

人参多糖对冠心病大鼠心肌细胞线粒体的保护作用

万浩芳, 应佳妮, 关阳, 王林燕

(浙江中医药大学中医药科学院, 浙江杭州 310053)

摘要: 本文研究了人参多糖对冠心病大鼠线粒体的保护作用。通过建立冠心病大鼠模型, 采用人参多糖进行干预, 检测线粒体钙 (Ca^{2+})、琥珀酸脱氢酶 (SDH)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (SOD) 的含量水平, 以及可溶性 Fas (FAS)、Fas 配体 (FASL)、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 及 B 淋巴细胞瘤-2 基因相关 X 蛋白 (Bax) 的表达。结果表明, 随着人参多糖作用浓度的增加, Ca^{2+} 浓度和 SDH 活性均有显著性变化 ($p < 0.05$), 其中, 高剂量组 Ca^{2+} 浓度、SDH 活性分别为 $43.41 \mu\text{mol/g}$ 和 7.21 U/mg 。人参多糖作用后, 高剂量组 MDA 含量、GSH-Px 酶活和 SOD 酶活分别为 4.19 nmol/mL 、 132.42 U/mg 和 90.18 U/mL , 与模型组均有显著性差异 ($p < 0.05$)。同时, 与模型组相比, 人参多糖能显著降低大鼠的 FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 表达水平 ($p < 0.05$)。其中高剂量组的 FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 的表达量分别为 1.21、1.09、1.08 和 1.02。结果说明, 人参多糖可改善冠心病模型大鼠血脂异常, 具有抗氧化、抗肿瘤的作用, 对线粒体的保护作用较强。

关键词: 人参多糖; 冠心病模型大鼠; 丙二醛; 线粒体

文章编号: 1673-9078(2020)11-24-28

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.11.0510

Protective Effect of Ginseng Polysaccharide on Mitochondria in Rats with Coronary Heart Disease

WAN Hao-fang, YING Jia-ni, GUAN Yang, WANG Lin-yan

(Academy of Chinese Medical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract: The protective effect of ginseng polysaccharide on mitochondria in rats with coronary heart disease was studied. The levels of mitochondrial calcium (Ca^{2+}), succinate dehydrogenase (SDH), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), soluble Fas (FAS), Fas ligand (FASL), b-lymphoma-2 (Bcl-2) and b-lymphoma-2 genes related X protein (Bax) were detected by the intervention of ginseng polysaccharide. The results showed that the concentration of Ca^{2+} and SDH activity were significantly changed with the increase of the action concentration of ginseng polysaccharide ($p < 0.05$), among which, the Ca^{2+} concentration and SDH activity in the high dose group were $43.41 \mu\text{mol/g}$ and 7.21 U/mg respectively. After the action of ginseng polysaccharide, MDA content, GSH PX enzyme activity and SOD activity in high dose group were 4.19 nmol/mL , 132.42 U/mg and 90.18 U/mL respectively, which were significantly different from those in the model group ($p < 0.05$). At the same time, compared with the model group, ginseng polysaccharide significantly reduced the expression levels of FASL, Fas, Bcl-2 and Bax in rats ($p < 0.05$). The expression of FASL, Fas, Bcl-2 and Bax in high dose group was 1.21, 1.09, 1.08 and 1.02, respectively. The results showed that ginseng polysaccharide could improve the blood lipid abnormality in rats with coronary heart disease, and had the function of anti-oxidation and anti-tumor, and had strong protective effect on mitochondria.

Key words: ginseng polysaccharide; coronary heart disease model rat; malondialdehyde; mitochondria

引文格式:

万浩芳, 应佳妮, 关阳, 等. 人参多糖对冠心病大鼠心肌细胞线粒体的保护作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(11): 24-28

WAN Hao-fang, YING Jia-ni, GUAN Yang, et al. Protective effect of ginseng polysaccharide on mitochondria in rats with coronary heart disease [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(11): 24-28

冠心病是严重危害人类健康的心血管疾病, 冠状动脉供血相对不足主要是由冠状动脉粥样硬化导致冠

收稿日期: 2020-06-01

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (LQ20H270017)

