

的研究结果一致,说明 SLB 能改善术中氧合。因此,SLB 尤其适用于肺功能不全或通气侧曾行肺叶切除手术而不能耐受单肺通气的患者。

由于自主神经系统对创伤刺激的反应并未完全阻断,手术操作、肺泡反复萎陷、萎陷的肺泡恢复通气和缺血-再灌注等因素均可诱发明显的氧化应激反应。此时体内高活性分子大量生成,抗氧化系统活性下降,氧化与抗氧化作用失衡,导致中性粒细胞炎性浸润,蛋白酶分泌增加,从而引起组织损伤<sup>[7]</sup>。MDA 是氧自由基攻击生物膜引发脂质过氧化的主要降解产物。Misthos 等<sup>[8]</sup>通过测定血清中 MDA 水平,发现单肺通气后肺复张激发了严重的氧化应激反应,并且氧自由基的生成及氧化应激反应的程度与单肺通气的持续时间相关。SOD 是机体重要的氧自由基清除酶,能清除过氧化氢与羟自由基的前体超氧阴离子。因此,MDA 和 SOD 可作为脂质过氧化反应的标志物以反映机体氧化应激反应的水平。本研究结果表明,两组患者恢复双肺通气 30min 后 SOD 活性降低,MDA 含量升高,提示机体发生了氧化应激反应;与 OLV 组相比,SLB 组患者 SOD 含量较高,而 MDA 较低,表明 SLB 组发生氧化应激反应的程度轻于 OLV 组。可能的原因是 SLB 增加了肺的通气容积,减少了肺组织的萎陷/膨胀和缺血-再灌注损伤。至于两组患者氧化应激反应的持续时间和恢复情况有何差

异,尚有待于进一步研究。

综上所述,SLB 可减轻食管手术患者氧化应激反应的程度,从而减轻肺损伤,对促进患者康复具有一定的积极意义。

#### 参考文献

- 1 Cheng Y, Chan K, Chien C *et al.* Oxidative stress during 1-lung ventilation[J]. *Thorac Cardiovasc Surg* 2006, 132(3): 513-518
- 2 Chow CW, Herrera Abreu MT, Suzuki T *et al.* Oxidative stress and acute lung injury[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003, 29(4): 427-431
- 3 夏斌,王公明,张孟元. 空气肺复张对食管癌根治术患者单肺通气后肺组织氧化应激损伤的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2009, 29(12): 1066-1068
- 4 杨文芳,孙莉. 麻醉前容量预处理对食管癌手术患者的影响[J]. *中国医刊* 2012, 47(6): 74-76
- 5 Campos JH. Update on selective lobar blockade during pulmonary resections[J]. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009, 22(1): 18-22
- 6 翼会娟,古妙宁,肖金仿,等. 选择性肺叶隔离对胸科手术患者氧合及细胞因子的影响[J]. *国际麻醉学与复苏杂志* 2010, 31(3): 222-225
- 7 Pintaudi AM, Tesoriere L, D'Arpa N *et al.* Oxidative stress after moderate to extensive burning in humans[J]. *Free Radic Res* 2000, 33(2): 139-146
- 8 Misthos P, Katsaragakis S, Milingos N *et al.* Postresectional pulmonary oxidative stress in lung cancer patients. The role of one-lung ventilation[J]. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005, 27(3): 379-383

(收稿日期: 2013-07-24)

(修回日期: 2013-09-03)

