

· 专题论坛 ·

大苞雪莲抗缺氧有效成分对模拟高原缺氧小鼠物质代谢的影响

马慧萍,武柠子,王 昕,景临林,贾正平,张 俊(兰州总医院全军高原环境损伤防治重点实验室,甘肃 兰州 730050)

[摘要] 目的 研究大苞雪莲(又名新疆雪莲、天山雪莲, *Saussurea involucrata*)抗缺氧有效成分(石油醚活性部位及其主要单体成分二十八烷)对模拟高原缺氧小鼠水、糖、脂肪、蛋白质等物质代谢的影响。方法 将雄性 BALB/c 小鼠随机分为正常对照组、缺氧模型组、乙酰唑胺阳性药对照组、大苞雪莲石油醚部位组和二十八烷组,单次尾静脉注射给药,给药 20 min 后,将各组小鼠分别放入低压氧舱中,模拟海拔 6 000 m 低压低氧环境,维持 8 h,检测器官含水量、脏器指数、糖代谢、蛋白质代谢和脂肪代谢等指标变化情况。结果 给小鼠预先尾静脉注射石油醚部位 200 mg/kg 和二十八烷 100 mg/kg,可以通过降低脏器中含水量抑制急性高原缺氧引起的心、脑、肺组织水肿($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),抑制血糖、肌糖原、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)水平的升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),阻止肝糖原、心肌和脑组织蛋白含量的降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 大苞雪莲石油醚部位和二十八烷能有效调节缺氧小鼠的物质代谢,降低基础代谢水平,保证机体生存所需能量。

[关键词] 大苞雪莲乙醇提取物;抗缺氧活性;物质代谢;石油醚部位;二十八烷

[中图分类号] R969.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2018)03-0243-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.03.011

Effects of the active constituents from *Saussurea involucrata* on metabolism of mice at simulated high altitude

MA Huiping, WU Ningzi, WANG Xin, JING Linlin, JIA Zhengping, ZHANG Jun (Lanzhou General Hospital Key Lab of PLA for Prevention and Treatment of Injuries induced by High Altitude, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the anti-hypoxia effects of octacosane and the petroleum ether extract from *Saussurea involucrata* (PESI) on the water, sugar, lipid and protein metabolism of mice at simulated high altitude. **Methods** The healthy adult male BALB/C mice were randomly divided into normal control group, hypoxic model group, acetazolamide group, the petroleum ether of *Saussurea involucrata* group and octacosane group. Drugs were administered i.v 20 mins before the mice were exposed to a simulated high altitude of 6 000 m for 8 hours in an animal decompression chamber. The mice were sacrificed at the end of 8 hours. Organ water content, organ indexes and metabolism indicators of sugar, protein and lipid were determined. **Results** The edema of heart, brain and lung was reduced notably ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in the mice received PESI at 200 mg/kg and octacosane at 100 mg/kg. In the treated groups, the increase of blood sugar, muscle glycogen, TG (triglyceride), TC (total cholesterol) were all significantly inhibited, the decrease of liver glycogen, the protein content of heart and brain was also remarkably blocked ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** PESI and octacosane effectively regulate the metabolism of hypoxic mice and reserve the body's energy for survival by lowering the basic metabolism.

[Key words] *Saussurea involucrata*; anti-hypoxia activity; metabolism; petroleum ether extract; octacosane

急性高原缺氧可对心、脑、肺等重要器官造成不同程度的损伤,损伤机制主要包括自由基的氧化作用、对能量和物质代谢的影响等^[1]。食物中的糖类、脂肪与蛋白质是机体的能量来源,这些物质在体内通过氧化分解释放能量,当机体处于缺氧环境时氧

化代谢会发生变化,从而直接影响机体的物质代谢^[2]。课题组前期实验结果表明大苞雪莲石油醚部位(PESI)具有显著的抗高原缺氧活性^[3],进一步分离后发现单体成分二十八烷(octacosane)亦具有显著的抗高原缺氧活性^[4],并确定了两者的最佳给药浓度。本实验拟从物质代谢角度探讨 PESI 和 octacosane 的抗高原缺氧机制,以期阐明急性高原病(AMS)的防治策略提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 BALB /c 小白鼠,雄性,8 周龄,体重:

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81571847,81402848);甘肃省自然科学基金(145RJZA089);军队医药卫生科研项目(CLZ14JA01)
[作者简介] 马慧萍,博士,研究方向:高原药理学,Tel:(0931)8994671,Email:1026573411@qq.com

