

[文章编号] 1007-3949(2003) 11-03-0223-04

• 实验研究 •

姜黄素对食饵性高脂血症大鼠 血浆脂蛋白代谢相关酶活性的影响

沃兴德, 崔小强, 唐利华

(浙江中医学院分子医学研究所, 浙江省杭州市 310053)

[关键词] 生物化学; 姜黄素对血浆脂蛋白代谢相关酶活性的影响; 自身基质法; 高脂血症; 卵磷脂胆固醇酰基转移酶; 脂蛋白脂酶; 肝脂酶

[摘要] 为了探讨姜黄素降血脂、抗动脉粥样硬化可能的酶学机理, 用高脂膳食喂饲 Wistar 大鼠 4 周, 造成食饵性高脂血症, 然后用高、低两种剂量的姜黄素和阳性对照药血脂康、非诺贝特进行实验性治疗。给药 3 周后处死动物, 比较治疗前后血清和肝脏总胆固醇及甘油三酯含量、血清高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量, 同时测定血浆卵磷脂胆固醇酰基转移酶、肝脂酶、脂蛋白脂酶和肝脂酶活性。结果发现, 高、低剂量姜黄素、非诺贝特和血脂康均能使血清总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇含量降低, 降甘油三酯作用高剂量姜黄素和非诺贝特最优, 降总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇作用低剂量姜黄素和血脂康最优, 高剂量姜黄素和非诺贝特能增加高密度脂蛋白胆固醇含量, 同时能降低肝脏总胆固醇和甘油三酯含量。高、低剂量姜黄素能显著提高血浆卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性, 降低血浆游离胆固醇含量, 高、低剂量姜黄素和非诺贝特能提高血浆总脂酶和脂蛋白脂酶活性, 高剂量姜黄素还能显著提高肝脂酶活性。结果提示, 姜黄素具有明显的降低肝脏和血清脂质的作用, 可能与提高血浆脂蛋白代谢相关酶的活性有关。

[中图分类号] Q5

[文献标识码] A

Effects of Curcumin on the Activities of Plasma Lipase and the Concentrations of Lipids in Hyperlipidemic Rats Induced by High Lipid Diet

WO Xing-De, CUI Xiao-Qiang, and TANG Li-Hua

(Molecular Medical Institute of Zhejiang Traditional Chinese Medical College, Hangzhou 310053, China)

[KEY WORDS] Hyperlipidemia; Lecithin Cholesterol Acyltransferase; Lipoprotein Lipase; Hepatic Lipase; Curcumin; Rats

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the possible mechanism of Curcumin's effect on decreasing plasma lipid and anti-atherosclerosis. **Methods** Wistar rats were fed with high lipid diet 4 weeks to be hyperlipidemic model and then given experimental treatment with Curcumin, XUEZHUKANG and Fenofibrate as positive control drugs. After 3 week's treatment, the levels of total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) in the serum and liver were determined. The level of serum high density lipoprotein cholesterol (HDL), the level of plasma lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) activity, and the levels of postheparin total activity (PHTA), lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (HL) activities were all measured. **Results** The three drugs can decrease the serum TG level significantly, especially the high dosage of Curcumin and Fenofibrate. They can decrease the level of serum TC and low density lipoprotein cholesterol (LDL), especially XUEZHUKANG and low dosage of Curcumin. The high dosage of Curcumin and Fenofibrate can increase the level of HDL. Curcumin and Fenofibrate can decrease the level of TC in the liver. The high dosage of Curcumin and Fenofibrate can significantly decrease the level of TG in the liver. Curcumin can increase the LCAT activity in the plasma significantly and decrease the level of free cholesterol (FC) in the plasma. Curcumin and Fenofibrate can increase the level of PHTA. The high dosage of Curcumin can increase the level of HL activity. Curcumin and Fenofibrate can increase the level of LPL activity. **Conclusion** The results indicate that Curcumin has significant effect on down-regulating serum and liver lipids. Meanwhile, it can up-regulating the level of plasma lipase activities, which may be one of the possible mechanisms of Curcumin's effect on decreasing lipid and anti-atherosclerosis.

