

S-烯丙基半胱氨酸对高脂血症模型大鼠一氧化氮水平及其抗氧化酶活性的影响^{*}

严婧婷^{1,2}, 张容¹, 徐诗强¹, 高成志¹, 杜晶¹, 胡霞敏¹

(1. 武汉科技大学医学院药理学系, 武汉 430065; 2. 湖北省医药工业研究院有限公司, 武汉 430061)

摘要 **目的** 探讨 S-烯丙基半胱氨酸(SAC)对高脂血症大鼠一氧化氮(NO)水平和抗氧化酶活性的影响。**方法** 雄性 Wistar 大鼠 42 只, 随机分成 7 组, 各 6 只: 正常对照组(普通饲料)、模型对照组(高脂饲料)和 SAC 小、中、大剂量组(高脂饲料 + 25, 50, 100 mg·kg⁻¹ SAC), 连续给药 4 周后处死; L-精氨酸组(普通饲料 + L-精氨酸 20 mg·kg⁻¹)和 L-精氨酸 + SAC 组(普通饲料 + 50 mg·kg⁻¹ SAC + 20 mg·kg⁻¹ L-精氨酸)于给药后 4 h 处死。测定血清、肝脏和肾脏中 NO 水平、一氧化氮合酶(NOS)的活性、抗氧化指标和血清 L-精氨酸含量。**结果** 与模型对照组比较, SAC 治疗组血清、肝脏和肾脏中 NOS 活性显著降低($P < 0.05$), SAC 小、中、大剂量组血清中 L-精氨酸浓度分别为(8.25 ± 1.15), (7.76 ± 1.24) 和 (7.22 ± 1.64) μg·mL⁻¹, 与模型对照组比较均下降。与 L-精氨酸组比较, L-精氨酸 + SAC 组血清、肝脏和肾脏中 NOS 活性均下降。SAC 大剂量组血清和肝脏的超氧化物歧化酶(SOD)活性显著增加, 谷胱甘肽(GSH)水平上升($P < 0.01$), 丙二醛(MDA)水平降低。**结论** SAC 可以通过降低 NOS 活性和 L-精氨酸浓度来抑制 NO 的产生, 发挥抗氧化活性。

关键词 S-烯丙基半胱氨酸; 高脂血症; 一氧化氮; 抗氧化

中图分类号 R972 ; R965 文献标识码 A 文章编号 1004 - 0781(2017)01 - 0022 - 06

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.01.005

Effects of S-allylcysteine on Nitric Oxide Production and Antioxidant Enzyme Activities in Hyperlipidemic Model Rats

YAN Jingting^{1,2}, ZHANG Rong¹, XU Shiqiang¹, GAO Chengzhi¹, DU Jing¹, HU Xiamin¹ (1. Department of Pharmacology, Medical College of Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China; 2. Hubei Institute Company Limited of Pharmaceutical Industry, Wuhan 430061, China)

ABSTRACT Objective To investigate the effects of S-allylcysteine (SAC), on nitric oxide (NO) production and antioxidant enzyme activities in hyperlipidemic rats. **Methods** Male Wistar rats were randomly divided into seven groups. Five groups including normal control group (normal diet), model control group (high-fat diet, HFD) and SAC low, medium, high treated group (high-fat diet + 25, 50, 100 mg·kg⁻¹ SAC) were sacrificed after 4 weeks dosing, while the other two groups including L-arginine group (normal diet + 20 mg·kg⁻¹ L-arginine) and SAC + L-arginine group (50 mg·kg⁻¹ SAC + 20 mg·kg⁻¹ L-arginine) were sacrificed at 4 h after dosing. The serum, livers and kidneys were collected. The levels of NO, the activities of nitric oxide synthase (NOS), antioxidant enzymes *in vivo* and L-arginine contents in serum were determined. **Results** Comparing with model control group, the activities of total NOS in serum and liver were significantly reduced in SAC-treated groups ($P < 0.05$). The level of L-arginine in SAC-treated groups was (8.25 ± 1.15), (7.76 ± 1.24) and (7.22 ± 1.64) μg·mL⁻¹, respectively. Compared with model control group, the level of L-arginine were significantly reduced in SAC-treated groups ($P < 0.05$). Comparing with L-arginine group, the activities of total NOS (T-NOS) and iNOS were reduced in SAC + L-arginine group. SAC treatment (100 mg·kg⁻¹) significantly increased the activities of superoxide dismutase (SOD) ($P < 0.01$) and the level of glutathione (GSH) ($P < 0.01$), and decreased the level of malondialdehyde (MDA) in serum and liver of hyperlipidemic rats. **Conclusion** These data suggest that SAC inhibits the NO production by reducing iNOS activity, arginine concentration and exhibited antioxidant activity, which may play a pharmacologically important role in protection from oxidative injury and pathogenesis of atherosclerosis.

