

林氏降脂方对高脂血症模型大鼠的降脂与肝保护作用[△]

张艳霞^{1,2*}, 苏奋翔³, 方耀武³, 李明淑³, 陈绍仪⁴, 安方玉⁵(1.甘肃中医学院科研实验中心,兰州 730000;2.甘肃省中药药理与毒理学重点实验室,兰州 730000;3.甘肃省中医院白银分院,甘肃白银 730900;4.白银市第二人民医院,甘肃白银 730900;5.甘肃中医学院教学实验中心,兰州 730000)

中图分类号 R282.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)10-1336-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.10.13

摘要 目的:研究林氏降脂方对高脂血症模型大鼠的降脂与肝保护作用。方法:取雄性SD大鼠随机分为正常对照(等容蒸馏水)组、模型(等容蒸馏水)组、阳性对照(脂脉康胶囊0.4 g/kg)组和林氏降脂方高、中、低剂量[12.962、6.481、3.241 g(生药)/kg]组,每组10只。正常对照组大鼠普通饲料喂养,其余各组大鼠高脂乳剂联合高脂饲料喂养以复制高脂血症模型;复制模型的同时ig给予相应药物,每日1次,连续6周。末次给药后,处死各组大鼠,检测其血清总胆固醇(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)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平,并观察其病理变化。结果:与正常对照组比较,模型组大鼠的TC、TG、LDL-C、ALT、AST水平均升高,HDL-C含量减少,差异具有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,阳性对照组和林氏降脂方高剂量组大鼠的TC、TG、LDL-C、ALT、AST水平均降低,HDL-C含量增加;林氏降脂方中、低剂量组大鼠的TC、TG含量减少,HDL-C含量增加;林氏降脂方中剂量组大鼠的AST活性减弱,以上差异均具有统计学意义($P<0.01$)。病理切片显示,模型组大鼠肝细胞弥散浊肿、重度脂肪变性,林氏降脂方中、低剂量组大鼠轻度脂肪变性,林氏降脂方高剂量组和阳性对照组大鼠肝细胞基本正常。结论:林氏降脂方对高脂血症模型大鼠具有降脂作用,并能改善肝脏脂肪变性。

关键词 林氏降脂方;高脂血症;大鼠;血脂;脂肪变性

Lipid-lowering and Liver Protection Effects of Lin's Jiangzhifang on Model Rats with Hyperlipidemia

ZHANG Yan-xia^{1,2}, SU Fen-xiang³, FANG Yao-wu³, LI Ming-shu³, CHEN Shao-yi⁴, AN Fang-yu⁵(1. Research and Test Center, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu Province Key Laboratory of Pharmacology and Toxicology of TCM, Lanzhou 730000, China; 3. Baiyin Branch of Gansu Provincial Hospital of TCM, Gansu Baiyin 730900, China; 4. The Second People's Hospital of Baiyin City, Gansu Baiyin 730900, China; 5. Teaching Experimental Center, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the lipid-lowering and liver protection effects of Lin's Jiangzhifang on model rats with hyperlipidemia. METHODS: Male SD rats were randomly divided into normal control group (isovolumic distilled water), model group (isovolumic distilled water), positive control group (Zhimaikang capsules 0.4 g/kg) and the groups of high-dose, medium-dose and low-doses [12.962, 6.481 and 3.241 g (medicinal materials)/kg] of Lin's Jiangzhifang, with 10 rats in each group. The rats in the normal control group were fed normal diets, while those in other groups were fed high-fat emulsions combined with high-fat diets to establish hyperlipidemic models; meanwhile, they were ig given corresponding drugs for 6 consecutive weeks, once a day. After the last administration, all rats were sacrificed to determine the total serum cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), aspartate transaminase (AST) and glutamic transaminase (ALT) levels; the pathological changes were observed. RESULTS: Compared with normal control group, the levels of TC, TG, LDL-C, ALT and AST in model group were increased and content of HDL-C was decreased, with significant difference ($P<0.01$). Compared with model group, the levels of TC, TG, LDL-C, ALT and AST in positive control group and Lin's Jiangzhifang high-dose group were decreased and content of HDL-C was increased, with significant difference ($P<0.01$). Contents of TC, TG in Lin's Jiangzhifang medium-dose and low-dose groups were decreased and content of HDL-C was increased, activities of AST in Lin's Jiangzhifang medium-dose group was decreased, with significant difference ($P<0.01$). The pathological sections showed diffuse cloudy swelling and severe fatty degeneration of the hepatocytes of rats in the model group; mild fatty degeneration of the hepatocytes in Lin's Jiangzhifang medium-dose and low-dose groups; hepatocytes were basically normal in Lin's Jiangzhifang high-dose group and positive control group. CONCLUSIONS: Lin's Jiangzhifang has a lipid-lowering effect on the rats with hyperlipidemia and can relieve fatty degeneration of their hepatocytes.

