# β-胡萝卜素对高糖诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用

邱模昌,蔡灵卿,王 芳,刘建明,程畅河
(江西医学高等专科学校药学系,江西 上饶 334000)

**摘要**:**目的** 研究β-胡萝卜素(β-C)对高糖诱导的内皮细胞损伤的保护作用,并初步探讨其作用机制。**方法** 在血管内皮细胞长至80%以上融合时,将其分为5组:正常对照组、高糖损伤组及低、中和高剂量β-C组,每组6个复孔。正常对照组加入10%葡萄糖注射液5.5 mmol·$L^{-1}$,高糖损伤组加入10%葡萄糖注射液33 mmol·$L^{-1}$,低、中和高剂量β-C组分别加入β-C 10、20、40 μmol·$L^{-1}$+10%葡萄糖注射液33 mmol·$L^{-1}$。各组放置5%$CO_2$培养箱中培养48 h后,收集细胞或培养液进行实验。使用酶联免疫检测仪、采用MTT比色法检测5组血管内皮细胞存活率,采用流式细胞仪检测血管内皮细胞凋亡率、血管内皮细胞中活性氧(ROS)水平,使用全自动生化仪、采用乳酸→丙酮酸连续监测法检测5组血管内皮细胞培养液中乳酸脱氢酶(LDH)活性,使用全自动生化仪、采用硫代巴比妥酸比色定量法检测5组血管内皮细胞培养液中丙二醛(MDA)的水平;先参照NO检测试剂盒的使用说明书进行实验,后采用酶联免疫检测仪检测5组血管内皮细胞培养液中NO水平。**结果** 与正常对照组比较,高糖损伤组的血管内皮细胞存活率、血管内皮细胞培养液中NO水平均明显降低,血管内皮细胞培养液中LDH活性、MDA水平,血管内皮细胞凋亡率、血管内皮细胞中ROS水平均明显升高(均$P<0.01$);与高糖损伤组比较,中、高剂量β-C组的血管内皮细胞存活率、血管内皮细胞培养液中NO水平均明显升高,血管内皮细胞培养液中LDH活性、MDA水平及低、中和高剂量β-C组的血管内皮细胞凋亡率、血管内皮细胞中ROS水平均明显降低($P<0.05$或$P<0.01$)。**结论** β-胡萝卜素对高糖诱导的脐静脉内皮细胞的损伤具有保护作用,其机制可能与增加NO水平和促进ROS的降解有关。

**关键词**:糖尿病;β-胡萝卜素;高糖;血管内皮细胞损伤;活性氧;脐静脉;保护作用
**中图分类号**:R96;R587.1 **文献标志码**:A **文章编号**:2095-4727(2014)07-0024-05
DOI:10.13764/j.cnki.ncdm.2014.07.007

# Protective Effects of β-carotene on Endothelial Cell Damage Induced by High Glucose

QIU Mo-chang, CAI Ling-qing, WANG Fang, LIU Jian-ming, CHENG Chang-he
(*Department of Pharmacy, Jiangxi Medical Higher Specialist School, Shangrao* 334000, *China*)

**ABSTRACT**: **Objective** To study the effects of β-carotene(β-C) on high glucose-induced endothelial cell damage and its mechanism of action. **Methods** When cell fusion reached more than 80%, vascular endothelial cells were treated with 5.5 mmol·$L^{-1}$ 10% glucose injection (control group), 33 mmol·$L^{-1}$ (high glucose group), 10 μmol·$L^{-1}$ β-C + 33 mmol·$L^{-1}$ glucose injection (low dose β-C group), 20 μmol·$L^{-1}$ β-C + 33 mmol·$L^{-1}$ glucose injection (medium dose β-C group), or 40 μmol·$L^{-1}$ β-C + 33 mmol·$L^{-1}$ glucose injection (high dose β-C group). Each group included six wells. After culture for 48 hours in an incubator filled with 5%$CO_2$, cells or culture medium were collected. Cell viability was assayed by MTT colorimetry using microplate reader. Cell apoptosis and intracellular reactive oxygen species(ROS) generation were detected by flow cytometry. The activity of lactic dehydrogenase in medium was examined by continuous monitoring of the conversion lactic acid to pyruvic acid using automatic biochemical analyzer. Malondialdehyde(MDA) production in medium was determined by TBARS assay using automatic biochemical analyzer. Nitric oxide(NO) content in medium was measured by Griess Reagent assay using