KEY WORDS S-allylcysteine; Hyperlipidemic; Nitric oxide; Antioxidants

一氧化氮(NO)是机体内重要的信号分子^[1], 它对体内的生理学过程产生重要的影响^[2-3]。L-精氨酸在 NO 合成酶(NOS)的催化下转变为瓜氨酸和 NO^[4]。研究证实, 内皮细胞产生的 NO 能影响动脉粥样硬化和炎症的关键过程^[5]。在动脉粥样硬化动物模型实验中, 对 L-精氨酸/NO 通道的抑制作用, 可加快内皮损伤进程^[6]。另一方面, 动脉粥样硬化的炎症环境导

致大量 NO 和活性氧产生^[7]。因此, NO 生理学方面的作用具双向性, 其在相关组织中浓度过高或过低都可导致疾病^[8]。高脂血症常与血管内皮功能紊乱密切相关, 是亚临床动脉粥样硬化疾病和冠心病的先兆。增加高脂血症血管氧化应激可损伤内皮功能, 导致动脉粥样硬化。流行病学证据表明, 增加饮食内具抗氧化作用的成分可降低冠心病危险^[9]。

S-烯丙基半胱氨酸 (S-allylcysteine, SAC) 性质稳定,在光、酸、碱和高温条件下未见新化合物产生。体内外研究表明,SAC 具有抗氧化活性^[10],通过抑制神经因子- κ B 活化作用及诱生型 NOS (iNOS) 的表达降低 NO 的浓度^[11]。笔者在本实验中研究 SAC 对高脂血症大鼠体内 NO 浓度和 iNOS 活性的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性 Wistar 大鼠,无特定病原体 (SPF) 级,体质量 180 ~ 200 g,购于湖北省疾病预防控制中心动物实验中心,动物生产许可证号:SCXK (鄂) 2008-0005,合格证号:42000600000738。饲养条件:室温 (22 ± 1) °C,相对湿度 58%。给予标准饮食和饮水,于实验前 12 h 开始禁食。

1.2 药品与试剂 SAC:淡黄色结晶,含量 > 98%,武汉科技大学实验室合成。丙基硫氧嘧啶 (上海复星朝辉药业有限公司)。胆固醇、去氧胆酸钠 (武汉凌飞科技有限公司)。高脂饲料组成:胆固醇 2%,去氧胆酸钠 0.3%,猪油 10%,丙基硫氧嘧啶 0.2%,基础饲料 87.5%。邻苯二甲醛、2-巯基乙醇 (Acros Organics, New Jersey, USA, 含量:99%)。NO、NOS、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH)、谷胱甘肽过氧化物 (GSH-Px) 酶试剂盒 (南京建成生物公司研究所,批号:20130104)。总胆固醇 (TC) 试剂盒 (南京建成生物公司研究所,批号:20130115)。三酰甘油 (TG)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 试剂盒 (南京建成生物公司研究所,批号:20130112)。L-精氨酸 (上海复星朝辉药业有限公司,含量 ≥ 98%)。乙腈、甲醇均为色谱纯 (山东禹王实业有限公司)。水:高纯水,去离子水经重蒸。其他所有的试剂和溶剂购于商业公司,级别为分析纯或色谱纯。SAC 溶于无菌 0.9% 氯化钠溶液。

1.3 仪器 LC-5A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司) 配有 RF-530 荧光检测器, SIL-A 型手动进样器, CTO-2A 型柱恒温箱, C-R3A 型数据处理器。LDR48.4C 高速冷冻离心机 (北京医用离心机厂)。恒温水浴箱 (北京医疗器械厂)。紫外分光光度计 (UV-260 型, 日本

岛津公司)。

1.4 方法

1.4.1 实验设计 雄性大鼠实验全程自由进食和饮水。所有大鼠每天观察 2 次并称质量,以评价其健康状况。适应环境 1 周后,将大鼠按随机分组法分成 7 组,每组 6 只:正常对照组正常饮食并灌服 0.9% 氯化钠溶液;模型对照组高脂饮食并灌服 0.9% 氯化钠溶液;SAC 小剂量组高脂饮食并灌服 SAC 25 mg·kg⁻¹; SAC 中剂量组高脂饮食并灌服 SAC 50 mg·kg⁻¹; SAC 大剂量组高脂饮食并灌服 SAC 100 mg·kg⁻¹。5 组大鼠经 4 周饲养处理,禁食 12 h 后处死;L-精氨酸组每只大鼠腹腔单剂量注射 L-精氨酸 20 mg·kg⁻¹,并在 4 h 后处死。L-精氨酸 + SAC 组每只大鼠灌服 50 mg·kg⁻¹ SAC 和腹腔单剂量注射 L-精氨酸 20 mg·kg⁻¹, 4 h 后处死。摘取每只大鼠的肝脏和肾脏并称质量。采集各受试大鼠血液,立即分离血清。每个器官取组织 0.2 g。加冰冷 0.9% 氯化钠溶液 2 mL 置于冰块上进行匀浆, 3 000 × g 离心 10 min,收集上清液。肝脏和肾脏的组织匀浆上清液的蛋白浓度以牛血清蛋白为标准物,通过 Bradford 染料结合法测得。

