

# 大黄素对大鼠动脉粥样硬化形成的干预及对血清 T-AOC、SOD 和 MDA 水平的影响

张翔<sup>1</sup>, 江兴林<sup>2</sup>, 周利玲<sup>2</sup>, 吴和平<sup>2</sup>, 梁长健<sup>2</sup>

1. 湖南中医药大学第一附属医院病理科, 湖南 长沙 410007; 2. 湖南医药学院, 湖南 怀化 418000

[摘要] 目的: 旨在探讨大黄素干预大鼠动脉粥样硬化的作用及机制。方法: 选择 SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只, 随机分为 6 组, 每组 8 只, 共饲养实验观察 12 周。普通饲料组全程每天给予普通饲料喂养, 其它 5 组前 8 周每天给予高脂饲料喂养, 后 4 周改为每天普通饲料喂养, 并进行药物干预。大黄素大/中/小剂量 3 个组, 分别给予大黄素 80 mg/kg、40 mg/kg、20 mg/kg 灌胃, 阿托伐他汀组给予阿托伐他汀 0.3 mg/kg 灌胃, 高脂饲料组和普通饲料组不给药物干预, 仅给予等量 (2 mL) 生理盐水灌胃。6 组在实验前和实验后第 4、8、12 周观察体质量的变化; 第 12 周末处死动物, 测其血清总抗氧化能力 (total-antioxidant capacity, T-AOC)、超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 的含量; 切片观察主动脉粥样硬化改变情况。结果: 实验前各组大鼠间体质量的比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。实验的第 4 周、8 周、12 周周末各组大鼠体质量均有增长, 其中第 4 周末各组大鼠的体质量与实验前比较, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 各组间比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 第 8 周末大黄素大/中/小剂量组、阿托伐他汀组、高脂饲料组的体质量显著高于普通饲料组 ( $P < 0.05$ ); 第 12 周末大黄素中/小剂量组、阿托伐他汀组、高脂饲料组的体质量显著高于普通饲料组 ( $P < 0.05$ )。第 12 周末血清测定结果, 大黄素大/中/小剂量组、阿托伐他汀组、高脂饲料组 T-AOC、SOD 的含量均高于普通饲料组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而 MDA 的含量, 高脂饲料组明显高于普通饲料组、大黄素大/中/小剂量组和阿托伐他汀组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。普通饲料组大鼠动脉粥样硬化形态正常, 高脂饲料组呈明显的 AS, 中层平滑肌细胞增生, 并向内膜下迁移, 内膜水肿, 并可见明显的泡沫状脂质颗粒沉积。大黄素大剂量组、阿托伐他汀组动脉粥样硬化形态接近正常。结论: 大黄素与阿托伐他汀均可干预大鼠动脉粥样硬化的形成, 两者作用相似。

[关键词] 动脉粥样硬化; 大黄素; 大鼠; 血清总抗氧化能力 (T-AOC); 超氧化物歧化酶 (SOD); 丙二醛 (MDA)

[中图分类号] R543.5 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415 (2015) 12-0230-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.12.103

## Research of Emodin on Intervention of Scleratheroma Formation in Rats Artery and Effect of Serum T-AOC, SOD and MDA

Zhang Xiang, Jiang Xinglin, Zhou Liling, Wu Heping, Liang Changjian

Abstract: Objective: To investigate the role and mechanism of emodin on intervention of the formation of scleratheroma in rats artery. Methods: Forty-eight male SD rats in SPF were randomly divided into six groups, 8 rats in each group, all of which were observed based on the feeding experiments for 12 weeks. Normal diet group was given normal diet throughout the days. In the first 8 weeks, the other five groups were given high fat diet every day, and in the last 4 weeks were given normal diet and drug intervention. The three groups, emodin large/medium/small doses, were given emodin 80 mg/kg, 40 mg/kg, 20 mg/kg orally once a day. A torvastatin group was given atorvastatin 0.3 mg/kg orally once a day. High-fat diet group and normal diet group were not given drug intervention, and only given the same amount (2 mL) of normal saline once a day. In these six groups, changes of body mass were observed in the 4th, 8th, and 12th week after the experiment. At the end of the 12th week, the content of Total antioxidant (T-AOC), malondialdehyde (MDA), Superoxide dismutase (SOD) in serum were measured. Sliced observation of aorta atherosclerosis was also conducted. Result: The increase of body mass in the five high fat diet feeding groups was larger than that in normal diet feeding group ( $P < 0.05$ ). The levels of T-AOC, SOD in emodin large/medium/low dose groups, atorvastatin group, the high-fat diet group were higher than those in normal diet group ( $P <$

[收稿日期] 2015-05-11

[基金项目] 湖南省中医药管理局科学研究项目 (2010066)

[作者简介] 张翔 (1984-), 男, 住院医师, 主要从事心脑血管系统疾病的病理学研究工作。

[通讯作者] 周利玲, E-mail: hhyzll@126.com.

