

文章编号:1001-6880(2015)1-0041-05

# 番茄红素对高同型半胱氨酸血症大鼠血管内皮舒缩功能和纤溶功能的影响

郭 媛<sup>1</sup>, 李 亮<sup>2</sup>, 曹建民<sup>1\*</sup>, 周海涛<sup>3</sup><sup>1</sup>北京体育大学,北京 100084; <sup>2</sup>宿州学院,安徽 234000; <sup>3</sup>北京联合大学生物化学工程学院,北京 100023

**摘要:**本文研究了补充番茄红素对高同型半胱氨酸血症大鼠血液 Hcy 的影响,及对血管内皮舒缩功能和纤溶功能的影响。SD 大鼠 30 只,随机分为普通饮食组(C)、蛋氨酸饮食组(M)、蛋氨酸饮食 + 番茄红素组(ML)。ML 组灌胃番茄红素(6.25 mg/kg),每天 2 mL,其余组灌胃同等剂量生理盐水,共 8 周。末次实验后 24 h,测试血浆 Hcy、TXB<sub>2</sub>、6-Keto-PGF1 $\alpha$ 、t-PA 和 PAI。实验结果表明 8 周高蛋氨酸饮食可导致大鼠形成高同型半胱氨酸血症,血浆 Hcy、TXB<sub>2</sub> 和 PAI 显著升高( $P < 0.01$ ),6-Keto-PGF1 $\alpha$  和 t-PA 显著降低( $P < 0.01$ ),血管舒缩和纤溶功能紊乱。但 8 周番茄红素补充可以显著降低血浆 Hcy 和 TXB<sub>2</sub>,增加 6-Keto-PGF1 $\alpha$  含量,同时调节 t-PA 和 PAI 的活性,改善纤溶功能,预防动脉粥样硬化病的形成。

**关键词:**番茄红素;大鼠;同型半胱氨酸;血管内皮;纤溶功能

中图分类号:R965

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.01.008

## Effect of Lycopene on Vascular Endothelium and Fibrinolytic Function in Hyperhomocysteinemia Rats

GUO Xian<sup>1</sup>, LI Liang<sup>2</sup>, CAO Jian-min<sup>1\*</sup>, ZHOU Hai-tao<sup>3</sup><sup>1</sup>Beijing Sport University, Beijing 100084, China; <sup>2</sup>Suzhou Normal School, Suzhou 234000, China;<sup>3</sup>Biochemical Engineering College of Beijing Union University, Beijing 100023, China

**Abstract:** To observe the effect of lycopene on vascular endothelial and fibrinolytic function in hyperhomocysteinemia rats. Thirty male SD rats were randomly divided into the normal diet group (C), methionine diet group (M), methionine diet and lycopene group (ML), with 10 rats in each group. The rats in C, M and ML groups were fed with normal diet, methionine diet, methionine diet, respectively. The methionine diet included 3% methionine. The rats in ML group were gavaged by lycopene with 6.25 mg/kg ig volume of 2 mL. The rats in C and M groups were given saline of same volume. All the experiment lasted 8 weeks. 24 hours after the last experiment, the level of homocysteine, t-PA and PAI in blood or plasma were measured by radioimmunoassay. The level of TXB<sub>2</sub> and 6-Keto-PGF1 $\alpha$  in plasma were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The results showed that after fed with 8-week methionine diet, rats had formed homocysteinemia. Compared with C group, plasma Hcy, TXB<sub>2</sub> and PAI in M group were notably increased ( $P < 0.01$ ). At the mean time, 6-Keto-PGF1 $\alpha$  and t-PA were significantly decreased in M group ( $P < 0.01$ ). It indicated that the rats had happened vasomotor disorders and fibrinolytic activity disorders. After 8 weeks of lycopene supplement, compared with M group, plasma Hcy and TXB<sub>2</sub> were significantly decreased in ML group ( $P < 0.01$ ), and 6-Keto-PGF1 $\alpha$  were significantly increased in ML group ( $P < 0.01$ ). In addition, the rats in ML group had improved the activity of t-PA and PAI, the function of fibrinolytic were enhanced to prevent the formation of atherosclerotic disease.

