

Protective Effect of Nitric Oxide and Natural Antioxidants on Stability of Blood Vessel

Mingjing Gao, Junjing Zhang, Baolu Zhao*

Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing
Email: *zhaobl@sun5.ibp.ac.cn

Received: Jan. 27th, 2016; accepted: Feb. 22nd, 2016; published: Feb. 25th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

The protective effects of a formula of nitric oxide and natural antioxidants on increases of blood lipid, and glucose of kkey mouse and blood pressure of rat caused by higher lipid food were studied. It was found that higher lipid food and gene caused significant increase body weight, liver weight and blood lipid and blood glucose of kkey mouse, while the formula of nitric oxide and natural antioxidants could decrease the increases of body weight (about 9% and 12.5% for low and high doses respectively), liver weight/body weight (about 17.8% and 20.2% for low and high doses respectively), cholesterol (about 11.0% and 15.6% for low and high doses respectively), triglyceride (about 29.8% and 35.5% for low and high doses respectively), low density lipid protein (about 24.6% and 25.4% for low and high doses respectively), however increase the high density lipid protein (about 4.8% and 18.9% for low and high doses respectively). The formula also could decrease the increases of fasting blood glucose (about 36.2% and 44.1% for low and high doses respectively), random blood glucose (about 47.6% and 56.7% for low and high doses respectively) and 2-hour blood glucose (about 33.1% and 44.1% for low and high doses respectively). It was also found that higher lipid food caused significant increase of blood pressure of rats about 73% and that the formula could decrease the blood pressure about 12% and 18% for low and high doses respectively. Further study found that the formula could scavenge hydroxyl and superoxide free radicals. It suggests that the formula of nitric oxide and natural antioxidants can protect blood vessel against the damage caused by higher lipid food and genetic factors through scavenging oxygen free radicals.

Keywords

Nitric Oxide, Natural Antioxidants, Blood Lipids, Blood Glucose, Blood Pressure

*通讯作者。

一氧化氮和天然抗氧化剂对血管稳定性的调节和保护作用

高明景, 张俊静, 赵保路*

中国科学院生物物理研究所, 北京

Email: *zhaobl@sun5.ibp.ac.cn

收稿日期: 2016年1月27日; 录用日期: 2016年2月22日; 发布日期: 2016年2月25日

摘要

本文研究了一个一氧化氮和天然抗氧化剂合理搭配组合对kkay小鼠血脂和血糖及大鼠血压的调节和保护作用。结果发现, 喂食高脂饲料导致易肥胖kkay小鼠体重增加、肝脏增生、血脂四项显著增加和血糖的大幅度升高, 而灌胃一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合后可以显著减少由高脂饲料引起的kkay小鼠体重的增加(低剂量和高剂量分别减少大约9%和12.5%), 明显降低高脂引起的肝脏系数增加(低剂量和高剂量分别降低17.8%和20.2%), 明显降低总胆固醇的含量(低剂量和高剂量分别降低11.0%和15.6%), 显著降低甘油三酯的含量(低剂量和高剂量分别减少29.8%和35.5%), 显著降低低密度脂蛋白(低剂量和高剂量分别减少24.6%和25.4%), 但却升高高密度脂蛋白(低剂量和高剂量分别升高4.8%和18.9%)。灌胃一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合后, 可以显著降低kkay小鼠的空腹血糖(低剂量和高剂量分别降低36.2%和44.1%)、随机血糖(低剂量和高剂量分别降低47.6%和56.7%)、和餐后2小时血糖(低剂量和高剂量分别降低33.1%和44.1%); 喂养高脂饲料诱导了大鼠的收缩压大幅度升高大约73%, 灌胃搭配组合后一个月, 低剂量和高剂量可以分别显著降低大鼠的血压大约12%和18%。进一步研究发现, 这个组合对羟基和超氧阴离子自由基有明显清除作用, 说明一氧化氮和天然抗氧化剂合理搭配组合可能是通过清除氧自由基防止高脂饮食和基因引起的血管损伤, 对血管起调节和保护作用。

关键词

一氧化氮, 天然抗氧化剂, 血脂, 血糖, 血压

1. 引言

心脑血管疾病严重影响着我国人民的健康水平, 特别是中老年人群的健康, 是目前一个重大社会医疗和健康问题。我国患有心脏病, 中风, 以及高血脂、高血糖和高血压的人群大约有 2 亿多人, 心脑血管疾病的发病率和死亡率都远居榜首[1]。探讨心脑血管疾病的发病机理, 避免和减少心脑血管疾病的风险, 预防和治疗心脑血管疾病, 研发安全、有效的健康产品和药物, 供广大人群应用, 促进我国人民心脑血管健康水平是非常急迫的任务。