KEYWORDS Lin's Jiangzhifang; Hyperlipidemia; Rats; Blood lipid; Fatty degeneration

[△] 基金项目:甘肃省中医药管理局科研项目(No.GZK-2013-70)

* 讲师。研究方向:中药药理学。电话:0931-8765468。E-mail: yx.hope1981@163.com

林氏降脂方,是甘肃中医学院林维启教授二十多年临床的经验方,由草决明、生山楂、绿豆、杭菊组成,每天给药2次,每次10g,分别于早晚餐前30min服用。在多年的临床实践

中,林维启教授采用林氏降脂方汤剂治疗高血脂症,疗效显著。苏奋翔等^[1]观察林氏降脂方治疗133例高血脂症患者的血脂改变和临床疗效,发现林氏降脂方治疗高脂血症的有效率达到96.24%。本研究通过高脂饮食建立实验性高脂血症大鼠模型,探讨林氏降脂方对高脂血症模型大鼠血脂水平及肝功能的影响,为其防治高脂血症及相关疾病提供实验依据,以便为其下一步申报院内制剂奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

ALCYON 300全自动生化分析仪(美国Abbott公司);X3R型高速冷冻离心机(美国Heraeus公司,离心半径:5 cm);SP-2000型图文报告分析系统、R-136型切片机、TC-120S型智能程控生物组织自动脱水机均为湖北泰维科技实业有限公司产品。

1.2 药品与试剂

林氏降脂方(草决明30 g,生山楂30 g,绿豆30 g,杭菊10 g)由甘肃省中医院白银分院药剂科提供;脂脉康胶囊(长春新安药业有限公司,批号:20120305,规格:每粒0.3 g,用前用蒸馏水配制成质量浓度为0.04 g/ml的混悬液);甲基硫氧嘧啶片(葵花药业集团,批号:20130614,规格:每片0.1 g)。1,2-丙二醇(批号:20130720,分析纯)、聚山梨酯80(批号:20130502,分析纯)均购自烟台市双双化工有限公司;胆固醇(上海如吉生物科技发展有限公司,批号:20130812,纯度:>98.0%);猪胆盐(上海如吉生物科技发展有限公司,批号:20130608,含量:>98.0%);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)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)及丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒均购自宁波瑞源生物科技有限公司。

1.3 动物

SPF级SD大鼠60只,♂,体质量170~210 g,购自甘肃中医药大学实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(甘)2011-0001,实验动物使用许可证号:SYXK(甘)2011-0001。

2 方法

2.1 给药剂量的选择

由甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室按照林氏降脂方药材比例制备1.296 2、0.648 1、0.324 1 g(生药)/ml的药液,分别作为本实验林氏降脂方的高、中、低给药剂量。

2.2 分组与复制模型

取大鼠,适应性喂养7 d,随机分为正常对照(等容蒸馏水)组、模型(等容蒸馏水)组、阳性对照(脂脉康胶囊0.4 g/kg)组和林氏降脂方高、中、低剂量[12.962、6.481、3.241 g(生药)/kg]组,每组10只。正常对照组大鼠普通饲料喂养;其余各组大鼠高脂饲料(配方为:胆固醇1%,猪胆盐0.3%,甲基硫氧嘧啶0.2%,蔗糖5%,猪油10.5%,蛋黄粉8%,基础饲料75%)喂养,并且ig给予高脂乳剂(参考文献[2]方法制备),0.1 ml/kg,每3日1次,连续6周。实验结束,根据模型组大鼠血液学指标判断复制模型成功。

2.3 给药

复制模型的同时ig给予相应药物,0.1 ml/kg,每日1次,连续6周。

2.4 血清指标检测

末次给药后,各组大鼠禁食不禁水12 h,以戊巴比妥钠麻

醉,股动脉采血5 ml,以离心半径为5 cm、3 000 r/min离心10 min,分离血清,用全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中TC、TG、LDL-C、HDL-C、ALT、AST水平。

2.5 肝脏病理指标检测

处死各组大鼠,取出肝脏,用4%的甲醛溶液固定,石蜡包埋,切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察肝脏病理变化。

2.6 统计学方法

用SPSS 13.0统计软件进行数据分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 林氏降脂方对大鼠血脂的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠的TC、TG、LDL-C含量增加,HDL-C含量减少,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性对照组和林氏降脂方高剂量组大鼠的TC、TG、LDL-C含量均减少,HDL-C含量增加;林氏降脂方低、中剂量组大鼠的TC、TG含量均减少,HDL-C含量增加,差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。这表明林氏降脂方可改善高脂血症模型大鼠的血脂异常。各组大鼠的血脂变化见表1。