**收稿日期**:2014-02-08
**作者简介**:邱模昌(1981-),男,硕士,讲师,主要从事药理学的研究。

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

automatic biochemical analyzer. **Results** Compared with control group, cell viability and NO content in medium significantly decreased whereas cell apoptosis, intracellular ROS generation and levels of MDA and LDH in medium markedly increased in high glucose group ($P<0.01$). Compared with high glucose group, cell viability and NO content in medium significantly increased whereas levels of MDA and LDH in medium markedly decreased in medium and high dose β-C groups ($P<0.05$ or $P<0.01$). In addition, cell apoptosis and intracellular ROS generation obviously decreased in low, medium and high dose β-C groups, compared with high glucose group ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** The treatment with β-carotene exerts protective roles in high glucose-induced umbilical vein endothelial cell injury through increasing NO production and promoting ROS degradation.

**KEY WORDS**: diabetes; β-carotene; high glucose; vascular endothelial cell injury; reactive oxygen species; umbilical vein; protective role

糖尿病慢性并发症中,糖尿病大血管病变是糖尿病(diabetic mellitus, DM)患者致残和致死的最主要原因之一[1],其中血管内皮功能异常和动脉粥样硬化是大血管并发症的主要病理生理过程[2]。血管内皮功能异常的主要原因仍是高血糖状态[3],后者是诱导糖尿病大血管内皮细胞发生凋亡的重要危险因素,而血管内皮细胞凋亡是糖尿病大血管病变的始发事件[4]。高血糖状态引起血管内皮细胞凋亡的机制可能与高糖使细胞内氧化应激加强、血管内皮细胞内活性氧(ROS)生成增加有关[5-6]。ROS是调节血管结构和功能状态的重要信号分子,可调节血管平滑肌细胞、血管内皮细胞的增生、生长和凋亡以及体内单核细胞的迁移和分化,介导巨噬细胞分泌细胞因子,在糖尿病的病理改变中起重要的作用。

β-胡萝卜素(β-carotene, β-C)是常见类胡萝卜素之一,类胡萝卜素呈现很强的抗氧化性,具有清除自由基、保护血管、抗肿瘤、护肤、增强免疫功能及保护神经系统等作用。有研究[7]发现,β-C能充分提高NO的水平和生物利用度,舒张血管,保护血管,同时β-C还能抑制ROS水平的升高,保持机体抗氧化能力和不断产生的氧自由基的氧化能力之间的动态平衡,预防动脉粥样硬化等的发生,但β-C对高糖诱导的血管内皮细胞损伤的保护效应目前研究较少。本研究观察了β-C对血管内皮细胞损伤的保护效应,并从ROS与NO途径探讨β-C对血管内皮细胞损伤的保护效应机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

人脐静脉内皮细胞株HUVEC-19购自中南大学(源自ATCC细胞库),DMEM培养基(上海恒远生物科技有限公司),MTT溶液、Binding Buffer、LDMSO、乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒和丙二醛(MDA)试剂盒(海门市碧云天生物技术研究所),Annexin Ⅴ、PI(美国BD公司),NO检测试剂盒(上海碧云天生物技术研究所),10%胎牛血清(上海韵涵生物科技有限公司)。CP-ST50A $CO_2$ 培养箱(长沙长锦应用技术研究所),652酶联免疫检测仪(美国BIO-RAD公司),DXC600全自动生化分析仪(美国Beckman公司),FACSC-ALIBUR流式细胞仪(美国BD公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 血管内皮细胞培养与实验分组、加药方法