## 沙棘黄酮对动脉粥样硬化大鼠血管的保护作用及机制

王颖超 柳茵 刘维军 李琳

**摘要** 目的 研究沙棘黄酮(TFH)预防高脂饮食所致大鼠动脉粥样硬化的分子机制。方法 按随机数字表法将 50 只雄性 SD 大鼠分为空白对照组、粥样硬化组、沙棘黄酮低、中、高剂量组,喂养 2 个月后,提取血清分析谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)活性和超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量;取主动脉后,用 HE 染色法观察血管损伤程度,采用荧光试剂盒测定血管活性氧簇(ROS)水平,ELISA 技术测主动脉斑块处去乙酰化酶(SIRT1)和 NADPH 氧化酶 P47 亚基蛋白表达水平。结果 AS 组比 CON 组 GSH-Px、CAT、SOD 活性均明显下降,MDA、ROS 含量明显升高;沙棘黄酮干预能够改善以上指标;HE 染色示血管内皮有所损伤;沙棘黄酮降低了 AS 大鼠 NADPH 氧化酶 P47 亚基的蛋白表达,升高了 SIRT1 蛋白表达水平。结论 沙棘黄酮具有保护大鼠血管粥样硬化作用,提高机体防御氧化应激能力,可能与降低 NADPH 氧化酶蛋白表达及升高 SIRT1 蛋白表达有关。

**关键词** 沙棘黄酮 动脉粥样硬化 P47 SIRT1

[中图分类号] R543

[文献标识码] A

作者单位: 810001 西宁,青海大学医学院(王颖超);青海大学附属医院(柳茵、刘维军、李琳)

通讯作者: 李琳,硕士生导师,主任医师,电子信箱: vnjo@sina.cn

**Protective Effect and Mechanism of TFH Against Damages in Atherosclerosis Rats.** Wang Yingchao, Liu Yin, Liu Weijun, Li Lin. *The Affiliated Hospital of Qinghai University, Qinghai 810001, China*

**Abstract Objective** To investigate whether TFH has improved the rats vascular function and its possible mechanism of atherosclerosis. **Methods** Fifty male SD rats were randomly divided into 5 groups: blank control group, atherosclerosis group, TFH low, medium and high dose group. After being fed for 60 days, rats in each group took aorta to detect vascular injury condition using HE staining. Glutathione peroxidase (GSH-Px), serum superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity, malondialdehyde (MDA) content. Were determined. Aorta was taken to determine ROS level by fluorescent probe. Acetylation enzyme (SIRT1) and NADPH oxidase subunit protein P47 expression levels were detected by elisa technique. **Results** Compared AS group to CON, SOD, GSH-Px and CAT activity were significantly decreased, MDA, ROS content increased significantly. TFH intervention could improve the above indicators. Compared to AS group, TFH reduced NADPH oxidase P47, increased the protein expression of SIRT1 protein levels. **Conclusion** TFH has protective effects of vascular atherosclerosis. Its mechanism could be by lowering P47 expression and reducing ROS generation. There may be some sort of regulation action between SIRT1 and NADPH oxidase.

**Key words** TFH; Atherosclerosis; P47; SIRT1

沙棘黄酮是中药材沙棘的主要有效成分,以往对沙棘黄酮的研究表明,其在保护心血管系统、清除体内自由基、延缓衰老、增强免疫和抗肿瘤等方面发挥重要作用<sup>[1~4]</sup>。氧化应激在心肌缺血、动脉粥样硬化等病理过程中发挥关键作用,主要是使组织内大量活性氧(ROS)生成<sup>[5]</sup>。NADPH 氧化酶是血管产生 ROS 的主要酶体,在氧化应激致血管内皮损伤时发挥重要作用,而沙棘对 NADPH 氧化酶的影响还未见报道<sup>[6~9]</sup>。SIRT1 通过去乙酰化作用,参与抑制炎症及氧化应激损伤等,与动脉粥样硬化(AS)发生发展密切相关, Han 等<sup>[7]</sup>研究证实 SIRT1 能够减少鼠胚胎干细胞的 ROS 水平。本实验以 AS 大鼠模型为研究对象,探讨沙棘黄酮对其血管粥样硬化影响及对 NADPH 氧化酶和 SIRT1 表达的影响,以阐明沙棘黄酮抗 AS 的可能机制,为中药沙棘的药物开发提供一定的理论依据。

