

柿叶黄酮对高脂血症大鼠血管内皮细胞功能的影响

王明贤¹, 胡思进²

(1. 乐山职业技术学院, 四川 乐山 614000; 2. 广州中医药大学药学院, 广州 510120)

[摘要] 目的:探讨柿叶黄酮(FLDK)对高脂血症大鼠血脂水平和血管内皮功能相关指标的影响。方法:除正常对照组 10 只外,50 只大鼠造模成功后随机分为模型组、辛伐他汀组(10 mg·kg⁻¹)、FLDK(20, 40, 80 mg·kg⁻¹) 3 个剂量组,28 d 后检测各组血脂水平、一氧化氮(NO)、内皮素(ET)、血栓素 B₂(TXB₂)及 6-酮前列腺素 F_{1a}(6-keto-PGF_{1a})等指标。结果:FLDK 低、中、高剂量组均能降低总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,FLDK 低、中、高剂量组 NO 水平明显升高,ET 水平明显降低($P < 0.01$);FLDK 低、中、高剂量组 TXB₂ 水平明显降低,6-keto-PGF_{1a}水平明显升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论:柿叶黄酮能降低高脂血症大鼠血脂水平,改善血管内皮功能。

[关键词] 柿叶黄酮;高脂血症;血管内皮功能

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0242-03

柿叶为柿的干燥叶,主要成分是柿叶黄酮(persimmon leaf flavonoid, FLDK)。中日民间有用柿叶泡茶饮的习惯。柿叶已被制成中成药用于治疗冠心病、心绞痛、高血压等疾病^[1],研究表明柿叶黄酮具有降血脂、抗炎、抗菌等活性^[2],有抗氧化功能,能降低动脉粥样硬化的形成作用^[3]。动脉粥样硬化(AS)是许多心脑血管疾病的重要病理基础,高脂血症是 AS 的独立危险因素,血管内皮功能不全是 AS 发生的始动环节^[4]。本实验观察 FLDK 对高脂血症所致大鼠血管功能损伤的保护作用,为临床防治由高脂血症引起的 AS 等高危心血管疾病提供参考。

1 材料

1.1 动物 健康 Wistar 大鼠,雌雄各半,体重 180 ~ 220 g。购自成都中医药大学动物实验中心。合格证号 SCXK(渝)2004-45。

1.2 药物与试剂 柿叶黄酮(FLDK)制备以柿的叶为原料,以 70% 乙醇回流提取,提取液减压浓缩,用 20% NaOH 调 pH 至 9 ~ 10 后用石油醚萃取除去叶绿素,弃醚相,水相用 15% HCl 调 pH 至 5 ~ 6 后再用乙酸乙酯反复萃取,弃水相,乙酸乙酯相浓缩干燥后得总黄酮,以芦丁为对照品,经 HPLC 测得含黄酮量超过 64.5%^[5];辛伐他汀(成都恒瑞制药有限公司,批号 112058);血栓素 B₂(TXB₂)试剂盒

(批号 20101208)、一氧化氮(NO)试剂盒(批号 20100212)、6-酮前列腺素 F_{1a}(6-keto-PGF_{1a})试剂盒(批号 20101016),均由南京建成生物工程研究所提供;内皮素(ET)试剂盒(北京东亚免疫技术研究所,批号 104217)。

1.3 仪器 260 紫外-可见光分光光度计(日本,岛津),AU600 型全自动生化分析仪(日本 Olympus)。

2 方法

2.1 动物分组与给药 大鼠 60 只,随机分为正常对照组 10 只,喂饲普通饲料;其余 50 只给予高脂饲料^[6](4.0% 胆固醇、10.0% 猪油、0.2% 甲基硫氧嘧啶、85.8% 基础饲料)喂饲。于第 14 天称体重后麻醉大鼠,颈外静脉取血 3 mL,检测大鼠血脂,然后按总胆固醇(TC)水平将大鼠随机分为模型组、辛伐他汀组(10 mg·kg⁻¹)、FLDK 低、中、高剂量组(20, 40, 80 mg·kg⁻¹),每组 10 只。正常组和模型组予等体积双蒸水,各组均 ig,连续 28 d。末次给药后禁食 12 h,以戊巴比妥钠麻醉大鼠后,腹主动脉采血检测相关指标。

