

丹芎方对高脂饲料诱发的高脂血症大鼠的降血脂作用研究

李晓蓉¹, 王丽娟¹, 李宇航¹, 徐艳霞¹, 陈怡¹, 阮金秀², 薛明^{1*}

(1. 首都医科大学化学生物学与药学院药理系, 北京 100069;

2. 军事医学科学院毒物药物所, 北京 100850)

[摘要] 目的: 观察丹芎方对高脂饲料诱发的高脂血症大鼠模型血脂的影响。方法: 高脂饲料饲喂 4 周建立高脂血症大鼠模型, 然后连续给予洛伐他汀、考来烯胺、丹芎方高、中、低剂量 4 周, 检测血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、谷丙转氨酶(ALT)、白蛋白(ALB), 同时进行心、肝、胃等脏器的病理学检查。结果: 给予高脂饲料后大鼠血脂显著升高, 且转氨酶和白蛋白也显著升高, 肝脏显示明显病理损伤, 心脏和胃有轻微病理损伤。各个药物均可显著降低血脂升高程度, 显著降低转氨酶, 升高白蛋白。显著减轻肝、心、胃的病理学损伤。结论: 丹芎方具有良好的调脂保肝作用。

[关键词] 阿魏酸; 高脂饲料; 高脂血症; 谷丙转氨酶; 白蛋白

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)03-0042-04

Effect of Danxiongfang on Reducing Serum Lipids Level in Rat Model with Hyperlipidemia Induced by High-lipid Diet

LI Xiao-rong¹, WANG Li-juan¹, LI Yu-hang¹, XU Yan-xia¹, CHEN Yi¹, RUAN Jin-xiu², XUE Ming^{1*}

(1. School of Chemical Biology and Pharmaceutical Sciences institute of Material Medical,

Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of danxiongfang on reducing serum lipid in experimental hyperlipidemic rat model induced by high-fat diet. **Methods:** The rats were fed with high-fat diet for 4 weeks to establish the hyperlipidemic model, then lovastatin, cholestyramine, danxiongfang high, medium, and low doses were given to the rats orally for 4 weeks. The serum TG, TC, HDL-C, LDL-C, ALT, ALB were detected at the end of 4 weeks. The pathological changes of liver, heart, stomach tissues stained with HE were observed under light microscope. **Results:** The rats developed hyperlipidemia with high serum lipid levels. serum ALT and ALB concentration also increased significantly. Each drug showed significant inhibition for the increases in serum lipid, ALT, and serum ALB. Histopathological examination of liver, heart and stomach showed that pathologic injuries were ameliorated by each drugs. **Conclusion:** Danxiongfang showed powerful lipid regulating and liver protective effect.

[Key words] ferulic acid; high-lipid diet; hyperlipidemia; ALT; ALB

[收稿日期] 2007-03-12

[基金项目] 国家自然科学基金(NO: 30472057), 北京自然科学基金(NO: 7052007)暨北京市教委科技发展计划项目(KM200410025003)

[通讯作者] * 薛明, Tel: (010) 83911520(O); E-mail: xuem@ccmu.edu.cn

高血脂是导致动脉粥样硬化、脑卒中、冠心病、心肌梗死的独立而重要的危险因素。也是促进高血压、糖尿病、脂肪肝等的重要危险因素。因此高脂血症病因、病机以及防治措施多年来始终是研究的热点。丹参^[1,2]、川芎^[3]是临床降低血脂的常用中药,而且常常联合应用于调脂、抗栓、抗心绞痛等心血管系统疾病^[4,5],本研究将经过提取的、并且主要活性成分含量已知、稳定的丹参主要水溶性组分(以丹参素为标准,含量 20%),主要脂溶性组分(以丹参酮为标准,含量 90%)和川芎主要活性成分阿魏酸(含量 90%)组成质量稳定可控的复方,观察其调节血脂的功效。

1 材料与方法

1.1 动物 Wistar 大鼠 70 只,雌雄各半,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2002-0003。

1.2 药品及试剂 丹参水溶性组分(丹参素含量 20%),阿魏酸(含量 90%),丹参酮(丹参酮含量 90%)购自西安鸿生生物技术有限公司,批号为 050114、030401 和 041208。洛伐他汀 北京万生药业有限责任公司,批号 20060715。考来烯胺 南京厚生药业有限公司,批号 040501。血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C、ALT、ALb 检测试剂盒购自北京首医临床医学科技中心。

