

决明子乙醇提取物对高脂血症模型大鼠糖脂代谢 及相关炎性细胞因子的影响

王永辉*, 高丽, 周文静, 马艳苗
(山西中医学院, 太原 030024)

[摘要] **目的:** 观察决明子乙醇提取物对实验性高脂血症模型大鼠血脂、血糖及炎性细胞因子白介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的影响, 探讨决明子治疗高脂血症的调脂外作用机制。 **方法:** 采用饲喂高脂饲料和饮用 10% 乙醇溶液的方法建立高脂血症大鼠模型。造模成功后, 随机分为 5 组, 模型组, 阳性对照组 (血脂康, $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 决明子低、中、高 (4, 8, $16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 剂量组, 各组均按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体积 ig 给予相应药物, 并设正常对照组, 连续 ig 4 周。灌胃给药期间继续饲喂高脂饲料和饮用 10% 乙醇溶液。末次给药后, 采血, 用全自动生化仪测定大鼠血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇 (HDL-C)、葡萄糖 (Glu) 的含量, 并用 ELISA 法测定血清中 IL-6 和 TNF- α 的含量。 **结果:** 与正常对照组比较, 高脂血症模型组大鼠血清 TC, TG, LDL-C, Glu 含量显著升高 ($P < 0.01$), HDL-C 显著降低 ($P < 0.01$); IL-6 和 TNF- α 含量显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 决明子乙醇提取物高、中剂量组能显著降低大鼠血清中 TC, TG, LDL-C, Glu 的含量, 显著升高 HDL-C 的含量 ($P < 0.01$); 显著降低大鼠血清 IL-6 和 TNF- α 水平 ($P < 0.01$)。 **结论:** 决明子乙醇提取物不仅可有效改善高脂血症模型大鼠的血糖及血脂水平, 亦可明显降低炎性细胞因子 IL-6 和 TNF- α 水平, 这可能有利于动脉粥样硬化斑块的稳定。

[关键词] 决明子; 高脂血症; 白介素 6; 肿瘤坏死因子 α

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0178-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014070178

Effects of Ethanol Extraction from Cassiae Semen on Serum IL-6 and TNF- α in Hyperlipidemia Rats

WANG Yong-hui*, GAO Li, ZHOU Wen-jing, MA Yan-miao

(Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effects of ethanol extraction from Cassiae Semen on serum interleukin-6 (IL-6) and tumour necrosis factor- α (TNF- α) in hyperlipidemia rats. **Method:** The rat hyperlipidemia model was established by feeding high calorie-diet and 10% alcohol. After modeling, the selected rats were randomly divided into six groups: normal control group, model group, positive control group, low dose group, medium dose group and high dose group. Positive control group was administrated Xuezhikang capsule at dose of $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Low dose group, medium dose group and high dose group were administrated at different concentrations of ethanol extraction from Cassiae Semen, which was respectively 4, 8, $16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. All groups were applied by intragastric administration by $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ for 4 weeks. Except normal control group, the remains were fed with high calorie-diet and 10% alcohol. After the last administration, the serum content of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) and glucose (Glu) were detected by automated biochemistry analyzer. And the content of IL-6 and TNF- α was determined by ELISA. **Result:** The content of TC, TG, LDL-C, Glu, IL-6 and TNF- α was increased, and the content of HDL-C

[收稿日期] 20131029(017)

[基金项目] 山西省高校研究开发项目(20111114)

[通讯作者] *王永辉, 副教授, 博士, 从事方剂效用及其物质基础研究, E-mail: wyh766188@sina.com

was decreased in model group, compared with normal control group ($P < 0.01$). The content of TC, TG, LDL-C and Glu was decreased, and the content of HDL-C was increased in medium dose group and high dose group of ethanol extraction from Cassiae Semen, compared with model group ($P < 0.01$). At the same time, the content of IL-6 and TNF- α was decreased in medium dose group and high dose group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Ethanol extraction from Cassiae Semen can regulate the metabolic process of blood lipids and blood glucose levels of hyperlipidemia model rats, also can decrease the content of IL-6 and TNF- α in serum.