1.4.2 脂质测定 血清中 TC 使用 CHOD-PAP 试剂酶法测定, TG 使用 GPO-PAP 酶试剂法测定。肝脏中 TC 和 TG 均以异丙醇制备 10% 肝组织匀浆, 4 °C 冰箱放置 2 d 后, 4 000 × g 离心 5 min,取上清液按酶比色法测定。具体操作及计算参照试剂盒说明进行。

1.4.3 NO 浓度的测定 通过检测硝酸盐和亚硝酸盐的含量来测定 NO 浓度。取上清液 100 μL 加入硝酸还原酶 400 μL, 37 °C 孵育 60 min 后加入格里斯试剂 (1% 对氨基苯磺酸和 0.1% 盐酸萘乙二胺溶于 2.5% 磷酸) 300 μL,继续室温孵育 10 min^[12]。分光光度计测量亚硝酸盐产物吸光度,通过与亚硝酸钠标准溶液对照算出亚硝酸盐浓度。大鼠血清、肝脏和肾脏组织 NO 浓度依据试剂盒说明书进行测定和计算。所有样品重复测量 3 次。

1.4.4 MDA 水平的测定 MDA 作为脂质过氧化的指标,在血清、肾脏和肝脏中的水平通过 YAGI 等^[13]介绍的方法来进行测定。该方法的原理是通过与硫代巴比妥酸反应生产红色反应物 MDA,此红色物质在波长 λ = 532 nm 处有最大吸收。

1.4.5 血清中维生素 C (Vc) 的测定 高效液相色谱 (HPLC) 法测定血清中 Vc 浓度^[14]。

1.4.6 血清 L-精氨酸的分析 血清样品解冻后,取样 100 μL,加甲醇 400 μL 充分混匀, 3 000 × g 离心 15 min。取上清液经孔径 0.45 μm 滤膜滤过。取续滤液 100 μL,

收稿日期 2015-03-16 修回日期 2015-08-13

基金项目 * 国家自然科学基金资助项目 (31171327)

作者简介 严婧婷 (1988 -),女,湖北武汉人,硕士,研究方向:临床药理学。电话:027-68893283, E-mail: n. y103 @ qq. com。

通信作者 胡霞敏 (1965 -),女,湖北武汉人,教授,博士,从事临床药理学研究。电话:027-68893640, E-mail: huxiaming @ 163. com。

加入邻苯二甲醛 (*O*-phthalaldehyde, OPA) 衍生液 50 μL , 混合均匀, 于室温下避光放置 2 min。立即取 10 μL 进入色谱系统。OPA 衍生液的制备方法如下: 精密称取 OPA 30 mg, 甲醇 5 mL 溶解后, 加入 0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼砂缓冲液 (pH 值 9.2) 5 mL 和 2-巯基乙醇 50 μL 。OPA 衍生液应避光 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存并每 5 d 重新配制。HPLC 条件: 不锈钢 Hypersil ODS₂ 柱 (5 μm , 4.6 mm \times 250 mm, 大连依利特仪器公司)。流动相: 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸盐缓冲液 (pH 值 6.8) - 甲醇-乙腈 (50:7:10); 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 0.8 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。L-精氨酸采用荧光检测, 激发波长和发射波长分别为 340 和 455 nm^[15]。

1.4.7 其他生化指标 按试剂盒说明书检测血清、肝脏和肾脏中 SOD、GSH-Px、CAT、总 NOS (T-NOS) 和 iNOS 活性及血清 GSH 水平。

