

D-木糖对高脂血症大鼠脂代谢调节的作用机制

何东^① 王晓雨^① 程玉刚^① 刘宛灵^① 丁继程^② 王向东^① 李霞^{①*}

① 山东大学医学院 济南 250012; ② 济南圣泉唐和唐生物科技有限公司 济南 250100

摘要: 为了探讨 D-木糖对于高脂血症模型大鼠 (*Rattus norvegicus*) 脂代谢的调控作用及其分子机制, 以高脂饲料饲喂 Wistar 雄性大鼠 7 周建立了高脂血症模型大鼠, 以同批次饲喂普通饲料的大鼠作为正常对照组; 后将高脂血症模型大鼠再分为 4 组, 包括高脂血症模型组, 高浓度 D-木糖给药组 (给药剂量按照大鼠的体重为 1.2 mg/g·d), 中浓度 D-木糖 (给药剂量 0.6 mg/g·d) 给药组, 低浓度 D-木糖给药组 (给药剂量 0.3 mg/g·d)。给药组以灌胃方式给药, 正常对照组和高脂血症模型组动物同时灌胃等量生理盐水。6 周后处死动物取材, 计算脂/体比; 肝冰冻切片观察肝的病理学变化; 肝匀浆处理, 以蛋白质印迹法测定高密度脂蛋白受体 (HDL-R) 的表达变化; 同时测定相关血液生化指标。结果表明, 高脂血症模型大鼠给予 D-木糖干预后, 各剂量给药组的体重与脂/体比显著低于高脂血症模型组 ($P < 0.05$), 二者谷胱甘肽过氧化物酶、总脂酶表达差异显著 ($P < 0.05$), 但胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白的差异不显著 ($P > 0.05$); 病理学改变表现突出, 高浓度给药组肝细胞坏死与高脂模型组以及中低浓度给药组相比明显减轻, 小叶结构完整, 脂肪变程度轻, 且较少炎性浸润; HDL-R 蛋白表达水平在正常对照组与高脂血症模型有显著差异, 各剂量给药组 HDL-R 水平呈现一定的药物浓度依赖性, 高浓度给药组更接近于正常对照组。说明高脂血症大鼠经 D-木糖治疗后, 肝脂肪性变和肝细胞坏死程度减轻, 肝细胞 HDL-R 的缺乏得到明显改善, 证实 D-木糖在改善高脂血症大鼠肝细胞损伤状况、保护肝组织结构与功能完整的过程中发挥调节作用。

关键词: D-木糖; 高脂血症; 高密度脂蛋白受体

中图分类号: R587.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2012)06-103-09

The Effect of D-xylose on Lipid Metabolism of Rats with Hyperlipemia and Its Related Mechanism

HE Dong^① WANG Xiao-Yu^① CHENG Yu-Gang^① LIU Wan-Ling^①
DING Ji-Cheng^② WANG Xiang-Dong^① LI Xia^{①*}

① School of Medicine, Shandong University, Jinan 250012; ② Healtang Biotech Co., Ltd, Jinan 250100, China

Abstract: To investigate the effect of D-xylose on lipid metabolism of rats (*Rattus norvegicus*) with hyperlipemia and its related molecular mechanism, high-fat diet was used to feed the Wistar male rats to generate the hyperlipemia model, and normal diet was used to feed the same batch rats as normal control group. Then all the rats with hyperlipemia were divided into four groups, i. e., high dose D-xylose interfering group (1.2 mg D-xylose per gram body weight per day), medium dose D-xylose interfering group (0.6 mg D-xylose per gram body weight per day), low dose D-xylose interfering group (0.3 mg D-xylose per gram body weight per day), and control hyperlipemia group. Intra-gastric administration of D-xylose was performed in interfering groups,

* 通讯作者, E-mail: lixia1666@sdu.edu.cn;

第一作者介绍 何东, 男, 本科生; 研究方向: 肥胖与糖尿病机制; E-mail: 13589057077@126.com。

收稿日期: 2012-07-03, 修回日期: 2012-09-21

while the normal control group and hyperlipemia control group were administrated with equivalent amount of normal saline. After 6 weeks, all the rats were sacrificed for obtaining testing samples. The body fat content was measured; a portion of liver samples was used for frozen section in order to survey the pathological changes and another portion of liver was homogenized to test the biochemical changes; Western blot was employed to check the HDL-R expression changes; while the blood samples were used to test the biochemical changes. After D-xylose treatment of rats with hyperlipemia, significant difference was observed in the body weight and the ratio of body weight to fat tissue weight between each drug treatment group and hyperlipemia model group ($P < 0.05$). The expression levels of GSH-Px, LPL and HL were significantly different among these groups ($P < 0.05$), but the total cholesterol, low-density lipoprotein, high-density lipoprotein and triacylglycerol in rats treated with D-xylose were not reduced significantly ($P > 0.05$). Pathological features in the group treated with high concentration of D-xylose was evidently eased than in hyperlipemia model group, medium or low dose treatment group; liver cell necrosis was reduced significantly, the hepatic lobule was complete, steatosis and inflammatory infiltration were mild. HDL-R protein expression level showed significant difference between normal control group and hyperlipemia model group, while HDL-R expression in the group treated with a high concentration of D-xylose was closer to the control group. Therefore, after the treatment of D-xylose, liver fatty change and liver necrosis of the rats with hyperlipemia have been alleviated, and the deficiency of HDL-R in liver cells has been improved. All the results indicate that D-xylose plays an important role in improving the damage of hyperlipemia to liver cells and organ function in rats.

