

纳豆水解酪蛋白肽片的对自发性高血压大鼠的降血压作用

周勇^{1,2}, 曾绮颖³, 夏祖猛², 杜志云³, 赵谋明^{1*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510405) (3. 广东工业大学生物医药学院, 广东广州 510006)

摘要: 纳豆水解酪蛋白肽片(简称蛋白肽片), 主要以水解酪蛋白肽、纳豆粉、弹性蛋白肽等为原料制备而成。该研究旨在探究蛋白肽片对自发性高血压大鼠的降压作用及机制。以自发性高血压大鼠为模型, 每天灌胃口服给药4周后, 检测大鼠的体质量、血压、血清及血管。蛋白肽片可以改善自发性高血压大鼠的体质量下降。结果在结束灌胃的第10周时, 与模型组相比, 蛋白肽片可降低血清中的血管紧张素II (Angiotensin II, Ang II), 醛固酮 (Aldosterone, ALD) 和增加降钙素基因相关肽 (Calcitonin Gene Related Peptide, CGRP) 的含量。与模型组相比, 蛋白肽片可降低总胆固醇 (Total Cholesterol, TC) 含量, 甘油三酯 (Triglyceride, TG) 和低密度脂蛋白胆固醇 (Low Density Lipoprotein, LDL-C) 的含量, 增加 CGRP 的含量, 差异具有统计学意义。蛋白肽片还改善高血压大鼠血管壁增厚现象, 改善血管弹性, 减少血管内皮免疫细胞的聚集。在该实验条件下, 蛋白肽片不仅对自发性高血压大鼠有明显的降血压作用, 同时有利于改善高血压大鼠的血清生化指标和血管功能。

关键词: 蛋白肽片; 降血压; 自发性高血压

文章编号: 1673-9078(2024)11-1-11

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.11.1534

Effects of Natto Peptide Tablets on Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats

ZHOU Yong^{1,2}, ZENG Qiyong³, XIA Zumeng², DU Zhiyun³, ZHAO Mouming^{1*}

(1. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China) (2. Infnitus (China) Co. Ltd., Guangzhou 510405, China) (3. School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Protein peptide tablets consisting of hydrolyzed casein peptides, natto powder, and elastin peptides were used in spontaneously hypertensive rats to investigate antihypertensive effects. The tablets were administered by oral gavage for 4 weeks and the responses in body weight, blood pressure, serum, and vascular tissue of the rats were examined. The protein

引文格式:

周勇, 曾绮颖, 夏祖猛, 等. 纳豆水解酪蛋白肽片的对自发性高血压大鼠的降血压作用[J]. 现代食品科技, 2024, 40(11): 1-11.

ZHOU Yong, ZENG Qiyong, XIA Zumeng, et al. Effects of natto peptide tablets on blood pressure in spontaneously hypertensive rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(11): 1-11.

收稿日期: 2023-12-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (22178070); 广东省重点领域研发计划项目 (2022B11111080003)

作者简介: 周勇 (1980-), 男, 硕士研究生, 高级工程师, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: Ken.Zhou@infnitus-int.com; 共同一作: 曾绮颖 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物医药方向, E-mail: 471889164@qq.com

通讯作者: 赵谋明 (1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: femmzhao@scut.edu.cn

peptide tablets improved body weight reduction in spontaneously hypertensive rats. Comparison with the control group indicated that protein peptide tablets lowered the content of angiotensin II (Ang II) and aldosterone (ALD) and increased the content of calcitonin gene-related peptides (CGRP) in the serum by the 10th week of administration. Protein peptide tablets substantially lowered total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) content. The protein peptide tablets improved vascular wall thickening and elasticity in hypertensive rats while reducing the accumulation of immune cells in the vascular endothelium. Under the experimental conditions of this study, the protein peptide tablets had a marked antihypertensive effect but also improved the serum biochemical indicators and vascular function of spontaneously hypertensive rats.

Key words: protein peptide tablet; antihypertensive; spontaneous hypertension

高血压病是一种由多种病因参与的不进展的心血管综合征，可导致心脏和心血管系统的功能和结构改变，如内皮细胞损伤、平滑肌细胞增生，导致动脉增厚，继而发生粥样硬化、心衰、卒中等心血管事件^[1,2]。高血压按照发生机制可分为原发性高血压和继发性高血压。原发性高血压的发病原因有超重和肥胖、过量饮酒、长期精神紧张和高糖高脂高盐饮食等^[3]。其中长期高糖高脂高盐饮食是引发原发性高血压的重要原因，会导致脂质和水盐代谢紊乱，刺激交感神经，肾素-血管紧张素-醛固酮系统（Renin Angiotensin Aldosterone System, RAAS）活动增强，导致血管持续收缩而使血压明显升高；脂质代谢紊乱会引发血管内膜损伤，血管壁出现增生和重构，血栓形成，心脏负荷加重，导致心肌增生肥大，从而进一步加速高血压及心血管疾病的发生^[4,5]。因此对原发性高血压进行治疗与预防已成为我国慢性病管理一个重要课题。根据相关调研资料，在我国原发性高血压患者中，轻、中度高血压病人分别占60%、30%以上，在原发性高血压的分级管理指南中，对轻度高血压主要是优先考虑生活方式干预为主，通过健康饮食干预，使血压回归正常状态，降低病人的心血管疾病风险^[6,7]。为探究更好的降血压的饮食干预方法，本研究对纳豆水解酪蛋白肽片（下文简称蛋白肽片）的降血压和改善血管功能作用进行研究，分析其改善血压健康作用机理。

RAAS是心血管系统的重要调节系统，在生理情况下对水盐代谢、血压调控起着重要作用，是世界较为认可的高血压发病机制^[8]。目前中医药对高血压的治疗主要是体现在增加水液代谢及舒张血管，其作用机制可能是与阻断RAAS、阻滞钙离子通道、抑制交感神经过度兴奋、保护血管内皮和抑制血管重构、改善胰岛素抵抗有关^[9]。RAAS的失

调是诱导高血压的主要机制，其组成成分包括肾素、血管紧张原（Angiotensinogen, AGT）、ALD、Ang I、Ang II、Ang III等一系列激素^[10]。Ang II通过Ang I介导，作用于磷脂酶C（Phospholipase C, PLC），激动1,4,5-三磷酸肌醇（Inositol 1,4,5-Triphosphate, IP3）通道、蛋白激酶C（Protein Kinase C, PKC）、相关基因如CYP1B₂的转录及部分生长因子等，引起钙超载、醛固酮生成增加、交感兴奋、内皮细胞重塑，直接或间接地导致血压升高。高血压时血管负荷增加产生的剪切力与Ang II对血管平滑肌细胞的促有丝分裂作用可共同引起血管壁中膜层增厚，血管内径减小，这也是导致动脉粥样硬化的内在因素。Ang II不仅具有收缩血管的作用，还可通过刺激球状带细胞中醛固酮的生成和释放，通过氧化激活和炎症反应等诱导高血压发生^[5,6]。