1)将人脐静脉内皮细胞株HUVEC-19传代至第3代后用20%DMEM(含10%胎牛血清)悬浮细胞,计数后以$5\times10^3$/孔的细胞数接种于六孔板培养板中,待细胞长至80%以上融合时进行实验。2)在血管内皮细胞长至80%以上融合时,将其分为5组:正常对照组、高糖损伤组及低、中和高剂量β-C组,每组6个复孔。正常对照组加入10%葡萄糖注射液5.5 mmol·$L^{-1}$,高糖损伤组加入10%葡萄糖注射液33 mmol·$L^{-1}$,低、中和高剂量β-C组分别加入β-C 10、20、40 μmol·$L^{-1}$+10%葡萄糖注射液33 mmol·$L^{-1}$。各组放置5%$CO_2$培养箱中培养48 h后,收集细胞或培养液进行实验。3)将传代至第3代的血管内皮细胞分为5组:正常对照组、高糖损伤组及低、中和高剂量β-C组。

#### 1.2.2 血管内皮细胞存活率的检测

将5组(传代至第3代的血管内皮细胞)用20%DMEM(含10%胎牛血清)悬浮细胞后,以每孔$10^3$的细胞数接种于96孔板培养板中,每孔200 μL,每组接种6个复孔。待细胞贴壁后8 h后加药,正常对照组、高糖损伤组及低、中和高剂量β-C组加药同1.2.1段。加药后,放置5%$CO_2$培养箱中培养24 h。培养24 h后,每孔加入MTT溶液(5 g·$L^{-1}$)15 μL,再放置5%$CO_2$培养箱中培养4 h。培养4 h后,小心吸弃孔内培养上清液。再每孔加入150 μL DMSO,振荡10 min,使结晶物充分

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

溶解。用酶联免疫检测仪(波长为 490 nm)检测 5 组吸光度值(A 值),细胞存活率=(实验组 A 值/对照组 A 值)×100%,即实验组分别为高糖损伤组、低、中和高剂量 β-C 组,对照组为正常对照组。实验重复 4 次。

1.2.3 血管内皮细胞凋亡率的检测

5 组放置 5%$CO_2$ 培养箱中培养 48 h 后,用 0.25%胰酶消化血管内皮细胞,再用 PBS 洗涤细胞 2 次,1 500 r·$min^{-1}$离心 5 min,弃去上清。然后,5 组细胞均用 500 μL Binding Buffer 重悬细胞,分别加入荧光素(FITC)标记的 Annexin Ⅴ(40 mg·$L^{-1}$)和碘化丙啶(propidine iodide,PI)(50 mg·$L^{-1}$)各 5 μL 对血管内皮细胞进行标记,避光反应 5 min,同时以不加 Annexin Ⅴ-FITC 及 PI 的一管作为阴性对照。避光反应后 30 min 内,采用流式细胞仪检测 5 组血管内皮细胞凋亡率,以 $FITC^+/PI^-$ 的右下象限细胞数量占总细胞数量百分比为血管内皮细胞凋亡率[8]。实验重复 4 次。

1.2.4 血管内皮细胞培养液中 LDH 活性的检测

5 组放置 5%$CO_2$ 培养箱中培养 48 h 后,吸取上清液,1 500 r·$min^{-1}$离心 5 min,留取上清液。使用全自动生化仪、采用乳酸→丙酮酸连续监测法检测 5 组血管内皮细胞培养液中 LDH 活性,具体操作步骤见试剂盒说明书。实验重复 4 次。

1.2.5 血管内皮细胞培养液中 MDA 的检测

5 组用 0.25%胰酶消化血管内皮细胞后,用 0.9%氯化钠注射液洗涤细胞 2 次,取沉淀细胞。然后,用 0.9%氯化钠注射液 400 μL 重悬细胞,液氮和 37 ℃水浴反复冻融 3 次,3 min·次$^{-1}$,1 500 r·$min^{-1}$离心 5 min,收集上清。使用全自动生化仪、采用硫代巴比妥酸比色定量法检测 5 组血管内皮细胞培养液中 MDA 的水平,具体操作步骤见试剂盒说明书。实验重复 4 次。

1.2.6 血管内皮细胞培养液中 NO 的检测

5 组放置 5%$CO_2$ 培养箱中培养 48 h 后,吸取上清液,1 500 r·$min^{-1}$离心 5 min,留取上清液,参照 NO 检测试剂盒的使用说明书进行实验。然后,采用酶联免疫检测仪(波长为 490 nm)检测 5 组吸光度值(A 值),以高糖损伤组、低、中和高剂量 β-C 组 A 值/正常对照组 A 值比值来表示 NO 的相对浓度。实验重复 4 次。

