

葛根素对肥胖型高血压大鼠血压和血管功能影响的实验研究

刘 剑¹ 段素萍³ 乔着意¹ 王 梅¹ 徐兴森^{2△}

(1 重庆市解放军 324 医院急诊科 重庆 400020 ;

2 新疆 库尔勒解放军 273 医院 新疆 库尔勒 841000 ;3 西安市第九人民医院 陕西 西安 710004)

摘要 目的 本研究旨在观察饮食中添加葛根素对肥胖型高血压大鼠的心血管代谢指标的影响,尤其关注其对于血压和血管功能的效应。方法 ① 自发性高血压大鼠 24 只,分正常饮食对照组(8 只)、高脂饮食组(8 只)、高脂饮食+葛根素组(8 只),大鼠先进行 1 周的适应性喂养,1 周后进行干预,干预时间为 14 周;② 每周测 1 次体重、鼠尾血压;③ 实验结束时空腹取血浆测血脂、血糖值,取胸主动脉观察主动脉的内皮依赖性及非内皮依赖性舒张功能。结果 ① 葛根素可防止高脂饮食导致的自发性高血压大鼠体重的增加及血压、血糖的升高,与高脂饮食组比较, $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 。② 长期葛根素喂养可有效防止高脂饮食导致的高血压大鼠的血脂水平升高;③ 长期的葛根素喂养可显著改善肥胖型高血压大鼠的血管舒张功能及降低血压。结论 葛根素可有效改善肥胖型高血压大鼠的相关代谢指标,并可明显降低血压及改善血管功能,提示葛根素对肥胖型高血压有较好的防治作用,值得进一步深入研究。

关键词 葛根素 高血压 肥胖 内皮依赖性舒张功能

中图分类号 Q95-3, R544.1 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)10-1858-04

The Effects of Puerarin on Blood Pressure and the Vascular Function in Obesity-Hypertension Rats Model

LIU Jian¹, DUAN Su-ping³, Qiao Zhuo-yi¹, WANG Mei¹, XU Xing-sen^{2△}

(1 Department of Emergence, 324 Hospital of PLA, Chongqing 400020, China; 2 Department of Internal medicine, 273 Hospital of PLA, Xinjiang province 841000, China; 3 The ninth people's medical hospital of Xi'an, Shaanxi, 710004, China)

ABSTRACT **Objective:** To investigate the effects of dietary contain puerarin on the cardiometabolic indexes on obesity-hypertension rats, especially the blood pressure and the vascular fuction. **Methods:** Eight weeks old Spontaneously Hypertensive Rats were divided into three groups-the control group, give the normal chow, high fat diet group, give the high fat diet, the high fat diet and the puerarin group, give the high fat diet contain 0.1% puerarin, each group has eight rats, and the intervention time is 14 weeks. The tail blood pressure and the body weight were detected every week. And at the end of the study, the rats were fasting for 12hrs and the blood sample was took to detected the fasting blood glucose and lipids levels. Lastly the endothelium-dependent and the endothelium-independent relaxation of the aorta were detected by wire myograph. **Results:** The high fats diet increased the body weight which lead to obesity, rise the lipids levels, the blood pressure level and fasting blood glucose level in SHR. Dietary puerarin administration decreased the body weight thus prevents obesity compared with that in the control group $P<0.01$ or $P<0.05$. More importantly, it can improved the endothelium-dependent relaxation of the aorta artery and lower the blood pressure level, compared to the high fat group, $P<0.01$ or $P<0.05$. **Conclusion:** Dietary puerarin had the cardiometabolic protection. It can improved the vasorelaxation and decreased the blood pressure, indicating that the puerarin had the perspective in treatment of obesity hypertension.

