

王老吉凉茶对氧化应激负荷小鼠脂代谢的影响

何蓉蓉¹, 栗原博^{2*}, 宝 丽¹, 姚新生^{1,2*}

(1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632)

[摘要] 目的: 研究王老吉凉茶对拘束负荷诱发小鼠脂代谢机能低下及体内过氧化状态的影响。方法: 实验将雌性小鼠分为正常对照组、应激对照组、125 mg·kg⁻¹人参皂苷对照组、125 mg·kg⁻¹及 500 mg·kg⁻¹王老吉凉茶给药组, 连续给药 5 d 后拘束负荷 20 h, 尾静脉注射 10% 脂肪乳剂(Intralipids[®]) 40 min 后检测血脂消除能力、肠系膜脂肪酶活性, 同时测定血浆过氧化状态及抗氧化能力。结果: 与应激对照组相比, 王老吉凉茶明显增加应激小鼠血浆甘油三酯消除速率及肠系膜脂肪组织中脂肪酶活性。此外, 王老吉凉茶有效改善拘束负荷升高的血浆脂质过氧化反应产物丙二醛(MDA) 含量, 提高体内抗氧化能力指数(ORAC) 水平。结论: 王老吉凉茶改善拘束负荷诱发小鼠脂代谢机能低下, 其作用机制可能与缓解机体内的过氧化状态有关。

[关键词] 王老吉凉茶; 拘束应激; 脂代谢; 抗氧化能力指数; 脂肪酶

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)10-0031-03

The Effect of Wang Laoji Liangcha on Plasma Lipids Metabolism in restraint mice

HE Rong-rong¹, KURIHARE Hiroshi^{2*}, BAO Li¹, YAO Xin-sheng^{1,2*}

(1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural products, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Wang Laoji Liangcha (WLJ) on plasma lipids metabolism and oxidative situation in restraint mice. **Methods:** The female mice were randomly divided into normal control group, stress control group, positive control group, two WLJ groups (125 mg·kg⁻¹ and 500 mg·kg⁻¹). After intravenously injected Intralipids into the 20 h restrained mice, the content of plasma lipid and lipoprotein lipase (LPL) activity were determined. The oxidative situation and antioxidant capacity of plasma were measured. **Results:** Compared with the control groups, WLJ accelerated the basic metabolism of plasma lipids, improved the lipoprotein lipase (LPL) activity in restraint mice. And it also decreased the level of MDA and increased the antioxidant capacity of plasma (ORAC). **Conclusion:** WLJ improves the lipid metabolic dysfunction in restraint mice, and the mechanism might be related to the amelioration of oxidative situation in plasma.

[Key words] Wanglaoji Liangcha; restrain stress; lipid metabolism; ORAC; LPL

随着生活方式的改变, 疾病模式也发生了相应变化, 生活习惯病、亚健康状态及应激性疾病逐渐成

为人们关注的重点。目前国内外对氧化应激与疾病间的关系以及氧化应激的发生机制从多方面进行了探讨和总结, 取得了一定的进展和成果。但是关于应激负荷对体内代谢水平的影响, 特别是脂代谢状态与体内氧化应激间关系的研究尚不多见。

王老吉凉茶由 10 味草药组成, 具有清热解暑、祛湿生津等功能, 研究证明王老吉凉茶具有一定的抗菌消炎、利尿、促进小肠蠕动等药理活性^[3]。我们利用中性脂肪乳剂负荷实验来研究应激和血脂代谢

[收稿日期] 2007-12-19

[基金项目] 国家科技支撑计划 (No: 2006BAI06A20-09)

[通讯作者] * 栗原博, Tel: (020) 33033306, E-mail: Hiroshi.

Kurihara@163.com.

* 姚新生, Tel: (020) 85225849, E-mail: yaoxinsheng

@vip.tom.com.

的关系,同时测定小鼠血浆过氧化状态和抗氧化水平的变化,旨在研究王老吉凉茶的抗应激作用及对人体健康调节功效的部分科学内涵。

1 材料与方

1.1 试验药物及试剂 王老吉凉茶浸膏(国药标准:WS3-B3548982003,规格 1 g/袋),由王老吉药业股份有限公司提供,批号:0605125;处方组成药材岗梅根 308 g[*Ilex asprella*(Hook. et Arn.) Champ. ex Benth,冬青科],木蝴蝶 1 g[*Oroxylum indicum*(L.) Vent.,紫葳科],火炭母 46 g[*Polygonum chinense* L.,蓼科],金钱草 27 g[*Desmadium Styracifolium*(Obs.) Merr.,豆科],布渣叶 18 g[*Microcos paniculata* L.,椴树科],淡竹叶 18 g[*Lophatherum gracile* Brongn.,禾本科],金沙藤 104 g[*Lygodium japonicum*(Thunb.) Sw.,海金沙科],五指柑 59 g[*Vitex negundo*(L.) Vent.(*Bignonia indica* L.,紫葳科)];山芝麻 43 g[*Helicteres angustifolia* L.,梧桐科],金樱根 106 g[*Radix Rosa Laevigata*,蔷薇科]均由广州王老吉药业股份有限公司送样,广州市药品检验所高级工程师张永耀、江英桥鉴定;人参茎叶总皂苷(RZG)由抚顺市鑫泰参茸保健品有限公司惠赠(总皂苷含量大于 93.0%)。Intralipids[®](20%注射用甘油三酯)购自日本大冢制药株式会社;甘油三酯(TG)测定试剂盒购自浙江东瓯生物工程有限公司;丙二醛试剂盒(malondialdehyde,MDA)及脂肪酶试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid(Trolox,为维生素 E 的水溶性衍生物),2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride(AAPH),及荧光素钠(sodium fluorescein)均购自 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)。

