

洋甘菊提取物对左旋硝基精氨酸诱导高血压大鼠血压的影响及机制研究

罗晶晶¹, 姚雪萍¹, 轩然², 刘备², 于亚洲², 孙湛^{3*}

(1. 新疆医科大学基础医学院机能中心, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学临床医学院, 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆医科大学基础医学院病理生理学教研室, 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 研究洋甘菊提取物对左旋硝基精氨酸(NG-Nitro-L-arginine, L-NNA)诱导高血压大鼠血压的影响及作用机制。方法 给 L-NNA 药 8 周复制高血压大鼠模型, 将高血压大鼠随机分为模型组、洋甘菊提取物低、中和高剂量组(62.5、125 和 250 mg/kg)及卡托普利组(25 mg/kg), 正常 SD 大鼠作为正常对照组, 每组 8 只。给药 8 周, 每周测定血压。8 周后, 测定血清血管紧张素 II(angiotensin II, AngII)、血管紧张素 1-7(angiotensin-(1-7), Ang1-7)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、胱抑素 C(cystatin C, CysC)和一氧化氮(nitric oxide, NO), 同时 HE 染色观察心脏和肾脏病理组织形态学的变化。结果 治疗前后对比, 洋甘菊提取物中剂量组和高剂量组大鼠收缩压均呈降低趋势($P<0.05$); 与模型组相比, 洋甘菊提取物高剂量组和卡托普利组大鼠的 AngII 含量降低($P<0.05$); SOD 明显升高($P<0.01$); Cys-C 含量降低($P<0.05$); 卡托普利组大鼠的 Ang1-7 含量明显升高($P<0.01$); 各组 NO 含量有一些增高, 但无统计学意义($P>0.05$)。HE 染色明显看出治疗组能够缓和心脏和肾脏的损伤现象。结论 洋甘菊提取物对 L-NNA 诱导的高血压大鼠血压有一定的降低作用, 对心、肾组织有保护作用, 其降压机制可能与降低 AngII 的含量, 改善氧化应激有关。

关键词: 洋甘菊提取物; 高血压大鼠; 降压; 药效学

Study on the effect of *Matricaria chamomilla* extract on blood pressure in treating NG-Nitro-L-arginine hypertension rats and its mechanism

LUO Jing-Jing¹, YAO Xue-Ping¹, XUAN Ran², LIU Bei², YU Ya-Zhou², SUN Zhan^{3*}

(1. Functional Center, School of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. Clinical Medical School, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 3. Department of Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effect and mechanism of *Matricaria chamomilla* extract on blood pressure in treating NG-Nitro-L-arginine hypertension rats. **Methods** Hypertensive rats were given NG-Nitro-L-arginine(L-NNA) for 8 weeks to produce hypertensive model, The hypertensive rats were randomly divided into groups: model group, low (62.5 mg/kg), middle (125 mg/kg) and high (250 mg/kg) dose group of *Matricaria chamomilla* extract; captopril (25 mg/kg); each group was given a continuous gavage for 8 weeks, and

基金项目: 新疆医科大学科研创新项目(XYDCX201607)、新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2019D01C207)

Fund: Supported by the Project of the Scientific Innovation of Xinjiang Medical University (XYDCX201607), and Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region of China(2019D01C207)

*通讯作者: 孙湛, 教授, 主要研究方向为心血管病理生理学研究。E-mail: 44989796@qq.com

Corresponding author: SUN Zhan, Professor, Department of Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, NO.393, Xinyi Road, Xinshi District, Urumqi 830011, China. E-mail: 44989796@qq.com

normal SD rats were used as normal control group, with 8 rats in each group. The arterial blood pressure was measured once a week. After eight weeks of treatment, the content of angiotensin II (Ang II), angiotensin-(1-7) (Ang-(1-7)), superoxide dismutase (SOD), cystatinC (CysC) and nitric oxide (NO) in blood was measured. The changes of heart and kidney structure were observed by HE staining. **Results** Compared with before and after treatment, the systolic blood pressure of middle and high dose group decreased ($P<0.05$); Compared with the model group, the content of AngII in the high dose and captopril group were decreased ($P<0.05$); SOD increased significantly ($P<0.01$); Cys-C content decreased ($P<0.05$); The content of Ang1-7 in captopril group was significantly increased ($P<0.01$); The content of NO in each group increased, but there was no statistical significance ($P<0.05$). HE staining showed that the treatment group could alleviate the damage of heart and kidney. **Conclusion** *Matricaria chamomilla* extract can reduce the blood pressure of hypertensive rats induced by L-NNA. It has a protective effect on heart and renal, the antihypertensive mechanism of *Matricaria chamomilla* extract may be related to the decrease of AngII content and improve oxidative stress.

