

槲皮素对自发性高血压大鼠血压、肠道菌群及心室重构的影响及机制研究

周 秀¹, 刘 静², 李家富^{1*}

¹西南医科大学附属医院心血管内科, 泸州 646000; ²重庆市永川区人民医院, 重庆 402100

摘要:为了探讨槲皮素对自发性高血压大鼠(SHR)血压、肠道菌群及心室重构的影响及机制,本实验设8只Wistar Kyoto大鼠为对照组(WKY),将24只SHR随机分为模型组(SHR)、贝那普利组(Ben)、槲皮素组(Que),予以灌胃,测血压,8周后,用ELISA检测血清Toll样受体4(TLR4)、NF- κ B p65浓度,用16S-V4区测序检测肠道菌群;计算心脏质量指数、左心室质量指数,用苦味酸-酸性品红法染色观察心肌纤维化,计算CVF;用Western blot和RT-PCR检测心肌组织TLR4蛋白和mRNA含量。结果显示:与WKY比较,SHR收缩压、心脏质量指数、左心室质量指数、CVF、血清TLR4、NF- κ B p65以及心肌组织TLR4蛋白和mRNA、F/B值均增高,菌群丰富度下降;与SHR比较,Ben、Que均能显著降低血压,改善心肌纤维化程度,降低血清TLR4、NF- κ B p65以及心肌组织TLR4蛋白和mRNA的表达,改善肠道菌群丰度。研究结果提示槲皮素可能通过调节肠道菌群,下调TLR4/NF- κ B途径,进而降低SHR血压及改善心室重构。

关键词:槲皮素;自发性高血压大鼠;高血压;心室重构;肠道菌群;Toll样受体4

中图分类号:R541.3

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)9-1449-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.9.001

Effects and mechanism of quercetin on blood pressure, intestinal flora and ventricular remodeling in spontaneously hypertensive rats

ZHOU Xiu¹, LIU Jing², LI Jia-fu^{1*}

¹Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China;

²People's Hospital of Yongchuan District, Chongqing 402100, China

Abstract: To investigate the effects and mechanism of quercetin on blood pressure, intestinal flora and ventricular remodeling in spontaneously hypertensive rats (SHR). Eight Wistar Kyoto rats were set as the control group (WKY), and 24 SHR were randomly divided into 3 groups: model group (SHR), benazepril group (Ben) and quercetin group (Que), separately given blank solvent, blank solvent, benazepril 10 mg/(kg·d), quercetin 50 mg/(kg·d) by gavage. Blood pressure was monitored every 2 weeks. After 8 weeks, the concentrations of Toll-like receptor 4 (TLR4) and nuclear factor-kappa B p65 (NF- κ B p65) in the serum were measured by ELISA. The rat feces in the cecum was acquired for the detection of intestinal flora by 16S - V4 area sequencing. Taking the rat heart to calculate heart weight index, left ventricular weight index. Myocardial fibrosis was observed by VanGieson staining and cardiac collagen volume fraction (CVF) was calculated. The expression of TLR4 protein and mRNA in the myocardium was detected by Western blot and RT-PCR. Compared with WKY, systolic blood pressure, cardiac mass index, left ventricular mass index, CVF, the concentrations of TLR4 and NF- κ B p65 in the serum, the expression of TLR4 protein and mRNA in the myocardium, F/B value were increased, while the richness of intestinal flora was decreased in SHR. Compared with SHR, blood pressure was significantly reduced; the degree of myocardial fibrosis was improved; the concentrations of TLR4 and NF- κ B p65 in the serum, the expression of TLR4 protein and mRNA in the myocardium were reduced; the intestinal flora abundance was improved both in Ben and Que. Quercetin decreases blood pressure and

收稿日期:2020-03-22 接受日期:2020-08-10

基金项目:四川省科技厅国际合作计划(2012HH0011)

* 通信作者 Tel:86-013882796628; E-mail:lijiafu198948@swmu.edu.cn

improves ventricular remodeling in SHR. The mechanism may be by regulating intestinal flora, suppressing TLR4/ NF- κ B signaling pathway.