[通讯作者] 张 俊,主任医师,研究方向:医院管理和新药研发,Tel:(0931)8994024,Email:404798020@qq.com

18~22 g,购自兰州生物制品有限公司动物实验中心(实验动物合格证号:14-002),饲养于兰州总医院动物实验中心。

1.2 药品与试剂

PESI 和 octacosane 为按实验室建立的文献方法^[4]提取的样品,实验前称取适量,加适量吐温-80,边研磨边加蒸馏水,分别配制成浓度为 50 和 25 mg/ml 的混悬液;乙酰唑胺(武汉远城科技发展有限公司,批号:20100216);肌糖原、肝糖原和 BCA 法蛋白测试盒均购自南京建成生物工程研究所;血糖测试盒(四川迈克科技有限公司,批号:20110714);盐酸及其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器

FLYDWC50-II A 型低压低氧动物实验舱(中航贵州风雷航空军械有限责任公司);TG16-W 微量高速离心机(湘仪离心机仪器有限公司);BP210S 电子天平(荷兰赛多利斯有限公司);HP8453 二级管阵列紫外可见分光光度计(美国惠普公司)。

2 方法

2.1 实验动物分组和模型的建立

取 SPF 级健康雄性 BABL/c 小鼠 50 只,适应性饲养 3 d 后,随机分为正常对照组(NC)、缺氧模型组(HC)、乙酰唑胺组(AZ, 200 mg/kg)、PESI 组(200 mg/kg)和 octacosane 组(100 mg/kg),每组 10 只。实验分 3 次进行。单次尾静脉注射给药,给药体积为 0.2 ml/20 g,给药 20 min 后,除 NC 组外,将各组小鼠同时放入低压氧舱,密闭舱门,以 10 m/s 速度减压,模拟上升至海拔 6 000 m,并维持此高度 8 h,调节进气孔阀门,以 20 m/s 速度降至正常海拔高度。打开舱门,迅速活杀动物,待小鼠呼吸完全停止后,立即取出小鼠,心脏采血,枸橼酸钠抗凝,离心,取血浆,低温保存备用。解剖小鼠,分别取心脏、大脑、肝脏和骨骼肌,用生理盐水洗 3 次,清除残血,用滤纸吸干,制成 10% 组织匀浆液,用于各项指标检测。

2.2 指标测定

2.2.1 脏器含水量

用电子分析天平称取小鼠的心脏、大脑和肺脏重量,分别置于烘箱中,在 50 °C 温度下烤至恒重。采用干湿质量法分别测定 3 种脏器的含水量。按公式计算:脏器含水量(%) = (湿重 - 干重)/湿重 × 100%。

2.2.2 脏器指数

用电子分析天平称取小鼠心脏、大脑和肺脏的

重量。按公式计算:脏器指数 = 脏器湿重/小鼠体重,结果以 mg/g 表示。

2.2.3 血糖及糖原含量

实验前将小鼠禁食 6 h,按照试剂盒说明书对小鼠的空腹血糖进行测定,结果以 mmol/L 表示;按照糖原试剂盒说明书对肝糖原和骨骼肌糖原含量进行测定,结果以 mg/g 表示。

2.2.4 血脂含量

按照试剂盒说明书对血浆中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)和高密度脂蛋白(HDL-C)进行测定,结果均以 mmol/L 表示。

2.2.5 蛋白质含量

按照 BCA 法蛋白测试盒说明书对心肌和脑组织中总蛋白含量进行测定,结果以 mg/g 表示。

2.3 数据处理

采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析(ANOVA)和 LSD 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。实验数据均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 PESI 和 octacosane 对模拟高原缺氧小鼠的影响结果

3.1 对心、脑和肺组织含水量的影响

由表 1 数据显示,HC 组心、脑和肺组织含水量均显著高于 NC 组($P < 0.01$);而 PESI 和 octacosane 组均显著低于 HC 组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。AZ 组的含水量变化趋势与 PESI 和 octacosane 组相似。

3.2 对心、脑和肺组织脏器指数的影响

由表 2 数据可见,HC 组心、脑和肺组织脏器指数均显著高于 NC 组($P < 0.01$);而 PESI 和 octacosane 组均显著低于 HC 组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),除 octacosane 组肺脏指数外,均与 NC 组无显著性差异($P > 0.05$)。AZ 组心、脑、肺组织脏器指数的变化趋势与 PESI 和 octacosane 组相似。

3.3 对糖代谢的影响

表 3 数据显示,HC 组小鼠空腹血糖代偿性升高,与 NC 组相比具有显著性差异($P < 0.01$),肝糖原含量显著下降($P < 0.01$),而肌糖原含量却显著上升($P < 0.01$);PESI 和 octacosane 组的空腹血糖均显著低于 HC 组($P < 0.01$),其中,PESI 组与 NC 组无显著差异($P > 0.05$),肝糖原含量均明显高于 HC 组($P < 0.01$),但低于 NC 组($P < 0.01$);骨骼肌糖原含量都有上升趋势,但与 HC 组无显著差异($P > 0.05$)。AZ 组的血糖和肝糖原变化趋势与