Key words: D-xylose; Hyperlipidemia; High density lipoprotein receptor

随着当今社会人们生活方式的改变,肥胖人群的数量日益增加,肥胖症成为导致多种代谢性疾病的重要因素。流行病学调查显示:肥胖本身是一种可预防的致死性因素,其本身是多种慢性疾病,如冠状动脉粥样硬化、2型糖尿病以及脑卒中的高危因素^[1]。因此,关于肥胖症的控制与研究,日益受到大众的认知与重视。除了应用常规的他汀类药物外,寻求一种耐受性好、依从性好的药物或食品添加剂是非常必要的。D-木糖是一种戊醛糖,为低聚木糖的单体,既往研究表明,低聚木糖为双歧杆菌增殖因子,可抑制病原菌,改善肠道微生态环境,防止腹泻、便秘,增强机体免疫力,降低血清中胆固醇含量,降低血压和分解致癌物等^[2-3]。既往研究中常用D-木糖进行肠道吸收功能实验,缺乏关于其本身作用于肝等脏器以及脂肪代谢方面的研究,故目前关于单体D-木糖的相关研究尚不充分。本实验目的在于探讨D-木糖作为吸收实验试剂以外药物应用的前景以及相关的作用机制,从而填补这方面的空缺。

高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)是最小且密度最高的脂蛋白,其阿朴脂

蛋白的含量最高。肝以阿朴脂蛋白和磷脂的联合体形式合成高密度脂蛋白,HDL可与细胞接触并运输其中的胆固醇,使血浆中的蛋黄素-胆固醇酰基转化酶(lecithin cholesteryl acyltransferase, LCAT)把自由的胆固醇转化成胆固醇酯,之后转移到脂蛋白的中心,最后形成新的高密度脂蛋白球,HDL本身在血浆中不断增大并在自身结构中结合更多的游离胆固醇,从而降低血浆中游离胆固醇的比例。因此,HDL这种脂蛋白更多地反映出来的是它抑制疾病的作用^[4]。近年研究表明,高密度脂蛋白抗动脉粥样硬化的作用主要基于其参与的胆固醇逆转运(reverse cholesterol transport, RCT)过程,并确定清道夫受体BI(scavenger receptor class B type I, SR-BI)即为功能性的高密度脂蛋白受体(high density lipoprotein receptor, HDL-R)^[5]。可见HDL-R在肥胖症或高脂血症所引起的疾病防控方面具有重要的作用。

本实验以高脂饲料饲养的方法建造大鼠(*Rattus norvegicus*)高脂血症模型,研究D-木糖对于高脂血症大鼠脂代谢的调节作用,及其对HDL-R表达的影响,为D-木糖对肥胖症以及高

脂血症人群的应用,以及降低与延缓高脂血症罹患风险和病程发展提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 50只健康雄性 Wistar 大鼠,体重 150~180 g,8 周龄。实验动物和所用基础饲料购自山东大学实验动物中心。基础饲料配方为:玉米粉 35%,小麦粉 32%,豆粉 18%,麸皮 8%,秘鲁鱼粉 4%,酵母粉 1.5%,骨粉 1.5%,植物油 0.8%,食盐 0.3%,多种维生素 0.03%,鱼肝油粉 0.01%,微量元素适量。经查阅文献资料^[6-7],选取造模饲料配方为:胆固醇 1%,猪油 18%,胆盐 0.2%,糖 20%,基础饲料 60.8%,购自北京科澳协力饲料公司。

1.2 方 法

1.2.1 大鼠分组以及造模 50只大鼠进行 3 d 环境适应,随机分为正常对照组 10 只和高脂血症模型组 40 只,前者饲喂基础饲料,后者饲喂高脂饲料,共 7 周。确定大鼠造模成功后重新测量体重,将造模成功的 40 只高脂血症模型大鼠按照随机数表分组,即高脂血症模型组和高、中、低浓度给药组,每组 10 只。

造模标准:动物饲喂过程中每周称重,并用乙醚麻醉后测量体长。根据相关文献^[8]以体重超过正常对照组 20% 为高脂血症模型组造模成功。实验第 6 周末达到标准。

1.2.2 治疗性给药 D-木糖(纯度 >98%)由济南圣泉唐和唐生物科技有限公司提供。按照高浓度 120 mg/ml、中浓度 60 mg/ml、低浓度 30 mg/ml 配制溶液,4℃ 冷藏保存,使用前预热至室温,保存期 2 周。给药组动物按照药物占其体重的比例灌胃 D-木糖,分别是低浓度 0.3 mg/g·d、中浓度 0.6 mg/g·d、高浓度 1.2 mg/g·d,正常对照组和高脂血症模型动物同时灌胃等量生理盐水,共 6 周。给药期间饲料、饮水自由摄入。第 6 周末处死实验动物进行取材。

1.2.3 取材 采用 10% 水合氯醛(0.005 ml/g)腹腔注射大鼠,麻醉后解剖动物,分别摘取部分肝和主动脉弓血管,立即 -80℃ 冰冻,另取部分肝用于匀浆。

