

红景天苷对内皮细胞动脉粥样硬化损伤的保护作用研究

许可为¹ 吴虹²

(1 江西中医药大学附属医院药剂科 南昌 330006; 2 江西省南昌市第一医院药剂科 南昌 330008)

摘要:目的:研究红景天苷(Salidroside, Sal)对内皮细胞氧化损伤的保护作用。方法:应用氧化低密度脂蛋白(OX-LDL)诱导的内皮细胞损伤模型,用自动生化仪测定细胞培养基乳酸脱氢酶(LDH)水平,用 MTT 法和化学方法分别观察 Sal 对血管内皮细胞增殖活性及细胞内一氧化氮(NO)水平和内皮型一氧化氮合酶(eNOS)活性的影响。结果:Sal 可有效降低培养基乳酸脱氢酶(LDH)水平($P<0.05$),还能明显提高血管内皮细胞的增殖活性($P<0.01$),提高血管内皮细胞内 NO 水平($P<0.01$),提高 eNOS 的活性($P<0.05$)。结论:Sal 具有抗 OX-LDL 诱导的 AS 内皮损伤作用。

关键词:红景天苷;低密度脂蛋白;动脉粥样硬化;血管内皮细胞

中图分类号:R285.5 文献标识码:B doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.07.056

近年来研究发现,在损伤血管内皮细胞的众多因素中,低密度脂蛋白(LDL)发生氧化后产生的氧化低密度脂蛋白(OX-LDL)是对内皮细胞损伤病理变化过程的关键因子^[1]。因此脂质过氧化物损伤在动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)中的作用已倍受人们关注。红景天苷是中药红景天中的重要有效成分,具有耐缺氧、抗衰老、降血脂等作用,目前主要用于治疗糖尿病、肺心病、风湿病、高血压等疾病^[2-3]。本实验采用铜离子催化修饰的 OX-LDL 造模,建立体外培养脐静脉血管内皮细胞的脂质过氧化损伤模型,观察 Sal 对血管内皮细胞损伤的保护作用,以探讨 Sal 的抗 AS 作用机制。现报道如下:

1 材料与仪器

红景天苷(纯度>98%,上海同田生物技术股份有限公司);人脐静脉内皮细胞株 HUVEC-12(中南大学赠予);LDH 试剂盒(南京建成生物工程研究所);氧化修饰的低密度脂蛋白(OX-LDL,江西中医药大学提供);RPMI-1640 干粉和胎牛血清(Gibco 公司);胰蛋白酶(Sigma 公司);乙二胺四乙酸二钠(EDTA,常州海正化工有限公司);NO 和 NOS 测试盒(南京建成生物工程研究所);其它试剂均为 R 级。CKX41 型倒置显微镜及 AX70 自动显微照相设备(Olympus 公司)。

2 方法

2.1 人脐静脉内皮细胞株的培养 将人脐静脉内皮细胞接种于培养瓶中,用 1640 培养液,在 37℃浓度为 5%的 CO₂ 中培养 48~72 h,待细胞融合后,用 0.05%胰蛋白酶和 0.02%EDTA 的混合消化液进行消化传代。

2.2 实验分组 实验共分五组:(1)正常对照组:加 1640 培养液 100 μl;(2)OX-LDL 组:加入终浓度为 50 mg/L OX-LDL,1640 培养液 100 μl;(3)OX-LDL+Sal 低组:Sal 终浓度为 100 mg/L,OX-LDL 终浓度为 50 mg/L;(4)OX-LDL+Sal 中组:Sal 终浓度为 200 mg/L,OX-LDL 终浓度为 50 mg/L;(5)OX-LDL+Sal 高组:Sal 终浓度为 400

mg/L, OX-LDL 终浓度为 50 mg/L。

2.3 MTT 法检测细胞活力 吸取各组细胞培养液,分别于 96 孔板,加 1640 培养液漂洗 2 次,每孔加 20 μl MTT 溶液(5 mg/ml),孵育 4 h 弃上清液。每孔加 150 μl DMSO,使结晶物充分溶解。酶标仪 490 nm 波长处测吸收值,记录 OD 值。