Key words: quercetin; spontaneously hypertensive rats (SHR); hypertension; ventricular remodeling; intestinal flora; Toll-like receptor 4 (TLR4)

现阶段,中国心血管病患病率及死亡率仍在增加,根据调查研究推算我国心血管病现患人数 2.9 亿,其中高血压高达 2.45 亿人^[1],而高血压也是心血管病主要危险因素,给家庭及国家带来沉重的负担。越来越多研究发现高血压与肠道微生态失衡有关^[2-5],但其具体机制尚不清楚,有待进一步研究。目前研究表明 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 与高血压及心室重构相关^[6-12],TLR4 的主要配体为脂多糖,TLR4 结合配体后可激活核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B),进而导致炎症因子大量释放^[13],促进血管内皮细胞炎性损伤、血管功能障碍、血管重塑,参与心室重构。而肠道菌群失调可催化免疫反应。槲皮素是一种黄酮类化合物,广泛存在于植物的花、叶、果实中。现有研究表明槲皮素具有降血压、抗氧化、抗炎、调节免疫功能等作用^[14-16]。目前槲皮素通过肠道菌群对高血压心室重构的研究较少,本实验旨在研究槲皮素对自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rats, SHR) 血压、肠道菌群及心室重构的影响及机制。

1 材料与方法

1.1 药品

槲皮素 (纯度 $\geq 98\%$, 美国 Sigma 公司,批号 50145V763L); 盐酸贝那普利片 (北京诺华制药有限公司,批号 X2640)。

1.2 实验动物及分组

11 周龄的雄性无特殊病原体级 Wistar Kyoto 大鼠 (WKY) 8 只,体重 252.50 ± 6.63 g; SHR 24 只,体重 249.95 ± 7.89 g; 购于北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号: SCXK (京) 2016-0006。合格证号: 11400700308982、11400700311014。所有大鼠在西南医科大学动物实验中心喂养,设 8 只 WKY 为正常对照组 (WKY), 24 只 SHR 随机分为模型组 (SHR)、贝那普利组 (Ben)、槲皮素组 (Que), 适应性喂养 1 周后,分别给予空白溶剂、空白溶剂、贝那普利 10 mg/(kg·d)、槲皮素 50 mg/(kg·d) 灌胃,连续 8 周。

1.3 无创血压测量

实验开始前、实验中每 2 周使用无创血压仪

(Panlab Harvard Apparatus) 测量大鼠尾动脉血压,每只大鼠连续测量 3 次,取测量收缩压的平均值作为大鼠收缩压,单位采用 mmHg, 1 mmHg = 0.133 kPa。

1.4 标本采集

干预 8 周后,大鼠称体重,予以 3% 戊巴比妥钠 50 mg/kg 麻醉大鼠,腹主动脉采血至无热源真空采血管中,不加任何抗凝剂,常温静置半小时以上。取大鼠心脏,用冷生理盐水洗净血液,滤纸吸干水分后称重,后取大鼠左心室及室间隔称重,计算心脏质量指数 (即心室质量与体重之比) 及左心室质量指数 (即左心室质量与体重之比); 取左心室心尖部心肌组织用 4% 甲醛固定,以备病理切片,余存放于冻存管中 -80 °C 保存,以备 TLR4 蛋白及 mRNA 检测; 无菌操作采集大鼠盲肠粪便至无菌 EP 管中 -80 °C 保存以备肠道菌群检测。

1.5 16S-V4 测序行肠道菌群检测

取大鼠盲肠粪便,提取粪便中的 DNA,用 Qubit Fluorometer 法检测样品浓度,取质量合格的样品行 16S V4 区 PCR 扩增,对 PCR 扩增产物进行纯化并溶于洗脱缓冲液,完成建库。对文库的片段范围及浓度进行检测。检测合格的文库根据插入片段大小,选择 HiSeq 平台进行测序。对测序数据过滤拼接聚类成操作分类单位 (operational taxonomic unit, OTU), 并与数据库比对、物种注释; 基于 OTU 和注释结果,使用 R 软件行物种组成分析、Alpha 多样性指数 Ace 与 Shannon 分析。Ace 指数、Shannon 指数用来分析菌群的丰富度及多样性, Ace 指数与菌群的丰富度成正比, Shannon 指数与菌群的多样性成正比。16S V4 区测序委托深圳华大基因有限公司完成。

1.6 ELISA 检测血清中 TLR4、NF- κ B p65 浓度

将腹主动脉采集的血液凝固后离心,取上清液血清至无热源 EP 管, -80 °C 保存,严格按试剂盒 (Rat TLR4 ELISA Kit: 科鹿生物, ELK2106; Rat NF κ B p65 ELISA Kit: 科鹿生物, ELK1693) 说明书操作。

