DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.10.022

论著

文章编号:1000-5404(2003)10-0890-02

心脉神口服液抑制低密度脂蛋白体外氧化效应的实验研究

高凌云,何作云 (第三军医大学附属新桥医院心血管内科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨中成药制剂心脉神口服液(XMSol)抑制低密度脂蛋白(LDL)的体外氧化效应。方法 分别将不同浓度XMSol原液稀释液和服不同药量兔含XMSol血清与配好的$CuSO_4$溶液加入LDL中共同孵育,测定脂质过氧化产物丙二醛(MDA)含量,以评价LDL过氧化程度以及XMSol抑制LDL体外氧化效应。结果 随着XMSol原液稀释液浓度的升高MDA含量呈下降趋势;兔摄入XMSol药量越大,该组MDA生成量越少;各组与无XMSol的对照组相比MDA含量显著较低($P<0.01$)。结论 心脉神口服液能抑制LDL的体外氧化,其抑制作用呈剂量依赖性。

关键词:心脉神口服液;氧化型低密度脂蛋白;丙二醛
中图法分类号:Q513.5;R285.5 文献标识码:A

The *in vitro* antioxidation effect of XMSol on LDL

GAO Ling-yun, HE Zuo-yun (Department of Cardiovascular Medicine, Xinqiao Hospital, Third Military University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To explore the *in vitro* antioxidation effect of Xinmaishen oral liquid(XMSol, a Chinese patent medicine) on low density lipoprotein(LDL). Methods Serum containing XMSol was prepared by serum pharmacological method. The oxidized LDL was obtained by 0.5 mg/ml of LDL in the presence of 10 μmol/L $CuSO_4$. XMSol, $CuSO_4$ and serum containing XMSol and $CuSO_4$ were added to LDL for incubation. Content of MDA was determined and the antioxidation effect of XMSol was evaluated. Results XMSol could reduce MDA production due to oxidation of LDL in a dose-dependent manner. Conclusion XMSol can inhibit the *in vitro* oxidation of LDL dose-dependently.

Key words: Xinmaishen oral liquid; oxidized LDL; MDA

氧化修饰后的低密度脂蛋白(Low density lipoprotein, LDL)成为氧化型低密度脂蛋白(Oxidized low density lipoprotein, ox-LDL),Ox-LDL通过多种途径作用于血管内皮细胞,从而启动动脉粥样硬化的发生[1]。抑制LDL的氧化对防治动脉粥样硬化具有重要意义。研究表明多种中药具有抗氧化作用。本研究探讨以黄芪、首乌等为主要成分的中成药制剂心脉神口服液(Xinmaishen oral liquid, XMSol)抑制LDL的体外氧化效应。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 试剂 XMSol购自本院,其主要成分为黄芪、首乌等,生药含量为0.5 g/ml;人血清低密度脂蛋白(LDL)购自北京协和医科大学基础所生化教研室;硫代巴比妥酸(2-Thiobarbituric acid)、1,1,3,3-四乙氧基丙烷(1,1,3,3-tetraethoxypropane)为瑞士Fluka公司产品;Folin—Phenol Reagent(Lowry法)蛋白定量试剂购自第三军医大学生物化学教研室。

1.1.2 仪器 RF-540型荧光分光光度计(日本),超净工作台(苏州净化设备公司),电热恒温水浴箱(上海医疗器械七厂HH.W21-cu600型)。

1.2 实验方法

1.2.1 血清脂蛋白的处理 取人血清LDL,以20倍体积的10 mmol/L PBS(pH 7.4)透析48 h,每8 h换液1次。Lowry法血清脂蛋白定量,以小牛血清白蛋白为标准,500 nm比色。

1.2.2 心脉神口服液的稀释 取生药浓度为5×10^{-1} g/ml的心脉神口服液原液,粗滤后用M199培养基倍比稀释成浓度为5×10^{-2}、5×10^{-3}、5×10^{-4}、5×10^{-5}、5×10^{-6} g/ml应用液,将其过滤除菌后4 ℃保存待用。

