

左卡尼汀对家兔抗氧化作用的研究

许勇¹, 李娜², 王桂华², 杨茗¹, 栾海云^{1*}

(1. 滨州医学院药学院, 药物研究所, 山东烟台 264003; 2. 滨州医学院基础学院, 山东烟台 264003)

摘要 [目的]研究左卡尼汀口服液(LC)在家兔体内的抗氧化作用,探讨其对兔血浆、脑组织及脑脊液中SOD、GSH-PX、CAT、T-AOC和MDA活力的影响。[方法]健康成熟的新西兰大耳兔,以1 ml/kg的剂量单次灌胃给予左卡尼汀,于药前和药后不同时间测定血浆、脑组织和脑脊液中SOD、GSH-PX、CAT、T-AOC和MDA活力。[结果]给药后血液、脑组织及脑脊液SOD、GSH-PX、CAT、T-AOC活性较给药前显著升高($P < 0.05$);而MDA含量较给药前显著降低($P < 0.05$)。[结论]左卡尼汀口服液在家兔体内具有抗氧化作用。

关键词 左卡尼汀;抗氧化;家兔

中图分类号 S858.291 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)17-07568-02

Study of Antioxidant Effects of L-carnitine on Rabbit

XU Yong et al (Binzhou Medical University, Yantai, Shandong 264003)

Abstract [Objective] To study antioxidant effects of LC, and investigate the effect of LC on SOD, GSH-PX, CAT, T-AOC and MDA in the blood, brain tissue and CSF of rabbit. [Method] A single dose of 1 ml/kg LC was taken orally to New Zealand rabbits with big ears. The plasma, brain tissue and CSF samples were taken and measured before and after administration respectively. [Result] After LC administration, SOD, GSH-PX, CAT, and T-AOC activity in blood, brain tissue and cerebrospinal fluid significantly increased ($P < 0.05$), while MDA significantly decreased ($P < 0.05$). [Conclusion] LC shows antioxidant effects in rabbit.

Key words L-carnitine; Antioxidant; Rabbit

左卡尼汀(L-carnitine, LC)又名左旋肉碱,是哺乳动物能量代谢中必需的体内天然物质,其主要功能是促进脂肪酸 β -氧化的作用,同时也具有抗氧化、清除自由基等作用^[1-2]。LC的临床应用研究发展迅速,在心血管、肾脏及肝脏等疾病中应用广泛。大脑是高度依赖于氧化代谢的,脂肪酸代谢障碍会导致代谢性脑病^[3]。LC缺乏可致星形胶质细胞及其线粒体肿胀,进而产生疾病,因此多种神经系统疾病发生代谢紊乱时,可能会加剧LC的不足^[4]。脂类是大脑的主要组成成分,在禁食或饥饿条件下其分解释放的脂肪酸就成为主要的能量物质。因此,LC在脑脂肪酸代谢中,尤其是在神经系统疾病严重代谢障碍时起着重要的作用^[2]。前期已经研究了LC口服液对健康志愿者尿液抗自由基活性的影响、对小鼠肝损伤的保护作用,以及D-半乳糖和老龄鼠引起的衰老模型的抗氧化作用^[5-9],因此,笔者采用家兔单次口服LC后,检测其对兔血浆、脑组织和脑脊液中MDA含量以及SOD、CAT、GSH-PX和T-AOC活力的影响,探讨左卡尼汀口服液抗氧化的作用机制,旨在为该药的开发利用提供试验依据,进一步确立其在抗氧化研究中的作用和地位。

1 材料与方法

1.1 仪器 LT-224S 电子天平(北京赛多利斯公司);GL-88 B型旋涡混匀器(太仓市科教仪器厂);772S可见分光光度计(上海精密科学仪器厂);DK-98-1电热恒温水浴锅(天津泰斯特仪器有限公司);离心机centrifuge 5804(德国,Eppendorf公司)。