2.2 血脂, NO, ET, TXB₂ 及 6-keto-PGF_{1a} 测定 血浆甘油三酯(TG), TC, 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)采用全自动生化分析仪测定;其余指标按照试剂盒说明书测定。

2.3 统计学处理 数据分析采用 SPSS 16.0 统计分析软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对高脂血症大鼠血脂水平的影响 与正常对

[收稿日期] 20120223(194)

[第一作者] 王明贤,本科,副教授,从事天然药物与生物化学, Tel:1389064542, E-mail:1347386821@qq.com

对照组比较,模型组 TC, TG, LDL-C 明显升高, HDL-C 明显降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,FLDK 低、中、高 3 个剂量组均能降低 TC, TG, LDL-C 水平, 升高 HDL-C 水平 ($P < 0.05, P < 0.01$), 见表 1。

3.2 对高脂血症大鼠血清 NO 和 ET 水平的影响

与正常对照组比较,模型组 NO 明显降低, ET 明显升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,FLDK 各剂量组

NO 明显升高, ET 明显降低 ($P < 0.01$), 见表 2。

3.3 对高脂血症大鼠血清 TXB₂ 及 6-keto-PGF_{1a} 水平的影响 与正常对照组比较,模型组血清 TXB₂ 水平明显升高, 6-keto-PGF_{1a} 水平明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较,FLDK 各剂量组 TXB₂ 水平明显降低, 6-keto-PGF_{1a} 水平明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$), 见表 2。

表 1 FLDK 对高脂血症大鼠血脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

mmol·L⁻¹

| 组别 | 剂量/mg·kg ⁻¹ | TC | TG | HDL-C | LDL-C |
|------|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 正常对照 | - | 2.95 ± 0.32 ²⁾ | 0.54 ± 0.08 ²⁾ | 1.47 ± 0.14 ²⁾ | 2.69 ± 0.30 ²⁾ |
| 模型 | - | 5.96 ± 0.48 | 0.88 ± 0.06 | 0.55 ± 0.07 | 5.75 ± 0.41 |
| 辛伐他汀 | 10 | 3.25 ± 0.27 ²⁾ | 0.57 ± 0.05 ²⁾ | 0.97 ± 0.11 ²⁾ | 3.27 ± 0.29 ²⁾ |
| FLDK | 20 | 4.69 ± 0.40 ²⁾ | 0.70 ± 0.05 ²⁾ | 0.64 ± 0.10 ¹⁾ | 5.41 ± 0.31 ¹⁾ |
| | 40 | 4.15 ± 0.31 ²⁾ | 0.63 ± 0.09 ²⁾ | 0.83 ± 0.12 ²⁾ | 4.56 ± 0.27 ²⁾ |
| | 80 | 3.70 ± 0.32 ²⁾ | 0.60 ± 0.07 ²⁾ | 0.92 ± 0.12 ²⁾ | 4.13 ± 0.30 ²⁾ |