高脂血症可以引起动脉粥样硬化(atherosclerosis, As), 进而导致心脑血管疾病。因此有效地控制

高脂血症的发生, 就可以减少心脑血管疾病。临床上常采用贝特类药和他汀类药预防和治疗高脂血症, 效果不错, 但难免有副作用。中药姜黄活血化瘀, 其提取物的主要成份姜黄素具有降血脂和抗脂质过氧化两个功能, 还能抑制平滑肌细胞增殖^[1,2]。

[收稿日期] 2002-07-28 [修回日期] 2003-04-21

[作者简介] 沃兴德, 男, 1952 年出生, 上海市人, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为脂与脂蛋白代谢和中医药降血脂抗动脉粥样硬化。E-mail: woxdcm@21cn.com。崔小强, 男, 1975 年出生, 江苏省东台市人, 硕士研究生, 研究方向为脂代谢和动脉粥样硬化。唐利华, 女, 1966 年出生, 浙江省桐乡县人, 实验师, 研究方向为脂与脂蛋白代谢和中医药降血脂抗动脉粥样硬化。

姜黄素降血脂作用可能与其影响脂代谢相关酶类的活性有关,本文通过姜黄素对脂代谢相关酶类的作用来探讨姜黄素降血脂抗动脉粥样硬化可能的酶学机理。

1 材料与方法

1.1 受试药品

姜黄醇提取物由浙江中医学院分子医学研究所制备,批号 970817,总姜黄素含量为 64.20%;血脂康由北京北大维信生物科技有限公司生产,批号 990820,每粒含洛伐他汀不少于 2.5 mg;非诺贝特由浙江嘉兴药业公司生产,批号 0000201。

1.2 食饵性高脂血症大鼠模型的建立与分组

60 只雄性 Wistar 大鼠,体重 163.3 ± 6.1 g,由中国科学院上海实验动物中心提供。饲养条件为每笼 5 只,饲养温度 23 ± 1 °C,湿度 40%~70%。适应性饲养一周后,根据体重排序分成六组:正常对照组、模型组、姜黄素高剂量组、姜黄素低剂量组、血脂康组和非诺贝特组。正常对照组给予基础饲料喂养(粳米粉 25%,豆粉 15%,鱼粉 10%,玉米粉 20%,4 号粉 25%,食盐 1%,鱼肝油 1%,其他 3%),高脂模型组和给药组喂饲高脂饲料(胆固醇 1%,猪油 10%,白糖 10%,胆酸盐 0.25%,基础饲料 78.75%),平均每鼠每天喂 20 g。4 周后造成高脂血症。在继服高脂的同时给予不同药物治疗,正常组每天 10 mL/kg 生理盐水灌胃,模型组每天 10 mL/kg 1%羧甲基纤维素灌胃,低剂量姜黄素组每天灌饲 10 mL/kg 姜黄素[即 100 mg/(kg·d) 总姜黄素,相当于人体用量的 10 倍],高剂量姜黄素组每天灌饲 10 mL/kg 姜黄素[即 200 mg/(kg·d) 总姜黄素,相当于人体用量的 20 倍],血脂康组每天灌饲 10 mL/kg 血脂康[即 400 mg/(kg·d) 血脂康,相当于人体用量的 20 倍],非诺贝特组每天灌饲 10 mL/kg 非诺贝特[即 100 mg/(kg·d) 非诺贝特,相当于人体用量的 20 倍],给药三周后处死动物,处死前三天晚上 9 时撤去饲料,处死前两天上午眼眶取血,血清用于测定 TC、TG、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC),EDTA 钠盐抗凝血浆用于测定卵磷脂胆固醇酰基转移酶(lecithin cholesterol acyltransferase, LCAT)活性和游离胆固醇(free cholesterol, FC)含量。恢复喂食并于当日晚上 9 时再次撤去饲料,第三天上午尾静脉注射肝素(312.5 u/kg),15 min 后摘除眼球取肝素化血浆,测定肝素化血浆总脂解酶(postheparin total activity, PHTA)、脂蛋白脂酶(lipoprotein