1.2.7 血管内皮细胞中 ROS 的检测

5 组先用 0.25%胰酶消化血管内皮细胞后,1 000 r·$min^{-1}$离心 5 min,PBS 洗涤 2 次。将配好的 DCFH-DA 溶液(1∶2 000)500 μL 重悬细胞,37 ℃、5%$CO_2$ 培养箱中培养 30 min,1 000 r·$min^{-1}$离心 5 min,弃上清,PBS 洗涤 2 次。加入 PI(50 mg·$L^{-1}$)5 μL,避光反应 5 min 后,立即用流式细胞仪检测(一般不超过 30 min),通过对荧光强度比较来对 5 组血管内皮细胞中 ROS 的水平进行相对定量。实验重复 4 次。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 $t$ 检验,多组间比较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 β-C 对血管内皮细胞存活率、LDH 活性、NO 及 MDA 水平的影响

与正常对照组比较,高糖损伤组的血管内皮细胞存活率、血管内皮细胞培养液中 NO 水平均明显降低,血管内皮细胞培养液中 LDH 活性、MDA 水平均明显升高(均 $P<0.01$);低剂量 β-C 组的血管内皮细胞存活率,血管内皮细胞培养液中 NO 水平、LDH 活性和 MDA 水平与高糖损伤组比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);与高糖损伤组比较,中、高剂量 β-C 组的血管内皮细胞存活率、血管内皮细胞培养液中 NO 水平均明显升高,血管内皮细胞培养液中 LDH 活性、MDA 水平均明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。见表 1。

表 1 各组血管内皮细胞存活率及血管内皮细胞培养液中 LDH 活性、NO 和 MDA 水平的比较 $\bar{x}\pm s$

| 组别 | $n$ | 血管内皮细胞存活率/% | 血管内皮细胞培养液中 LDH/(U·$L^{-1}$) | 血管内皮细胞培养液中 MDA/(μmol·$g^{-1}$蛋白) | 血管内皮细胞培养液中 NO $c$/(μmol·$L^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|
| 正常对照组 | 4 | 100.0±17.4 | 21.29±2.01 | 0.91±0.32 | 51.15±4.98 |
| 高糖损伤组 | 4 | 54.4±14.8* | 46.48±4.01* | 4.82±0.28* | 26.52±2.55* |
| 低剂量 β-C 组 | 4 | 62.8±16.8 | 45.11±4.23 | 3.77±0.58 | 28.22±4.21 |
| 中剂量 β-C 组 | 4 | 76.8±13.0# | 37.12±3.37# | 1.85±0.41## | 31.15±6.57# |
| 高剂量 β-C 组 | 4 | 81.4±14.8# | 34.81±3.61## | 1.76±0.30## | 38.39±5.86# |

* $P<0.01$ 与正常对照组比较,# $P<0.05$、## $P<0.01$ 与高糖损伤组比较。

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

### 2.2 β-C 对血管内皮细胞凋亡及 ROS 水平的影响

正常对照组细胞主要集中在左下象限,表面以活细胞为主;右下象限为凋亡细胞,数量较少(封三图 1A)。高糖损伤组右下象限细胞数量较正常对照组明显增加,出现大量凋亡细胞,右上象限也有少量细胞为死亡细胞(封三图 1B)。低剂量 β-C 组右下象限细胞数量较高糖损伤组略微减少(封三图 1C)。中剂量 β-C 组右下象限细胞数量较高糖损伤组明显减少(封三图 1D)。高剂量 β-C 组右下象限细胞数量较高糖损伤组显著减少(封三图 1E)。

高糖损伤组的血管内皮细胞凋亡率、血管内皮细胞中 ROS 水平均明显高于正常对照组(均 $P<0.01$),低、中和高剂量 β-C 组的血管内皮细胞凋亡率、血管内皮细胞中 ROS 水平均明显低于高糖损伤组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。见表 2。