心脑血管是一个相互依赖的统一系统, 如果血管出现问题, 必然会影响心脏和脑, 心脏出现问题, 也必然影响血流和脑, 同样, 脑出现问题也必然影响心脏和血流。在这一系统中, 血管是向心脏和脑乃至全身提供血液的连接器官, 如果血管出现问题, 就会影响向心脏和脑乃至全身血液供应, 导致营养和氧气供应不足或者过量, 进而产生一系列问题。而由三高(高血脂、高血压和高血糖)引起的冠状动脉粥样硬化是造成血管损伤的关键因素, 产生冠状动脉粥样硬化的一个极为重要的因素是自由基氧化血脂中

的低密度脂蛋白造成的[2]。

一氧化氮是内皮细胞松弛因子，在血压的调节和心血管的健康中发挥着重要作用。如果发生心肌缺血，血管就会增加一氧化氮产生，松弛血管，增加血流量，保证心肌的供血[3]。但是，心肌缺血再灌注会同时产生氧自由基，一氧化氮就会与之反应生成过氧亚硝基，导致心肌细胞更严重的损伤。我们在研究利用天然抗氧化剂保护心肌和脑组织缺血再灌注损伤时，发现天然抗氧化剂可以清除缺血再灌注损伤时产生的氧自由基，调节和促进一氧化氮自由基产生，保护心肌和脑组织，防止缺血再灌注损伤[4] [5]。而且，天然抗氧化剂可以降低氧化应激引起的血脂和血糖的升高[6] [7]。经过试验，我们对一氧化氮和天然抗氧化剂进行了合理的搭配，形成了一个一氧化氮和天然抗氧化剂的合理搭配组合，并发现在细胞体系和动物组织体系中，该组合既可以产生一定量的的一氧化氮，又可以清除氧自由基保护细胞和组织，防止氧化应激和缺血再灌注引起的损伤[8]。

本文研究了这一个氧化氮和天然抗氧化剂合理的搭配组合对kkay小鼠血脂、血糖和大鼠血压的影响，发现这个搭配组合可能是通过清除氧自由基减少血管损伤和保护血管的。

2. 材料和方法

2.1. 材料

L-精氨酸，黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶、DMPO 购自 Sigma Chemical 公司。山楂提取物、知母提取物和虾青素购自西安清乐生物科技有限公司。

2.2. 仪器

ESR 波谱仪(Bruker 200 D-SRC 德国),无创血压仪 BP98-RCP-S 型(北京吉安得尔科技有限公司),1920 血糖仪(ARKRAY Factory, Shiga, Japan)。

2.3. 动物

2.3.1. 动物和喂养

8 周龄 kkay、C57BL/6J 小鼠和雄性 4 周龄 SD 大鼠(体重 180~200 g)购自维通利华公司(北京)。适应性喂养 7 天，一组喂食基础生长饲料，一组喂食高脂饲料(15% 饱和脂肪酸，1% 胆固醇，84% 基础生长饲料)。各组动物饲养在清华大学动物房，SPF (无特异病原微生物)环境下，室温为 20℃~26℃，湿度 40%~70%，14/10 小时的昼夜循环，自由饮食和饮水。

2.3.2. 高血脂和血糖模型的建立

利用 kkay 小鼠建立高血脂和高血糖模型，随机分为 2 组，一组喂食基础生长饲料，一组喂食高脂饲料。30 天后称重，把喂食高脂饲料与喂食基础生长饲料体重有显著差异，作为判断肥胖模型的建立[6] [7]。将确认的 18 只 kkay 小鼠肥胖随机分为：高脂饲料+双蒸水组；高脂饲料+一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合低剂量组(低剂量：2 mg/10 g/day)，高脂饲料+高剂量一氧化氮和天然抗氧化剂组(高剂量：8 mg/10 g/day)；同时将基础饲料喂养同龄 C57BL/6J 小鼠 6 只(基础饲料+双蒸水组)作为正常对照(对照组)，每日测量动物饮食重量和体重。给药一个月，用乌拉坦麻醉动物，空腹取肝，称取肝脏重量，计算脏体比，取血，用于血脂和血糖测试。

2.4. 血脂四项的测定

动物血清血脂四项的检测按照文献的方法并稍微改进[7]，用分光光度计法分析和定量样品甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白含量，实验由清华大学医院测定。

2.5. 血糖的测定

空腹血糖、随机血糖、餐后 2 小时血糖和糖耐量测定按照文献的方法并稍微改进[6]，实验由清华大学医院测定，利用快速血糖仪京都 1920 血糖仪测定。

2.6. 高血压模型的建立和测定

SD 大鼠(日龄体重大小均一)在喂食基础生长饲料适应环境 7 天后，随机分为两组(期间大鼠测一次尾动脉收缩压，每个时点测 3 次，取平均值血压)。7~67 天：一组 8 只喂食基础生长饲料，一组 24 只喂食高脂饲料。60 天后测尾动脉收缩压，判断高血压模型的建立，标准为血压 > 120 mmHg。67~97 天：高脂组随机分为 3 组，模型组和两个给药组(高剂量组 400 mg/kg 制剂、低剂量组 100 mg/kg 制剂)，每组 8 只，每笼 2 只，每天灌胃，第 4、8、10、12 周末时，在干燥、通风、安静的环境中，将大鼠置于恒温加热箱中预热 10~15 min 后，利用动物无创血压仪测试，取尾动脉收缩压。

