

• 药理 •

益气活血方对大鼠的调脂作用与 NO 水平的影响

张秋华, 孙文静(沈阳市中医研究所, 辽宁 沈阳 110004)

摘要: 为了探讨益气活血方对实验性高血脂大鼠血脂、血液流变学、过氧化脂质及内皮舒张因子的影响, 用高脂饲料复制实验性高脂血症大鼠模型, 按体重和血脂水平随机分组, 6 周后, 取血和肝脏测定上述指标。结果显示, 与高脂血症模型组比较, 益气活血方能显著地降低实验性高脂血症大鼠的血清总胆固醇(TC), 血清甘油三脂(TG) 低密度脂蛋白(LDL-C) 含量, 升高高密度脂蛋白(HDL-C) 含量从而改善脂代谢; 益气活血方能降低实验高脂血症大鼠血液流变学各项指标, 降低全血粘度、血浆粘度、红细胞压积和纤维蛋白含量, 益气活血方能降低肝中脂质过氧化反应, 降低 MDA 含量, 益气活血方可提高血浆中 NO 的水平, 减少内皮细胞的损伤, 保护内皮细胞的完整性。

关键词: 益气活血方; 高脂血症; 血液流变学; MDA; 内皮舒张因子(NO)

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)01-0019-03

Effects of Yiqi Huoxue Prescription on Rat Lipid Metabolism and NO Level

ZHANG Qiu-hua, SUN Wen-jing

(Traditional Chinese Medicine Institute of Shenyang, Shenyang, 110004, China)

Abstract: To investigate the effect of Yiqi Huoxue Prescription on lipid, haemorheology, lipid peroxide (LPO), nitric oxide (NO) in the experimental hyperlipidemia rats, a hyperlipidemia rat model was established by feeding high Lipid diet. The rats were randomly divided by body weight and the level of blood lipid. After 6 weeks, blood samples and livers were collected and determined as above. Results showed Yiqi Huoxue Prescription can effectively decrease the level of TC, TG, LDL-C and raise the level of HDL-C in the experimental hyperlipidemia rats compared with the model group. Yiqi Huoxue Prescription can also decrease the haemorheological parameters, decrease the total viscosity, blood plasma viscosity, hemaocrit and the content of fibrinogen. Yiqi Huoxue Prescription can reduce the lipid peroxide and reduce the content of MDA in liver. Yiqi Huoxue Prescription can increase the content of NO in blood plasma and decrease the endothelial injury and protect the endothelial function.

Key words: Yiqi Huoxue Prescription; Hyperlipidemia; Haemorheology; Lipid peroxide; Nitric Oxide

高脂血症是动脉粥样硬化(AS)的重要危险因素, 动脉粥样硬化又是一种多因素参与严重危害人类健康的常见疾病。同时, 它又是导致多种心脑血管疾病的主要病理基础, 如冠心病、脑血栓、血管性痴呆等。祖国医学在这方面的治疗有独到之处。中医理论认为 AS 为本虚标实之症, 根据中医的“气血”学说, 我们研制了益气活血方, 为探讨其作用机理, 用高脂高胆固醇复制高脂血症大鼠模型观察它对血脂、血液流变学、过氧化脂质和一氧化氮(NO)的影响。

1 材料

1.1 药物 益气活血方由黄芪(*Astragalus membranaceus*(Fisch.) Bge.)、丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)、

川芎(*Ligusticum chuanxiong* Hort.)、泽泻(*Alisma orientalis* (Sam.) Juzep.) 及何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.) 等组成(均购于沈阳市药材公司), 根据各药的有效成分, 用不同浓度乙醇渗漉, 全部药渣合并煎煮三遍, 回收乙醇合并全部药液, 制成流浸膏(1ml=1g 生药材), 4℃贮存备用。

1.2 动物 Wistar 大白鼠, 雄性, 体重 180~200g, 由中国医科大学实验动物部提供。

1.3 仪器 MVIS-2010/A 型全自动血液流变分析仪(重庆天海医疗设备厂)。

1.4 试剂 硫代巴比妥酸(上海试剂二厂 87080), 胆固醇试剂盒(上海长征医学有限公司北京化工厂), 甘油三脂试剂盒(北京中生生物工程有限公司), 低密度脂蛋白胆固醇药盒(上海长征医学有限公司北京化工厂)。

