

血竭对高脂血症大鼠脂代谢的影响^①

朱名毅¹, 潘征^{2②}, 黄丽花³, 李奉娟³, 劳可师³, 赵思宁³, 王若琦⁴

1. 右江民族医学院科学实验中心, 广西 百色 533000 E-mail: zhumingyi2009@163.com;
2. 右江民族医学院教务处, 广西 百色 533000;
3. 右江民族医学院临床医学院, 广西 百色 533000;
4. 右江民族医学院附属医院心脏内科, 广西 百色 533000)

摘要: **目的** 探讨血竭对高脂血症大鼠脂代谢紊乱的影响。**方法** 采用高脂饲料连续喂养建立SD大鼠高脂血症模型, 然后对高脂模型大鼠进行血竭干预4周, 检测各组大鼠血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的水平, 观察肝脏组织的脂肪变性程度。**结果** 血竭可以降低高脂血症大鼠血清TC、TG和LDL-C的水平, 升高HDL-C含量($P < 0.05$); 血竭中、高剂量组对高脂血症大鼠肝脏的脂肪变性有不同程度的缓解作用($P < 0.05$)。并对剂量具有依赖性, 在剂量为300~600 mg时随剂量递增, 血竭降血脂的作用越明显; 同时随着剂量递增, 血竭改善脂肪肝的作用也增加。**结论** 血竭可以调节高脂血症大鼠的脂代谢, 改善高脂血症大鼠肝脏的脂肪变性, 血竭降血脂、抗脂肪肝作用与剂量相关。

关键词: 血竭; 高脂血症; 脂代谢

中图分类号: R285 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2014)03-0333-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2014.03.005

Effects of Dragon's Blood on lipid metabolism in hyperlipidemia rats

Zhu Mingyi¹, Pan Zheng², Huang Lihua³, Li Fengjuan³, Lao Keshi³, Zhao Sining³, Wang Ruoqi⁴

1. Science Experiment Center, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China E-mail: zhumingyi2009@163.com;
2. Academic Affairs Office, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
3. College of Clinical Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
4. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of Dragon's Blood on lipid metabolism disorders in hyperlipidemia rats. **Methods** The hyperlipidemia rat models were established by feeding SD rats with high-fat diet. These rats were administered with Dragon's Blood for four weeks, then the rats blood were drawn and the levels of serum total cholesterol(TC), triglyceride(TG), low density lipoprotein cholesterol(LDL-C) and high density lipoprotein cholesterol(HDL-C) were measured. The morphological changes in rats liver tissues were observed. **Results** Dragon's Blood could down-regulate the hyperlipidemia rats' serum TC, TG, LDL-C levels, and up-regulated HDL-C ($P < 0.05$). The high and medium dosages Dragon's Blood had different effects on relieving liver fatty degeneration of the hyperlipidemia rats. It had dose-dependence, from 300 mg to 600 mg, with dosage increasing progressively, Dragon's Blood could be more effectively on down-regulating the hyperlipidemia as well as in improving fatty liver. **Conclusion** Dragon's Blood can regulate lipid metabolism in hyperlipidemia rats and improve liver fatty degeneration. The efficacy of Dragon's Blood in down-regulating blood lipid and anti-fatty liver is associated with dosage.

Key words: Sanguis Draconis; hyperlipidemia; lipid metabolism

高血脂和脂质代谢障碍与动脉粥样硬化(AS)斑块的形成密切相关, 因此调节血液血脂水平是防治心脑血管疾病的有效措施之一。临床上使用他汀类药物治疗高血脂, 在防治动脉粥样硬化等方面有良好的作用, 但是他汀类药物可能引起肝脏损

害、神经毒性和糖尿病等不良反应^[1-2]。血竭在中医有活血化瘀、消肿止痛、促进表皮修复等药理作用, 现已广泛应用于临床多种疾病的治疗^[3-4]。血竭含有黄酮类、苷类、酚类、糖类等其他化合物, 可净化血液, 减少自由基引起的损伤^[5], 但是对于高血脂