Key words: Puerarin; Hypertension; Obesity; Endothelium-dependent relaxation

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R544.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)10-1858-04

前言

高血压、肥胖为心脑血管事件的重要危险因素,已成为当前全球范围内影响人类健康的最为重要的公共卫生问题^[1,2]。目前我国有约 2 亿的高血压患者,超过 7 千万的肥胖患者,约占 20% 的全球肥胖患者比例,而且在今后这一比例及人数将继续增加,因此,我国卫生部门将面临重大的负担。高血压与肥胖密

切相关,高血压患者常合并肥胖,而肥胖患者常伴有血压的升高。当前高血压患者合并肥胖已成为高血压最主要的形式^[3-5]。因此,单纯针对降低血压或降脂、减肥的治疗已不能适应当前肥胖型高血压患者的治疗,必须寻求具有综合效应的能同时改善心血管及代谢指标的药物。葛根素是我国中药葛根中提取的黄酮类物质,目前研究已证实,该成分具有显著的心血管代谢保护作用,可有效降低血脂、血糖、血压,改善胰岛素抵抗,调节胰岛素分泌等^[6]。但以目前的研究多是针对单一方面的研究,所采用的动物模型或是针对糖尿病、或是针对血脂,并不能在同一动物模型上观察葛根素的心血管代谢保护作用,尤其是对血管这个心血管代谢病作用的靶器官的保护作用研究较少。因

作者简介 刘剑(1975,3),男,医师,

△通讯作者 徐兴森,男,心血管内科学博士,

E-mail: xxsing143@163.com

(收稿日期 2011-09-15 接受日期 2011-10-10)

此,在本研究中我们利用目前公认的高血压模型,自发性高血压大鼠 (Spontaneously Hypertensive Rats, SHR),并在高质饮食的干预下制作肥胖性高血压大鼠模型,探讨葛根素对肥胖型高血压潜在的治疗作用,为临床提供有用的信息。

1 材料与方法

1.1 动物及干预方式

雄性自发性高血压大鼠(购自中国协和医科大学实验动物中心)24只,8周龄,体重150~200g,分3组,每组8只:(1)普通饮食组,按普通饲料喂养;(2)高脂饮食喂养组,高脂饲料配方^[7,8]:普通饲料60%、猪油12%、蔗糖5%、奶粉5%、花生5%、鸡蛋10%、麻油1%、食盐2%;(3)高脂饲料+葛根素组,高脂饲料中添加0.1%葛根素。动物先进行1周的适应性喂养,后按上述分组及干预方式进行干预,共干预14周。

1.2 实验仪器与试剂

葛根素(片剂)(广州侨光制药有限公司生产)。乙酰胆碱(Acetylcholine, Ach);苯肾上腺素(Phenylephrine, PE);NG-nitro-L-arginine methylester (L-NAME);硝酸甘油(Nitroglycerin, NTG)均购自美国Sigma公司。

总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)(购自南京建成试剂有限公司);Power Lab生物信号采集分析系统及其张力换能器为澳大利亚埃德仪器国际贸易有限公司产品。SZX2I LLB200解剖显微镜(Olympus公司)。

1.3 血浆及血管环的获取

干预结束后,大鼠禁食12小时,以戊巴比妥腹腔注射麻醉,腹主动脉取抗凝血5ml,1000~1200r/min离心10min,分离血浆,存放于-70℃待测。迅速取出胸主动脉,置4℃ Krebs液中(NaCl 119 mM, KCl 4.7 mM, MgSO₄ 1.17 mM, CaCl₂ 2.5 mM, KH₂PO₄ 1.18 mM, NaHCO₃ 25 mM, 葡萄糖 5.5 mM, EDTA 0.03 mM),在解剖显微镜下迅速而小心地剔除血管周围结缔组织,剪取长约5mm主动脉血管悬挂于张力检测仪中进行试验。

1.4 血浆指标的测定

血浆葡萄糖于全自动生化分析仪测定,总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)等以ELISA法测定。

1.5 血管环张力试验

血管环置于浴槽中加入6ml Krebs液,并持续通以混合气(5% CO₂ + 95% O₂),灌流器水温保持在37℃左右。调节血管环的初张力,并稳定在2g,平衡约30min。以60mM氯化钾溶液预激3次后进行测定血管的舒张功能。

