38**
阳性对照	0.015	112.24 ± 2.03 <sup>#</sup>	2.82 ± 0.18 <sup>#</sup>	90.86 ± 4.71 <sup>#</sup>
牛蒡根水提物	2.0	115.41 ± 1.08 <sup>#</sup>	2.86 ± 0.05 <sup>#</sup>	92.05 ± 4.68 <sup>#</sup>
	1.0	129.80 ± 2.42** <sup>#</sup>	3.01 ± 0.02** <sup>#</sup>	96.33 ± 3.97** <sup>#</sup>
	0.5	150.09 ± 1.98** <sup>#</sup>	3.04 ± 0.08** <sup>#</sup>	101.54 ± 3.32** <sup>#</sup>

1 mmHg=0.133 kPa; 与对照组比较: \*\*P<0.01; 与模型组比较: <sup>#</sup>P<0.05

1 mmHg = 0.133 kPa; \*\*P < 0.01 vs control group; <sup>#</sup>P < 0.05 vs model group

表 2 各组大鼠血清 AngII、ET-1、TNF-α 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Comparison on expression levels of serum Ang-II, ET-1, and TNF-α of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	AngII/(pg·mL <sup>-1</sup> )	ET-1/(pg·mL <sup>-1</sup> )	TNF-α/(pg·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	20.71 ± 2.49	23.56 ± 1.60	15.19 ± 0.34
模型	—	61.07 ± 3.64*	72.12 ± 2.65*	51.07 ± 0.84*
阳性对照	0.015	21.85 ± 2.31 <sup>#</sup>	25.35 ± 2.50 <sup>#</sup>	16.59 ± 0.98 <sup>#</sup>
牛蒡根水提物	2.0	23.20 ± 1.53 <sup>#</sup>	26.08 ± 0.54 <sup>#</sup>	17.26 ± 0.34* <sup>#</sup>
	1.0	32.41 ± 1.68* <sup>#</sup>	35.42 ± 2.36* <sup>#</sup>	30.03 ± 0.49* <sup>#</sup>
	0.5	40.53 ± 2.70* <sup>#</sup>	43.40 ± 1.45* <sup>#</sup>	38.99 ± 0.75* <sup>#</sup>

与对照组比较: \*P<0.05; 与模型组比较: <sup>#</sup>P<0.05

\*P < 0.05 vs control group; <sup>#</sup>P < 0.05 vs model group

### 3.3 对高血压大鼠 LVWI 及胸主动脉中膜厚度的影响

模型组与对照组比较, LVWI 明显增高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组 LVWI 水平均有所降低 ( $P < 0.05$ )。模型组胸主动脉中膜厚度较对照组明显增厚 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组中膜厚度均变薄 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

### 4 讨论

高血压血管重塑的主要机制是血管平滑肌细胞过度生长<sup>[9]</sup>, 调控细胞生长的因素包括血流动力学的异常、血管活性物质、肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 及细胞外基质异常等。RAS 是对心血管功能具有调节作用的体液机制之一, AngII 作为 RAS 中的重要组成部分, 可通过内分泌、旁分泌及自分泌等方式发挥其多重生物效应, 是潜在的促生长因子<sup>[10]</sup>。AngII 分泌过多可引起平滑肌血管强烈收缩, 刺激血管平滑肌及血管壁细胞增生、肥大及管壁纤维化, 抑制交感神经末梢对去甲肾上腺素的重摄取, 促进核酸的合成, 调控某些基因的表达, 促进高血压血管重塑<sup>[11]</sup>。AngII 还可激活磷脂酶 C、还原型辅酶 II (NADPH) 氧化

酶等, 诱导血管细胞活性氧增加, 激活转录因子如核因子 κB (NF-κB) 和活化蛋白-1 (AP-1), 诱导多种白细胞募集介质如选择素和整合素等及促炎症因子如单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 和白细胞介素 6 (IL-6) 等的表达, 参与血管组织炎症反应<sup>[12]</sup>。

内皮素 (ET) 是由 21 个氨基酸组成的具有强烈缩血管作用的多肽类物质, 对维持血管基础张力、心血管系统稳态起重要作用。ET-1 是由血管内皮细胞产生的一种内源性血管收缩因子, 是内皮素重要亚型之一。ET-1 可通过激活磷脂酶 C 发挥促有丝分裂作用, 刺激血管平滑肌细胞内原癌基因表达, 增加血管平滑肌细胞 DNA 合成, 促进血管平滑肌细胞增殖, 导致血管壁增厚, 血管阻力增加, 血压升高及血管重塑<sup>[13]</sup>。另外, RAS 与 ET 之间有互相激动作用, 这也促进了高血压血管重塑的发生、发展。

