

• 论著 •

益气活血解毒汤对实验性动脉粥样硬化家兔 炎症细胞因子和血脂的影响

葛 岚,程晓昱,胡业彬

(安徽中医学院第一附属医院,安徽 合肥 230031)

【摘要】 目的:观察中药复方益气活血解毒汤对实验性动脉粥样硬化(AS)家兔血脂及炎症细胞因子水平的影响,探讨该方防治 AS 的机制。方法:将 24 只日本雄性大耳白兔随机分为正常对照组、模型组、益气活血解毒汤组和辛伐他汀组,每组 6 只。采用高脂饲料喂饲建立兔 AS 模型,其中益气活血解毒汤组及辛伐他汀组在制模的同时分别给药,而正常对照组和模型组以等量蒸馏水灌胃。10 周后测定各组空腹血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量。结果:模型组 TG、TC、LDL-C、CRP、IL-6 及 TNF- α 均较正常对照组有不同程度的升高,HDL-C 明显下降,差异均有显著性(P 均 <0.01)。益气活血解毒汤组及辛伐他汀组 TG、TC、LDL-C、CRP、IL-6 及 TNF- α 均明显低于模型组,HDL-C 则明显升高,差异均有显著性(P 均 <0.01),而与正常对照组比较差异无显著性(P 均 >0.05)。益气活血解毒汤组 HDL-C 较辛伐他汀组有所升高,差异有显著性($P<0.05$)。结论:益气活血解毒汤对 AS 有明显的预防和治疗作用;调节血脂和降低炎症细胞因子水平可能是其作用机制之一。

【关键词】 动脉粥样硬化;益气活血解毒汤;血脂;C-反应蛋白;白细胞介素-6;肿瘤坏死因子- α ;兔
中图分类号:R285.5;R543.5 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2007)05-0306-03

Effects of Yiqihuoxuejiedu decoction (益气活血解毒汤) on C-reactive protein, interleukin-6, tumor necrosis factor and serum lipid in experimental rabbits with atherosclerosis GE Lan, CHENG Xiao-yu, HU Ye-bin. Department of Medicine, First Hospital Affiliated to Anhui College of Traditional Chinese Medicine. Hefei 230031, Anhui, China

【Abstract】 Objective: To observe the influence of Yiqihuoxuejiedu decoction (益气活血解毒汤) on levels of serum lipid, C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in rabbits with atherosclerosis (AS) and investigate its mechanism. **Methods:** Twenty-four Japanese white rabbits with large ears were randomly divided into four groups: normal control group, model group, Yiqihuoxuejiedu decoction group and simvastatin group (each $n=6$). The model of AS was established by feeding the fodder containing cholesterol, the drugs were administered along with the replication of the model in Yiqihuoxuejiedu decoction group and simvastatin group, and equal quantity of distilled water was administered via an intragastric route in the former two groups. After 10 weeks, the concentrations of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), CRP, IL-6 and TNF- α of each group were measured. **Results:** Compared with the normal control group, the levels of TG, TC, HDL-C, CRP, IL-6 and TNF- α of model group increased in various degrees, while HDL-C decreased, the differences being significant (all $P<0.01$). Compared with the model group, the concentrations of TG, TC, LDL-C, CRP, IL-6 and TNF- α of Yiqihuoxuejiedu decoction group and simvastatin group decreased obviously, while HDL-C increased obviously, the differences being significant (all $P<0.01$). But the results of the above two groups had no significant differences in comparison with those of the control group (all $P>0.05$). Compared with the simvastatin group, there was statistical significant difference of the increased level of HDL-C in Yiqihuoxuejiedu decoction group ($P<0.05$). **Conclusion:** Yiqihuoxuejiedu decoction is a potential drug in treating and preventing atherosclerosis. Probably one of the mechanisms of Yiqihuoxuejiedu decoction depends mostly on regulating the serum lipid and decreasing the inflammatory factors, such as CRP, IL-6 and TNF- α .