[**Key words**] Cassiae Semen; hyperlipidemia; IL-6; TNF- α

随着人们饮食结构和生活水平及模式的变化,高脂血症的发病率逐年升高。高脂血症是促进动脉粥样硬化和冠状动脉粥样硬化性心脏病的重要高危因素之一。近年来研究认为炎症在高脂血症致动脉粥样硬化的发展过程中具有重要作用。决明子为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *C. tora* L. 的干燥成熟种子^[1]。药理实验及临床观察显示^[2-4],决明子能降低血清总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)水平,延缓和部分逆转动脉粥样硬化斑块形成,从而明显降低心脑血管疾病的发生率和死亡率。本文旨在观察决明子对高脂血症模型大鼠的调脂作用以及对血清炎症细胞因子水平的影响,以进一步探讨决明子的抗动脉粥样硬化机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠60只,体重(200±20)g,雄性,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物许可证号SCXK(京)2009-0004。

1.2 药品与试剂 决明子为豆科植物决明 *Cassia toar* L. 的干燥成熟种子,购自北京同仁堂有限责任公司,经山西中医学院尚彩玲老师鉴定为正品。取决明子500g,加入10倍体积80%的乙醇浸泡1h,于60℃水浴回流2h,过滤,向残渣内加入6倍体积80%的乙醇,于60℃水浴回流2h,以3000 r·min⁻¹离心10min,合并上清液,用旋转蒸发器减压回收至至无醇味,置真空干燥箱中干燥,称重,得药物粉末75.4g。灌胃时用蒸馏水配制成实验所需的药物浓度。血脂康胶囊(北京北大维信生物科技股份有限公司,批号201001006);血清TC(批号GA4141),TG(批号GA4143)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C,批号BC4182)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C,批号GA4134)、血糖(Glu,批号FB4177)试剂盒,均购自西门子公司。白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ELISA试剂盒(上海生工有限公司,批号201104)。

1.3 仪器 TE612-L电子天平(梅特勒-托利台仪器上海有限公司),KDC-1044离心机(安徽中科中

佳科学仪器有限公司),Spectra Max 190型酶标仪(美国,MD公司),Dimension Xpand Plus全自动生化分析仪(德国,西门子公司)。

2 方法

2.1 动物模型的建立 大鼠适应性喂养1周后,随机抽取10只大鼠作为正常对照组,喂饲普通饲料。其余大鼠给予高脂饲料(68.8%基础饲料,10%猪油,10%蛋黄粉,10%蔗糖,1%胆固醇,0.2%胆酸钠)和10%乙醇溶液,喂养4周。

2.2 分组与给药 将喂饲高脂饲料的大鼠禁食12h,眼眶采血测定TC,TG,根据TC,TG值将喂饲高脂饲料大鼠随机分为5组,即模型组、阳性对照(血脂康胶囊^[5])组、决明子低、中、高剂量组,每组10只。阳性对照组按0.15 g·kg⁻¹血脂康胶囊,决明子低、中、高剂量组分别按4,8,16 g·kg⁻¹决明子(折合成生药量)给大鼠ig;各给药组每日按10 mL·kg⁻¹ig给予相应药物,正常对照组和模型组给予蒸馏水,每日1次,连续4周。ig给药期间除正常对照组动物给予普通饲料外,其余各组动物均继续喂饲高脂饲料和10%乙醇溶液。各组实验动物每周称体重1次,以调整给药剂量。

2.3 指标检测 末次给药后,动物禁食不禁水12h,以水合氯醛(1.2 g·kg⁻¹)ip麻醉,腹主动脉采血,3000 r·min⁻¹离心10min,分离血清,用全自动生化分析仪检测TC,TG,HDL-C,LDL-C,Glu含量,并用ELISA法测定血清中IL-6和TNF- α 的含量。

2.4 统计学分析 采用统计软件SPSS 17.0进行统计分析,各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异的比较用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对糖脂代谢的影响 与正常对照组相比,高脂血症模型组大鼠血清TC,TG,LDL-C,Glu含量显著升高($P < 0.01$),HDL-C显著降低($P < 0.01$);与模型组相比,血脂康组和决明子醇提物各组大鼠血清TC,TG,LDL-C,Glu含量有不同程度的降低,其中,血脂康组和决明子醇提物中、高剂量组大鼠血清

TC, TG, LDL-C 含量显著降低 ($P < 0.01$), HDL-C 含量显著升高 ($P < 0.01$), 且三者作用相当, 统计学处

理无明显差异; 高剂量组大鼠 Glu 含量显著降低 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 决明子醇提物对高脂血症大鼠血脂、血糖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

mmol · L⁻¹

组别	剂量/g · kg ⁻¹	TC	TG	LDL-C	HDL-C	Glu
正常对照	-	1.83 ± 0.29	0.70 ± 0.19	0.07 ± 0.01	0.64 ± 0.10	8.60 ± 1.51
模型	-	2.32 ± 0.36 ¹⁾	1.22 ± 0.35 ¹⁾	0.19 ± 0.04 ¹⁾	0.45 ± 0.04 ¹⁾	12.99 ± 2.40 ¹⁾
血脂康	0.15	1.49 ± 0.18 ²⁾	0.68 ± 0.17 ²⁾	0.13 ± 0.04 ²⁾	0.65 ± 0.07 ²⁾	9.66 ± 2.13 ²⁾
决明子醇提物	4	2.15 ± 0.35	1.17 ± 0.38	0.18 ± 0.04	0.47 ± 0.06	11.39 ± 2.08
	8	1.81 ± 0.29 ²⁾	0.91 ± 0.19 ²⁾	0.16 ± 0.03 ²⁾	0.58 ± 0.06 ²⁾	11.05 ± 2.25
	16	1.47 ± 0.24 ²⁾	0.66 ± 0.20 ²⁾	0.09 ± 0.02 ²⁾	0.69 ± 0.05 ²⁾	9.01 ± 2.22 ²⁾

