

清脂胶囊对热毒血瘀证大鼠内皮功能 及血液流变学的影响

史青, 聂淑琴, 杨庆

(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要:目的: 研究清脂胶囊对热毒血瘀证模型大鼠血管内皮功能和血液流变学的影响。方法: 除正常组外, 以高脂饲料造模, 同时灌胃给药, 于第 10d 给药 1h 后腹腔注射脂多糖(LPS) 50 μ g/只, 6h 后再给药一次, 给 LPS 24h 后眼眶取血, 用放免法检测内皮素(ET)、白介素-1(IL-1), 酶法检测超氧化物歧化酶(SOD)和一氧化氮(NO), 腹主动脉取抗凝血检测血液流变学指标。结果和讨论: 清脂胶囊可提高模型大鼠的血清 SOD 含量, 提高 NO 的释放, 降低血浆 ET, 明显降低血小板聚集率及全血黏度, 因此对热毒血瘀证大鼠可从多方面对抗内皮功能紊乱及降低血液高粘凝聚状态。

关键词: 清脂胶囊; 热毒血瘀证; 炎症; 内皮; 血液流变学

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)01-0028-04

Influence of Qingzhi Capsule on Endothelial Function and Hemorheology in Rats with Epidemic Heat and Blood Stasis Syndrome

SHI Qing, NIE Shu-qin, YANG Qing

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700)

Abstract: Objects: To investigate the influence of Qingzhi Capsule on endothelial function and hemorheology in rats with epidemic heat and blood stasis syndrome. Methods: The model was established with male rats induced by peritoneal injecting LPS and high fat diet. The level variations of ET, IL-1, SOD, NO in blood and the index of hemorheology were measured. Results: Qingzhi Capsule could increase the level of SOD and NO, and reduce the level of ET, and improve hemorheological parameters. Conclusion: These results indicated Qingzhi Capsule could improve endothelial function and hemorheology in rats with epidemic heat and blood stasis syndrome.

Key words: Qingzhi Capsule; Epidemic heat and Blood Stasis Syndrome; Inflammation; Endothelium; Hemorheology

清脂胶囊(原名脂复康胶囊)是我所研制的降脂新药, 主要成分为熟大黄、枸杞子和肉苁蓉, 其中大黄为君药, 采用酒热压新工艺炮制^[1], 现代研究表明炮制大黄具有解热镇痛、抑菌消炎、降脂、止血活血、抗应激、抑制消化酶等作用。近年来越来越多的研究者认为动脉粥样硬化(AS)是一种具有慢性炎症反应特征的病理过程, 并认为血管内皮细胞损伤是 AS 发生的启动步骤, 其功能降低主要表现在正常的抗氧化、抗细胞黏附和抗凝机能减弱^[2], 而炎症刺激物脂多糖(LPS)和高脂血症均可引起血管内皮功能受损, 二者联合造模形成的热毒血瘀证可以较好地模拟 AS 炎症初期损伤。因此根据当前对 AS 发病机理的新认识及清脂胶囊的组方特点, 本文初步探讨了

清脂胶囊对热毒血瘀证模型大鼠内皮保护及改善血液高粘凝聚状态的作用, 希望发掘此药成为一种较为完善的预防 AS 用药。

1 材料

1.1 动物与饲料 SD 种大白鼠, 雄性, (150 \pm 10)g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 二级, 合格证号: SCXK(京)2002-0003; 动物实验条件符合一级标准; 大鼠普通饲料、高脂饲料(胆固醇 1%、猪油 10%、胆盐 0.5%、基础饲料 88.5%)由北京九江口饲料厂加工。

1.2 药品与试剂 清脂胶囊由本所研制, 中日友好医院加工, 批号: 1996.12, 由大黄(*Rheum tanguticum* Maxim ex Balf. 青海产, 制熟)、枸杞子(*Lycium barbarum* L. 宁夏产)、肉苁蓉(*Cistanche deserticoda* Y. C. Ma. 内蒙产)组成, 其比例为 6:3:1。药材强加工提取, 精制成棕褐色粉末, 每 g 提取物相当原生药