【Key words】 atherosclerosis; Yiqihuoxuejiedu - decoction; serum lipid; C-reactive protein; interleukin-6; tumor necrosis factor- α ; rabbit

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心血管系统中最常见的一种病理过程,是各类缺血性疾病防治的基础,AS的病因多样,发病机制非常复杂。1999年 Ross 在内皮损伤反应学说基础上明确提出,AS是一种炎症性疾病^[1],这种观点现已逐渐为人们所接受。许多资料表明,血脂异常可导致血管内皮细胞损伤,炎性细胞释放大量炎症介质,促进 AS 的发生发展。本实验通过高脂饲料复制家兔 AS 模型,观察中药复方益气活血解毒汤对 AS 家兔血脂及炎症细胞因子水平的影响,探讨其抗 AS 的作用机制。

1 材料与方

1.1 动物:选择健康日本雄性大耳白兔 24 只,体重(2.0±0.2)kg,6 月龄,购自安徽医科大学实验动物中心。

1.2 药物:益气活血解毒汤,方由连翘 10 g,黄芩 10 g,牡丹皮 10 g,丹参 10 g,水蛭 3 g,人参 5 g 组成(由安徽省中医院煎药室每付药制成真空包装 200 ml 的煎剂);辛伐他汀,每片 20 mg,由杭州默沙东公司提供(批准文号:国药准字 J20040032)。

1.3 主要试剂:血脂检测试剂盒由北京市福瑞生物工程公司提供;C-反应蛋白(CRP)试剂盒由美国 R&D 公司提供;白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)检测试剂盒由解放军总医院科技开发中心放免研究所提供;胆固醇由国药集团提供(批号:060123)。

1.4 主要仪器:北京辉瑞公司生产的酶标仪(波长 492 nm);Agilent 8453 紫外可见分光光度计;上海手术器械厂提供的 80-2 离心沉淀器;郑州长城科工贸有限公司提供的 HH-S 水浴锅;自动 γ 计数器。

1.5 动物模型制备与分组:动物在适应性喂养 7 d 后,按随机数字表法均分为正常对照组、模型组、益气活血解毒汤组、辛伐他汀组,每组 6 只。按文献^[2]报道的方法喂饲含体积分数为 1% 的胆固醇、5% 猪油、94% 基础饲料复制 AS 动物模型,复制期为 10 周。正常对照组饲普通标准饲料;模型组喂饲高脂饲料,每只给予 50 g/d。益气活血解毒汤组在模型组喂饲高脂饲料基础上,每只兔按人和动物间体表面积折算的等效剂量比值再灌胃益气活血解毒汤 30 ml·kg⁻¹·d⁻¹(生药 4 g·kg⁻¹·d⁻¹);辛伐他汀组每只兔灌胃辛伐他汀药液 30 ml·kg⁻¹·d⁻¹(即 1.7 mg·kg⁻¹·d⁻¹,用辛伐他汀 1.7 mg 溶于 30 ml 生理盐水)。正常对照组和模型组以等量蒸馏

水灌胃;模型组及两个治疗组均每日食完高脂饲料后再补足基础饲料。每只动物的饲料量一般限制在 135~150 g/d,分笼饲养,自由饮水。

1.6 观察指标及检测方法:实验满 10 周后停药,禁食 12 h。用质量分数为 10% 的乌拉坦耳缘静脉注射麻醉,腹主动脉插管放血约 10 ml,分离血清。采用免疫散射比浊法测定血清 CRP 含量;采用放射免疫法测定血清 IL-6、TNF- α 水平;采用酶法试剂盒,应用 Agilent 8453 紫外可见分光光度计测定总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,按 Friedewald 公式 LDL-C = TC - (1/5 × TG + HDL-C)推算出。

1.7 统计学处理:应用 SPSS11.0 统计软件。结果用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 益气活血解毒汤对血脂的影响(表 1):与正常对照组比较,模型组 TG、TC 及 LDL-C 均明显升高,HDL-C 下降,差异有显著性(*P* 均 < 0.01);益气活血解毒汤组及辛伐他汀组 TG、TC 和 LDL-C 虽也较正常对照组升高,但差异无显著性(*P* 均 > 0.05),其中益气活血解毒汤组 HDL-C 较正常对照组有所升高,但差异无显著性,而明显高于辛伐他汀组(*P* < 0.05)。与模型组比较,益气活血解毒汤组及辛伐他汀组 TG、TC 及 LDL-C 均明显降低,HDL-C 明显升高,差异有显著性(*P* 均 < 0.01)。

