

# 冠心康对高脂血症大鼠肝脏低密度脂蛋白受体活性的影响

刘 萍, 张静生<sup>1</sup>

(上海中医药大学附属龙华医院, 上海市 200032; 1. 辽宁中医学院附属医院, 辽宁省沈阳市 110032)

[关键词] 中西医结合医学; 增强肝脏低密度脂蛋白受体活性; 免疫酶标反应; 高脂血症; 冠心康; 低密度脂蛋白受体

[摘要] 为在受体蛋白水平上探讨中药复方制剂冠心康的调脂作用机制, 将高脂血症大鼠随机分为模型组、冠心康大剂量组、中剂量组、小剂量组、西药氟伐他汀组和中药血脂康对照组以及正常大鼠对照组, 用免疫酶标反应方法观察各组大鼠肝脏冰冻切片低密度脂蛋白受体的表达。结果发现, 肝脏低密度脂蛋白受体与其配体辣根过氧化物酶标记的低密度脂蛋白反应的棕色沉淀颗粒的阳性面积百分比以模型组最少, 正常组最多; 各用药组间比较, 以冠心康中剂量组和西药氟伐他汀组效果最明显, 但二者比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。以上提示, 中剂量冠心康具有明显的增强高脂血症大鼠肝脏低密度脂蛋白受体活性的作用, 从而加快血中低密度脂蛋白的清除, 起到调控血脂水平的作用。

[中图分类号] R2-031

[文献标识码] A

低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR) 对调节体内胆固醇平衡起着关键作用, 而循环中低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 主要是通过肝脏低密度脂蛋白受体途径清除的。中药复方制剂冠心康临床用于高脂血症和冠心病的治疗取得了显著疗效<sup>[1]</sup>, 本研究就冠心康对高脂血症大鼠肝脏低密度脂蛋白受体活性的影响进行了分析, 从而探讨其治疗高脂血症和冠心病的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 药物与仪器

中药复方制剂冠心康由黄芪、栝蒌、薤白和丹参等中药组成, 由辽宁省中医研究院中药研究所提取有效成分, 按既定工艺制成膏剂。氟伐他汀 (来适可) 胶囊为瑞士诺华制药有限公司生产, 批号 X20000901; 血脂康胶囊为北京北大维信生物科技有限公司生产, 批号 20001030。Olympus-IX70 荧光倒置显微镜和低温冷冻切片机 (LTO Huntingdon 公司) 均为日本生产。

[收稿日期] 2002-07-13

[修回日期] 2003-01-20

[基金项目] 国家科技部新药基金项目 (96-901-05-222) 和辽宁省教育厅自然科学基金 (972122) 资助

[作者简介] 刘萍, 女, 1966 年出生, 辽宁省新民县人, 医学博士, 副教授, 研究方向为中医药对心脑血管系统及神经系统疑难病证的防治, 联系电话: 021-64385700-3505, E-Mail: LiuPing23@Hotmail.com。张静生, 男, 1941 年出生, 辽宁省沈阳市人, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为中医药对心脑血管系统及神经系统疑难病证的防治。

### 1.2 动物分组与处理

取 Wistar 雄性大鼠 70 只, 体重  $180 \pm 20$  g, 将大鼠随机分为 7 组, 每组 10 只。其中 6 组 (共 60 只) 每天喂饲高脂饲料 (2% 胆固醇、0.5% 胆酸盐、5% 蔗糖、10% 猪油、0.2% 丙基硫氧嘧啶和 82.3% 基础饲料) 20 g/只; 余正常组喂饲普通饲料, 共 10 天。10 天后进行以下处理: ①正常组: 等体积生理盐水灌胃 + 普通饲料; ②模型组: 等体积生理盐水灌胃 + 高脂饲料; ③冠心康大剂量组: 按每天 54 g 生药/kg 灌胃给药 + 高脂饲料; 冠心康中剂量组: 按每天 27 g 生药/kg 灌胃给药 + 高脂饲料; 冠心康小剂量组: 按每天 13.5 g 生药/kg 灌胃给药 + 高脂饲料; 中药血脂康对照组: 按每天 0.216 g/kg 血脂康灌胃给药 + 高脂饲料; ④氟伐他汀对照组: 按每天 3.6 mg/kg 氟伐他汀灌胃给药 + 高脂饲料; 观察 30 天。

### 1.3 取材与切片制备

给药 30 天后, 禁食 12 h, 自由饮水, 20% 氨基甲酸乙酯麻醉, 腹正中线切口, 取新鲜肝右叶  $0.5 \times 0.5 \times 0.5$  cm<sup>3</sup>, OCT 包埋, 制作连续冰冻切片, 厚度约为 8  $\mu$ m。

### 1.4 辣根过氧化物酶—低密度脂蛋白交联物制备

按过碘酸钠法制备辣根过氧化物酶标记的低密度脂蛋白<sup>[2,3]</sup>。

### 1.5 酶联免疫反应

将切片放入 95% 乙醇中固定 10 min; 然后每片滴加 20  $\mu$ L 0.2 g/L 辣根过氧化物酶标记的低密度脂蛋白溶液, 在湿盒内室温孵育 1 h, PBS 清洗 3 次; 滴