KEY WORDS: *Matricaria chamomilla* extract; hypertensive rats; reducing blood pressure; pharmacodynamic

1 引言

高血压病是一类严重威胁人类健康的慢性病，高血压病常伴有心、脑和肾等重要器官功能障碍，是心血管系统最常见的疾病之一^[1,2]。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(rennin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)可以通过调节体液和血压参与高血压病程的发展^[3]。洋甘菊(*Matricaria chamomilla*)，为菊科母菊属，洋甘菊中含有萜类、糖类和黄酮类等物质，具有不同作用，现有相关研究报道洋甘菊中多糖与黄酮粗提物抗氧化及抑制亚硝化作用^[4]；韩松林等^[5]报道洋甘菊具有抗氧化作用；Lourders 等^[6]报道在墨西哥临幊上治疗消化不良和口腔黏膜炎；另外，有研究发现洋甘菊对自发性高血压大鼠有降压作用^[7]，但其具体降压机制尚不清楚。因此本研究通过观察洋甘菊提取物对高血压大鼠血清血管紧张素II和氧化应激等水平的影响，探究洋甘菊对高血压大鼠的降压作用机制，为洋甘菊的降压研究提供理论基础。

2 材料与方法

2.1 仪器、试剂和动物

BP-100 A 全自动无创血压仪(泰盟软件有限公司)；Olympus 显微镜(日本 Olympus 光学显微镜公司)；Thermo Fisher multiskan FC 酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司)。

左旋硝基精氨酸(98%，上海普振生物科技有限公司)；洋甘菊醇提物(100 g，西安赛奥生物科技有限公司)；卡托普利(12.5 mg×100 片，北京京丰制药有限公司)；大鼠血管紧张素(AngII)和大鼠血管紧张素(Ang1-7)ELISA 试剂盒(上海羽朵生物有限公司)；一氧化氮(NO)测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)WST-1 法测定试剂盒(南京建成有限公司)；大鼠半胱氨酸蛋白酶抑制剂/胱抑素 C(Cys-C)酶联免疫试

剂盒(武汉华美有限公司)；SPF 级大鼠颗粒饲料(许可证号：SCXK(新)2013-0002，新疆医科大学动物中心)。

SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只，体重(180±20) g，购自新疆医科大学动物实验中心[生产许可证 SCXK(新)2016-0003]。

2.2 实验方法

2.2.1 制作高血压模型

48 只 SD 大鼠饲养观察 1 周后，随机抽取 8 只大鼠为正常对照组，其余 40 只大鼠腹腔注射 L-NNA (15 mg/kg·d)，正常对照组注射等剂量(0.9% NaCl)。定时监测血压，8 周后，收缩压>140 mmHg 的大鼠为造模成功。

2.2.2 大鼠的分组与给药

40 只高血压模型大鼠随机分为洋甘菊提取物低(MC-L 组 62.5 mg/kg)、中(MC-M 组 125 mg/kg)、高剂量(MC-H 组 250 mg/kg)组、卡托普利组(CAP 组 25 mg/kg)及模型组(MOD 组)，灌胃给予模型组(MOD 组)和正常组(CON 组)大鼠等剂量的 0.9%NaCl，每组 8 只。无创血压仪定时观测血压，连续给药 8 周。

2.2.3 血清、组织样本收集及检测方法

药物干预 8 周后，腹腔注射 2%戊巴比妥钠(1.5 mL/kg)麻醉，用采血管于腹主动脉取血，离心 10 min (3000 r/min)，分离血清，按试剂盒方法说明书测定各项指标。

2.2.4 病理学检查

用 4%多聚甲醛溶液固定大鼠心、肾组织，分别用 100%的乙醇、95%的乙醇、90%的乙醇、80%的乙醇、75%的乙醇进行梯度脱水，完成后将其用二甲苯透明 2 次，取出将其冲洗后置于石蜡中包埋。用切片机切成 3~5 μm 的薄片，温度 60 °C 左右烤片 2 h，用二甲苯对切片脱蜡，70%~100%的乙醇清洗，对切片进行 HE 染色。