1.7 苦味酸-酸性品红法 (VanGieson, VG) 染色观察心肌纤维化

取 4% 甲醛固定后的心肌组织,石蜡包埋,切

片,VG染色。使心肌细胞成黄色,胶原纤维成红色。用计算机IPP软件行图像分析,计算心肌胶原面积与所测视野面积比,即心肌胶原容积分数(col-lagen volume fraction, CVF),随机取3个视野,取CVF平均值。

1.8 Western blot 检测心肌组织 TLR4 蛋白

取心肌组织块提取组织总蛋白,使用BCA蛋白质浓度测定试剂盒测定样品蛋白浓度,行SDS-PAGE电泳,将蛋白由凝胶转至PVDF膜,孵育抗体,化学发光显色,将胶片进行扫描存档,AlphaE-aseFC软件处理系统分析目标带的光密度值。

1.9 RT-PCR 检测心肌组织 TLR4 mRNA 表达

按说明书提取心肌组织中RNA,按PCR试剂盒(QuFast SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒:ELK Biotechnology, EQ001)说明书进行反应,反应程序为95℃,1 min 预变性;95℃,15 s→58℃,20 s→72℃,45 s 循环40次;60℃→95℃,每20 s 升温1℃溶解曲线。由计算机自动计算各组CT值,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算TLR4 mRNA含量。引物序列:上游:5'-CCCAATTGACTCCATTCAAGC-3';下游:5'-CCT-GAACTCATCAATGCTCACAT-3',扩增片断229 bp。

1.10 统计学分析

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,定量资料均行正态分布及方差齐性检验,符合正态分布采用

均数±标准差表示,不符合正态分布采用中位数及四分位数间距表示,符合正态分布且方差齐时同组治疗前后比较采用配对t检验,行单因素方差分析,作均数间两两比较方差齐时使用LSD法,方差不齐时使用Dunnett's T3法;定性资料使用Kruskal-Wallis秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对收缩压的影响

见表1。干预前SHR各组血压无明显差异,SHR较WKY组收缩压明显升高($P < 0.05$),随着时间增长,WKY血压无明显变化,SHR血压明显升高($P < 0.05$),干预后,与SHR相比,贝那普利组(Ben)、槲皮素组(Que)收缩压均有所下降($P < 0.05$),Ben较Que降压明显($P < 0.05$)。

2.2 槲皮素对心脏质量指数、左心室质量、左心室质量指数的影响

见表2。与WKY比较,SHR体重较轻($P < 0.01$),SHR各组间体重无明显差异;与WKY比较,SHR各组心脏质量指数、左心室质量、左心室质量指数均明显增加($P < 0.01$);与SHR比较,Ben、Que的心脏质量指数、左心室质量、左心室质量指数得到改善($P < 0.05$),Ben、Que组间无明显差异。

表1 槲皮素对收缩压的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of quercetin on systolic blood pressure($\bar{x} \pm s, n = 8$) (mmHg)

分组 Group	干预前 Before the intervention	干预2周 Intervention for 2 weeks	干预4周 Intervention for 4 weeks	干预6周 Intervention for 6 weeks	干预8周 Intervention for 8 weeks
WKY	113.0 ± 1.9	113.2 ± 2.4	113.1 ± 2.0	113.9 ± 2.3	114.0 ± 1.7
SHR	158.4 ± 1.5 ^a	168.7 ± 1.5 ^a	177.1 ± 1.0 ^a	185.1 ± 0.8 ^a	195.5 ± 1.7 ^a
Ben	159.1 ± 1.5 ^a	134.0 ± 7.4 ^{ab}	133.8 ± 8.4 ^{ab}	133.0 ± 10.8 ^{ab}	131.2 ± 8.3 ^{ab}
Que	158.9 ± 4.4 ^a	152.3 ± 8.9 ^{abc}	150.2 ± 7.7 ^{abc}	155.5 ± 5.3 ^{abc}	147.6 ± 7.7 ^{abc}

注:与WKY比较,^a $P < 0.05$;与SHR比较,^b $P < 0.05$;与Ben比较,^c $P < 0.05$ 。

Note: Compared with WKY, ^a $P < 0.05$; Compared with SHR, ^b $P < 0.05$; Compared with Ben, ^c $P < 0.05$.