作者简介: 万浩芳 (1992-), 女, 助理实验师, 研究方向: 中药制剂新剂型新技术研究

脉痉挛性与冠脉管腔狭窄改变, 导致心肌缺氧、缺血所引起的心脏疾病^[1]。既往认为血脂沉积及血管退行性改变是导致动脉粥样硬化的原因, 而贯穿冠脉粥样硬化的始终是血管内皮炎症的发生发展, 可引起平滑肌增殖, 血管内皮损伤等病理生理过程^[2]。冠心病后细胞凋亡的主要是通过两条途径, 主要为线粒体途径

与死亡受体途径,其分子基础是线粒体通透性转换孔道^[3,4]。线粒体通透性转换孔道是位于线粒体内外膜上的多蛋白复合体,保护线粒体结构与功能、维持线粒体膜电位发挥着重要的作用^[5]。CytoC 在线粒体通路激活的标志,其位于线粒体内膜的外表面,是线粒体垫子传递链的重要成分,其被释放后,可与凋亡蛋白酶激活因子 1、Caspase-9 结合形成凋亡复合体^[6]。目前除了血脂、吸烟与年龄等因素,炎症因子也是预测冠心病的病情程度的危险因素^[7]。炎症反应不仅可诱导产生相关细胞因子,还可促进局部炎症发展,积极的控制炎症反应,可阻断补体介导的动脉粥样硬化^[8]。因此对冠心病患者进行调脂等危险因素的同时,控制炎症反应也尤为重要。

人参中含有 Vc、维生素 B1、泛酸、生物素、烟酸、叶酸等多种维生素类营养成分,可提供人体必需的有机化合物,维持人体正常是生理功能^[9]。人参微温、性平,可脾肺之气与补元气,具有重要的药用价值,还能生津、安神,能够调节血糖血压、促进造血功能、增强免疫力^[10]。人参中氨基酸、人参皂苷、微量元素以及酚类等物质,具有抗肿瘤、降血糖、抗氧化剂调节免疫等作用^[11]。人参多糖是种免疫刺激剂,可影响免疫活性细胞分化、繁殖及成熟,提高机体自身的免疫防御功能,可直接损伤肿瘤细胞的 DNA 来诱导细胞凋亡^[12]。人参多糖对心肌的基本结构进行保护,主要是由人参果胶与人参淀粉组成,具有降血糖、免疫力与抗肿瘤等药理作用,有效减轻心室重构^[13]。相关研究表明^[14],人参多糖还具抗免疫调节、抗氧化、抗衰老、抗肿瘤等作用。本文将研究人参多糖对冠心病模型大鼠的干预效果及对线粒体凋亡通路的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

选取健康、雄性、SD 大鼠 SPF 级 50 只,年龄 7~10 周,平均年龄(8.5±0.4)周,体重 200~230 g,平均体重(215±20)g,由辽宁长生生物技术有限公司提供(动物批准文号:SCXK 辽 2010-0001),所有大鼠实验前均适应性饲养在中科院动物饲养中心,且经中科院伦理委员会批准。

1.2 主要仪器设备

ELISA 检测试剂盒,南京森贝伽生物科技有限公司;SDH 试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.3 主要试剂

兔抗人一抗、二抗,美国 ABZOOM 生物公司;垂体后叶素,南京新贝药业有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.4 方法

1.4.1 人参多糖提取和制备

取适量人参粉末,按照 1:10 比例的料液加入蒸馏水,充分搅拌,水浴 2 h 在 100 ℃恒温下,提取两次,经过过滤后得到滤液,之后将提取的滤液浓缩至 800 mL。加入 5 倍量的无水乙醇向浓缩液中,放置过夜在 4 ℃的环境下,使用布氏漏斗抽滤,经过醇沉 3 次后,硫酸-苯酚法显色检测,合并上清液,-80 ℃冷冻干燥,得到人参粗多糖产物。

将干燥的人参粗多糖粉末配成 5%的水溶液,在磁力搅拌器上充分搅拌均匀溶解 6 h,3500 r/min 离心处理 10 min 后,在上清液中加入 1.4 mg 的淀粉酶,37 ℃水浴过夜保存。第二天以 80%的乙醇醇沉过夜,3500 r/min 离心处理 15 min 后,保留沉淀,收集上清液加入无水乙醇其终极浓度为 80%,醇沉过夜后,3500 r/min 离心处理 15 min,两次沉淀合并,将其存放于 P₂O₅ 真空干燥器中进行干燥,得到脱淀粉人参多糖。