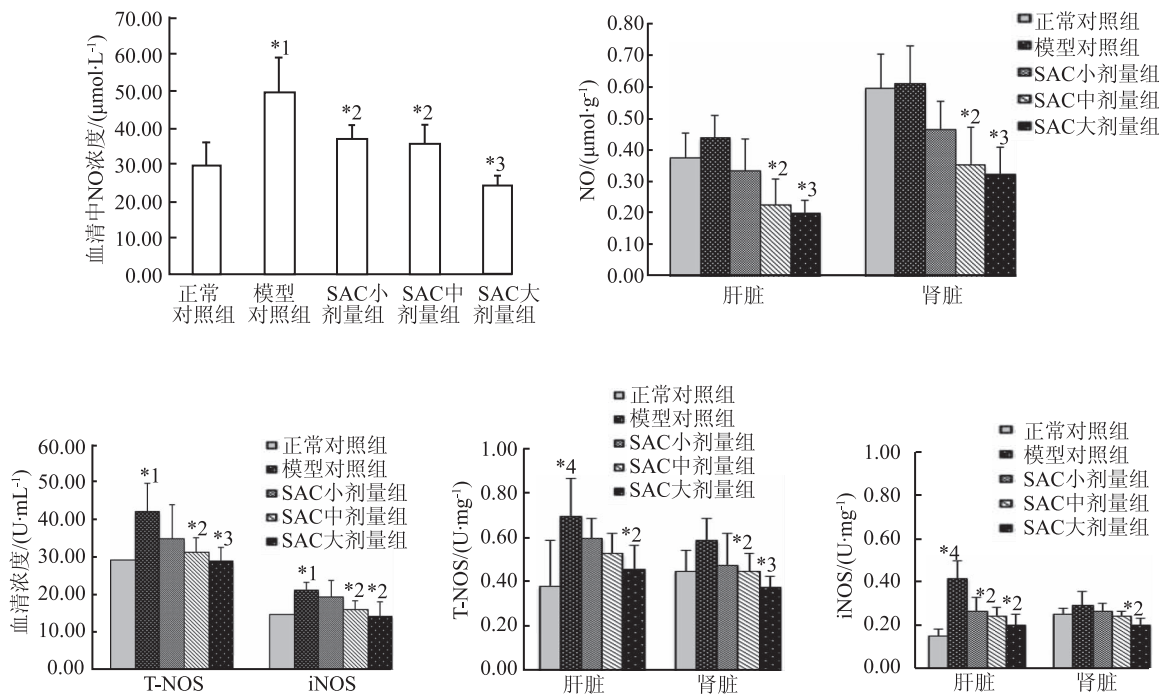
1.4.8 统计学方法 采用 SPSS 20.0 版软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SAC 对在高脂血症大鼠体内 NO 水平、NOS 活性及 L-精氨酸浓度的影响 见图 1。模型对照组大鼠血清、肝脏和肾脏组织中 NO 的浓度比正常对照组分别

增加 63%, 15%, 2%。SAC 中、大剂量组大鼠肝脏中 NO 的浓度分别为 (0.23 ± 0.08), (0.20 ± 0.04) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$; 肾脏中 NO 的浓度分别为 (0.35 ± 0.12), (0.33 ± 0.09) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$, 与模型对照组比较, 均明显下降 ($t = 2.419 \sim 5.445$, 均 $P < 0.05$)。表明高脂血症血清和组织中 NO 的浓度明显增加, 而 SAC 则能降低 NO 的产生。与正常对照组比较, 模型对照组血清、肝脏和肾脏中 T-NOS 和 iNOS 的活性为同步增加; 与模型对照组比较, SAC 小、中、大剂量组组中血清、肝脏、肾脏 T-NOS 和 iNOS 的活性随着药物剂量的升高而逐渐下降。模型对照组血清中 L-精氨酸的浓度为 (10.51 ± 2.00) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 与正常对照组比较, 明显降低; SAC 小、中、大剂量组与模型对照组比较, 血清中 L-精氨酸的浓度显著下降。表明 SAC 能抑制高脂血症大鼠体内 T-NOS 和 iNOS 活性, 并能够降低血清中 L-精氨酸的浓度 (图 2)。

2.2 SAC 对正常大鼠体内 L-精氨酸诱导 NO 浓度和 iNOS 活性的影响 L-精氨酸组大鼠血清、肝脏和肾脏组织中 NO 浓度分别为 (197.00 ± 8.12) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, (0.84 ± 0.09) 和 (0.90 ± 0.15) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。与 L-精氨酸组比较, L-精氨酸 + SAC 组血清、肝脏和肾脏中 NO

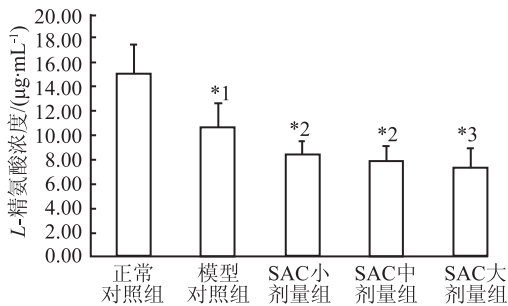


与正常对照组比较, $^*P < 0.01$, $^{*4}P < 0.05$; 与模型对照组比较, $^{*2}P < 0.05$, $^{*3}P < 0.01$

