

芝麻素对肾性高血压大鼠主动脉收缩功能 NO 和 ET 含量的影响

孔 祥, 杨解人*
(皖南医学院, 安徽 芜湖 241001)

[摘要] 目的: 探讨芝麻素对肾性高血压大鼠的主动脉收缩功能 NO 和 ET 含量的影响。方法: 肾性高血压大鼠灌服不同剂量芝麻素(100、33、10mg·kg⁻¹·d⁻¹) 6 周, 测定离体胸主动脉环对苯肾上腺素引起的收缩反应、NO 和 ET 含量。结果: 100mg·kg⁻¹芝麻素组主动脉最大收缩张力明显降低, NO 含量明显增加, ET 含量明显减少(P < 0.05)。结论: 芝麻素能抑制主动脉收缩, 改善血管内皮细胞功能。

[关键词] 芝麻素; 肾性高血压; 主动脉环; 一氧化氮; 内皮素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)04-0047-03

Effects of Sesamin on Contraction of Aortic Ring, NO and ET in Renal Hypertension Rats

KONG Xiang, YANG Jie-ren*
(Wannan Medical College, Wuhu 241001, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effects of sesamin on contraction of aortic ring, NO and ET in rats with renal hypertension. **Methods:** Sesamin (100, 33, 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹) was orally given in renal hypertensive rats. The responses to phenylephrine on isolated aortic rings was recorded and the levels of NO and ET were measured in aorta after six weeks of treatment. **Results:** 100mg·kg⁻¹ sesamin could reduce maximum contraction, increase the content of NO and decrease the level of ET (P < 0.05). **Conclusion:** Sesamin can inhibit aortic contraction and improve vascular endothelial cell impairment.

[Key words] Sesamin; Renal Hypertension; Aortic Ring; NO; ET

芝麻素(sesamin)是从芝麻中提取的木酚素类化合物^[1]。具有降低胆固醇、抗氧化、抗高血压、保护肝脏等诸多生理功效^[2]。国外文献报道: 芝麻素对醋酸去氧皮质酮(DOCA)-盐敏感性和自发性脑卒中高血压大鼠模型均有降压作用^[3,4]。我室研究也发现芝麻素对肾性高血压大鼠有明显的降压作用, 但确切机制国内外未见报道。故本文采用肾性高血压大鼠模型, 通过观察主动脉收缩功能, 测定主动脉中 NO 和 ET 的含量, 来探讨芝麻素降压作用的可能机制。

1 实验材料

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 80 只, 体重 160 ± 20g, 购自南京青龙山实验动物中心, 许可证号: SCXK(苏)2002-0018。大鼠分笼饲养, 每笼 1 只, 保持室温 23 ± 2℃, 相对湿度 60~65%, 自由进食饮水。

1.2 药物 芝麻素(分子式 C₂₀H₁₅O₆, 分子量 351.34, 纯度 73.6%), 批号: 040312, 芜湖天一绿宝科技有限公司; 卡托普利(CAP) 每片 10mg, 批号: 0305020, 常州制药厂有限公司; 盐酸氯胺酮注射液, 批号: 021101, 上海第一生化药业有限公司; 地西洋注射液, 批号: 961106, 上海旭东海普药业有限公司; 盐酸去氧肾上腺素注射液(Phe), 批号: 960502, 重晶石酸去甲肾上腺素(NE)注射液, 批号: 961202, 均购于上海禾丰制药有限公司。

1.3 试剂 一氧化氮和蛋白定量检测试剂盒批号: 20041201 和 20041115, 南京建成生物工程研究所; 内

[收稿日期] 2005-08-18

[基金项目] 安徽省教育厅科研基金项目(2005KJ296)