肝匀浆:称取(1.0±0.1)g 肝组织,于 9 倍体积匀浆介质(pH 7.4,0.01 mol/L Tris-HCl,0.001 mol/L EDTA-Na₂,0.01 mol/L 蔗糖,0.85% NaCl)中剪碎,以 Vibra-Cell 超声波细胞破碎仪(美国 Sonics 生物工程公司)振幅 300 μm 超声破碎 10 s,间隔 5 s,如此反复 6 次,所得匀浆液于 4℃ 4 000 r/min 离心 30 min,留取上清液。

血液标本取材:心取血 10 ml,3 000 r/min 低温离心 10 min 后,分离出上层血清,-20℃ 冰箱保存备用。

1.2.4 相对脂/体比检测 各组实验动物分别刮取肾周以及附睾部位的主要脂肪组织进行称量,皮下以及网膜脂肪不予计入,通过两部分主要脂肪积累部位的脂肪重量与体重之比,计算各实验动物相对脂/体比。

1.2.5 血清学检测 按照 1.2.3 方法取得血清标本后,使用日立 7100 全自动生化分析仪,检测血清胆固醇(total cholesterol,CHO)、甘油三酯(triglyceride,TG)、血糖(glucose)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol,HDL-c)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol,LDL-c)含量。

1.2.6 形态学观察 组织标本以甲醛钙溶液固定 24 h,用 MICROM-HM550 冰冻切片机(美国 MICROM 公司)切片,厚度 6 μm,分别进行苏木素-伊红 Y 染色(H.E 染色)与油红 O 染色,光镜观察病理形态学变化。油红 O 染色为:切片以蒸馏水漂洗后入油红 O 染液 15 min,以 60% 异丙醇漂洗 1 min,即可镜下观察拍照。

1.2.7 肝匀浆液的酶学检测 测定各组肝匀浆液中的蛋白浓度,并在此基础上进行谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-PX)、总脂酶[包括脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase,LPL)和肝脂酶(hepatic lipase,HL)]等酶学数据的测定。试剂盒购自南京建成生物工程研究所,按照指示的操作步骤处理,分别用酶标仪测定各个酶学指标的吸光度值,通过标准曲线或与标准样品之比求得对应的酶活力值。

1.2.8 Western blot 检测肝匀浆液中 HDL-R 的蛋白表达 各组分别取 6 个样本, 分次实验。考马斯亮蓝法测定各个样本的蛋白浓度。各样本取总蛋白 60 μg , 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min, 经 SDS-PAGE 电泳后转膜, PVDF 膜漂洗、封闭后, 分别加入小鼠单克隆抗体 HDL-R (1:1 000) 和 β -actin (1:200) 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。次日用 1 \times TBST 洗膜 4 次, 每次 15 min, 再加 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG (1:3 000) 室温振荡孵育 1 h, 用 1 \times TBST 洗膜 4 次, 每次 15 min, 加入 ECL 显色剂显色。利用凝胶成像分析系统扫描成像, 以 Imagr I 图像分析软件将电泳所得的 HDL-R 和 β -actin 条带进行相对光密度值分析, 以对照组蛋白表达量为 100%, 得到各样本组相对光密度的灰度比值。

1.3 统计学观察 各个数据采用单因素方差分析, 非正态分布数据组比较采用 U 检验, 相关分析采用 spearman 相关分析, 采用 SPSS18.0 统计软件对实验数据进行统计学处理。病理形态学结果采用对比描述分析。

2 结果

2.1 分组饲养结果与脂/体比 饲养期间各实验动物总体体重增加, 个别实验动物体重减低。造模过程中实验动物共计死亡 7 只 (主要因为灌胃死亡)。最终各组的体重及相对脂/体比见表 1。高脂血症模型组和各剂量给药实验组的体重及脂/体比均显著高于正常对照组 ($P < 0.05$); 而且高脂血症模型组显著高于各剂量给药实验组 ($P < 0.05$); 各剂量实验组之间, 只

有中、高浓度组间脂/体比有差异 ($P < 0.05$), 其余无统计学差异 ($P > 0.05$)。

2.2 血清学指标 高脂血症模型组的胆固醇显著高于正常对照组 ($P < 0.05$)。正常对照组的甘油三酯显著低于高脂血症模型组和各剂量给药组 ($P < 0.05$), 但高脂血症模型组与各剂量给药组之间无差异 ($P > 0.05$)。高密度脂蛋白只在正常对照组与高浓度给药组间有差异 ($P < 0.05$), 其余各组间无差异 ($P > 0.05$)。正常对照组的低密度脂蛋白与高脂血症模型组和中、高浓度给药组间有差异 ($P < 0.05$), 其余各组间无差异 ($P > 0.05$) (表 2)。