**Key words:** lycopene; rats; homocysteine; vascular endothelium; fibrinolytic function

血管内皮功能的损伤与障碍是心血管病的形成和发展的主要原因。同型半胱氨酸水平的升高容易

导致机体形成高同型半胱氨酸血症(homocysteinemia, HH),在一定程度上造成血管内皮细胞损伤加重,血管痉挛,进一步诱发动脉粥样硬化性疾病<sup>[1]</sup>。番茄红素(lycopene, LP)主要存在于番茄、西瓜、南瓜、葡萄、葡萄柚等食物中,尤以番茄中含量最高。研究表明,番茄红素具有多种生物学活性,如清除氧

自由基、猝灭单线态氧、诱导细胞间连接通讯、抑制肿瘤细胞增殖、减少DNA损伤、增强机体免疫功能等,且具有比其它类胡萝卜素更强的清除单线态氧的能力<sup>[2]</sup>。临床研究表明,番茄红素除了可以清除自由基,抗衰老和提高免疫力外,还可抑制LDL胆固醇氧化产物的形成,减缓动脉粥样硬化,预防冠心病的发生<sup>[3]</sup>。本研究旨在观察8周的番茄红素补充对高蛋氨酸饮食造成的高同型半胱氨酸血症大鼠血浆同型半胱氨酸的影响,以及番茄红素对与血管内皮舒缩功能相关的血栓素B<sub>2</sub>(thromboxane B-2, TXB<sub>2</sub>)、6酮前列腺素F1 $\alpha$ (6-keto-prostacyclin F1 $\alpha$ , 6-Keto-PGF1 $\alpha$ )及反映血管纤溶功能的血浆组织型纤溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator, t-PA)和纤溶酶原激活剂抑制物(plasminogen activator inhibitor, PAI)的活性影响,进而为预防动脉粥样硬化和心血管疾病提供方法和依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 动物

清洁级雄性4周龄SD大鼠30只,平均体重为 $120.3 \pm 5.6$  g,北京大学医学部实验动物科学部提供,许可证号SCXK(京)2006-0008。在整个实验过程中,实验室温度保持在( $23 \pm 3$ )℃,相对湿度45%~70%,昼夜节律控制,每日光照12 h(早8点~晚8点)条件下,分笼饲养8周。

### 1.2 实验用药

番茄红素由陕西森弗技术有限公司提供,生产批号为1120090518。为减小实验误差将其配制成番茄红素溶剂。将1.25 g番茄红素溶于1 L色拉油,制成1.25 mg/mL的溶剂。

### 1.3 试剂

血浆同型半胱氨酸(Hcy)、组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)和纤溶酶原激活剂抑制物(PAI)均采用酶联免疫吸附测试法(ELISA)测定,血栓素B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)和6酮前列腺素F1 $\alpha$ (6-Keto-PGF1 $\alpha$ )均采用放射免疫法测定,测试试剂盒均由Adlitteram Diagnostic Laboratories, Inc USA提供,试剂盒编号为104120090409,并严格按照使用说明操作。

### 1.4 仪器

STAT FAX 2100全自动酶标仪(美国阿尼朗斯),r-911全自动放免技术仪(中国科技大学实业总公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 动物分组

实验大鼠适应性饲养4 d后,以数字随机分组法分为3组,包括普通饮食组(C),蛋氨酸饮食对照组(M),蛋氨酸饮食+番茄红素(ML),每组10只。普通饮食组的大鼠以普通饲料的喂养,蛋氨酸组的大鼠以按3%的比例添加L-蛋氨酸制成的蛋氨酸饲料喂养,蛋氨酸饮食+番茄红素组除蛋氨酸饲料喂养外,采用专业灌胃器灌胃(ig)番茄红素,每天一次,剂量为6.25 mg/kg,ig体积为5 mL/kg。其他各组ig等量生理盐水。实验共持续8周。普通饲料和蛋氨酸饲料均购置于中国医学科学院实验动物研究所,饲料合格证明编号为SCXK2006-0003。饲料生产厂商为北京康蓝生物技术有限公司,批号为20090518。

### 2.2 指标测定

末次实验结束24 h后,乌拉坦适度麻醉,腹主动脉取血8 mL,2 mL注入枸橼酸钠抗凝试管中,以3000 rpm离心10 min,取上层血浆置-20℃冰箱保存,供测血浆同型半胱氨酸(Hcy)、血浆组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)和纤溶酶原激活剂抑制物(PAI),剩余部分的血待特殊消炎痛-EDTANa<sub>2</sub>的抗凝处理后待测血栓素B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)、6酮前列腺素F1 $\alpha$ (6-keto-PGF1 $\alpha$ )。