2.3 统计学方法

利用 SPSS 21.0 统计学软件，实验结果均以 $\bar{x}\pm s$ 表示，对收缩压和舒张压进行配对样本 *t* 检验，对血清指标

进行多组间比较使用单因素方差分析(one-way analysis of variance, One-Way ANOVA)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 洋甘菊提取物对大鼠血压的影响

治疗前后血压对比, 在给药 8 周干预后, MC-M 组、MC-H 组和 CAP 组的收缩压(systolic blood pressure, SAP)

均有显著降低, 且差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

3.2 洋甘菊提取物对大鼠血清中 AngI-7 和 AngII 的影响

给药 8 周后, CON 组与 MOD 组相比, AngI-7 含量高于 MOD 组($P < 0.01$), AngII 含量低于 MOD 组($P < 0.05$)。其余组与 MOD 组相比, CAP 组的大鼠 AngI-7 含量显著升高($P < 0.01$), MC-H 组和 CAP 组的 AngII 含量降低($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 各组大鼠治疗前后收缩压和舒张压比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$, mmHg)
Table 1 Change of blood pressure in different group ($\bar{x} \pm s$, $n=8$, mmHg)

组别	收缩压 SAP		舒张压 DAP	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
MOD 组	182.63±24.45	174.34±22.75	139.04±15.98	122.20±14.34
MC-L 组	169.13±22.91	180.68±24.11	123.13±23.02	130.73±22.07
MC-M 组	177.73±27.14	161.32±20.91*	120.89±13.16	112.13±17.38
MC-H 组	195.02±28.45	153.78±16.03*	139.41±19.26	120.70±11.98
CAP 组	182.00±25.02	157.99±13.27*	130.88±22.43	115.32±9.69

注: 治疗前后的比较, * $P < 0.05$ 。

表 2 各组大鼠血清 AngI-7 和 AngII 含量比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$)
Table 2 Content of angiotensin-(1-7) and angiotensin II in the blood of different group of rats($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	AngI-7/(pg/mL)	AngII/(pg/mL)
CON 组	702.95±118.21**	553.75±79.11*
MOD 组	548.70±103.63	674.25±92.95
MC-L 组	538.00±75.18	662.09±110.61
MC-M 组	539.72±70.90	651.73±63.40
MC-H 组	557.81±117.55	563.03±89.75*
CAP 组	685.84±94.07**	556.65±106.24*

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 3 各组大鼠血清 SOD、Csy-C 和 NO 含量比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$)
Table 3 Content of superoxide dismutase, cystatin C and nitric oxide levels in the blood of different group of rats($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	SOD/(U/mL)	Csy-C/(ng/mL)	NO/(μmol/L)
CON 组	111.63±12.77**	3.55±0.58*	19.99±2.99*
MOD 组	86.84±19.93	6.4±0.67	13.51±1.22
MC-L 组	91.01±11.89	5.38±1.20	17.37±2.43
MC-M 组	99.45±15.30	5.31±0.96	17.22±1.70
MC-H 组	108.65±17.34**	3.89±0.89*	17.63±2.44
CAP 组	118.22±13.64**	3.87±0.71*	18.30±2.25

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3.3 洋甘菊提取物对大鼠血清 SOD、Csy-C 和 NO 的影响

