

文章编号: 1006-3110(2002)01-0022-03

珍珠精母、肌苷、人胎盘组织液、鱼腥草 对大鼠肝脏脂质过氧化物的作用

李 姝, 周劲帆, 龙盛京

摘要: 目的 研究珍珠精母、肌苷、人胎盘组织液、鱼腥草注射液对 Fe^{2+} -L-半胱氨酸诱导的大鼠肝脏脂质过氧化模型的影响。方法 采用细胞匀浆丙二醛(MDA)比色法(体外法)测定大鼠肝脏粗线粒体脂质过氧化作用产物MDA的含量。结果 珍珠精母、鱼腥草可使MDA值降低($P \leq 0.01$),肌苷、人胎盘组织液可使雌性大鼠的MDA值降低,雄性大鼠的MDA值升高($P \leq 0.01$)。结论 珍珠精母、鱼腥草可抑制大鼠肝脏的脂质过氧化代谢,肌苷、人胎盘组织液对雌性大鼠作用为抑制而对雄性大鼠则起诱导作用。

关键词: 珍珠精母;肌苷;人胎盘组织液;鱼腥草;脂质过氧化物

中图分类号: R979.5

文献标识码: A

Studies on Effect of Concha Margaritifera, Inosine, Humanum Placentle and Herba Houttuyniae on Lipid Peroxide of the Rat Liver LI Shu, ZHOU Jing-fang, NONG Sheng-jing (Chemistry Department, Guangxi Medical University, Nanning, 530021, China)

Abstract: Objective To study the effect of Concha Margaritifera, Inosine, Humanum Placentle and Herba Houttuyniae injection on lipid peroxide of the rat liver induced by Fe^{2+} . Methods Applying cell homogenate, the crude mitochondria were prepared. Using MDA colorimetry, the content of MDA, the production of lipid peroxide of the rat liver's mitochondria was determined. Results Concha Margaritifera and Herba Houttuyniae caused the content of MDA decrease ($P \leq 0.01$). Inosine and Humanum Placentle could decrease the MDA of female rat. However, it increased the MDA of male rat. ($P \leq 0.01$). Conclusions Concha Margaritifera and Herba Houttuyniae can inhibit the lipid of rat liver to peroxidize. Inosine and Humanum Placentle induced the peroxidization to male rat, and inhibited the peroxidization to female rat.

Key words: Concha Margaritifera; Inosine; Humanum Placentle; Herba Houttuyniae; lipid peroxide

基金项目: 广西壮族自治区教育厅科研项目(编号 0110834)

作者单位: 广西医科大学化学教研室(中国广西 南宁 530021)

作者简介: 李姝(1968-), 女, 广西人, 壮族, 研究生, 实验师, 研究方向: 医学自由基及抗衰老研究。

脂质过氧化作用是指发生在不饱和脂肪酸共价键上的一系列自由基反应。近几年来, 关于脂质过氧化作用的研究涉及面相当广, 包括某些疾病的病理过程, 如

糖尿病的患病与体重指数、人均月收入呈正相关。因此, 我们在开展健康促进活动中, 不仅要开展全民宣传, 还要特别关注 50 岁以上以及文化程度低的人群, 采取深入浅出、喜闻乐见、通俗易懂的宣传与技术指导, 提高人们的自我保健意识; 同时还要注意受教育者的态度、信念和行为教育, 促使其将自我保健知识落实到有益健康的生活行为上。

该社区高血压患病率明显高于 1991 年全国高血压患病率 (11.26%, $P < 0.01$)^[3], 说明该社区属国内高血压高发区之一。据报道高血压是心脑血管疾病之一, 又是冠心病、脑卒中等心脑血管病的危险因素^[4,5]。近年来有文献报道认为高血压可引起高胰岛素血症, 有时还可产生机体的胰岛素抵抗而引起血糖水平升高^[6]。因此, 本社区确定高血压、糖尿病为优先干预的

疾病, 30 岁以上人群为重点防治人群, 是完全正确的。

[参考文献]

- [1] 伍啸青, 陈若林, 邓家煊. 三明市慢病防治示范点居民健康状况及行为危险因素分析[J]. 现代预防医学, 2000, 27(4): 488.
- [2] The Asia-Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment [S]. WHO Western Pacific Region, 2000: 18.
- [3] 刘力生, 龚兰生. 中国高血压防治指南(试行本)[M]. 北京: 卫生部疾病控制司出版, 1999, 5.
- [4] 王新德. 脑血管疾病[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993, 4-16.
- [5] 陶寿琪. 中国冠心病预防[J]. 中国慢性病预防与控制, 1992, 1: 10.
- [6] 张廷杰. 胰岛素抵抗、脂质代谢异常与高血压[J]. 心血管病学进展, 1993, 14(1): 5.