2.3 肝组织酶活性指标 由表 3 可见, 高脂血症模型组与正常对照组和高浓度给药组间的脂蛋白脂酶 (LPL) 均有显著性差异 ($P < 0.05$), 而各浓度给药组间无差异 ($P > 0.05$)。高脂血症模型组的肝脂酶 (HL) 显著低于正常对照组和各剂量给药组 ($P < 0.05$), 而各剂量给药组间无差异 ($P > 0.05$)。高脂血症模型组的谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 显著低于正常对照组和高浓度给药组 ($P < 0.05$), 且高、低剂量给药组间也有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.4 形态学观察 肝 H. E 切片可见, 正常对照组大鼠肝小叶结构完整, 肝细胞排列整齐, 肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列, 细胞形态正常, 无炎性细胞浸润, 无脂肪样病理改变 (图 1A)。高脂血症模型组大鼠肝细胞索排列紊乱, 部分肝细胞体积增大, 中央静脉周围大片肝细胞内细胞质被脂肪泡挤压变形, 小叶周边肝细胞肿胀, 中央静脉周围的肝细胞有大片坏

表 1 各组体重与脂/体比的比较 (平均值 \pm 标准差)

Table 1 Body weight and the ratio of fat to body weight in each group (Mean \pm SD)

	样本量 Simple size (n)	体重 Body weight (g)	脂/体比 Body fat ratio (%)
正常对照组 Normal control group	10	354.1 \pm 41.9 [#]	1.67 \pm 0.59 [#]
高脂血症模型组 Hyperlipemia model group	8	470.2 \pm 28.4 ^{*#}	4.25 \pm 0.64 ^{*#}
高浓度给药组 High dose drug treated group	8	419.7 \pm 31.0 ^{*Δ}	2.60 \pm 0.49 ^{*Δ}
中浓度给药组 Medium dose drug treated group	9	422.9 \pm 39.8 ^{*Δ}	3.28 \pm 0.61 ^{*Δ}
低浓度给药组 Low dose drug treated group	8	412.5 \pm 56.8 ^{*Δ}	3.31 \pm 0.76 ^{*Δ}

* 与正常对照组比较, 差异显著, $P < 0.05$; Δ 与高脂血症模型组比较, 差异显著, $P < 0.05$; # 与高浓度给药组比较, 差异显著, $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs. normal control group; $\Delta P < 0.05$ vs. hyperlipemia model group; # $P < 0.05$ vs. high dose drug treated group.

表 2 各组血清学检测结果(平均值 ± 标准差)

Table 2 Serum CHO, TG, HDL and LDL contents in each group of rats (Mean ± SD)

	样本量 Simple size (n)	胆固醇 CHO Cholesterol (mmol/L)	甘油三酯 TG Triglyceride (mmol/L)	高密度脂蛋白 HDL High-density lipoprotein (mmol/L)	低密度脂蛋白 LDL Low-density lipoprotein (mmol/L)
正常对照组 Normal control group	10	1.576 0 ± 0.171 7	0.631 0 ± 0.128 5	0.669 0 ± 0.109 4	0.233 0 ± 0.092 6
高脂血症模型组 Hyperlipemia model group	8	1.895 0 ± 0.464 8*	0.961 2 ± 0.217 0*	0.588 7 ± 0.197 4	0.513 8 ± 0.235 7*
高浓度给药组 High dose drug treated group	8	1.787 5 ± 0.270 8	0.938 8 ± 0.390 7*	0.507 5 ± 0.117 4*	0.467 5 ± 0.177 3*
中浓度给药组 Medium dose drug treated group	9	1.710 0 ± 0.198 1	0.865 6 ± 0.156 5*	0.553 3 ± 0.165 5	0.420 0 ± 0.201 9*
低浓度给药组 Low dose drug treated group	8	1.748 8 ± 0.331 3	0.875 0 ± 0.229 4*	0.586 2 ± 0.173 4	0.386 2 ± 0.208 5*

* 与正常对照组比较,差异显著, $P < 0.05$ 。* $P < 0.05$ vs. normal control group, $\Delta P < 0.05$ 。

表 3 各组肝组织的酶活性检测结果(平均值 ± 标准差)

Table 3 LPL, HL and GSH-PX activity in liver tissue of each group (Mean ± SD)

	样本量 Simple size (n)	脂蛋白脂酶 LPL Lipoproteinlipase (u/ml)	肝脂酶 HL Hepaticlipase (u/ml)	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-PX Glutathione peroxidase (u/ml)
正常对照组 Normal control group	8	26.980 0 ± 5.067 3	11.926 5 ± 3.984 3	26.144 9 ± 9.699 1
高脂血症模型组 Hyperlipemia model group	8	17.851 8 ± 4.952 8*	7.955 9 ± 2.690 0*	15.765 4 ± 4.083 4*
高浓度给药组 High dose drug treated group	8	24.786 0 ± 4.084 7 Δ	9.664 8 ± 1.466 1	24.754 8 ± 6.878 3 Δ
中浓度给药组 Medium dose drug treated group	9	23.539 0 ± 5.335 3 Δ	9.900 1 ± 4.007 3	20.414 2 ± 9.153 1
低浓度给药组 Low dose drug treated group	8	23.479 7 ± 7.569 9 Δ	7.875 3 ± 3.000 8*	16.549 9 ± 3.326 5*#

* 与正常对照组比较,差异显著, $P < 0.05$; Δ 与高脂血症模型组比较,差异显著, $P < 0.05$; #与高浓度给药组比较,差异显著, $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs. normal control group; $\Delta P < 0.05$ vs. hyperlipemia model group; # $P < 0.05$ vs. high dose drug treated group.

