

当归挥发油对高血脂模型大鼠的降血脂作用及血管内皮保护作用

吴国泰^{1,2}, 刘五州¹, 杜丽东^{1,2}, 妥海燕¹, 任远^{1,2}, 郭玫^{1,2,3}

(1.甘肃中医药大学,甘肃省兰州市 730000;2.甘肃省中药药理与毒理学重点实验室,甘肃省兰州市 730000;
3.甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室,甘肃省兰州市 730000)

[关键词] 当归挥发油; 高脂血症; 血脂; 血管内皮结构

[摘要] **目的** 观察当归挥发油对高血脂模型大鼠的降血脂作用及血管内皮保护作用。**方法** SD 大鼠 72 只,随机分为正常对照组 12 只和造模组 60 只,造模组大鼠高脂饲料喂养并灌胃丙基硫氧嘧啶溶液(50 mg/kg),连续 4 周,造模成功后随机分为模型对照组、氟伐他汀组(0.5 mg/kg)、当归挥发油(ASVO)高、中、低剂量组(60、30、15 mg/kg),每组各 12 只,连续灌胃给药 3 周,末次给药 60 min 后股动脉取血,分离血清,测定总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)含量,计算动脉粥样硬化指数(AI);分离胸主动脉,10%甲醛固定,石蜡包埋,切片,HE 染色观察大鼠胸主动脉内皮形态改变,ELISA 法测定大鼠血浆内皮素 1(ET-1)、血清一氧化氮(NO)和血浆血管性假血友病因子(vWF)的含量。**结果** 模型大鼠血清 TC、LDL 水平及 AI 显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),当归挥发油高、中剂量能够降低高血脂大鼠血清 TC、LDL 水平及 AI($P<0.05$);模型大鼠血浆 ET-1 和血清 vWF 水平显著升高、血清 NO 水平显著下降($P<0.01$),当归挥发油高、中剂量均能降低血浆 ET-1 和血清 vWF 水平($P<0.05$),升高血清 NO 水平($P<0.01$)。光镜下可见模型大鼠胸主动脉内皮结构改变明显,而当归挥发油高、中剂量组病变减轻。**结论** 当归挥发油对高血脂模型大鼠有一定的降脂作用,并能有效改善血管内皮结构的损伤。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Protective Effects of Angelica Sinensis Volatile Oil on Levels of Blood Fats and Vascular Endothelial Structure in Hyperlipidemia Rats

WU Guo-Tai^{1,2}, LIU Wu-Zhou¹, DU Li-Dong^{1,2}, TUO Hai-Yan¹, REN Yuan^{1,2}, and GUO Mei^{1,2,3}

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730000, China; 2. Key Laboratory of Pharmacology and Toxicology of Traditional Chinese Medicine in Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000, China; 3. Key Laboratory of Chemistry and Quality for Traditional Chinese Medicines of the College of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000, China)

[KEY WORDS] Angelica Sinensis Volatile Oil; Hyperlipidemia; Blood Fats; Vascular Endothelial Structure

[ABSTRACT] **Aim** To observe the protective effects of Angelica sinensis volatile oil (ASVO) on levels of blood lipids and vascular endothelial structure in hyperlipidemia rats. **Methods** 72 SD rats were randomly assigned to normal control group of 12 and model group of 60. Rats in the model group were fed with high fat diet and 50 mg/kg propylthiouracil by intragastric administration for 4 weeks. The model rats were randomly divided into the model control group, fluvastatin group (0.5 mg/kg), and high-, medium- and low-dosage of ASVO groups (60, 30, 15 mg/kg) with 12 rats in each group. After 3 weeks, artery blood was collected and the content of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL), low density lipoprotein cholesterol (LDL) levels and calculated atherosclerosis index (AI) were measured, the contents of endothelin-1 (ET-1) in plasma, nitric oxide (NO) in serum and von willebrand

[收稿日期] 2015-11-19

[修回日期] 2016-01-17

[基金项目] 甘肃省自然科学基金项目(1208RJZA215);甘肃省中药药理与毒理学重点实验室开放基金项目(ZDSYS-KJ-2012-004)

[作者简介] 吴国泰,博士,副教授,研究方向为中药药理与毒理学,E-mail 为 wgt@gszy.edu.cn。杜丽东,博士研究生,讲师,研究方向为中药药理与毒理学,E-mail 为 lidong_du@sohu.com。通讯作者郭玫,硕士,教授,博士研究生导师,研究方向为中药化学与中药新药研发,E-mail 为 guomeig@sina.com。

factor(vWF) in plasma were measured with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Thoracic aorta was separated, 10% formalin-fixed and paraffin-embedded, cut into slice, HE stained and the vascular endothelial structure was observed under light endothelial structure. **Results** Compared with control group, the content of TC, TG and LDLC in plasma significantly increased ($P<0.05$), the content of ET-1 and vWF in plasma significantly increased, the content of NO in the serum significantly decreased in hyperlipidemia model group ($P<0.05$). The content of TC and LDLC in plasma significantly decreased ($P<0.05$), the content of ET-1 and vWF in plasma significantly decreased, the content of NO in the serum significantly increased in the high and medium dosage of ASVO groups ($P<0.05$), the structure of the vascular endothelial injury were effectively improved in the high and medium dosage of ASVO groups. **Conclusion** The certain therapeutic effects of Angelica sinensis volatile oil were determined in hyperlipidemia rats, and the structure of the vascular endothelial injury was improved.

