

草苈蓉提取物对高脂血症家兔血浆脂蛋白脂质过氧化物的影响

尹学哲^{1*}, 许惠仙¹, 金爱花², 全吉淑²

(1. 延边大学医院, 吉林 延吉 133000; 2. 延边大学基础医学院, 吉林 延吉 133000)

[摘要] 目的: 研究草苈蓉提取物(BRE)对实验性高脂血症兔血浆脂蛋白抗脂质过氧化作用的影响。方法: 高脂饲料喂养法建立兔高脂血症模型, 连续给药 8 周后分离血浆脂蛋白, 观察各血浆脂蛋白过氧化脂质(LPO)含量及低密度脂蛋白(LDL)氧化易感性的变化。结果: 饲喂 BRE 后高脂血症兔血浆总胆固醇(TC)、极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-CH)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-CH)水平明显降低; 血浆总 LPO 和脂蛋白 LPO 含量明显减少; 在体外进行氧化修饰时, LDL 氧化延滞时间明显延长。结论: BRE 可降低高脂血症兔血脂水平和血浆脂蛋白脂质过氧化程度, 增强 LDL 抗氧化修饰能力, 因此能够起到防治动脉粥样硬化症的积极作用。

[关键词] 草苈蓉; 高脂血症; 血脂; 脂蛋白; 过氧化脂质; 氧化易感性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0132-03

Effect of *Boschniakia rossica* Extracts on Lipid Peroxidation of Lipoproteins in Rabbits with Hyperlipidemia

YIN Xue-zhe^{1*}, XU Hui-xian¹, JIN Ai-hua², QUAN Ji-shu²

(1. Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, China;

2. College of Basic Medicine, Yanbian University, Yanji 133000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the inhibitory effect of *Boschniakia rossica* extracts (BRE) on lipid peroxidation of plasma lipoproteins in rabbits with hyperlipidemia. **Method:** The hyperlipidemic model were established by feeding rabbits with high-fat diet. After 8 weeks of treatment, plasma lipoproteins were isolated, and then lipid peroxide (LPO) and susceptibility of low density lipoprotein (LDL) to oxidation was investigated. **Result:** After the administration with BRE, the levels of plasma total cholesterol (TC), very low density lipoprotein cholesterol (VLDL-CH) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-CH) in hyperlipidemic rabbits were significantly reduced; LPO levels of plasma and lipoproteins were significantly decreased; and the lag phase of LDL oxidation curve in vitro was noticeably prolonged. **Conclusion:** BRE, which can reduce blood lipids, decrease the lipid peroxidizability of lipoproteins and promote resistance to LDL oxidation, may be useful in the prevention and treatment of atherosclerosis.

[Key words] *Boschniakia rossica*; hyperlipidemia; blood lipid; lipoproteins; lipid hydroperoxide; oxidative susceptibility

草苈蓉 *Boschniakia rossica* Fedtsch. et Flerov 为列当科草本植物, 全草是寄生于赤杨属 *Alnus* 植物根

上的草本植物^[1]。因具有补肾壮阳、润肠止血、滋补强身及延年益寿的功效, 在民间被誉为“不老草”。我们的研究证明草苈蓉具有清除自由基和抗脂质过氧化及保肝等作用^[2,3]。本文主要探讨草苈蓉提取物(BRE)对高脂血症兔血浆脂蛋白脂质过氧化水平及 LDL 氧化易感性的变化, 旨在为动脉粥样硬化的预防和早期治疗提供科学依据。

[收稿日期] 20100211(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30360113); 吉林省科技发展计划资助项目(200705426)

[通讯作者] * 尹学哲, 博士, 研究方向为临床与基础医学, Tel: 15526770004, E-mail: yinxz@ybu.edu.cn

1 材料

1.1 药品、试剂和仪器 草苁蓉采自吉林省长白山,由延边大学药学院刘勇镇教授鉴定。胆固醇(CH)试剂盒(日本荣研公司,62 AM 第 599 号)、甘油三酯(TG)试剂盒(日本和光公司,61 AM 第 4079 号)、过氧化脂质(LPO)试剂盒(日本协和公司,62 AM 第 0699 号)。himac cp 100 α 超速离心机(日本日立公司)和 U-2010 型紫外分光光度仪(日本岛津公司)。

1.2 动物和饲料 日本大耳白兔,4 月龄,体重 2.0~2.5 kg,雌雄各半,由延边大学医学部动物科提供,合格证号 SCXK(吉)2003-0005。基础饲料由延边大学医学部动物科提供。高脂饲料含有胆固醇 1%、猪油 5%、基础饲料 94%^[4]。