(收稿日期: 2001-09-06)

肿瘤、化学中毒、感染、炎症反应,自身免疫,衰老,吞噬杀菌等生理过程,人们试图从分子水平探讨这些过程的机理^[1]。珍珠精母是以珍珠贝科动物马氏珍珠贝的生殖液为原料经适宜提取制成。人胎盘组织液系由健康产妇的胎盘组织提取而成,肌苷是辅酶类药物,有改善机体代谢作用。近年来对以上药物在药理和临床治疗中的应用报道较多,而这些药物对大鼠肝脏脂质过氧化作用的影响研究未见报道。为探索这些药物是否对体内脂质过氧化反应有影响,笔者采用 Fe^{2+} -L-半胱氨酸诱导的大鼠肝脏脂质过氧化模型,研究以上药物对脂质过氧化的作用。

1 材料与方法

1.1 试剂 1,1,3,3-四乙氧基丙烷(TEP)GR级、硫代巴比妥酸(TBA)AR级为Sigma产品;L-半胱氨酸、硫酸亚铁、考马斯亮蓝G-250等为AR试剂;珍珠精母注射液由广西南珠集团公司珍珠制药厂提供;(人)胎盘组织注射液由湖南湘潭市制药二厂提供;肌苷注射液由东台市康怡制药有限公司提供;鱼腥草注射液由河南省援生制药股份有限公司提供;所用水均为双蒸水。

1.2 仪器 721型分光光度计(上海第三分析仪器厂),pH-2C型酸度计(上海雷磁仪器厂),恒温振荡水槽(余姚温度仪表厂),离心机(北京医疗仪器修理厂)。

1.3 动物 Wistar大鼠雄性4只,雌性4只(广西医科大学动物室提供)。

1.4 方法

1.4.1 大鼠肝粗线粒体的制备 取150~200g的Wistar大鼠,禁食12h后,断头处死取肝,立即用冷至4℃内含蔗糖0.25 mol/L的pH7.4磷酸盐缓冲溶液(PBS)冲洗3次,称重,用剪刀剪碎,加入预冷的PBS缓冲液40 ml,低温匀浆,取出匀浆液,置离心机中离心15 min(3 000 r/min),取上清液得肝粗线粒体液,用考马斯亮蓝法测定蛋白含量后,分装储存于冰箱冷冻室备用。临用时,根据匀浆液蛋白含量,用pH7.4 PBS缓冲液稀释成蛋白含量为4 mg/ml的肝匀浆供试液。

1.4.2 肝脂质过氧化产物MDA的测定 肝供试液(含蛋白4 mg/ml)1.00 ml中加入0.05 ml $FeSO_4$ (1.0 mmol/L)和0.02 ml L-半胱氨酸(0.01 mol/L)诱导肝脏脂质过氧化(LPO)升高,然后加入不同浓度的珍珠精母、肌苷、人胎盘组织液、鱼腥草注射液,置于

37℃水浴温孵30 min后,加入20%醋酸2 ml终止脂质过氧化反应,再加0.67%TBA 1 ml,用PBS稀释至6.0 ml,沸水水浴10 min,流水冷却,在 $\lambda_{532\text{nm}}$ 处测定脂质过氧化产物-MDA含量。

1.4.3 统计学方法 运用Sigmaplot统计软件对数据进行统计学分析。

2 结果

2.1 药物筛选实验 取TEP(50 μ mol/ml)0.2 ml,分别加入人胎盘组织液、肌苷、珍珠精母、鱼腥草、双黄连、黄体酮、维生素E、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₁₂注射液(对照组加双蒸水),以下步骤同1.4.2操作测定MDA含量。结果表明除人胎盘组织液、肌苷、珍珠精母、鱼腥草注射液对TBA显色体系无影响(与对照组比较,经t检验 $P>0.05$)外,其余药物对此显色体系都有影响,因此本方法选择人胎盘组织液、肌苷、珍珠精母和鱼腥草作为实验药物。