高血脂是动脉粥样硬化、心脑血管疾病的主要危险因素之一,据统计全球每年约有1200万人死于因高脂血症引起的心脑血管疾病,而且发病人数逐年增加,高脂血症疾病严重影响着人们生活^[1-2]。研究表明^[3-5]当归及其部分成分如当归多糖、丁烯苯酐等具有抗氧化、保护血管内皮、抑制血管平滑肌细胞增殖、改善2型糖尿病大鼠血清脂质代谢紊乱。本研究采用高脂饲料联合丙基硫氧嘧啶建立高血脂大鼠模型,观察当归挥发油(Angelica sinensis volatile oil, ASVO)对高血脂大鼠血脂水平及血管内皮结构的影响,旨在探讨当归挥发油的降脂及保护血管内皮结构作用,为扩大当归挥发油的临床用途提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SD大鼠72只,SPF级,雌雄各半,体重 180 ± 20 g,由甘肃中医药大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(甘)2011-0001。实验期间所有动物自由摄食、饮水,喂高脂饲料(配方比为胆固醇:猪油:丙基硫氧嘧啶:胆酸钠:白糖:基础饲料=1:10:0.2:0.5:5:83.3,由北京科澳协力有限公司提供);饲养温度:23~26℃,相对湿度:50%~60%。

1.2 药品与试剂

当归挥发油(超临界CO₂萃取,由岷县康达药业开发有限责任公司提供,经甘肃省食品药品检验所检测藁本内酯的含量为81.4%);氟伐他汀钠胶囊(国药准字H20010518,北京诺华制药有限公司,批号X1364);丙基硫氧嘧啶(国药准字HA0809YA13,上海源叶生物科技有限公司,批号201508);吐温-80(烟台市双双化工有限公司,批号20140502)。大鼠血管内皮素1(endothelin-1, ET-1)酶联免疫分析(ELISA)试剂盒、大鼠血管性假血友病因子(von

Willebrand factor, vWF) ELISA试剂盒、大鼠一氧化氮(nitric oxide, NO) ELISA试剂盒,均由上海酶连生物科技有限公司提供,批号201503。

1.3 主要仪器

BX51-32H01系统显微镜(日本),Sartorius电子天平(德国sartorius),CD1200全自动生化分析仪(美国),TGL16M低温离心机(中国),酶标仪(美国伯乐Benchmark plus)。

1.4 受试物的制备

称取当归挥发油7.2g,采用干胶法,按当归挥发油:吐温-80=2:1,研磨,超声20min,加蒸馏水至1200mL(6mg/mL)备用,临用时加蒸馏水配制成6mg/mL、3mg/mL和1.5mg/mL备用。

1.5 动物造模、分组与给药

72只SD大鼠适应性喂养7天后,随机抽取12只设为正常对照组,其余60只大鼠为造模组,按参考文献[6]方法每天喂饲高脂饲料并灌胃0.5%的丙基硫氧嘧啶(50mg/kg),连续4周,随机抽取造模大鼠,检测血脂水平,判断造模成功后,将造模组按性别体重随机分为模型对照组、氟伐他汀组、当归挥发油高、中、低剂量组;正常对照组大鼠不给予任何处理,模型对照组、氟伐他汀组、当归挥发油高、中、低剂量组分别灌胃给予生理盐水(10mL/kg)、氟伐他汀(0.5mg/kg)、当归挥发油乳液(60、30、15mg/kg),1次/天,连续3周。

1.6 指标检测与方法

1.6.1 体质量 分别在给药前和给药第1、2和3周称取各组大鼠的体质量。

1.6.2 血脂水平 末次给药1h后(事先已禁食不禁水12h),用10%的水合氯醛溶液(3mL/kg)腹腔注射麻醉,股动脉采血3mL,室温自然凝固,低温离心(4℃,3000r/min离心10min),分离血清,采用全自动生化仪检测血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇

(high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C), 计算动脉粥样硬化指数 (atherosclerosis index, AI)。AI = (TC - HDLC) / HDLC。