lipase, LPL)和肝脂酶(hepatic lipase, HL)活性,断颈处死大鼠,取肝脏测定肝 TC 和 TG。

1.3 测定方法

血清 TC、TG 和 HDLC 用酶法测定,试剂盒由宁波慈城生化试剂厂生产,低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)含量根据 Friedewald 公式计算。肝脏匀浆后用异丙醇提取,高铁-醋酸-硫酸显色法测定 TC,乙酰丙酮显色法测定 TG。参照文献[3],用血浆中卵磷脂和胆固醇作底物,在 LCAT 的作用下,胆固醇酯增加,而 FC 减少,然后利用游离胆固醇试剂盒测定 FC 含量,以 FC 的减少量(即胆固醇的酯化量)来表示 LCAT 活性大小^[3]。PHTA、肝脂酶和 LPL 活性测定是以脂肪乳剂为底物,在 37 °C pH 8.3 条件下与一定量的肝素化血浆保温 30 min,血浆中的 LPL 及肝脂酶可将底物中的 TG 水解为甘油和游离脂肪酸(free fatty acid, FFA),用铜试剂法测定生成的 FFA 含量,即可分别计算出 PHTA、LPL 和肝脂酶活性^[4]。

1.4 统计学处理

所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组资料采用方差分析,两组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠血清总胆固醇、甘油三酯含量以及二者的比值

高、低剂量姜黄素、血脂康和非诺贝特均能降低血清 TC 含量,以血脂康和低剂量姜黄素最优,高、低剂量姜黄素和非诺贝特能显著降低血清 TG 含量(表 1, Table 1)。

表 1. 姜黄素、血脂康和非诺贝特对大鼠血清总胆固醇、甘油三酯含量以及二者比值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Effects of Curcumin, XUEZHUKANG and Fenofibrate on the concentrations of serum TC, TG and the ratio of TC and TG

分 组	<i>n</i>	总胆固醇 (mg/L)	甘油三酯 (mg/L)	总胆固醇/ 甘油三酯
正常对照组	10	875 ± 82	1 253 ± 263	0.73 ± 0.14
高脂模型组	10	1 790 ± 280 ^a	1 727 ± 364 ^a	1.08 ± 0.25
低剂量姜黄素组	10	1 218 ± 214 ^c	1 180 ± 281 ^b	1.11 ± 0.29
高剂量姜黄素组	10	1 305 ± 194 ^c	952 ± 222 ^c	1.25 ± 0.17
血脂康组	10	1 031 ± 201 ^c	1 368 ± 365	0.84 ± 0.23 ^b
非诺贝特组	9	1 314 ± 234 ^c	647 ± 184 ^c	2.18 ± 0.51

a: *P* < 0.05, 与正常对照组比较; b: *P* < 0.05, c: *P* < 0.01, 与高脂模型组比较。

2.2 各组大鼠血清高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇含量以及二者的比值

高剂量姜黄素和非诺贝特能明显增加 HDLC 含量, 高、低剂量姜黄素、血脂康和非诺贝特均能显著减少 LDLC 含量和降低 LDLC/HDLC 比值(表 2, Table 2)。

表 2. 姜黄素、血脂康和非诺贝特对大鼠血清高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量以及二者比值的影响

Table 2. Effects of Curcumin, XUEZHUKANG and Fenofibrate on the concentrations of serum HDLC, LDLC and the ratio of HDLC and LDLC ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	HDLC (mg/L)	LDLC (mg/L)	LDLC/ HDLC
正常对照组	10	512 ± 56	134 ± 50	0.27 ± 0.11
高脂模型组	10	358 ± 80 ^a	1141 ± 325 ^b	3.56 ± 1.35 ^b
低剂量姜黄素组	10	405 ± 63	611 ± 220 ^d	1.59 ± 0.78 ^d
高剂量姜黄素组	10	428 ± 66 ^c	656 ± 181 ^d	1.62 ± 0.55 ^c
血脂康组	10	370 ± 69	457 ± 173 ^d	1.22 ± 0.57 ^d
非诺贝特组	9	696 ± 216 ^d	485 ± 127 ^d	0.85 ± 0.27 ^d