[通讯作者] 杨解人, Tel: (0553) 3932267

皮素放射免疫药盒批号: 20041223, 解放军总医院科技开发中心放免所。

1.4 主要溶液 K-H 液($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): NaCl 6.9, NaHCO_3 , 2.1, KCl 0.35, CaCl_2 0.28, KH_2PO_4 0.16, MgSO_4 0.29, NaEDTA 0.186, 葡萄糖 2.2; Phe 梯度终浓度 1×10^{-9} , 1×10^{-8} , 1×10^{-7} 和 1×10^{-6} ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 所有溶液均用双蒸水新鲜配制。PH7.2~7.4。

1.5 仪器 HH·S 型电热恒温水浴锅(江苏省医疗器械厂); XD-811 型自动生化分析仪(上海迅达医疗器械厂); TGL-16G 低温高速离心机(上海安亭科学仪器厂); 张力换能器(上海奥尔科特生物科技有限公司); MedLab 6.0 生物信号采集处理系统(南京美易科技有限公司); ALC-nibp 无创尾动脉血压测定分析系统(上海奥尔科特生物科技有限公司)。

2 实验方法

2.1 模型建立 大鼠 80 只, 参照文献^[5]的方法(Goldblatt 法)复制两肾一夹(2K1C)肾性高血压大鼠模型。大鼠用安定($5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) + 氯胺酮($50\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔麻醉。游离左侧肾动脉, 用内径为 0.3mm 的特制银夹夹住, 使之部分缩窄, 对侧肾脏不触及, 假手术组除不上银夹, 其余程序同上。术后自由进食和饮水, 青霉素 4 万 $\text{u}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肌肉注射 3d。每周用无创尾动脉血压测定系统测量清醒状态下大鼠血压, 将术后 5w 大鼠收缩压(SBP)达 160mmHg 以上视为高血压动物。

2.2 分组及剂量设置 取造模成功的大鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 即模型组(3% 羧甲基纤维素 $5\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、芝麻素高剂量组($100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、芝麻素中剂量组($33\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、芝麻素低剂量组($10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)和卡托普利阳性对照组($30\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。另设假手术组(3% 羧甲基纤维素 $5\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) 10 只。

2.3 给药方法及血压测定 药物充分研碎, 用 3% 羧甲基纤维素溶解混匀, 于每日上午 9 时灌胃给药, 假手术组及模型组每日灌服等容积 3% 羧甲基纤维素, 连续给药 6w。同步测量给药前及给药 6w 清醒状态下大鼠收缩压。

2.4 主动脉环的制备及血管收缩功能的测定 大鼠给药 6w 后, 用 25% 乌拉坦($1.0\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉、解剖, 迅速取出胸主动脉, 置于冰冻通有 100% O_2 的 K-H 溶液的培养皿内, 仔细分离血管周围组织, 剪成 3~4 mm 动脉环, 置于盛有 20mL K-H 液、

37°C 恒温的浴槽中, 持续通入 100% O_2 , 保持静息张力为 1.5g。每 20min 换液一次, 平衡 1h。NE 预处理两次后洗至初始张力, 向浴槽内累计加入 Phe($1 \times 10^{-9}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} \sim 1 \times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)进行收缩, 利用张力换能器和 Medlab 生物信号采集处理系统记录张力的变化。

2.5 主动脉中 NO 和 ET 含量的测定 取 0.2g 主动脉, 按重量体积比 1:9 加 0.86% 冷生理盐水, 制成 10% 的主动脉组织匀浆, 按 3000 转/min 离心 10min, 取上清液, 按试剂盒说明书要求, 分别测定主动脉蛋白($\text{mgprot}\cdot\text{mL}^{-1}$ 考马斯亮兰法)、NO($\mu\text{mol}\cdot\text{mgprot}^{-1}$, 硝酸还原酶法)和 ET($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 放免分析法)的含量。

2.6 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计分析采用 DAS 1.0 软件, 显著性水平 $P = 0.05$ 。