## 材料与方法

1. 实验动物与试剂: 雄性 SD 大鼠, 体重 180~200g, 由兰州大学医学实验动物中心提供。沙棘黄酮(TFH)购自青海康普德生物制品有限公司, 总黄酮含量 75.0%; ROS、MDA 和 SOD、GSH-Px、CAT 等试剂盒购自南京建成生物研究所; SIRT1、P47 的 ELISA 试剂盒购自 Sigma 公司。

2. 方法: (1) 构建动物模型: 健康 SD 大鼠 50 只, 体重 180~200g。按随机数字表法分为 5 组: 正常对照组(CON)、AS 模型组(AS)、沙棘黄酮低、中、高剂量组(TFH-L、TFH-M、TFH-H)。除空白对照组其余 4 组均以高脂饲料为食物, 并自由饮水。同时沙棘黄酮低、中、高剂量组每日分别以沙棘黄酮 50、100、200mg/kg 灌胃, 正常组和空白对照组则给予等量生理盐水灌胃。(2) 主动脉 HE 染色: 造模完成后, 麻醉大鼠后用断头法处死大鼠, 迅速取出主动脉 200ml 甲醛溶液固定后再采用乙醇逐级脱水, 石蜡包埋主动脉切片, HE 染色观察动脉内皮损伤情况并拍照分析。(3) 氧化指标测定: 严格参照试剂盒相关说明书及有关资料, 测定血浆中 SOD、CAT

和 GSH-Px、MDA 含量。(4) ROS 含量测定: 手术取出主动脉, 石蜡包埋后冷冻切片, 加入荧光探针后放入 37.5℃ 孵箱 20min, KRH 缓冲液漂洗后在显微镜下观察, 然后在激发波长 490nm 下对测得的 ROS 数据进行荧光分析。(5) ELISA 法测定 SIRT1、P47 蛋白表达量: 取主动脉样品, 分别将标准品、样品各 100μl 加入反应板中, 37℃ 孵育 90min, 洗板 4 次。除空白孔外, 加入抗体工作液 100μl, 37℃ 孵育 60min, 洗板 4 次; 除空白孔外, 加入酶结合物 100μl, 37℃ 孵育 30min 后洗板 4 次; 各孔加入显色底物 150 微升/孔, 37℃ 避光孵育 15min 后各孔加入终止液 90μl, 振荡混匀后用酶标仪以空白孔为空白对照在 450nm 波长处检测吸光度值, 并用 Excel 软件绘制标准曲线, 通过标本的 OD 值算出其浓度。

3. 统计学方法: 所得相关数据用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 用 SPSS 16.0 软件处理, 统计学方法采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 大鼠血管动脉粥样改变: 主动脉切片染色后, CON 组血管内皮层无明显损坏, 表面无炎性细胞浸润, 无脂质沉积, 无管腔狭窄; AS 组和 TFH 组内皮细胞都有脱落, 内膜板已经有所损伤, 脂质沉积严重, 尤以 AS 组明显, 可见其内皮层有散在粥样坏死灶, 内弹力膜消失或已损坏, 与之比较, TFH 各组内皮细胞脱落较轻, 炎性细胞浸润较少, 脂质沉积较少, 内皮层断裂少见(图 1)。

2. 氧化应激指标变化: AS 组比 CON 组 SOD、GSH-Px、CAT 活性均明显下降, MDA 表达明显增加。沙棘黄酮干预后能不同水平的改善以上指标的表达。与 CON 组比较, 沙棘黄酮低剂量组 MDA 表达已有下降趋势, 中剂量组 SOD、GSH-Px 活性开始上升, MDA 含量仍降低, 高剂量组 SOD、GSH-Px、CAT 活性均已上升, MDA 含量降低(表 1)。