图1 5组大鼠血清、肝脏和肾脏 NO 水平、NOS 活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Compared with normal control group, $^*P < 0.01$, $^{*4}P < 0.05$; compared with model control group, $^{*2}P < 0.05$, $^{*3}P < 0.01$

Fig.1 Comparison of NO level and NOS activity of the serum, liver and kidney among five groups of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)



与正常对照组比较, $^{*1}P < 0.05$; 与模型对照组比较, $^{*2}P < 0.05$, $^{*3}P < 0.01$

图2 5组大鼠血清L-精氨酸浓度比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Compared with normal control group, $^{*1}P < 0.05$; compared with model control group, $^{*2}P < 0.05$, $^{*3}P < 0.01$

Fig. 2 Comparison of the serum concentration of L-arginine among five groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

浓度显著下降(图3)。表明SAC能抑制经L-精氨酸刺激产生的NO浓度。与正常对照组比较,L-精氨酸粗大鼠血清、肝脏和肾脏中T-NOS和iNOS活性同步增加,经SAC治疗后,血清、肝脏和肾脏中T-NOS和iNOS活性同步下降,表明SAC通过抑制T-NOS和iNOS的活性而降低NO浓度。

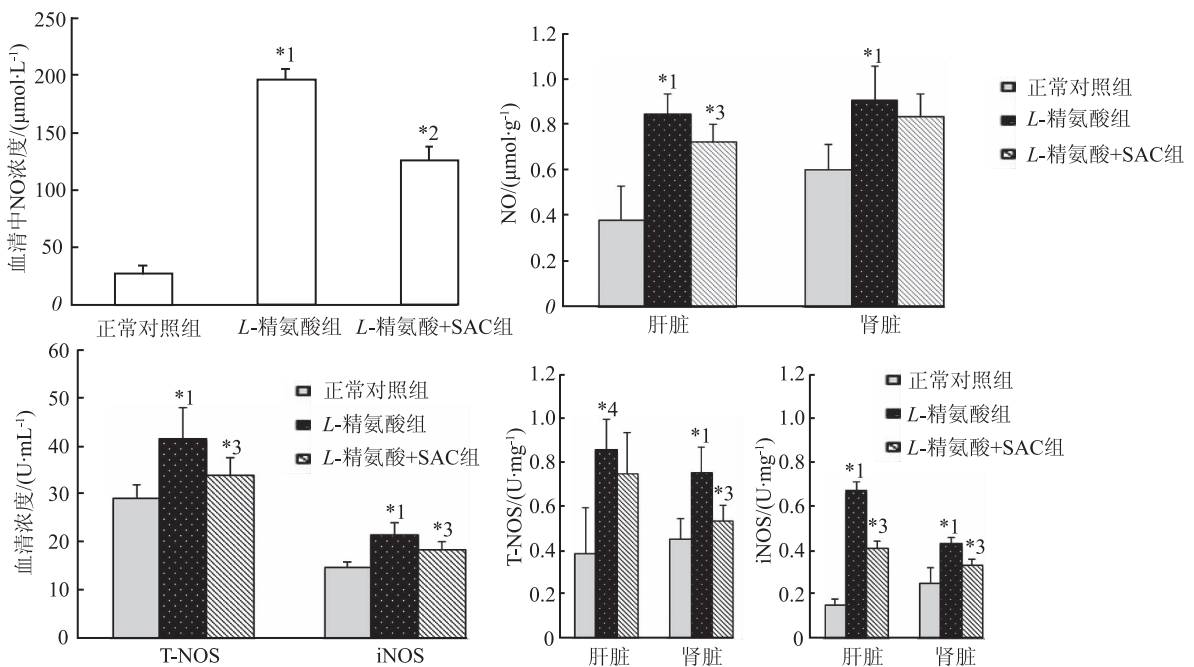
2.3 SOD、CAT和GSH-Px活性及TC、TG、GSH和MDA水平 与正常对照组比较,模型对照组大鼠的血清TC和TG水平分别增加了2.5倍和1.5倍。给予

SAC治疗后血清TC和TG水平呈剂量依赖性降低,且SAC中剂量组和大剂量组中TG水平能趋于正常水平(表1)。与正常对照组比较,模型对照组大鼠MDA水平上升;与模型对照组比较,SAC治疗组血清、肝脏、肾脏的MDA水平显著降低,且呈剂量依赖性。与正常对照组比较,模型对照组中血清、肝脏、肾脏中SOD、CAT活性及GSH含量显著降低,但血清中GSH-Px活性增加(表2,3)。与模型对照组比较,SAC治疗组血清、肝脏、肾脏SOD活性升高,且呈剂量依赖性。