2 方法

2.1 实验A组 雄性大鼠60只,尾尖采血、称重、按体重和血脂水平分层随机分为6组,空白对照组、高脂病理模型组、阳性对照组(脂必妥)、益气活血方大、中、小剂量组,除空白组,各组每天灌以高脂饲料(胆固醇2%,猪油10%,丙基硫氧嘧啶0.2%、吐温-80.2%加防腐剂,按乳剂制备法加水作成乳剂)一周后,益气活血药组同时以 $12.8\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $6.40\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $4.30\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 三个剂量灌胃给药,阳性药组以 $0.3\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 剂量灌以脂必妥。6周后停食,戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉采血,摘取肝脏,用酶法^[1]测血清中TC(血清总胆固醇)、TG(血清甘油三脂)、HDL-C(高密度脂蛋白)、LDL-C(低密度脂蛋白),用TBA比色法测定肝组织MDA,用MVIS-2010全自动血液流变分析仪测定血液流变学的各项指标。

2.2 实验B组 取健康大鼠60只,按异丙醇抽提法测定血清的总胆固醇(TC)、甘油三脂(TG)值,按大鼠体重TC、TG、分层随机分为4组,对照组、病理模型组、益气活血方大、小剂量组。除对照组外,其余三组每天灌以高脂饲料1.0ml/只,两个给药组同时分别灌以益气活血方药 $10\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,正常组给予等容水。给药6周后禁食,戊巴比妥钠麻醉后腹主动脉采血,分离血清,用Griss法^[2]测定血清中NO的含量。

3 实验结果

3.1 益气活血方对高脂模型大鼠血脂的影响 实验A组动物体重均有增长。除正常组外,各组动物程度不同的发生了高脂血症病理改变,外观表现为

鼠毛蓬松、暗淡无泽,各组均有死亡,以病理组为重。各组鼠的血脂均逐渐升高,高脂模型组与空白组比较,差异非常显著($P < 0.001$),提示高脂模型成立。各给药组的动物血脂与高脂模型动物组的比较TC、TG、LDL-C均有不同的降低,而HDL-C有不同程度的升高。提示益气活血方有明显地降低血脂和调节蛋白的作用。(见表1)

表1 益气活血方对实验性高脂血症大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	TC	TG	LDL-C	HDL-C	TC/HDL-C
空白组	6	1.14 ± 0.22	0.67 ± 0.05	0.24 ± 0.21	1.25 ± 0.24	0.89 ± 0.11
模型组	9	8.17 ± 1.30 ^Δ	2.27 ± 0.14 ^Δ	7.46 ± 1.10 ^Δ	1.48 ± 0.39 ^Δ	6.21 ± 1.10 ^Δ
阳性药组	8	5.58 ± 0.52 ^{**}	2.01 ± 0.05 ^{**}	5.51 ± 0.37 ^{**}	1.10 ± 0.32 ^{**}	4.72 ± 0.96 ^{**}
大剂量组	8	6.48 ± 1.53 ^{***}	1.88 ± 0.44 ^{**}	5.38 ± 1.34 ^{**}	1.31 ± 0.29 ^{**}	4.89 ± 1.90 ^{**}
中剂量组	8	6.14 ± 1.14 ^{***}	1.96 ± 0.36 ^{**}	5.77 ± 1.03 ^{**}	1.03 ± 0.28 [*]	4.74 ± 1.29 ^{**}
小剂量组	8	6.14 ± 1.10 ^{***}	2.09 ± 0.08 ^{**}	5.92 ± 1.12 ^{**}	1.21 ± 0.29 ^{**}	4.49 ± 0.36 ^{***}

与空白组相比较^Δ $P < 0.001$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$ (下同)

3.2 益气活血方对实验性高脂血症大鼠血液流变学的影响 实验性高脂血症动物在血脂升高后,血液流变性也有显著的变化,全血粘度和血浆粘度均明显升高,与空白组比较 $P < 0.05$,同时红细胞聚集性增大,引起红细胞沉降速度加快($P < 0.01$),纤维蛋白原增高($P < 0.05$),动物的血液处于高粘、高聚状态。各给药与高脂模型组比较,各指标均有显著的降低,证明益气活血方有明显改善实验性高脂血症大鼠血液流变学的作用。(见表2)