2.7. 对超氧阴离子自由基的清除作用的测定

利用黄嘌呤(10 mmol/L)/黄嘌呤氧化酶(0.1 U/L)产生超氧阴离子自由基，将自旋捕捉剂 DMPO (100 mmol/L)和不同浓度样品或蒸馏水，迅速混匀，吸入石英毛细管中，描记 ESR 波谱。ESR 测试条件：X 波段，微波功率 20 mW，调制频率 100 kHz，调幅 0.1 mT，中心磁场 324.5 mT，室温下检测[9]。用波谱信号第一峰的峰对峰高度 h (mm)表示自由基的相对浓度按下式计算清除率。

$$\text{清除率(\%)} = \frac{[\text{样品峰高} - \text{对照峰高}]}{\text{对照峰高}} \times 100\%$$

2.8. 对羟基自由基的清除作用的测定

利用 Fenton 反应产生羟基自由基，将 DMPO 捕捉剂，硫酸亚铁(25 mmol/L)、H₂O₂ (0.1%)和不同浓度的样品，迅速混匀，吸入石英毛细管中，反应 1 min 时描记 ESR 波谱。ESR 测试条件、测量和计算清除率同上[9]。

2.9. 统计分析

采用 T 检验，两两比较，数据结果以 $\bar{x} \pm SE$ 表示，用 t 检验对数据进行分析， $P < 0.05$ 定义为有显著统计差异。

3. 结果

3.1. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对体重、肝重和血脂四项的影响

血脂分析对于心血管病的危险评估和防治具有重要意义，除了测量体重和肝重外，我们对 kKay 小鼠进行了血脂四项的测试，结果如图 1~图 6 所示。喂食高脂饲料导致易肥胖 kKay 小鼠体重显著增加，而灌胃一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合后可以显著减少由高脂饲料引起的 kKay 小鼠体重的增加(图 1)(低剂量和高剂量分别减少 9%和 12.5%)，明显降低高脂引起的肝脏增生(图 2)(肝脏系数低剂量和高剂量分别减少 17.8%和 20.2%)。一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合能明显降低总胆固醇含量(图 3)(低剂量和高剂量分别减少 11.0%和 15.6%)，显著降低甘油三酯含量(图 4)(低剂量和高剂量分别减少 29.8%和 35.5%)，还能显著降低低密度脂蛋白(图 5)(低剂量和高剂量分别减少 24.6%和 25.4%)，但却升高高密度脂蛋白(图 6)(低剂量和高剂量分别升高 4.8%和 18.9%)。这些结果表明这个搭配组合可以降低高脂食物喂养引起 kKay 小鼠血脂四项的升高。一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对基础饲料喂养 C57BL/6J 小鼠的血脂四项没有明显影响。

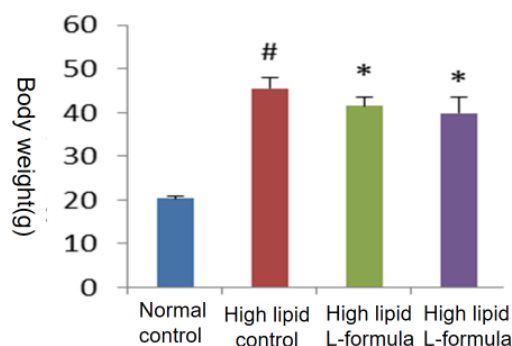


Figure 1. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on body weight of kkey mouse fed with high lipid food. [#] $p < 0.05$ vs control, ^{*} $p < 0.05$ vs high lipid control

图 1. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kkey 小鼠体重升高有明显降低作用。[#] $p < 0.05$ 与对照组比较, ^{*} $p < 0.05$ 与高脂肪食物组比较

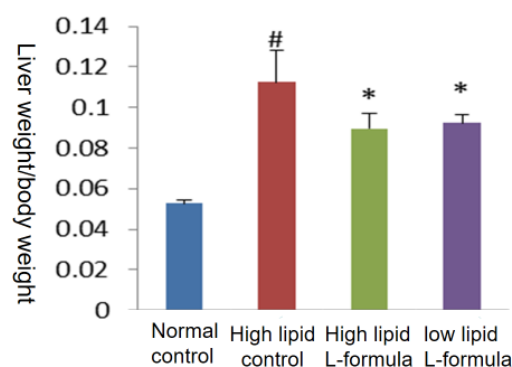


Figure 2. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on liver weight/body weight of kkey mouse fed with high lipid food. [#] $p < 0.05$ vs control, ^{*} $p < 0.05$ vs high lipid control

