

本文引用:秦胜利. 原花青素对大鼠缺血再灌注损伤脑组织中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、丙二醛和过氧化脂质水平的影响[J]. 新乡医学院学报, 2016, 33 (8): 662-663, 667. DOI: 10. 7683/xyxyxb. 2016. 08. 003.

【基础研究】

原花青素对大鼠缺血再灌注损伤脑组织中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、丙二醛和过氧化脂质水平的影响

秦胜利
(焦作市中站区人民医院药剂科, 河南 焦作 454191)

摘要: **目的** 探讨原花青素对大鼠缺血再灌注损伤脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)和过氧化脂质(LPO)水平的影响。**方法** 64只健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠随机分为假手术组、模型组、原花青素高剂量(160 mg · kg⁻¹)组和原花青素低剂量(80 mg · kg⁻¹)组, 每组 16 只。采用改良的 Zea-Longa 线栓法制备大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型, 并对每组大鼠进行相应的干预处理; 比较 4 组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、MDA 和 LPO 水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著降低 ($P < 0.05$), 而 MDA、LPO 水平显著升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 原花青素高、低剂量组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著升高 ($P < 0.05$), 而 MDA、LPO 水平显著降低 ($P < 0.05$)。原花青素高剂量组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著高于原花青素低剂量组 ($P < 0.05$), 而 MDA、LPO 水平显著低于原花青素低剂量组 ($P < 0.05$)。**结论** 原花青素可能通过其抗氧化作用对大鼠脑组织缺血再灌注损伤起到保护作用。

关键词: 原花青素; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; 丙二醛; 过氧化脂质; 大鼠; 脑; 缺血再灌注损伤

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2016)08-0662-03

Effect of proanthocyanidin on the levels of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, malondialdehyde and lipid peroxides in brain tissue of rats with cerebral ischemia reperfusion injury

QIN Sheng-li

(Department of Pharmacy, the People's Hospital of Zhongzhan District of Jiaozuo City, Jiaozuo 454191, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of proanthocyanidin on the levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), malondialdehyde (MDA) and lipid peroxides (LPO) in brain tissue of rats with cerebral ischemia reperfusion injury. **Methods** Sixty-four healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham operation group, model group, high-dose proanthocyanidin group (160 mg · kg⁻¹) and low-dose proanthocyanidin group (80 mg · kg⁻¹), 16 rats in each group. The models of focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats were established by modified Zea-Longa suture method. The rats in the four groups were treated with corresponding intervention. The levels of SOD, GSH-Px, MDA and LPO in brain tissue of rats were detected in the four groups. **Results** The SOD and GSH-Px levels in brain tissue of rats in model group were significantly lower than those in sham operation group ($P < 0.05$), but the MDA and LPO levels in brain tissue of rats in model group were significantly higher than those in sham operation group ($P < 0.05$). The SOD and GSH-Px levels in brain tissue of rats in high- and low-dose proanthocyanidin group were significantly higher than those in model group ($P < 0.05$), but the MDA and LPO levels in brain tissue of rats in high- and low-dose proanthocyanidin group were significantly lower than those in model group ($P < 0.05$). The SOD and GSH-Px levels in brain tissue of rats in high-dose proanthocyanidin group were significantly higher than those in low-dose proanthocyanidin group ($P < 0.05$), but the MDA and LPO levels in brain tissue of rats in high-dose proanthocyanidin group were significantly lower than those in low-dose proanthocyanidin group ($P < 0.05$). **Conclusion** The antioxidant effect of proanthocyanidin may play a protective role in cerebral ischemia reperfusion injury in rats.

Key words: proanthocyanidin; superoxide dismutase; glutathione peroxidase; malondialdehyde; lipid peroxides; cerebral ischemia-reperfusion injury

脑缺血再灌注损伤的发病机制复杂, 影响因素众多, 目前研究较为彻底的是自由基学说、钙超载学说、凋亡学说及炎症反应学说等^[1]。脑缺血再灌注损伤的自由基理论认为, 脑缺血再灌注损伤的发生是因为缺血再灌注后脑组织内大量自由基合成, 而清除机制受到抑制, 进而导致内部自由基大量蓄积, 这

DOI: 10. 7683/xyxyxb. 2016. 08. 003
收稿日期: 2016 - 03 - 07
作者简介: 秦胜利 (1959 -), 男, 河南焦作人, 学士, 主管药师, 研究方向: 药物的临床应用。

些过剩的自由基可能导致脑组织的多种损伤^[2]。因此,关于脑缺血再灌注损伤的保护性药物研究中,抗氧化药物的研究占有相当大的比例。研究证实,原花青素具有抗氧化作用,能够有效清除自由基^[3]。本研究通过检测原花青素干预后大鼠缺血再灌注损伤脑组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和过氧化脂质(lipid peroxides, LPO)水平的变化,探讨原花青素对脑缺血再灌注损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 64 只健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠购自河南省实验动物中心,体质量 279 ~ 356 g。