3 讨论

高胆固醇血症与损伤内皮NO产生密切相关,使内皮NOS(eNOS)储量和活性发生改变而导致形成早期的动脉粥样硬化病变^[16]。FERSON等^[17]报道,高胆固醇血症通过促进抑制复合物eNOS与溃疡的形成来降低NO浓度。高脂饮食通过诱导iNOS mRNA在肝脏的表达而增加血浆NO浓度,SAC可抑制由脂多糖和干扰素 γ 刺激RAW264.7细胞中NO的产生。

本研究结果显示,与正常对照组比较,喂养高脂饮食的模型对照组中NO浓度增加,说明高脂饮食能通过上调T-NOS和iNOS活性而增加血清、肝脏和肾脏组织中NO的浓度。而SAC治疗组中NO浓度逐渐下降,说明SAC通过抑制高脂血症大鼠体内T-NOS和iNOS活性而降低血清、肝脏和肾脏组织中NO的浓度。



与正常对照组比较, $^{*1}P < 0.01$, $^{*4}P < 0.05$; 与L-精氨酸组比较, $^{*2}P < 0.01$, $^{*3}P < 0.05$

图3 3组大鼠血清、肝脏和肾脏NO水平、NOS活性比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Compared with normal control group, $^{*1}P < 0.01$, $^{*4}P < 0.05$; compared with L-arginine group, $^{*2}P < 0.01$, $^{*3}P < 0.05$

Fig. 3 Comparison of NO level and NOS activity of the serum, liver and kidney among three groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 1 5 组大鼠血清中 TC、TG、Vc 等浓度与 SOD、CAT、GSH-Px 活性比较

Tab. 1 Comparison of the serum concentration of TC, TG and Vc as well as the activity of SOD, CAT and GSH-Px among five groups of rats

组别	TC	TG	Vc/	MDA/	GSH/	SOD	CAT	GSH-Px/
	mmol·L ⁻¹		(μg·mL ⁻¹)	(μmol·L ⁻¹)	(mg·L ⁻¹)	(U·mL ⁻¹)		(U·mL ⁻¹ ·min ⁻¹)
正常对照组	1.84 ± 0.19	0.88 ± 0.10	3.70 ± 0.34	5.82 ± 0.32	407.03 ± 31.41	263.47 ± 14.49	10.19 ± 1.58	410.48 ± 31.30
模型对照组	4.31 ± 0.84 ^{*1}	1.17 ± 0.17 ^{*1}	3.30 ± 0.48	8.01 ± 0.70 ^{*1}	328.73 ± 31.15 ^{*1}	213.38 ± 27.29 ^{*1}	6.06 ± 1.09 ^{*2}	709.01 ± 45.64 ^{*1}
SAC								
小剂量组	2.79 ± 0.48 ^{*2}	1.05 ± 0.17	4.16 ± 0.11 ^{*2}	6.47 ± 0.61 ^{*2}	379.55 ± 20.18 ^{*2}	239.44 ± 8.74	7.77 ± 2.38	664.75 ± 40.09
中剂量组	2.48 ± 0.28 ^{*2}	0.85 ± 0.14 ^{*2}	4.37 ± 0.21 ^{*2}	5.81 ± 0.51 ^{*2}	400.51 ± 22.33 ^{*2}	250.20 ± 9.08 ^{*3}	8.46 ± 1.86 ^{*3}	632.18 ± 30.75 ^{*2}
大剂量组	2.33 ± 0.22 ^{*2}	0.88 ± 0.16 ^{*3}	4.52 ± 0.32 ^{*2}	5.22 ± 0.46 ^{*2}	417.70 ± 16.70 ^{*2}	263.04 ± 11.06 ^{*2}	8.50 ± 0.92 ^{*3}	663.55 ± 33.94 ^{*2}

与正常对照组比较, ^{*1}*P* < 0.01; 与模型对照组比较, ^{*2}*P* < 0.01, ^{*3}*P* < 0.05Compared with normal control group, ^{*1}*P* < 0.01; compared with model control group, ^{*2}*P* < 0.01, ^{*3}*P* < 0.05

表 2 5 组大鼠肝脏中 MDA、GSH 水平与 SOD、CAT、GSH-Px 活性比较

Tab. 2 Comparison of the level of MDA, GSH and the activity of SOD, CAT and GSH-Px in liver among five groups of rats