2.5g, 每 g 药粉含大黄酸不低于 4.44mg。非诺贝特, 法国利博福尼制药公司, 批号: 69660; 醋酸地塞米松片, 天津市天津药业公司, 批号: 951007; 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na), 北京市东环联合化工厂, 批号: 971230; LPS (055: B5), SIGMA 公司, 批号 56H4096; 胆固醇, 荷兰进口分装广州市化学试剂玻璃仪器批发部, 批号 920704; 胆盐 3 号, 北京化学试剂公司, 批号 960918; 药物用 0.5% CMC-Na 配制成不同浓度, 临用前配制; SOD 试剂盒 (黄嘌呤氧化酶法), 批号 20030106, NO 试剂盒 (硝酸还原酶法), 批号 20030109, 均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 ZS-3 型半自动生化分析仪, 北京中生生物工程高技术公司; 台式高速冷冻离心机, 索福 ST21, DuPont Company; 高速离心机, KH-120A, 日本制造; 血小板聚集仪, DIC-PA3210, 日本制造; 自清洗旋转式黏度计, LBY-N6A, 北京普利生。

2 方法

2.1 大鼠热毒血瘀证模型的建立 大鼠随机分为正常组、模型组、清脂 0.5g/kg 组、清脂 1g/kg 组、清脂 2g/kg 组、非诺贝特组 (0.2g/kg)、地塞米松组 (0.0075g/kg), 正常组喂饲正常饲料, 其余各组喂饲高脂饲料, 共 10d。同时灌胃给药 10d, 2ml/100g 体重, 每日给药 1 次, 正常组及模型组灌胃 0.5% CMC-Na。每 4~5d 称重一次。第 10d 8Am 给药, 1h 后除正常组外其余各组腹腔注射 LPS (50μg/只, 溶于 0.5ml 生理盐水)^[3-6]。腹腔注射 LPS 5h 后测体温。

2.2 内皮功能相关物质含量测定 腹腔注射 LPS 后 6h 再给药一次, 腹腔注射 LPS 24h 后眼眶取血 (禁食 14h), 分为抗凝血与非抗凝血, 离心取上清血浆用于检测 ET, 血清用于检测 IL-1 SOD NO。ET IL-1 均用放射免疫法, 由北京东亚免疫研究所测定。SOD、NO 用酶法测定, 严格按试剂盒说明书操作。

2.3 血液流变学指标测定 在眼眶取血后, 从正常组、模型组、清脂 0.5g/kg 组、清脂 1g/kg 组、清脂 2g/kg 组、非诺贝特组 (0.2g/kg) 中每组随机选取 6~7 只大鼠进行腹主动脉取血, 肝素抗凝 (600U/管), 用黏度仪于 37℃ 测定高、中、低切变率下的全血黏度和血浆黏度, 以 φ1.5 × 75mm 的毛细管取血样 0.2ml, 1.2 万 rpm 离心 5min, 测定红细胞压积, 以热沉淀法测定血浆纤维蛋白原含量^[1], 并测定血小板聚集率。

2.4 统计学处理 数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示; 以单因素方差分析和组间 *t* 检验比较差异的显著性。

3 结果

3.1 清脂胶囊对大鼠热毒血瘀证模型体温的影响 与正常组比较模型组体温明显升高, $P < 0.01$; 而给药各组与模型组比较均无明显差异, 但清脂胶囊各组体温比模型组均有降低。结果见表 1。

表 1 清脂胶囊对大鼠热毒血瘀证模型体温的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g/kg)	体温 (°C)
正常组	10	—	36.40 ± 0.31**
模型组	11	—	37.35 ± 0.64
清脂组	9	0.5	37.07 ± 0.75
清脂组	9	1.0	36.93 ± 0.75
清脂组	9	2.0	37.03 ± 0.43
地塞米松组	9	0.0075	37.50 ± 0.64
非诺贝特组	10	0.2	37.13 ± 0.93

注: 与模型组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2 清脂胶囊对大鼠热毒血瘀证模型 SOD、IL-1、ET、NO 水平的影响 与正常组比较模型组 ET 明显升高, $P < 0.05$ 。清脂 1.0g/kg、2.0g/kg 组与模型组比较 ET 明显降低, $P < 0.01$, 而且在清脂 0.5~2.0g/kg 剂量下, 降低血浆 ET 作用随剂量增加而加强, 具有量效关系。与模型组比较非诺贝特组也明显降低 ET, $P < 0.01$ 。与正常组比较模型组 NO 有所降低但未达到统计学意义, 与模型组比较只有清脂 1.0g/kg 组明显升高血清 NO 含量, $P < 0.05$, 而地塞米松组明显降低 NO 含量, $P < 0.01$ 。与正常组比较模型组 SOD 明显降低, $P < 0.01$, 与模型组比较清脂 0.5~2.0g/kg 组均明显升高血清 SOD 含量, $P < 0.05$, 而地塞米松组明显降低 SOD 含量, $P < 0.01$ 。与正常组比较模型组 IL-1 略有升高, 与模型组比较清脂 0.5~2.0g/kg 组和地塞米松组 IL-1 都有下降, 但均未达到统计学意义。结果见表 2。