1.2 主要试剂与仪器 原花青素购自四川普菲德生物科技有限公司, SOD、GSH-Px、MDA 和 LPO 及考马斯亮蓝试剂盒购自南京建成生物工程研究所;全自动生物化学分析仪为德国 Lica 公司产品, 721 型分光光度计为上海第三分析仪器厂产品。

1.3 实验分组及处理 64 只大鼠随机均分为 4 组:假手术组、模型组、原花青素高剂量(160 mg · kg⁻¹)组和原花青素低剂量(80 mg · kg⁻¹)组,每组 16 只。模型组和原花青素高、低剂量组大鼠脑缺血再灌注损伤模型的制备采用改良的 Zea-Longa 线栓法^[4],其中缺血 2 h、再灌注 24 h;假手术组大鼠仅常规切开颈部皮肤,分离出颈总动脉,并穿手术线,但不结扎动脉。各组大鼠均于术前 30 min 和再灌注后 2 h

表 1 4 组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、MDA 和 LPO 水平比较

Tab. 1 Comparison of the levels of SOD, GSH-Px, MDA and LPO in brain tissue of rats in the four groups					
(x̄ ± s)					
组别	n	SOD/(kU · g ⁻¹)	GSH-Px/(kU · g ⁻¹)	MDA/(μmol · g ⁻¹)	LPO/(μmol · g ⁻¹)
假手术组	16	180.31 ± 31.59	45.38 ± 10.22	3.45 ± 0.70	5.67 ± 1.42
模型组	16	66.39 ± 12.05 ^a	23.64 ± 7.89 ^a	10.37 ± 1.56 ^a	20.26 ± 5.74 ^a
原花青素高剂量组	16	145.94 ± 28.30 ^b	35.67 ± 10.53 ^b	4.76 ± 1.15 ^b	13.45 ± 3.89 ^b
原花青素低剂量组	16	119.67 ± 20.62 ^{bc}	31.66 ± 8.46 ^c	6.03 ± 1.45 ^{bc}	16.22 ± 4.36 ^{bc}
F		89.347	31.298	22.651	25.314
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与假手术组比较^aP < 0.05;与模型组比较^bP < 0.05;与原花青素高剂量组比较^cP < 0.05。

3 讨论

脑缺血再灌注损伤是由于颅脑外伤、脑部手术、脑梗死血管再通后,组织损伤程度不但未减轻,反而加重的一种病理生理现象^[5]。研究证实,脑缺血再灌注损伤的发生与脑组织内过剩的自由基以及所发生的脂质过氧化关系密切,且存在自由基清除能力降低和脂质过氧化过度的现象^[6-7];提示具有清除自由基能力的药物可能具有保护脑缺血再灌注损伤脑组织的作用。

进行相应处理,原花青素高、低剂量组大鼠给予相应浓度的原花青素溶液,假手术组和模型组大鼠给予相应体积的生理盐水,均采取腹腔注射的方式给药。

1.4 大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、MDA 和 LPO 水平检测 各组大鼠均于再灌注 24 h 后取出右侧大脑皮质,生理盐水冲洗,滤纸吸干脑组织表面水分,称取 1 g 脑组织,制成生理盐水脑组织匀浆,4 ℃ 4 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,按照试剂盒说明采用黄嘌呤氧化酶法检测 SOD 水平,钼酸铵法检测 GSH-Px 水平,硫代戊巴比妥法检测 MDA 和 LPO 水平,考马斯亮蓝法检测总蛋白量。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件处理数据, SOD、GSH-Px、MDA 和 LPO 水平等计量资料以均数 ± 标准差(x̄ ± s)表示,采用单因素方差分析和 LSD-*t* 检验,检验水准 α = 0.05。

2 结果

各组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、MDA 和 LPO 水平见表 1。与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著降低,而 MDA、LPO 水平显著升高,差异均有统计学意义(P < 0.05)。与模型组比较,原花青素高、低剂量组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著升高,而 MDA、LPO 水平显著降低,差异均有统计学意义(P < 0.05)。原花青素高剂量组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著高于原花青素低剂量组,而 MDA、LPO 水平显著低于原花青素低剂量组,差异均有统计学意义(P < 0.05)。

原花青素属于生物类黄酮,具有较强的清除自由基、抗氧化和抑制脂质过氧化的能力,清除自由基的能力是维生素 E 的数十倍,是目前已知最强氧自由基清除剂和脂质过氧化抑制剂之一^[8]。为探讨原花青素对脑缺血再灌注损伤脑组织的保护作用,本研究检测各组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、MDA 和 LPO 水平,其中 SOD、GSH-Px 水平反映脑组织的清除自由基能力,MDA、LPO 水平反映脑组织的脂质过氧化程度^[9-11]。本研究结果显示,与假手术组

(下转第 667 页)

ure in cholangitis with bacteriobilia[J]. *World J Gastroenterol*, 2015,21(24):7506-7513.

[14] NAKANISHI Y,SAXENA R. Pathophysiology and diseases of the proximal pathways of the biliary system[J]. *Arch Pathol Lab Med*,2015,139(7):858-866.