图 2. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kkey 小鼠脏脏系数升高有明显降低作用。[#] $p < 0.05$ 与对照组比较, ^{*} $p < 0.05$ 与高脂肪食物组比较

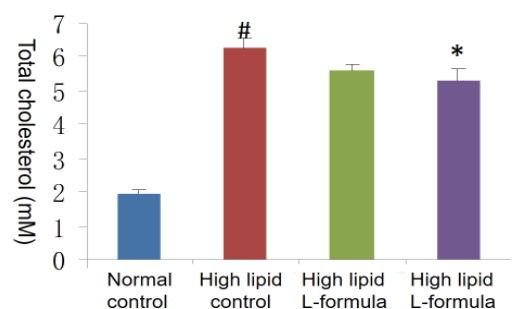


Figure 3. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on total cholesterol of kkey mouse fed with high lipid food. [#] $p < 0.05$ vs control, ^{*} $p < 0.05$ vs high lipid control

图 3. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kkey 小鼠总胆固醇水平升高的降低作用。[#] $p < 0.05$ 与对照组比较, ^{*} $p < 0.05$ 与高脂肪食物组比较

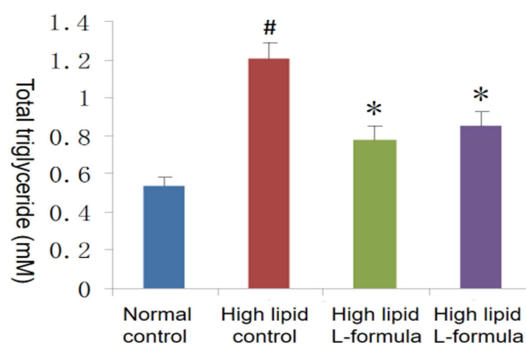


Figure 4. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on triglyceride of kKay mouse fed with high lipid food. [#]p < 0.05 vs control, ^{*}p < 0.05 vs high lipid control

图 4. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kKay 小鼠甘油三酯水平升高的降低作用。[#]p < 0.05 与对照组比较, ^{*}p < 0.05 与高脂肪食物组比较

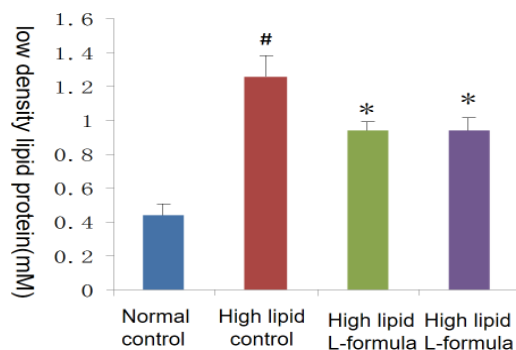


Figure 5. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on low density lipid proteins of kKay mouse fed with high lipid food. [#]p < 0.05 vs control, ^{*}p < 0.05 vs high lipid control

图 5. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kKay 小鼠低密度脂蛋白水平升高的降低作用。[#]p < 0.05 与对照组比较, ^{*}p < 0.05 与高脂肪食物组比较

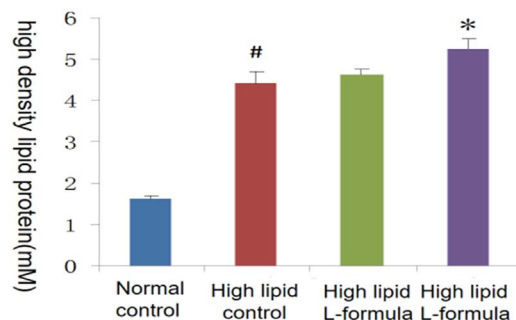


Figure 6. Increase effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on high density lipid proteins of kKay mouse fed with high lipid food. [#]p < 0.05 vs control, ^{*}p < 0.05 vs high lipid control

图 6. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kKay 小鼠高密度脂蛋白水平降低的升高作用。[#]p < 0.05 与对照组比较, ^{*}p < 0.05 与高脂肪食物组比较