表2 益气活血方对实验性高脂血症大鼠血液流变学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	全血粘度(比)(mpa·s)		血浆粘度(比)(mpa·s)	红细胞压积(%)	血沉(mm/h)	纤维蛋白原(g/l)
		高切(200s ⁻¹)	低切(3s ⁻¹)	(mpa·s)			
空白组	6	4.73 ± 1.05	8.24 ± 1.91	0.84 ± 0.06	47.83 ± 4.58	3.33 ± 2.66	4.00 ± 1.51
模型组	9	6.90 ± 0.96 ^{ΔΔ}	13.38 ± 2.00 ^Δ	1.00 ± 0.06 ^Δ	53.25 ± 7.9 ^{ΔΔ}	9.25 ± 3.92 ^{ΔΔ}	5.64 ± 1.39 ^Δ
阳性药组	8	5.32 ± 2.00 [*]	12.05 ± 4.34 [*]	0.87 ± 0.056 ^{**}	42.13 ± 2.69 ^{**}	1.50 ± 2.00 ^{***}	3.88 ± 1.56 ^{**}
大剂量组	8	4.81 ± 1.83 ^{**}	9.61 ± 3.10 ^{**}	0.93 ± 0.085 [*]	43.28 ± 2.75 ^{**}	6.28 ± 2.10 ^{**}	3.39 ± 1.54 ^{**}
中剂量组	8	4.31 ± 0.35 ^{**}	8.24 ± 0.74 ^{***}	0.91 ± 0.053 [*]	42.50 ± 2.39 ^{**}	1.38 ± 0.52 ^{***}	3.41 ± 0.85 ^{**}
小剂量组	8	4.14 ± 0.93 ^{**}	8.04 ± 1.38 ^{***}	0.88 ± 0.05 [*]	44.37 ± 4.34 ^{**}	4.12 ± 2.41 ^{***}	3.60 ± 1.20 ^{**}

3.3 益气活血方对实验性高脂血症大鼠脂质过氧化的影响 在高脂血症病理改变的同时各组动物脂质过氧化反应也升高,测定其肝中分解产物MDA较正常组明显升高,而各组药组则有降低作用($P < 0.05$)。(见表3)

3.4 益气活血方对实验性高脂血症大鼠血清中NO含

量的影响 实验B组 实验期间,动物有死亡。除正常组外,各组动物程度不同地发生了高脂血症病理改变,外观上表现为鼠毛蓬松,暗淡无光泽,自主活动减少,病理组大鼠血脂升高最为明显,与正常组比较 $P < 0.01$ 。病理组的一氧化氮含量最低,给药组一氧化氮含量接近正常组,证明益气活血方能升

高实验性高脂血症大鼠血清中一氧化氮的水平。
(见表4)

表3 益气活血方对实验性高脂血症大鼠肝中
过氧化脂质的影响($\bar{x} \pm s$, n mol/g 组织)

组别	n	肝MDA的含量
正常组	6	2335.20 ± 600
高脂血症模型组	9	2715.00 ± 314 ^Δ
阳性药组	8	2379.00 ± 266 [*]
大剂量组	8	2334.00 ± 290 [*]
中剂量组	8	2127.20 ± 264 ^{**}
小剂量组	8	2193.00 ± 397 ^{**}

表4 益气活血方对实验性高脂血症大鼠血清中
NO含量的影响($\bar{x} \pm s$, mmol/ml)

组别	n	NO
正常组	6	0.75 ± 0.48
病理组	9	0.34 ± 0.16 ^Δ
大剂量组	8	1.08 ± 0.47 ^{**}
小剂量组	8	1.17 ± 0.33 ^{**}