注: 与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型对照组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 对 IL-6 和 TNF- α 的影响 与正常对照组相比, 高脂血症模型组大鼠 IL-6 和 TNF- α 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 血脂康组和决明子醇提物各剂量组 IL-6 和 TNF- α 含量均有不同程度的降低, 其中, 血脂康组和决明子醇提物中、高剂量组 IL-6 和 TNF- α 含量显著降低 ($P < 0.01$), 三者作用相当, 统计学处理无明显差异。见表 2。

表 2 决明子醇提物对高脂血症大鼠血清 IL-6 和 TNF- α 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

ng · L⁻¹

组别	剂量/g · kg ⁻¹	IL-6	TNF- α
正常对照	-	122.23 ± 10.98	84.15 ± 8.09
模型	-	155.05 ± 11.23 ¹⁾	133.29 ± 12.35 ¹⁾
血脂康	0.15	129.71 ± 10.31 ²⁾	91.48 ± 9.35 ²⁾
决明子醇提物	4	144.98 ± 12.85	123.65 ± 9.42
	8	139.19 ± 13.47 ²⁾	116.38 ± 10.19 ²⁾
	16	134.99 ± 10.26 ²⁾	102.65 ± 11.38 ²⁾

4 讨论

高脂血症引起的动脉粥样硬化是一种脂质沉积性疾病, 其确切机制尚不十分清楚。但越来越多的研究表明, 局部或全身炎症在高脂血症致动脉粥样硬化的发展中起着重要的作用。高脂血症损伤血管内皮细胞, 引起内皮细胞剥离、巨噬细胞浸润、内膜平滑肌细胞增殖, 同时增强白细胞活化能力和细胞表面黏附分子表达, 导致细胞因子分泌, 白细胞与血管内皮细胞黏附力增加^[6-7]。TNF- α 被认为是冠脉内皮细胞功能紊乱、内膜增厚的始动因素。TNF- α 可直接损伤血管内皮细胞, 使其通透性增高, 使血中胆固醇易于穿透内膜, 在管壁内沉积形成动脉粥样硬化斑块^[8]。IL-6 是亚临床动脉粥样硬化的独立危险因素, 可促进 T 细胞增殖生长, 并可促进 ICAM-1

和 CRP 的表达^[9]。阎国辉等^[10]采用流式细胞微球芯片捕获技术, 研究发现高脂血症小鼠模型中 TC, TG, IL-5 和 TNF- α 水平明显升高 ($P < 0.01$), IL-5 与 TNF- α 呈正相关, 而 INF- γ , IL-2 和 IL-4 未明显升高。说明免疫损伤、炎症反应机制在高血脂动脉硬化发病机制中具有重要作用, 并和高血脂协同致病。

中药提取物或中医方剂在对高脂血症进行治疗时, 在改善高脂血症的同时, 对相关炎性细胞因子也有很好的调节作用, 从而有利于免疫功能的恢复。焦宏等^[11]研究表明, 桂枝汤可显著降低高脂血症心肌缺血大鼠心肌组织 TNF- α 的表达, 认为桂枝汤可能通过抑制高脂血症心肌缺血大鼠炎症反应而发挥其保护心血管的作用。杨牧祥等^[12]研究发现脂调康胶囊(由橘络、半夏、泽泻、丹参、姜黄、虎杖、黄芪、白术等组成)可显著降低高脂血症大鼠血清 IL-6 的含量。

决明子药食两用, 历史悠久, 具有清热明目、润肠通便的作用。本实验结果显示, 决明子乙醇提取物中、高剂量可明显降低高脂血症模型大鼠血清中 TC, TG, LDL-C, Glu 含量, 升高 HDL-C 含量, 说明决明子可以通过改善糖脂代谢, 防止高脂血症的形成。本实验结果同时显示, 高脂血症模型大鼠外周血中 IL-6 和 TNF- α 的含量显著高于正常组, 说明 IL-6 和 TNF- α 与高脂血症的发生、发展有较密切的关系, 模型大鼠体内已经出现损伤; 且 IL-6 和 TNF- α 二者之间可能与其他一些细胞因子间相互作用, 互相调节, 共同参与高脂血症的发病过程。决明子醇提物治疗后, IL-6 和 TNF- α 含量明显下降, 提示决明子醇提物可通过降低 IL-6 和 TNF- α 含量, 减少组织损伤, 防止动脉粥样硬化等疾病的形成。