表2 槲皮素对心脏质量指数、左心室质量、左心室质量指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of quercetin on heart weight index, left ventricular weight and left ventricular weight index($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组 Group	体重 Body weight (g)	心脏质量 Heart weight (g)	心脏质量指数 Heart weight index(g/kg)	左心室质量 Left ventricular weight(g)	左心室质量指数 Left ventricular weight index(g/kg)
WKY	310.63 ± 11.16	1.06 ± 0.07	3.42 ± 0.16	0.72 ± 0.04	2.31 ± 0.14
SHR	292.88 ± 10.92 ^a	1.14 ± 0.07 ^a	3.90 ± 0.17 ^a	0.85 ± 0.05 ^a	2.89 ± 0.10 ^a
Ben	294.13 ± 14.20 ^a	1.08 ± 0.07 ^b	3.67 ± 0.22 ^{ab}	0.78 ± 0.03 ^{ab}	2.65 ± 0.08 ^{ab}
Que	291.50 ± 9.72 ^a	1.08 ± 0.05	3.71 ± 0.18 ^{ab}	0.80 ± 0.04 ^{ab}	2.74 ± 0.10 ^{ab}

注:与WKY比较,^a $P < 0.05$;与SHR比较,^b $P < 0.05$ 。

Note: Compared with WKY, ^a $P < 0.05$; Compared with SHR, ^b $P < 0.05$.

2.3 槲皮素对肠道菌群的影响

2.3.1 槲皮素对肠道菌群物种组成的影响

通过与数据库进行比对,对 OTU 进行物种分类,在门水平对各组作物种丰度柱状图。在门水平

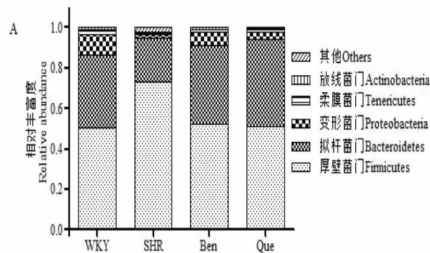
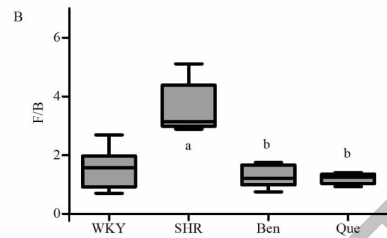


图1 槲皮素在门水平对肠道菌群组成的影响 ($n=8$)

Fig. 1 Effect of quercetin on intestinal flora structure at phylum level ($n=8$)

注:A. 在门水平肠道菌群组成;B. F/B。与 WKY 比较,^a $P < 0.05$;与 SHR 比较,^b $P < 0.05$ 。Note: A. intestinal flora structure at phylum level; B. F/B. Compared with WKY, ^a $P < 0.05$; Compared with SHR, ^b $P < 0.05$ 。

上,各组优势菌门为厚壁菌门和拟杆菌门(图 1A),与 WKY 相比,SHR 的厚壁菌门比拟杆菌门(Firmicutes/Bacteroidetes, F/B)增大($P < 0.05$);与 SHR 相比,Ben、Que 的 F/B 降低($P < 0.05$)(图 1B)。



2.3.2 槲皮素对肠道菌群多样性影响

与 WKY 比较,SHR 的 Ace 指数、Shannon 指数均降低,其中 Ace 指数差异有显著统计学意义($P <$

0.01),与 SHR 比较,Ben、Que 的 Ace 指数、Shannon 指数均有所上升(图 2)其中 Ace 指数差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其余组间无明显差异。

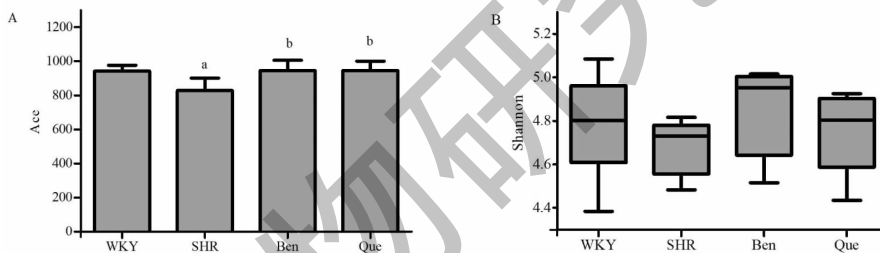


图2 槲皮素对肠道菌群多样性影响 ($n=8$)

Fig. 2 Effect of quercetin on the diversity of intestinal flora ($n=8$)