0.05), while the content of MDA in high-fat diet group was significantly higher than that in the other five groups ( $P < 0.05$ ). High-fat diet group showed a significant slice of atherosclerosis. The artery wall of the normal diet group was in normal form, that of the emodin large dose and the atorvastatin group was close to the normal form. Conclusion: Emodin and atorvastatin may exert similar effect on rats atherosclerosis form.

Keywords: Artery scleratheroma; Emodin; Total antioxidant (T-AOC); Rat malonaldehyde (MDA); Superoxide dismutase(SOD)

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的发病机制较为复杂,炎症和氧化应激是 AS 形成的主要因素,近年来研究也显示氧化应激与 AS 的发病密切相关。本实验应用不同剂量大黄素(emodin, EMD)干预 SD 大鼠 AS 的效果,并观察 SD 大鼠血清总抗氧化能力(total-antioxidant capacity, T-AOC)、超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)3 种抗氧化物、抗氧化酶及氧化物的水平的变化,并与阿托伐他汀(抗氧化药物)做比较,结果报道如下。

## 1 材料和方法

1.1 动物分组及处理 选择 SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只,体质量  $200 \sim 240 \text{ g}(220 \pm 15) \text{ g}$ , 7~8 周龄,购于中南大学湘雅医学院动物实验中心,动物许可证编号:SYXK(湘)2012-0003。大鼠经适应性喂养 3 天后按随机数字表法分为 6 组,每组 8 只。分别为:普通饲料组、大黄素大剂量组(80 mg/kg)、大黄素中剂量组(40 mg/kg)、大黄素小剂量组(20 mg/kg)、阿托伐他汀组(0.3 mg/kg)、高脂饲料组。6 组动物共饲养观察 12 周。从实验第一天开始,普通饲料组全程每天给予普通饲料喂养;其它 5 组前 8 周每天给予高脂饲料(3% 胆固醇、5% 白糖、10% 猪油、81.3% 基础饲料)喂养,后 4 周改为普通饲料喂养。均为自由进食和饮水。大黄素大/中/小剂量组:后 4 周改为普通饲料喂养,同时分别给予大黄素 80 mg/kg、40 mg/kg、20 mg/kg 灌胃,每天 1 次;阿托伐他汀组:后 4 周改为普通饲料喂养,同时给予阿托伐他汀 0.3 mg/kg 灌胃,每天 1 次;高脂饲料组:后 4 周改为普通饲料喂养,并和普通饲料组一起给予等量(2 mL)生理盐水灌胃,每天 1 次。喂养观察 12 周后,处死前禁食 12 h 以上,用 3% 异戊巴比妥钠麻醉大鼠,腹主动脉取血后处死。血液标本  $3000 \text{ r/min}$  离心 10 min 后取血清测 T-AOC、SOD、MDA。取大鼠主动脉弓与胸主动脉交界处约 1 cm 长,以 10% 中性甲醛固定,石蜡包埋,水平横切面制备石蜡切片,苏木精伊红(H.E)染色。

1.2 药品与试剂 大黄素,购自陕西西安森弗生物技术有限公司,批号:SF201107;阿托伐他汀,购自北京嘉林药业股份有限公司,批号:110808;胆固醇,购自天津市光复精细化工研究所,批号:20110403。

1.3 主要仪器 石蜡包埋机(德国 Leica);721 型分光光度计(上海第三分析仪器厂);37℃ 水浴箱(北京医疗设备厂);高速离心机(美国 Eppendorf);自动切片(德国 Leica);倒置显微

镜(东京 OLYMPUS);低速自动平衡离心机(白洋离心机厂);漩涡混合器(通达科技)。

1.4 体质量测定 各组在实验开始时和实验后第 4 周、8 周、12 周末,采用动物电子天平称量大鼠的体质量,观察体质量(g)的增长情况。

1.5 T-AOC、SOD、MDA 的检测 取血清,采用 T-AOC 测定试剂盒,购自上海阳光试剂有限公司,通过比色可测出其抗氧化能力的高低原理检测机体的总抗氧化能力;采用黄嘌呤氧化酶法(羟胺法)测血清中 SOD 活力和 MDA 含量。

1.6 统计学方法 数据用 SPSS 19.0 软件处理,计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,组间比较方差齐时直接采用  $t$  检验,方差不齐时采用近似  $t$  检验( $t'$  检验),并在不同时间点上进行组间比较。