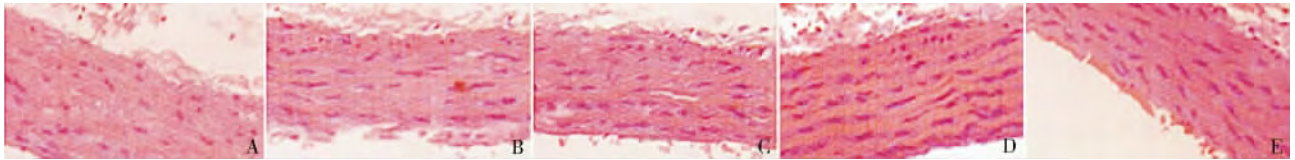


图1 AS大鼠主动脉切片观察(HE, ×40)

A. 空白对照组; B. 粥样硬化组; C. 沙棘黄酮低剂量组; D. 沙棘黄酮中剂量组; E. 沙棘黄酮高剂量组

表1 沙棘黄酮对大鼠SOD、MDA等氧化应激指标的影响( $n=10 \bar{x} \pm s$ )

| 组别       | SOD( U/ml)           | GSH - Px( U/ml)      | CAT( U/g)             | MDA( $\mu\text{mol/L}$ ) |
|----------|----------------------|----------------------|-----------------------|--------------------------|
| CON 组    | 70.31 $\pm$ 11.29 ** | 81.28 $\pm$ 10.19 ** | 186.32 $\pm$ 32.86 ** | 4.49 $\pm$ 1.74 **       |
| AS 组     | 34.62 $\pm$ 11.36    | 35.32 $\pm$ 10.69    | 109.08 $\pm$ 25.64    | 11.58 $\pm$ 3.66         |
| 沙棘黄酮低剂量组 | 39.23 $\pm$ 9.14     | 42.49 $\pm$ 10.38    | 121.34 $\pm$ 28.34    | 8.21 $\pm$ 2.26 *        |
| 沙棘黄酮中剂量组 | 50.82 $\pm$ 11.17 *  | 49.28 $\pm$ 11.95 *  | 125.22 $\pm$ 27.22    | 7.49 $\pm$ 1.74 **       |
| 沙棘黄酮高剂量组 | 58.96 $\pm$ 11.06 ** | 60.56 $\pm$ 14.71 ** | 155.17 $\pm$ 20.23 ** | 6.64 $\pm$ 1.44 **       |

与AS组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与CON组比较, \*\*  $P < 0.01$ 

3. 血管组织ROS含量测定: 与CON组相比, AS组大鼠主动脉ROS含量明显升高, 氧化应激明显; 沙棘黄酮各不同剂量组ROS水平表达较AS组均已有不同程度降低, 但并无显著性剂量依赖效应(图2)。

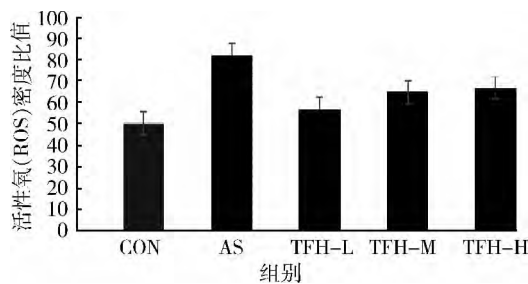


图2 主动脉ROS含量测定

与CON组比较  $P < 0.05$ 

4. 主动脉蛋白表达含量变化: AS组大鼠血管NADPH氧化酶亚基P47蛋白含量明显高于CON组, 沙棘黄酮中、高剂量组大鼠血管P47表达含量均低于AS组, 沙棘黄酮低剂量组大鼠血管P47水平与AS组比较无明显差异。AS组大鼠主动脉SIRT1蛋白表达含量显著低于CON组, 沙棘黄酮不同剂量组大鼠主动脉中SIRT1蛋白含量均已经高于AS组, 差异有统计学意义(图3)。