注:A. Ace 指数;B. Shannon 指数。与 WKY 比较,^a $P < 0.05$;与 SHR 比较,^b $P < 0.05$ 。Note: A. Ace index; B. Shannon index. Compared with WKY, ^a $P < 0.05$; Compared with SHR, ^b $P < 0.05$ 。

2.4 槲皮素对心肌纤维化的影响

见图 3。WKY 心肌内在血管外膜沉积少量胶原纤维,而 SHR 心肌沉积大量胶原纤维,Ben、Que 的胶原沉积较 SHR 减少。统计分析示,SHR 的 CVF 明显高于 WKY($P < 0.05$);Ben 的 CVF 较 SHR 下降($P < 0.05$);Que 的 CVF 也较 SHR 降低,但差异无统计学意义。Ben 与 Que 之间差异有意义($P < 0.05$)。

2.5 槲皮素对血清中 TLR4、NF- κ B p65 浓度的影响

与 WKY 相比,SHR 血清中 TLR4、NF- κ B p65 浓度增加($P < 0.01$);与 SHR 比较,Ben、Que 在血清中 TLR4、NF- κ B p65 浓度有所下降($P < 0.01$),Ben 较 Que 下降明显($P < 0.05$)(见图 4)。

2.6 槲皮素对心肌组织 TLR4 蛋白、TLR4 mRNA 表达的影响

在心肌组织中,SHR 模型 TLR4 蛋白、TLR4 mRNA 表达均较 WKY 增加,而 Ben、Que 的 TLR4 蛋白、TLR4 mRNA 表达较 SHR 降低,Ben 较 Que 明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)(见图 5)。

3 讨论

高血压是我国常见病、多发病,是遗传和环境等多因素共同作用的结果,是重要的心脑血管病的危险因素,可损伤心、脑、肾等重要脏器,导致多器官功能衰竭。高血压心脏压力负荷过重以及肾素血管紧张素醛固酮系统的激活,可刺激心肌细胞肥厚和间质纤维化,导致左心室肥厚和扩张,心室重构,进一步导致心肌缺血,心力衰竭等^[17]。给家庭和国家带

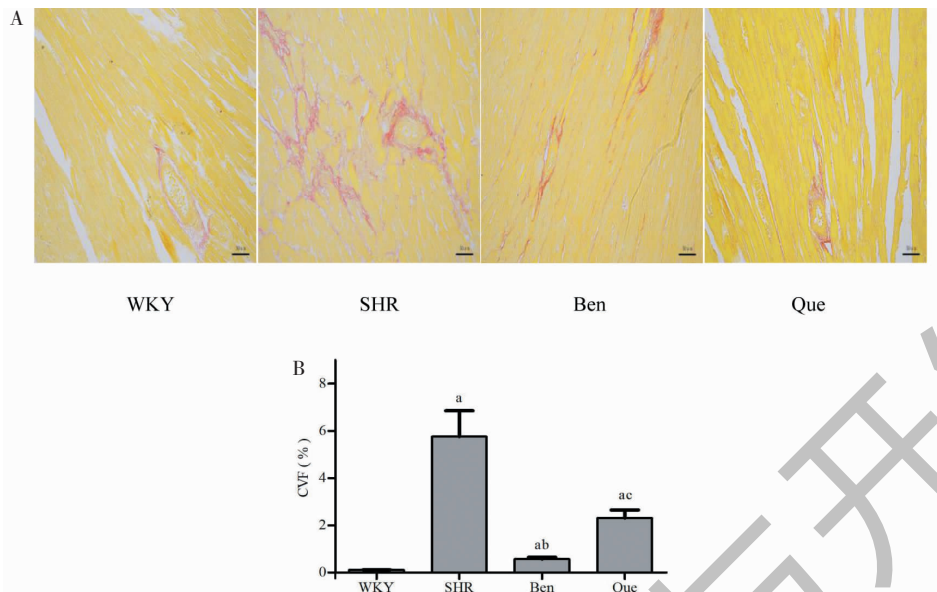


图3 槲皮素对心肌纤维化的影响

Fig. 3 Effect of quercetin on myocardial fibrosis

注:A. VG染色(×200);B. CVF(%). 与WKY比较,^a*P*<0.05;与SHR比较,^b*P*<0.05;与Ben比较,^c*P*<0.05。Note: A. VG staining (×200); B. CVF(%). Compared with WKY, ^a*P*<0.05; Compared with SHR, ^b*P*<0.05; Compared with Ben, ^c*P*<0.05.