表 2 各组血管内皮细胞凋亡率、血管内皮细胞中 ROS 水平的比较 $\bar{x}\pm s$

| 组别 | $n$ | 血管内皮细胞凋亡率/% | 血管内皮细胞中 ROS |
|---|---|---|---|
| 正常对照组 | 4 | 7.74±2.07 | 30.14±5.65 |
| 高糖损伤组 | 4 | 32.41±11.54* | 101.25±28.76* |
| 低剂量 β-C 组 | 4 | 28.55±12.21# | 80.57±10.58# |
| 中剂量 β-C 组 | 4 | 26.20±9.97# | 63.45±7.89## |
| 高剂量 β-C 组 | 4 | 21.38±14.04# | 60.81±11.45## |

* $P<0.01$ 与正常对照组比较,# $P<0.05$、## $P<0.01$ 与高糖损伤组比较。

## 3 讨论

糖尿病对人体的危害主要表现在各种并发症,糖尿病并发症主要包括大血管并发症和微血管并发症,其中大血管并发症是糖尿病患者致残和致死的主要原因。糖尿病大血管并发症病理过程复杂,目前有研究[9-11]认为,糖尿病患者高血糖状态,使细胞内氧化应激加强,是大血管并发症的初始阶段。氧化应激加强,使内皮细胞 ROS 生成增加,而后者通过调节血管内皮细胞 NO 灭活、巨噬细胞分泌细胞因子以及体内单核细胞的迁移和分化,最终诱导血管内皮细胞凋亡,导致的血管内皮功能异常,而血管内皮功能异常是大血管并发症的主要病理生理过程。由此可见,抑制高血糖,增强氧化应激,避免血管内皮细胞凋亡及血管内皮功能异常,可能成为预防糖尿病大血管病变的途径[12]。

β-C 是常见类胡萝卜素之一,类胡萝卜素呈现很强的抗氧化性,具有清除自由基、保护血管、抗肿瘤、护肤、增强免疫功能及保护神经系统等多方面的作用[13]。本研究结果显示,与正常对照组比较,高糖损伤组的血管内皮细胞存活率、血管内皮细胞培养液中 NO 水平均明显降低,血管内皮细胞培养液中 LDH 活性、MDA 水平及高糖损伤组的血管内皮细胞凋亡率、血管内皮细胞 ROS 水平均明显升高(均 $P<0.01$);与高糖损伤组比较,中、高剂量 β-C 组的血管内皮细胞存活率、血管内皮细胞培养液中 NO 水平均明显升高,血管内皮细胞培养液中 LDH 活性、MDA 水平及低、中和高剂量 β-C 组的血管内皮细胞凋亡率、血管内皮细胞 ROS 水平均明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。如事先使用不同浓度 β-C(10、20、40 $\mu mol\cdot L^{-1}$)做预处理,血管内皮细胞的损伤得到了不同程度的减弱,特别是在 β-C 高剂量组(40 $\mu mol\cdot L^{-1}$),其对高糖导致血管内皮损伤的保护作用较为显著。中、高剂量 β-C 组血管内皮细胞培养液中 NO 水平升高,血管内皮细胞中 ROS 水平减少。

细胞存活率及凋亡水平能反映血管内皮细胞受损程度。MDA 是脂质过氧化后形成的脂质过氧化物,因此细胞氧化应激的形成与细胞内 MDA 的水平有很大关系。MDA 的变化可间接反映细胞损伤程度,MDA 水平增加,说明血管内皮细胞损伤的原因与高糖诱导的氧化应激有关[14]。NO 由血管内皮细胞分泌,是维持血管内皮紧张度及各项功能的活性物质之一[15]。NO 水平是评价血管功能是否正常的关键指标,对于血管的舒缩、血液内环境的稳定及防止血小板和白细胞作用于血管壁从而抑制血管平滑肌细胞增殖和迁移、保护血管免受内源性损害等都有重要的作用[16]。血管内皮功能紊乱时,NO 水平降低。ROS 是调节血管结构和功能状态的重要信号分子,可调节内皮细胞的增生、生长和凋亡[17]。正常情况下,机体的抗氧化能力与不断产生的氧自由基的氧化能力之间保持着动态平衡,细胞内 ROS 处于一个相对稳定的水平,不会引起组织损伤。高糖使细胞内氧化应激加强,导致内皮细胞 ROS 生成增加,从而影响抗氧化酶活性,使组织中的 ROS 水平升高,导致机体损伤。另外,ROS 过多还与动脉粥样硬化等的发生密切相关[18]。