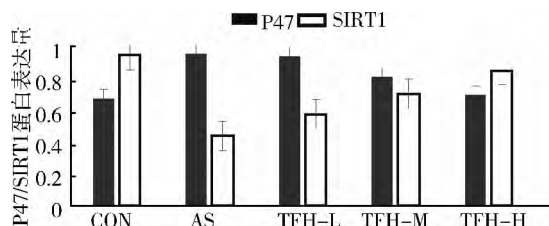


图3 ELISA法检测AS大鼠主动脉蛋白的表达

## 讨 论

SD大鼠2个月后HE染色检测大鼠主动脉显示粥样硬化模型已成功, 血清中氧化应激指标AS组比CON组GSH - Px、CAT和SOD活性均明显下降, MDA、ROS含量明显升高, 提示AS大鼠抗氧化防御能力已经下降<sup>[4]</sup>。沙棘黄酮药理学研究既往已证实具有多种生物活性和药理作用, 主要包括在保护心血管系统、清除体内自由基、延缓衰老、增强免疫和抗肿瘤等作用方面发挥重要作用等作用<sup>[1-4]</sup>。程嘉艺等<sup>[1]</sup>研究证实沙棘总黄酮对抗H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>所致的内皮细胞凋亡时降低了caspase-3表达, 是其内皮细胞保护作用机制之一。苑博等<sup>[8]</sup>研究发现沙棘总黄酮可提高细胞增殖活性, 增加S期细胞比率, 从而对受损血管内皮细胞有保护作用。

NADPH氧化酶目前被认为是血管内生成ROS的主要酶体并参与了氧化应激致AS的全过程, NADPH氧化酶亚基P47则是激活它的主要酶体, 故检测此亚基来衡量NADPH氧化酶作用<sup>[6-8]</sup>。本试验结果显示高脂饮食2个月后大鼠AS模型成功, 且增加了P47蛋白表达, 不同剂量沙棘黄酮干预能够减少P47蛋白水平, 说明沙棘黄酮保护血管粥样硬化的作用可能是由于它降低NADPH氧化酶表达, 进而减少ROS的产生而延缓血管内皮损伤的发生<sup>[5-11]</sup>。AS大鼠主动脉SIRT1蛋白表达水平下降, 沙棘黄酮干预后升高了AS大鼠SIRT1蛋白表达。SIRT1是酵母菌沉默信息调节因子2的同源基因, 其通过去乙酰化作用, 参与调节脂质代谢, 抑制炎症及氧化应激损伤等生理病理过程, 与动脉粥样硬化发生发展密切相关。

关 Han 等<sup>[7]</sup>研究证实 SIRT1 能够减少鼠胚胎干细胞的 ROS 水平。Guo 等<sup>[9]</sup>也报道 SIRT1 能够调控 NADPH 氧化酶表达,而本次实验发现,高脂组、沙棘黄酮干预组之间 P47 表达下降的同时, SIRT1 蛋白表达是升高的,提示 SIRT1 与 P47 之间有某些关联机制,与既往相关研究结果吻合。通过上调 SIRT1 蛋白表达及下调 P47 蛋白能够减少 ROS 产生而延缓内皮损伤,保护粥样硬化,这可以阐释沙棘黄酮保护粥样硬化的可能机制<sup>[7~11]</sup>。

本实验复制 AS 大鼠模型,喂食沙棘黄酮后能够降低 AS 大鼠 NADPH 氧化酶亚基 P47 表达,升高 SIRT1 的表达水平,提高大鼠抗氧化应激的能力,发挥保护 AS 作用,然而沙棘黄酮干预时 SIRT1 及 NADPH 氧化酶亚基 P47 表达含量差异的详细机制还需要进一步研究。