表 1 各组血脂水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Comparison of serum lipid level

组别	among groups($\bar{x} \pm s, n=6$)			
	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照组	1.45±0.78	0.81±0.10	0.52±0.23	0.83±0.25
模型组	15.41±6.20*	3.39±0.86*	0.22±0.05*	14.51±6.34*
益气活血解毒汤组	2.26±0.64 [△]	1.70±0.31 [△]	0.72±0.40 ^{△#}	1.33±0.62 [△]
辛伐他汀组	1.81±0.39 [△]	1.32±0.33 [△]	0.43±0.14 [△]	1.17±0.31 [△]

注:与正常对照组比较:**P* < 0.01;与模型组比较:[△]*P* < 0.01;与辛伐他汀组比较:[#]*P* < 0.05

2.2 益气活血解毒汤对 TNF- α 、IL-6 和 CRP 的影响(表 2):与正常对照组比较,模型组 TNF- α 、IL-6 和 CRP 均明显升高,差异有显著性(*P* 均 < 0.01);益气活血解毒汤组及辛伐他汀组 TNF- α 、IL-6 及 CRP 虽也较正常对照组升高,但差异无显著性(*P* 均 > 0.05)。与模型组比较,益气活血解毒汤组及辛伐他汀组 TNF- α 、IL-6 及 CRP 均有不同程度的降低,差异均有显著性(*P* 均 < 0.01);益气活

血解毒汤组 TNF- α 、IL-6 及 CRP 水平与辛伐他汀组比较差异无显著性。

表 2 各组血清 IL-6、TNF- α 和 CRP 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Comparison of IL-6, TNF- α and CRP of serum levels among groups ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	IL-6 (ng/L)	TNF- α (ng/L)	CRP (mg/L)
正常对照组	399.04 \pm 31.17	2 415.73 \pm 315.36	1.82 \pm 0.31
模型组	758.54 \pm 118.62 *	3 137.22 \pm 206.33 *	3.08 \pm 0.70 *
益气活血解毒汤组	434.33 \pm 54.62 Δ	2 744.62 \pm 352.65 Δ	2.08 \pm 0.12 Δ
辛伐他汀组	405.45 \pm 56.93 Δ	2 650.25 \pm 303.01 Δ	1.88 \pm 0.38 Δ

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

3 讨论

中医学认为络脉具有渗灌血气,互渗津血,贯通营卫的功能,络脉中气滞、血瘀、痰浊均为有形实邪,能阻碍气机,郁而化为热毒,损伤脉络,发为 AS。古代典籍中有清热解毒方药能“解毒护络”的记载。而现代医学对 AS 的研究不断深入,新的细胞因子不断被检出,炎症已成为 AS 发生发展过程中的重要因素。余蓉等^[3]研究推测,解毒活血中药具有抑制炎症的作用,从而可稳定粥样斑块,延缓 AS 的发展与恶化。朱平等^[4]研究发现,清热解毒方中的黄连、黄芩、银花、连翘等可以降低炎症因子如 TNF 等的水平,防止其对血管内皮细胞的攻击。在中医理论及现代研究的基础上,我们将益气、活血、解毒三法结合,独创益气活血解毒汤,方中以连翘、黄芩清热解毒为君药,配水蛭破血逐瘀,牡丹皮、丹参清热活血以清除体内毒瘀之邪,为臣药;人参大补元气,因正气存内,邪不可干,可助君药连翘、黄芩以驱逐毒邪;又气旺则血行,可助臣药水蛭、牡丹皮、丹参以活血化瘀,以杜绝瘀毒产生,在方中为使药。