3.3 清脂胶囊对大鼠热毒血瘀证模型血液流变学的影响 与正常组比较模型组显著升高全血黏度、血浆黏度、血小板聚集率及纤维蛋白原含量, 明显降低红细胞压积, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$; 与模型组比较清脂 0.5、2.0g/kg 组均明显降低全血黏度, $P < 0.05$, 与模型组比较清脂 0.5~2.0g/kg 组均明显降低血小板聚集率, $P < 0.01$, 与模型组比较清脂 0.5g/kg~2.0g/kg 组均升高红细胞压积, 只有清脂 0.5g/kg 组的差异具有显著性意义 $P < 0.05$ (但与正常组比较无明显差异), 与模型组比较清脂各组对血浆黏度、纤维蛋白原无明显影响; 与模型组比较非诺贝特组明显降低全血黏度、血小板聚集率, $P < 0.01$,

对红细胞压积、血浆黏度、纤维蛋白原无明显影响。结果见表 3、4。

表 2 清脂胶囊对大鼠热毒血瘀证模型 SOD、ET、NO 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量(g/kg)	ET (pg/ml)	NO ($\mu\text{mol/L}$)	IL-1 (ng/ml)	SOD (NU/ml)
正常组	9	—	119.97 ± 8.35 ^d	102.02 ± 26.69	0.31 ± 0.05	148.82 ± 8.69 ^{**}
模型组	9	—	131.93 ± 14.10	83.32 ± 19.65	0.35 ± 0.11	119.65 ± 14.67
清脂组	9	0.5	119.31 ± 15.54	81.15 ± 24.17	0.29 ± 0.08	136.18 ± 10.12 ^e
清脂组	9	1.0	100.05 ± 13.55 ^{**}	128.26 ± 44.21 [*]	0.32 ± 0.10	132.96 ± 7.29 ^e
清脂组	9	2.0	88.00 ± 10.23 ^{**}	103.02 ± 29.31	0.32 ± 0.06	133.72 ± 12.47 ^f
地塞米松组	9	0.0075	127.30 ± 17.38	38.65 ± 12.40 ^{**}	0.26 ± 0.05	57.37 ± 14.08 ^{**}
非诺贝特组	10	0.2	35.63 ± 8.21 ^{**}	108.78 ± 65.10	0.36 ± 0.24	125.42 ± 9.25

表 3 清脂胶囊对大鼠热毒血瘀证模型全血黏度的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g/kg)	全血黏度(mpa·s)		
			10s ⁻¹	100s ⁻¹	200s ⁻¹
正常组	6	—	5.77 ± 1.55 ^{**}	3.66 ± 0.49 ^{**}	3.34 ± 0.37 ^{**}
模型组	7	—	9.44 ± 1.91	5.02 ± 0.82	4.34 ± 0.64
清脂组	7	0.5	7.49 ± 0.78 ^e	4.10 ± 0.37 ^f	3.54 ± 0.34 ^f
清脂组	7	1.0	8.81 ± 2.15	4.73 ± 0.68	4.12 ± 0.54
清脂组	7	2.0	6.66 ± 1.42 ^e	3.93 ± 0.56 ^e	3.50 ± 0.46 ^e
非诺贝特组	7	0.2	6.62 ± 1.00 ^{**}	3.79 ± 0.25 ^{**}	3.30 ± 0.16 ^{**}

表 4 清脂胶囊对大鼠热毒血瘀证模型其他血液流变学指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量(g/kg)	血小板聚集 (%)	红细胞压积	血浆黏度 (mpa·s)	纤维蛋白原 (g/L)
正常组	6	—	42.65 ± 0.21 ^{**}	0.37 ± 0.01 ^{**}	1.09 ± 0.07 ^f	33.32 ± 10.47 ^f
模型组	7	—	48.67 ± 4.60	0.31 ± 0.03	1.21 ± 0.06	58.04 ± 23.17
清脂组	7	0.5	16.03 ± 8.62 ^{**}	0.35 ± 0.03 ^e	1.20 ± 0.08	46.20 ± 21.75
清脂组	7	1.0	26.73 ± 13.55 ^{**}	0.35 ± 0.04	1.25 ± 0.06	65.73 ± 15.05
清脂组	7	2.0	31.43 ± 5.80 ^{**}	0.33 ± 0.02	1.28 ± 0.15	56.40 ± 14.60
非诺贝特组	7	0.2	32.87 ± 7.14 ^{**}	0.28 ± 0.01	1.13 ± 0.07	49.57 ± 21.49