目前用于临床治疗的高血压的药物已有许多，如卡托普利、依那普利、赖诺普利等，但这些药物可能产生钠水平上升、肾功能下降等副作用^[11-15]。蛋白肽片是无限极（中国）有限公司研制的一种功能食品，由水解酪蛋白肽、纳豆粉、弹性蛋白肽、葛根粉、槐米粉等原料组成。其中纳豆粉具有降血压、抗氧化和溶血栓等作用^[16]。水解酪蛋白肽可以促进NO分泌进而舒张血管降低血压^[17]。本文主要研究蛋白肽片对原发性高血压大鼠的降压作用及机制的初步研究，为开发治疗原发性高血压的药物及途径提供一定的临床依据。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

蛋白肽片（批号：20L14AAH01），由无限极（中国）有限公司提供，主要含水解酪蛋白肽（添加量约3%，肽含量（以干基计）≥60.0%），纳豆粉（添

加量约 4%，纳豆激酶 $\geq 20\ 000$ FU/g)、槐米提取物（添加量约 15%，芦丁（以干品计） ≥ 50.0 g/100 g）；卡托普利，国药集团汕头金石制药有限公司；肝素钠（201206），阿拉丁；4 wt.% 组织细胞固定液，购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司；大鼠血清中 TC、TG、高密度酯蛋白（High Density Lipoprotein Cholesterol, HDL-C）、LDL-C、NO、CGRP、ALD、Ang II、ELISA 试剂盒，均购自江苏酶标生物科技有限公司；生理盐水由实验室提供。

1.2 实验仪器

ZS-Z 型无创血压测量仪，北京众实迪创有限公司；1510 型酶标仪，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；Axioskop 40 显微镜，德国 Zeiss；JM-B5002 电子天平，浙江省诸暨市超泽衡器设备有限公司；1389 型超净台，美国 Thermo Fisher Scientific。手术器械（眼科剪、眼科镊、基础外科剪、齿镊、剪骨刀、咬骨钳、组织镊）；柠檬酸钠 4:1 采血管（批号：190302），浏阳市三力医用科技发展有限公司。

1.3 实验动物

SD 大鼠，180~220 g，雄性，SPF 级，购自广东省医学实验动物中心，合格证号：44007200083023。该动物实验室具有广东省科学技术厅认定的《实验动物使用许可证》（许可证编号：SYXK（粤）2019-0201）。

1.4 剂量设计

参照蛋白肽片推荐食用量，蛋白肽片人用剂量为 1.20 g/d，设定人用剂量的 20 倍为大鼠高剂量，即高剂量 0.40 g/(kg·d)，中、低剂量分别为 0.20 和 0.10 g/(kg·d)^[18]。

本实验的阳性药为卡托普利，参考卡托普利人用最高剂量 150 mg/d 计算，然后折算成大鼠剂量 15.75 mg/(kg·d)^[19]。

1.5 动物分组及给药

SD 大鼠喂正常饲养维持饲料观察 5~7 d 后，将其随机分为 6 个组，每组 10 只，分别为空白对照组（简称空白），模型对照组（简称模型），阳性对照组 [简称阳性，15.75 mg/(kg·d)] 蛋白肽片低剂量组 [简称 QPS-L，0.1 g/(kg·d)]，蛋白肽片中剂量组 [简称 QPS-M，0.2 g/(kg·d)]，蛋白肽片高剂量组 [简称 QPS-H，0.4 g/(kg·d)]。

适应期结束后，空白组给与标准饲料，其余组

给予高脂高糖高盐饲料和 1 wt.% 的盐水。其中标准饲料为通用维持饲料。高脂高糖高盐饲料：蔗糖 20%、猪油 15%，胆固醇 1.2%，胆酸钠 0.2%、酪蛋白 10%、磷酸氢钙 1.1%、石粉 0.7%、氯化钠 8%、氯化胆碱 0.2%、混合矿物质 0.08%、混和维生素 0.035%、基础饲料 43.6%。上述两种饲料均购自购自广东省医学实验动物中心。

连续喂养 6 周，从第 7 周开始，空白和模型组灌胃 0.9 wt.% 的生理盐水，阳性组灌胃卡托普利，蛋白肽片低、中、高三个组灌胃相应剂量的蛋白肽片，灌胃 4 周。

1.6 实验取材及指标检测

1.6.1 饮水量和摄食量记录

观察并记录各组大鼠的精神状态、尿量及毛发光亮度等情况。称量并计算出每组 SD 大鼠的饮水量和摄食量。

1.6.2 心动态血压及体质量测量

大鼠于 11 周龄时测第一次鼠尾血压，采用无创尾动脉测压法检测大鼠清醒状态下的尾动脉收缩压和舒张压，每周 1 次。体质量测量。

1.6.3 血液及胸主动脉取材

动物实验结束时，按 0.3 mL/100 g 腹腔注射 10 wt.% 水合氯醛溶液麻醉，麻醉后剖开腹腔主动脉采血，3 000 r/min 离心 10 min，分离血清^[20]。采血后，打开胸腔，分离胸主动脉，从主动脉弓以下至膈膜处剪断取材，立即放入预冷的 0.1 mol/L PBS 中漂洗去除血细胞，分别以 4 wt.% 多聚甲醛固定保存和冷藏保存^[21]。

1.6.4 Elisa测定血清生化因子

通过 Elisa 实验测定 SD 大鼠血清中 Ang II、ALD、CGRP、TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 的含量，对血清中生化因子改变进行分析^[22]。

1.6.5 HE染色

将大鼠主动脉用 4 wt.% 多聚甲醛固定 24 h，石蜡垂直包埋，制备成 4 μ m 切片，用苏木素-伊红（Hematoxylin-eosin Staining, HE）染色，脱水封片，显微镜系统进行图像采集并测量主动脉中膜厚度^[23]。

1.6.6 油红O染色

将大鼠主动脉用 4 wt.% 多聚甲醛固定 72 h，按照试剂盒说明进行油红 O 染色。使用 Image J 软件对油红 O 染色面积进行量化测量。

1.6.7 EVG染色

用EVG染色^[24]测定主动脉弹性纤维变化情况。

1.6.8 免疫组化

胸主动脉石蜡切片脱蜡至水，抗原修复，避光条件下将切片放入双氧水溶液中阻断内源性过氧化物酶，血清封闭后抗体孵育，DAB显色，脱水封片。免疫组化检测CD68，细胞间黏附分子-1(Intercellular Cell Adhesion Molecule-1, ICAM-1)，血管细胞粘附分子-1(Vascular Cell Adhesion Molecule-1, VCAM-1)的表达。

1.7 数据统计分析

计量资料以均数±标准差($\bar{X}\pm S$)的形式表示，以 $\alpha=0.05$ 为检验水平。采用SPSS 15.0统计软件进行统计分析，计量资料采用 t 检验，等级资料采用秩和检验。