① 基金项目: 广西高校大学生创新计划项目(QJCX201329); 广西中医药管理局中医药科技专项课题(GZKZ09.87); 广西中医药管理局自筹科研课题(g22c1046)

② 通讯作者

的作用还有待进一步研究。本研究拟通过高脂饲料喂养建立高脂血症大鼠模型,观察血竭对高脂血症大鼠脂代谢的影响,为抗高脂血症的药用开发提供实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料及仪器 血竭为棕褐色粉末(批号 20120503),由广西中医药大学制药厂提供;羧甲基纤维素钠(重庆力宏精细化工有限公司,批号 2021155);洛伐他汀(扬子江药业集团有限公司,批号 11102812);总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒购自长春汇力生物技术有限公司。仪器:DMIL型倒置显微镜(Leica公司);RM2245型切片机(Leica公司);6K15型高速冷冻离心机(Sigma公司)。

1.2 实验动物 健康雄性SD大鼠60只,体重180~200g,由广西医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK桂2009-0002号。大鼠分笼饲养,每笼5只,实验期间每天观察大鼠的一般状况,包括饮食、行为、毛发等情况,每周称量大鼠体重,动物自由摄食、饮水,动物实验室温度18~25℃,相对湿度20%~65%。

1.3 实验方法

1.3.1 高脂血症大鼠模型的建立 高脂饲料购于北京华阜康生物技术股份有限公司,基础饲料购于右江民族医学院动物实验中心。正常对照组(A组)10只大鼠给予基础饲料喂养,高脂组50只大鼠给予高脂饲料喂养。于实验的第0周和第4周末,将大鼠禁食不禁水12h后,抽取A组及其余各组大鼠的尾血,按试剂盒说明书测定血清TC、TG、LDL-C和HDL-C水平,随机解剖1只正常对照组和5只高脂组大鼠,以确定高脂血症模型的建立情况。

1.3.2 血竭干预 确定大鼠高脂模型建立成功后,将高脂组再随机分为模型组(B组)、洛伐他汀干预组(C组)、血竭低剂量(D组)、血竭中剂量(E组)、血竭高剂量(F组)。从实验第5~8周对各干预组通过药物灌胃进行干预,C组给予洛伐他汀3mg/(kg·d),用灭菌生理盐水配制;D、E和F组给予血竭灌胃量分别为300、450、600mg/(kg·d),用羧甲基纤维素钠溶液配制;A组和B组同时给予同体积同质量的羧甲基纤维素钠溶液。每周按体重调整灌胃量。

1.4 观察指标

1.4.1 TC、TG、HDL-C和LDL-C检测 8周末,将大鼠禁食不禁水12h后,用30g/L戊巴比妥钠溶液腹腔注射麻醉,麻醉剂量为30mg/kg。解剖打开大鼠胸腔,心脏取血5~10ml不加抗凝剂,静置2h后,2000r/min离心15min,取血清按TC、TG、HDL-C和LDL-C试剂盒说明书检测。

1.4.2 组织病理学检查 取出大鼠的肝脏组织后,用生理盐水洗去血迹,用刀片切成0.5cm×1.0cm大小的组织块,放入10%的中性甲醛溶液中浸泡固定,HE染色,光学显微镜下观察肝脏组织形态学变化。病变程度如下表示:“-”未见明显异常;“+”肝细胞轻度脂肪变性;“++”肝细胞中度脂肪变性;“+++”肝细胞重度脂肪变性。

1.5 统计学方法 应用SPSS 13.0对实验数据进行统计学分析。数据以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD法,等级资料比较采用Ridit法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高脂血症模型的建立 实验期间对照组大鼠一般状况良好,活动、摄食和饮水正常,毛色有光泽。高脂模型组大鼠实验早期进食良好,高脂饮食时间越长,大鼠毛色越黄,光泽度越差,进食也减少。4周末时,高脂组的TC、TG和LDL-C水平均高于正常对照组($P < 0.05$),而高脂组的HDL-C水平低于正常对照组($P < 0.05$),见表1。同时,高脂组5只大鼠的肝脏都存在脂肪变性,说明高脂血症大鼠模型复制成功。8周末,解剖大鼠观察心、肾、肺、脾等脏器,未见外观上的异常。