1.2.3 心脉神口服液含药血清的制备[2] 采用血清药理学的方法,选择雄性新西兰白兔8只,体质量(1.25±0.125) kg。按随机表分为4组,每组2只,胃管鼻饲心脉神口服液原液,日摄入量分别为10、30、60 ml/kg;另一组每日仅给予自来水。连续用药7 d,心脏采血,无菌分离血清,抗体灭活后,用0.22 μm微孔滤膜过滤除菌,置—20 ℃保存备用。

1.2.4 实验分组 心脉神口服液原液倍比稀释后分为原液1、原液2、原液3、原4、原液5、对照组,浓度分别为5×10^{-2}、5×10^{-3}、5×10^{-4}、5×10^{-5}、5×10^{-6}、0,单位为g/ml。

心脉神口服液含药血清依据胃管鼻饲心脉神口服液原液的量分组为血清1(60 ml/kg)、血清2(30 ml/kg)、血清3(10 ml/kg)、无XMSol血清(0 ml/kg)。

1.2.5 心脉神口服液抑制LDL体外氧化 LDL的体外氧化

作者简介:高凌云(1973—),女,山西省临汾市人,硕士,主治医师,主要从事冠心病的防治方面的研究。电话:(023)68755114—74931

收稿日期:2002-05-30;修回日期:2002-12-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

修饰采用 Cu^{2+} 介导法[3], 将定量后的 LDL 稀释至 0.5 mg/ml. 将 LDL 稀释液与不同浓度心脉神口服液稀释液和各组含药血清混合, 1 h 后再加入终浓度为 10 μmol/L 的 $CuSO_4$, 置于 37 ℃、5%CO_2 孵箱, 作用时间 12 h。

1.2.6　硫代巴比妥酸法检测 MDA 的含量(荧光法)[4]　测定荧光强度, 再按下列公式计算:

样品中 MDA 的含量(nmol/ml)=10×f/F

式中 f 和 F 分别为样品和标准品的净荧光强度(减去本底后的值)。

1.3　统计学处理

数值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Microsoft Excel 软件进行计算。统计学处理采用 SPSS 8.0 for windows 单因素方差分析。

2　结果

2.1　XMSol 稀释液抑制 LDL 体外氧化的浓度效应

见图 1, LDL 定量后加入不同浓度 XMSol 和 $CuSO_4$ 共同孵育 12 h, 测定 MDA 含量, 随着 XMSol 浓度的降低 MDA 含量呈上升趋势. XMSol 可减少 LDL 过氧化生成 MDA 的量, 且呈剂量依赖性。

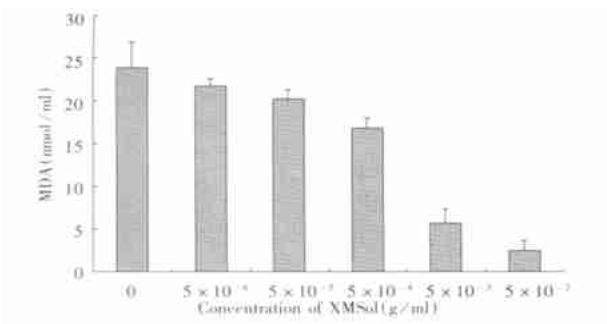


图 1　XMsol 含药血清抑制 LDL 体外氧化浓度效应

Fig 1　Dose-dependent inhibitory effects of XMSol on LDL oxidation

2.2　XMSol 含药血清抑制 LDL 体外氧化浓度效应

见图 2, 随着兔摄入心脉神口服液原药量的降低 MDA 含量呈增高趋势, 含心脉神口服液的兔血清具有拮抗 LDL 过氧化产生 MDA 的作用。含药血清各组 MDA 生成量都显著低于无 XMSol 血清组($P<0.01$)。