2 结果与讨论

2.1 对饮水量和摄食量的影响

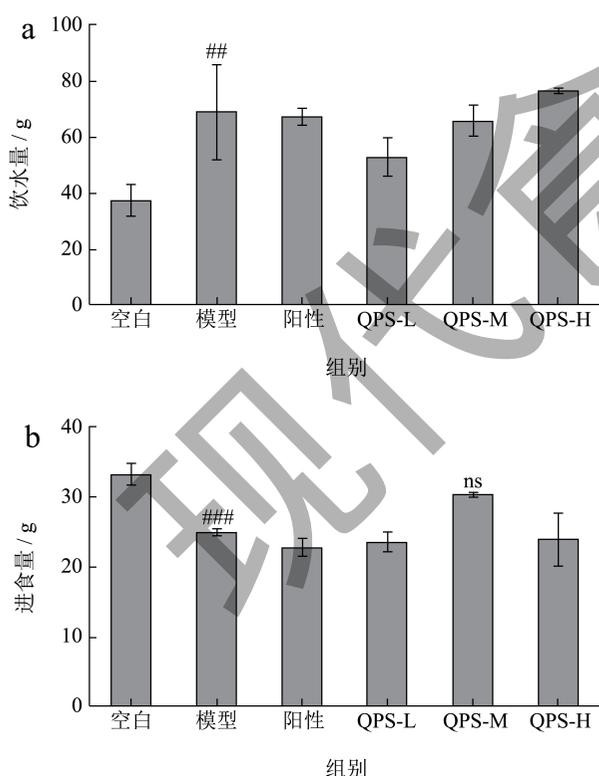


图1 大鼠的饮水量与进食量

Fig.1 Water and food intake of rats

注：与空白组相比，“###”表示 $P<0.01$ ，“####”表示 $P<0.001$ ；与模型组相比，“*”表示 $P<0.05$ 。

模本实验通过给SD大鼠喂饲高脂高糖和高盐的方式建立了“血压升高+血管损伤”复合模型，模型组动物出现高血压等代谢异常的症状，形体消瘦，毛发枯槁、无光泽、懒动、行动迟缓、小便频繁，动物笼内垫料较空白组极易潮湿。与模型组相比，阳性组、QPS-L、QPS-M和QPS-H组动物有一定的改善。

由图1可知，与空白组相比，模型组在高糖高脂高盐的饮食和盐水的饮用下饮水量明显升高。与模型组相比，QPS-L组饮水量均有所下降，表明低剂量的蛋白肽片可以改善高盐饮食导致的口渴及脱水的现象。与空白组相比，模型组的进食量明显降低，出现代谢异常、身体消瘦等高血压异常症状。与模型组相比，QPS-M组的进食量增加，改善其状况。

2.2 蛋白肽片对体质量的影响

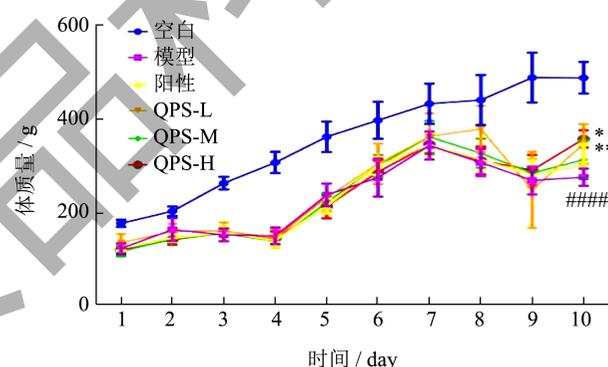


图2 大鼠体质量的变化

Fig.2 Changes in body weight of rats

注：与空白组相比，“####”表示 $P<0.0001$ ；与模型组相比，“*”表示 $P<0.05$ ，“**”表示 $P<0.01$ 。

从动物体质量变化(图2)可知，空白组动物体质量在1~10周中呈现持续增生的趋势，与之相比在第1~4周中模型组、阳性组、QPS-L组、QPS-M组和QPS-H组，动物体质量生长迟缓，在第5~6周时体质量增长缓慢，并且各组动物体质量增长趋势未见明显差异。在第7~10周中各组灌胃相应受试物后，与空白组相比，模型组体质量显著降低，与模型组相比，QPS-L组的体质量增加，QPS-M组的体质量也同样显著性恢复增长，这一趋势证明，低剂量和中剂量的蛋白肽片可以改善由高糖高脂高盐饮食和高盐饮水所导致的体质量下降。

表 1 大鼠收缩压变化

Table 1 Changes of systolic blood pressure in rats (mmHg±SD, n=10)

组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
空白	131.73 ± 5.32	133.12 ± 2.28	133.54 ± 1.76	124.08 ± 2.45	126.65 ± 2.50
模型	131.49 ± 2.98	133.71 ± 2.62	141.39 ± 1.72 ^{###}	143.18 ± 6.68 ^{####}	142.56 ± 7.61 ^{####}
阳性	136.88 ± 3.44 [#]	133.86 ± 1.53	142.1 ± 1.43 ^{####}	141.07 ± 5.80 ^{####}	142.79 ± 5.31 ^{####}
QPS-L	137.12 ± 4.09 [#]	135.81 ± 1.73	142.98 ± 1.36 ^{####}	144.56 ± 5.27 ^{####}	146.7 ± 3.50 ^{####}
QPS-M	135.72 ± 2.76	133.48 ± 2.47	140.49 ± 3.97 [#]	146.47 ± 4.71 ^{####}	149.82 ± 5.66 ^{####}
QPS-H	135.31 ± 5.09	134.43 ± 1.66	142.16 ± 0.95 ^{####}	141.55 ± 5.86 ^{####}	143.15 ± 5.23 ^{####}
组别	第 6 周	第 7 周	第 8 周	第 9 周	第 10 周
空白	126.63 ± 3.16	127.61 ± 2.77	126.63 ± 3.16	128.78 ± 2.19	130.85 ± 3.01
模型	146.24 ± 5.96 ^{####}	147.33 ± 5.48 ^{####}	148.97 ± 4.41 ^{####}	142.02 ± 4.89 ^{####}	141.69 ± 5.51 ^{####}
阳性	143.15 ± 4.94 ^{####}	145.01 ± 5.1	143.52 ± 3.87	135.37 ± 3.69 ^{****}	130 ± 2.66 ^{****}
QPS-L	148.03 ± 3.87 ^{####}	147.54 ± 4.65	144.07 ± 4.04	139.72 ± 2.48	132.83 ± 3.13 ^{****}
QPS-M	149.22 ± 4.42 ^{####}	150.25 ± 7.21	142.71 ± 3.73	137.43 ± 3.67 [*]	136.31 ± 8.89 ^{**}
QPS-H	142.91 ± 4.55 ^{####}	148.79 ± 3.59	142.03 ± 3.77 [*]	139.18 ± 3.81 [*]	131.36 ± 3.66 ^{****}

注: 与空白组相比,“#####”表示 $P < 0.0001$,“####”表示 $P < 0.001$,“###”表示 $P < 0.01$,“#”表示 $P < 0.05$; 与模型组相比,“*”表示 $P < 0.05$,“**”表示 $P < 0.01$,“***”表示 $P < 0.001$,“****”表示 $P < 0.0001$ 。表 2 同。

表 2 大鼠舒张压变化

Table 2 Changes of diastolic blood pressure in rats (mmHg±SD, n=10)