1.2 主要试剂 左卡尼汀口服液(东北制药总厂生产,批号为060920);MDA试剂盒(批号为20100520)、SOD试剂盒(批号为20100520)、CAT试剂盒(批号为20100520)、T-AOC试剂盒(批号为20100520)、GSH-PX试剂盒(批号为20100520),均由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 实验动物及处理 实验动物为健康性成熟的新西兰大耳兔,体重2.5~2.8 kg,由山东大学实验动物中心提供,合格证号为SCXK(鲁)20030004。选取新西兰大耳兔15只,随机分为3组,每组5只。试验前禁食12 h,自由饮水。按1 ml/kg的剂量灌胃,分别于药前(0 h)和药后3 h、5 h心脏取血,随后空气栓塞将其处死,从枕骨大孔处抽取脑脊液,在冰块上操作,分离兔脑组织,用生理盐水清洗后滤纸吸干,精密称量后加3倍生理盐水制成匀浆。所取的样品,以转速4 000 r/min,4℃离心5 min,取上清液待测。

1.4 检测指标 从每个时间点取的脑组织,制成10%的组织匀浆,连同兔血浆和脑脊液样品用于MDA、SOD、CAT、T-AOC和GSH的测定,测定方法严格按照试剂盒说明进行。

1.5 数据分析 采用SPSS13.0统计软件对试验数据进行单因素方差分析,结果均以 $\bar{x} \pm s$ 来表示,以 $P < 0.05$ 为差异显著性。

2 结果与分析

给药后,随着时间的延长,血浆、脑组织和脑脊液的SOD、GSH-PX、CAT活性以及T-AOC均逐渐升高,而MDA的浓度逐渐降低结果见表1~3。由表1~3可知,与空白组(给药前)相比,LC药物组家兔血浆、脑组织和脑脊液SOD、GSH-PX、CAT、T-AOC活性明显升高,而MDA含量明显降低,且差异显著($P < 0.05$)。结果表明,LC具有升高血液、脑中SOD、GSH-PX、CAT、T-AOC活性及降低MDA含量的作用。

基金项目 山东省烟台市科技发展计划项目(511223)。

作者简介 许勇(1970-),男,山东济南人,副教授,硕士,从事心血管药理方面的研究,E-mail:maomx@163.com。*通讯作者,讲师,从事抗衰老药理学研究,E-mail:bluehy2000@126.com。

收稿日期 2013-05-19

表 1 不同时间兔血浆 SOD、GSH-PX、CAT、T-AOC 和 MDA 的活性

时间//h	SOD 活性	GSH-PX 活性	CAT 活性	T-AOC	MDA
	U/ml	U	U/ml	U/ml	nmol/ml
0	87.48 ± 5.87	210.91 ± 10.11	5.1 ± 0.25	2.84 ± 2.11	3.61 ± 0.39
3	110.62 ± 8.14*	365.45 ± 28.76**	6.55 ± 0.42	4.32 ± 2.67*	2.83 ± 0.25
5	139.21 ± 10.05**	398.18 ± 31.32**	8.18 ± 0.38**	5.80 ± 3.13**	2.16 ± 0.22*

注: * 表示与给药前(0 h)差异显著($P < 0.05$); ** 表示与给药前差异极显著($P < 0.01$)。

表 2 LC 对兔脑脊液中 SOD、GSH-PX、CAT、AOC 和 MDA 活性的影响

时间//h	SOD 活性	GSH-PX 活性	CAT 活性	T-AOC	MDA
	U/ml	U	U/ml	U/ml	nmol/ml
0	14.62 ± 1.33	163.64 ± 8.98	1.45 ± 0.45	8.39 ± 5.32	2.33 ± 0.33
3	33.25 ± 2.81*	308.18 ± 27.56**	5.19 ± 1.52*	13.32 ± 7.78	2.17 ± 0.30
5	50.41 ± 5.26**	376.36 ± 30.01**	8.89 ± 1.73**	36.01 ± 12.01**	1.08 ± 0.24*

注: * 表示与给药前(0 h)差异显著($P < 0.05$); ** 表示与给药前差异极显著($P < 0.01$)。

表 3 LC 对兔脑组织中 SOD、GSH-PX、CAT、AOC 和 MDA 活性的影响

时间//h	SOD 活性	GSH-PX 活性	CAT 活性	T-AOC	MDA
	U/ml	U	U/mgprot	U/mgprot	nmol/mgprot
0	104.65 ± 7.36	255.25 ± 12.05	27.16 ± 5.11	47.31 ± 16.86	10.64 ± 2.64
3	130.26 ± 11.22*	314.68 ± 26.43**	36.13 ± 6.07*	52.40 ± 20.01	5.77 ± 1.44*
5	181.34 ± 17.32**	344.75 ± 12.21**	38.11 ± 5.89*	87.61 ± 31.47**	2.14 ± 0.53**