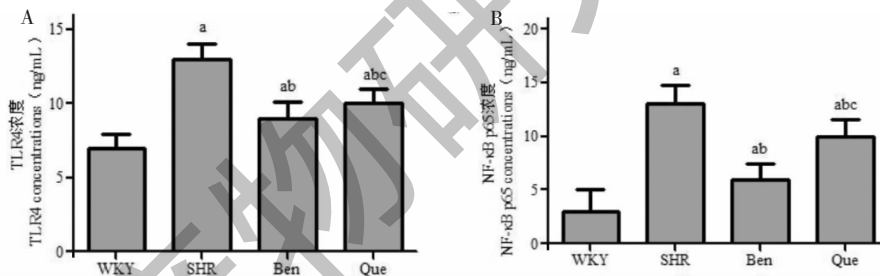


图4 槲皮素对血清中TLR4、NF-κB p65浓度的影响(n=8)

Fig. 4 Effects of quercetin on the concentrations of TLR4 and NF-κB p65 in the serum (n=8)

注:A. 血清中TLR4浓度;B. 血清中NF-κB p65浓度。与WKY比较,^a*P*<0.05;与SHR比较,^b*P*<0.05;与Ben比较,^c*P*<0.05。

Note: A. Serum TLR4 concentrations; B. Serum NF-κB p65 concentrations. Compared with WKY, ^a*P*<0.05; Compared with SHR, ^b*P*<0.05; Compared with Ben, ^c*P*<0.05.

来沉重的经济负担。SHR 有类原发高血压类似的疾病发生发展过程。心室重构包含心肌肥大及心肌纤维化,左心室质量指数可反映心肌肥大,而CVF可反映心肌纤维化。已有的研究显示槲皮素具有抗炎、清除自由基、扩张血管等重要生理作用。本实验采用SHR模型,研究槲皮素对血压、心室重构和肠道菌群的影响及机制。

本研究结果显示,SHR较WKY血压升高,心脏质量指数、左心室质量指数、CVF升高,存在心室重构。予以槲皮素治疗自发性高血压大鼠后,大鼠血压有所下降,心脏质量指数、左心室质量指数、CVF

有所改善,说明槲皮素能降低血压,改善心室重构。但其作用弱于血管紧张素转换酶抑制剂贝那普利。而各组CVF值相对较小,槲皮素干预后可见CVF较SHR有所改善,但差异无统计学意义,考虑样品量可能相对较少且与药物干预时间有关,可增加样品量或延长药物干预时间进一步研究。

目前已通过动物模型及临床研究证实,肠道菌群及其代谢产物参与高血压的发生发展。所以,通过干预肠道菌群来治疗高血压,有望成为高血压的潜在治疗靶点。但其具体机制有待进一步研究。目前研究发现,人体肠道菌群以厚壁菌门和拟杆菌门

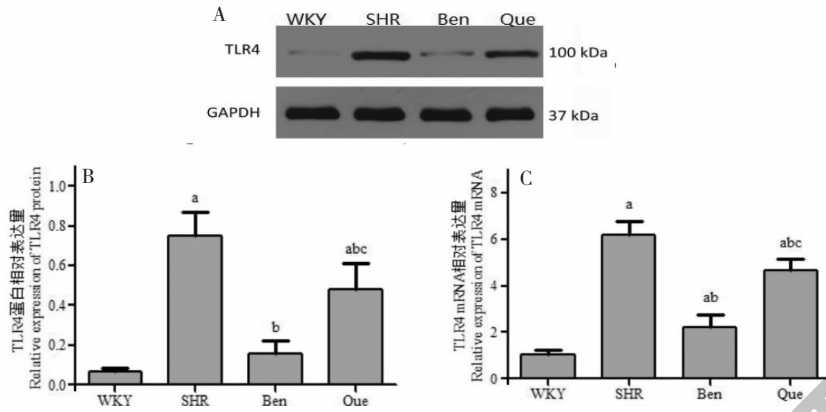


图5 槲皮素对心肌组织 TLR4 蛋白、TLR4 mRNA 表达的影响 ($n=8$)

Fig. 5 Effects of quercetin on the expression of TLR4 protein and mRNA in the myocardium ($n=8$)

注: A. TLR4 Western blot 图; B. TLR4 蛋白相对表达量; C. TLR4 mRNA 相对表达量。与 WKY 比较, ^a $P < 0.05$; 与 SHR 比较, ^b $P < 0.05$; 与 Ben 比较, ^c $P < 0.05$ 。Note: A. TLR4 Western blot figure; B. Relative expression of TLR4 protein; C. Relative expression of TLR4 mRNA. Compared with WKY, ^a $P < 0.05$; Compared with SHR, ^b $P < 0.05$; Compared with Ben, ^c $P < 0.05$.