加 3% DAB-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 10 min 显色;然后脱水,树脂封片,自然干燥。显微镜下观察结果,用计算机图像分析系统作半定量分析,以棕色颗粒阳性面积的百分比进行各组间比较。

### 1.6 统计学处理

数据均采用均数 ± 标准差表示,组间比较采用方差分析。

## 2 结果

光镜下可见蓝色细胞核及不均匀分布的棕色颗粒,此棕色沉积颗粒即为肝脏 LDLR 与配体辣根过氧化物酶标记的 LDL 的反应物。20 倍光镜初步观察结果显示:模型组棕色沉积颗粒最少,正常组棕色沉积颗粒最多,各用药组介于二组之间。

采用计算机图像分析系统对该结果进行分析可见,模型组、冠心康大剂量组、冠心康小剂量组和血脂康组阳性面积百分比均小于冠心康中剂量组,正常组阳性面积百分比大于冠心康中剂量组 ( $P < 0.01$ ),而西药氟伐他汀组与冠心康中剂量组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

表 1. 大鼠肝脏低密度脂蛋白受体与辣根过氧化物酶标记的低密度脂蛋白结合反应情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

组 别	n	阳性面积百分比
正常组	10	42.23% ± 2.86% <sup>a</sup>
模型组	10	1.15% ± 1.87% <sup>a</sup>
冠心康大剂量组	10	13.95% ± 1.93% <sup>a</sup>
冠心康中剂量组	10	31.77% ± 5.06%
冠心康小剂量组	10	17.11% ± 1.56% <sup>a</sup>
氟伐他汀组	10	28.66% ± 5.40%
血脂康组	10	25.61% ± 3.94% <sup>a</sup>

a:  $P < 0.01$ , 与冠心康中剂量组比较。

## 3 讨论

低密度脂蛋白受体途径是血浆中胆固醇代谢的主要途径,循环中的低密度脂蛋白胆固醇主要通过肝脏低密度脂蛋白受体途径清除,因此肝脏低密度脂蛋白受体表达的高低能够决定并反映血中胆固醇的代谢水平。低密度脂蛋白胆固醇与肝细胞表面的低密度脂蛋白受体结合后被细胞内吞分解成氨基酸

和游离胆固醇。游离胆固醇可以抑制羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶的活性,以减少细胞内合成胆固醇,并激活内质网脂酶—胆固醇酰基转移酶,使游离胆固醇被酯化成胆固醇酯<sup>[4]</sup>。

本研究结果显示高脂血症模型组肝脏低密度脂蛋白受体与配体辣根过氧化物酶标记的低密度脂蛋白的反应物明显减少,而各药物组均明显升高。各用药组间比较,以冠心康中剂量组和西药氟伐他汀组效果最明显。提示高脂血症时肝脏低密度脂蛋白受体数量明显减少,活性降低,而冠心康可增加其数量,增强肝脏低密度脂蛋白受体的活性,从而保证了有较多的低密度脂蛋白受体与低密度脂蛋白胆固醇结合,起到了降血脂的作用。

同期研究表明,冠心康对肝细胞有明显保护作用;冠心康能明显增强高脂血症大鼠低密度脂蛋白受体 mRNA 基因的表达,且与增强肝脏低密度脂蛋白受体活性的作用呈平行相关关系,提示冠心康降低低密度脂蛋白胆固醇水平可能主要是由肝脏低密度脂蛋白受体转录水平决定的。

冠心康方剂中以黄芪为君药,栝楼和薤白为臣药,丹参为佐使,黄芪健脾益气,并加强丹参活血养血作用;栝楼、薤白又有通脉散结、行气导滞和祛痰降浊之功效。现代药理研究表明,黄芪、栝楼、薤白和丹参皆有明显降低血脂的作用,尤其丹参能升高实验性高胆固醇血症大鼠肝脏及人成纤维细胞低密度脂蛋白受体信使核糖核酸水平<sup>[5]</sup>。

综上所述,中药复方制剂冠心康可能通过增强肝脏低密度脂蛋白受体基因表达,继而促进低密度脂蛋白受体蛋白合成,增加了肝表面的低密度脂蛋白受体数量与活性,增强肝脏对脂类等代谢功能,从而起到了调控血脂水平的作用。

### [参考文献]

- [1] 刘萍,张静生,郑菲,富伟能,陈汝兴. 中药对低密度脂蛋白受体基因表达的影响. 中国中西医结合急救杂志, 2000, 7 (3): 141-143
- [2] 吴新伟,傅明德,刘秉文,蓝德宾. 肝细胞膜低密度脂蛋白受体酶联免疫测定法的建立. 中国动脉硬化杂志, 1997, 5 (1): 67-70
- [3] 洪英,刘秉文,傅明德. 人淋巴细胞低密度脂蛋白受体酶联免疫测定法的研究. 生物化学与生物物理进展, 1993, 20 (4): 297-300
- [4] Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science, 1986, 232 (4746): 34-47
- [5] 姜传仓,蔡海江,范乐明. 丹参对 LDL-R 及 ApoA-I mRNA 水平的影响. 南京医科大学学报, 1994, 14 (4): 522-525

(此文编辑 朱雯霞)