2.2 血脂谱的变化 8周末时,大鼠血脂谱检测结果显示:与对照组比较,模型组大鼠的血清TC、TG、LDL-C均高于对照组($P < 0.05$),而HDL-C低于对照组($P < 0.05$),表明实验期间模型组大鼠一直维持高脂状态。与模型组比较,血竭低、中、高剂量组大鼠的血清TC、TG明显低于模型组($P < 0.05$),血竭高剂量组大鼠的血清LDL-C也低于模型组($P < 0.05$),同时血竭高剂量组大鼠的血清HDL-C也高于模型组($P < 0.05$),显示血竭可以不同程度地降低各干预组大鼠的血清TC、TG、LDL-C水平;同时还能升高大鼠的血清HDL-C水平,见表2。

表1 第0周和第4周高脂血症大鼠血清TC、TG、HDL-C和LDL-C的比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	TC		TG		HDL-C		LDL-C	
		第0周	第4周	第0周	第4周	第0周	第4周	第0周	第4周
对照组	10	2.50±0.11	2.55±0.22	1.35±0.17	1.33±0.18	0.81±0.10	0.82±0.05	1.01±0.12	1.02±0.23
高脂组	50	2.51±0.14	4.51±0.19 ^a	1.33±0.24	3.38±0.22 ^a	0.81±0.09	0.72±0.15 ^a	1.04±0.16	1.71±0.19 ^a

注:与对照组相比,a: $P < 0.05$

表2 血竭对高脂血症大鼠血清TC、TG、LDL-C、HDL-C值的影响 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	TC		TG		HDL-C		LDL-C	
		第4周	第8周	第4周	第8周	第4周	第8周	第4周	第8周
对照组	9	2.55±0.22	2.52±0.21	1.33±0.18	1.39±0.16	1.02±0.12	1.04±0.11	0.82±0.05	0.83±0.07
模型组	9	4.55±0.19	5.39±0.28 ^a	3.36±0.17	4.13±0.25 ^a	1.70±0.19	2.36±0.25 ^a	0.72±0.11	0.48±0.10 ^a
洛伐他汀组	9	4.49±0.23	3.46±0.26 ^b	3.37±0.13	3.22±0.17 ^b	1.73±0.14	1.78±0.12 ^b	0.73±0.08	0.65±0.09
血竭低剂量组	9	4.51±0.18	4.71±0.21 ^b	3.36±0.19	3.91±0.17 ^b	1.72±0.13	2.31±0.22	0.71±0.12	0.49±0.10
血竭中剂量组	9	4.53±0.20	4.53±0.29 ^b	3.39±0.16	3.76±0.17 ^b	1.69±0.12	2.17±0.13	0.70±0.14	0.51±0.09
血竭高剂量组	9	4.46±0.24	4.12±0.20 ^b	3.40±.21	3.62±0.20 ^b	1.68±0.10	1.94±0.11 ^b	0.74±0.09	0.58±0.14 ^b

注:与对照组相比,a: $P < 0.05$;与模型组相比,b: $P < 0.05$

2.3 肝脏组织形态学的变化 肉眼观察对照组大鼠肝脏呈鲜红色,质地均匀,未见异常;高脂模型组大鼠肝脏显黄褐色,黄白相间,有油腻感。肝脏切片HE染色镜下可见:对照组大鼠

的组织结构完整,肝窦清晰,肝索排列整齐,核形态正常,细胞质均匀,无明显肝细胞脂肪变性(见图1A)。模型组大鼠的肝组织结构不清,肝窦、肝索排列不规则,细胞内明显脂肪变性,