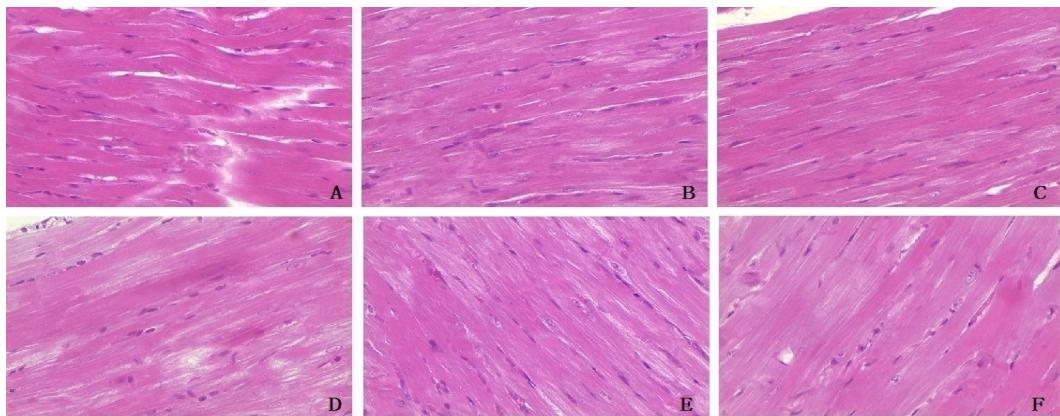
由表 3 可知, CON 组与 MOD 组相比, SOD 和 NO 含量高于 MOD 组($P < 0.01$, $P < 0.05$), Cys-C 含量低于 MOD 组($P < 0.05$)。其余组与 MOD 组相比, MC-H 组和 CAP 组 SOD 的含量明显升高($P < 0.01$), Cys-C 含量降低($P < 0.05$), 其余各组 NO 含量有一些增高, 但无统计学意义($P > 0.05$)。

3.4 洋甘菊提取物对高血压大鼠心脏形态学的影响

10×40 倍高倍镜下观察, 由图 1 可见, CON 组心肌纤维清晰, 心肌细胞核清晰, 染色均匀, 无细胞肥大, 而 MOD 组存在心肌纤维的断裂、变粗和细胞的间隙增宽等现象, 与 MOD 组比较, 各给药组心肌细胞纤维染色均匀, 横纹清晰, 除 MC-L 组仍可见少部分心肌纤维排列紊乱, 少有心肌纤维断裂等现象, MC-H 组和 CAP 组二者差异不大, 说明各给药组对大鼠心肌细胞的病理损伤有所改善。

3.5 洋甘菊提取物对高血压大鼠肾脏形态学的影响

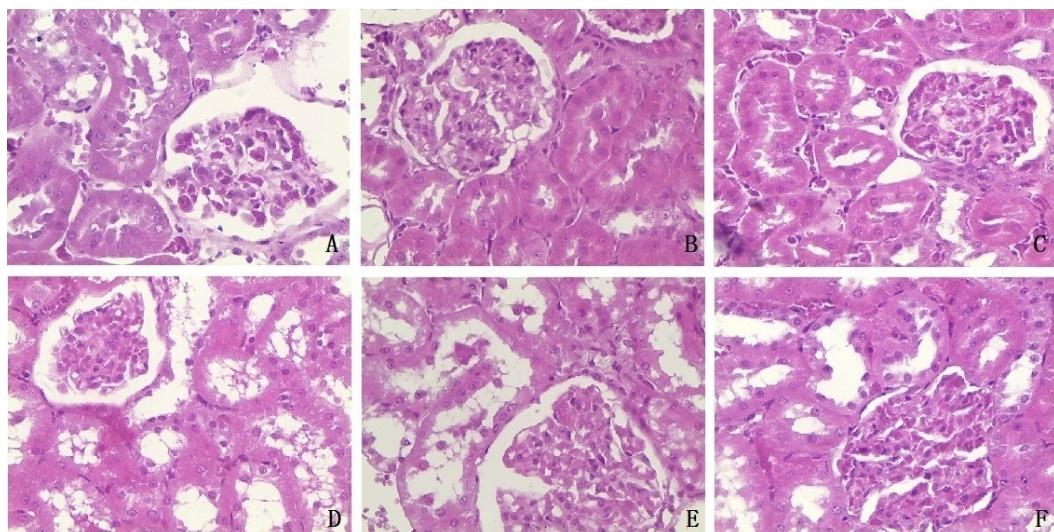
10×40 倍高倍镜下观察, 由图 2 可见, CON 组肾小球和肾小球上皮细胞排列紧密, 无细胞脱落、纤维化组织增生等现象, MOD 组肾小球萎缩, 肾小管上皮细胞脱落和萎缩。与 MOD 组比较, MC-L 和 MC-M 组剂量组仍可见部分硬化和萎缩组织, MC-H 组和 CAP 组基本正常, 提示洋甘菊提取物可能有减轻高血压大鼠的肾脏损伤。



注: A: MOD 组; B: CON 组; C: CAP 组; D: MC-L 组; E: MC-M 组; F: MC-H 组。

图 1 各剂量组大鼠心肌细胞形态学的病理变化(10×40)

Fig.1 Pathological changes in the morphology of cardiac muscle cells in different dose group of rats (10×40)