2 方法

2.1 BRE 的制备 将草苁蓉全草切碎后用 80% 甲醇提取,将提取液减压浓缩,获草苁蓉甲醇提取物。将甲醇粗提取物在等量的 CH₂Cl₂ 和 H₂O 中进行萃取分离,取其 H₂O 层提取物。

2.2 动物分组和饲养 日本大耳白兔 40 只,随机分为 5 组,即正常组、模型组、BRE 高剂量组 200 mg·kg⁻¹·d⁻¹,低剂量组 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹和辛伐他汀(SIM, 2 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组。每组 8 只,单笼饲养。除正常组喂饲基础饲料外,其余各组均给予高脂饲料。干预组每天早晨先给予含药高脂饲料,待吃完后再给予高脂饲料,以保证药物的完全摄入。每只兔每

天进食总量控制为 120 g,自由饮水,共 8 周。

2.3 血脂的测定 末次给药后禁食 16 h,经耳静脉取血,分离血浆。按试剂盒说明书测定血浆总胆固醇(TC)和 TG。

2.4 血浆脂蛋白脂质的检测 采用改良哈贝尔序列超速离心分离法^[5]分离血浆脂蛋白,测定各脂蛋白 CH 和 LPO 含量。

2.5 LDL 氧化易感性的检测 每组随机选 6 份 LDL,用 pH 7.4,0.01 mol·L⁻¹ PBS 充分透析过夜去除 EDTA,调蛋白浓度至 0.1 g·L⁻¹,在 28℃ 用 CuSO₄溶液(5 μ mol·L⁻¹)进行脂蛋白氧化。在 234 nm 测定多不饱和脂肪酸氧化产生的共轭双烯(CD)随时间变化量,扫描时间 6 h。根据吸光度值(以 A₂₃₄表示)随时间变化绘制氧化曲线,以氧化延滞时间表示 LDL 氧化易感性,以最大吸光度差(ΔA_{max})表示共轭双烯相对生成量^[6]。

2.6 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 11.0 统计软件处理,进行单因素方差分析进行统计,以 $P < 0.05$ 表示差异显著。

3 结果

3.1 BRE 对血脂水平的影响 由表 1 可见,喂饲高脂饲料 8 周后,兔血浆 TG,TC 及各血浆脂蛋白 CH 水平均较正常组显著升高($P < 0.01$),提示兔已形成明显的高脂血症。BRE 高剂量组 TC,VLDL-CH 和 LDL-CH 水平明显低于模型组($P < 0.05$),疗效接近于 SIM 干预组。

表 1 BRE 对高脂血症兔血脂水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

mmol·L⁻¹

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	TG	TC	VLDL-CH	LDL-CH	HDL-CH
正常	-	1.23 \pm 0.21	1.07 \pm 0.32	0.29 \pm 0.08	0.38 \pm 0.09	0.42 \pm 0.12
模型	-	1.52 \pm 0.16 ¹⁾	10.5 \pm 1.78 ¹⁾	2.56 \pm 0.47 ¹⁾	6.73 \pm 1.16 ¹⁾	1.15 \pm 0.40 ¹⁾
SIM	2	1.33 \pm 0.17	6.54 \pm 1.25 ³⁾	1.62 \pm 0.38 ³⁾	3.85 \pm 0.93 ³⁾	1.43 \pm 0.35
BRE	100	1.39 \pm 0.22	8.77 \pm 1.37	2.14 \pm 0.36	5.24 \pm 1.27	1.56 \pm 0.34
	200	1.26 \pm 0.23	8.15 \pm 1.32 ²⁾	1.97 \pm 0.34 ²⁾	4.63 \pm 1.04 ²⁾	1.69 \pm 0.41

注:与正常组相比¹⁾ $P < 0.01$;与模型相比²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)

2.2 BRE 对血浆脂蛋白 LPO 水平的影响 结果见表 2。高脂血症模型兔血浆及脂蛋白 LPO 水平均明显增高,而 BRE 干预则显著降低血浆总 LPO,HDL-

LPO 和 LDL-LPO 水平明显低于对照组($P < 0.05$),BRE 干预组 VLDL-LPO 水平虽低于模型组,但差异不具有统计学意义。

表 2 BRE 对高脂血症兔血浆脂蛋白 LPO 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

μ mol·L⁻¹

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	Plasma-LPO	VLDL-LPO	LDL-LPO	HDL-LPO
正常	-	1.55 \pm 0.62	0.39 \pm 0.15	0.44 \pm 0.17	0.61 \pm 0.32
模型	-	57.4 \pm 13.8 ¹⁾	12.3 \pm 3.1 ¹⁾	38.6 \pm 3.2 ¹⁾	7.3 \pm 1.4 ¹⁾
SIM	2	36.1 \pm 10.3 ³⁾	9.2 \pm 3.6	19.0 \pm 6.4 ³⁾	6.8 \pm 1.1
BRE	100	29.8 \pm 5.6 ³⁾	8.4 \pm 2.5	15.4 \pm 3.6 ³⁾	5.1 \pm 1.3 ²⁾
	200	24.5 \pm 5.7 ³⁾	7.1 \pm 3.0 ²⁾	12.5 \pm 2.3 ³⁾	4.7 \pm 1.0 ³⁾