综上所述,可以推测高糖可诱发血管内皮功能障碍,其机制与促进 ROS 产生、加速 NO 降解和损伤血管内皮细胞诱发细胞凋亡有关。β-C 对内皮细胞损伤的保护作用可能与抗脂质过氧化作用和诱导 NO 的生成、促进 ROS 的降解有关,而关于高糖所致内皮细胞损伤和 β-C 发挥保护作用的具体机制还

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

需进一步探讨。

## 参考文献:


[1] 江芳芳,邹文. 2 型糖尿病患者颈动脉硬化临床分析[J]. 南昌大学学报:医学版,2011,51(1):73-74.

[2] Tabit C E,Chung W B,Hamburg N M,et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus:molecular mechanisms and clinical implications[J]. Rev Endocr Metab Disord,2010,11(1):61-74.

[3] 胡丽叶,宋光耀,朱旅云,等. 高血糖人群早期血管功能改变及相关因素探讨[J]. 中国糖尿病杂志,2011,19(11):838-840.

[4] 王瑞英,禹远远,王绵,等. 血管内皮功能与 2 型糖尿病患者大血管病变的关系[J]. 中国老年学杂志,2010,30(12):1730-1731.

[5] 张洁,董闪闪,康岩,等. 2 型糖尿病肾病患者血糖波动与氧化应激的相关性研究[J]. 中国全科医学,2013,16(29):3410-3413.

[6] 叶锦霞,梁日欣,王岚. 氧化应激与心血管疾病的关系研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(10):68-70.

[7] Bosio G N,Breitenbach T,Parisi J,et al. Antioxidant β-carotene does not quench singlet oxygen in mammalian cells[J]. J Am Chem Soc,2013,135(1):272-279.

[8] 潘良朋,曹余光. 穿心莲内酯对人前列腺癌 DU145 细胞的增殖抑制及凋亡诱导作用的体外研究[J]. 南昌大学学报:医学版,2013,53(4):5-8,14.

[9] 卢细娇,潘海林. 代谢综合征内皮功能紊乱与大血管病变的研究进展[J]. 医学综述,2010,16(11):1705-1708.

[10] 魏聪,申锷,胡兵. 糖尿病大血管病变的研究进展[J]. 上海交通大学学报:医学版,2010,30(10):1292-1296.

[11] Skeppholm M,Kallner A,Kalani M,et al. ADAMTS13 and von Willebrand factor concentrations in patients with diabetes mellitus[J]. Blood Coagul Fibrinolysis,2009,20(8):619-626.

[12] 燕建锋,何胜虎,严凤娣,等. 高糖诱导人脐静脉血管内皮细胞损伤及盐酸贝那普利对其保护作用的实验研究[J]. 中国全科医学,2008,11(15):1345-1347,1350.

[13] 孙玉敬,乔丽萍,钟烈洲,等. 类胡萝卜素生物活性的研究进展[J]. 中国食品学报,2012,12(1):160-166.

[14] 玛尔孜亚·达尼牙尔,许晨波,杨梅,等. 高糖环境对血管内皮细胞增殖和氧化应激的影响[J]. 新疆医科大学学报,2011,34(11):1237-1240.

[15] Sjöholm A,Nyström T. Endothelial inflammation in insulin resistance[J]. Lancet,2005,365(9459):610-612.

[16] American Diabetes Association. Treatment of hypertension in adults with diabetes[J]. Diabetes Care,2002,25(1):199-201.

[17] 任蓓,潘澄,林鹏,等. 高糖诱发氧化应激导致血管内皮细胞凋亡机制研究[J]. 海峡药学,2013,25(6):268-271.

[18] van den Oever I A,Raterman H G,Nurmohamed M T,et al. Endothelial dysfunction,inflammation,and apoptosis in diabetes mellitus[J]. Mediators Inflamm,2010,2010:792393.