#### 参考文献

- 程嘉艺,滕丹.沙棘总黄酮对血管内皮细胞保护作用及机制研究[J].中国中西医结合杂志 2011 31(3):355-356
- 刘风云.沙棘总黄酮的药理研究[J].中药材 2004 27(2):145-146
- 廖晓阳,张茂顺,王伟文,等.醋柳黄酮对原发性高血压患者一氧化氮、内皮素的影响[J].医学 2005 20(2):247-248
- 古丽米热·阿不都热依木.沙棘总黄酮对阿霉素所致大鼠心肌梗塞和脂质过氧化保护作用的研究[J].新疆医科大学学报,2010 33(4):383-385
- Liu F ,Havens J ,Yu Q *et al.* The link between angiotensinII - mediated anxiety and mood disorders with NADPH oxidase - induced oxidative stress[J]. *Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2012 4(3):28-35
- Violi F ,Basili S ,Nigro C *et al.* Role of NADPH oxidase in atherosclerosis[J]. *Future Cardiol* 2009 5(1):83-92
- Han MK ,Song EK. SIRT1 regulates apoptosis and Nanog expression in mouse embryonic stem cells by controlling p53 subcellular localization[J]. *Cell Stem Cell* 2008 2(3):241-251
- 苑博,张放,程嘉艺,等.沙棘总黄酮对人脐静脉血管内皮损伤细胞增殖及细胞周期的影响[J].山东医药 2011 51(15):34-36
- Guo H ,Chen Y. Resveratrol protects HUVECs from oxidized - LDL induced oxidative damage by autophagy upregulation via the AMPK/ SIRT1 pathway [J]. *Cardiovasc Drugs Ther* ,2013 4(3):211-213
- Yi F ,Jin S ,Zhang F *et al.* Formation of lipid raft redox signalling platforms in glomerular endothelial cells: an early event of homocysteine - induced glomerular injury [J]. *Cell Mol Med* ,2009 13(3):3303-3314
- Clempus RE ,Sorescu D ,Dikalova AE *et al.* Nox4 is required for maintenance of the differentiated vascular smooth muscle cell phenotype [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007 27(1):42-48

(收稿日期:2013-08-26)

(修回日期:2013-08-29)

## 2776 例公职人员运动器官能量测评结果分析

赵润栓 平 昭 郭晔炳 欧映伟 冯 林

**摘 要** 目的 评价公职人员运动器官的健康状态,探讨健康维护策略。方法 对 2776 例人体能量监测仪数据进行分析,重点分析各运动器官的能量状态,得出各运动器官亚健康状态的患病率,并对男、女各运动器官亚健康状态的患病率差异进行统计推断。结果 公职人员各运动器官亚健康状态的患病率由高到低依次为:肩(59.21%)、腋(57.32%)、髌(53.17%)、颈(52.39%)、足(45.01%)、骨盆(39.33%)、脊柱(37.62%)、上臂(37.61%)、肘膝(36.39%)、胸腹(2.45%)。男女在颈、肩、腋、肘膝、骨盆方面的亚健康患病率无显著性差异( $P>0.05$ );髌关节亚健康状态的患病率女性高于男性( $P<0.05$ );脊柱、上臂、胸腹亚健康状态的患病率女性显著高于男性( $P<0.01$ );足部亚健康状态的患病率男性显著高于女性( $P<0.01$ )。结论 公职人员运动器官处于亚健康状态现象较为普遍。女性运动器官出现亚健康状态的概率高于男性。男性比女性更容易出现足部的亚健康。

**关键词** 亚健康 运动器官 患病率 公职人员

[中图分类号] R19 [文献标识码] A

**Analysis of Survey Results for 2776 Cases of Public Officials Locomotor Energy.** Zhao Runshuan, Ping Zhao, Guo Yebing, Ou Yingwei, Feng Lin. Beijing Xiaotangshan Sanatorium, Beijing Health Management and Promotion Center, Beijing 102211, China

**Abstract Objective** To evaluate the health status of public officials' moving organs, and explore the health maintenance

作者单位:102211 北京小汤山疗养院(北京市健康管理促进中心)

通讯作者:平昭,电子信箱:yourwindows@126.com