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 FLDK 对高脂血症大鼠血清 NO, ET, TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1a} 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/mg·kg ⁻¹ | NO/ μ mol·L ⁻¹ | ET/pg·mL ⁻¹ | TXB ₂ /pg·mL ⁻¹ | 6-keto-PGF _{1a} /pg·mL ⁻¹ |
|------|------------------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|---|
| 正常对照 | - | 24.3 ± 4.77 ²⁾ | 128.3 ± 34.35 ²⁾ | 2 156.3 ± 411.7 ²⁾ | 67.36 ± 16.15 ²⁾ |
| 模型 | - | 13.7 ± 2.78 | 191.2 ± 51.62 | 3 216.4 ± 432.4 | 45.14 ± 8.58 |
| 辛伐他汀 | 10 | 16.9 ± 2.92 ²⁾ | 146.7 ± 37.68 ²⁾ | 2 316.7 ± 420.7 ²⁾ | 60.92 ± 11.52 ²⁾ |
| FLDK | 20 | 15.4 ± 2.64 ²⁾ | 163.1 ± 41.72 ²⁾ | 2 705.8 ± 412.3 ²⁾ | 55.45 ± 9.75 ¹⁾ |
| | 40 | 17.8 ± 2.96 ²⁾ | 148.4 ± 37.57 ²⁾ | 2 385.7 ± 408.6 ²⁾ | 63.76 ± 12.14 ²⁾ |
| | 80 | 18.5 ± 3.15 ²⁾ | 137.5 ± 33.41 ²⁾ | 2 267.1 ± 399.3 ²⁾ | 64.15 ± 12.63 ²⁾ |

4 讨论

本实验结果表明,FLDK 能显著降低高脂大鼠血浆 TC, TG 和 LDL-C 水平, 升高 HDL-C 水平, 表明 FLDK 有调节脂代谢的功能, 与文献报道一致^[5]。

NO, ET 是一对调节血管舒张和收缩的重要心血管活性物质, 参与多种心血管疾病的病理生理过程, 正常生理状态下血管内皮合成和释放的 ET 和 NO 可相互作用与协调, 保持动态平衡。AS 是内皮细胞功能受损致使 NO 和 ET 平衡失调, 并由此导致血管收缩和平滑肌细胞增生的一种病理状态, ET 和 NO 的量在一定程度上反映了内皮细胞的功能及血管内皮损伤的程度^[7]。本实验结果表明, FLDK 能升高 NO 水平, 降低 ET 水平, 提示 FLDK 可能通过调节 NO/ET 水平实现对血管内皮的保护。

研究证实, 血小板参与 AS 的形成, 可能与血小板激活引起炎症反应、血小板释放细胞因子、血小板介导内皮黏附以及相关脂蛋白调节有关^[8], 血栓素 (TXA₂) 主要来源于激活的血小板, 有缩血管和促血

小板聚集的作用, 具有促 AS 形成作用; 前列环素 (PGI₂) 则主要来源于血管壁内皮细胞的合成, 是强有力的血小板聚集抑制剂和血管扩张剂, 具有抗 AS 形成作用, 生理状态下, 二者保持平衡, TXA₂/PGI₂ 失衡是发生 AS 的重要原因^[9]。由于 TXA₂ 和 PGI₂ 生物半衰期甚短, 通常测定其代谢物 TXB₂, 6-keto-PGF_{1a} 而间接反映其变化^[10]。本实验结果表明, FLDK 能升高 6-keto-PGF_{1a} 水平, 降低 TXB₂ 水平, 提示 FLDK 可能通过调节 TXA₂/PGI₂ 水平实现对血管内皮的保护。

综上, 柿叶黄酮有调节脂代谢作用, 具有调节 NO/ET 和 TXA₂/PGI₂ 水平作用, 能有效地改善血管内皮细胞功能, 对于大鼠 AS 的发生发展具有良好的干预作用, 可用于防治高脂血症及预防动脉粥样硬化的发生。

[参考文献]

- [1] 王树松. 柿叶的研究进展[J]. 河北中医, 1998, 20 (1): 63.