2.2 珍珠精母注射液对肝粗线粒体脂质过氧化的影响 在肝供试液中加入0.003~0.60 mg珍珠精母注射液,结果见表(1);加入量在0.003~0.60 mg之间。雌性大鼠肝脏脂质过氧化产物MDA值,除个别与对照组无明显差异外($P>0.05$),其余各组均低于对照组($P\leq 0.05$),说明珍珠精母注射液可以抑制大鼠肝脏的脂质过氧化作用。

表1 珍珠精母注射液对肝LPO的影响

组别	氨基氮 mg	MDA含量(μ mol/mg蛋白) $\bar{x}\pm s(n=4)$		抑制率(%)	
		雌	雄	雌	雄
对照组	0.00	5.2604±0.2644	2.9328±0.0983		
样品组(1)	0.003	5.2684±0.1693	3.3495±0.1859	-0.151	2.24
样品组(2)	0.015	5.2484±0.0481	2.9331±0.1480	0.231	13.81
样品组(3)	0.05	5.3365±0.1746	3.4345±0.0334	-1.441	-0.231
样品组(4)	0.12	4.7957±0.0956	3.0178±0.0730	8.80	11.92
样品组(5)	0.18	4.4311±0.5067	3.2686±0.1321	13.77	4.61
样品组(6)	0.30	4.4311±0.0711	3.3455±0.0870	15.77	2.36
样品组(7)	0.45	4.1787±0.0659	2.9895±0.1356	20.56	12.75
样品组(8)	0.60	4.7035±0.1534	3.0250±0.1723	10.50	11.49

注: 1) n指4只Wistar大鼠

2.3 肌苷注射液对肝粗线粒体脂质过氧化的影响 在肝供试液中加入1.00~100.00 mg肌苷注射液,结果见表2;加入量在1.00~100.00 mg之间时,雌性大鼠肝脏脂质过氧化产物MDA值均低于对照组($P\leq 0.05$),雄性大鼠加入量在1.00~30.00 mg之间

MDA 值低于对照组,加入量在 40.00~100.00 mg 之间 MDA 值高于对照组 ($P \leq 0.05$)。说明肌苷可以抑制雌性大鼠肝脏脂质过氧化作用,而对雄性大鼠为低浓度起抑制高浓度起诱导作用。

表 2 肌苷注射液对肝 LPO 的影响

组别	肌苷 mg	MDA 含量 ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ 蛋白) $\bar{x} \pm s (n=4)$		抑制率 (%)	
		雌	雄	雌	雄
对照组	0.00	4.3691 \pm 0.0112	3.4945 \pm 0.1246		
样品组(1)	1.00	4.1608 \pm 0.0903	3.1561 \pm 0.0472	4.57	9.68
样品组(2)	10.00	3.4930 \pm 0.1912	3.0387 \pm 0.2116	19.89	13.04
样品组(3)	20.00	3.3986 \pm 0.0396	3.2217 \pm 0.0345	22.05	7.81
样品组(4)	30.00	3.2727 \pm 0.0685	3.3556 \pm 0.0472	24.94	4.55
样品组(5)	40.00	3.2622 \pm 0.0778	3.5497 \pm 0.1470	25.18	-1.38
样品组(6)	50.00	3.3846 \pm 0.1214	3.6188 \pm 0.1390	22.37	-3.55
样品组(7)	75.00	3.3706 \pm 0.0163	4.7238 \pm 0.4635	22.69	-35.18
样品组(8)	100.00	3.5594 \pm 0.0388	5.1070 \pm 0.1612	18.36	-46.13

2.4 人胎盘组织液对肝粗线粒体脂质过氧化的影响

结果见表 3:总核酸量在 0.0005~0.020 mg 时雄性大鼠肝脏 MDA 值均高于对照组 ($P \leq 0.05$),雌性大鼠总核酸量在 0.0005~0.004 mg 之间 MDA 值高于对照组 ($P \leq 0.05$),总核酸量在 0.006~0.020 mg 之间 MDA 值则低于对照组 ($P \leq 0.05$)。说明人胎盘组织液可诱导雄性大鼠肝脏的脂质过氧化,而对雌性大鼠肝脏的脂质过氧化低浓度为诱导作用,高浓度为抑制作用。

