

制备 ALI 模型大鼠的干预,证实七叶对 ALI 模型的治疗作用;对七叶不同剂量的结果分析,可知其较小剂量安全有效;对合适剂量七叶进行长期疗效观察,表明其对 ALI 模型有远期疗效;最后,从氧化应激角度,对七叶抗炎、抗渗出作用机制进行初步探讨,为临床使用七叶治疗 ALI 提供剂量、时间和机制的实验依据。同时,本研究还存在不足:前期预实验 12mg/kg 七叶使大鼠尿血即停止实验而未观察其他病理损伤,本实验减小剂量观察七叶疗效时,也未对其可能损伤进行病理安全性观察,提示今后研究应对小剂量七叶的疗效和安全性进行全面考察;临床 ALI 的病因和发病机制有多种,其对应的药物作用途径和机制也很复杂,氧化应激反应只是其中的一种,其他可能途径有待在后续研究中补充和完善。

参考文献

- 1 中华医学会重症医学分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断与治疗指南(2006). 中华内科杂志,2007,5(46):430-435
- 2 耿耘,魏星. 急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征的中医发病机理探讨. 江西中医药,2002,33(5):11-12
- 3 邱海波,陈德昌,潘家绮,等. 急性肺损伤的炎症反应机制与药物治疗探讨. 中国危重病急救医学,1999,11(11):678-680
- 4 Murray JF,Matthay MA,Luce JM,*et al.* An expanded definition of the

- adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis*,1988,138:720-723
- 5 王祥瑞,杭燕南. 急性肺损伤-基础与临床. 北京:中国协和医科大学出版社,2005:1
- 6 Diehm C,Trampisch HJ,Lange S. Comparison of leg compression stocking and oral horse-chestnut seed extract therapy in patients with chronic venous insufficiency. *Lancet*,1996,347:292-294
- 7 付强,张奕,崔乃杰,等. 急诊医学. 北京:人民卫生出版社,1998:23-26
- 8 冯晓丽. 七叶皂苷钠治疗肺性脑病血气分析与血流变临床观察. 中国实用医药,2008,3(17):82-83
- 9 王红阳,房丽,王慧,等. 七叶皂苷钠预防急性放射性肺损伤的临床研究. 江苏中医药,2008,40(10):39-40
- 10 高晓玲,刘卓拉. 氧自由基在急性肺损伤发病中的作用. 国外医学呼吸系统分册,2002,22(6):310-312
- 11 宋德坤. 急性肺损伤中氧自由基的来源与损伤机制. 昆明医学院学报,1992,13(1):54-57
- 12 Christofidou-Solomidou M,Muzykantor VR. Antioxidant strategies in respiratory medicine. *Treat Respir Med*,2006,5(1):47-78
- 13 Liu H,Zhang D,Zhao B,*et al.* Superoxide anion, the main species of ROS in the development of ARDS induced by oleic acid. *Free Radic Res*,2004,38(12):1281-1287

(收稿:2010-11-06)

(修回:2011-06-16)

羊栖菜对高脂血症大鼠降血脂和抗氧化作用研究

于竹芹 帅 莉 李生尧 李晓丹 徐新颖

摘 要 **目的** 探讨羊栖菜在高脂血症大鼠中的抗氧化作用机制。**方法** 健康雌性 Wistar 大鼠 40 只,应用高脂饲料喂养方法建立高脂血症动物模型,羊栖菜粉饲料喂养干预治疗。氧化酶法检测大鼠血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)水平,硫代巴比妥酸法检测血清脂质过氧化物丙二醛(MDA)水平,硝酸还原酶法检测血清一氧化氮(NO)含量,黄嘌呤氧化酶法测定血清超氧化物歧化酶(SOD)活性,化学比色法检测血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的活性。**结果** 辛伐他汀组和羊栖菜治疗组动物血清 TG、TC 和 LDL 水平较模型对照组显著下降而 HDL 水平显著高于模型对照组($P < 0.05$)。辛伐他汀组和羊栖菜治疗组动物血清 MDA 和 NO 水平较模型对照组均显著下降($P < 0.05$),而血清 SOD 和 GSH-PX 活性均显著高于模型对照组($P < 0.05$)。但羊栖菜治疗组与辛伐他汀组比较,上述指标均无明显差异($P > 0.05$)。**结论** 羊栖菜活性成分可能通过增强 SOD 和 GSH-PX 的活性,发挥抗氧化作用而影响脂质代谢。