(责任编辑:胡炜华)

(上接第 23 页)

## 3 讨论

VPA 血药浓度低于 30 ~50 μg·mL$^{-1}$则不能控制癫痫发作,而血药浓度超过 100 μg·mL$^{-1}$则可能产生致死的肝脏损害严重毒性反应,故监测其血药浓度有利于临床合理用药[6]。

由于 VPA 在紫外区无特征吸收,用 2-溴-4'-硝基苯乙酮在三乙胺的催化条件下与其衍生化反应。笔者考察了盐酸、硫酸酸化后对峰面积的影响,3 mol·mL$^{-1}$ 硫酸酸化后峰面积大,回收率大;此外还考察加热时间,15 min 内标峰面积不应低于 3 000[3],酸化后混匀时间应控制,否则易发生乳化,使实验结果值偏大。测定波长由二极管阵列监测器在 200~360 nm 波长范围扫描结果所得,在 264 nm 条件下衍生物具有最大吸收。本法精密度和准确性均符合测定要求,可适用于监测临床血药浓度。

## 参考文献:


[1] 曹丰,陈燕敏. 丙戊酸钠血药浓度监测及意义[J]. 中国药物应用与监测,2005,2(6):23-25.

[2] 张华年,蔡长清. 程序升温毛细管气相色谱法监测丙戊酸血药浓度的价值及临床意义[J]. 儿科药学杂志,2007,13(2):14-16.

[3] 李顺炜,毛名扬. 改进的柱前衍生-高效液相色谱法测定人血中丙戊酸钠[J]. 中国医院药学杂志,2005,25(8):713-715.

[4] 周莉华,涂琼. HPLC 法测定人血清中丙戊酸钠的浓度[J]. 中国药房,2011,22(26):2441-2442.

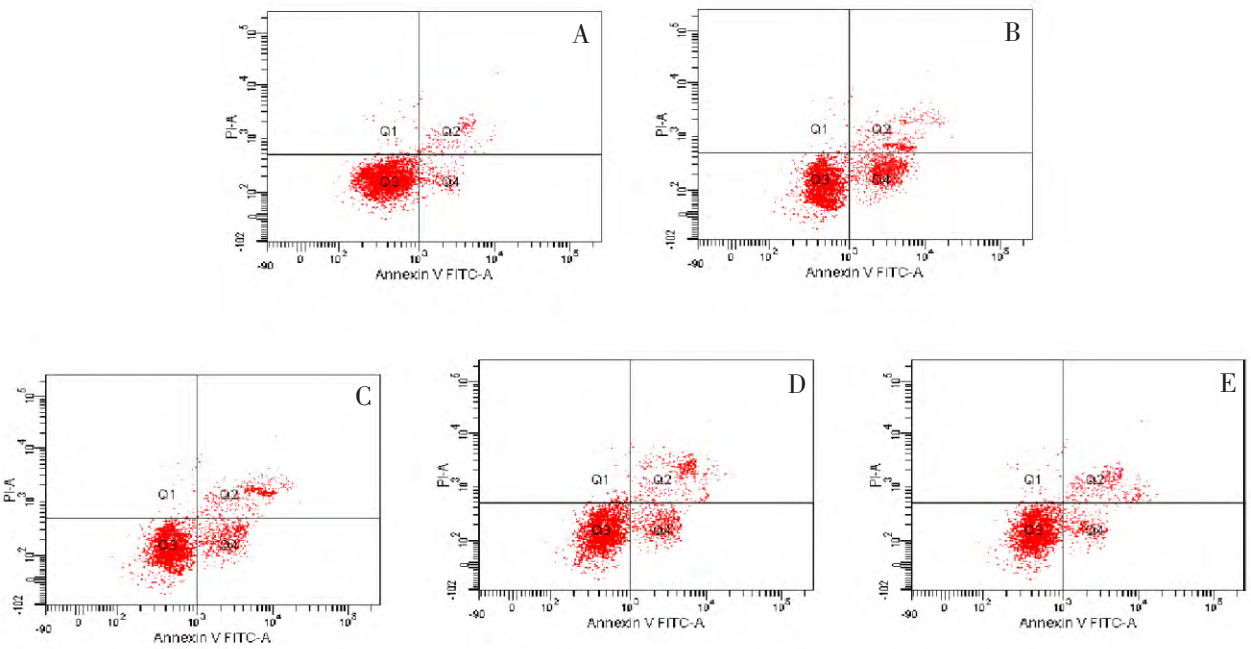
[5] 戴博,张华峰. LC-MS 法测定人血浆中丙戊酸钠的浓度[J]. 中国药房,2012,23(22):2057-2058.