注: A: MOD 组; B: CON 组; C: CAP 组; D: MC-L 组; E: MC-M 组; F: MC-H 组。

图 2 各大鼠肾脏组织形态学的病理变化(10×40)

Fig.2 Pathological changes in the morphology of renal in different dose group of rats (10×40)

4 结论与讨论

高血压病情的发展与 RAAS 系统的血管紧张素密切相关。AngII、Ang1-7 是 RAAS 系统中的重要信号分子, 血管紧张素II(AngII)是主要的效应物质, 作用于受体, 通过收缩血管和调节醛固酮的分泌, 在血压控制和循环血容量的调节中发挥着重要的作用^[8,9]。Ang1-7 具有舒张血管、降血压和保护血管内皮, 对心血管和肾脏功能都具有保护作用^[10]; AngII促进氧自由基的形成, 造成氧化应激损伤及增高血压^[11], SOD 作为抗氧化物之一, 具有清除体内自由基, 避免机体的组织细胞损害的作用, 高血压状态下, SOD 会明显降低^[12]。本研究采用注射 L-NNA 造高血压模型, 造模成功后给予洋甘菊提取物治疗, 结果

显示: 洋甘菊提取物中剂量组和高剂量组收缩压均显著降低。洋甘菊提取物高剂量组能降低大鼠血清中的 AngII 的含量, 升高 SOD 含量, 说明其降压作用与血清中的 AngII 和 SOD 的改变有关。HE 染色发现: 洋甘菊提取物不同剂量组能不同程度的改善高血压大鼠的心肌和肾脏的病变, 说明洋甘菊提取物能抑制心肌增生肥大和肾小球纤维化等现象, 减轻病变程度, 改善心肌和肾组织的结构, 对高血压引起的心肌和肾组织损伤具有一定的保护作用。Cys-C 属于半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 其作为一种碱性蛋白在有核细胞内均有表达, 以恒定速度不断产生。Cys-C 可反映肾小球损伤情况, 当肾小球损伤时血清 CysC 水平升高, 说明其与高血压相关^[13,14]。一氧化氮(NO)是血压的主要调节因子, 在抑制血压升高、心脏及血管重

构中起着重要作用, 而高血压患者血浆中 NO 含量降低^[15]。HE 染色结果, 洋甘菊提取物能降低肾组织病变程度, 可能与其能降低 Cys-C 含量有关。

综上所述, 洋甘菊提取物可能通过降低 AngII 的含量, 改善氧化应激, 使高血压大鼠血压下降和改善心、肾损伤。本研究对其在降血压方面进行了初步探讨和药效学评价, 其具体作用机制尚待进一步研究。