### 2.3 数据统计

数据以平均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )记录,用SPSS13.0统计软件进行处理。组间分析采用单因素方差分析,显著水平取P<0.05,非常显著水平取P<0.01。

## 3 实验结果

### 3.1 各组大鼠血浆同型半胱氨酸含量变化

由表1可知,蛋氨酸饮食组大鼠血浆Hcy含量

表1 大鼠同型半胱氨酸的含量( $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The content of homocysteine in different groups of rats

组别 Group	同型半胱氨酸 Homocysteine(μmol/L)
C group	$7.294 \pm 2.090$
M group	$22.452 \pm 1.263^{**}$
ML group	$11.459 \pm 1.213^{\Delta\Delta}$

注:<sup>\*\*</sup>表示与C组相比有非常显著性差异( $P < 0.01$ );<sup>ΔΔ</sup>表示与M组相比有非常显著性差异( $P < 0.01$ )。

Note: Compare with C group, <sup>\*\*</sup>  $P < 0.01$ ; Compare with M group, <sup>ΔΔ</sup>  $P < 0.01$ .

明显高于正常对照组( $P < 0.01$ )，给予8周的番茄红素处理后，大鼠血浆 Hcy 含量显著性降低( $P < 0.01$ )。

### 3.2 各组大鼠血浆 6 焲前列腺素 F1 $\alpha$ 、血栓素 B<sub>2</sub> 含量变化

由表2可知，蛋氨酸饮食组血浆 6-keto-PGF1 $\alpha$  含量明显小于正常对照组( $P < 0.01$ )，经过8周的番茄红素处理后，大鼠血浆 6-keto-PGF1 $\alpha$  含量显著升高( $P < 0.01$ )。与此同时，蛋氨酸饮食组血浆 TXB<sub>2</sub> 含量明显大于正常对照组( $P < 0.01$ )，经过8周的番茄红素处理后，大鼠血浆 TXB<sub>2</sub> 含量显著降低( $P < 0.01$ )。

表2 各组大鼠血浆 6 焰前列腺素 F1 $\alpha$ 、血栓素 B<sub>2</sub> 的含量( $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 The contents of plasma 6-keto-PGF1 $\alpha$  and TXB<sub>2</sub> in different groups of rats

组别 Group	6 焰前列腺素 F1 $\alpha$ 6-keto-PGF1 $\alpha$ (pg/mL)	血栓素 B <sub>2</sub> TXB <sub>2</sub> (pg/mL)
C group	76.610 ± 8.287	36.112 ± 15.791
M group	45.053 ± 4.053 * *	130.535 ± 12.215 * *
ML group	68.119 ± 12.739 ▲▲	36.099 ± 10.930 ▲▲

注: \* 表示与 C 组相比有非常显著性差异( $P < 0.01$ )；▲▲表示与 M 组相比有非常显著性差异( $P < 0.01$ )

Note: Compare with C group, \* \*  $P < 0.01$ ; Compare with M group, ▲▲  $P < 0.01$

### 3.3 各组大鼠血浆 t-PA 和 PAI 含量变化

由表3可知，蛋氨酸饮食组血浆 t-PA 含量明显小于正常对照组( $P < 0.01$ )，经过8周的番茄红素处理后，大鼠血浆 t-PA 含量显著升高( $P < 0.01$ )。与此同时，蛋氨酸饮食组血浆 PAI 含量明显大于正常对照组( $P < 0.01$ )，经过8周的番茄红素处理后，大鼠血浆 PAI 含量显著降低( $P < 0.01$ )。

表3 各组大鼠血浆 t-PA 和 PAI 的含量( $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 The content of plasma t-PA and PAI in different groups of rats

组别 Group	组织型纤溶酶原激活剂 t-PA (ng/mL)	纤溶酶原激活剂抑制物 PAI (ng/mL)
C group	16.655 ± 1.640	2.821 ± 0.854
M group	2.412 ± 1.285 * *	11.223 ± 2.498 * *
ML group	12.123 ± 2.349 ▲▲	4.852 ± 3.412 ▲▲

注: \* 表示与 C 组相比有非常显著性差异( $P < 0.01$ )；▲▲表示与 M 组相比有非常显著性差异( $P < 0.01$ )。

Note: Compare with C group, \* \*  $P < 0.01$ ; Compare with M group, ▲▲  $P < 0.01$ .