4 讨论

高脂血症是动脉粥样硬化(AS)发生、发展的主要危险因素,而高脂血症和动脉粥样硬化又可导致多种心脑血管疾病。中医理论认为气血是一切脏腑活动的物质基础。“气行则血行,气虚则血瘀”,“气血不和,百病乃生”。高脂、高凝、血液流变学异常,动脉粥样硬化是以气滞血瘀为特征的病理变化。所以气滞血瘀是导致高脂血症和动脉粥样硬化的主要病理基础。现代医学认为,调节脂质及脂蛋白代谢和改善血液流变性,减少对内皮细胞的损伤,在预防和治疗高脂血症,预防AS会起到积极的作用。根据以上理论,选用益气、补肾、活血的中药组成益气活血方,本实验结果表明,益气活血方可调节脂代谢,降低实验性高脂血症大鼠的TC、TG水平;调节脂蛋白,降低LDL-C的水平,升高HDL-C的水平;改善血液流变学,显著地降低了高切、低切速下的全血粘度,血浆粘度,降低红细胞压积和纤维蛋白原含量。表2中小剂量组全血粘度比、中剂量组和大剂量组低可能是由于测试时间造成的误差或者小剂量组才是最佳剂量,以后研究将进一步证实。益气活血方抑制了因血脂升高和脂代谢紊乱引起的一系列血液流变学的改变,使血液处于低浓、低粘、低聚、低凝状态,这样就有效地防止了高脂血症的发展,同时也预防AS的发生。

现代医学认为,机体内皮细胞损伤和血管平滑

肌增殖是高脂血症和AS的病理基础。内皮细胞损伤与活性氧、一氧化氮(NO)有密切的关系^[3,4]。NO是内皮细胞合成分泌的,由L-精氨酸在NO合成酶的催化下转化而来的。它除具有舒张血管,抑制血管平滑肌增殖外,还有抗氧化损伤,抗血小板聚集和抑制单核-巨噬细胞浸润等作用。高脂血症能增加动脉壁细胞内自由基释放系统的活性,使活性氧与NO结合使其活性迅速丧失,并导致大量低密度脂蛋白被氧化,而氧化型低密度脂蛋白可被巨噬细胞上清道夫受体识别吞噬,造成巨噬细胞大量累积形成泡沫细胞甚至死亡崩解成粥样硬化病变。另一方面,高脂血症又可直接损伤动脉壁的抗氧化机能,所以高脂血症对血管内皮的损伤是通过氧化损伤机制产生的^[5]。本实验表明,给予益气活血方药的各组,肝MDA水平明显低于模型对照组。故认为益气活血方通过抗氧化作用而防止了内皮细胞的损伤,从而起到抗高脂血症的作用。现已证明,机体内存在一种调节NO合成的内源性机制,单甲基精氨酸、二甲基精氨酸(DMA)能抑制NO合成酶,从而阻止了NO的合成。大量的研究证实:高脂血症患者血液中的DMA显著高于健康者。而高脂饲养致AS家兔血MDA含量升高,DMA含量也升高^[6]。本实验发现高脂血症模型对照组的NO水平明显低于给药组。综上所述,我们推论益气活血方通过抑制脂质过氧化反应而抑制内源性DMA含量增高,促使NO合成增高,从而防治高脂血症。

参考文献:

- [1] 梁进权. 调血脂及抗AS中药药效方法学的研究[J]. 中药新药与临床药理, 1996, 7(4): 20.
- [2] 李思民, 许丽艳, 齐辛, 等. 分光光度法检测血清中NO的含量[J]. 白求恩医科大学学报, 1996, 2(1): 103.
- [3] 庞战军. 活性氧、一氧化氮与氧化型低密度脂蛋白[J]. 中国动脉硬化杂志, 1996, 12: 15; 4(4): 300-303.
- [4] 熊燕, 李元健. 一氧化氮与动脉粥样硬化[J]. 中国药理学通报, 1996, 12(5): 389-391.
- [5] Keaney JF, Jr Vita JA. Atherosclerosis, oxidative stress, and antioxidant protection[J]. Progr cardiovasc Dis, 1995, 38: 129-148.
- [6] Xiong Y, Li YJ, YUXJ et al Endogenous inhibitors of nitric oxide synthesis and Lipid peroxidation in hypercholesterolemic rabbit[J]. Acta pharmacologica Sinica, 1996, 17(2): 149-152.