组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
空白	108.42 ± 7.58	106.96 ± 4.24	103.49 ± 2.72	100.89 ± 2.15	104.00 ± 1.73
模型	107.16 ± 5.06	110.08 ± 2.58	116.46 ± 2.63 ^{####}	116.95 ± 5.15 ^{####}	119.21 ± 7.85 ^{####}
阳性	114.39 ± 3.16 [#]	110.95 ± 1.94	118.41 ± 1.963 ^{####}	116.26 ± 6.773 ^{####}	117.29 ± 5.783 ^{####}
QPS-L	110.03 ± 6.34	113.98 ± 4.08	119.96 ± 1.553 ^{####}	118.67 ± 6.083 ^{####}	123.52 ± 4.293 ^{####}
QPS-M	110.09 ± 4.93	110.46 ± 3.88	116.07 ± 4.59 ^{####}	119.74 ± 4.53 ^{####}	126.97 ± 6.15 ^{####}
QPS-H	110.35 ± 4.87	110.52 ± 3.46	119.39 ± 0.79 ^{####}	116.46 ± 7.05 ^{####}	116.35 ± 4.80 ^{####}
组别	第 6 周	第 7 周	第 8 周	第 9 周	第 10 周
空白	102.36 ± 3.34	103.38 ± 3.13	102.36 ± 3.34	106.68 ± 1.83	107.81 ± 2.65
模型	121.30 ± 6.56 ^{####}	121.16 ± 3.51 ^{####}	122.19 ± 3.09 ^{####}	120.01 ± 4.64 ^{####}	121.16 ± 3.51 ^{####}
阳性	116.70 ± 6.083 ^{####}	120.46 ± 6.9	119.85 ± 4.03	112.09 ± 4.18 ^{**}	103.84 ± 3.90 ^{****}
QPS-L	120.06 ± 5.12 ^{####}	122.26 ± 3.23	118.53 ± 5.76	115.03 ± 3.23	106.44 ± 5.02 ^{****}
QPS-M	123.17 ± 4.59 ^{####}	124.55 ± 7.15	116.98 ± 5.02	113.89 ± 5.92 [*]	108.67 ± 7.99 ^{****}
QPS-H	118.39 ± 4.81 ^{####}	123.13 ± 5.50	117.40 ± 5.83	113.47 ± 5.48 [*]	104.92 ± 3.73 ^{****}

2.3 蛋白肽片对血压的影响

从上表 1 中实验动物收缩压变化情况结果可知, 整个实验期间空白组收缩压始终稳定在 124.08~133.54 mmHg 之间, 模型组收缩压自第 3 周开始则上升到 140 mmHg 以上, 在第 4~10 周稳定在 140~150 mmHg 的范围, 且与空白组比较升高。同

时, 在第 1~6 周中阳性、QPS-L、QPS-M 和 QPS-H 组的收缩压也逐渐升高, 在第 6 周时与空白组相比收缩压也同样的升高, 这一趋势表明高血压模型成功建立。在第 7~10 周, 阳性、QPS-L、QPS-M 和 QPS-H 组的收缩压也逐渐降低。最终在第 10 周时与模型组相比, 蛋白肽片高、中、低剂量组和阳

性对照组的收缩压分别为 131.36、136.31、132.83、130 mmHg, 结果表明卡托普利和低、中、高三个剂量的蛋白肽片具有显著的降低收缩压的作用。

从表 2 中动物舒张压变化情况结果可知, 第 1~10 周实验期间空白组舒张压始终稳定在 100.89~108.61 mmHg 的之间, 从第 3 周开始模型的组舒张压表现出和收缩压相似的变化趋势, 自第 5 周至开始则上升到约 120 mmHg 及以上, 在第 3~10 周中与空白组比较, 模型组的舒张压升高, 与此同时, 阳性、QPS-L、QPS-M 和 QPS-H 组在第 1~6 周中舒张压也显著性升高, 数据表明高血压模型成立。自第 9 周开始, 与模型组相比, 阳性、QPS-M 和 QPS-H 组的舒张压同样表现出较好的下降趋势。至第 10 周, 蛋白肽片高、中、低剂量组和阳性对照组的舒张压分别为 104.92、108.67、106.44、121.16 mmHg, 与模型组比较具有极显著性差异性。可知卡托普利和低、中、高不同剂量的蛋白肽片均具有降低舒张压的作用。综上所述, 通过大鼠灌胃蛋白肽片后, 低、中、高不同剂量的蛋白肽片对大鼠的收缩压和舒张压具有降压效果, 表明蛋白压片对大鼠的血压稳定效果较好^[25]。此外, 经过对小鼠连续给药后, 并未发现大鼠出现不良的毒副作用。

2.4 蛋白肽片对血清生化因子的影响

长期高脂、高糖、高盐饮食会引发脂质和水盐代谢紊乱, 肾素-血管紧张素系统活动增强, 模型组的大鼠 Ang II 水平升高, 导致血管持续收缩而使血压明显升高, 还可通过刺激球状带细胞中 ALD 的生成和释放, 从而激活氧化和炎症反应等诱导高血压发生。如图 3 所示, 与空白组相比, 模型组大鼠血清中 Ang II 的含量为 187.10 pg/mL, Ang II 的含量增加。与模型组相比, 阳性组 Ang II 的含量为 141.33 pg/mL, Ang II 的含量降低。与模型组相比, QPS-L 组、QPS-M 组和 QPS-H 组的 Ang II 的含量分别为 150.52、158.24 和 153.56 pg/mL, Ang II 的含量降低。Ang II 可引起血管壁重构, 造成血管内径减小, 直接或间接导致高血压, 这一结果说明低、中、高剂量的蛋白肽片均可以抑制高血压小鼠中 Ang II 的含量增加; 与空白组相比, 模型组 ALD 含量为 1 004.23 pg/mL, 含量有所增加。与模型组相比, 阳性组 ALD 的含量为 837.80 pg/mL, 含量降低。QPS-L 组 ALD 的含量为 860.54 pg/mL, 含量同样降低, 这一趋势说明 QPS-L 可以降低自发性大

鼠血容量并阻止血压升高; 与空白组相比, 模型组大鼠血清 CGRP 的含量为 61.93 pg/mL, 含量下降。与模型组相比, QPS-M 组和 QPS-H 组 CGRP 的含量分别为 74.43、74.35 pg/mL, CGRP 的含量增加。结果表明, QPS-M 和 QPS-H 可增加自发性高血压大鼠血清中的 CGRP 表达从而改善血流、促进钠盐排泄和调节血压。这说明, 小鼠在蛋白肽片干预后, 血清中的 Ang II 和 ALD 的水平降低, CGRP 升高, 减少了肾脏的水纳滞留, 抑制 RAAS 系统的过度激活, 从而起到舒张血管降压作用^[25-27]。