2.4 LDH 活性检测 将以上各组内皮细胞株 HUVEC-12 液孵育 48 h,取上清液,2 000 rpm 离心 5 min,留上清液,用全自动生化仪检测培养液中 LDH 活性。

2.5 血管内皮细胞内 NO 及 eNOS 含量测定 继续培养 12 h,将各组细胞消化制成细胞悬液,调整细胞密度为 2×10⁹ 个/L,离心 5 min,弃上清液,用 PBS 洗 2 次。采用硝酸还原酶法测定内皮细胞内 NO 的含量^[4]。运用化学比色法测定细胞内 eNOS 的活性:eNOS 催化 L-精氨酸,反应生成 NO,NO 与亲核物质生成有色化合物,通过显色深浅,测定其活性高低。具体操作按试剂盒说明书进行。

3 结果

3.1 细胞培养 细胞接种 12 h 后开始贴壁生长,24 h 后大部分贴壁,早期细胞呈园形、椭圆形和团块状,少数细胞伸展。48~72 h 后生长最快,逐渐转变为多角形或梭形。见图 1。

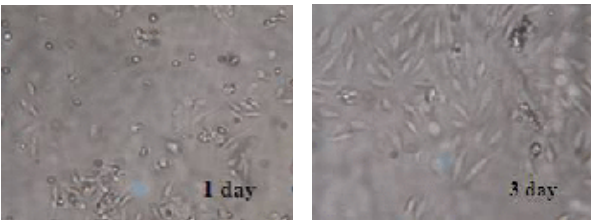


图 1 相差显微镜观察 HUVEC-12 原代培养第 1 天和第 3 天的细胞形态(×100)

3.2 Sal 对内皮细胞活力影响 OX-LDL 组显著降低内皮细胞的活力($P<0.01$);OX-LDL+Sal 低组能抑制 OX-LDL 所致的内皮细胞活性下降作用($P<0.05$),而 OX-LDL+Sal 中组及 OX-LDL+Sal 高组能显著抑制 OX-LDL 所致的内皮细胞活性下降($P<0.01$)。见表 1。

表 1 Sal 对内皮细胞活力的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	n	细胞活力 (OD 值)	LDH (U/L)	NO (mol/L)	eNOS ($\times 10^3$ U)
正常对照组	3	0.81± 0.12	24.11± 2.21	16.03± 0.92	10.11± 0.21
OX-LDL 组	3	0.36± 0.09 [▲]	48.17± 3.02 [▲]	7.06± 0.39 [▲]	5.17± 0.12 [▲]
OX-LDL+Sal 低组	3	0.49± 0.08 [*]	35.16± 1.09 [*]	10.49± 0.48 [*]	7.06± 0.19 [*]
OX-LDL+Sal 中组	3	0.61± 0.07 [#]	30.07± 2.63 [#]	13.61± 0.57 [#]	8.07± 0.33 [#]
OX-LDL+Sal 高组	3	0.71± 0.05 [#]	26.76± 2.65 [#]	14.97± 0.65 [#]	9.86± 2.65 [#]

注:与正常对照组比较,▲P<0.01;与 OX-LDL 组比较,*P<0.05,#P<0.01。

3.3 Sal 对内皮细胞释放 LDH 影响 OX-LDL 组显著增加培养液中 LDH 的活性(P<0.01),OX-LDL+Sal 低组能抑制 LDH 的活性增加(P<0.05),OX-LDL+Sal 中组及 OX-LDL+Sal 高组能显著抑制 LDH 的活性增加(P<0.01)。见表 1。

3.4 Sal 对血管内皮细胞 NO 和 eNOS 影响 OX-LDL 组内皮细胞内 NO、eNOS 含量降低,较正常对照组有显著性差异(P<0.01);而 OX-LDL+Sal 各组因加入不同浓度的 Sal,随 Sal 浓度增加,内皮细胞内 NO、eNOS 含量逐渐升高,OX-LDL+Sal 中高组与 OX-LDL 组比较差异有显著性意义(P<0.01)。见表 1。

4 讨论

本研究应用 OX-LDL 诱导的内皮细胞损伤模型,通过测定细胞活力、细胞培养基 LDH 水平、NO 和 eNOS 水平,发现 Sal 可有效地减弱由 OX-LDL

(上接第 88 页)