现已公认 TC、LDL-C、极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)、TG 与 AS 发生呈正相关,HDL-C 则与 AS 呈负相关。而脂质代谢异常,在 AS 发生发展中是损伤内皮和平滑肌的主要因素。活化的内皮细胞表达黏附分子吸引炎性细胞(主要为单核细胞),当其移行至内膜下,即成为巨噬细胞,吸取脂质后,形成泡沫细胞,脂质亦随之移至内膜下并逐步形成斑块。活化的巨噬细胞释放 IL-6、TNF- α 等细胞因子和生长因子,TNF- α 可促进炎症和血栓形成,同时又可促进巨噬细胞分泌 IL-6,加重炎症反应。而 IL-6 又是刺激肝脏产生 CRP 的最主要成分之一。CRP 有直接的促炎症作用,同时又刺激单核细胞释放 IL-6、TNF- α 。可见各种炎症细胞因子相互作用可促进粥样硬化斑块形成。杨五彪等^[5]研究发现,高脂饲料诱发 AS 的兔血清中出现了血脂

代谢紊乱和 CRP 升高。胡伟航^[6]临床发现,冠心病合并高脂血症患者 CRP、TNF- α 明显高于不伴有高脂血症者,说明冠心病存在炎症反应,高脂血症可加重炎症反应。吴海云等^[7]临床研究发现,急性冠状动脉综合征患者 CRP 水平显著升高。沈晓君等^[8]临床研究也证实,AS 患者中存在血脂异常及 IL-6、TNF- α 的升高,表明血脂异常、内皮损伤、炎症反应之间存在着相互诱导、相互协同的密切关系,共同参与 AS 的发生发展过程。

本研究结果显示,用高脂饲料喂养家兔 10 周后,模型组血清 TC、TG 及 LDL-C 均明显升高,HDL-C 降低,与文献^[9]报道一致,证实制模成功。而益气活血解毒汤组和辛伐他汀组血清 TC、TG 及 LDL-C 升高与正常对照组比较差异无显著性,益气活血解毒汤组 HDL-C 升高较辛伐他汀组明显。提示益气活血解毒汤可降低 TC、TG、LDL-C,升高 HDL-C,且升高 HDL-C 比西药更有优势,从而干预 AS 的形成和发展。在本研究中还发现,模型组家兔血清 CRP、TNF- α 、IL-6 较正常对照组明显升高,而益气活血解毒汤组和辛伐他汀组血清 CRP、TNF- α 及 IL-6 与正常对照组比较差异无显著性,且两组之间亦无差异,表明益气活血解毒汤在降低炎症细胞因子水平,干预 AS 的形成和发展方面与辛伐他汀有同样优势。

参考文献:

- [1] Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease[J]. N Engl J Med, 1999, 340(2): 115-126.
- [2] 黄河清, 吴伟康, 罗汉川. 四逆汤与维生素 E 抗血管内皮功能氧化损伤及防治家兔实验性动脉粥样硬化的比较研究[J]. 中国病理生理杂志, 2001, 7(2): 154-157.
- [3] 余蓉, 叶秀琳, 何淑娟. 清热解毒活血化瘀法对急性冠脉综合征患者血清 sCD40L 的影响[J]. 中医药导报, 2006, 12(7): 12-13, 35.
- [4] 朱平, 张学霞. 清热解毒方对血管内皮细胞增殖的影响[J]. 山西中医, 2003, 19(5): 41-42.
- [5] 杨五彪, 陈群力, 马灵筠. 黄芪多糖对兔动脉粥样硬化内皮素-1、C 反应蛋白的影响[J]. 中华实用中西医结合杂志, 2005, 18(14): 317-319.
- [6] 胡伟航. 冠心病患者脂质与血浆 C-反应蛋白、肿瘤坏死因子- α 变化的关系[J]. 心脑血管病防治, 2005, 5(3): 41-42.
- [7] 吴海云, 王士雯, 朱妹, 等. 川芎嗪在急性冠状动脉综合征中抗炎作用的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11(4): 196-198.
- [8] 沈晓君, 孙婉萍, 李伟, 等. 通脉降脂对动脉粥样硬化患者血清 TNF- α 、IL-6 及 vWF 的影响[J]. 中医药学刊, 2004, 22(8): 1448-1449.
- [9] 余追, 欧阳静萍, 刘永明, 等. 当归抗家兔主动脉粥样硬化形成的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8(1): 46-48.

(收稿日期: 2007-01-02 修回日期: 2007-05-21)

(本文编辑: 李银平)