1.3 实验仪器 Labnet 离心机,型号 Force1418,Bechman 半自动生化分析仪,型号 CX4 PRO。

1.4 动物分组及方法 所有动物适应性饲养 2 天后,留 10 只作为正常对照组给予普通饲料外,其余动物给予高脂饲料,配方为普通饲料中加入 3%胆固醇、10%脂肪、0.5%胆酸钠、0.2%丙基硫氧嘧啶。喂养 4 周后所有动物眼眶取血,检测血脂,按照血脂水平将给予高脂饲料的动物随机分为高脂血症模型组、洛伐他汀、考来烯胺、丹芎方大、中、小剂量组,丹芎方的组成比例及剂量见表 1,其中阿魏酸和丹参素以组分中所含纯品计算,丹参酮以组分中所含有的酮类物质总量计。正常对照组灌胃给予生理盐水,高脂模型组给予高脂饲料和生理盐水,其余各给药组给予高脂饲料以及相应的药物。4 周后所有动物眼眶取血,静置 1 h 后,4 000 r·min,离心 10 min,取血浆检测血脂,ALT 和 ALb,应用血脂数据计算动脉粥样硬化指数 AI,并且取心、肝、胃,福尔马林固定,HE 染色进行组织病理学检查。

表 1 各药物的给药剂量以及丹芎方的组成

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	阿魏酸 (mg·kg ⁻¹)	丹参素 (mg·kg ⁻¹)	丹参酮 (mg·kg ⁻¹)
洛伐他汀	7	—	—	—
考来烯胺	1 300	—	—	—
丹芎方	330	9	32.5	287.5
	66	1.8	6.5	57.7
	13	0.36	1.3	11.5

1.5 数据处理 检测数据均采用 SPSS 软件进行单因素方差分析进行统计。

2 结果

2.1 丹芎方对高脂血症大鼠血脂的影响 如表 2 所示,与正常组相比,高脂血症模型组血浆 TC、LDL-C、TG 和 HDL-C 极显著升高($P < 0.01$)。动脉硬化指数 HDL-C/TC 极显著降低($P < 0.01$),LDL-C/HDL-C 极显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比,考来烯胺、丹芎方高剂量可非常显著降低血浆 TC 和 LDL-C($P < 0.01$),洛伐他汀、考来烯胺、丹芎方中、低剂量组可非常显著降低血浆 TG($P < 0.01$),丹芎方大剂量组可显著降低 TG($P < 0.05$)。丹芎方大剂量可非常显著升高 HDL-C/TC,降低 LDL-C/HDL-C。

2.2 丹芎方对高脂血症大鼠血浆谷丙转氨酶和白蛋白的影响 如表 3 所示,与正常组相比,高脂模型组血浆 ALT 和 ALb 显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比洛伐他汀、考来烯胺、丹芎方高、中、低剂量组均可显著降低血浆 ALT 水平($P < 0.01$)。洛伐他汀、考来烯胺、丹芎方中剂量可显著升高血浆 ALb($P < 0.01$),丹芎方低剂量可显著升高血浆白蛋白($P < 0.05$)。

2.3 丹芎方对高脂血症大鼠组织病理学的影响 组织病理学检测结果表明,给予高脂饲料后,肝脏病理学损伤明显,表现为弥漫性脂肪变性、疏松化,多量炎细胞浸润,少量肝细胞坏死,中央静脉充血明显。洛伐他汀组表现为轻至中等程度肝细胞脂肪变性,轻度疏松化,少量炎细胞浸润,无肝细胞坏死,中央静脉轻度充血。考来烯胺中度脂肪变性,余表现同洛伐他汀组。丹芎方低、中、高剂量组肝脏脂肪变性程度依次有所减轻,余表现同洛伐他汀。模型组心肌间质有少量中性粒细胞浸润,充血,心肌细胞正常,各给药组心肌检测正常。模型组有部分胃粘膜上皮脱落,少量炎细胞浸润,洛伐他汀、考来烯胺、丹芎方中剂量组也可见部分胃粘膜脱落,偶见白细胞浸润,丹芎方高、低剂量组胃组织学表现正常。