## 2 结果

2.1 各组大鼠不同时间点体质量变化的比较 见表 1。实验前各组大鼠间体质量的比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。实验的第 4 周、8 周、12 周末各组大鼠体质量均有增长,其中第 4 周末各组大鼠的体质量与实验前比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),各组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );第 8 周末大黄素大/中/小剂量组、阿托伐他汀组、高脂饲料组的体质量显著高于普通饲料组( $P < 0.05$ );第 12 周末大黄素中/小剂量组、阿托伐他汀组、高脂饲料组的体质量显著高于普通饲料组( $P < 0.05$ )。

表 1 各组大鼠不同时间点体质量变化的比较( $\bar{x} \pm s$ ) g

组别	样本数	实验前	第 4 周	第 8 周	第 12 周
普通饲料组	8	214.34±10.11	279.31±23.14 <sup>①</sup>	291.46±16.32	301.04±11.24
大黄素大剂量组	8	214.48±20.13	292.57±25.21 <sup>①</sup>	316.09±16.08 <sup>②</sup>	312.07±15.61
大黄素中剂量组	8	216.01±14.09	291.12±22.07 <sup>①</sup>	320.16±17.31 <sup>②</sup>	324.50±19.25 <sup>③</sup>
大黄素小剂量组	8	213.02±18.36	289.56±17.73 <sup>①</sup>	318.22±17.36 <sup>②</sup>	325.02±16.24 <sup>③</sup>
阿托伐他汀组	8	215.05±21.12	293.76±16.22 <sup>①</sup>	321.62±16.82 <sup>②</sup>	319.05±14.05 <sup>③</sup>
高脂饲料组	8	214.74±20.66	291.16±19.71 <sup>①</sup>	320.13±19.21 <sup>②</sup>	329.25±17.84 <sup>③</sup>

与实验前比较,① $P < 0.05$ ;与普通饲料组比较,② $P < 0.05$

2.2 各组大鼠第 12 周末血清 T-AOC、SOD、MDA 的测定结果比较 见表 2。第 12 周末血清测定结果,大黄素大/中/小剂量组、阿托伐他汀组、高脂饲料组 T-AOC、SOD 的含量均高于普通饲料组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而 MDA 的含

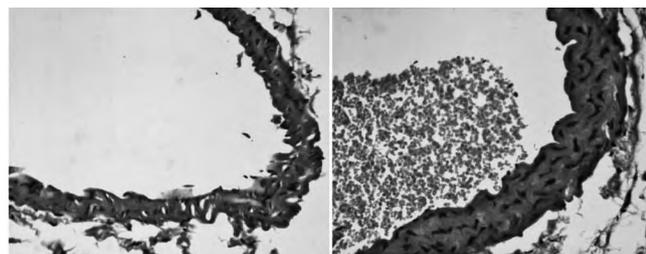
量, 高脂饲料组明显高于普通饲料组、大黄素大/中/小剂量组和阿托伐他汀组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。需要说明之一, 大黄素大/中/小剂量组 T-AOC、SOD 的含量随着剂量的减少而减少, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。需要说明之二, 高脂饲料组 T-AOC 含量明显高于其它 5 组( $P < 0.05$ ), 这可能与高脂饮食抗氧化能力加强有关, 但 MDA 含量明显高于其它 5 组, 这是氧化产物过多的表现。

表 2 各组大鼠第 12 周末血清 T-AOC、SOD、MDA 测定结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数	T-AOC(nmol/L)	SOD(U/mL)	MDA(nmol/mL)
普通饲料组	8	15.85±3.05 <sup>②</sup>	110.55±20.12	7.54±1.28 <sup>②</sup>
大黄素大剂量组	8	17.57±2.06 <sup>①②</sup>	135.43±20.84 <sup>①</sup>	7.08±1.32 <sup>②</sup>
大黄素中剂量组	8	17.18±3.91 <sup>①②</sup>	131.27±20.25 <sup>①</sup>	7.54±1.07 <sup>②</sup>
大黄素小剂量组	8	17.05±3.74 <sup>①②</sup>	129.96±10.22 <sup>①</sup>	8.54±1.07 <sup>②</sup>
阿托伐他汀组	8	17.13±4.25 <sup>①②</sup>	140.22±10.48 <sup>①</sup>	7.08±1.21 <sup>②</sup>
高脂饲料组	8	25.64±3.29 <sup>①</sup>	141.65±16.27 <sup>①</sup>	9.74±1.97