表1 PESI和 octacosane 对模拟高原缺氧小鼠心、脑和肺组织含水量的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	给药剂量 (mg/kg)	心脏含水量 (%)	脑含水量 (%)	肺脏含水量 (%)
NC组	—	77.83±2.24	80.78±3.65	75.51±3.77
HC组	—	82.46±4.02**	86.66±2.72**	84.26±2.26**
AZ组	200	73.93±4.71*##	81.47±5.87#	77.81±1.83##
PESI组	200	68.77±1.72***##	79.82±5.36##	76.88±3.86##
octacosane组	100	72.57±2.79***##	81.82±5.51#	79.42±2.93*##

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与 NC 组比较; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, 与 HC 组比较

表2 PESI和 octacosane 对模拟高原缺氧小鼠心、脑和肺组织指数的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	给药剂量 (mg/kg)	心脏指数 (mg/g)	脑指数 (mg/g)	肺脏指数 (mg/g)
NC组	—	5.10±0.67	11.02±1.43	6.70±0.58
HC组	—	6.18±0.76**	12.92±0.69**	8.22±0.46**
AZ组	200	5.35±0.78#	11.28±1.22##	7.21±0.93##
PESI组	200	5.40±0.55#	10.97±1.07##	7.41±0.53##
octacosane组	100	5.50±0.64#	11.72±0.76##	7.52±0.92**

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与 NC 组比较; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, 与 HC 组比较

表3 PESI和 octacosane 对模拟高原缺氧小鼠糖代谢的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	给药剂量 (mg/kg)	血糖 (mg/dm^3)	肝糖原 (mg/g)	骨骼肌糖原 (mg/g)
NC组	—	6.02±0.66	13.88±1.73	2.02±0.21
HC组	—	14.82±1.29**	8.36±1.05**	2.87±0.17**
AZ组	200	8.81±1.22***##	11.77±0.82***##	2.63±0.15***##
PESI组	200	6.33±0.73##	11.45±1.02***##	2.92±0.11**
octacosane组	100	7.64±0.62***##	10.69±1.36***##	2.89±0.12**

** $P<0.01$, 与 NC 组比较; ## $P<0.01$, 与 HC 组比较

PESI和 octacosane 组相似,但肌糖原显著低于 HC 组($P<0.01$),与 PESI 和 octacosane 组不同。

3.4 对脂代谢的影响

由表4数据可知,HC组小鼠血浆TG和TC含量均明显高于NC组($P<0.01, P<0.05$),HDL-C无明显变化($P>0.05$);与HC组相比,PESI和 octacosane组的TG和TC含量均显著低于HC组($P<0.01$),并与NC组无显著性差异($P>0.05$),

HDL-C无明显变化($P>0.05$);AZ组的变化趋势与PESI和 octacosane组相似。

3.5 对蛋白质代谢的影响

由表5数据可见,HC组心、脑组织蛋白含量均明显低于NC组($P<0.05, P<0.01$);PESI和 octacosane组均高于HC组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),并与NC组无显著差异($P>0.05$)。AZ组的变化趋势与PESI和 octacosane组相似。

表4 PESI和 octacosane 对模拟高原缺氧小鼠脂代谢的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	给药剂量 (mg/kg)	TG含量 (mg/dm^3)	TC含量 (mg/dm^3)	HDL-C含量 (mg/dm^3)
NC组	—	0.93±0.15	2.23±0.57	2.60±0.36
HC组	—	2.56±0.63**	2.85±0.72*	2.72±0.19
AZ组	200	0.95±0.11##	1.95±0.46##	2.54±0.11
PESI组	200	0.86±0.28##	1.84±0.22##	2.54±0.37
octacosane组	100	1.45±0.24##	1.91±0.52##	2.70±0.28

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与 NC 组比较; ## $P<0.01$, 与 HC 组比较

表5 PESI 和 octacosane 对模拟高原缺氧小鼠蛋白质代谢的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	给药剂量 (mg/kg)	心肌蛋白含量 (mg/g)	脑蛋白含量 (mg/g)
NC 组	—	49.06±4.52	17.31±3.87
HC 组	—	35.24±5.42**	13.36±3.03*
AZ 组	200	44.86±5.03##	16.89±4.07#
PESI 组	200	47.56±6.65##	16.73±3.55#
octacosane 组	100	44.77±7.57##	15.97±2.12#

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 NC 组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与 HC 组比较