组别	MDA/(μmol·g ⁻¹)	GSH/(mg·g ⁻¹)	SOD	GSH-Px	CAT
				(U·mg ⁻¹)	
正常对照组	2.06 ± 0.33	29.94 ± 1.81	273.14 ± 26.16	34.47 ± 4.10	29.84 ± 4.57
模型对照组	3.97 ± 0.55 ^{*1}	20.59 ± 0.46 ^{*1}	185.74 ± 16.50 ^{*1}	25.86 ± 3.33 ^{*1}	21.03 ± 2.63 ^{*1}
SAC					
小剂量组	3.39 ± 0.99	21.06 ± 1.63	192.81 ± 12.67	27.05 ± 2.10	22.27 ± 2.40
中剂量组	2.68 ± 0.26 ^{*2}	25.92 ± 1.39 ^{*2}	208.15 ± 4.92 ^{*3}	28.54 ± 2.84	24.18 ± 1.67
大剂量组	2.28 ± 0.33 ^{*2}	27.82 ± 1.28 ^{*2}	218.76 ± 13.33 ^{*3}	31.79 ± 3.66 ^{*3}	24.37 ± 3.12

与正常对照组比较, ^{*1}*P* < 0.01; 与模型对照组比较, ^{*2}*P* < 0.01, ^{*3}*P* < 0.05Compared with normal control group, ^{*1}*P* < 0.01; compared with model control group, ^{*2}*P* < 0.01, ^{*3}*P* < 0.05

表 3 5 组大鼠肾脏中 MDA、GSH 水平与 SOD、CAT、GSH-Px 活性比较

Tab. 3 Comparison of the level of MDA, GSH and the activity of SOD, CAT and GSH-Px in kidneys among five groups of rats

组别	MDA/	GSH/	SOD	GSH-Px	CAT
	(μmol·g ⁻¹)	(mg·g ⁻¹)		(U·mg ⁻¹)	
正常对照组	1.58 ± 0.22	35.70 ± 4.55	222.88 ± 20.64	27.99 ± 5.73	25.89 ± 4.19
模型对照组	2.03 ± 0.11 ^{*1}	27.91 ± 2.11 ^{*1}	164.33 ± 24.09 ^{*1}	22.30 ± 1.53 ^{*2}	18.22 ± 4.74 ^{*2}
SAC					
小剂量组	1.61 ± 0.37 ^{*3}	24.00 ± 4.14	176.38 ± 31.37	22.54 ± 3.15	21.03 ± 1.68
中剂量组	1.55 ± 0.28 ^{*4}	27.09 ± 4.22	182.68 ± 37.51	22.34 ± 3.68	22.12 ± 4.40
大剂量组	1.46 ± 0.11 ^{*4}	32.93 ± 2.52 ^{*4}	208.46 ± 11.73 ^{*4}	25.86 ± 4.76	23.71 ± 4.83

与正常对照组比较, ^{*1}*P* < 0.01, ^{*2}*P* < 0.05; 与模型对照组比较, ^{*3}*P* < 0.05, ^{*4}*P* < 0.01Compared with normal control group, ^{*1}*P* < 0.01, ^{*2}*P* < 0.05; compared with model control group, ^{*3}*P* < 0.05, ^{*4}*P* < 0.01

前期实验证实 SAC 可以降低高血脂大鼠的 NO 浓度,其机制可能是 SAC 降低 iNOS 的活性和 L-精氨酸的浓度。NO 由 NOS 催化 L-精氨酸末端瓜氨酸的氮原子氧化作用而合成。脂多糖能诱导产生 iNOS,并由此产生大量的 NO。通过检测大鼠血清、肝脏和肾脏中

T-NOS 和 iNOS 活性,以便阐明 SAC 在体内抑制由脂多糖诱导产生 NO 的机制。本研究中, L-精氨酸组经脂多糖诱导后,血清、肝脏以及肾脏中 NO 浓度以及 T-NOS 和 iNOS 活性明显增加,而给予 SAC 治疗后高脂血症大鼠血清 L-精氨酸浓度和 iNOS 活性均有所下

降。提示 SAC 能抑制正常大鼠血清、肝脏和肾脏中由 *L*-精氨酸诱导产生的 NO, 其作用机制可能是降低 T-NOS 和 iNOS 的活性。

抗氧化剂能防止氧化应激和通过清除氧自由基, 保护 NO 并抑制氧化低密度脂蛋白的形成。抗氧化剂同样能增加 eNOS 活性。高胆固醇血症动物模型中 eNOS 的活性受到抑制, 在体内和体外模型中 SAC 均能保护血管内皮细胞和肝细胞免受过氧化氢诱导的损伤, 并显示出较强的抗氧化活性。本研究显示, 模型对照组中高脂血症大鼠血清、肝脏和肾脏中 SOD 的活性和 GSH 的水平有所降低, 而 MDA 的水平明显增加。SAC 治疗组中 SOD 的活性和 GSH 的水平随浓度增高而增加, MDA 水平则逐渐下降。同时, SAC 能增加高脂血症大鼠血清中 Vc 浓度。