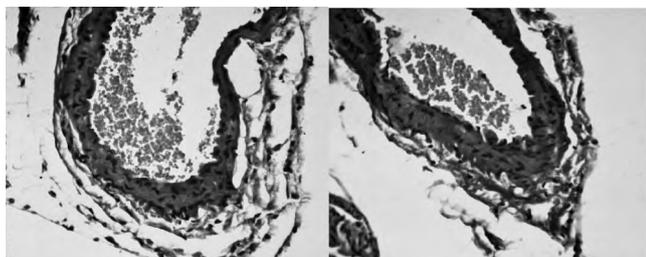
与普通饲料组比较, ① $P < 0.05$ ; 与高脂饲料组比较, ② $P < 0.05$

2.3 各组组织切片观察结果 见图 1。普通饲料组大鼠动脉壁形态正常, 高脂饲料组呈明显的 AS, 中层平滑肌细胞增生, 并向内膜下迁移, 内膜水肿, 并可见明显的泡沫状脂质颗粒沉积。大黄素大剂量组、阿托伐他汀组动脉壁形态接近正常。



A. 普通饲料组

B. 高脂饲料组



C. 大黄素大剂量组

D. 阿托伐他汀组

图 1 各组 HE 染色组织切片图 ( $\times 200$ )

### 3 讨论

氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时, 体内或细胞内活性氧族(reactive oxygen species, ROS)的产生与抗氧化之

间失衡, 从而导致组织的损伤<sup>[1]</sup>。氧化应激学说是 AS 形成学说的重要组成部分<sup>[2]</sup>。ROS 可以氧化细胞膜上的不饱和脂肪酸, 反应的最终产物是 MDA, MDA 含量与脂质过氧化反应程度间接相关, 可间接反映 AS 斑块的稳定性和严重程度, 因此本试验选取富有代表性的氧化指标 MDA 进行研究。SOD 是生物体内重要的抗氧化酶, SOD 可以消除体内的超氧阴离子及脂质过氧化物, 是体内重要的 ROS 清除剂, 可以在分子水平、细胞水平防止和减轻机体组分受到过氧化损伤。因此, 通过对 SOD 的测定可反映机体抗氧化能力。人体的抗氧化系统是一个可与免疫系统相比拟的、具有完善和复杂功能的系统, 当机体处于亚健康或疾病状态的时候, 血清 T-AOC 可作为疾病的诊断和预测指标。所以本研究选取 T-AOC、SOD 2 种有代表性的抗氧化指标。

大黄为蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄或药用大黄的干燥根和根茎。大黄素是一种从传统中药大黄的根茎提取的主要有效单体, 其药理作用主要为抗炎、抗氧化、清除氧自由基、护肝及纠正脂代谢紊乱等<sup>[3]</sup>。

本实验采用高脂饲料喂养 SD 大鼠复制 AS 大鼠模型, 8 周末高脂饲料饲养的 5 组大鼠的体质量均明显高于普通饲料组; 12 周末 HE 染色发现高脂饲料组大鼠动脉出现平滑肌细胞增生, 并向内膜下迁移, 内膜水肿, 明显的泡沫状脂质颗粒沉积, 说明大鼠 AS 模型形成。而大黄素大剂量组与阿托伐他汀组动脉壁形态接近普通饲料组, 提示大黄素对高脂大鼠动脉壁形态的影响随着剂量的增加效果逐步明显, 至大剂量才与阿托伐他汀作用相似, 动脉壁形态接近正常, 这与课题组以往的研究结果即大黄素的作用效果有剂量依赖关系较为一致<sup>[4]</sup>。

本实验进一步证明, 大黄素组与阿托伐他汀组血清中 T-AOC、SOD 的含量均高于普通饲料组, 提示抗氧化能力增强; 而 MDA 含量低于高脂饲料组, 提示氧化减弱; 大黄素与阿托伐他汀的作用无显著区别, 提示二者干预大鼠 AS 的机制可能相似。具体的干预机制有待于进一步的深入研究。

### [参考文献]

- [1] 岳雅丽, 郭妍, 王俊宏, 等. 老年高血压患者血管硬化与非酶糖基化及氧化应激的相关性研究[J]. 实用老年医学, 2014, 28(1): 33-36.
- [2] 吴先杰, 王永霞. 动脉粥样硬化发生机制研究现状及思路[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2012, 26(7): 629-631.
- [3] 周利玲, 吴和平, 李树平, 等. 大黄素对鹌鹑脂质代谢的影响研究[J]. 实用预防医学, 2006, 4(13): 821-823.

(责任编辑: 骆欢欢)