1.2 实验仪器 MK3 型酶标仪(Labsystem, Finland), GENios 荧光酶标仪(Tecan, Switzerland), ULTRA-TURRAX T8 型组织匀浆机(IKA Labortechnik, Germany), 3-18K 型台式高速冷冻离心机(Sartorius, Germany), BS210S 电子分析天平(Sartorius, Germany), WH-861 型漩涡混合器(太仓市科教器材厂),及 pH S-25 型酸度计(上海伟业仪器厂)。

1.3 实验动物及分组 7 周龄♀昆明种小鼠,购自南方医科大学实验动物中心,许可证号 SCXK(粤)2006-0015。饲养温度(23±2)℃,照明时间 12h·d⁻¹(7:00~19:00),小鼠饲养 1 周后进行实验。

2 方法

2.1 动物分组及给药 实验将小鼠随机分为正常对照组,拘束应激组,125 mg·kg⁻¹,500 mg·kg⁻¹王老吉凉茶浸膏给药组,每组 7 只。实验组每天给药 1 次,连续给药 5 d 后测定相关实验指标,除正常对照组外,其余各组给药第 2 天拘束应激 12 h^[2]。

2.2 中性脂肪耐受实验^[3] 上述各组实验动物在禁食和拘束负荷结束 30 min 后尾静脉注射 10% 的脂肪乳剂生理盐水稀释液 0.1 mL·10 g⁻¹,40 min 后小鼠在乙醚麻醉条件下由心脏采取血液。血液样本添加到终浓度为 2% 肝素钠试管内,以 5 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后回收上清血浆,并放置-20℃保存用于中性脂肪的检测分析。血浆中性脂肪水平的测定使用甘油-3 磷酸激酶氧化法(GK-GPO),经酶标分析仪确定 TG 含量。

2.3 肠系膜脂肪酶(Lipoprotein lipase, LPL) 活性测定 分离小鼠肠系膜脂肪组织后,精确称量 200 mg 脂肪置于 1 mL PBS 溶液中剪碎并使用组织匀浆机匀浆,12 000 r·min⁻¹ 4℃条件下离心 20 min,回收上清液,迅速储存在-20℃用于酶活性测定。肠系膜 LPL 活性检测利用 BALB-DTNB 法自动检测。

2.4 TBARS 法测定血浆内丙二醛含量 按 MDA 试剂盒说明书添加试剂,测定血浆中 MDA 含量。

2.5 血浆抗氧化能力指数(Oxygen radical absorbance capacity, ORAC) 的测定 按 Davalos A^[3] 方法测定血浆 ORAC 指数。

2.6 数据统计与分析 实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 软件 ANOVA 检验进行单因素方差分析及组间 α 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 实验结果

3.1 对拘束负荷小鼠血浆中性脂肪耐受的影响 如表 1 所示。与应激负荷组小鼠相比,人参皂苷及王老吉凉茶给药组均能增加血浆甘油三酯消除速率($P < 0.01$)。

表 1 王老吉凉茶对拘束负荷小鼠血浆中性脂肪耐受的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量(mg·kg ⁻¹)	血浆甘油三酯(mg·dL ⁻¹)
正常组	—	208.97±17.79 ²⁾
应激	—	393.73±46.62
人参皂苷组	125	199.07±25.35 ²⁾
WLJ 组	125	196.52±39.30 ²⁾
	500	130.75±22.22 ²⁾

注:与拘束应激组相比较:¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.2 对拘束负荷小鼠肠系膜脂肪组织 LPL 活性的影响 见表 2。与应激负荷组相比,人参皂苷、王老

吉凉茶给药组均能改善因应激负荷减少的肠系膜脂肪组织中的 LPL 活性($P < 0.05$)。

表 2 王老吉凉茶对拘束负荷小鼠肠系膜脂肪组织 LPL 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	脂肪酶活性($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{prot}$)
正常组	—	933.43 \pm 100.00 ²⁾
应激组	—	569.35 \pm 60.10
人参皂苷组	125	740.11 \pm 69.00 ²⁾
WLJ 组	125	846.18 \pm 80.50 ²⁾
	500	752.81 \pm 71.20 ²⁾