表 3 人胎盘组织液对肝 LPO 的影响

组别	总核酸量 mg	MDA 含量 ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ 蛋白) $\bar{x} \pm s (n=4)$		抑制率 (%)	
		雌	雄	雌	雄
对照组	0.00	5.9365 \pm 0.0672	3.3036 \pm 0.1221		
样品组(1)	0.0005	6.0912 \pm 0.0939	3.7419 \pm 0.3879	-2.67	-13.27
样品组(2)	0.002	6.1116 \pm 0.1428	3.8231 \pm 0.0430	-2.91	-15.72
样品组(3)	0.004	6.1728 \pm 0.1393	4.5333 \pm 0.2175	-3.90	-37.22
样品组(4)	0.006	5.8469 \pm 0.1343	4.6347 \pm 0.2435	1.51	-40.29
样品组(5)	0.008	5.3909 \pm 0.1420	4.3547 \pm 0.2558	9.19	-31.82
样品组(6)	0.010	5.5130 \pm 0.1440	4.6672 \pm 0.1626	7.13	-41.28
样品组(7)	0.015	5.5741 \pm 0.0886	4.7727 \pm 0.1377	6.10	-44.47
样品组(8)	0.020	5.0733 \pm 0.2167	5.4099 \pm 0.1348	14.34	-63.76

2.5 鱼腥草注射液对肝粗线粒体脂质过氧化的影响

结果见表 4:鱼腥草加入量在 0.02~2.00 g 之间时,

雌雄大鼠肝脏 MDA 值除个别与对照组无明显差异外 ($P > 0.05$),其余各组均低于对照组 ($P \leq 0.05$)。说明鱼腥草对大鼠肝脏的脂质过氧化具有一定抑制作用。

表 4 鱼腥草注射液对肝 LPO 的影响

组别	鱼腥草 g	MDA 含量 ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ 蛋白) $\bar{x} \pm s (n=4)$		抑制率 (%)	
		雌	雄	雌	雄
对照组	0.00	4.3353 \pm 0.0392	3.2571 \pm 0.0671		
样品组(1)	0.02	3.7843 \pm 0.0864	3.1905 \pm 0.0898	12.66	2.04
样品组(2)	0.05	3.5980 \pm 0.1247	3.2496 \pm 0.1516	16.96	-0.381
样品组(3)	0.20	4.2810 \pm 0.1361	3.0574 \pm 0.0643	1.1911	6.13
样品组(4)	0.40	4.3431 \pm 0.1121	2.7787 \pm 0.2778	-0.221	14.65
样品组(5)	0.60	4.0331 \pm 0.0622	2.2546 \pm 0.1644	7.39	30.78
样品组(6)	1.00	4.0654 \pm 0.1174	1.9925 \pm 0.0209	6.18	36.83
样品组(7)	1.50	4.4249 \pm 0.1699	2.3458 \pm 0.078	-2.10	21.84
样品组(8)	2.00	4.4078 \pm 0.1361	2.7995 \pm 0.1277	-1.721	14.05

注:1) 与对照组无明显差异

3 讨论

肌体内存在大量的不饱和脂肪酸,它们极易受到过氧化作用的损伤,产生有细胞毒性的脂质过氧化物。多不饱和脂肪酸(PUFA)在自由基和其它一些氧化引发剂作用下生成自由基中间物 L。然后与 O₂ 反应形成 LOO· 及 LOOH。它们一方面自发分解形成更多自由基,攻击其它双键,产生更多的脂质过氧化自由基,另一方面铁、铜等过渡金属离子可能是 PUFA 自动氧化的起动机,而且这些金属的复合物还能特异高效地催化脂质过氧化物的分解,引起自由基链锁反应^[2]。因此我们采用 Fe²⁺ 诱导肝脏脂质过氧化模型,来研究珍珠精母等注射液是否通过抑制体内脂质过氧化反应而发挥功效。本结果提示:珍珠精母和鱼腥草两种针剂对雌性大鼠肝脏脂质过氧化具有抑制作用,也就是说它们具有抗氧化作用,可清除体内自由基。(人)胎盘组织液和肌苷对肝脏脂质过氧化影响的各体差异较大,对雌性大鼠的作用为抑制,而对雄性则为诱导。

[参考文献]

- [1] 陈可冀,李春生. 新编抗衰老中药学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1998. 129-130.
- [2] 曹锡清. 脂质过氧化对细胞与机体的作用[J]. 生物化学与生物物理进展, 1986. 13(2): 17.

(收稿日期:2001-09-25)