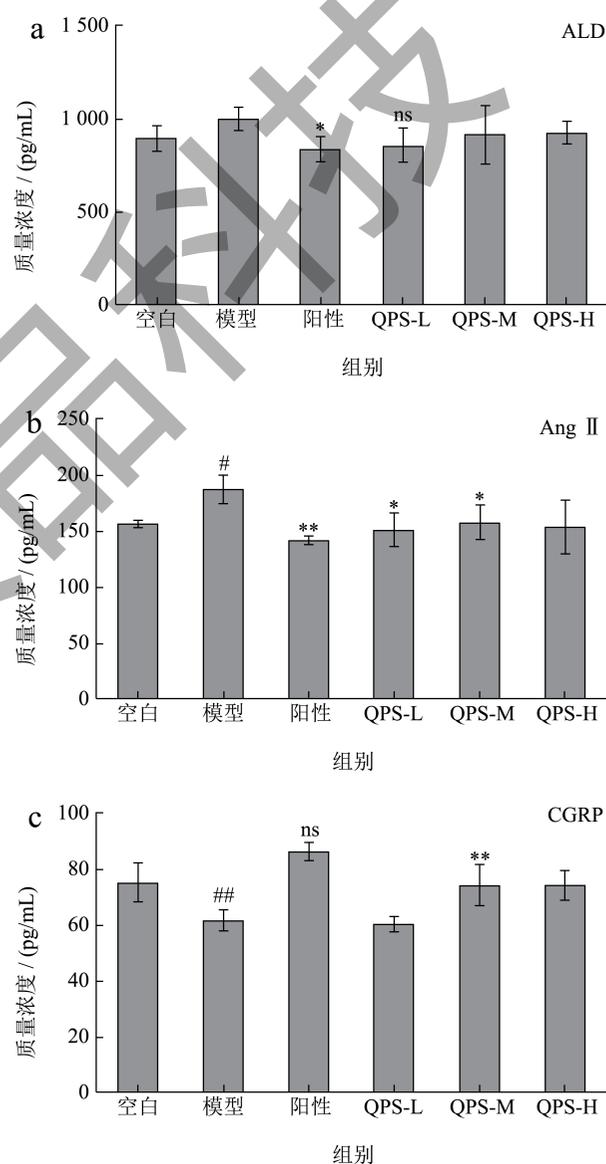


图 3 大鼠血清 Ang II、ALD 和 CGRP 的含量

Fig.3 Levels of serum Ang II, ALD and CGRP in rats

注: 与空白组相比, “##”表示 $P < 0.01$, “#”表示 $P < 0.05$; 与模型组相比, “*”表示 $P < 0.05$, “**”表示 $P < 0.01$, “****”表示 $P < 0.0001$ 。

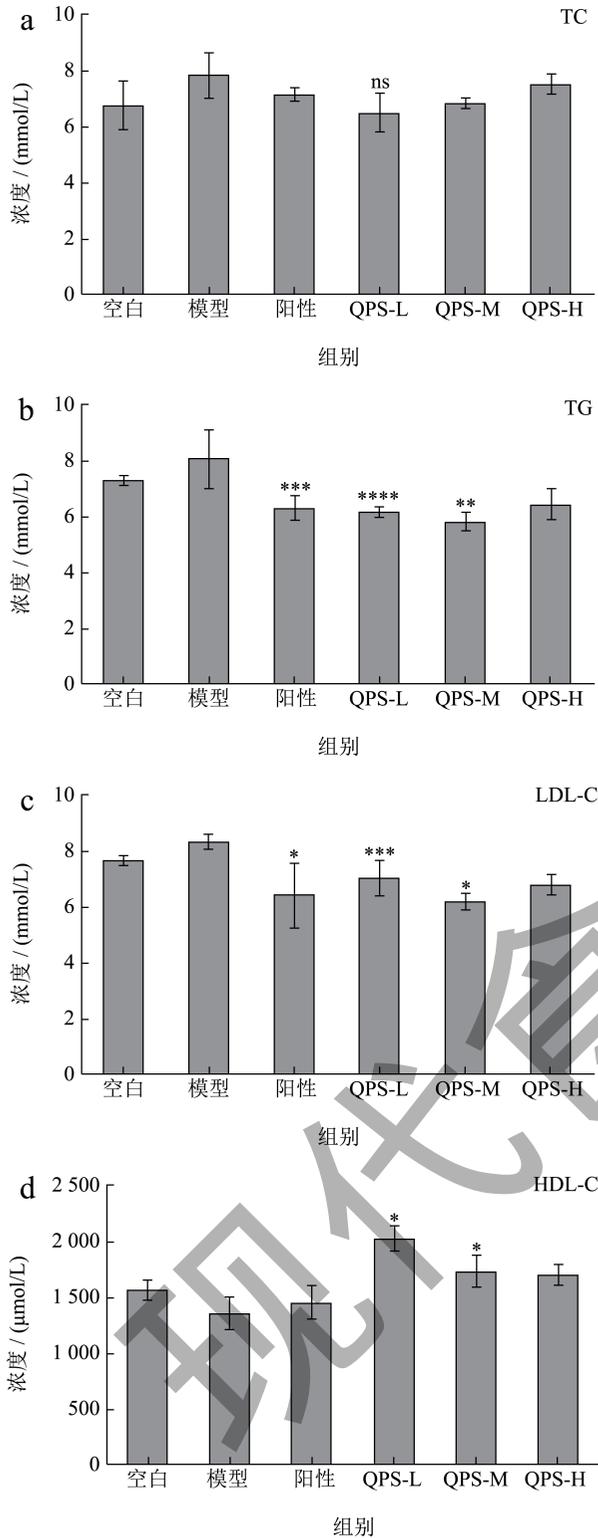


图4 大鼠血清 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 的含量

Fig.4 Levels of serum TC, TG, LDL-C and HDL-C in rats

注: 与模型组相比, “*”表示 $P < 0.05$, “**”表示 $P < 0.01$, “***”表示 $P < 0.001$, “****”表示 $P < 0.0001$ 。

长期高脂、高糖、高盐饮食会引发脂质和水盐代谢紊乱, 脂质代谢紊乱致使血液中 TC、TG、LDL-C 水平升高, HDL-C 水平降低^[28,29]。如图 4 所示, 与空

白组相比, 模型组 TC 含量为 7.88 mmol/L, TC 含量增加。与模型组相比, QPS-L 组、QPS-M 组和 QPS-H 组的 TC 含量变化不大。与空白组相比, 模型组 TG 含量为 8.13 mmol/L, 含量增加。QPS-L 组、QPS-M 组和 QPS-H 组的 TG 含量分别为 6.35、6.18 和 6.48 mmol/L, 与模型组相比含量降低。与空白组相比, 模型组 LDL-C 含量为 8.33 mmol/L, LDL-C 含量增加。与模型组相比, QPS-L 组、QPS-M 组和 QPS-H 组的 LDL-C 含量分别为 7.07、6.19 和 6.75 mmol/L, LDL-C 含量降低; 与空白组相比, 模型组 HDL-C 水平降低。与模型组相比, QPS-L 组、QPS-M 组和 QPS-H 组 HDL-C 含量均增加。因此, 结果表明蛋白肽片可以使脂质代谢紊乱大鼠的血液中 TG、LDL-C 水平降低, HDL-C 升高, 防止引发血管内膜损伤、血管壁出现增生和重构和血栓形成等^[30,31]。

2.5 蛋白肽片对血管的影响

大量研究表明, 自发性高血压的升高会引起血管损伤, 是机体的应激水平提高, 血管内皮损伤, 且患者自身无法调节, 从而使损伤处血液聚集凝滞, 血管壁厚度增加, 血管弹性降低^[32,33]。为研究蛋白肽片对血管内皮结构的影响, 本文研究了蛋白肽片对血管内壁, 血管壁厚度及血管弹性的影响。