死,间质内有炎性细胞浸润(图 1B)。各剂量给药组与高脂血症模型组相比,肝细胞变性、坏死程度明显减轻,炎性细胞浸润减少,肝组织病变明显改善,且随剂量的增加,各种病变逐渐减轻(图 1C~E),高剂量给药组仅见少量肝细胞坏死(图 1C)。

主动脉弓血管切片可见,正常组大鼠主动脉内膜光滑、平坦,三层细胞排列整齐,内皮细胞扁平,紧贴于平直的内弹力板上,平滑肌细胞呈长梭形,与弹力板近似平行相间排列,细胞核大小均一,细胞膜及核膜清晰、完整,胞浆染色

均匀(图 2A)。高脂血症模型组大鼠主动脉结构不清晰,局部主要由排列紊乱的平滑肌细胞和泡沫细胞组成;三层细胞排列不整齐,内膜粗糙有缺损;中膜平滑肌纤维断裂,结构缺损;外膜细胞萎缩(图 2B)。高浓度给药组主动脉各层结构尚清晰,内膜有局部轻微增厚,破坏较轻;血管壁胶原纤维稍有增多,但未断裂,结构较为完整;外膜细胞排列稍有不整齐(图 2C)。中、低浓度给药组则接近高脂血症模型的表现(图 2D,E)。

油红 O 染色,可以显示肝脂变程度,结果

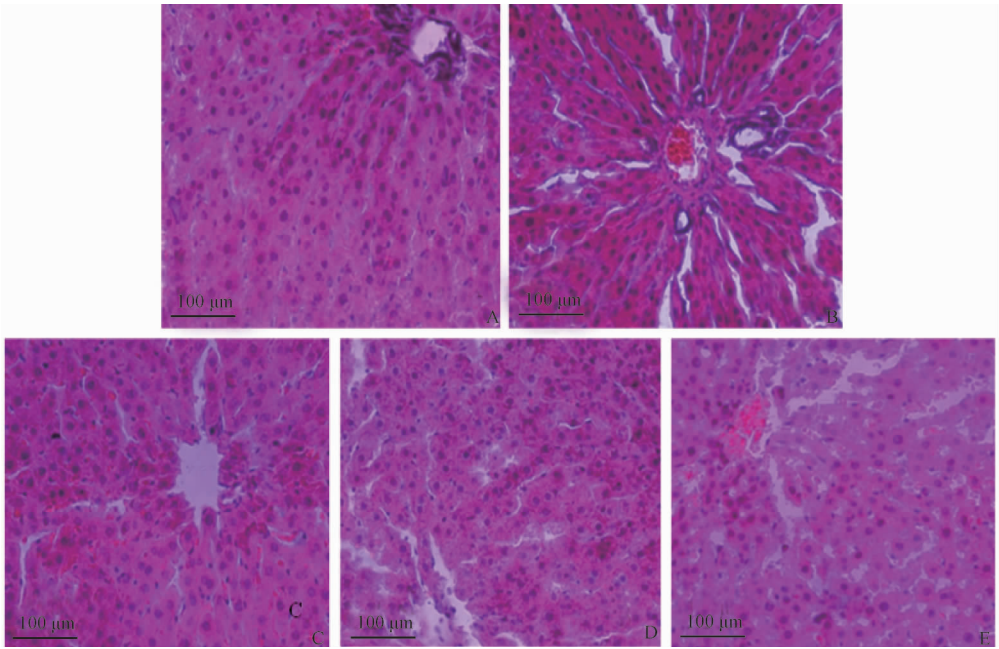


图 1 大鼠肝组织 H.E 染色 (×200)

Fig. 1 H.E staining of rat liver

A. 正常对照组; B. 高脂血症模型组; C. 高浓度给药组; D. 中浓度给药组; E. 低浓度给药组。

A. Normal control group; B. Hyperlipidemia model group; C. High dose drug treated group; D. Medium dose drug treated group; E. Low dose drug treated group.

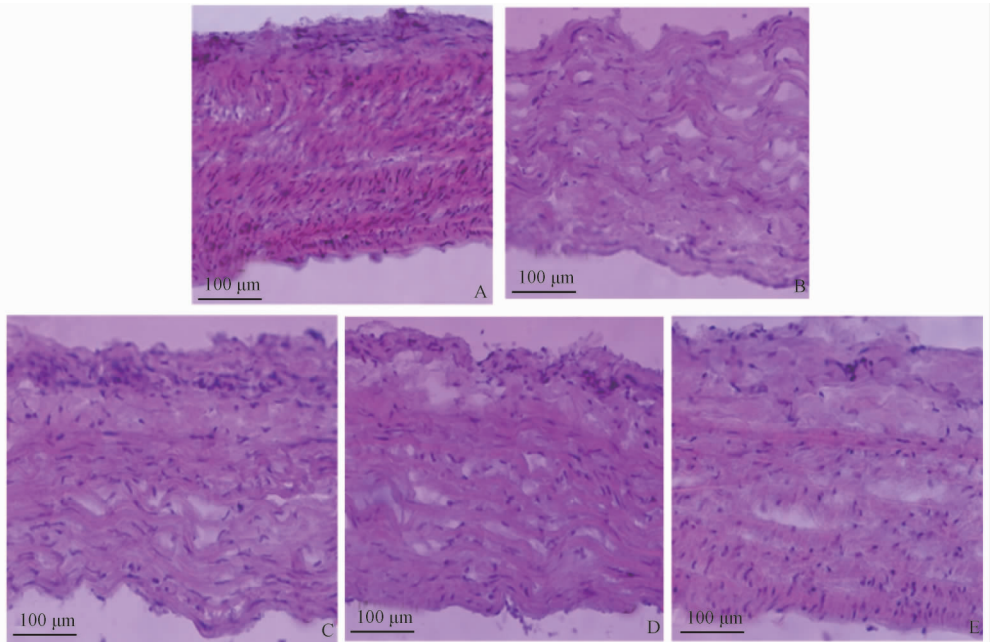


图 2 大鼠主动脉弓血管切片 H.E 染色 (×200)