## 4 分析与讨论

正常人体内 Hcy 的生成与代谢保持相对平衡。

高同型半胱氨酸血症(Homocystinemia, HH)是一种以血浆中 Hcy 升高为主的疾病，轻、中和重度 HH 的血浆浓度分别为 16~30、31~100 和超过 100  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ，少数人可达到 500  $\mu\text{mol}/\text{L}$  以上<sup>[4]</sup>。血中 Hcy 水平的升高既包括先天的遗传如胱硫醚  $\beta$  合酶(CBS)缺乏，亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)缺乏或者先天性 VB 代谢障碍，也包含后天的营养因素如蛋氨酸摄入过多。本实验中 M 组大鼠通过 8 周的蛋氨酸饮食喂养后，血浆 Hcy 水平，显著高于对照组( $P < 0.01$ )，达到  $22.452 \pm 1.263 \mu\text{mol}/\text{L}$ ，已出现轻度 HH。其原因可能为饮食中过多的摄入蛋氨酸后，蛋氨酸在体内 S-腺苷蛋氨酸酶作用下与 ATP 结合生成较多的 S-腺苷蛋氨酸，当 S-腺苷蛋氨酸供给甲基后，生成 S-腺苷同型半胱氨酸，后者进一步脱氨基生成更多 Hcy。而体内蛋氨酸合成酶既定，只能结合一部分 Hcy 进行催化，进而在 VB<sub>12</sub> 的作用下接受甲基四氢叶酸提供的甲基重新生成蛋氨酸，多余的 Hcy 则无法正常代谢转化成蛋氨酸。所以 Hcy 生成的增多和代谢的减少，导致了 Hcy 在血液中的堆积，从而形成 HH。

近年来国内外专家逐渐形成共识，Hcy 血浆浓度的增高与心血管疾病密切相关，可能是致动脉粥样硬化的一种独立危险因子<sup>[5,6]</sup>。同时，血管的舒缩功能和纤溶系统功能紊乱对动脉粥样硬化、冠心病的发生、发展起重要的影响<sup>[7]</sup>。Hcy 可导致 NO 的生成绝对或相对不足，同时会造成内皮细胞分泌 NO、ET 和血管紧张素 II 平衡失调，进而引起血管张力调节障碍。6-keto-PGF1 $\alpha$  可舒张血管和抑制血小板的聚集，TXB<sub>2</sub> 可收缩血管和促进血小板聚集。6-keto-PGF1 $\alpha$ 、TXB<sub>2</sub> 的含量可以直接反映血管痉挛和血小板聚集情况及内皮细胞血管活性物质的水平状态。而 t-PA 和 PAI 是纤溶系统中重要的生理活性物质，t-PA 可将纤溶酶原裂解使其变为具有活性的纤溶酶，及时清除血栓；PAI 则主要用于灭活 t-PA，所以两者的平衡维持血液的纤溶功能也极为重要。国外相关研究者发现，Hcy 升高可明显减少内皮产生 PGI<sub>2</sub>，进而出现血管舒张性下降，血小板聚集和活化功能增强，血管平滑肌细胞增多。本实验中，8 周蛋氨酸饮食喂养后，M 组的 6-keto-PGF1 $\alpha$  和 t-PA 含量显著低于 C 组大鼠，TXB<sub>2</sub> 和 PAI 含量显著高于 C 组大鼠。其原因可能为 Hcy 在血浆中发生自身氧化，产生过氧化氢、羟自由基等物质，产生内皮毒性作用破坏细胞的完整性，启动细胞膜脂质过氧

化链式反应,选择性降低细胞 t-PA 的结合位点,从而抑制细胞相关的 t-PA 的活性,导致 t-PA/PAI 失衡,诱发舒缩和纤溶功能紊乱,进而诱发血栓性疾病<sup>[8]</sup>。