3.2. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合降血糖影响

一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂饲料喂养诱导易患二型糖尿病 kKay 小鼠血糖的测试结果如图 7~图 9 所示。由图可以看出, 高脂饲料喂养诱导了易患二型糖尿病 kKay 小鼠血糖的显著大幅度升高, 灌胃一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合后, 可以显著降低 kKay 小鼠的空腹血糖(低剂量和高剂量分别降低 36.2% 和 44.1%, 图 7)、随机血糖(低剂量和高剂量分别降低 47.6% 和 56.7%, 图 8)、和餐后 2-小时血糖(低剂量和高剂量分别降低 33.1% 和 44.1%, 图 9)。糖耐量受损是 2 型糖尿病的前期必然阶段, 测量结果还显示高脂诱导的 kKay 小鼠糖耐量受损, 调节血糖的能力降低, 指示胰岛素抵抗, 而给予一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合后的 kKay 小鼠糖耐量受损明显减轻。一氧化氮和天然抗氧化剂的合理搭配对基础饲料喂养 C57BL/6J 小鼠的血糖没有明显影响。

3.3. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合的降血压影响

喂食一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对血压作用的测试结果如图 10 所示。喂食高脂饲料, 诱导了

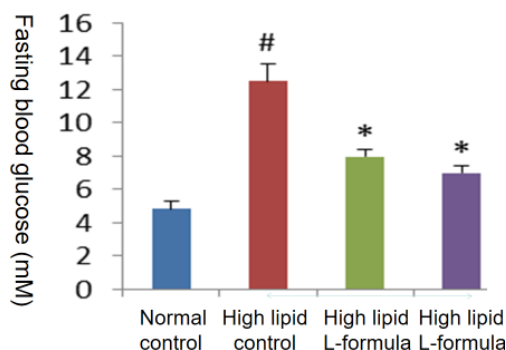


Figure 7. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on fasting blood glucose of kKay mouse fed with high lipid food. # $p < 0.05$ vs control, * $p < 0.05$ vs high lipid control

图 7. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kKay 小鼠空腹血糖水平升高的降低作用。# $p < 0.05$ 与对照组比较, * $p < 0.05$ 与糖尿病组比较

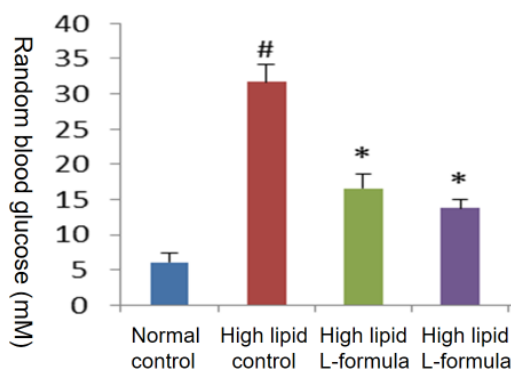


Figure 8. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on random blood glucose of kKay mouse feed with high lipid food. # $p < 0.05$ vs control, * $p < 0.05$ vs high lipid control

图 8. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kKay 小鼠随机血糖水平升高的降低作用。# $p < 0.05$ 与对照组比较, * $p < 0.05$ 与糖尿病组比较

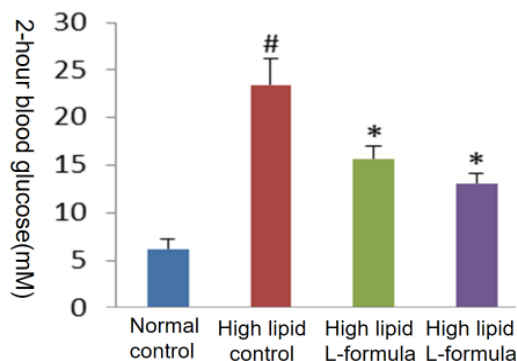


Figure 9. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on 2-hour blood glucose of kKay mouse fed with high lipid food. [#] $p < 0.05$ vs control, ^{*} $p < 0.05$ vs high lipid control

图 9. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导 kKay 小鼠餐后 2 小时血糖水平升高的降低作用。[#] $p < 0.05$ 与对照组比较, ^{*} $p < 0.05$ 与糖尿病组比较

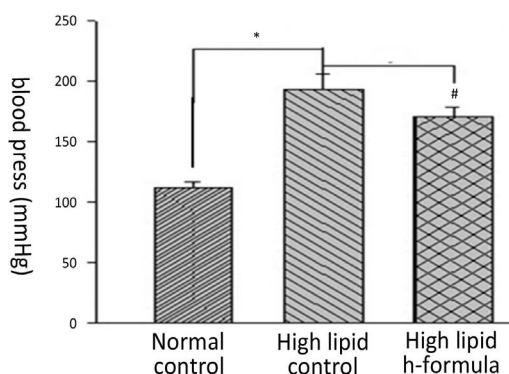


Figure 10. Reduction effect of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on blood press of SD rats fed with high lipid food. [#] $p < 0.05$ vs control, ^{*} $p < 0.05$ vs high lipid control

图 10. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对高脂食物诱导大鼠血压升高的降低作用。[#] $p < 0.05$ 与对照组比较, ^{*} $p < 0.05$ 与糖尿病组比较