为主。肠道菌群失调表现为肠道菌群功能和结构比例异常,常用 F/B 反应肠道菌群紊乱程度^[2]。已有研究发现自发性高血压大鼠、血管紧张素 II 诱导的高血压大鼠和高血压患者存在肠道菌群失调, F/B 明显增高,肠道菌群丰富度和多样性降低^[3]。有研究将 WKY 的盲肠内容物移植给 SHR 后,其血压有所下降,但无统计学意义;将中风倾向 SHR 的盲肠内容物移植给 WKY 后,后者血压升高, F/B 显著增加^[4]。最近有研究将高血压患者的大便移植到无菌小鼠后,无菌小鼠的血压升高,表明肠道菌群在高血压的发展中占有十分重要的作用^[5]。本研究结果显示 SHR 较 WKY 的 F/B 增高,肠道菌群丰富度明显降低且有统计学意义,肠道菌群多样性有所降低,但差异无统计学意义,考虑可增加样本量进一步研究。本研究予以槲皮素治疗自发性高血压大鼠后,大鼠 F/B 值有所降低,肠道菌群丰富度及多样性得到改善,与贝那普利效果相当。这说明槲皮素具有调节肠道菌群的作用,其可能通过调节肠道菌群进一步降低血压和改善心室重构。

TOLL 样受体是表达于细胞膜上,免疫系统识别微生物的一类受体家族,介导天然和获得性免疫。在哺乳动物中,TLR 在内质网中合成和转运到血浆或内体膜细胞^[18]。TLR 在心肌细胞中有较高表达,其中 TLR4 与原发性高血压相关^[7]。TLR4 的主要配体为脂多糖,TLR4 结合配体后可激活 NF- κ B,进而导致炎症因子大量释放,促进炎症反应^[13]。内毒素是革兰阴性(G⁻)细菌产生的含脂多糖的物质,肠

道菌群失调可使进入血液的内毒素增加,触发免疫炎症反应。Cani 等^[19]研究显示在高脂膳食下,肠道产生脂多糖 G⁻菌增加,从而触发全身炎症。有研究发现激活 TLR4,可导致血压升高,低度炎症反应,血管功能障碍,TLR4/NF- κ B 途径是高血压和血管炎症关键途径^[8,9]。在 TLR4 缺陷小鼠,血管紧张素 II 诱导的活性氧水平和 NADPH 氧化酶活性增加明显减弱,而对血压没有影响^[10]。血管紧张素 II 通过血管紧张素 III 型受体刺激 TLR4,产生炎症细胞因子和氧化应激,影响血管、肾脏和中枢神经系统以促进高血压^[11]。还有研究显示 NF- κ B 抑制剂除了抑制了 NF- κ B 的活化,还降低了 TLR4 的表达和 AngII 含量,TLR4/NF- κ B 介导的炎症信号和氧化应激参与了左室重构的发生发展^[12]。Eissler 等^[20]研究发现常规剂量雷米普利仅能降低高血压大鼠的血压,对心肌 TLR4 的表达无影响,而高剂量不仅能降低血压,而且能降低心肌 TLR4 的表达,表明 TLR4 表达的降低除了依赖于血压的下降,还有可能因为药物对其直接作用。有研究表明在高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝小鼠中,槲皮素可以改善 F/B 值,改善菌群失调,下调肝脏中 TLR4/NF- κ B 表达,而起到保护肝脏作用^[21]。槲皮素可通过增强 Toll 相互作用蛋白的表达从而下调脂多糖介导的 TLR4/NF- κ B 信号通路^[22]。本实验研究结果显示槲皮素可下调 SHR 血清中 TLR4、NF- κ B p65 的表达,下调心肌组织中 TLR4 蛋白及 mRNA 的表达。该研究结果提示槲皮素可能通过改善肠道菌群,减少脂多糖产生,下