内皮依赖性舒张功能 ①浴槽中加入PE(10⁻⁵mol/L)使血管环收缩,到达收缩平台后以累积给药法依次加入Ach(10⁻⁹~10⁻⁵mol/L),注意在加入下一剂量时必须等上一剂量反应到达平台期,观察血管环对Ach的反应性。②在浴槽中加入L-NAME 100mM预孵30分钟,再重复步骤①的操作,以揭示在抑制eNOS活性后各组的反应性是否仍存在差异。

非内皮依赖性舒张功能 如前,首先加入PE(10⁻⁵mol/L)使血管环收缩,达收缩平台后加入不同浓度NTG(10⁻⁹~10⁻⁵mol/L),观察血管环对NTG的反应性。

舒张百分比计算方法:以PE的最高收缩值为分母,每一剂量的舒张幅值(峰值-最低值)为分子。内皮依赖的舒张反应以ACh所致舒张幅值占收缩幅值之比表示,非内皮依赖性的舒张反应以NTG所致舒张幅值占PE所致收缩幅值之比表示。

1.6 统计方法

实验数据以均数±标准差表示,两组间比较用Graphpad Prism 3.0 统计分析软件进行制图和t检验分析。

2 结果

2.1 各组大鼠体重的比较结果

高脂饲料喂养使SHR出现体型肥胖,体重显著增加,与对照组比较,差异显著,P<0.01,而0.1%葛根素预防性喂养可有效防止高脂饲料所致的体重增加,干预结束时葛根素+高脂饲料组SHR的体重与单纯高脂组比较,P<0.05。(图1)

2.2 各组大鼠血糖水平的比较

肥胖、高血压、高脂饮食对糖代谢有显著的影响,本研究发现,高脂饮食组SHR空腹血糖显著升高,与对普通饲料对照组比较,P<0.01;与葛根素+高脂饲料组比较,P<0.05,提示葛根素可降低高脂饮食导致的SHR空腹血糖的升高。(图2)

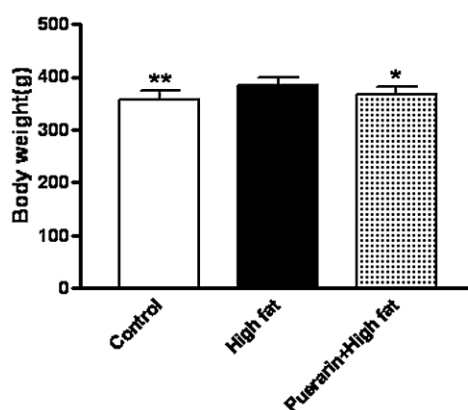


图1 各组大鼠的体重

Figure 1 The body weight of rats

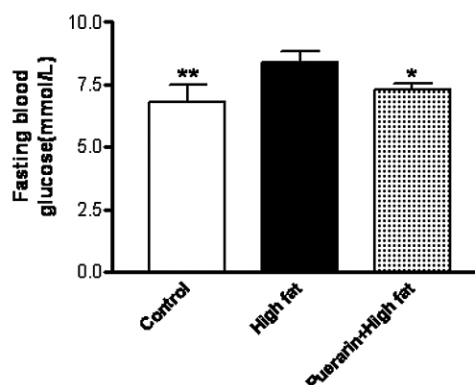


图2 各组大鼠空腹血糖水平

Figure 2 The fasting blood glucose of rats

注:与高脂组比较,*P<0.05,**P<0.01.

Note: Compared with the High fat diet group, *P<0.05, **P<0.01.