2.5.1 蛋白肽片对血管内壁影响

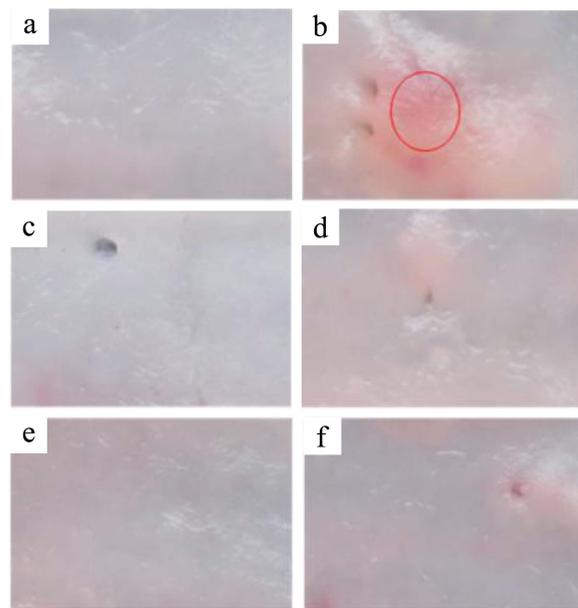


图5 血管内壁形态 (20×)

Fig.5 Endovascular morphology (20×)

注: (a) 空白对照组; (b) 模型对照组; (c) 阳性对照组; (d) QPS-L 组; (e) QPS-M 组; (f) QPS-H 组。下同。

从血管内壁观察图 5 可看出, 空白组血管内壁平滑, 模型组组动物胸主动脉内壁刚出现内表面有皱褶和颗粒状物, 平滑度明显较空白组差。阳性组、QPS-L 组和 QPS-M 组血管内壁与空白组相近, 内壁平滑, 未见明显皱褶和颗粒状物。这说明, QPS-L 组和 QPS-M 组可以改善由高脂高糖高盐引起的血管内壁的变化。

2.5.2 蛋白肽片对血管壁厚度的影响

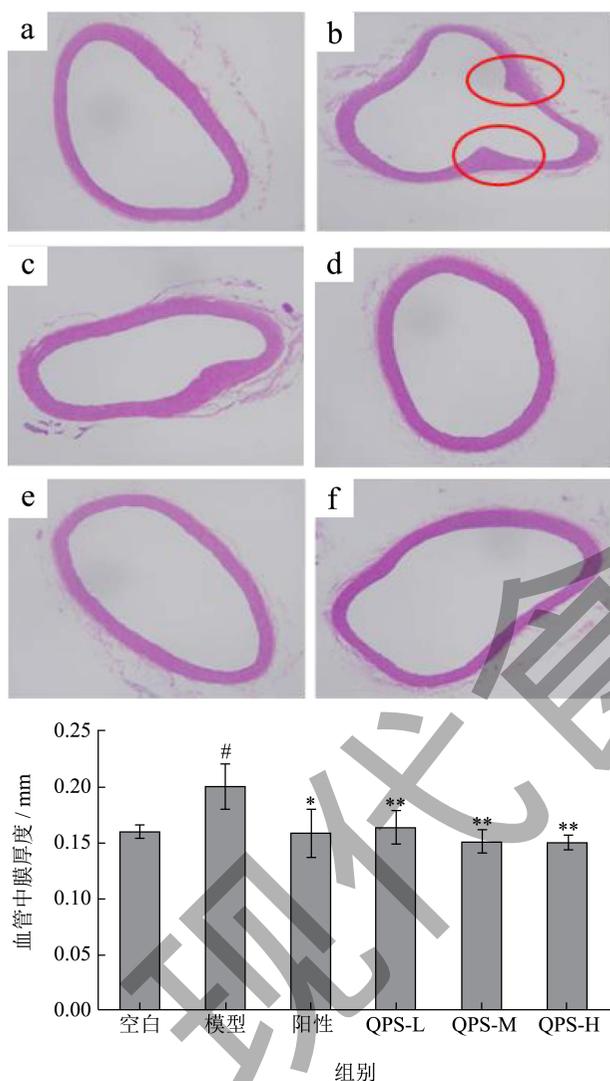


图 6 主动脉血管腔及血管中膜厚度 (20 ×)

Fig.6 Aortic lumen and media thickness (20×)

注: 与空白组相比, “#” 表示 $P < 0.05$; 与模型组相比, “*” 表示 $P < 0.05$, “**” 表示 $P < 0.01$ 。

从血管中膜及管腔形态图 6 也可以看出, 空白组及大部分蛋白肽片样品干预组血管壁厚薄均一, 无异常增厚等现象, 模型组和阳性组血管壁出了局

部的增厚的现象。从动脉中膜厚度结果可知, 模型组动物由于长期食用高脂高糖和高盐饲料, 与空白组比较, 血管中膜厚度显著性变大。与模型组比较, 阳性组中膜厚度显著性变小, QPS-L 组、QPS-M 组和 QPS-H 组中膜厚度均显著性变小。

2.5.3 蛋白肽片对血管弹性的影响

血管弹性主要通过血管中膜中弹性纤维的排列情况和完整情况等判断, 如图 7 所示, 空白组弹性纤维排列整齐, 未见明显弯曲, 变形及断裂等问题, 与之相比, 模型组弹性纤维排列紊乱, 纤维弯曲, 变形及断裂、丢失, 纤维间出现交叉等现象。阳性排列不整齐, 有纤维弯曲、断裂、丢失等问题, QPS-L 组纤维排列较整齐、完整, 但有交叉, QPS-M 和 QPS-H 组血管中膜弹性纤维排列整齐, 未见明显弯曲、变形、断裂、纤维间交叉等问题^[34,35]。这说明 QPS-M 和 QPS-H 可以改善血管弹性^[36]。

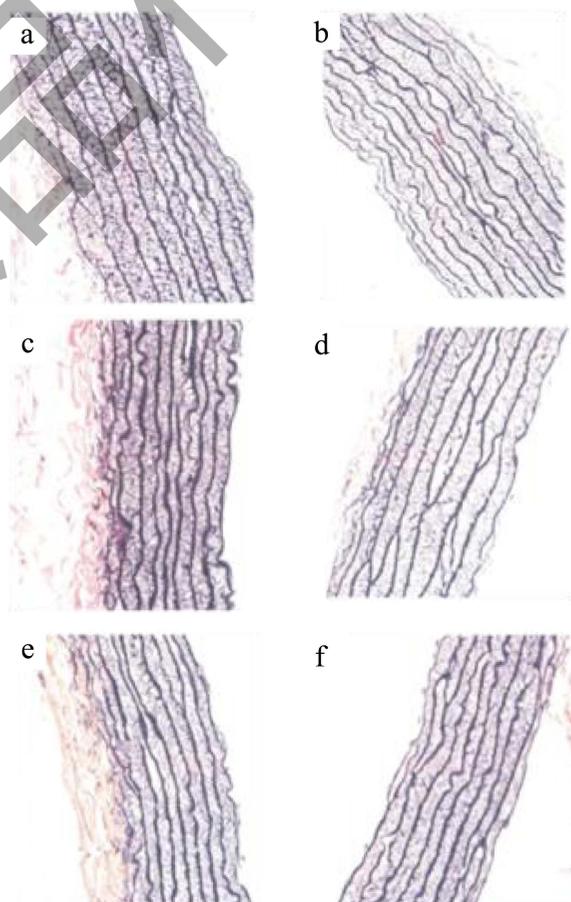


图 7 血管中膜 EVG 染色 (400 ×)