防治动脉粥样硬化是防治心脑血管病的根本措施。动脉粥样硬化的发病机制之一是内皮损伤, 必然导致内皮功能失调, 表现为 NO 产生减少。NO 具有重要的生物功能, 包括扩张血管、抗血小板聚集、抑制平滑肌细胞增殖等, 而 NOS 是 NO 产生过程中的限速酶。因此 NOS 的活性及表达量直接影响 NO 的产量, 同时 NO 合成与 NOS 底物 *L*-精氨酸有关。笔者在本研究通过观察 SAC 对 NO 浓度的影响和 NOS 活性的抑制作用以及抗氧化活性, 为阐明 SAC 预防动脉粥样硬化的形成提供了理论依据。

参考文献

- [1] GUTIERREZ-ESCOBAR A J, ARENAS A F, VIALLORIAL-GUERRERO Y, et al. Toxoplasma gondii: molecular cloning and characterization of a nitric oxide synthase-like protein[J]. Exp Parasitol, 2008, 119(3): 358–363.
- [2] HUANG Q, HUANG C, ZHAO Y, et al. LPS-stimulated RAW264.7 macrophage CAT-2-mediated *L*-arginine uptake and nitric oxide biosynthesis is inhibited by omega fatty acid lipid emulsion[J]. J Surg Res, 2013, 179(1): e211–e217.
- [3] LI J, BILLIAR T R. Nitric oxide IV determinants of nitric oxide protection and toxicity in liver[J]. Am J Physiol, 1999, 276(5): G1069–G1073.
- [4] RODRIGUEZ-RAMOS T, CARPIO Y, BOLIVAR J, et al. An inducible nitric oxide synthase (NOS) is expressed in hemocytes of the spiny lobster Panulirus argus: cloning, characterization and expression analysis[J]. Fish Shellfish Immunol, 2010, 29(3): 469–479.
- [5] BULT H. Nitric oxide and atherosclerosis: possible implications for therapy[J]. Mol Med Today, 1996, 2(12): 510–518.
- [6] PERROTTA I, BRUNELLI E, SCIANGULA A, et al. Inducible and endothelial nitric oxide synthase expression in human atherogenesis: an immunohistochemical and ultrastructural study[J]. Cardiovasc Pathol, 2009, 18(6): 361–368.
- [7] BUTTERY L D, SPRINGALL D R, CHESTER A H, et al. Inducible nitric oxide synthase is present within human atherosclerotic lesions and promotes the formation and activity of peroxynitrite[J]. Lab Invest, 1996, 75(1): 77–85.
- [8] KIM J W, KANG K W, OH G T, et al. Induction of hepatic inducible nitric oxide synthase by cholesterol *in vivo* and *in vitro*[J]. Exp Mol Med, 2002, 34(2): 137–144.
- [9] VAN DO VIJVER L P, KARDINAAL A F, GROBBEE D E, et al. Lipoprotein oxidation, antioxidants and cardiovascular risk: epidemiologic evidence[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 1997, 57(4/5): 479–487.
- [10] SARAVANAN G, PONMURUGAN P. Attenuation of streptozotocin-induced alterations in acetylcholinesterase and antioxidant system by *S*-allylcysteine in rats[J]. Food Bioscience, 2013, 4(1): 31–37.
- [11] KIM K M, CHUN S B, KOO M S, et al. Differential regulation of NO availability from macrophages and endothelial cells by the garlic component *S*-allylcysteine[J]. Free Radic Biol Med, 2001, 30(7): 747–756.
- [12] CALAPAI G, CRUPI A, FIRENZUOLI F, et al. Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract in brain ischemia are mediated by inhibition of nitric oxide synthesis[J]. Life Sci, 2000, 67(22): 2673–2683.
- [13] YAGI K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine[J]. Adv Exp Med Biol, 1994, 366(1): 1–15.
- [14] IQBAL Z, MIDGLEY J M, WATSON D G, et al. Effect of oral administration of vitamin C on human aqueous humor ascorbate concentration[J]. Acta Pharmacol Sin, 1999, 20(10): 879–883.
- [15] PI J, KUMAGAI Y, SUN G, et al. Improved method for simultaneous determination of *L*-arginine and its mono- and dimethylated metabolites in biological samples by high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2000, 742(1): 199–203.
- [16] SHARMA S, SINGH M, SHARMA P L. Mechanism of attenuation of diabetes mellitus and hypercholesterolemia induced vascular endothelial dysfunction by protein tyrosine phosphatase inhibition[J]. Vascu Pharmacol, 2011, 54(3/6): 80–87.
- [17] FERSON O, DESSY C, MONIOTTE S, et al. Hypercholesterolemia decreases nitric oxide production by promoting the interaction of caveolin and endothelial nitric oxide synthase[J]. J Clin Invest, 1999, 103(6): 897–905.