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.001$, 与正常对照组比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.001$, 与高脂模型组比较。

2.3 各组大鼠肝脏总胆固醇、甘油三酯含量以及二者的比值

姜黄素和非诺贝特能显著降低肝脏 TC 含量, 同时高剂量姜黄素和非诺贝特还能明显降低肝脏 TG 含量, 非诺贝特使肝脏 TC/TG 比值降低(表 3, Table 3)。

表 3. 姜黄素、血脂康和非诺贝特对肝脏总胆固醇、甘油三酯含量以及二者比值的影响

Table 3. Effects of Curcumin, XUEZHUKANG and Fenofibrate on the concentrations of liver TC, TG and the ratio of TC and TG ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	总胆固醇 (mg/g)	甘油三酯 (mg/g)	总胆固醇/ 甘油三酯
正常对照组	10	1.5 ± 0.3	3.7 ± 1.0	0.41 ± 0.10
高脂模型组	10	17.2 ± 1.2 ^a	13.2 ± 1.6 ^a	1.34 ± 0.15 ^a
低剂量姜黄素组	10	13.7 ± 3.4 ^b	11.5 ± 2.9	1.18 ± 0.21
高剂量姜黄素组	10	14.9 ± 2.4 ^b	10.8 ± 2.1 ^b	1.35 ± 0.13
血脂康组	10	15.5 ± 2.3	11.8 ± 2.1	1.32 ± 0.18
非诺贝特组	9	5.9 ± 1.5 ^c	8.2 ± 3.2 ^b	0.74 ± 0.17 ^c

a: $P < 0.01$, 与正常对照组比较; b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$, 与高脂模型组比较。

2.4 各组大鼠血浆卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性

和游离胆固醇含量

高脂模型组 LCAT 活性与正常对照组比较显著降低, 而高、低剂量姜黄素能显著提高 LCAT 活性, 血脂康、非诺贝特对其无明显影响。同时低剂量姜黄素降低血浆 FC 含量, 而非诺贝特组 FC 含量显著增加(表 4, Table 4)。

表 4. 姜黄素、血脂康和非诺贝特对血浆卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性和游离胆固醇含量的影响

Table 4. Effects of Curcumin, XUEZHUKANG and Fenofibrate on the activity of plasma LCAT and the concentration of plasma FC ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	LCAT [$\mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{h})$]	FC (mg/L)
正常对照组	10	36.27 ± 9.67	174.8 ± 12.2
高脂模型组	10	17.08 ± 8.44 ^a	197.5 ± 41.0
低剂量姜黄素组	10	28.22 ± 10.07 ^b	161.7 ± 15.0 ^b
高剂量姜黄素组	10	34.37 ± 14.04 ^c	177.1 ± 15.9
血脂康组	10	19.51 ± 6.78	194.6 ± 27.9
非诺贝特组	9	17.96 ± 6.72	449.9 ± 130.4 ^c

a: $P < 0.01$, 与正常对照组比较; b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$, 与高脂模型组比较。

2.5 各组大鼠肝素化后血浆总脂解酶、脂蛋白脂酶、肝脂酶活性

与正常对照组对比, 高脂模型组 PHTA、肝脂酶、LPL 活性均显著降低, 低、高剂量姜黄素和非诺贝特能提高 PHTA 和 LPL 活性, 高剂量姜黄素能显著提高肝脂酶活性, 血脂康对脂代谢相关酶类活性的影响不显著(表 5, Table 5)。

表 5. 姜黄素、血脂康和非诺贝特对肝素化血浆总脂解酶、肝脂酶、脂蛋白脂酶活性的影响

Table 5. Effects of Curcumin, XUEZHUKANG and Fenofibrate on the levels of PHTA, LPL and HL activities [$\bar{x} \pm s$, mEq/(L · h)]