大鼠收缩压大幅度升高(大约 73%), 灌胃一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合后一个月, 可以显著降低大鼠的血压(低剂量和高剂量分别降低大约 12% 和 18%)。而且喂食高脂的大鼠体重比对照组也明显增加(由 15.7 g 增加到 21.9 g), 喂食一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合, 低剂量和高剂量组明显使体重分别降低 8% 和 15.5%。一氧化氮和天然抗氧化剂的合理搭配对基础饲料喂养大鼠的血压没有明显影响。

3.4. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对氧自由基的清除作用

为了探讨一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合减少高脂饲料引起动物体重的增加、血脂、血糖和血压升的机理, 我们测试了一氧化氮和天然抗氧化剂组合对羟基和超氧阴离子自由基的清除作用。试验结果表明, 一氧化氮和天然抗氧化剂合理的搭配组合对 Fenton 反应产生羟基自由基的清除作用是很强的, 清除率达 50% 的浓度为 $V50 = 0.55 \mu\text{g/ml}$ (图 11(a)); 对黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶系产生超氧阴离子自由基也很强, 清除率达 50% 的浓度为 $V50 = 7.15 \mu\text{g/ml}$ (图 11(b))。另外, 我们以前的研究表明, 这个组合可以明显提高一氧化氮的产生能力[8]。

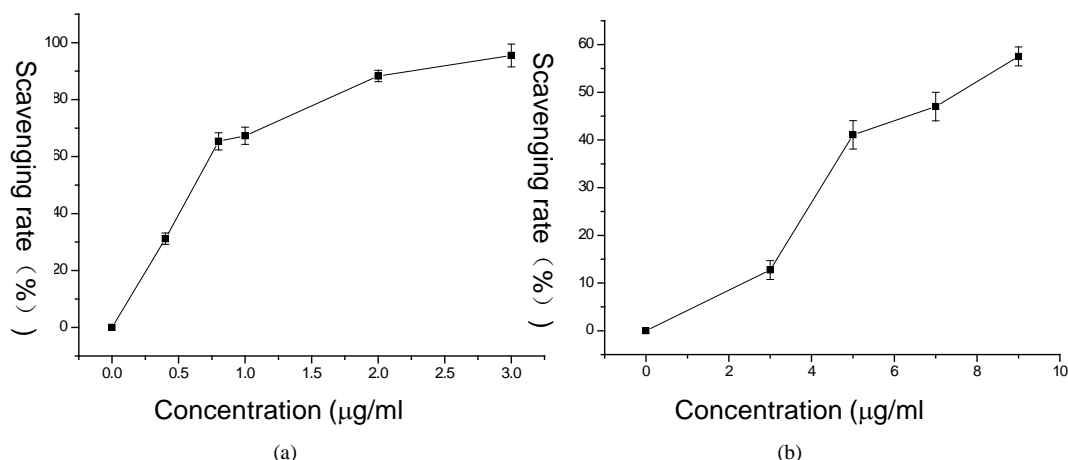


Figure 11. Scavenging effects of suitable formula of nitric oxide and natural antioxidants on free radicals. (a) hydroxyl free radical, (b) super oxide free radical

图 11. 一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对自由基的清除作用。(a) 对羟基自由基的清除作用, (b) 对超氧阴离子自由基的清除作用

4. 结论

通过动物模型实验,可以看出高脂饲料引起动物体重的增加,血脂、血糖和血压的明显升高。一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合喂养一个月后,能够明显减少高脂饲料引起动物体重的增加、血脂、血糖和血压升高。不仅如此,试验表明一氧化氮和天然抗氧化剂搭配组合对羟基、超氧阴离子自由基也具有很强的清除作用。

5. 讨论

代谢综合征是高血压、血糖异常、血脂紊乱和肥胖症等多种疾病在人体内集结的一种状态,严重时可以直接导致心血管疾病的发生,并造成死亡,被称为 21 世纪主要健康杀手。高体重、高血压、高血脂、高血糖、高脂肪酸、高尿酸、高血粘、高胰岛素抗体,这八高若有其中两高,就可以称为代谢综合征。美国 20 岁以上成年人代谢综合征的发生率为 24%,其中包括 60%的肥胖患者[10] [12]。而据中华医学会糖尿病学会的调查,目前在中国城市 20 岁以上的人群中,代谢综合征的患病率为 14%~16%。代谢综合征随着年龄的增高而增加,在 50 至 70 岁人群中达到发病高峰,其中女性患者多于男性。据预计,患有代谢综合征的病人,在未来 7 年里,每 8 个人就会有 1 人因代谢综合征死亡,其中因糖尿病导致的心血管疾病发生数量是血糖正常者的 4.5 倍[12] [13]。