注: * 表示与给药前(0 h)差异显著($P < 0.05$); ** 表示与给药前差异极显著($P < 0.01$)。

3 讨论

机体通过酶系统与非酶系统产生氧自由基,后者能攻击生物膜中脂肪酸,引发脂质过氧化作用,引起细胞损伤^[10]。在正常情况下,机体抗氧化损伤的酶促防御体系包括 SOD、GSH-PX、T-AOC 等,这些抗氧化酶往往共同起作用,有效地清除体内脂质过氧化物使机体免受自由基的损害。LC 是体内重要的内源性物质,由人体的肝、肾和大脑合成,是促进脂类代谢的重要辅助因子^[1]。

脑组织的氧化和抗氧化系统的平衡的失调可能引起神经细胞线粒体和生物膜的氧化损伤,导致能量代谢障碍、细胞膜通透性改变、细胞内外离子浓度失常、钙稳态失衡,进一步影响神经递质的释放和信息传导过程,最终导致脑组织的功能性受损。在该试验中,LC 提高了兔血浆、脑脊液和脑组织中 GSH-PX,抑制自由基的生成,避免氧自由基氧化细胞膜上的不饱和脂肪酸形成脂质过氧化物,从而保护细胞。LC 能够提高兔血浆、脑脊液和脑组织中 T-AOC 活性,可以避免自由基过渡产生和机体的抗氧化防御体系功能严重受损,有效阻止自由基造成的脑损伤。

该研究结果表明,兔单剂量口服 LC 后,随着左卡尼汀含量的变化,血浆、脑脊液和脑组织的抗氧化能力亦发生显著变化,家兔血浆、脑脊液和脑组织中 SOD、GSH-PX、CAT 与 T-AOC 的活性显著升高,而 MDA 的含量显著下降,说明 LC 具

有很好的抗氧化能力。该试验在体内初步证实了 LC 对脑的保护作用及其与氧化应激的关系,说明 LC 在预防疾病和延缓衰老方面占有重要作用。关于 LC 如何通过血脑屏障以及在脑内的分布,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] REBOUCHE C J. Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-carnitine and acetyl-L-carnitine metabolism[J]. Ann N Y Acad Sci, 2004, 1033: 30-41.
- [2] GÜLCIN I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine[J]. Life Sci, 2006, 78: 803-811.
- [3] CAO Y, WANG Y X, LIU C J, et al. Comparison of pharmacokinetics of L-carnitine, acetyl-L-carnitine and propionyl-L-carnitine after single oral administration of L-carnitine in healthy volunteers. [J] Clin Invest Med, 2009, 32(1): 13.
- [4] JONES L L, MCDONALD D A, BORUM P R. Acylcarnitines: Role in brain. J. Progress in Lipid Research, 2010, 49: 61-75.
- [5] 梁孝印, 邵士川, 周茂金, 等. 左卡尼汀口服液对健康志愿者尿液抗自由基活性的影响[J]. 泰山医学院学报, 2009, 30(4): 248-250.
- [6] 邵士川, 梁孝印, 刘叶玲, 等. 左卡尼汀对四氯化碳致动物肝损伤的保护作用[J]. 现代预防医学, 2009, 36(22): 4320-4323, 4326.
- [7] 栾海云. 左卡尼汀对 D-半乳糖致衰老小鼠抗氧化作用的研究[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(1): 129-130.
- [8] 栾海云, 杨清宝, 杨美子, 等. 左卡尼汀对衰老小鼠抗氧化作用的研究[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(5): 548-550.
- [9] 栾海云, 许勇, 杨茗. 左卡尼汀对高血脂血症大鼠血脂代谢的影响及抗氧化作用[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(9): 1827-1829.
- [10] TRUSHINA E, MCMURRAY C T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases[J]. Neuroscience, 2007, 145: 1233-1248.