1.4.2 人参粗多糖分离纯化

1.4.2.1 Sevage 法除蛋白

取粗提的多糖,配置成 10 g/L 的溶液,按照 Sevage 试剂与多糖溶液的体积比值 1:3 加入 Sevage 试剂(氯仿-正丁醇=4:1),充分搅拌,混合 30 min 后静置分层,将下层乳白色沉淀去掉,继续加入 Sevage 试剂,不再产生白色沉淀是停止重复操作。多糖沉淀使用布氏漏斗抽滤得到,进行真空冷冻干燥。

1.4.2.2 人参多糖含量测定

使用苯酚-硫酸比色法,吸光度值测定按标准曲线绘制方法,代入回归方程计算。总多糖含量(%)=(总多糖浓度×多糖溶液体积/提取物质量)×100%。糖醛酸的含量测定多糖中糖醛酸的含量采用间羟基联苯法测定。

1.4.3 冠心病模型建立

正常组大鼠使用普通饲料进行喂养,模型组、立普妥组、人参多糖低剂量组、人参多糖中剂量组及人参多糖高剂量组大鼠每日使用高脂饲料进行喂养(含 10%猪油、87.3%基础饲料、2%胆固醇、0.5%胆酸钠、0.2%丙基硫氧嘧啶),在末次灌胃前 72 h 开始,腹腔注射垂体后叶素 30 U/kg 在灌胃 30 min 后,连续注射 3 次,隔日 1 次。正常组大鼠给予注射等容量的生理盐水。

1.4.4 人参多糖干预及分组

建模成功, 将其他大鼠随机分为模型组、立普妥组、人参多糖低剂量组、人参多糖中剂量组及人参多糖高剂量组, 各 10 只。模型组大鼠给予生理盐水; 立普妥组给予 2 mg/kg 的溶液进行灌胃; 人参多糖低剂量组大鼠每日给予人参多糖 50 mg/kg; 人参多糖中剂量组大鼠每日给予人参多糖 100 mg/kg; 人参多糖高剂量组大鼠每日给予人参多糖 200 mg/kg。五组大鼠均连续干预 1 周。

1.4.5 线粒体钙含量与 SDH 活性

线粒体沉淀硝酸消化后原子吸收法测定钙含量; SDH 活性按照试剂盒说明操作。

1.4.6 病理学观察

将大鼠处死, 左心房组织取部分, 放置于甲醛溶液中, 固定 24 h, 常规脱水、透明、石蜡包埋, 进行切片、HE 染色, 光镜下常规组织学检查。

1.4.7 TNF- α 、VEGF 及 hs-CRP 水平

取血前禁食 12 h, 以鼠尾采血法取血 3 mL, 以 1000 r/min 低温离心 15 min, 取血清。采用酶联免疫吸附试验检测 TNF- α 、VEGF 及 hs-CRP 水平。

1.4.8 Western blot 检测 FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 蛋白

将所采集到的所有标本, 进行研磨, 然后加入蛋白缓冲液, 常规蛋白提取, BCA 法定量分析。50 μ g 蛋白样品上样后 SDS-PAGE 电泳, 电转到 PVDF 膜, 在 TBST 中将 5% 的脱脂奶粉避光封闭 1 h, 洗涤后加入一抗稀释溶液(FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 按照 1:1000 比例进行稀释), 在 4 $^{\circ}$ C 的环境中保存过夜, 洗涤后加入二抗稀释溶液(FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 按照 1:5000 比例进行稀释), 在温床中孵育 1 h 后再次洗涤, 加入发光液 ECL, 使软件分析蛋白条带灰度值, 内参蛋白是 GAPDH。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 三组数据比较采用 F 值检验, 两组间比较采用独立样本 t 检验, $p < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 人参多糖的提取与纯化

采用热水浸提法提取 1.00 kg 人参, 得到 87.5 g 人参多糖, 其得率为 8.75%。苯酚-硫酸比色法检测人参多糖的含量为 51.50%, 间羟基联苯法测定多糖中的糖醛酸含量为 15%。