4 讨论

习居平原的人进入高原后,常因低压低氧环境而引发机体的一系列代偿性反应,当机体代偿失常时易发生 AMS,严重者可继发高原肺水肿(HAPE)和高原脑水肿(HACE)等致命性疾病,甚至导致死亡,而且随着海拔高度的上升,发病率逐渐升高^[5]。本研究结果表明,将小鼠暴露于海拔6 000 m高原环境8 h后,模型组小鼠心、脑、肺组织的含水量和脏器指数均较正常对照组显著上升,说明小鼠已出现脑水肿、肺水肿或全身性水肿。而预先尾静脉注射了 PESI 和 octacosane 的小鼠出现水肿情况明显较轻,说明两者可以减轻缺氧导致的组织水肿程度,从而对机体提供保护。

机体能量主要来源于糖、脂肪和蛋白质氧化分解时所释放的化学能,这一过程依赖于氧的供应。机体一旦缺氧就会影响多种合成与分解代谢反应。在高原缺氧环境下,葡萄糖的有氧氧化受阻,糖酵解增加,每分子葡萄糖经过糖酵解可以提供 2 分子 ATP,糖原也作为一种储备能源而被加以利用^[6]。急性低氧条件下,脂肪分解代谢大于合成代谢,脂肪组织的分解供能增多,但脂肪分解代谢也是一个需氧过程^[7]。蛋白质在无氧条件下的合成代谢下降,分解代谢增多,氨基酸糖异生增强,但一些于低氧条件下能促进低氧习服的蛋白质,如缺氧诱导因子、红细胞生成素、血管内皮生长因子等的合成却明显增加,这将有利于增强机体对氧的摄取与运输,利于物质的氧化和维持能量平衡^[8]。

本实验结果表明,当小鼠上升至模拟海拔 6 000 m 高度 8 h 后,模型组小鼠空腹血糖代偿性升高,肝糖原含量明显下降,肌糖原含量明显上升;TC 和 TG 含量明显升高,蛋白含量明显降低。而尾静

脉注射了 PESI 和 octacosane 的小鼠空腹血糖均无明显增高,肝糖原含量明显上升,肌糖原含量虽有上升趋势,但无统计学意义;TC 和 TG 含量均明显降低,蛋白质含量明显升高。这些结果表明,PESI 和 octacosane 均能逆转因缺氧所引发的机体在糖代谢、脂代谢和蛋白质代谢方面的代偿性变化,从而保护机体因缺氧造成的损伤。因此,从抗水肿和改善物质代谢角度来看,PESI 和 octacosane 均能改善缺氧小鼠心肌、大脑和肺组织的水肿程度,提高肝脏糖原的储备能力,使机体的物质代谢和能量供求处于相对平衡状态,既能保证机体对能量的需求,又不过多消耗能量,从而提高机体的抗缺氧能力。

综上所述,PESI 和 octacosane 均能显著减轻模拟高原缺氧小鼠心、脑、肺组织的水肿情况,逆转缺氧引发的糖、脂和蛋白质代谢的变化,缓解缺氧所致能量缺乏和代谢障碍,从而提高机体的耐缺氧能力。

【参考文献】

- [1] Imray C, Wright A, Subudhi A, *et al.* Acute mountain sickness: pathophysiology, prevention, and treatment[J]. *Progr Cardiovascul Dis*, 2010, 52(6): 467-484.
- [2] 刘晋,郭长江,吴健全,等.联合补充维生素 B₁、B₂、PP 对急性低氧暴露小鼠物质代谢的改善作用[J]. *中国应用生理学杂志*, 2011, 27(2): 215-218.
- [3] Ma HP, Fan PC, Jing LL, *et al.* Anti-hypoxic activity at simulated high altitude was isolated in petroleum ether extract of *Saussurea involucreta*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(3): 1510-1515.
- [4] 景临林,何蕾,樊鹏程,等.天山雪莲抗缺氧活性成分研究[J]. *中药材*, 2015, 38(1): 89-92.
- [5] Min L, Lan H, Kaixin T, *et al.* Relationship between autonomic nervous system function and acute mountain sickness[J]. *J Med Colleg PLA*, 2008, 23(5): 276-282.
- [6] 王镜岩,朱圣庚,徐长法. *生物化学(下册)*[M]. 北京:高等教育出版社, 2002, 232-247.
- [7] 马慧萍,高荣敏,吴金华,等.大苞雪莲乙醇提取物对模拟高原缺氧小鼠物质代谢的影响[J]. *解放军药学报*, 2013, 29(4): 301-304.
- [8] 张汝学,贾正平,李茂星,等.锁阳水提物 Part III 对缺氧小鼠心、脑蛋白含量及病理形态的影响[J]. *西北国防医学杂志*, 2008, 29(4): 241-243.
- [9] 涂宏海,张汝学,贾正平,等.三康胶囊对缺氧小鼠糖代谢和 HPA 轴功能的影响[J]. *解放军药学报*, 2009, 25(3): 216-220.

【收稿日期】 2017-11-08 【修回日期】 2018-01-08

【专栏编辑】 李睿旻