可见大小不等、数量不一的脂肪空泡，肝脏出现明显的弥漫性脂肪变性(见图 1B)。洛伐他汀组大鼠肝脏组织结构清晰，有少量脂肪空泡散布于肝小叶周边细胞内，脂肪变性较轻。血竭低剂量组大鼠的肝脏脂肪变性明显，肝细胞周围有较多的脂肪空泡(见图 1D)，与模型组相比，脂肪变性程度差异无统计学意义($P > 0.05$)，见表 3。血竭中剂量组大鼠的肝细胞脂肪变性主要位于肝小叶周边带，肝窦、肝索结构基本正常(见图 1E)，与模型组相比，肝脏脂肪变性明显减轻($P < 0.05$)，见表 3。血竭高剂量组大鼠的脂肪空泡散布在肝小叶周边细胞内，肝索排列较为整齐，肝细胞结构清楚(见图 1F)，与模型组比，肝脏脂肪变性显著减轻($P < 0.05$)，见表 3。

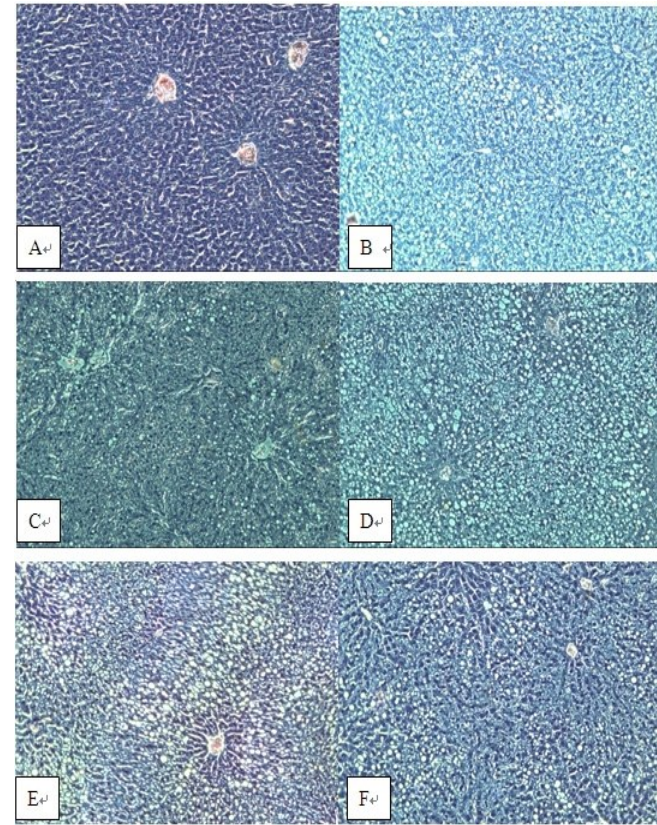


图 1 各组大鼠肝脏组织形态学的变化(HE, ×100)
A: 对照组; B: 模型组; C: 洛伐他汀组; D: 血竭低剂量组; E: 血竭中剂量组; F: 血竭高剂量组

表 3 血竭对高脂血症大鼠肝脏病理改变的影响 (n = 9)

组别	病变程度				P
	-	+	++	+++	
对照组	9	0	0	0	
模型组	0	0	1	8	
洛伐他汀组	0	3	5	1	<0.05
血竭低剂量组	0	0	3	6	>0.05
血竭中剂量组	0	1	4	4	<0.05
血竭高剂量组	0	3	4	2	<0.05

注: 与模型组相比, a: $P < 0.05$

3 讨论

随着人们生活水平的不断提高, 高脂血症的发病率越来越高, 而且高脂血症是导致动脉粥样硬化和冠心病等心脑血管疾病发生的重要危险因素^[6]。如何防止高脂血症形成, 以及如何治疗高脂血症是防治心脑血管病的关键和难题。血竭具有活