2.2 大鼠心肌线粒体的钙含量与 SDH 活性的变化

人参中含有多种皂甙和甾醇如豆甾醇、谷甾醇、菜油甾醇、胡萝卜甙和人参皂甙等, 能调节身体代谢功能和促进身体发育。人参中含有低聚糖、单糖和多糖等多种糖类, 能为人体提供热能。本文研究结果显示, 人参多糖高剂量组 Ca^{2+} 为 43.41 $\mu\text{mol/g}$ 、SDH 为 7.21 U/mg 与模型组和其他实验组相比, 均有显著性差异 ($p < 0.05$), 甚至接近对照组(立普妥组)的水平, 说明人参多糖能显著降低低于线粒体中 Ca^{2+} 的水平, 同时提高 SDH 的活力水平。周思思等^[15]研究也表明, 人参多糖可通过提高机体抗氧化能力, 减轻脂质过氧化反应, 降低氧自由基的生成, 其具有较多的抗氧化成分, 本文研究与其保持一致。

表 1 各组大鼠心肌线粒体钙含量与 SDH 活性的改变

Table 1 Changes of calcium content and SDH activity in cardiac mitochondria ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	$\text{Ca}^{2+}/(\mu\text{mol/g})$	SDH/(U/mg)
模型组	10	53.91 \pm 6.76 ^a	5.41 \pm 1.06 ^a
立普妥组	10	43.57 \pm 5.48 ^b	6.18 \pm 1.21 ^b
低剂量组	10	48.05 \pm 5.11 ^c	5.12 \pm 1.38 ^c
中剂量组	10	44.72 \pm 4.14 ^{bc}	5.67 \pm 1.92 ^d
高剂量组	10	43.41 \pm 4.67 ^b	6.02 \pm 1.44 ^b

注: 同列字母不同表示差异性显著, $p < 0.05$, 下同。

2.3 人参多糖对冠心病模型大鼠心肌组织的影响

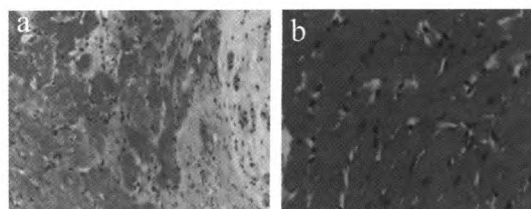


图 1 冠心病大鼠心肌组织 HE 染色

Fig.1 HE staining of myocardial tissue in coronary heart disease rats (HE, $\times 200$)

注: a: 干预前; b: 干预后。

如图 1 所示, 人参多糖作用前心肌细胞结构不完整, 心肌纤维排列紊乱, 线粒体聚集肿胀, 部分发生膜破裂, 嵴降解, 大量炎症细胞浸润, 纤维组织增生, 细胞核无序排列、变小。人参多糖作用后心肌组织纤维排列整齐, 明暗带结构变清晰, 线粒体形状规则, 膜完整, 嵴密集规则, 炎症细胞浸润明显减少。

表 2 大鼠心肌线粒体 MDA、GSH-Px 及 SOD 水平比较

Table 2 Comparison of the levels of MDA, GSH-Px and SOD in cardiac mitochondria of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	MDA/(nmol/mL)	GSH-Px/(U/mg)	SOD/(U/mL)
模型组	10	5.03±1.25 ^a	105.21±13.24 ^a	70.25±12.56 ^a
立普妥组	10	4.31±1.13 ^b	133.57±14.56 ^b	99.19±12.82 ^b
低剂量组	10	4.95±1.06 ^a	114.61±16.25 ^c	73.27±13.24 ^a
中剂量组	10	4.62±0.82 ^c	122.21±22.41 ^d	85.37±15.37 ^c
高剂量组	10	4.19±1.01 ^d	132.42±18.35 ^b	90.18±14.21 ^d

表 3 大鼠心肌细胞凋亡相关基因的表达

Table 3 Expression ratio of rat myocardial apoptosis-related genes ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	FASL	FAS	Bcl-2	Bax
模型组	10	2.21±0.43 ^a	2.16±0.37 ^a	1.25±0.25 ^a	1.51±0.32 ^a
立普妥组	10	1.05±0.29 ^b	0.94±0.25 ^b	1.03±0.23 ^b	1.04±0.28 ^b
低剂量组	10	1.89±0.12 ^c	1.85±0.21 ^c	1.15±0.20 ^c	1.29±0.19 ^c
中剂量组	10	1.43±0.09 ^d	1.32±0.06 ^d	1.11±0.07 ^c	1.16±0.05 ^d
高剂量组	10	1.21±0.11 ^e	1.09±0.18 ^c	1.08±0.16 ^{bd}	1.02±0.17 ^b