3.3 对拘束负荷小鼠血浆氧化水平的影响 如表 3 所示,拘束负荷明显增加小鼠血浆的脂质过氧化产物 MDA($P < 0.01$)。与应激负荷组小鼠相比,人参皂苷和王老吉给药组小鼠血浆中的脂质过氧化产物 MDA 显著减少($P < 0.01$)。

3.4 对拘束负荷小鼠血浆总抗氧化能力的影响 如表 3 所示,拘束负荷明显降低小鼠血浆中的 ORAC 水平($P < 0.01$)。与应激负荷组小鼠相比,人参皂苷和王老吉给药明显升高拘束负荷小鼠血浆中的 ORAC 水平($P < 0.01$)。

表 3 王老吉凉茶对应激小鼠血浆脂质过氧化产物 MDA 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	MDA($\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$)	ORAC($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)
正常组	—	29.67 \pm 4.0 ²⁾	26 853.97 \pm 887.0 ²⁾
应激组	—	35.12 \pm 5.0	24 281.84 \pm 598.8
阳性组	125	11.29 \pm 2.0 ²⁾	33 057.36 \pm 423.29 ²⁾
WLJ 组	125	12.60 \pm 2.0 ²⁾	29 036.35 \pm 100.19 ²⁾
	500	19.65 \pm 3.0 ²⁾	33 687.11 \pm 2 373.8 ²⁾

4 讨论

应激负荷引起的疲劳状态部分原因来自机体能量代谢水平低下,限制器官能量供应。至今为止的研究证明机体当能量供应不足时,就以储存脂肪作为能源消耗,因此血脂作为能源在维持各种生理活动中起着重要作用^[6]。本实验结果显示,与正常对照组小鼠相比拘束负荷 20 h 小鼠的尾静脉负荷脂肪乳剂后的血浆 TG 消除速率明显减慢($P < 0.01$),表明拘束负荷可以影响脂质能源的利用。125, 500 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 王老吉凉茶组均能明显提高拘束负荷小鼠血浆 TG 消除速率($P < 0.01$),改善因应激负荷引起的血脂利用率低下,提高机体的能量代谢水平。

脂肪组织中 LPL 的活性与脂肪代谢密切相关,因此保持 LPL 的生理活性对于维持机体正常的脂肪

代谢至关重要^[7]。拘束负荷使小鼠肠系膜脂肪酶活性下降 39.0% ($P < 0.05$),而王老吉凉茶给药明显改善因拘束负荷降低的小鼠肠系膜脂肪组织中 LPL 活性。王老吉凉茶对拘束负荷小鼠血脂利用率低下的改善作用可能与提高 LPL 活性有关。

研究证明利用脂肪组织为机体提供能量,是一种消耗能量的代谢过程,容易受到氧化应激的损伤。我们以生物膜中不饱和脂肪酸的脂质过氧化反应的终产物丙二醛(MDA)含量作为间接反映机体损伤程度的指标,以抗氧化能力指数(ORAC)反应机体内抗氧化能力水平。实验结果发现拘束负荷显著提高小鼠体内的氧化应激水平并明显降低其抗氧化能力。因此,可以认为氧化应激状态降低了脂肪组织中 LPL 活性,进而减少机体脂代谢能力。王老吉凉茶不仅可以改善血浆中 MDA 含量,同时显著提高体内的抗氧化能力指数水平,明显地缓解机体内的氧化应激状态,这可能王老吉凉茶改善应激性脂代低下的原因之一。

[参考文献]

[1] 叶木荣,廖慧芳,廖雪珍,等. 王老吉冲服凉茶的药理研究[J]. 中成药, 1993, 1: 29-31.

[2] Kurihara H., Koda H., Asami S. Contribution of the antioxidative property of astaxanthin to its protective effect on the promotion of cancer metastasis in mice treated with restraint stress[J]. Life Science, 2002, 70: 2059-2520.

[3] Kurihara H., Yao X. S., Nagai H. The protective effect of BRAND'S essence of chicken(BEC) on energy metabolic disorder in mice loaded with restraint stress[J]. Journal of Health Science, 2006, 52(1): 17-23.

[4] Davalos A, Gomez-Cordoves C, Bartolome B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance capacity (ORAC-Fluorescein) Assay[J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 48-54.

[5] Krssak M., Petersen K. F., Bergeron R., et al. Intramuscular Glycogen and Intramyocellular Lipid Utilization during Prolonged Exercise and Recovery in Man: A¹³C and ¹H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Study[J]. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2000, 85: 748-754.

[6] Edwards I. J., Goldberg I. J., Parks JS., et al. Lipoprotein Lipase enhances the interaction of low density lipoproteins with artery-derived extracellular matrix proteoglycans[J]. J. Lipid Res., 1993, 34: 1155-1163.