本研究结果显示, 决明子除具有显著的调脂作用外, 还能显著降低高脂血症模型大鼠血清中 TNF- α

茴香提取液对糖尿病大鼠早期肝损害的保护作用

黄丽娟¹, 方晓燕², 何显教¹, 黄彦峰¹, 晋玲^{1*}, 阳秀英¹, 黎昀¹

(1. 右江民族医学院应用生理研究室, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院形态学实验室, 广西 百色 533000)

[摘要] 目的: 观察茴香提取液对糖尿病大鼠早期肝损害的保护作用。方法: 采用链脲佐菌素(STZ)诱导大鼠糖尿病模型。将造模成功后的大鼠按血糖值随机分为模型组、二甲双胍组(0.15 g·kg⁻¹)、茴香低剂组(1.5 g·kg⁻¹)和茴香高剂组(3.0 g·kg⁻¹), 另取 10 只为正常对照组。模型组和对照组灌等体积的生理盐水, 其他各组按相应药物剂量每天灌胃 1 次, 共 14 d。于末次给药 2 h 后, 各鼠采血测空腹血糖值(FBG)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)的含量和超氧化物歧化酶(SOD)活力。取肝脏切片, 做 HE 染色, 观察肝脏组织形态学的改变。结果: 与正常组比较, 模型组显著升高 FBG、MDA、AST、ALT 水平($P < 0.05, 0.01$), 降低 SOD 活性($P < 0.01$), 肝组织结构不清, 肝细胞溶解坏死明显; 与模型组比较, 茴香治疗组(高剂组、低剂组)显著增高血清中 SOD 活性($P < 0.01$), 降低 MDA、ALT、AST 和 FBG 水平($P < 0.01$), 明显改善肝组织结构, 肝细胞坏死数量少, 肝细胞再生明显, 高剂量组改善更为明显。结论: 茴香对糖尿病大鼠早期肝损害有一定的保护作用。

[关键词] 糖尿病大鼠; 茴香; 肝脏损害

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0181-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014070181

[收稿日期] 20130625(028)

[基金项目] 广西自然科学基金项目(桂科自 0728245)

[第一作者] 黄丽娟, 讲师, 从事中草药药效学研究, Tel: 0776-2849485, E-mail: huanglj36@163.com

[通讯作者] * 晋玲, 高级实验师, 从事中草药药效学研究, Tel: 0776-2849485, E-mail: jinl0523@163.com

和 IL-6 的水平, 这提示决明子可能通过其抗炎作用, 发挥其在抗动脉粥样硬化和冠心病预防中的作用。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 135.

[2] 古娜尔, 哈山. 决明子治疗高血脂症的临床观察[J]. 中国民间疗法, 2009, 17(11): 27.

[3] 马路, 江梦溪, 刘剑刚, 等. 决明子和山楂组分配伍对兔肝细胞膜高密度脂蛋白受体活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 24.

[4] 潘正军, 陆祈, 潘丽, 等. 决明子水提液对高血压小鼠血压血脂及肾脏结构的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 195.

[5] 姜岩. 中药血脂康治疗高血脂症疗效分析[J]. 首都医药, 2002, 12: 55.

[6] Hansson G K, Libby P, Schonbeck U, et al. Innate and adaptive immunity in pathogenesis of atherosclerosis [J]. Circ Res, 2002, 91(4): 281.

[7] Binder C J, Hartvigsen K, Chang M K, et al. IL-5

links adaptive and natural immunity specific for epitopes of oxidized LDL and protects from atherosclerosis [J]. J Clin Invest, 2004, 114(3): 427.

[8] Ridker P M, Rifai N, Stamper M J, et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men [J]. Circulation, 2000, 101(15): 1767.

[9] Amar J, Fauvel J, Drouet L, et al. Interleukin 6 is associated with subclinical atherosclerosis: a link with soluble intercellular adhesion molecule 1 [J]. J Hypertens, 2006, 24(6): 1083.

[10] 阎国辉, 张洋, 智光, 等. 高血脂小鼠 Th1/Th2 细胞因子的检测及相关性分析 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(4): 293.

[11] 焦宏, 马建伟, 陈彦静, 等. 桂枝汤对高血脂症心肌缺血大鼠炎症细胞因子的影响 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(11): 1634.

[12] 杨牧祥, 马全庆, 田元祥, 等. 脂调康胶囊对高血脂症大鼠血清 IL-6 的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(9): 12.

[责任编辑 聂淑琴]