血止血的作用, 通过双向调节使血液在凝固和抗凝之间平衡。而张汝学等^[7]发现血竭不仅能够降低四氧嘧啶诱导的糖尿病模型大鼠的空腹血糖, 促进胰岛素的分泌, 同时还有一定的降血脂作用。但是, 目前没有文献报道血竭对高脂血症作用的相关研究。本实验参考文献造模方法^[8], 选择 SD 大鼠作为研究对象, 通过连续的高脂饲料喂饲建立大鼠高脂血症模型, 在实验期间, 与对照组比较, 高脂饲料喂饲能够使大鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 显著升高, 而 HDL-C 显著下降, 说明本研究的高脂血症模型建立是成功的。

实验结果显示, 血竭干预 4 周后, 可以降低高脂血症大鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 水平, 适当升高 HDL-C 水平, 表明血竭具有调节实验性高脂血症大鼠血脂代谢紊乱的作用; 同时我们也发现血竭降低高脂血症大鼠血脂指数具有量效关系, 在 300~600 mg 范围内, 剂量递增, 血脂指数递减, 两者呈负性量效关系。在肝脏形态学实验结果中也表明, 血竭在改善高脂血症大鼠脂代谢紊乱的过程中, 可以缓解其肝脏的脂肪变性, 在 300~600 mg 范围内, 血竭剂量递增, 肝脏脂肪变性的程度越轻, 呈负性量效关系。血竭在改善高脂血症大鼠脂代谢紊乱的过程中, 具有较明显地抑制血脂增高的作用, 其主要原因可能与血竭能降低胆固醇在胆汁酸胶束中的溶解性, 从而起到阻碍胆固醇从肠管中的吸收效果有关; 血竭还可能降低合成胆固醇相关酶的活性, 抑制血清和肝脏中胆固醇的吸收, 阻碍胆固醇的合成, 从而导致血脂下降^[9]。也有学者认为血竭提取物(主要成分是血竭素)调节血脂与 CD36 有关^[10], CD36 是修饰氧化低密度脂蛋白的主要清道夫受体, CD36 表达增多可促进细胞吞噬化学修饰的脂蛋白, 引起细胞内胆固醇代谢失衡, 使胆固醇酯分解减少, 合成增多。但是血脂除了血竭素外, 还含有大量黄酮类、苷类、酚类、糖类等化合物, 其对高脂血症的具体作用机制还有待进一步研究。

综上所述, 血竭具有一定的降血脂作用以及肝脏保护作用, 其机制可能与纠正高脂血症大鼠的脂代谢紊乱的作用有关。本实验为进一步开发血竭提供了一定的药理学实验依据。

参考文献:

- [1] 张毅, 冯如玉. 他汀类药物的不良反应及防治对策[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(5): 1223-1225.
- [2] 黄丽花, 赵思宁, 劳可师, 等. 中药、西药和中西药结合三种方法降血脂作用及研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2013, 35(2): 198-199.
- [3] 袁勤洋, 曲彩虹, 刘长利, 等. 龙血竭的现代临床应用[J]. 中成药, 2012, 34(12): 2414-2417.
- [4] 刘辉辉, 肖丹, 郑晓, 等. 龙血竭提取物促进创面愈合的实验研究[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2013, (4): 199-203.
- [5] 杨晓宇, 姚琳. 龙血竭的药理作用及临床应用[J]. 黑龙江医药, 2011, 24(2): 265-266.
- [6] 蒋映明. 补阳还五汤对高脂血症的影响[J]. 右江民族医学院学报, 2012, 34(2): 145-146.
- [7] 张汝学, 王金锐, 吴春福, 等. 血竭对大鼠血糖、血浆胰岛素及血脂的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(1): 23-25.
- [8] 付彦君, 陈靖. 淡竹叶提取物对实验性高脂血症大鼠血脂的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2013, 29(6): 965-966.
- [9] 乐薇. 电针丰隆对高脂血症模型大鼠胆固醇逆转运通路的影响[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2013.
- [10] 周明学, 徐浩, 潘琳, 等. 血竭提取物对 ApoE 基因敲除小鼠主动脉粥样硬化斑块稳定性及清道夫受体 CD36 表达的影响[J]. 中草药, 2008, 39(12): 1825-1829.

收稿日期: 2014-02-11; 修回日期: 2014-03-20