2.3 各组大鼠血脂水平的比较

高脂饮食组 TG、TC、LDL-C 的水平显著高于普通饲料饮食组, $P<0.05$ 或 $P<0.01$; HDL-C 则显著低于其他各组, $P<0.05$ 。而在高脂饮食中添加 0.1% 的葛根素可有效防止高脂饮食诱导

的 SHR 的 TG、TC、LDL-C 水平升高及 HDL-C 水平的降低, 两组水平比较, $P<0.05$ 或 $P<0.01$ (表 1)。

表 1 各组大鼠血脂水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of lipid levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

GROUPS	N	TG	TC	HDL-C	LDL-C
		mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L
Control	8	0.668 $\pm$ 0.104 ^{▲▲}	3.808 $\pm$ 0.868 ^{▲▲}	0.985 $\pm$ 0.168 ^{▲▲}	1.578 $\pm$ 0.265 ^{▲▲}
High Fat	8	1.164 $\pm$ 0.082	6.187 $\pm$ 0.998	0.724 $\pm$ 0.152	3.892 $\pm$ 0.735
Puerarin+High Fat	8	0.756 $\pm$ 0.102 ^{▲▲}	4.922 $\pm$ 0.956 [▲]	0.867 $\pm$ 0.110 [▲]	1.897 $\pm$ 0.432 ^{▲▲}

注: 与高脂组比较: [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$ 。

Note: Compared with the high fat diet group: [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$ 。

2.4 各组大鼠 (非) 内皮依赖性舒张功能比较

本实验利用 SHR 成功制作肥胖型高血压大鼠模型, 我们发现肥胖型高血压大鼠胸主动脉乙酰胆碱诱导的内皮依赖性舒张功能进一步损害, 而葛根素饮食可修复血管内皮功能, 有效防止内皮依赖性舒张功能的进一步损害 (结果见图 3、图 4), 而对非内皮依赖性舒张功能无显著的影响 (图 5)。

2.5 各组大鼠血压水平比较

本实验采用的是 8 周龄的 SHR, 每周对 SHR 进行鼠尾动

脉收缩压 (Systolic blood pressure, SBP) 的测定, 结果发现, 随着年龄的增长, SHR 的血压不断上升, 而高脂饮食可加快血压上升的趋势, 在第 6 周开始, 高脂饮食组与普通饮食组的血压即有显著差异, 而这种差异一直维持至实验结束。葛根素则可对抗高脂饮食诱导的血压升高, 但在 12 周以前, 两组间的差异并不显著, 12 周后这种差异具有统计学意义, 表明葛根素可防止高脂饮食导致的血压升高。

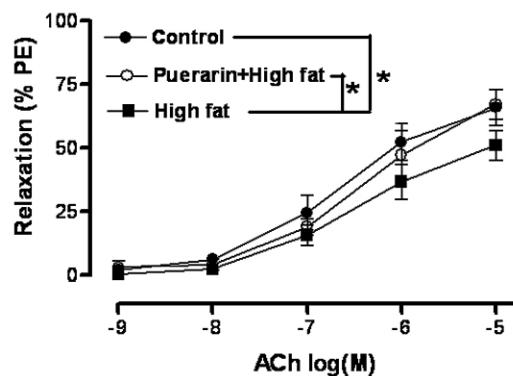


图 3 乙酰胆碱诱导的大鼠胸主动脉的血管内皮依赖性舒张功能

Figure 3 ACh induced endothelium dependent vasorelaxation of rats aorta

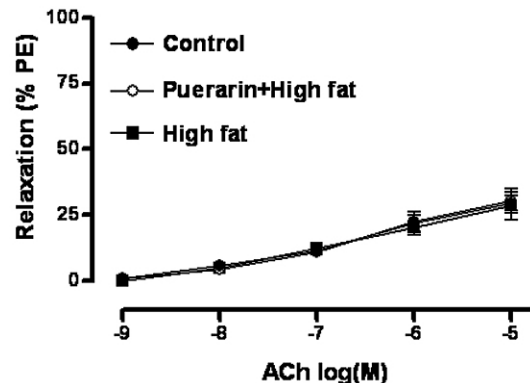


图 4 以 eNOS 抑制剂 L-NAME 预孵后乙酰胆碱诱导的血管舒张功能

Figure 4 Endothelium dependent vasorelaxation of rats aorta after incubation of L-NAME