分 组	n	PHTA	肝脂酶	LPL
正常对照组	10	1.44 ± 0.37	0.98 ± 0.32	0.46 ± 0.12
高脂模型组	10	0.84 ± 0.21 ^b	0.59 ± 0.13 ^a	0.25 ± 0.18 ^a
低剂量姜黄素组	10	1.07 ± 0.23 ^c	0.61 ± 0.12	0.45 ± 0.17 ^c
高剂量姜黄素组	10	1.55 ± 0.36 ^d	1.06 ± 0.42 ^c	0.49 ± 0.24 ^c
血脂康组	10	0.95 ± 0.31	0.67 ± 0.26	0.32 ± 0.20
非诺贝特组	9	1.32 ± 0.26 ^d	0.81 ± 0.35	0.51 ± 0.26 ^c

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与正常对照组比较; c: $P < 0.05$; d: $P < 0.01$, 与高脂模型组比较。

3 讨论

中医认为高脂血症可能与气滞血瘀痰凝有关,因此提出用活血化瘀和祛湿化痰法治疗高脂血症,实验证明许多活血化瘀药能改善微循环,扩张冠状动脉,减少血液粘滞度,改善心肌缺血,减少血瘀引起的疼痛,对心脑血管病有较好的疗效。姜黄能活血化瘀、行气止痛,研究证明有以下作用:降血脂作用,姜黄能显著地降低血清、肝脏和主动脉壁 TC 和 TG 含量,尤以降 TG 作用为主。姜黄素由于能降低血清 LDLC 含量和增加 HDLC 含量,促进脂蛋白 a 的代谢,能起到预防和治疗高脂血症的作用^[1,2,5]。

④抗脂质过氧化作用,姜黄素能对抗铜离子引起的 LDL 氧化,显著地减少血浆和肝脏中的过氧化脂质含量。姜黄素亦能对抗氧化型 LDL 对巨噬细胞、平滑肌细胞和内皮细胞的氧化作用^[6]。⑤抗凝血和促纤溶作用,姜黄素能降低纤溶酶原激活物抑制剂(plasminogen activator inhibitor, PAI)活性和增高组织型纤溶酶原激活物(tissue plasminogen activator, t-PA)活性,亦能使血浆纤维蛋白原含量降低,能降低血液粘滞度,纠正其高凝状态^[7]。以上作用表明,姜黄素既能降血脂又能抗脂质过氧化,是一味理想的降脂中药。

本文证实,姜黄素能显著地降低食饵性高脂血症大鼠血清和肝脏 TC 和 TG 水平,降低血清 LDLC 含量和增加 HDLC 含量,其降 TG 作用优于降 TC。

肝脂酶、LPL 和 LCAT 是血浆脂蛋白代谢中的三个关键酶,在脂蛋白代谢中发挥着重要的调控作用^[8]。LCAT 是一种由肝脏分泌、存在于血浆中的酶,其活性是催化 HDL 颗粒中卵磷脂分子中的第 2 位不饱和酰基转移至游离胆固醇分子,以形成胆固醇酯,后者通过极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)转移至 LDL,最后进入肝脏被清除。LCAT 在血浆胆固醇酯化及 HDL 成熟过程中发挥重要作用。其活性降低会导致体内 FC 浓度升高,增加冠心病的发病率^[9]。LPL 和肝脂酶是血液循环中与内源性 TG 代谢有关的两种关键酶。LPL 存在于肝外组织毛细血管内皮细胞表面。它主要催化血浆中乳糜微粒(chylomicrons, CM)和 VLDL 中 TG 的水解,在 CM 及 VLDL 的降解中发挥重要作用,而肝脂酶则仅存在于肝内皮细胞表面,它主要在中间密度脂蛋白和 HDL 代谢中起重要作用。LPL 和肝脂酶活性受多种因素影响,它们的缺陷或活性降低可导致 CM 及 VLDL 降解障碍,引起高 TG 血症。本实验发现,高脂模型组 LCAT 活性明显下降,可能是脂质在肝脏中沉积,抑制肝脏分泌 LCAT 分子和使 LCAT 活性下降,结果使胆固醇的酯化率降低,胆固醇的清