番茄红素(Lycopene, LP)属于类胡萝卜素的异构体,具有多种生物学活性,如清除氧自由基、猝灭单线态氧、诱导细胞间连接通讯、抑制肿瘤细胞增殖、减少 DNA 损伤、增强机体免疫功能等,且 LP 具有比其它类胡萝卜素更强的清除单线态氧的能力<sup>[2]</sup>。根据流行病学和基础医学的研究发现,番茄及其加工制品可以抗衰老、提高免疫力、辅助降血脂<sup>[9-11]</sup>,LP 还通过抑制胆固醇合成,增加低密度脂蛋白受体活性,提高低密度脂蛋白的清除率,减缓动脉粥样硬化的进程,有效降低多种癌症和 50% 的心血管疾病患病率<sup>[12,13]</sup>。本实验中,通过 8 周的番茄红素补充,ML 组与 M 组比较,血浆 Hcy 水平非常显著性的下降。6-keto-PGF1 $\alpha$  和 t-PA 含量非常显著的升高,TXB<sub>2</sub> 和 PAI 含量有了非常显著性的降低。表明番茄红素可有效降低血中 Hcy 的水平,进而改善血管的内皮功能紊乱,延缓和抑制动脉粥样硬化的形成。分析原因可能是(1)番茄红素是类胡萝卜素中最有效的单线态氧灭活剂,灭活能力是  $\beta$ -胡萝卜素的 2 倍,是维生素 E 的 100 倍。它具有清除自由基的作用,能防止 DNA 和脂蛋白的氧化,阻止 LDL-C 的形成。番茄红素还能抑制自由基产生并加快清除,提高过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶活力,降低了血脂对凝血系统的影响<sup>[14,15]</sup>;(2)番茄红素能够促进 LDL-R 的表达增加,增加 LDL-R 与 LDL-C 的结合进而加速清除 LDL-C,同时促进 HDL-C 的合成。随着 Hcy 的增加产生的更多的氧自由基可氧化修饰 LDL,使巨噬细胞转变为泡沫细胞,加剧血管内皮功能紊乱。而酰基血小板活化因子(acyl-PAF)可降低 LDL 对氧化修饰的敏感性,番茄红素还可以通过抑制动脉内皮细胞的乙酰基辅酶 A 乙酰转移酶的活性,促进 acyl-PAF 的合成,降低 LDL 对氧化修饰的敏感性,进而抑制 LDL 的氧化<sup>[16]</sup>,调节血脂紊乱,降低 TXB<sub>2</sub> 的合成,增加 PGI<sub>2</sub> 合成<sup>[17]</sup>;(3)Hcy 升高促进动脉粥样硬化疾病的发生还有一重要的原因是造成的血管内皮的慢性炎症反应。番茄红素可缓解内皮细胞表达和分泌单核细胞趋化因子-I 和白细胞介素-8,显著减少血管细胞粘附分子,进而减少单核细胞趋化因子-I 诱导单核细胞向血管内下移行的增殖,有效防止了血中

Hcy 升高带来的凝血系统功能的紊乱,进而调节了内皮的 t-PA 和 PAI 活性,延缓了动脉粥样硬化疾病的进程。

## 5 小结

蛋氨酸摄入过多造成的高同型半胱氨酸血症,可通过加剧血管收缩、促进血小板聚集和抑制纤溶酶的活性造成血管舒缩功能和纤溶功能障碍,加剧大鼠形成动脉粥样硬化。而通过持续 8 周的番茄红素补充能够有效的改善,降低血浆中 Hcy 的水平。番茄红素可通过有效的清除自由基,改善羟自由基对血管内皮造成的损伤,同时可降低 LDL 对氧化修饰的敏感性,抑制 LDL 的氧化降低血浆中 TXB<sub>2</sub> 合成,增加 6-Keto-PGF1 $\alpha$  含量,同时调节 t-PA 和 PAI 的活性及时清除血栓,增强纤溶功能,减轻内皮的损伤程度,保护血管内皮的舒缩功能。

## 参考文献

- Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999, 340:115-126.
- Zhang YL(张亚楼). The review of biological characteristics of lycopene. *Chin J Dis Control Prevent* (中华疾病控制杂志), 2002, 6:330-334.
- Liu X, Qu D, He F, et al. Effect of lycopene on the vascular endothelial function and expression of inflammatory agents in hyperhomocysteinemic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2007, Suppl 1:244-248.
- Kang SS, Wang PWK, Malinow MR. Hyperhomoeost(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Ann Rev Nutr*, 1992, 12:279-298.
- Selhub J, Lacques PF, Boston AG, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med*, 1995, 332:286-291.
- Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, et al. A prospective study of plasma homosyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA*, 1992, 268:877-881.
- Bogaty P, Hackett D, Davies G, et al. Vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation*, 1994, 90:5-11.
- Midorikawa S, Sanada H, Hashimoto S, et al. Enhancement by homocysteine of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and secretion from vascular endothelial and smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 272:182-185.

(下转第 98 页)