关键词 羊栖菜 高脂血症 超氧化物歧化酶 谷胱甘肽过氧化物酶 丙二醛 一氧化氮 大鼠

The Study of the Antioxidant Effects of *Hizikia Fusiformis* in Hyperlipemia Rats. Yu Zhuqin, Shuai Li, Li Shengyao, *et al.* Songshan Hospital, Qingdao University Medical College, Shandong 266021, China

基金项目:国家自然科学基金项目资助项目(40976085);温州市海洋与渔业专项资金[(2008)122];浙江省洞头县科技计划项目(N2006Y11B)

作者单位:266021 青岛大学医学院松山医院(于竹芹);266071 青岛大学化学化工与环境学院(帅莉);325700 温州,浙江省洞头县鹿丰羊栖菜研究所、浙江省洞头县水产科学技术研究所(李生尧、李晓丹、徐新颖)

Abstract Objective To investigate the antioxidant effects and mechanism of *Hizikia fusiformis* (*H. fusiformis*) in hyperlipemia rats. **Methods** Forty healthy female Wistar rats were used to establish hyperlipemia models by feeding fat – rich forage, and the *H. fusiformis* was applied as raw materials for potential marine drugs. The levels of serum lipid including the triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low – density lipoprotein (LDL) and high density lipoprotein (HDL) were detected by oxidase assay, lipid peroxide malondialdehyde (MDA) by thiobarbituric acid (TBA) assay, nitric oxide (NO) by nitrate reductase assay. The activity of superoxide dismutase (SOD) was determined by oxidase assay and glutathione peroxidase (GSH – PX) by chemical colormetry. **Results** In statins and *H. fusiformis* group rats, the levels of serum TG, TC and LDL decreased while HDL increased significantly than those in model group rats ($P < 0.05$). After treatment with statins and *H. fusiformis*, the levels of serum MDA and NO were lower than those in the model group rats ($P < 0.05$), while the activities of serum SOD and GSH – PX in statins and *H. fusiformis* group rats were significantly higher than those in the model group rats ($P < 0.05$). There was no difference between the *L. japonica* groups and the statins groups in all above indexes ($P > 0.05$). **Conclusion** *H. fusiformis* might play an antioxidant effect on lipid metabolism by increasing the activities of SOD and GSH – PX.

Key words *H. fusiformis*; Hyperlipemia; SOD; GSH – PX; MDA; NO; Rats

高脂血症的主要危害是导致动脉粥样硬化,进而导致众多的相关疾病^[1]。羊栖菜(*hizikia fusiformis*)是我国重要的经济海藻,近年研究表明,羊栖菜中富含多糖、蛋白质和多种对人体有益的微量元素,尤其羊栖菜多糖是一种具有多种药理活性的酸性多糖,主要由褐藻酸及褐藻糖胶组成,在干品羊栖菜中含量16%~24%,具有调节机体免疫、抗肿瘤、抗氧化、抗凝血、降血脂、降血糖和促进机体生长发育等作用^[2-5]。本研究通过常规饲养法给予高脂血症大鼠模型喂养含有羊栖菜粉的饲料,观察羊栖菜在高脂血症大鼠中的抗氧化作用和机制,探讨羊栖菜的药用价值。

材料与方法

1. 饲料制备:(1)普通饲料:由青岛市药物检验所动物中心提供。(2)高脂饲料:普通饲料59%+蔗糖20%+猪油10%+蛋黄粉10%+胆酸钠1%,混匀后压制成块状饲料,晾干备用。(3)羊栖菜饲料:羊栖菜样品系产于浙江温州海域的优质高产羊栖菜“中科1号”,羊栖菜多糖主要由褐藻酸及褐藻糖胶组成,在干品羊栖菜中含量占16%~24%,将羊栖菜切割粉碎呈颗粒粉末状,颗粒直径小于1mm^[3]。普通饲料90%+羊栖菜粉10%,混匀后压制成块状饲料,晾干备用。

2. 动物模型及试验方法:健康雌性Wistar大鼠40只,体重150~170g,清洁级,由青岛市药物检验所动物中心提供[SCXK(鲁)20090010]。实验前大鼠给予基础饲料适应性喂养1周,然后随机取10只作为正常对照组,普通饲料喂养;其余30只应用高脂饲料喂养法喂养4周建立高脂动物模型,第4周末经尾静脉取血0.5ml,分离血清测血脂水平,以血清三酰甘油大于1.8mmol/L和总胆固醇大于1.8mmol/L为动物模型成功的标志^[6]。血清三酰甘油和胆固醇水平未达到标准的6只动物剔除。将造模成功的24只大鼠随机分为3组:试验组继续用羊栖菜粉加入饲料饲养,相当于每日食用2g羊栖菜(10g/kg),阳性对照组每日灌胃辛伐他汀10mg/kg,组大鼠继续普通饲料饲养2周。