表 2 丹芎方对高脂血症大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	TC (mmol·L ⁻¹)	LDL-C (mmol·L ⁻¹)	HDL-C (mmol·L ⁻¹)	TG (mmol·L ⁻¹)	AI	
						HDL-C/TC	LDL-C/HDL-C
正常对照组	—	2.08 ± 0.24 ⁴⁾	0.42 ± 0.10 ⁴⁾	1.02 ± 0.14 ⁴⁾	0.74 ± 0.10 ⁴⁾	0.51 ± 0.03 ⁴⁾	0.41 ± 0.07 ⁴⁾
高脂血症模型组	—	16.07 ± 4.13 ²⁾	7.57 ± 2.33 ²⁾	4.11 ± 0.83 ²⁾	1.18 ± 0.71 ²⁾	0.27 ± 0.02 ²⁾	1.81 ± 0.22 ²⁾
洛伐他汀	7	13.04 ± 4.60 ²⁾	5.87 ± 2.40 ²⁾	3.20 ± 1.03 ^{2,3)}	0.61 ± 0.11 ⁴⁾	0.26 ± 0.01 ²⁾	1.80 ± 0.18 ²⁾
考来烯胺	1 300	8.43 ± 4.64 ^{2,4)}	3.69 ± 2.34 ^{2,4)}	2.33 ± 1.02 ^{2,4)}	0.53 ± 0.05 ⁴⁾	0.30 ± 0.04 ²⁾	1.48 ± 0.31 ^{2,3)}
丹芎方	330	6.78 ± 3.82 ^{1,4)}	2.38 ± 1.84 ⁴⁾	2.11 ± 0.35 ^{1,4)}	0.85 ± 0.30 ³⁾	0.38 ± 0.13 ^{2,4)}	1.05 ± 0.62 ^{2,4)}
	66	14.56 ± 4.69 ²⁾	6.40 ± 2.57 ²⁾	3.13 ± 0.99 ^{2,3)}	0.69 ± 0.17 ⁴⁾	0.23 ± 0.02 ^{2,4)}	2.00 ± 0.27 ²⁾
	13	12.64 ± 5.09 ²⁾	5.75 ± 2.64 ²⁾	3.28 ± 1.14 ²⁾	0.61 ± 0.06 ⁴⁾	0.28 ± 0.03 ²⁾	1.70 ± 0.26 ²⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$,与高脂血症模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$

表 3 丹芎方对高脂血症大鼠血浆转氨酶和白蛋白的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	ALT (U·L ⁻¹)	白蛋白 (g·L ⁻¹)
正常对照组	—	49.8 ± 27.58 ⁴⁾	38.93 ± 1.39 ⁴⁾
高脂血症模型组	—	163.22 ± 69.06 ²⁾	40.73 ± 0.75 ²⁾
洛伐他汀	7	61.56 ± 6.25 ⁴⁾	43.33 ± 0.83 ^{2,4)}
考来烯胺	1 300	72.89 ± 21.84 ⁴⁾	42.36 ± 1.10 ^{2,4)}
丹芎方	330	82.43 ± 16.17 ⁴⁾	41.26 ± 1.97 ²⁾
	66	62.00 ± 20.61 ⁴⁾	42.43 ± 0.90 ^{2,4)}
	13	103.25 ± 50.76 ^{2,4)}	42.10 ± 0.92 ^{2,3)}

3 讨论

本研究将丹参的主要活性组分和川芎中主要活性成分阿魏酸^[6,7]进行配比组方,研究复方的降血脂作用。此方各组分中的活性成分含量已知,质量可控。

从结果中可以看出给予高脂饲料大鼠血浆 TC、LDL-C 和 TG 水平极显著升高,说明模型非常成功。丹芎方高剂量有非常好的降低 TC 和 LDL-C 的作用,效果与阳性药考来烯胺相当,丹芎方中,低剂量组 TC 和 LDL-C 水平虽有下降但是和模型组相比并没有显著差异。但是丹芎方中,低剂量组降低 TG 效果优于丹芎方高剂量组。可见丹芎方在降低 TC、LDL-C 和 TG 方面的疗效是不平行的,降低 TG 只需很小剂量即可达到非常好的疗效,而降低胆固醇则需要较高的剂量,说明丹芎方对 TG 代谢过程中的影响因素有更高的选择性。我们知道外源性 TG 以 CM 的形式运输。其中的 ApoC II 能激活肌肉,心脏,脂肪等组织毛细血管内皮细胞表面的脂蛋白脂酶