4 讨论

目前研究认为血管内皮细胞损伤是 AS 发生的启动步骤,其功能降低主要表现在正常的抗凝、抗细胞黏附和抗氧化机能减弱。高脂血症时内皮细胞功能受损,NO 释放减少而 ET 水平升高,SOD 活性降低,血液黏度增加,血小板聚集增加;内皮细胞受到 LPS 刺激诱发的炎症也有类似反应,而且近年来许多研究认为某些病原体感染与 AS 发生发展关系密切。用 LPS 造模可以形成热毒血瘀证的模型,高脂血症也可形成血瘀状态,而中医也认为与现代 AS 相类似的一些病症多与血瘀有关,因此在大鼠饲高脂

饲料加腹腔注射 LPS 模型上进行试验,可以更好地观察清脂胶囊对 AS 炎症初期主要诱发因素造成的热毒血瘀证的拮抗作用。

ET-1 是迄今为止发现的最强的缩血管物质。在内皮细胞损伤时组织释放的凝血酶、肿瘤坏死因子(TNF)、肾上腺素及巨噬细胞释放的白细胞介素-1(IL-1)等皆能刺激 ET-1 mRNA 的表达,此外高脂血症和氧自由基亦可促进 ET-1 的释放。ET 持久的缩血管作用可导致并加重血管内膜的损伤。NO 是体内的一种氧自由基清除剂,并可拮抗 ET 等缩血管物质的作用,抑制血小板聚集,抑制单核-内皮细胞黏

附。IL-1 是对炎症最有影响的起直接作用的物质。在血循环中各种刺激物质的作用下,与 AS 相关的单核/巨噬细胞、内皮细胞、淋巴细胞和血管平滑肌细胞均可产生 IL-1, IL-1 可增加炎症细胞对血管壁的黏附,还可刺激内皮细胞产生反应性氧分子,其可使血管通透性增加以及产生有细胞毒性的脂质过氧化物。SOD 是比较重要的一类抗氧化酶,通过清除活性氧改变氧化环境来阻断 AS 基因的表达而起到保护血管细胞的作用,它在 AS 炎症初期,不仅能降低自由基诱导的 ox-LDL 的产生,而且可以减轻自由基吸引单核细胞和其他炎性细胞向内皮损伤处聚集的作用。AS 病变早期血液流变学的改善将有助于防止 AS 发生和发展。因而对上述指标的测定具有重要意义。

从体温测量结果和各指标模型组与正常组结果比较看,本试验较好地形成了热毒血瘀证模型,结果表明清脂胶囊可提高模型大鼠的血清 SOD 含量,降低血浆 ET 产生,提高 NO 的释放,明显降低血小板聚集率及在不同切变率下均可降低全血黏度,这与

清脂胶囊活血化瘀的主要药效相吻合,同时具有保护内皮的作用,因此对于热毒血瘀证大鼠清脂胶囊可从多方面对抗内皮功能紊乱及降低血液高粘凝聚状态。

参考文献:

- [1] 聂淑琴,李铁林,薛宝云,等. 脂复康胶囊对大鼠食饵性高脂血症及血液流变学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(6): 43-45.
- [2] 徐也鲁. 动脉粥样硬化——一种慢性炎症过程[J]. 中国动脉硬化杂志, 2001, 9(2): 93-95.
- [3] 杨志军,葛煦,饶志仁,等. Fos 蛋白在 LPS 免疫激发大鼠脑内的分布[J]. 解剖学报, 2000, 31(4): 292-295.
- [4] 李生花,王建新. 内皮素与一氧化氮和脂多糖的相互作用[J]. 青海医学院学报, 2000, 21(3): 51-52.
- [5] 王利津,徐强. 黄连解毒汤的抗炎作用机理研究[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(8): 493-496.
- [6] 杨金明,韩德五,赵严. 脂多糖对化学诱癌大鼠抗氧化系统的选择性损害作用[J]. 中国病理生理杂志, 1999, 15(3): 214-216.