表1 各组大鼠的血脂变化($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Changes of blood lipid of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/kg	TC,mmol/L	TG,mmol/L	LDL-C,mmol/L	HDL-C,mmol/L
正常对照组		1.593±0.127	0.546±0.074	0.444±0.051	1.486±0.094
模型组		5.336±0.207*	0.940±0.025*	2.742±0.579*	0.631±0.088*
阳性对照组	0.4	4.610±0.355*	0.880±0.014*	1.837±0.201*	1.454±0.032*
林氏降脂方低剂量组	3.241	4.855±0.486*	0.879±0.019*	2.276±0.681	1.229±0.106*
林氏降脂方中剂量组	6.481	4.365±0.204*	0.737±0.011*	2.179±0.313	1.466±0.166*
林氏降脂方高剂量组	12.962	3.925±0.108*	0.621±0.094*	1.378±0.046*	1.488±0.094*

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.01$; vs. model group, * $P < 0.01$

3.2 林氏降脂方对大鼠血清中ALT、AST活性的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清中ALT、AST活性均增强,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,林氏降脂方高剂量组和阳性对照组大鼠血清中ALT、AST活性均减弱,林氏降脂方中剂量组大鼠血清中AST活性减弱,差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。各组大鼠血清中ALT、AST活性变化见表2。

表2 各组大鼠血清中ALT、AST活性变化($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Changes of the activities of ALT and AST in the serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,g/kg	ALT,U/L	AST,U/L
正常对照组		66.3±2.1	139.4±21.5
模型组		118.4±27.3*	241.0±22.6*
阳性对照组	0.4	83.0±2.6*	197.4±30.6*
林氏降脂方低剂量组	3.241	118.0±32.5	234.0±21.1
林氏降脂方中剂量组	6.481	117.3±11.9	215.0±22.6*
林氏降脂方高剂量组	12.962	76.8±4.2*	171.8±3.1*

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.01$; vs. model group, * $P < 0.01$

3.3 林氏降脂方对大鼠肝脏的影响

正常对照组大鼠肝脏外观呈红褐色;病理切片显示,肝细

胞呈条索状排列,汇管区胆管、静脉未见异常。模型组大鼠肝脏外观色泽泛黄、肿大,病理切片显示,肝细胞弥漫性浊肿、重度脂肪变性;林氏降脂方中、低剂量组大鼠脂肪变细胞明显减少,轻度脂肪变性;林氏降脂方高剂量组和阳性对照组大鼠的肝细胞基本正常。各组大鼠的肝细胞病理变化图片见图1。

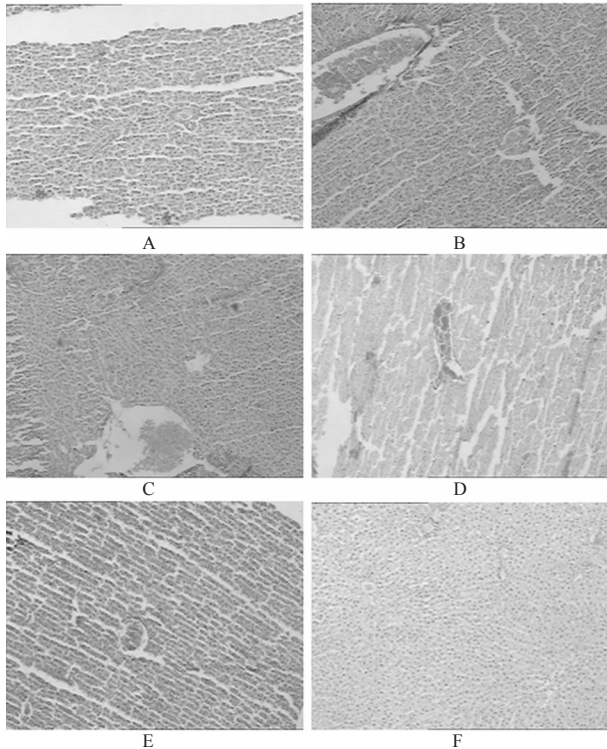


图1 各组大鼠的肝细胞病理变化图片(HE,×400)

A.正常对照组;B.模型组;C.阳性对照组;D.林氏降脂方高剂量组;E.林氏降脂方中剂量组;F.林氏降脂方低剂量组

Fig 1 Pathological change pictures of hepatocytes of rats in each group (HE,×400)

A. normal control group; B. model group; C. positive control group; D. Lin's Jiangzhifang high-dose group; E. Lin's Jiangzhifang medium-dose group; F. Lin's Jiangzhifang low-dose group