TNF-α 作为重要的促炎因子, 参与机体的免疫防御, 是机体炎症、损伤、甚至休克发病中的重要介质。TNF-α 可通过多种途径使平滑肌细胞增殖, 平滑肌细胞内钙迅速增多, 导致血管收缩, 血压升高<sup>[14]</sup>。TNF-α 有直接的细胞毒作用, 可直接破坏血

管内皮细胞结构、功能的完整性,导致内皮功能障碍、分泌失调,从而使炎性介质分泌增多,促进血管平滑肌细胞的增殖和分化,管壁增厚、管腔狭窄,外周阻力增高。此外,血压过高造成的血流动力学异常可造成心肌及血管内皮细胞缺血缺氧,从而使 TNF- $\alpha$  释放增多,血压进一步升高,形成恶性循环<sup>[15]</sup>。

本实验结果表明 L-NNA 介导的高血压大鼠模型血清中 AngII、ET-1、TNF- $\alpha$  表达水平、LWVI 及胸主动脉中膜厚度显著高于对照组,提示高血压已导致靶器官损害,造成动脉血管重塑,证实了 RAS、多种细胞因子和炎性因子异常与血管重塑的相关性。牛蒡根水提物高、中、低剂量均可显著降低高血压大鼠血压值、改善血管重塑,其机制可能与通过调节 RAS,抑制多种细胞因子和炎性因子、改善血管平滑肌细胞(VSMC)的异常超微结构有关,为高血压靶器官保护的药物治疗研究开拓新的思路。

参考文献

[1] 刘金涛, 张 腾. 中医药防治高血压病作用机制及优势述评 [J]. 中医杂志, 2015, 56(1): 77-82.

[2] Predes F S, Ruiz A L, Carvalho J E, et al. Antioxidative and *in vitro* antiproliferative activity of *Arctium lappa* root extracts [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2011, 11: 25.

[3] Sohn E H, Jang S A, Joo H, et al. Anti-allergic and anti-inflammatory effects of butanol extract from *Arctium lappa* L. [J]. *Clin Mol Allergy*, 2011, 9(1): 4-14.

[4] Liu W, Wang J, Zhang Z, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of a fructan from the roots of *Arctium lappa* L [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 65: 446-453.

[5] 王佳佳, 刘 玮, 朱 静, 等. 牛蒡多糖的降血糖活性 [J]. 中国药科大学学报, 2013, 44(5): 455-459.

[6] 张淑雅, 王小萍, 陈 昕, 等. 牛蒡苷抗炎和解热作用研究 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(6): 422-425.

[7] 高连如, 赵云涛, 石 湘, 等. 左旋硝基精氨酸诱导大鼠持续性高血压 [J]. 基础医学与临床, 1995, 15(3): 49-52.

[8] 杨金果, 李运伦, 周洪雷. 钩藤和菜菔子生物碱抗高血压血管内皮细胞损伤效应 [J]. 中成药, 2013, 35(5): 8911-8913.

[9] 张顺利, 吉中强, 纪文岩. 新血府逐瘀汤对高血压大鼠血管重塑的影响 [J]. 齐鲁医学杂志, 2012, 27(2): 136-138.

[10] Wang Z, Rao P J, Shillcutt S D. Angiotensin II induces proliferation of human cerebral artery smooth muscle cells through a basic fibroblast growth factor (bFGF) dependent mechanism [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 373(1): 38-41.

[11] 李承德, 康 白, 毛淑梅, 等. 地龙降压蛋白对自发性高血压大鼠血管紧张素及内皮素含量的影响 [J]. 中国医药导报, 2008, 5(21): 11-13.

[12] Manea A, Manea S A, Gafencu A V. AP-1-dependent transcriptional regulation of NADPH oxidase in human aortic smooth muscle cells: role of p22phox subunit [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(5): 878-885.

[13] 董武松, 李馨欣, 杨 俊. 内皮素-1在心血管系统中的作用 [J]. 国际心血管病杂志, 2012, 39(3): 153-156.

[14] 蒋朝晖, 王建军, 陈文敏. 原发性高血压患者血清中 TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 的测定与意义 [J]. 医学临床研究, 2014, 31(3): 527-528.

[15] 田 心, 王 蓓, 王长海, 等. 以自发性高血压大鼠为模型对高血压发病机制的研究 [J]. 中华中医学杂志, 2009, 33(4): 112-114.