Fig.7 Vascular media EVG staining (400×)

2.6 免疫组化

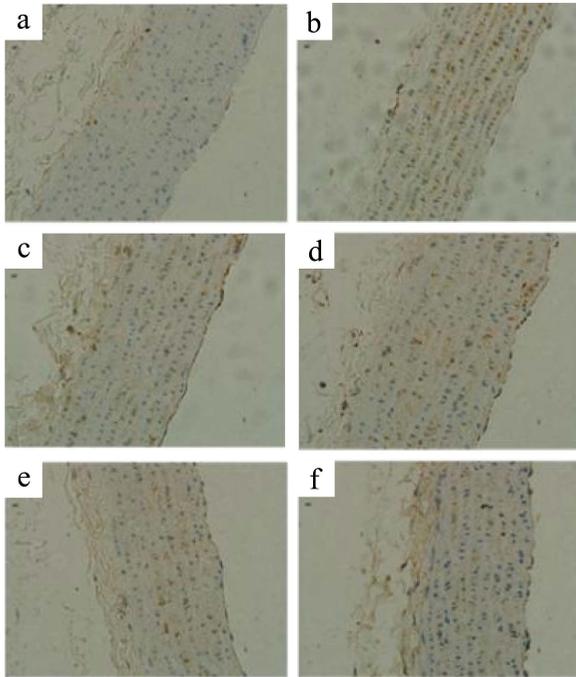


图8 血管 CD68 免疫组化染色 (400×)

Fig.8 Vascular CD68 immunohistochemical staining (400×)

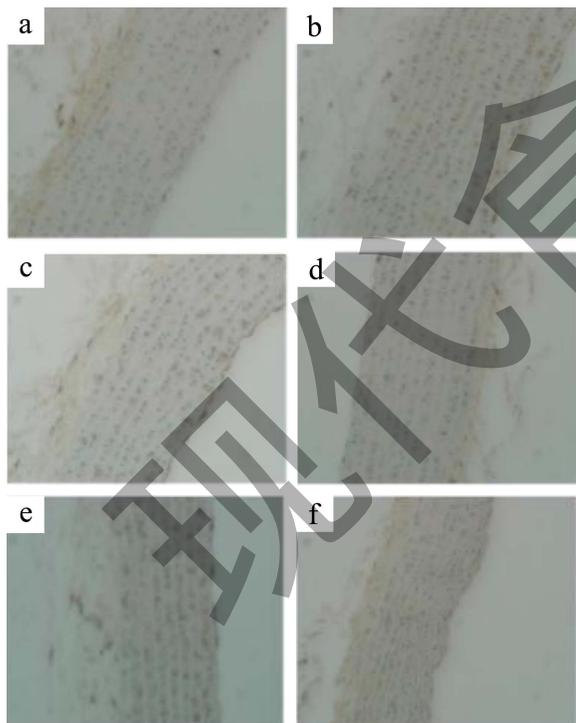


图9 血管 VCAM-1 免疫组化染色 (400×)

Fig.9 Vascular VCAM-1 immunohistochemical staining (400×)

CD68 是一种高度糖基化的跨膜蛋白，是目前常规应用最广泛的巨噬细胞标记物。结果表明，与空白组相比，M 组动物主动脉根部动脉切片中显示大量棕黄色斑点，表明有大量 CD68 的阳性表达，

巨噬细胞浸润较严重，与模型组比较 QPS-L 组、QPS-M 组棕黄色斑点较少，巨噬细胞浸润严重性程度较轻。

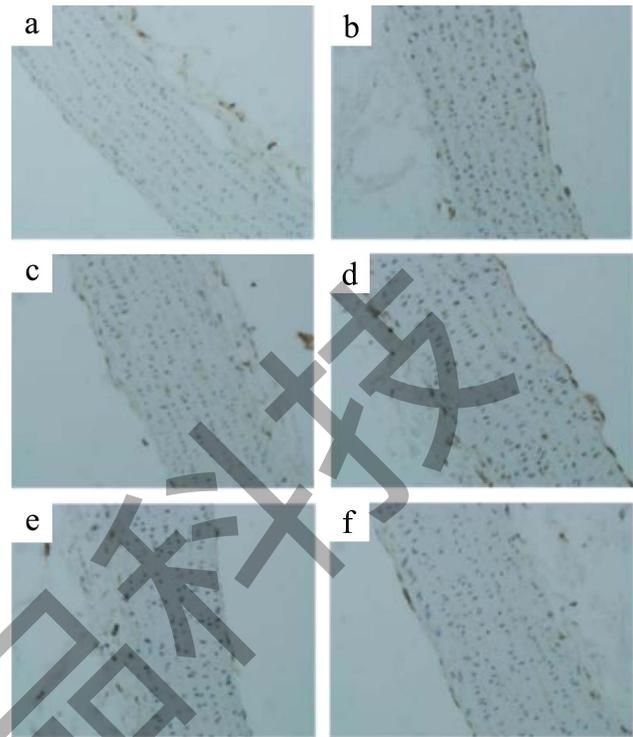


图10 血管 ICAM-1 免疫组化染色 (400×)

Fig.10 Vascular ICAM-1 immunohistochemical staining (400×)

细胞黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 属免疫球蛋白超家族成员，主要以低水平表达于内皮细胞，从图 9 和图 10 结果可知，与空白组相比，模型组动物主动脉根部动脉细胞黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 表达明显升高，可知模型组血管内皮细胞出现大量单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞与内皮细胞黏附以及淋巴细胞聚集等现象。与模型组比较，阳性、QPS-L、QPS-M 和 QPS-H 组棕黄色斑点均有减少，表明 ICAM-1 表达降低。VCAM-1 染色结果显示阳性、QPS-L、QPS-M 和 QPS-H 组 VCAM-1 表达下降较明显。结果表明蛋白肽片可以降低 ICAM-1、VCAM-1 表达从而降低体内炎症反应^[37]。

3 结论

本实验通过给 SD 大鼠喂饲高脂高糖和高盐的方式建立了“血压升高+血管损伤”复合模型，在灌胃 4 周不同剂量的蛋白肽片后，在结束灌胃的第 10 周时，蛋白肽片高、中、低剂量组和阳性对照组的

收缩压分别为 131.36、136.31、132.83、130 mmHg, 与模型组相比, 差异具有统计学意义, 说明蛋白肽片对高血压大鼠的血压具有显著的降低效果; 在结束蛋白压片灌胃的第 10 周时, 与模型组相比, 蛋白压片组可降低血液中 Ang II 的含量, 降低血液中 ALD 的含量, 增加血液中 CGRP 表达; 与模型组相比, 蛋白肽片干预后小鼠血液中的 TC、TG、LDL-C 水平降低, HDL-C 升高, 说明蛋白肽片可在一定程度上改善高血压大鼠的血清生化指标。同时, 免疫组化结果表明, 蛋白肽片能降低 CD68、ICAm-1 和 VCAm-1 表达从而减少巨噬细胞浸润, 降低体内炎症反应。综上所述, 蛋白肽片具有显著性降血压和改善血管功能的作用, 其作用机制可能与下调体内 Ang II 和 ALD 含量、上调 CGRP 含量, 下调血液中 TC、TG、LDL-C 水平, 增加 HDL-C 水平表达等有关。