3 实验结果

3.1 芝麻素对肾性高血压大鼠 SBP 的影响 给药前除假手术组($126.20 \pm 5.22 \text{mmHg}$)外, 其余各组 SBP 均在 165~175mmHg 之间; 治疗 6w, 芝麻素 $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组($146.60 \pm 4.91\text{mmHg}$)和 CAP 组($130.93 \pm 4.45\text{mmHg}$)SBP 明显低于模型组($178.86 \pm 8.67\text{mmHg}$), 具有显著统计学意义($P < 0.01$)。

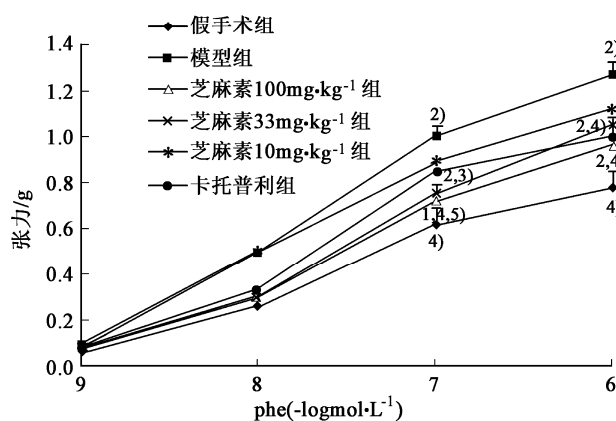


图 1 Phe 对肾性高血压大鼠主动脉静息张力的影响

注: 与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组相比³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 与卡托普利组相比⁵⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 Phe 对大鼠主动脉环收缩动能的影响 由图 1 可见, 肾性高血压大鼠主动脉环对 Phe 敏感性增强, 尤其是在高浓度(1×10^{-7} , $1 \times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)时, 模型组收缩强度较假手术组分别增加 59.6% ($P < 0.05$) 和 62.8% ($P < 0.05$)。说明在肾性高血压大鼠模型中, 主动脉有一定程度的痉挛; $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 芝麻素组收缩强度较模型组分别下降 26.3% ($P < 0.05$) 和

23.7% ($P < 0.05$)。提示芝麻素对主动脉痉挛有不同程度的改善作用; $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 芝麻素组对 $\text{Phe}(1 \times 10^{-1}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$ 浓度的收缩强度改善作用优于卡托普利组 14.1% ($P < 0.05$)。

3.3 芝麻素对肾性高血压大鼠主动脉中 NO 和 ET 含量的影响

与假手术组相比,模型组主动脉中 NO

含量减少, ET 含量增加, NO/ET 比值降低 ($P < 0.01$); 与模型组相比, $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 芝麻素组 NO 含量增加, ET 含量减少, NO/ET 比值增加 ($P < 0.01$)。说明芝麻素口服后,可以改善内皮功能,促进 NO 和 ET 恢复平衡见表 1。

表 1 芝麻素对肾性高血压大鼠主动脉中 NO 和 ET 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	例数 (n)	NO ($\mu\text{mol}\cdot\text{mgprot}^{-1}$)	ET ($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	NO/ET
假手术组	—	8	2.75 ± 0.96	$5.77 \pm 0.59^{5)}$	$0.48 \pm 0.17^{5)}$
模型组	—	8	$0.74 \pm 0.37^{2,5)}$	$10.11 \pm 1.06^{2)}$	$0.07 \pm 0.04^{2,5)}$
芝麻素组	100	9	$1.98 \pm 0.62^{4)}$	$6.67 \pm 1.02^{1,4,5)}$	$0.31 \pm 0.14^{1,4)}$
芝麻素组	33	8	$0.99 \pm 0.45^{2,5)}$	$10.44 \pm 1.43^{2)}$	$0.10 \pm 0.05^{2,5)}$
芝麻素组	10	8	$0.73 \pm 0.23^{2,5)}$	$11.05 \pm 1.85^{2)}$	$0.07 \pm 0.02^{2,5)}$
卡托普利组	30	8	$2.25 \pm 0.46^{4)}$	$9.52 \pm 1.80^{2)}$	$0.25 \pm 0.08^{2,4)}$