3. 评价指标:(1)血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)水平测定:实验结束后,禁食12h,摘除眼球取血4ml,4000r/min离心10min,分离血清,-20℃保存备用。采用氧化酶法(试剂盒由DiaSys公司提供)测定,按照试剂盒说明操作,取上述血清100μl,全自动生化分析仪(Beckman CX-7型,美国)测定。(2)血清脂质过氧化物丙二醛(MDA)和一氧化氮(NO)水平与超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽还原酶(GSH – PX)活性测定:取上述血清标本,测定前室温复溶,再次离心取上清测定。分别采用硫代巴比妥酸法、硝酸还原酶比色法、黄嘌呤氧化酶法和化学比色法(南京建成生物技术研究提供试剂盒)测定,按照步骤操作,蒸馏水调零,紫外分光光度计(Beckmann DU640型,美国)在波长532nm(MDA)和550nm(NO)与550nm(SOD)和412nm(GSH – PX)处测定各管的吸光度值,计算血清中MDA(以nmol/L表示)和NO(以μmol/L表示)的含量,SOD和GSH – PX(以U/ml表示)的活性。(3)肝组织LDL、HDL、MDA和NO含量及SOD和GSH – PX活性测定:实验结束后,颈椎脱臼处死动物,立即取肝脏组织2g,用生理盐水洗涤残存的血迹,-4℃冰浴中充分研磨,冷冻离心机(Eppendorf 5801,德国,12000r/min,-4℃)离心10min,取上清-20℃保存备用。测定前室温复溶,再次离心取上清测定。测定方法同血清。

4. 统计学处理:采用SPSS17.0软件进行统计学分析。数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用方差分析,两组均数间比较用 t 检验。

结 果

1. 血清TG、TC水平:造模前,各组物血清TG(0.96 ± 0.22)和TC(1.30 ± 0.14)水平均无显著性差异($P > 0.05$),说明动物分组合理。造模后TG(2.20 ± 0.17)和TC(2.25 ± 0.19)水平较造模前显著升高($P < 0.05$),说明模型成功。治疗后组间比较,模型对照组血清TG和TC水平显著高于正常对照组($P < 0.05$),而阳性对照组和羊栖菜治疗组与正

常对照组比较均无显著性差异 ($P > 0.05$)。羊栖菜治疗组和阳性对照组较模型对照组均显著下降 ($P < 0.05$)，羊栖菜治疗组略高于阳性对照组，但经统计学处理无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2. LDL 和 HDL 水平: 治疗后组间比较, 模型对照组血清 LDL 水平显著高于而 HDL 水平显著低于正常对照组 ($P < 0.05$), 而阳性对照组和羊栖菜治疗组

与正常对照组比较均无显著性差异 ($P > 0.05$); 羊栖菜治疗组和阳性对照组血清 LDL 水平较模型对照组均显著下降而 HDL 水平显著升高 ($P < 0.05$); 羊栖菜治疗组血清 LDL 和 HDL 水平与阳性对照组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。肝组织匀浆中 LDL 和 HDL 含量普遍高于血清水平, 但变化趋势和规律基本一致 (表 1)。

表 1 治疗后血清和肝组织匀浆 LDL 和 HDL 水平 (mmol/L)

分组	n	血清		肝组织匀浆	
		LDL	HDL	LDL	HDL
正常对照组	10	0.93 ± 0.19	0.30 ± 0.08	0.89 ± 0.18	1.43 ± 0.10
模型对照组	8	1.21 ± 0.12 ^a	0.17 ± 0.09 ^a	1.83 ± 0.29 ^a	1.93 ± 0.20 ^a
阳性对照组	8	0.91 ± 0.17 ^b	0.31 ± 0.06 ^b	0.71 ± 0.20 ^b	1.40 ± 0.19 ^b
羊栖菜治疗组	8	0.93 ± 0.17 ^{bc}	0.30 ± 0.13 ^{bc}	0.97 ± 0.26 ^{bc}	1.43 ± 0.18 ^{bc}