2.4 大鼠心肌线粒体 MDA、NO 及 SOD 水平比较

越来越多实验证明，活性氧释放引发的氧化应激在多种心脏疾病中的损伤重构中起非常重要的作用，稳定心肌细胞线粒体电位，抗氧化参与线粒体机制保护心肌细胞。人参多糖根据其单糖组成不同，主要分为中性汤与酸性果胶两大类，酸性果胶常为杂多糖，富含半乳糖醛酸；中性糖主要包括阿拉伯半乳糖、葡萄糖^[16,17]。本文研究结果显示，与模型组相比，立普妥组、人参多糖低剂量组、中剂量组及高剂量组心肌线粒体 MDA 水平均降低，GSH-Px 及 SOD 水平均显著升高。其中人参多糖高剂量组 MDA 为 4.19 nmol/mL、GSH-Px 为 132.42 U/mg 及 SOD 为 90.18 U/mL。人参中含有铁、腺苷转化酶、淀粉酶、人参黄酮甙、麦芽醇、钙、钾等 20 多种微量元素^[18]，结果说明人参多糖可明显改善冠心病模型大鼠 MDA、GSH-Px 及 SOD 水平。

2.5 大鼠心肌凋亡相关基因表达比较

线粒体凋亡通路在细胞凋亡过程中具有重要的作用，当细胞损伤后，从线粒体中 CYC，激活 Caspase-3，诱发细胞凋亡。孙冰洁^[19]研究表明，人参多糖可通过调控 Bcl-2 表达，干预细胞的凋亡。本文研究结果表明，与模型组相比，随着人参多糖作用浓度的增加，人参多糖能显著降低大鼠的 FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 表达水平 ($p<0.05$)。其中人参多糖高剂量组的 FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 的表达量分别为 1.21、1.09、1.08

和 1.02。结果说明人参多糖可改善线粒体途径引起的心肌细胞凋亡，降低 FAS 和 Bax 的表达。人参制品被列为饮食补充剂，也可被添加为饮料与食品中，是一种健康补助食品，人参的次级代谢产物如挥发油、木脂素、皂苷、黄酮等均有重要的生物活性，初级代谢产物有多糖、有机酸、蛋白质、维生素、氨基酸等，在很大程度上体现人参的营养价值^[20]。

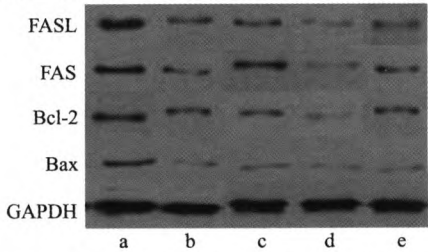


图 2 Caspase-3、Caspase-9、Bcl-2 及 Bax 蛋白表达 W B 图
Fig.2 W B map of Caspase-3, Caspase-9, Bcl-2 and Bax protein expression

注：a 为模型组；b 为立普妥组；c 为低剂量组；d 为中剂量组；e 为高剂量组。

3 结论

实验结果表明，人参多糖能通过提高机体抗氧化能力，能显著降低粒体钙 Ca^{2+} 含量，同时提高琥珀酸脱氢酶 (SDH) 的活性；人参多糖通过改善 MDA、NO 及 SOD 水平，提高冠心病大鼠机体的抗氧化水平；与模型组相比，随着人参多糖作用浓度的增加，人参多糖能显著降低大鼠的 FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 表达水平 ($p<0.05$)。其中人参多糖高剂量组的 FASL、FAS、Bcl-2 及 Bax 的表达量分别为 1.21、1.09、1.08 和 1.02，人参多糖可通过调控线粒体凋亡，对心肌细