一氧化氮是一种无色气体,是一种典型的小分子气体自由基。八十年代中期开始,一氧化氮的生物功能才开始逐渐被认识。一氧化氮在生物体内承担着重要的生物功能,作为内皮细胞松弛因子舒张血管调节血压[5] [14]。在体内一氧化氮由一氧化氮合酶催化 L-精氨酸产生。

山楂的果实、叶子、花都入药,包含多种化学成分,如黄酮类物质,原花青素类,有机酸类,三萜酸类,甾酮类等。山楂提取物可以治疗早期充血性心衰,心绞痛,心律不齐,高血压,高脂血症等。现在药理试验表明,山楂提取物可能通过抑制磷酸二酯酶活性,增加冠状动脉血流量和心脏的血液输出,减少心脏的耗氧量,保护心脏免受缺血再灌注损伤[5] [15]。

虾青素属类胡萝卜素,是存在于鱼、虾和藻类中的一种强抗氧化剂,其抗氧化活性大于 beta-胡萝卜素和维生素 E 很多倍[16]。近年对虾青素功能的研究对其生物活性有了更多的认识。体外实验显示,在神经细胞模型中,虾青素可以降低 6-羟基多巴胺诱导的氧化应激、线粒体损伤和细胞凋亡。在大脑缺血

动物模型中, 虾青素通过抑制氧化应激、减少谷氨酸释放和细胞凋亡降低大脑的自由基损伤、神经退化和脑梗塞[17] [18]。

知母的有效成分知母宁, 是含有四个酚羟基的多酚类物质, 具有清热泻火, 滋阴润燥, 退热消炎, 抑菌杀菌, 降血糖等作用, 最近人们建议把它用于治疗心脏病。知母宁对氧自由基有很强的清除作用, 它对大鼠心肌缺血再灌注损伤过程产生的一氧化氮自由基和氧自由基有清除作用以及对心肌缺血再灌注损伤有保护效应[19] [20]。

我们将 L-静氨酸和天然抗氧化剂山楂提取物、知母宁山楂提取物及虾青素进行合理搭配以后, 发现在细胞体系和组织体系中, 该组合既可以产生一定量的一氧化氮[8], 又可以清除氧自由基, 有一定的协同作用。一氧化氮作为内皮细胞松弛因子舒张血管调节血压[5] [15], 说明一氧化氮和天然抗氧化剂组合可能是通过清除氧自由基和促进一氧化氮产生防止高脂饮食和基因引起的血管损伤, 用于对血管的调节和保护作用。另外, 一些天然抗氧化剂本身就可以防止高脂饮食和基因引起的血脂和血糖的升高[6] [7]。

另外, 一氧化氮和天然抗氧化剂能够通过 T 淋巴细胞提高机体的免疫作用, 特别是对 T-淋巴细胞免疫有调节作用[20] [21]。一氧化氮和天然抗氧化剂还可能参与其他生物功能, 如增加循环中的网状红细胞、白细胞和中性粒细胞, 一氧化氮是 NK(natural killer)细胞杀伤靶细胞的调节剂, 可以调节 NK 细胞的功能, 提高或抑制肥大细胞和中性粒细胞的活化[22]-[25]。本研究也为研制和开发保护血管, 防治高血压、高血脂、高血糖及代谢综合症的健康食品和药物提供了有价值的参考。

参考文献 (References)

- [1] Roth, G.A., *et al.* (2015) Global and Regional Patterns in Cardiovascular Mortality from 1990 to 2013. *Circulation*, **132**, 1667-1678. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.008720>
- [2] Rosenson, R.S., *et al.* (2015) Dysfunctional HDL and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Nature Reviews Cardiology*, Advance Online Publication. <http://dx.doi.org/10.1038/nrcardio.2015.124>
- [3] Coleman, J.W. (2001) Nitric Oxide in Immunity and Inflammation. *International Immunopharmacology*, **1**, 1397-1406. [http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00086-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00086-8)
- [4] Shen, J.G., Wang, J., Zhao, B.L., *et al.* (1998) Effects of EGb-761 on Nitric Oxide, Oxygen Free Radicals, Myocardial Damage and Arrhythmias in Ischemia-Reperfusion Injury *in Vivo*. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1406**, 228-236. [http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4439\(98\)00007-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4439(98)00007-6)
- [5] Zhang, D.-L., Zhang, Y.-T., Yin, J.-J. and Zhao, B.-L. (2004) Oral Administration of Crataegus Flavonoids Protects against Ischemia/Reperfusion Brain Damage in Gerbils. *Journal of Neurochemistry*, **90**, 211-219. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02480.x>
- [6] Yan, J., Zhao, Y., Suo, S., Liu, Y. and Zhao, B. (2012) Green Tea Catechins Ameliorate Adipose Insulin Resistance by Improving Oxidative Stress. *Free Radical Biology & Medicine*, **52**, 1648-1657. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.01.033>
- [7] Yan, J., Zhao, Y. and Zhao, B. (2013) Green Tea Catechins Prevent Obesity through Modulation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *Science China Life Sciences*, **56**, 804-810. <http://dx.doi.org/10.1007/s11427-013-4512-2>
- [8] Zhao, B. (2015) "Double Edge" Effects of Nitric Oxide Free Radical in Cardio-Brain-Vascular Diseases and Health Studied by ESR. *Chinese Journal of Magnetic Resonance*, **32**, 195-207.
- [9] Zhao, B.-L., Li, X.-J., He, R.-G., Cheng, S.-J. and Xin, W.-J. (1989) Scavenging Effect of Extracts of Green Tea and Natural Antioxidants on Active Oxygen Radicals. *Cell Biophysics*, **14**, 175-185.
- [10] Ishii, S., *et al.* (2014) Metabolic Syndrome, Sarcopenia and Role of Sex and Age: Cross-Sectional Analysis of Kashiwa Cohort Study. *PLoS ONE*, **9**, e112718. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0112718>
- [11] Després, J.-P. and Lemieux, I. (2006) Abdominal Obesity and Metabolic Syndrome. *Nature*, **444**, 881-887. <http://dx.doi.org/10.1038/nature05488>
- [12] Alberti, K.G.M.M., Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., Cleeman, J.I., Donato, K.A., *et al.* (2009) Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, **120**, 1640-