生黄合剂对缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞凋亡相关基因 Bax, Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达的影响

高玉峰¹, 王小杰¹, 闫文翠², 张维娜², 李欣¹, 张凤英¹

(1. 承德医学院, 河北 承德 067000; 2. 承德护理职业学院, 河北 承德 067000)

[摘要] 目的: 观察生黄合剂对缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞凋亡相关基因 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、B 型白细胞/2 型淋巴细胞样蛋白 (Bcl-2) 和天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 (Caspase-3) 蛋白表达的影响。方法: 将 48 只 SD 大鼠随机分为 6 组, 即对照组、模型组、阳性药物组、生黄合剂低、中、高剂量组 (17.5, 35, 70 mg·kg⁻¹ 分别加入 5 mL·kg⁻¹ 生脉饮), 每组 8 只, 分别给药 7 d 后, 建立心肌缺血再灌注损伤 (MIRI) 模型。采用原位末端标记法 (TUNEL) 检测心肌细胞凋亡情况, 蛋白印迹法检测心肌细胞凋亡相关基因 Bax, Bcl-2, Caspase-3 蛋白的表达。结果: 与模型组比较, 生黄合剂能减少心肌细胞凋亡指数 (AI) 及 Bax, Caspase-3 蛋白的表达, 增加 Bcl-2 蛋白的表达, 提高 Bcl-2/Bax 的比值 ($P < 0.05$), 其中以生黄合剂高剂量组作用较为明显。结论: 生黄合剂对大鼠心肌缺血再灌注损伤具有保护作用, 其抗心肌细胞凋亡的机制可能与通过上调 Bcl-2, 下调 Bax 和 Caspase-3 基因表达, 提高 Bcl-2/Bax 的比值有关。

[关键词] 生黄合剂; 心肌缺血再灌注损伤; 细胞凋亡; Bax 蛋白; Bcl-2 蛋白; Caspase-3 蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0244-04

Influence of Sheng-huang Mixtrue on Apoptosis Related Proteins Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in Myocardial Ischemia-reperfusion Rats

GAO Yu-feng¹, WANG Xiao-jie¹, YAN Wen-cui², ZHANG Wei-na², LI Xin¹, ZHANG Feng-ying¹

(1. Chengde Medical College, Chengde 067000, China;

2. Chengde Nurse Training College, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of Sheng-huang mixtrue on the apoptosis related proteins expression of Bcl-associated x protein (Bax), B-cell leukemia/lymphoma 2-like proteins (Bcl-2) and

[收稿日期] 20120119(006)

[基金项目] 河北省科学技术研究与发展计划项目(10276141)

[第一作者] 高玉峰, 硕士, 副教授, 从事预防医学教学科研工作, Tel: 0314-2291153, 13081898866, E-mail: cdmcyf@126.com

- [2] 谭仁祥. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2002:486.
- [3] 陈英珠, 白卫娜, 吴萌, 等. 柿叶黄酮对载脂蛋白 E 缺失小鼠动脉粥样硬化的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011(12):2233.
- [4] Kullo I J, Bailey K R, Mc Connell J P, et al. Low-density lipoprotein particle size and coronary atherosclerosis in subjects belonging to hypertensive sibships [J]. Am J Hypertens, 2004, 17(9):845.
- [5] 陈丽, 梁宇红, 裴世成, 等. 柿叶总黄酮对高脂血症大鼠血脂和血液流变学的影响[J]. 中成药, 2011, 33(8):1397.
- [6] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002:1202.
- [7] 杨宇杰, 王春民, 党晓伟. 山楂叶总黄酮对高脂血症大鼠血管功能损伤的保护作用[J]. 中草药, 2007, 18(11):1687.
- [8] 陈煜, 李剑, 施海明. 血小板与动脉粥样硬化[J]. 国际心血管病杂志, 2011, 38(3):141.
- [9] 王伟, 杨滨, 王岚, 等. 丹参山楂药对大鼠动脉粥样硬化的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6):784.
- [10] 何作云, 耿建萌, 覃军. 辛伐他汀对食饵性兔动脉粥样硬化形成中血栓素、前列环素的作用及意义[J]. 中国微循环, 2003, 7(5):284.

[责任编辑 何伟]