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组相比³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与卡托普利组相比, ⁵⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

我们在实验中观察到肾性高血压大鼠主动脉环对苯肾上腺素的缩血管反应明显增强,主动脉 NO 含量减少, ET 含量增加,与前人报道的结果一致^[6,7]。其机制可能是由于肾动脉狭窄供血不足,近球细胞肾素分泌增多,在肾素酶和 ACE 的作用下使 Ang II 含量增高,通过其直接的缩血管作用和增强 α_1 -肾上腺素受体激动剂的缩血管效应^[8]共同作用或是由于内皮细胞受损,舒张功能减弱而导致收缩功能增加,使主动脉环缩血管反应明显增强。同时由于肾动脉狭窄所造成的内皮缺血缺氧,刺激内皮释放 ET,引起 ET 含量升高。而 ET 的释放可以进一步损伤血管内皮,减少 NO 的释放,导致血管内皮分泌 NO 和 ET 失衡,从而加重高血压的发展。

我们的研究表明,随着芝麻素剂量的增加,主动脉的痉挛程度明显缓解,并且使苯肾上腺素缩血管药效曲线明显右移,说明芝麻素可以改善高血压时主动脉的痉挛程度;同时发现芝麻素 ($100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 明显升高主动脉 NO 含量,降低 ET 含量,升高 NO/ET 比值,提示芝麻素可以恢复 NO 和 ET 平衡。其机制可能与芝麻素具有消除活性氧、清除氧自由基,抑制过氧脂质生成等抗氧化作用有关^[9,10]。因此我们推测芝麻素是否通过抗氧化作用,清除氧自由基,保护和修复血管内皮细胞,调节体内 NO 与 ET 平衡,改善内皮功能来降低血压,其确切机制有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 唐传核,彭志英. 芝麻木酚素“芝麻素”研究概况[J]. 粮食与油脂, 2000, 6: 37-39.

[2] 丰田佳子. 芝麻木酚素“芝麻明”的生理活性[J]. 日本食品学, 2001, 1: 41-45.

[3] Matsumura Y, Kita S, Morimoto S, et al. Antihypertensive effect of sesamin. I. Protection against deoxycorticosterone acetate salt-induced hypertension and cardiovascular hypertrophy[J]. Biol. Pharm. Bull, 1995, 18(7): 1016-1019.

[4] Matsumura Y, Kito S, Tanida Y, et al. Antihypertensive effect of sesamin III. Protection against development and maintenance of hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats [J]. Biol. Pharm. Bull, 1998, 21(5): 469-473.

[5] 德·沃格尔 HG, 美·沃格尔 WH, 杜冠华, 等译. 药理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 101-107.

[6] 郭益民, 朱小南. 一氧化氮改变肾性高血压大鼠主动脉功能[J]. 生理学报, 2000, 52(3): 243-246.

[7] 吴秀香, 董建文. 肾性高血压大鼠血浆及血管组织中内皮素及基础 NO 的动态变化[J]. 高血压杂志, 1999, 7(4): 366-377.

[8] Qiu HY, Henrion D, Levy L. Endogenous angiotensin II enhances phenylephrine-induced tone in hypertensive rats [J]. Hypertension, 1994, 4: 317-321.

[9] D. Nakano, M. Takaoka, Y. Kiso, et al. Antihypertensive effect of sesamin. IV. Inhibition of vascular superoxide production by sesamin[J]. Biol. Pharm. Bull, 2002, 25(9): 1247-1249.

[10] Lee CC, Chen PR. Sesamin induces nitric oxide and decreases endothelin production in HUVECs: possible implications for its antihypertensive effect[J]. Hypertension, 2004, (12): 2329-2338.