3.3 BRE 对 LDL 氧化易感性的影响 结果见表 3。BRE 干预可显著延长 LDL 氧化延滞时间 ($P < 0.05$),提示 BRE 明显降低 LDL 氧化易感性。 ΔA_{\max} 也呈下降趋势,但差异不具有统计学意义。

表 3 BRE 对高脂血症兔 LDL 氧化易感性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	氧化延滞时间 /min	ΔA_{\max}
正常	-	129 ± 55	1.261 ± 0.531
模型	-	31 ± 17 ¹⁾	1.935 ± 0.628
SIM	2	58 ± 21	1.565 ± 0.577
BRE	100	62 ± 24 ²⁾	1.347 ± 0.504
	200	67 ± 21 ²⁾	1.315 ± 0.512

4 讨论

脂代谢紊乱学说认为,高脂血症是动脉粥样硬化最主要的危险因素,血浆脂质在血管壁的沉积是动脉粥样硬化形成的主要机制。随着近年来氧化型低密度脂蛋白在动脉粥样硬化斑块及患者血浆中相继被发现,于是氧化应激及活性氧在动脉粥样硬化中的作用开始引起人们的重视,并形成了动脉粥样硬化的氧化应激学说。该学说认为,各种动脉粥样硬化危险因素如高脂血症等均可增加机体活性氧产生,大量活性氧除可直接引起机体氧化损伤外,还可引起 LDL 氧化修饰,而氧化型低密度脂蛋白的形成则是动脉粥样硬化发生发展的关键环节^[7]。

本研究发现,喂饲高脂饲料 8 周可使家兔形成明显的高脂血症,表现为血浆 TG, TC, LDL-CH 和 HDL-CH 等水平显著升高,其中尤以 TC 和 LDL-CH 水平升高最为明显。与模型组比较,BRE 高剂量干预可明显降低上述各指标的升高,使兔血浆 TC, LDL-CH 和 VLDL-CH 显著下降,起到很好的调脂疗效。本研究还发现,高脂血症兔血浆及脂蛋白 LPO 水平则明显升高,提示高血脂可诱导机体的氧化应激状态,损伤机体抗氧化能力,引起脂蛋白的氧化修饰。而 BRE 明显降低高脂血症兔血浆总 LPO 和脂

蛋白 LPO 水平,明显延长 LDL 氧化延滞时间,提示对 LDL 的氧化修饰具有抑制作用,此作用对防治心脑血管疾病具有重要意义。总之,BRE 可显著降低高脂血症兔血脂及脂蛋白脂质过氧化水平,延长 LDL 氧化延滞时间,降低 LDL 氧化易感性,提高 LDL 抗氧化能力。因此,能够起到防治动脉粥样硬化症的积极作用。

[参考文献]

- [1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009:340.
- [2] Yin Z Z, Jin H L, Yin X Z, et al. Effect of *Boschniokia rossica* on expression of GST-P, p53 and p21 ras proteins in early stage of chemical hepatocarcinogenesis and its anti-inflammatory activities in rats[J]. World J Gastroenterol, 2000, 6(6):812.
- [3] Quan J S, Piao L, Xu H X, et al. Protective effect of iridoid glucosides from *Boschniokia rossica* on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2009, 73(4):849.
- [4] 李磊,刘建勋,李欣志,等. 痰瘀同治方对兔动脉粥样硬化对氧磷酶活性及炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009, 15(8):53.
- [5] Havel R J, Eder H A, Bragdon J H. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum[J]. J Clin Invest, 1955, 34(9):1345.
- [6] Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, et al. Continuous monitoring of *in vitro* oxidation of human low-density lipoproteins [J]. Free Radical Res Commun, 1989, 6(1):67.
- [7] 郑书国,钱之玉,王宏婷. 西红花酸对高脂血症家兔 LDL 氧化易感性及血清 Ox-LDL 水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009, 15(6):50.

[责任编辑 聂淑琴]