[15] LEONHARDT S,VELTZKE-SCHLIEKER W,ADLER A,*et al.* Trigger mechanisms of secondary sclerosing cholangitis in critically ill patients[J]. *Crit Care*,2015,19(1):131.

[16] SASAKI H,TANAKA H,NIO M. Surgical and long-term problems in biliary atresia[J]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi*,2014,115(6):317-322.

[17] ALI A H,CAREY E J,LINDOR K D. Current research on the treatment of primary sclerosing cholangitis[J]. *Intractable Rare Dis Res*,2015,4(1):1-6.

[18] TOPDAGI O,OKCU N,BILEN N. The frequency of complications and the etiology of disease in patients with liver cirrhosis in Erzurum[J]. *Eurasian J Med*,2014,46(2):110-114.

[19] ZHAO L,HOSSEINI M,WILCOX R,*et al.* Segmental cholangiectasia clinically worrisome for cholangiocarcinoma:comparison with recurrent pyogenic cholangitis[J]. *Hum Pathol*,2015,46(3):426-433.

[20] JOOSSE M E,SCHIPPER M E,LIBBRECHT L,*et al.* Recurrent cholangitis in a 65-year-old man. Biliary papillomatosis[J]. *Gut*,2015,64(6):883,910.

[21] KIKUCHI H,AOYAGI M,NAGAHAMA K,*et al.* IgA-dominant postinfectious glomerulonephritis associated with Escherichia coli infection caused by cholangitis[J]. *Intern Med*,2014,53(22):2619-2624.

[22] MAEKAWA Y,ABE S,YOSHIMURA Y,*et al.* Clinical characteristics of biliary tract infection and acalculous cholecystitis after cardiovascular surgery[J]. *Kyobu Geka*,2014,67(12):1039-1043.

(本文编辑:孟 月 英文编辑:孟 月)

(上接第 663 页)

比较,模型组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著降低,而 MDA、LPO 水平显著升高,提示模型制备成功,且缺血再灌注损伤脑组织存在自由基过剩的现象;与模型组比较,原花青素高、低剂量组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著升高,而 MDA、LPO 水平显著降低,提示原花青素能够改善大鼠缺血再灌注损伤脑组织的自由基过剩和脂质过氧化现象;原花青素高剂量组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 水平显著高于原花青素低剂量组,而 MDA、LPO 水平显著低于原花青素低剂量组,提示高剂量原花青素的抗氧化作用比低剂量原花青素更强,原花青素的这种抗氧化作用可能具有剂量依赖性。

综上所述,原花青素对大鼠缺血再灌注损伤脑组织具有抗氧化作用,可能通过该途径对大鼠脑组织缺血再灌注损伤起到保护作用,且这种作用在一定剂量范围内可能具有剂量依赖性。

参考文献:

[1] WHITE B C,GROSSMAN L I,O'NEIL B J,*et al.* Global brain ischemia and reperfusion[J]. *Ann Emerg Med*,1996,27(5):588-594.

[2] SANDERSON T H,REYNOLDS C A,KUMAR R,*et al.* Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain:pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species

generation[J]. *Mol Neurobiol*,2013,47(1):9-23.

[3] 高璐,王滢,饶胜其,等. 葡萄籽原花青素提取物对衰老模型小鼠抗氧化作用[J]. *食品科学*,2014,35(23):253-256.

[4] 苏建华,陈玉芳,丁新生,等. 甲钴胺对脑缺血再灌注损伤大鼠细胞凋亡及细胞色素 C 表达的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*,2015,17(11):1193-1196.

[5] 张好,陈娟,韩艳艳,等. 腺苷预处理对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织中低氧诱导因子-1 α 表达的影响[J]. *新乡医学院学报*,2014,31(4):272-274,277.

[6] KALOGERIS T,BAO Y,KORTHUIS R J. Mitochondrial reactive oxygen species:a double edged sword in ischemia/reperfusion *vs* preconditioning[J]. *Redox Biol*,2014,2:702-714.

[7] 吕静,姜慧萍,王腾飞,等. 脑缺血再灌注损伤主要发病机制的研究进展[J]. *滨州医学院学报*,2015,38(4):291-293.

[8] 黄晓辉,茹晶晶,罗五魁,等. 葡萄籽中原花青素的抗氧化性能的研究[J]. *宁德师范学院学报(自然科学版)*,2015,27(2):136-139.

[9] 郭俊国,赵晴,王兴荣,等. 六锐胶囊对葡萄膜炎大鼠血清 SOD、MDA 和 NT-3 含量的影响[J]. *眼科新进展*,2016,36(4):334-335,344.

[10] 邱咏园,唐映红,王蓓,等. 黄芪和三七 4 种有效成分配伍对小鼠脑缺血再灌注早期抗氧化应激物质活性的影响[J]. *中华中医药杂志*,2014,29(6):1940-1943.

[11] 赵林静,白瑞樱,陈正跃,等. 脂联素后处理对 3 周龄大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中华实用儿科临床杂志*,2015,30(9):718-720.

(本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超)