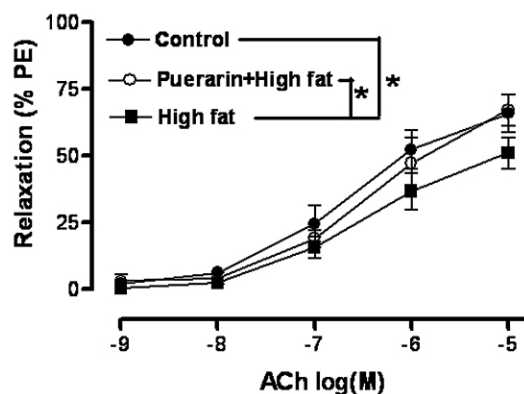


图 5 硝酸甘油诱导的大鼠胸主动脉非内皮依赖性舒张功能

Figure 5 NTG induced endothelium independent vasorelaxation of rats aorta

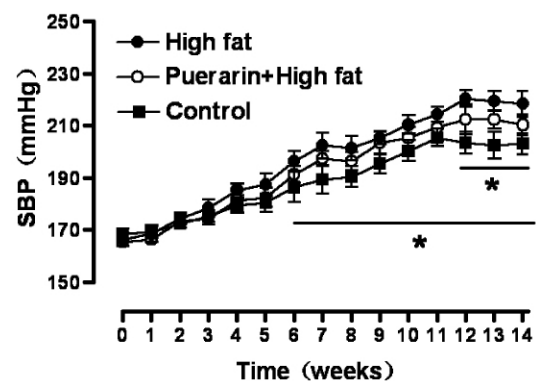


图 6 每周各组大鼠收缩压的变化

Figure 6 The rats SBP of each group in every week

注: 与高脂组比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ 。

Note: Compared with the High fat diet group, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ 。

3 讨论

肥胖是机体内脂质代谢紊乱,脂肪在皮下和脏器周围堆积所致。肥胖者易发生动脉粥样硬化、高血压、糖尿病等。肥胖与高血压密切相关,是高血压的第一位危险因素,而高血压患者中肥胖患者是非肥胖患者的3倍。在目前肥胖性高血压已成为当前高血压最主要的发病形式,随着饮食结构的改变,这一趋势将更加明显^[9]。葛根素具有调脂、降糖、保护心脑血管等重要脏器等显著的心血管代谢保护作用^[6],但既往对葛根素的研究往往只集中于某一方面,肥胖性高血压这一当前高血压的主要发病形式缺乏恰当的模型及系统的研究。本实验研究借鉴他人方法采用高脂喂养 SHR 成功复制肥胖型高血压大鼠模型以用于本实验研究^[9]。结果发现高脂喂养3月可使 SHR 大鼠发生体型肥胖,脂质代谢紊乱及空腹血糖显著高于普通饲料喂养组。而葛根素则可有效防止高脂诱导的体重增加、血糖升高及脂质代谢紊乱的发生。

无论是高血压、高血脂、高血糖首先损害的靶器官是血管,因此,血管功能的改变是心脑血管疾病最为直接的指标。目前研究已证实,高血压、高血脂、高血糖状态下可损害血管内皮,导致血管舒张功能的损害,从而进一步损害心、脑、肾等相应的靶器官,因此,如何防止血管结构与功能的损害,保护靶器官有重要的意义^[13-14]。近年研究表明,葛根素能有效改善血管功能,但既往的研究多集中于急性的体外实验,对于长期给予葛根素后对血管功能的改善作用则未见报道^[10-12]。本实验表明,长期给予葛根素后可显著改善高血压及高脂状态下血管内皮功能的损害,并可降低血压。

4 结论

葛根素具有显著的心血管代谢保护作用,可有效防止高脂诱导的肥胖的发生、血压的升高,改善血管内皮依赖性舒张功能从而降低血压。但本实验并未对机制进行深入的探讨,在今后的研究中我们将对葛根素治疗肥胖型高血压的作用机制进行深入的探索。

参考文献(References)