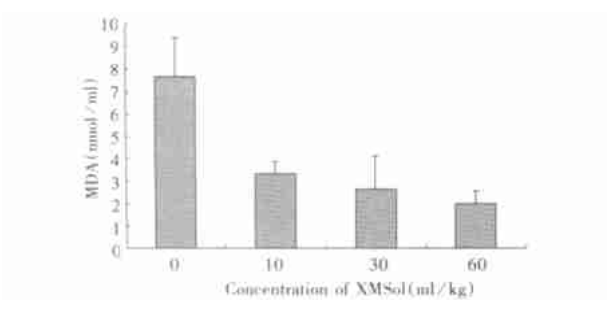


图 2　XMsol 含药血清抑制 LDL 体外氧化浓度效应

Fig 2　Inhibitory effects of different serum concentrations of XMSol on LDL

3　讨论

LDL 发生氧化后具有细胞毒性, 氧化后的 LDL 通过作用于血管内皮细胞启动动脉粥样硬化的形成。氧化型低密度脂蛋白的细胞毒性作用可选择性地作用于细胞周期的 S 期[5], 可使培养的人脐静脉内皮细胞的抗氧化酶活性下降, 而脂质过氧化物含量增加。还可促进细胞中胆固醇的积聚[6], 同时它还可导致泡沫细胞的形成, 促进平滑肌细胞表型的转化、增殖并向内膜下迁移[1]。

抑制 LDL 的氧化在防治动脉粥样硬化中具有一定作用。随着天然药物和天然疗法的兴起, 中医药学越来越受到人们的重视。中药在治疗动脉粥样硬化中的作用开始为人们关注, 中药黄芪、首乌等有较好的降脂作用[2], 抑制脂质过氧化物及自由基的产生[7], 并对动脉血管壁重构可能起重要作用。心脉神口服液方剂主要含黄芪、首乌等。动物整体水平研究表明心脉神口服液可通过调节血脂、抗氧化及抑制血管平滑肌细胞的增殖对食饵性动脉粥样硬化的形成具有预防作用, 并对已形成的实验性动脉粥样硬化具有治疗作用。

我们在实验中发现 XMSol 可以抑制 LDL 体外氧化, 降低过氧化产物 MDA 的含量, 显示其具有抗氧化性。它在抑制 LDL 向 ox-LDL 的转变方面有一定的作用。而且, 我们证明不仅其原液稀释液具有浓度依赖性抑制 LDL 氧化的作用, 含 XMSol 的兔血清亦可以降低 Cu^{2+} 介导的 LDL 氧化产物的形成, 而且, 随着兔摄入 XMSol 原药量的增加, 其含药血清抗氧化作用愈明显。

参考文献:

[1] Amberger A, Maczek C, Jurgenc G, *et al*. Co-expression of ICAM-1, E-CAM-1 and hsp60 in human arterial and venous endothelial cells through degradation of the lipoprotein in lysosomes[J]. Cell Stress Chaperones, 1997, 2(2): 94—103.

[2] 杨彦芳, 王玉芹. 中药复方血清药理学方法规范化探讨[J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(5): 380—382.

[3] Steinbrecher U P, Parthasarathy S, Leake D S, *et al*. Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81(12): 3883—3887.

[4] Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma[J]. Biochem Med, 1976, 15: 212—216.

[5] Vogel R A, Corretti M C, Plotnick G D. Effects of a singer high-fat meal on endothelial function in healthy subjects[J]. Am J Cardiol, 1997, 79: 350.

[6] 刘乃丰. 氧化低密度脂蛋白在动脉粥样硬化中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 1994, 10(1): 104—106.

[7] 张九方, 程学萱, 仲肇书, 等. 动脉粥样硬化防治新途径的初步探索[J]. 南京医科大学学报, 1995, 15(2): 333—335.

(编辑　刘洪娥)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net