参考文献

- [1] 廖雪艳,王琦,汪克纯.林檎叶提取物对N_ω-硝基-L-精氨酸(L-NNA)诱导KM小鼠高血压的预防效果[J].现代食品科技,2022,38(1):134-142.
- [2] 何茂,许万枫,苏洁,等.复方野菊花提取物对高脂高糖饮酒致肝旺痰阻型高血压大鼠的作用研究[J].中药新药与临床药理,2019,30(2):156-161.
- [3] 李永平,赵学慧,杜文琪,等.昆仑雪菊水提液对高血压模型大鼠血脂和血压的影响[J].西部中医药,2017,30(6):15-17.
- [4] 何芳,陈赫军,李洁.芹菜素对高脂高盐所致高血压大鼠降压及心脏保护作用[J].中药药理与临床,2016,32(5):48-51.
- [5] 姜金池,顾敏雯,苏印,等.益生菌对糖脂代谢紊乱相关疾病的缓解作用及机制[J].食品与生物技术学报,2024,43(4):17-24.
- [6] 滕欣越,王灵冰,孙硕,等.血管紧张素 II 引起高血压的分子机制研究进展[J].医学研究杂志,2019,48(1):14-17.
- [7] 胡泽平,王邦宁.血管内皮功能不全与高血压研究进展[J].医学综述,2007,4:255-257
- [8] GIOVANNA L, FRANCESCA V, SALVATORE D C, et. al. Blood pressure reduction and RAAS inhibition in diabetic kidney disease: therapeutic potentials and limitations [J]. Journal of Nephrology, 2020, 33(5): 949-963.
- [9] 赵倩倩,李媛媛,陈聪,等.中医药治疗原发性高血压的作用机制研究现状与展望[J].中华中医药杂志,2020,35(4):1914-1916.
- [10] 程红,田国平.肾素-血管紧张素-醛固酮系统与肥胖性高血压相关性研究[J].社区医学杂志,2012,10(18):57-58.
- [11] ABBOOD A, LAYKA R. Weight and content uniformity study of captopril half-tablets [J]. Research Journal of Pharmacy and Technology, 2017, 10(6): 1621-1626.
- [12] ELLIOTT W J, BISTRKA E A. Perindopril arginine and amlodipine besylate for hypertension: a safety evaluation [J]. Expert Opinion on Drug Safety, 2018, 17(2): 207-216.
- [13] PINTO B, JADHAV U, SINGHAI P, et. al. ACEI-induced cough: A review of current evidence and its practical implications for optimal CV risk reduction [J]. Indian Heart Journal, 2020, 72(5): 345-350.
- [14] 赵梦鸽,何慧,马爱民,等.蛋清源生物活性肽功能及其构效关系研究进展[J].华中农业大学学报,2020,39(5):167-175.
- [15] YOUSR M, HOWELL N. Antioxidant and ACE inhibitory bioactive peptides purified from egg yolk proteins [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(12): 29161-29178.
- [16] 郭智慧.纳豆粉对高脂大鼠血脂活性的影响[J].国际感染病学,2019,8(1):196.
- [17] YAMAGUCHI N, KAWAGUCHI K, YAMAMOTO N. Study of the mechanism of antihypertensive peptides VPP and IPP in spontaneously hypertensive rats by DNA microarray analysis [J]. European Journal of Pharmacology, 2009, 620 (1-3): 71-77.
- [18] 于逢春.纳豆激酶在血管病危险人群应用专家建议(2020版)[J].中国老年保健医学,2022,20(1):3-8.
- [19] 那开究.应重视醛固酮受体拮抗剂在心血管疾病中的应用[J].中国临床医生杂志,2016,44(11):1-3,121.
- [20] 朱翔.降钙素基因相关肽与高血压的研究现状[J].心血管病学进展,2004,2:105-107.
- [21] 戴蔚荃,何邦平,王小燕,等.锌铜铁钙镁钾钠含量测定及其高血压合并高脂血症关系的研究[J].微量元素与健康研究,2007,3:8-10.
- [22] 张振.山楂叶总黄酮对高脂高盐所致高血压大鼠降压及心脏保护作用的研究[J].环球中医药,2017,10(2):136-140.
- [23] 梁美云,冯正平.钙与心脑血管疾病的关系及其作用机制[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2020,13(2):177-183.
- [24] 刘飞祥,张道培,吴兆鑫,等.加味通窍活血汤下调PI3K/Akt通路抗基底动脉延长扩张症的机制[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(1):87-94.
- [25] 王宝贝,张慧,刘宇松,等.食源性多肽的降血压作用及其机制研究进展[J].食品与机械,2024,40(3):217-224.
- [26] 尹变利.盐酸法舒地尔对急性脑梗死老年患者血清中血管细胞间黏附分子-1、细胞间黏附分子-1、内皮素-1和一氧化氮水平的影响[J].中国老年学杂志,2015,35(6): 1573-1575.
- [27] 郜蕊,陈静,吴伟青,等.绿茶多酚对高脂-高盐-高糖诱致

- 大鼠高血压性肾损伤的保护作用[J].中国老年学杂志, 2011,31(3):484-486.
- [28] 胡甲乙,朱瑶,刘军锋,等.复方高滋斑片对自发性高血压大鼠的降压作用及对RAAS调控机制的研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2021,23(7):2227-2236.
- [29] 刘正华,颜晓菁.CD68因子在白血病中的研究进展[J].现代肿瘤医学,2020,28(1):157-161.
- [30] 孙玉婵,张丹丹,路迎冬,等.冠心舒通胶囊对高脂饮食 ApoE-/-小鼠动脉粥样硬化形成的影响[J].辽宁中医药大学学报,2020,22(12):28-32.
- [31] 蔡颖,齐春丽,吴铎,等.小檗碱对高脂-高盐-果糖诱致大鼠高血压性肾损伤的保护作用[J].广东药学院学报, 2011,27(1):65-69.
- [32] CHEN Y, ZHU Y, WU C, et. al. Gut dysbiosis contributes to high fructose-induced salt-sensitive hypertension in Sprague-Dawley rats [J]. Nutrition, 2020, 75-76: 110845.
- [33] 陈红梅,陈友琼,兰建军,等.经桡动脉入路PCI联合双联抗血小板对冠心病患者心功能、血管内皮功能、冠状动脉再狭窄的改善作用[J].疑难病杂志,2021,20(1):17-21.
- [34] 邓伶兰.彩色多普勒超声检测颈动脉血流参数、内膜中层厚度及斑块特征与高血压脑卒中的关系[J].心血管病防治知识(学术版),2020,10(14):9-11.
- [35] 王成,郭长磊,李霞,等.金丝桃苷对高血压大鼠降血压作用及与血管紧张素转化酶抑制作用的关系[J].中药药理与临床,2018,34(5):33-39.
- [36] ROSA G B, CAVALET L C, MELO A B S, et. al. High salt intake during puberty leads to cardiac remodelling and baroreflex impairment in lean and obese male Wistar rats [J]. British Journal of Nutrition, 2020, 123(6): 642-651.
- [37] 何小群,潘勇,李天资,等.木蝴蝶对SHR大鼠的降血压作用研究[J].中国当代医药,2019,26(9):34-37.

现代食品科技