调 TLR4/NF- κ B p65 表达,减轻免疫炎症反应,从而改善血管功能障碍、血管重塑,达到降低血压、改善心室重构。

综上,本实验通过槲皮素干预 SHR 研究表明槲皮素可降低 SHR 血压、改善心室重构,其可能通过调节肠道菌群,下调 TLR4/NF- κ B 途径实现。这为槲皮素的临床应用提供了一定的实验依据。

参考文献

- 1 Hu SS, Gao RL, Liu LS, et al. Summary of the 2018 report on cardiovascular diseases in China[J]. Chin Circul J(中国循环杂志), 2019, 34:209-220.
- 2 Qi YZ, Jiang YH, Yang CHH, et al. The gut microbiome and hypertension[J]. Chin J Hypertens(中华高血压杂志), 2018, 26:412-416.
- 3 Yang T, Santisteban MM, Rodriguez V, et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension[J]. Hypertension, 2015, 65: 1331-1340.
- 4 Adnan S, Nelson JW, Ajami NJ, et al. Alterations in the gut microbiota can elicit hypertension in rats[J]. Physiol Genomics, 2017, 49:96-104.
- 5 Li J, Zhao F, Wang Y, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension[J]. Microbiome, 2017, 5:14.
- 6 Nunes KP, de Oliveira AA, Mowry FE, et al. Targeting toll-like receptor 4 signalling pathways: can therapeutics pay the toll for hypertension? [J]. Br J Pharmacol, 2019, 176:1864-1879.
- 7 McCarthy CG, Gouloupoulou S, Wenceslau CF, et al. Toll-like receptors and damage-associated molecular patterns: novel links between inflammation and hypertension[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014, 306:H184-H196.
- 8 Bomfim GF, Dos Santos RA, Oliveira MA, et al. Toll-like receptor 4 contributes to blood pressure regulation and vascular contraction in spontaneously hypertensive rats[J]. Clin Sci (Lond), 2012, 122:535-543.
- 9 Bomfim GF, Echem C, Martins CB, et al. Toll-like receptor 4 inhibition reduces vascular inflammation in spontaneously hypertensive rats[J]. Life Sci, 2015, 122:1-7.
- 10 Nakashima T, Umemoto S, Yoshimura K, et al. TLR4 is a critical regulator of angiotensin II-induced vascular remodeling: the roles of extracellular SOD and NADPH oxidase[J]. Hypertens Res, 2015, 38:649-55.
- 11 Biancardi VC, Bomfim GF, Reis WL, et al. The interplay between Angiotensin II, TLR4 and hypertension[J]. Pharmacol Res, 2017, 120:88-96.
- 12 Jiang H, Qu P, Wang J-W, et al. Effect of NF- κ B inhibitor on Toll-like receptor 4 expression in left ventricular myocardium in two-kidney-one-clip hypertensive rats[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22:3224-3233.
- 13 Fuentes-Antrás J, Ioan AM, Tuñón J, et al. Activation of toll-like receptors and inflammasome complexes in the diabetic cardiomyopathy-associated inflammation[J]. Int J Endocrinol, 2014, 2014:847827.
- 14 Duarte J, Pérez-Palencia R, Vargas F, et al. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats[J]. Br J Pharmacol, 2001, 133(1):117-124.
- 15 Hu DB, Wu XX, Chen WJ, et al. Theoretical investigation on antioxidant activity of four flavonoids from *Medicago sativa* L. by Density Functional Theory[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29:1666-1670.
- 16 Kumar A, Gupta M, Sharma R, et al. Deltamethrin-induced immunotoxicity and its protection by quercetin: an experimental study[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2020, 20:67-76.
- 17 Ge JB, Xu YJ, Wang C. Internal Medicine:9th Edition(内科学第9版)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018:163-174, 247-258.
- 18 Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like receptors and the control of immunity[J]. Cell, 2020, 180:1044-1066.
- 19 Cani PD, Delzenne NM, Amar J, et al. Role of gut microflora in the development of obesity and insulin resistance following high-fat diet feeding[J]. Pathol Biol, 2008, 56:305-309.
- 20 Eissler R, Schmaderer C, Rusai K, et al. Hypertension augments cardiac Toll-like receptor 4 expression and activity[J]. Hypertens Res, 2011, 34:551-558.
- 21 David P, Esther N, Susana M, et al. Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation[J]. Free Radic Biol Med, 2017, 102:188-202.
- 22 Byun EB, Yang MS, Choi HG, et al. Quercetin negatively regulates TLR4 signaling induced by lipopolysaccharide through Tollip expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 431:698-705.