与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型对照组比较, ^b $P < 0.05$; 与阳性对照组比较, ^c $P > 0.05$

3. MDA 和 NO 水平: 结果表明, 模型对照组血清 MDA 和 NO 水平显著高于正常对照组 ($P < 0.05$), 而阳性对照组和羊栖菜治疗组与正常对照组比较均无显著性差异 ($P > 0.05$)。阳性对照组和羊栖菜治疗

组血清 MDA 和 NO 水平均显著低于模型对照组 ($P < 0.05$), 但羊栖菜治疗组与阳性对照组比较无明显差异 ($P > 0.05$)。肝组织匀浆中 LDL 和 HDL 含量普遍高于血清水平, 但变化趋势和规律基本一致 (表 2)。

表 2 治疗后血清和肝组织匀浆 MDA 和 NO 水平 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	血清		肝组织匀浆	
		MDA (nmol/L)	NO (μmol/L)	MDA (nmol/L)	NO (μmol/L)
正常对照组	10	6.73 ± 0.83	20.94 ± 2.91	241.95 ± 9.95	291.54 ± 8.26
模型对照组	8	9.69 ± 0.89 ^a	26.10 ± 2.33 ^a	219.28 ± 7.79 ^a	255.37 ± 7.95 ^a
阳性对照组	8	5.38 ± 0.87 ^b	19.20 ± 3.76 ^b	250.27 ± 8.50 ^b	290.14 ± 9.61 ^b
羊栖菜治疗组	8	6.15 ± 0.67 ^{bc}	24.36 ± 1.20 ^{bcd}	248.19 ± 1.97 ^{bc}	287.52 ± 3.29 ^{bc}

与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型对照组比较, ^b $P < 0.05$; 与阳性对照组比较, ^c $P > 0.05$

4. SOD 和 GSH - PX 活性: 结果表明, 模型对照组血清 SOD 和 GSH - PX 活性显著低于正常对照组 ($P < 0.05$), 而阳性对照组和羊栖菜治疗组与正常对照组比较均无显著性差异 ($P > 0.05$)。阳性对照组和羊栖菜治疗组血清 SOD 和 GSH - PX 活性均显著

高于模型对照组 ($P < 0.05$), 但羊栖菜治疗组与阳性对照组比较无明显差异 ($P > 0.05$)。肝组织匀浆中 LDL 和 HDL 含量普遍高于血清水平, 但变化趋势和规律基本一致 (表 3)。

表 3 治疗后血清和肝组织匀浆 SOD 和 GSH - PX 活性 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	血清		肝组织匀浆	
		SOD (U/ml)	GSH - PX (U/ml)	SOD (U/ml)	GSH - PX (U/ml)
正常对照组	10	241.95 ± 9.95	291.54 ± 8.26	6.73 ± 0.83	20.94 ± 2.91
模型对照组	8	219.28 ± 7.79 ^a	255.37 ± 7.95 ^a	9.69 ± 0.89 ^a	26.10 ± 2.33 ^a
阳性对照组	8	250.27 ± 8.50 ^b	290.14 ± 9.61 ^b	5.38 ± 0.87 ^b	19.20 ± 3.76 ^b
羊栖菜治疗组	8	248.19 ± 1.97 ^{bc}	287.52 ± 3.29 ^{bc}	6.15 ± 0.67 ^{bc}	24.36 ± 1.20 ^{bc}

与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型对照组比较, ^b $P < 0.05$; 与阳性对照组比较, ^c $P > 0.05$

讨 论

血脂升高时脂质过氧化作用增强,脂质过氧化物(LPO)及其代谢产物丙二醛(MDA)产生增多,SOD、GSH - Px 降低。MDA 能使酶分子中氨基酸发生交联、肽链断裂,形成新的聚合物,使原来酶活性丧失或改变,破坏细胞的膜结构,使膜内外离子交换紊乱加速自由基的产生^[7]。王尊文等^[5]实验发现,羊栖菜多糖可显著降低高脂血症大鼠体内 LPO 和 MDA 水平,提高 SOD 和 GSH - Px 活性,从而维持机体氧化及抗氧化系统的动态平衡,减少自由基的毒性不良反应,进一步降低脂质过氧化作用对血管的损伤。本实验中,高脂血症组大鼠血清 MDA 含量较正常组大鼠明显增加,说明高脂血症能使大鼠体内产生大量的脂质过氧化反应,而辛伐他汀治疗组和羊栖菜治疗组血清 MDA 含量均显著下降,说明辛伐他汀和羊栖菜能减轻高脂血症引发的脂质过氧化反应而具有明显的抗氧化作用。体内一氧化氮(NO)代谢异常及氧化/抗氧化系统的动态平衡发生紊乱或破坏,会导致体内自由基浓度异常过高及一系列自由基反应病理性加剧而诱发疾病^[8,9]。本实验中,高脂血症组大鼠血清 NO 含量显著高于正常组大鼠,而辛伐他汀组和羊栖菜治疗组 NO 的含量显著低于高脂血症组,实验结果与以上报道相符,说明辛伐他汀和羊栖菜都有调节脂蛋白代谢的作用。