4 讨论

高脂血症是指机体中脂质代谢异常、血液中脂质的一种或多种成分的浓度超过正常高限的病症^[3]。高脂血症可使血液处于高凝及高黏状态,可使全身动脉粥样硬化,从而导致冠心病、心梗、脑血栓的发生和发展^[4-6]。在高脂血症状态下,机体脂质代谢紊乱,进入肝脏代谢的脂质和肝脏合成TG含量升高;当超过肝细胞转运能力时,则会出现脂质在肝脏内的蓄积,导致肝损伤的发生^[7-9]。

中医将本病归属于“痰湿”“血瘀”范畴,属本虚标实之证。其病因为饮食不当或年高脏衰或他疾引发,导致肝脾肾三脏失常或使脂质不能正常运转或多余脂质排泄不及,成为浊脂,阻于脉道,气血运行不畅,机体脏器失养。本病的中医治疗宜健脾化痰、清肝泻火、活血化瘀、消食通腑为法。林氏降脂方中生山楂可健脾消食化痰,尤能化除油腻肉积;草决明清肝泻火;杭菊清肝泻火明目;绿豆在《本草求真》曰:“味甘性寒,有言能厚肠胃、润皮肤、和五脏及资脾胃……”纵观各家本草,对绿豆清热祛暑解毒药用功效都极为推崇。诸药合用,可清肝柔肝、健运中焦、活血化瘀、消痰利浊。现代医学研究也

认为,草决明富含蒽醌类化合物大黄素和大黄酚,具有明显降血脂作用,能抑制血清TC含量的升高^[10];生山楂具有调节血脂、降低胆固醇、扩张血管及降低血压的药效作用^[11-12];绿豆中含有的植物甾醇结构与胆固醇相似,可与胆固醇竞争酯化酶,使之不能酯化而减少肠道对胆固醇的吸收,并可通过促进胆固醇异化和(或)在肝脏内阻止胆固醇的生物合成等途径使血清TC含量降低^[13];杭菊具有降低TC、TG的作用^[14]。

本实验通过喂养高脂饲料联合ig给予高脂乳剂复制大鼠高脂血症模型,模型大鼠血清中TC、TG、LDL-C含量明显增加,HDL-C含量明显减少,高脂血症模型成功复制。同时,高脂血症模型大鼠肝组织出现脂肪变性,血清中AST和ALT活性增强,表明脂质蓄积,大鼠肝功能受到损伤。在复制模型的同时ig给予林氏降脂方可明显降低TC、LDL-C、AST、ALT水平,增加HDL-C含量,说明林氏降脂方对高脂血症模型大鼠有降脂作用,并且对脂质代谢紊乱造成的肝损伤有一定的改善作用,值得进一步研究开发。

参考文献

- [1] 苏奋翔,秦建梅.林氏降脂散治疗高脂血症133例疗效观察[J].西部中医药,2012,25(12):69.
- [2] 倪鸿昌,李俊,金涌,等.大鼠实验性高脂血症和高脂血症性脂肪肝模型研究[J].中国药理学通报,2004,20(6):703.
- [3] 张天娥,陈朝勇,李少华,等.手参对高脂血症大鼠血脂及肝功能的影响[J].时珍国医国药,2013,24(4):865.
- [4] 万程彬.高脂血症与血液流变学检测的相关性探讨[J].青岛医药卫生,2009,41(5):337.
- [5] 雷宇春,李艺萍.高脂血症患者血液流变学指标分析[J].人民军医,2007,50(5):276.
- [6] 王敏,王旻,赵蜀琼.老年高脂血症患者血液流变学指标的改变[J].中国血液流变学杂志,2000,10(3):156.
- [7] Westerbacka J, Lammi K, Hakkinen AM, et al. Dietary fat content modifies liver fat in overweight nondiabetic subjects[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(5): 2 804.
- [8] Tilg H, Moschen AR. Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2008, 19(10): 371.
- [9] Cong WN, Tao RY, Tian JY, et al. The establishment of a novel non-alcoholic steatohepatitis model accompanied with obesity and insulin resistance in mice[J]. *Life Sci*, 2008, 82(19): 983.
- [10] 唐瑛,唐忠志,杨李,等.消脂饮对大鼠实验性高脂血症防治作用的研究[J].华南国防医学杂志,2004,18(1):13.
- [11] 沈映君.中药药理学[M].北京:人民卫生出版社,2000:661-674.
- [12] 刘文全,商红叶.辨证与辨病结合治疗非酒精性单纯性脂肪肝133例疗效观察[J].新中医,2005,37(9):43.
- [13] 文镜,樊蓉.植物甾醇和植物甾醇降胆固醇的功效和安全性[J].食品科学,2005,26(8):437.
- [14] 孙勇莉.降脂汤治疗高脂血症52例临床研究[J].河南中医学院学报,2003,18(4):47.

(收稿日期:2014-12-29 修回日期:2015-01-19)

(编辑:邹丽娟)