(lipoproteinlipase, LPL), LPL 能使 CM 中的 TG 逐步水解,产生甘油和脂酸。最后,CM 残粒被肝细胞膜 ApoE 受体、LDL 受体或清道夫受体识别并被肝细胞摄取利用。可见,能影响 LPL 活性和肝脏识别和清除功能的因素,都能影响血浆 TG 代谢,例如血管生成素样蛋白(angiotensin-like protein3, Angpt13)和 ApoC II 能抑制 LPL 活性的, ApoC III 还能抑制肝细胞膜上 ApoE 受体。丹芎方是通过影响哪个或哪些环节而影响 TG 代谢,还需要进一步研究。

由于脂蛋白错综复杂的网状代谢过程,因此应该将各血脂数据及其之间的关系结合起来进行综合评价^[8-10],动脉硬化指数就是其中很重要的指标,主要包括 HDL-C/TC 或 TC/HDL 和 LDL-C/HDL-C。从本实验结果表 2 中可以看出给予高脂饲料后血浆 HDL 水平较正常对照组显著升高,而 HDL-C/TC 显著下降($P < 0.01$),说明给予高脂饲料后 HDL 对胆固醇的转运能力显著下降,造成高胆固醇血症,丹芎方高剂量可显著升高 HDL-C/TC 还可显著降低 LDL/HDL,说明丹芎方能够显著提高 HDL 转运胆固醇的效率,具有预防冠心病潜能。

通过检测血浆 ALT 的变化,发现给予高脂饲料后血浆中 ALT 显著升高,说明肝功能受到损伤,而各药物均可极显著的降低 ALT 水平,其中洛伐他汀、考来烯胺、丹芎方高、中剂量组的 ALT 水平与正常对照组没有显著性差异。丹芎方低剂量组 ALT 水平虽然未达到正常对照组水平,但是较模型组显著降低。此结果说明丹芎方能够保护高血脂下的肝功能。

从本研究中还可看出,给予高脂饲料后血浆 ALb 水平显著升高,机制不清。

病理学检查显示,高脂饮食可以造成肝脏明显

病理学损伤,丹芍方可明显减轻各种病理学损伤,效果似洛伐他汀和考来烯胺。模型组心和胃的病理损伤较轻,丹芍方和洛伐他汀、考来烯胺能够减轻心和胃的病理学损伤。此结果说明丹芍方能够减轻高脂饲料引起的心、肝、胃的病理学损伤。

综上所述,丹芍方是一个非常有效的血脂调节中药复方制剂。而且其中的活性成分含量稳定,本室对多批次的丹芍方主要活性物质丹参素、丹参酮、阿魏酸含量进行液相检测,结果显示批次之间含量差异 $< 5\%$,说明这种组方质量稳定,疗效好,非常适宜进一步开发利用。

[参考文献]

- [1] 许涛,喻莉,郑智,等.丹参对实验性动脉粥样硬化形成的预防[J].临床心血管病杂志,2005,21(1):54-55.
- [2] 张梅,温进坤,孙辉臣,等.丹参注射液对动脉粥样硬化大鼠血脂及细胞间粘附分子-1表达的影响[J].中国病理生理杂志,2004,20(10):1871-1873.
- [3] 梅家俊,蔡大勇,赵婷秀,等.川芎防治动脉粥样硬化症机制的实验研究[J].2004,6(2):5-9.

- [4] 吴汉卿,董伟,杨芙蓉.中药冠心康对痰瘀症病人血脂及血液流变学影响[J].微循环学杂志,1999,9(3):31-32.
- [5] 李莉,刘艳玲,吴红艳.康脂口服液药效学研究[J].微生物学杂志,2001,21(1):15-17,26.
- [6] 欧阳静萍,王保华,刘永明,等.阿魏酸钠对高血脂血症家兔动脉粥样硬化形成的影响及其机制的研究[J].中国药理学通报,2002,18(2):207-210.
- [7] 傅颖君,何明.阿魏酸钠对心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用及其机制[J].药理学学报,2004,39(5):325-327.
- [8] Barzi F, Patel A, Woodward M, *et al.* A comparison of lipid variables as predictors of cardiovascular disease in the Asia Pacific region[J]. *Annals of Epidemiology*, 2005, 15(5): 405-413.
- [9] Grover SA, Dorais M, Coupal L. Improving the prediction of cardiovascular risk: interaction between LDL and HDL cholesterol[J]. *Epidemiology*, 2003, 14(3): 315-320.
- [10] Lemieux I, Lamarche B, Couillard C, *et al.* Total cholesterol/HDL cholesterol ratio vs LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio as indices of ischemic heart disease risk in men: the Quebec Cardiovascular Study [J]. *Archives of Internal Medicine*, 2001, 161(22): 2685-2692.