[6] 胡纪原,谢晓梅. HPRPC 法结合紫外吸收衍生法测定血清丙戊酸浓度[J]. 安徽医学,1997,18(6):66-67.


(责任编辑:况荣华)

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

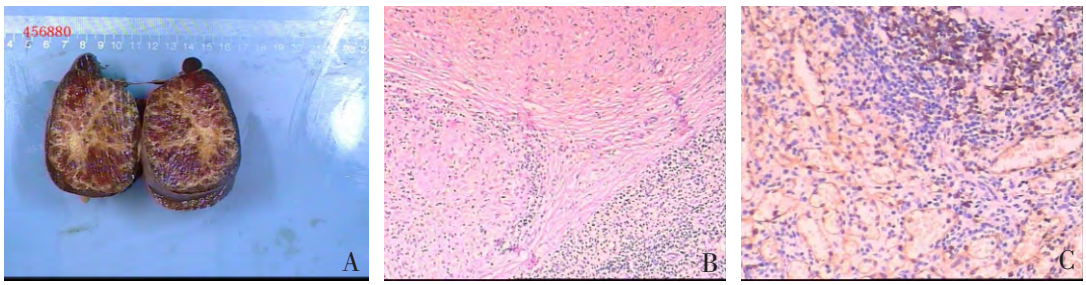
**β-胡萝卜素对高糖诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用**（正文见第 24 页）




A：正常对照组；B：高糖损伤组；C：低剂量 β-C 组；D：中剂量 β-C 组；E：高剂量 β-C 组。

**图 1　流式细胞仪检测 5 组血管内皮细胞凋亡率的情况**

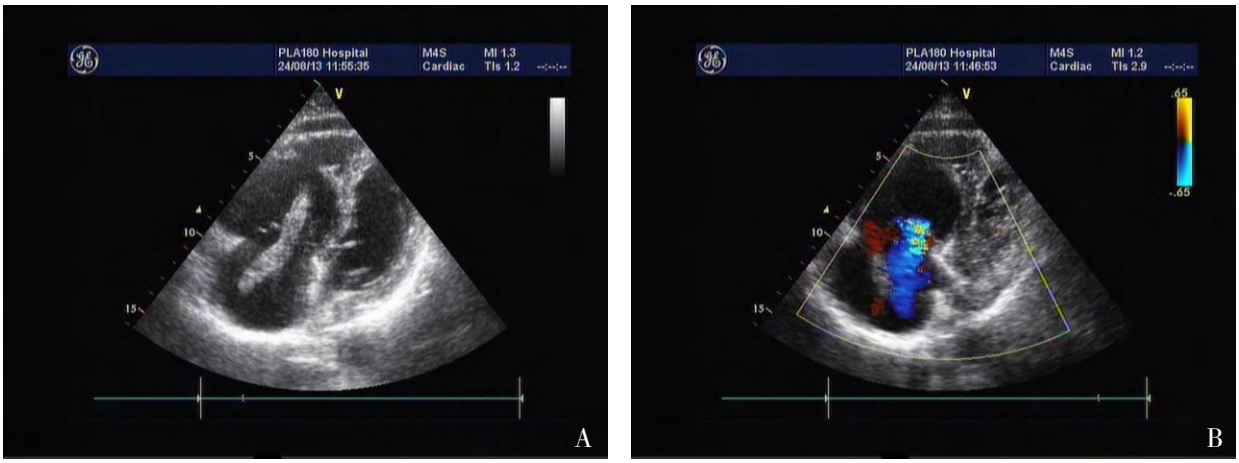
**脾脏硬化性血管瘤样结节性转化 1 例**（正文见第 100 页）




A：大体标本图；B：病理切片图（低倍镜，HE）；C：病理切片图（高倍镜，HE）。

**图 1　脾脏 SANT 的大体标本及病理表现**

**超声心动图诊断右心房巨大血栓 1 例**（正文见第 106 页）




A：右心房见血栓；B：血栓内部无彩色血流信号。

**图 1　超声心动图表现**

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net