参考文献

- [1] 蒙雪芳, 杜顺霞, 梁秋云, 等. 红肉火龙果原汁对肾性高血压大鼠的降压作用研究[J]. 安徽医药, 2018, 22(1): 33–37.
- Meng XF, Du SX, Liang QY, et al. Study on the antihypertensive effect of red pitaya juice in renal hypertensive rats [J]. Anhui Med Pharm J, 2018, 22(1): 33–37.
- [2] 赵海鹰. 高血压患者靶器官评估的重要性[J]. 临床荟萃, 2015, (11): 1206–1210.
- Zhao HY. Importance of target organ damage assessment in hypertensive patients [J]. Clin Focus, 2015, (11): 1206–1210.
- [3] 徐莉, 王唯, 李希辉, 等. 清眩降压汤对原发性高血压患者肾素-血管紧张素-醛固酮系统的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2017, 24(5): 532–535.
- Xu L, Wang W, Li XH, et al. Effect of qingxuan jiangya decoction on renin-angiotensin-aldosterone system of primary hypertension patients [J]. Chin J Integ Tradit West Med Inten Criti Care, 2017, 24(5): 532–535.
- [4] 夏娜, 陶海燕, 赵丽凤. 洋甘菊中多糖与黄酮粗提物抗氧化及抑制亚硝化作用研究[J]. 食品工业, 2014, 35(11): 293–295.
- Xia N, Tao HY, Zhao LF. The antioxidant activity and inhibition of nitrosation of *Matricaria chamomilla* extract [J]. Food Ind, 2014, 35(11): 293–295.
- [5] 韩松林, 李新霞, 勉强辉, 等. 薄层生物自显影技术比较新疆 2 种洋甘菊抗氧化活性[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 193–198.
- Han SL, Li XX, Mian QH, et al. Comparison of antioxidant activity between two species of chamomiles produced in Xinjiang by TLC-bioautography [J]. Chin J Chin Mater Med, 2013, 38 (2): 193–198.
- [6] Lourdes RF, Jorge RE, Scott W, et al. Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2008, 227(1): 125–135.
- [7] 郭玉婷, 兰卫. 维药洋甘菊提取物对原发性高血压大鼠血压的影响[J]. 山东轻工业学院学报, 2013, 27(1): 27–29.
- Guo YT, Lan W. Effects of uigur herb matricaria chamomile extract on blood pressure of SHR [J]. J Shandong Polytech Univ, 2013, 27(1): 27–29.
- [8] 李文霞, 皇甫卫忠, 梁开坚, 等. 血管紧张素II型受体基因 A1166C 多态性与不同民族原发性高血压关系的相关性研究[J]. 中华保健医学杂志, 2019, 21(6): 499–502.
- Li WX, Huangfu WZ, Liang KJ, et al. Study on the correlation between AT1 gene A1166C polymorphism and primary hypertension in Han, Li and Mongolian [J]. Chin J Health Care Med, 2019, 21(6): 499–502.
- [9] Cavka A, Cosic A, Grizelj I, et al. Effects of AT1 receptor blockade on plasma thromboxane A2(TXA2) level and skin microcirculation in young healthy women on low salt diet [J]. Kidney Blood Press Res, 2013, 37(4–5): 432–442.
- [10] 梁伟杰, 陈美姬, 何洁仪, 等. 血管紧张素-(1-7)通过抑制 TLR4 激活和坏死性凋亡的相互作用对抗高糖引起的 H9c2 心肌细胞损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(10): 1750–1756.
- Liang WJ, Chen MJ, He JY, et al. Angiotensin-(1-7)protects H9c2 cardiac cells against high glucose-induced injury and inflammation by inhibiting the interaction between TLR4 activation and necroptosis [J]. Chin J Pathophysiol, 2016, 32(10): 1750–1756.
- [11] 蒋毅弘, 钟久昌. 血管紧张素转换酶 2、氧化应激与高血压[J]. 中华高血压杂志, 2011, 19(16): 518–520.
- Jiang YH, Zhong JC. Angiotensin converting enzyme 2、oxidative and hypertension [J]. Chin J Hypert, 2011, 19(16): 518–520.
- [12] 陈然, 范小芳, 郑青青, 等. 儿茶酚抑素对间歇低氧高血压大鼠的影响及机制[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(8): 1523–1524.
- Chen R, Fan XF, Zheng QQ, et al. Effects and mechanism of catechin statin on intermittent hypoxic hypertension rats [J]. Chin J Pathophysiol, 2016, 32(8): 1523–1524.
- [13] 谈晶晶. 血清胱抑素 C 在评价慢性肾脏病患者肾小球滤过率中的价值分析[J]. 系统医学, 2018, 3(20): 51–53.
- Tan JJ. Value of serum cystatin C in evaluating glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease [J]. System Med, 2018, 3(20): 51–53.
- [14] 迟新栋, 马丽, 何佳, 等. 同型半胱氨酸(Hcy)与血清胱抑素 C(Cys C) 及尿微量清蛋白(U-mALB)联合检测对高血压早期肾损伤的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(6): 939–941.
- Chi XD, Ma L, He J, et al. Value of combined detection of serum Homocysteine(Hcy)and cystatin C (CysC) and urine micro albumin (U-mALB)for Diagnosis of early renal injury in hypertension [J]. Chin J Lab Diagn, 2017, 21(6): 939–941.
- [15] 边宁, 龚博君, 郭军, 等. 一氧化氮/诱导型一氧化氮合酶在动脉粥样硬化过程中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(3): 414–418.
- Bian N, Gong BJ, Guo J, et al. Effects of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase on process of atherosclerosis [J]. Chin J Pathophysiol, 2014, 30(3): 414–418.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

罗晶晶, 硕士, 实验师, 主要研究方向为病理生理学与药理学研究
E-mail: 2541474081@qq.com

孙湛, 教授, 主要研究方向为心血管病理生理学研究。
E-mail: 44989796@qq.com