表 2 两组患者对护理的总满意率对比

组别	n	十分满意(例)	满意(例)	不满意(例)	总满意率(%)
对照组	37	18	12	7	81.08
治疗组	37	27	7	3	91.89

3 讨论

银屑病是一种常见的临床皮肤病,主要表现为皮肤出现红斑,并在红斑上面附有白色鳞状屑斑块,常见于头皮、四肢及背部,严重者则全身起病,并伴有脓包及高热症状,是一项易复发、顽固性较强、难以根治的疾病^[4]。该病的主要治疗手段是防止发作,并最大化的延长发作时间,视患者的实际情况给予对症治疗与护理,并注意防止各种可能的复发因素,加强病情控制^[5-6]。采用延续护理对于患者离开医院之后继续持续护理,对患者的生活质量改善情况有一定的影响。观察对象为门诊治疗患者,经过检查化验、诊断、确定治疗方案后继续门诊治疗及回家自我护理,多因患者自身的护理不当而使病情复发,若是没有持续的护理与护理指导,患者的病情会反复发作,严重者因恶化而转院治疗^[7]。由于该病难以根治,当前最主要的方法就是对其实施有效的控制治疗与护理,防止病情复发。因此,通过延续护理可以将门诊专科护理延伸到家庭护理中,让患者在家就能够获得正确的护理指导,提高患者对病情的了解及掌握程度,加强自我护理的能力,充分做好自身护

诱导的细胞活力下降,降低培养基 LDH 水平,升高血管内皮细胞 NO 含量,提高 eNOS 活性。提示 Sal 具有抗 AS 所致的内皮细胞受损作用。AS 是诱发多种心血管疾病的重要诱因及主要基础疾病,目前研究表明 AS 的发病机制不仅可能基于血管内脂类沉淀和纤维细胞增生,而且与细胞氧化及免疫系统诸多因素有关,其中血管内皮细胞结构及功能障碍是 AS 发生的重要诱因。本实验从细胞存活力及培养基 LDH 及 NO 和 eNOS 含量活性水平等多因素论证分析,结果表明 OX-LDL 对内皮细胞损伤作用明显,细胞活性下降。经 Sal 对内皮细胞预处理后,细胞活性增强,NO 浓度增加,eNOS 活性增强,表明 Sal 对 OX-LDL 造成的内皮细胞损伤有保护作用。综上所述,一定浓度 Sal 具有抗 AS 所致的内皮细胞受损作用。

参考文献

[1]Witztum JL,Steinberg D.Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis[J].J Clin Invest,1991,88(6):1785-1792
[2]杜保生,颜天华,马莹,等.红景天苷对大鼠和小鼠血液系统的影响[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(2):51-54
[3]于学东,陈虹.新疆 4 种特色植物药对心血管系统的影响[J].时珍国医国药,2009,20(6):1357-1358
[4]张俊玲,刘赛,王瑞臣,等.扇贝裙边糖胺聚糖对 OX-LDL 致血管内皮细胞损伤的保护作用[J].中国药理学通报,2004,20(12):1389-1392

(收稿日期:2014-09-18)

理,从而全面评估病情情况^[8]。同时,还要鼓励患者家属参与到护理当中来,加大家属对患者的支持,让患者保持心情愉悦,促进病情的控制与好转,树立患者的自信心,从而改善其生活质量^[9]。

本研究对两组患者采用不同的护理对策,经过护理与观察之后发现,治疗组患者的总有效率和总满意率都明显高于对照组。表明对于银屑病患者采用延续护理,能够提高患者的预后效果,提高患者对护理的总满意率,从而进一步改善患者的生活质量,促进患者早日康复。

参考文献

[1]李丽.门诊银屑病 106 例健康教育[J].齐鲁护理杂志,2010,16(29):21-23
[2]马福生,梁志明,叶伟,等.健康教育对银屑病患者生活质量的影响[J].中国皮肤性病学杂志,2010,24(10):41-42
[3]王瑜,姚尚萍.心理治疗对寻常型银屑病患者生活质量的临床研究[J].河北中医,2010,32(11):1728-1729
[4]曾敏帆,刘藕根,姜美英,等.辅助心理康复治疗银屑病及其对患者 SDS 和 SAS 水平的影响[J].实用临床医学,2007,8(7):110-112
[5]唐红珍,戴迭勤,陶林昌.逍遥丸配合中医心理疗法干预银屑病的临床观察[J].辽宁中医药大学学报,2006,8(6):71-73
[6]李桂霞,路云环.银屑病病人社会心理因素调查及心理干预[J].护理研究(中旬版),2006,20(10B):31-32
[7]郝庆英,孔隽,胡淑云.银屑病患者心理卫生状况与家庭功能的相关性研究[J].现代护理,2006,12(10):84-86
[8]陈吉辉,杨利蓉,曹琳,等.保湿剂缓解老年性瘙痒症的疗效观察及护理[J].华西医学,2014,29(9):124-126
[9]李桂云.中西医结合治疗红皮病型银屑病的护理[J].中国中医药现代远程教育,2014,12(16):551-553

(收稿日期:2014-12-09)