Fig. 2 H.E staining of rat aortic arch slice

A. 正常对照组; B. 高脂血症模型组; C. 高浓度给药组; D. 中浓度给药组; E. 低浓度给药组。

A. Normal control group; B. Hyperlipidemia model group; C. High dose drug treated group; D. Medium dose drug treated group; E. Low dose drug treated group.

可见,正常对照组肝结构连续,内壁界限清晰,肝小叶结构完整(图 3A)。高脂血症模型组严重脂肪样变,肝小叶结构破碎(图 3B)。高浓度

给药组表现较轻的脂肪样变,脂肪滴较少且细胞结构较完整,结构较清晰(图 3C),但中、低浓度给药组间没有明显差异(图 3D,E)。

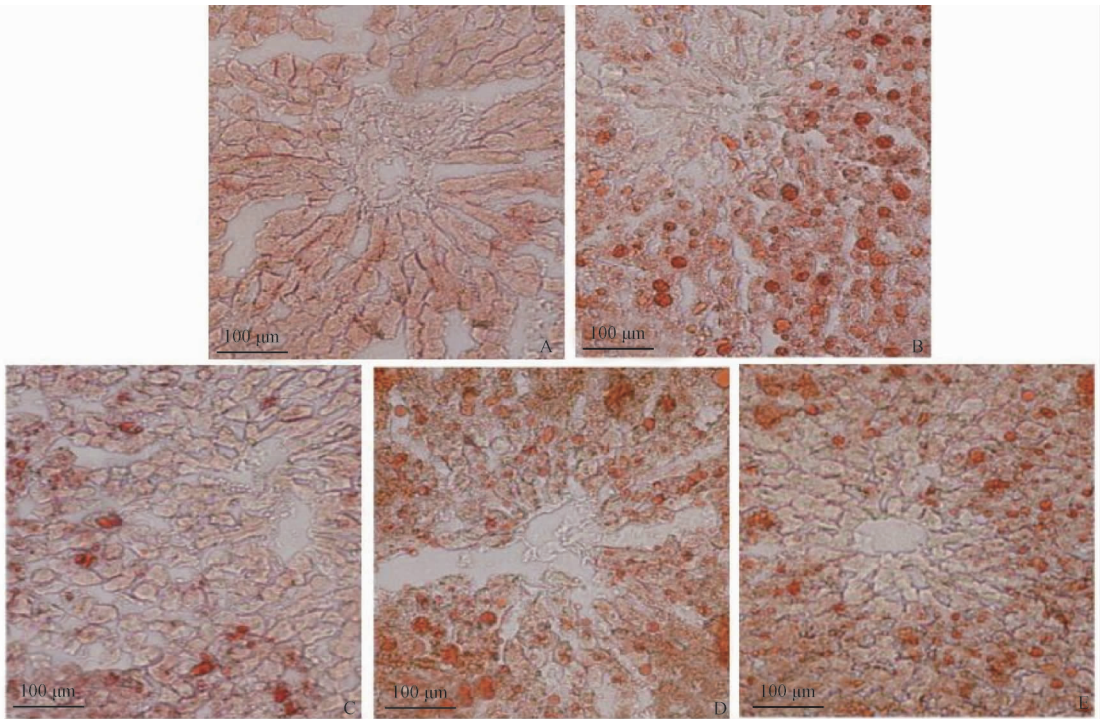


图 3 大鼠肝组织脂肪性病理学改变(油红 O 染色, $\times 200$)

Fig. 3 Fatty pathological changes of rat liver tissue (Red oil, $\times 200$)

A. 正常对照组; B. 高脂血症模型组; C. 高浓度给药组; D. 中浓度给药组; E. 低浓度给药组。

A. Normal control group; B. Hyperlipemia model group; C. High dose drug treated group; D. Medium dose drug treated group; E. Low dose drug treated group.