超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - Px)是人体重要的抗氧化酶系统,两者协同作用以减少活性氧自由基的产生,防止脂质过氧化及其中间代谢产物对机体的损害^[10,11]。SOD 能清除超氧阴离子自由基(O_2^-)保护细胞免受损伤,(GSH - Px 能阻断脂质过氧化的链式反应,从而保护细胞膜的结构和功能^[12,13]。它们活性的降低必然使机体代谢产生的 O_2 和 H_2O_2 不能被及时清除,从而对机体造成各种损伤。本实验中,辛伐他汀组和羊栖菜治疗组大鼠血清 SOD 和 GSH - Px 活性较高脂血症组显著增强,说明具有增强机体抗氧化酶的活性,使脂质过氧

化程度降低。GSH - Px 具有还原过氧化物的功能,可降低脂质过氧化损伤。因此,羊栖菜可减轻由于抗氧化酶活性降低而导致的活性氧介导的各种损伤。

参考文献

- 1 Iversen A, Jensen JS, Scharling H, *et al.* Hypercholesterolaemia and risk of coronary heart disease in the elderly: impact of age: City Heart Study. *Eur J Intern Med*, 2009, 20(2): 139 - 144
- 2 王培培, 于广利, 杨波, 等. 选育羊栖菜与野生羊栖菜中褐藻胶与褐藻糖胶组成分析. *中国海洋药物*, 2009, 28(3): 39 - 43
- 3 岑颖洲, 王陵云, 马夏军, 等. 羊栖菜多糖体外抗病毒作用研究. *中国病理生理杂志*, 2004, 20(5): 765 - 768
- 4 季宇彬, 高世勇, 张秀娟. 羊栖菜多糖抗肿瘤作用及作用机制的研究. *中国海洋物*, 2004, 4(1): 7 - 9
- 5 王尊文, 华玉琴, 李国平, 等. 羊栖菜多糖对高脂模型大鼠血脂和抗氧化功能的影响. *中国海洋药物杂志*, 2008, 27(6): 13 - 15
- 6 张东, 武海军, 陈士萍, 等. 大鼠实验性高脂血症五种造模方法的比较. *中国药理学通报*, 2007, 23(9): 1254 - 1256
- 7 Surapaneni KM, Venkataramana G. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitam in E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis. *Indian J Med Sci*, 2007, 61(1): 9 - 14
- 8 Stoyanova II, Lazarov NE. Localization of nitric oxide synthase in rat trigeminal primary afferent neurons using NADPH diaphorase histochemistry. *Mol Histol*, 2005, 36(3): 187 - 192
- 9 王素华, 杜茂林, 张翼翔, 等. 尘肺患者血中一氧化氮、丙二醛、超氧化物歧化酶浓度变化的研究. *中国职业医学*, 2009, 36(1): 40 - 42
- 10 Jeon SM, Bok SH, Jangm K, *et al.* Antioxidative activity of maringin and lovastatin in high cholesterol - fed rabbits. *Life Sci*, 2001, 69: 2855. PMID: 11720089
- 11 Park SY, Bok SH, J SM, *et al.* Effect of rutin and tannic acid supplements on cholesterol metabolism in rats. *Nutr Res*, 2002, 22: 283
- 12 李东亮, 王小引, 韩华, 等. 孕酮对缺氧缺血新生大鼠脑组织 SOD 和 GSH - Px 活性的影响. *中国药理学通报*, 2007, 23(2): 276 - 277
- 13 Chung SS, Kim M, Youn BS, *et al.* Glutathione peroxidase mediates the antioxidant effect of peroxisome proliferator - activated receptor in human skeletal muscle cells. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(1): 20 - 30

(收稿:2010 - 11 - 22)

(修回:2011 - 07 - 10)

欢迎订阅

欢迎赐稿