胞线粒体的具有一定的保护作用。

参考文献

- [1] LU N, DU Y, LI H, et al. Omega-6 fatty acids down-regulate matrix metalloproteinase expression in a coronary heart disease-induced rat model [J]. *Int J Exp Pathol*, 2018, 99(5): 210-217
- [2] TU S, XIAO F, MIN X, et al. Catechin attenuates coronary heart disease in a rat model by inhibiting inflammation [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2018, 18(5): 393-399
- [3] ZHAO W, ZHANG H, SU JY. Micro RNA-29a contributes to intracranial aneurysm by regulating the mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(3): 2945-2954
- [4] HE L, YOU S, GONG H, et al. Cigarette smoke induces rat testicular injury via mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Mol Reprod Dev*, 2017, 84(10): 1053-1065
- [5] De Oliveira Mr, Nabavi Sf, Manayi A, et al. Resveratrol and the mitochondria: From triggering the intrinsic apoptotic pathway to inducing mitochondrial biogenesis, a mechanistic view [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(4): 727-745
- [6] HAN M, LING MT, CHEN J. The key role of mitochondrial apoptotic pathway in the cytotoxic effect of mushroom extracts on cancer cells [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2015, 25(3): 253-258
- [7] WU ZW, LIU YF, WANG S, et al. miRNA-146a induces vascular smooth muscle cell apoptosis in a rat model of coronary heart disease via NF- κ B pathway [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 18703-18712
- [8] ZHANG C, DENG Y, LEI Y, et al. The relationship between plasma selenium concentration and erythrocyte deformability in rat models of coronary heart disease [J]. *Minerva Cardioangiol*, 2018, 66(4): 518-520
- [9] DAKE AW, SORA ND. Diabetic dyslipidemia review: an update on current concepts and management guidelines of diabetic dyslipidemia [J]. *Am J Med Sci*, 2016, 351(4): 361-365
- [10] LIAO K, BIAN Z, XIE D, et al. A selenium-modified ginseng polysaccharide promotes the apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells via a mitochondrial-mediated pathway [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2017, 177(1): 64-71
- [11] SEO JY, CHOI JW, LEE JY, et al. Enzyme hydrolysates of ginseng marc polysaccharides promote the phagocytic activity of macrophages via activation of TLR2 and Mer tyrosine kinase [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2018, 28(6): 860-873
- [12] REYES AW, SIMBORIO HL, HOP HT, et al. Inhibitory effect of red ginseng acidic polysaccharide from Korean red ginseng on phagocytic activity and intracellular replication of *Brucella abortus* in RAW 264.7 cells [J]. *J Vet Sci*, 2016, 17(3): 315-321
- [13] ZHANG XY, SUN K, ZHU Q, et al. Ginseng polysaccharide serves as a potential radiosensitizer through inducing apoptosis and autophagy in the treatment of osteosarcoma [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2017, 33(11): 535-542
- [14] WAN JY, HUANG WH, ZHENG W, et al. Multiple effects of ginseng berry polysaccharides: plasma cholesterol level reduction and enteric neoplasm prevention [J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45(6): 1293-1307
- [15] 刘如秀,周晟芳,李慧,等.滋肾活血方对冠心病心肌缺血肾虚血瘀型大鼠外周血浆中ET、NO及IL-18含量的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2016, 22(1): 54-56.
- LIU Ru-xiu, ZHOU Sheng-fang, LI Hui, et al. Effect of Zishen Huoxue Fang on the contents of ET, NO and IL-18 in peripheral blood plasma of rats with coronary heart disease myocardial ischemia and kidney deficiency and blood stasis [J]. *China Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 2016, 22(1): 54-56
- [16] 周思思,王榆元,刘丹,等.超声波辅助提取人参花多糖工艺优化及其抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2015, 36(6): 76-81
- ZHOU Si-si, WANG Yu-yuan, LIU Dan, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from ginseng flower and its antioxidant activity [J]. *Food Science*, 2015, 36 (6): 76-81
- [17] HUANGFU F, ZHAO X, WANG X, et al. There is no association between TNF- α gene polymorphisms and the risk of coronary artery heart disease: a meta-analysis [J]. *J Cardiovasc Surg (Torino)*, 2017, 58(5): 770-778
- [18] TAN Z, LI L, MA Y, et al. Clinical significance of Cys-C and hs-CRP in coronary heart disease patients undergoing percutaneous coronary intervention [J]. *Braz J Cardiovasc Surg*, 2019, 34(1): 17-21
- [19] 孙冰洁.人參多糖对耐顺铂人鼻咽癌细胞耐药的逆转作用及其机制[J]. *山东医药*, 2017, 57(20): 31-33
- SUN Bing-jie. Reversal effect of ginseng polysaccharide on resistance to cisplatin-resistant human nasopharyngeal carcinoma cells and its mechanism [J]. *Shandong Medical Journal*, 2017, 57 (20): 31-33