- [1] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南[J]. 高血压杂志, 2005, 13(增刊): 3-41
Chinese Hypertension Guidelines Revision Committee. Chinese Hypertension Prevention Guideline[J]. Journal of Hypertension, 2005, 13(supl): 3-41
- [2] Egan BM, Zhao Y, Axon RN. US trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension, 1988-2008 [J]. JAMA, 2010, 303(20): 2043-2050
- [3] Schlaich MP, Grassi G, Lambert GW, et al. European Society of Hypertension Working Group on Obesity Obesity-induced hypertension and target organ damage: current knowledge and future directions[J]. J Hypertens, 2009, 27(2): 207-211
- [4] Engstrom G. Inflammation, obesity and risk of hypertension: shared pathways or independent risk factors?[J]. J Hum Hypertens, 2011, 25

(2): 71-72

- [5] 西野俊彦. 肥胖与高血压[J]. 日本医学介绍, 2004, 25 (3) : 123-124
Toshihiko Nishino. Obesity and hypertension [J]. Japanese medical presentations, 2004, 25 (3) : 123-124
- [6] 于继强, 高尔. 葛根素对心脑血管系统药理作用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(24): 3880-3882
Yu Ji-qiang, Gao Er. Research progress of Puerarin on the cardiovascular system pharmacological [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2008, 17(24): 3880-3882
- [7] 孙志, 张中成, 刘志诚. 营养性肥胖动物模型的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2002, 18 (4) : 466-467
Sun Zhi, Zhang Hang, Zhong-cheng, et al. Experimental study of diet-induced obesity animal model [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2002, 18 (4) : 466-467
- [8] 程志清, 黄科. 高血压合并肥胖大鼠动物模型的建立[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31(03) : 291-292
Cheng Zhi-qing, Huang Ke. Establishment of Animal Model of Rats with Hypertension and Obesity [J]. Journal of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, 2007, 31(03): 291-292
- [9] 齐藤康. 肥胖与脂质代谢异常 [J]. 日本医学介绍, 2004, 25 (3) : 122-126
Qi Teng-kang. Obesity and the abnormal of lipid metabolism [J]. Progress In Japanese Medicine, 2004, 25 (3) : 122-126
- [10] 邓华菲, 卢新华, 罗金荣. 葛根素对溶血磷脂酰胆碱损伤血管内皮依赖性舒张功能的影响 [J]. 湘南学院学报 (医学版), 2007, 9 (1) : 17-19
Deng Hua-fei, Lu Xin-hua, Luo Jin-rong, et al. Effect of Puerarin on Impaired Endothelium-dependent Relaxation Induced by Lysophosphatidylcholine in Rabbit Aorta [J]. Journal of Xiangnan University (Medical Sciences), 2007, 9 (1) : 17-19
- [11] 倪超, 孟香红, 范莹. 等. HO-1 参与葛根素对抗高糖诱导的大鼠血管舒张功能下降[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25 (2): 280 - 284
Ni Chao, Meng Xiang-hong, Fan Ying, et al. Puerarin protects high glucose-induced injury of vascular relaxation by activation of heme oxygenase-1 [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2009, 25 (2) : 280-284
- [12] 赖清瑶, 丁选胜. 不同血管段活性差异对葛根素血管舒张作用机制的影响[J]. 吉林医学, 2010, 31 (18) : 2773-2775
Nai Qing-yao, Ding Xuan-sheng. The mechanism of difference vasodilation activity in different vascular segments of puerarin [J]. Jilin Medical Journal, 2010, 31 (18) : 2773-2775
- [13] 黄芳, 李科宇, 李向平, 等. 代谢综合征患者血管内皮功能损害及其机制探讨[J]. 广东医学, 2008, 29 (10) : 1722-1724
Huang Fang, Li Ke-yu, Li Xiang-ping, et al. Endothelial dysfunction in patients with metabolic syndrome and the impaired mechanisms[J]. Guangdong Medical Journal, 2008, 29 (10) : 1722-1724
- [14] Kawamoto R, Tomitah H, Okay Y, et al. Metabolic syndrome amplifies the LDL-cholesterol associated increase in carotid atherosclerosis[J]. Intern Med, 2005, 44: 1232-1238