除减少,使胆固醇在体内堆积,从而使血清和肝脏 TC 升高,姜黄素能显著提高 LCAT 活性,可能与促进肝脏合成 LCAT 和使 LCAT 活性增加有关,这可能是姜黄素降低 TC 和血浆 FC 的机理之一。血脂康和非诺贝特对 LCAT 活性无明显影响,虽然血脂康所含的他汀类成分可竞争性抑制 HMG-CoA 还原酶,减少胆固醇的合成,并能反馈性地增加细胞膜表面 LDL 受体的表达,从而加速血循环中 LDL 颗粒的清除,使血中 TC 浓度降低,但血脂康降低血清 TC 可能与 LCAT 活性无关。

实验证明,高脂模型组 PHTA、LPL、肝脂酶活性明显降低,可能是高脂膳食抑制肝脏和其它组织合成脂酶,姜黄素能使 PHTA、LPL 和肝脂酶活性增高,通过增加上述酶的活性,从而加快富含 TG 脂蛋白的代谢,使血清和肝脏 TG 含量显著降低。非诺贝特属贝特类药,也能使 PHTA 和 LPL 活性增高,可能是通过激活过氧化体增殖物激活型受体刺激 LPL 活性,增强载脂蛋白 A_{iv}和 A_Ⅰ基因的表达和抑制载脂蛋白 C_Ⅲ基因的表达,从而使 LPL 脂解活性增强,有利于去除血液循环中富含 TG 的脂蛋白,从而降低 TG 含量^[10]。

脂蛋白代谢是一个复杂的过程,由多种因子参与,除了外周组织的影响和酶学上的改变之外,还涉及到脂蛋白受体、基因水平和转录后水平的调控,今后的工作中我们将从基因水平和转录后调控水平对姜黄素的降脂作用机理作进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 沃兴德,高承贤,洪行球,李万里,金明敏,等. 姜黄醇提取物对兔食饵性高脂血症的实验研究. 浙江中医学院学报, 1999, 23 (1): 16-18
- [2] 沃兴德,洪行球,魏佳萍,高承贤,李万里,金明敏,等. 姜黄醇提取物对高脂血症患者脂代谢及肾功能的影响. 浙江中医学院学报, 1999, 23 (1): 20-22
- [3] 蒋宪成,庄庆祺,梅美珍. 卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性的简易测定法. 上海第一医学院学报, 1985, 12 (2): 155-157
- [4] 张蓉,刘宇,刘秉文. 血浆脂蛋白脂酶及肝脂酶的比色测定法. 华西医科大学学报, 1996, 27 (1): 106-110
- [5] 沃兴德, Kostner GM, 洪行球,赵革平,唐利华,李万里. 甘露聚糖、壳聚糖、α-酸性糖蛋白和姜黄素对脂蛋白(a)和去唾液酸脂蛋白(a)代谢影响的对比分析. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8 (4): 308-311
- [6] 赵革平,洪行球,李万里,沃兴德. 姜黄醇提取物对抗体外 LDL 氧化修饰作用的研究. 浙江中医学院学报, 1999, 23 (2): 27-28
- [7] 沃兴德,唐利华,李万里,赵革平. 姜黄醇提取物对食饵性高脂血症家兔抗氧化和促纤溶作用的研究. 浙江中医学院学报, 1999, 23 (2): 25-26
- [8] 吴满平,梅美珍. 参与脂蛋白代谢研究的进展. 基础医学和临床, 1991, 11 (2): 77-81
- [9] Jonas A. Lecithin cholesterol acyltransferase. Biochim Biophys Acta, 2000, 1529 (1-3): 245-256
- [10] 徐成斌,叶平. 血脂异常的药物疗法. 见:叶平(主编). 血脂的基础和临床. 北京:人民军医出版社, 2002, 435

(此文编辑 文玉珊)