1645. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
- [13] Inzucchi, S.E., Bergenstal, R.M., Buse, J.B., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., *et al.* (2012) Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Patient-Centered Approach. Position Statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*, **35**, 1364-1379. <http://dx.doi.org/10.2337/dc12-0413>
- [14] Steinhorn, B.S., Loscalzo, J. and Michel, T. (2015) Nitroglycerin and Nitric Oxide—A Rondo of Themes in Cardiovascular Therapeutics. *The New England Journal of Medicine*, **373**, 277-280. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMs1503311>
- [15] Weihmayr, T. and Ernst, E. (1996) Therapeutic Effectiveness of Crataegus. *Fortschritte der Medizin*, **114**, 27-29.
- [16] Chrysant, S.G. (2015) The Clinical Significance and Costs of Herbs and Food Supplements Used by Complementary and Alternative Medicine for the Treatment of Cardiovascular Diseases and Hypertension. *Journal of Human Hypertension*, **30**, 1-6. <http://dx.doi.org/10.1038/jhh.2015.42>
- [17] Higuera-Ciapara, I., Félix-Valenzuela, L. and Goycoolea, F.M. (2006) Astaxanthin: A Review of Its Chemistry and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **46**, 185-196. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690590957188>
- [18] Ambati, R.R., Phang, S.M., Ravi, S. and Aswathanarayana, R.G. (2014) Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications—A Review. *Marine Drugs*, **12**, 128-152. <http://dx.doi.org/10.3390/md12010128>
- [19] Zhao, B.L., Shen, J.-G., Li, M., Li, M.F., Wan, Q. and Xin, W.-J. (1996) Scavenging Effect of Chinonin on NO and Oxygen Free Radicals and Its Protective Effect on the Myocardium from the Injury of Ischemia-Reperfusion. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1315**, 131-137. [http://dx.doi.org/10.1016/0925-4439\(95\)00112-3](http://dx.doi.org/10.1016/0925-4439(95)00112-3)
- [20] Shen, J.G., Guo, X.S., Jiang, B., Li, M., Xin, W.J. and Zhao, B.L. (2000) Chinonin, a Novel Drug against Cardiomyocyte Apoptosis Induced by Hypoxia and Reoxygenation. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1500**, 217-226. [http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4439\(99\)00109-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4439(99)00109-X)
- [21] Malvezi, A.D., Cecchini, R., de Souza, F., Tadokoro, C.E., Rizzo, L.V. and Pinge-Filho, P. (2004) Involvement of Nitric Oxide (NO) and TNF-Alpha in the Oxidative Stress Associated with Anemia in Experimental *Trypanosoma cruzi* Infection. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, **41**, 69-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.femsim.2004.01.005>
- [22] Bidri, M., Féger, F., Varadaradjalou, S., Hamouda, N.B., Guillosson, J.-J. and Arock, M. (2001) Mast Cells as a Source and Target for Nitric Oxide. *International Immunopharmacology*, **1**, 1543-1558. [http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00097-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00097-2)
- [23] 赵保路. 一氧化氮自由基[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [24] Dendrou, C.A., Fugger, L. and Friese, M.A. (2015) Immunopathology of Multiple Sclerosis. *Nature Reviews Immunology*, **15**, 545-558. <http://dx.doi.org/10.1038/nri3871>
- [25] Van der Veen, R.C. (2001) Nitric Oxide and T Helper Cell Immunity. *International Immunopharmacology*, **1**, 1491-1500. [http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00093-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00093-5)