(下转第 60 页)

- accompanied with obesity and insulin resistance in mice [J]. Life Sciences, 2008, 82(19-20): 983-990
- [15] Rather S A, Pothuraju R, Sharma R K, et al. Anti-obesity effect of feeding probiotic dahi containing *Lactobacillus casei* NCDC 19 in high fat diet-induced obese mice [J]. International Journal of Dairy Technology, 2014, 67(4): 504-509
- [16] Lee H Y, Park J H, Seok S H, et al. Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2006, 1761(7): 736-744
- [17] Salaj R, Stofilová J, Soltesová A, et al. The effects of two *Lactobacillus plantarum* strains on rat lipid metabolism receiving a high fat diet [J]. The Scientific World Journal, 2013, 9(29): 1-7
- [18] Harisa G I, Taha E I, Khalil A F, et al. Oral administration of *Lactobacillus acidophilus* restores nitric oxide level in diabetic rats [J]. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2009, 3(3): 2963-2969.
- [19] Cani P D, Amar J, Iglesias M A, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance [J]. Diabetes, 2007, 56(7): 1761-1772
- [20] Hotamisligil G, Shargill N, Spiegelman B. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance [J]. Science, 1993, 259(5091): 87-91
- [21] Tutomu W, Hiroki K, Yusuke M, et al. Spironolactone improves glucose and lipid metabolism by ameliorating hepatic steatosis and inflammation and suppressing enhanced gluconeogenesis induced by high-fat and high-fructose diet [J]. Endocrinology, 2010, 151(5): 2040-2049
- [22] Chon H, Choi B, Lee E, et al. Immunomodulatory effects of specific bacterial components of *Lactobacillus plantarum* KFCC11389P on the murine macrophage cell line RAW 264.7 [J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 107(5): 1588-1597
- [23] Chen F C, SHEN Kuo-ping, KE Liang-yin, et al. Flavonoids from *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze seed ameliorates TNF- α induced insulin resistance in HepG2 cells [J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2019, 27(4): 507-516

(上接第 28 页)

- [20] SUN X, ZHANG H, ZHANG Y, et al. Caspase-dependent mitochondrial apoptotic pathway is involved in astilbin-mediated cytotoxicity in breast carcinoma cells [J]. Oncol Rep, 2018, 40(4): 2278-2286

(上接第 48 页)

- [21] 叶文斌,罗辉,何玉鹏,等. Zn^{2+} 对果蝇生育力和寿命及抗氧化能力的影响[J].井冈山大学学报(自然科学版),2019,40(1): 29-33
- YE Wen-bin, LUO Hui, HE Yu-peng, et al. Effects of Zn^{2+} on the reproductive capacity, lifetime and antioxidant ability of *Drosophila melanogaster* [J]. Journal of Jinggangshan University (Natural Sciences Edition), 2019, 40(1): 29-33
- [22] 叶文斌,王昱,王瀚,等. Zn^{2+} 对铅中毒果蝇生育力、寿命及抗氧化能力的影响[J].化学与生物工程,2019,36(2):55-61
- YE Wen-bin, WANG Yu, WANG Han, et al. Effects of Zn^{2+} on reproductive capacity, lifetime, and antioxidant ability of lead-Poisoned *Drosophila melanogaster* [J]. Chemistry & Bioengineering, 2019, 36(2): 55-61
- [23] 王菊凤,李鸽鸣.蛹虫草多糖对果蝇种群期望寿命的影响[J].湖南农业科学,2010,9:133-135
- WANG Ju-feng, LI Hu-ming. Influence of *Cordyceps militaris* polysaccharide on expected life of *Drosophila melanogaster* population [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2010, 9: 133-135
- [24] 周意,栾洁,刘玉香,等.玛咖多糖对果蝇的抗衰老作用[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(18):151-154
- ZHOU Yi, LUAN Jie, LIU Yu-xiang, et al. Anti-aging effect of MACA polysaccharide on *Drosophila melanogaster* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2014, 20(18): 151-154