2.5 D-木糖对肝组织高密度脂蛋白受体(HDL-R)表达水平的影响 以 western blot 检测法分析 HDL-R 蛋白表达变化。统计结果显示,该蛋白表达水平在正常对照组与高脂血症模型组有显著差异,高浓度给药组更接近于正常对照组(图 4)。

3 讨论

本实验通过物理指标和组织病理学观察及血清和肝匀浆生化指标检测,正常对照组与高脂血症模型组之间在多项指标上有显著性差异,提示已成功建立大鼠脂代谢紊乱模型。脂质代谢紊乱已被公认为是高脂血症的传统危险因素^[9-10],大量临床流行病学和基础研究结果

表明,血浆中的胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)或低密度脂蛋白(LDL)水平升高,高密度脂蛋白(HDL)水平降低,可促进动脉粥样硬化的发生^[11]。总脂酶包括脂蛋白酯酶(LPL)与肝脂酶(HL),是脂质代谢中的关键酶,具有清除血浆脂蛋白中所含甘油三酯(TG)的重要作用。通过提高脂蛋白酯酶与肝脂酶的表达,可降低血清中胆固醇、甘油三酯水平,升高高密度脂蛋白水平,避免高脂血症、脂肪肝的发生。已有研究表明,高密度脂蛋白的降低是动脉粥样硬化的重要易患因子^[12],因此寻找确切有效的途径调节高密度脂蛋白受体(HDL-R)的表达,并通过 HDL-R 的表达上调来达到治疗与逆转动脉粥样硬化等疾病的目的,成为了关注的热点。

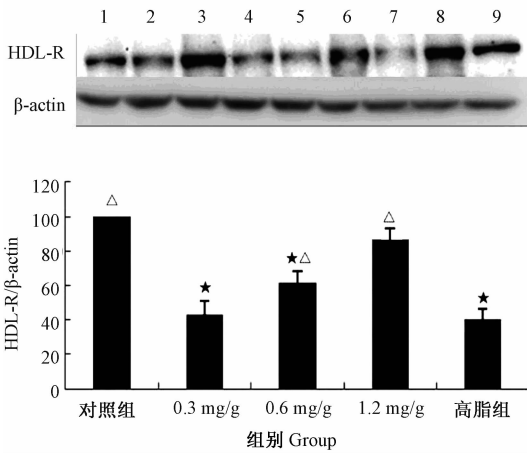


图 4 各组 HDL-R 蛋白表达量

Fig. 4 Expression levels of HDL-R protein

A. HDL-R 和 β -actin 的表达, 1、2. 高剂量给药组, 3、4. 中剂量给药组, 5、6. 低剂量给药组, 7、8. 正常对照组, 9. 高脂血症模型组; B. 相对表达含量柱状图: 对照组指正常对照组, 0.3 mg/g 即低剂量给药组, 0.6 mg/g 即中剂量给药组, 1.2 mg/g 即高剂量给药组, 高脂组即高脂血症模型组。★与正常对照组比较, 差异显著, $P < 0.05$; Δ与高脂血症模型组比较, 差异显著, $P < 0.05$ 。

A. Expression level of HDL-R and β -actin: 1 - 2. High treated groups, 3 - 4. Medium treated groups, 5 - 6. Low dose treated groups, 7 - 8. Normal control group, 9. Hyperlipemia model group; B. Bar chart of expression level of HDL-R: 对照组 means normal control group, 0.3 mg/g is low dose treated group, 0.6 mg/g is medium treated groups, 1.2 mg/g is high treated groups, 高脂组 means hyperlipemia control group. ★ $P < 0.05$ vs. normal control group, Δ $P < 0.05$ vs. hyperlipemia model group.

本研究结果显示, D-木糖对于高脂血症模型大鼠的降脂作用在胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白差异不显著 ($P > 0.05$), 但数据反映有改善趋势, 且以高浓度剂量组效果明显。推测这种结果可能与实验时间较短有关。从形态学表现可见, D-木糖对于肝脂肪变性后的肝细胞有显著的保护作用。

从主动脉血管的 H. E 染色观察分析, 高脂血症模型大鼠产生动脉粥样硬化的可能性增加, 而用药后病理改变明显减轻, 说明 D-木糖可降低动脉粥样硬化的发生风险, 并且以高浓度剂量组效果较好。

大量既往实验证实, 脂肪肝状态下可使肝谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 含量显著降

低。GSH-PX 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶, 它特异地催化还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 对过氧化物的还原反应, 一般认为它在细胞内能清除有害的过氧化物代谢产物, 阻断脂质过氧化连锁反应, 从而起到保护细胞膜结构和功能完整的作用^[13]。在肝内 GSH-PX 能清除自由基, 抑制脂质过氧化反应, 保护肝细胞, 恢复肝的正常功能, 提高体内依赖性抗氧化系统的能力, 是预防脂肪肝发生和发展的重要因素之一^[14]。因此其水平高低可以作为肝损伤时肝抗氧化能力的指标。从各组肝组织匀浆相关酶学指标检测结果分析, D-木糖可显著提高脂蛋白酯酶、肝脂酶、谷胱甘肽过氧化物酶的含量, 以高剂量给药效果最为显著, 提示 D-木糖预防高脂血症效果有剂量依赖性。

从高密度脂蛋白受体 (HDL-R) 表达结果分析, D-木糖可以显著提高 HDL-R 的表达, 同时显示了剂量依赖性。而其调节 HDL-R 表达上调的因素可能与其对脂蛋白酯酶 (LPL) 与肝脂酶 (HL) 功能的促进有关, 脂蛋白酯酶主要分解乳糜颗粒 (chylomicron, CM) 以及极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 中的甘油三酯 (TG), 在脂蛋白之间转移胆固醇 (CHO)、载脂蛋白 (apolipoprotein, Apo) 及磷脂 (phospholipid, PHL), 代谢后的极低密度脂蛋白 (VLDL) 转变为中密度脂蛋白 (intermediate density lipoprotein, IDL)。而肝脂酶 (HL) 存在于内皮细胞的表面, 参与中密度脂蛋白 (IDL) 与极低密度脂蛋白的转变过程, 分解后的中密度脂蛋白 (IDL) 被肝细胞摄取, 也可选择性的分解高密度脂蛋白-2 (HDL-2) 中的磷脂与甘油三酯 (TG), 从而使高密度脂蛋白-2 (HDL-2) 向高密度脂蛋白-3 (HDL-3) 转化, 促进了高密度脂蛋白 (HDL) 的产生。而高密度脂蛋白 (HDL) 增加以及本身高脂的因素均会导致 HDL-R 的表达上调。

与阿托伐他汀等典型的他汀类药物相比, D-木糖的副反应在动物实验中并不明显, 且无横纹肌溶解风险, 作用位点主要在于调节高密

度脂蛋白受体(HDL-R)的活性,同他汀类抑制3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A(3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase, HMG-CoA)还原酶不同,其调节脂质的机制对于低密度脂蛋白(LDL)以及HDL-R的作用^[15]相对于他汀类较弱。低聚木糖通过作用于双歧杆菌(*Bifidobacterium*)产生胆酸水解酶,将结合胆酸游离,使胆酸同胆固醇结合沉淀,随大便排出,从而发挥降低脂质的作用^[16],但低聚木糖在肠道中吸收困难,与此相比,D-木糖则对于肝脂肪变性的干预作用更加直接。

综上所述,高脂血症模型大鼠在血脂增高的同时,伴随肝细胞脂肪变性程度的加重,而且肝细胞脂肪变性程度与血中甘油三酯(TG)含量变化基本保持一致。应用D-木糖治疗后,能使脂蛋白酯酶(LPL)与肝脂酶(HL)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性升高,降低高脂血症模型大鼠甘油三酯、胆固醇和低密度脂蛋白含量,减轻肝脂肪变性和肝细胞坏死程度,可以有效地通过调节脂蛋白酯酶(LPL)与肝脂酶(HL)等途径提高高密度脂蛋白的含量,促进胆固醇的转运,以达到对于肝以外脏器血管和肝的保护作用,高密度脂蛋白受体(HDL-R)的表达上调佐证了这一推论。综合各个作用最终可以达到防治脂肪肝的作用。这为进一步研究HDL-R表达调节的因素以及阐明D-木糖对高脂血症模型大鼠的调脂作用机制提供了实验依据。综合分析实验结果,我们认为D-木糖对于已发生的高脂血症有治疗性的调节作用,可进一步研究并探索其作为辅助性治疗药品的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Mokdad A H, Marks J S, Stroup D F, et al. Actual causes of death in the United States, 2000. *The Journal of the American Medical Association*, 2004, 291(10): 1238 - 1245.
- [2] Okazaki M, Fujikawa S, Matsumoto N. Effect of xylodigosaccharide on growth of bacteria. *Bifidobacteria Microflora*, 1990, 9(2): 77 - 86.
- [3] 邱伟芬. 功能性低聚糖的开发应用前景. *食品科技*, 2001, (3): 27 - 31.
- [4] Kwiterovich P O Jr. The Metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *American Journal of Cardiology*, 2000, 86(12): 5L - 10L.
- [5] Acton S, Rigotti A, Landschulz K T, et al. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science*, 1996, 271(5248): 518 - 520.
- [6] 张东, 武海军, 陈士萍, 等. 大鼠实验性高脂血症五种造模方法的比较. *中国药理学通报*, 2007, 23(9): 1254 - 1256.
- [7] 万丽, 张加雄, 陈芳, 等. 用脂肪乳剂建立小鼠高脂血症模型. *成都中医药大学学报*, 2004, 27(3): 36.
- [8] Chandler P C, Viana J B, Oswald K D, et al. Feeding response to melanocortin agonist predicts preference for and obesity from a high-fat diet. *Physiology & Behavior*, 2005, 85(2): 221 - 230.
- [9] 彭健. 高血压与血脂代谢紊乱. *中国实用内科杂志*, 2002, 22(4): 202 - 204.
- [10] 肖新华. 糖尿病的脂代谢紊乱. *临床内科杂志*, 2003, 20(3): 119 - 121.
- [11] Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponectin, an adipocyte derived plasma protein, inhibits endothelial NFκB signaling through a cAMP dependent pathway. *Circulation*, 2000, 102(11): 1296 - 1301.
- [12] 孟庆义, 程文伟, 张志强, 等. 冠状动脉病变程度与血脂及其亚组分、超氧化物歧化酶关系的研究. *中国危重病急救医学*, 1998, 10(7): 409 - 411.
- [13] 王咏梅. 自由基与谷胱甘肽过氧化物酶. *解放军药理学学报*, 2005, 21(5): 369 - 371.
- [14] 路雪雅. 乙醇诱导肝脏损伤的自由基机理. *新消化病学杂志*, 1997, (3): 68 - 70.
- [15] 李洪贵, 李梦阳, 方永祥. 阿托伐他汀对高胆固醇血症患者低密度脂蛋白受体功能影响的研究. *中草药*, 2010, 8(8): 581 - 584.
- [16] 李文芹, 张志国, 王立军. 低聚糖的生理功能及在食品中的应用. *中国食品添加剂*, 2008, (2): 69 - 72.