1.6.3 ET-1、NO 和 vWF 含量 末次给药 1 h 后 (事先已禁食不禁水 12 h), 用 10% 的水合氯醛溶液 (3 mL/kg) 腹腔注射麻醉, 股动脉采血 3 mL, 室温自然凝固, 低温离心 (4℃, 3000 r/min 离心 10 min), 分离血清, 硝酸酶还原法测定 NO 的含量, 双抗夹心 ELISA 检测 ET-1 和 vWF 含量, 操作严格按照说明书进行。

1.6.4 胸主动脉血管内皮结构变化 各组大鼠采血后, 随机脱颈椎处死, 分离胸主动脉, 10% 甲醛固定 24 h 后, HE 染色, 光镜下观察各组大鼠胸主动脉血管内皮结构。

1.7 统计学处理方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS17.0 统计软件处理, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 两组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 当归挥发油对高血脂大鼠体质量的影响

造模后各组大鼠体质量显著降低, 与正常对照组比较, 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型

对照组比较, 给药第 1、2、3 周, 各当归挥发油剂量组大鼠体质量有增加趋势, 组间差异无统计学意义, 结果提示高脂饲料对大鼠的进食量有明显影响, 进而影响大鼠的生长, 当归挥发油对高血脂模型大鼠的体质量无明显影响 (表 1)。

2.2 当归挥发油对高血脂大鼠血脂水平的影响

模型大鼠血清 TC、LDLC 及 AI 显著升高, 与正常对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示高脂饲料联合丙基硫氧嘧啶可成功复制大鼠高血脂模型。与模型对照组比较, 给药 3 周后, 氟伐他汀组和当归挥发油高、中剂量组 TC、LDLC 水平及 AI 显著降低 ($P < 0.05$), 提示当归挥发油高、中剂量对高血脂大鼠有一定的降脂作用, 但当归挥发油低剂量组的 TG 显著升高 ($P < 0.05$)。提示当归挥发油低剂量能升高血脂, 可能由于不同剂量的当归挥发油对血脂具有双向调节作用 (表 2)。

2.3 当归挥发油对高血脂大鼠血浆 ET-1 及血清 NO 和 vWF 含量的影响

模型大鼠血浆 ET-1 和血清 vWF 明显增加, 血清 NO 水平明显下降, 与正常对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型对照组比较, 给药 3 周后, 当归挥发油高、中剂量组血浆 ET-1 和血清 vWF 显著降低, 血清 NO 水平明显增加 ($P < 0.05$), 提示当归挥发油对血管内皮炎性损伤具有一定的保护作用 (表 3)。

表 1. 当归挥发油对高血脂大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, g, n = 12$)

Table 1. Effect of Angelica sinensis volatile oil on body weight of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, g, n = 12$)

分 组	造模后	给药第 1 周	给药第 2 周	给药第 3 周
正常对照组	266.8±24.3	280.1±23.9	300.7±21.0	312.1±30.7
模型对照组	208.4±28.4 ^a	213.7±28.6 ^a	238.1±27.5 ^a	257.3±22.5 ^a
氟伐他汀组	209.8±25.4 ^a	220.1±23.9 ^a	245.1±31.6 ^a	262.6±36.5 ^a
当归挥发油高剂量组	202.6±27.3 ^a	212.5±26.1 ^a	244.2±23.8 ^a	258.5±28.5 ^a
当归挥发油中剂量组	207.2±25.6 ^a	210.2±24.8 ^a	239.9±33.1 ^a	254.9±36.5 ^a
当归挥发油低剂量组	202.7±27.8 ^a	211.7±24.8 ^a	234.0±27.7 ^a	250.9±22.1 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较。

表 2. 当归挥发油对高血脂大鼠血脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2. Effect of Angelica sinensis volatile oil on lipid levels of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

分 组	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDLC (mmol/L)	LDLC (mmol/L)	AI
正常对照组	2.18±0.31	0.96±0.24	1.85±0.14	0.01±0.15	0.17±0.11
模型对照组	2.70±0.31 ^a	0.73±0.13	2.00±0.24	0.37±0.15 ^a	0.36±0.10 ^a
氟伐他汀组	1.93±0.48 ^b	1.03±0.37	1.62±0.41	0.11±0.10 ^b	0.19±0.14 ^b
当归挥发油高剂量组	1.93±0.45 ^b	1.00±0.45	2.06±0.25	0.03±0.19 ^b	0.18±0.10 ^b
当归挥发油中剂量组	2.09±0.37 ^b	0.72±0.32	1.17±0.31	0.10±0.17 ^b	0.23±0.09 ^b
当归挥发油低剂量组	2.38±0.72	1.15±0.32 ^b	1.72±0.51	0.21±0.55	0.42±0.38

a 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型对照组比较。

表 3. 当归挥发油对高血脂大鼠血浆 ET-1 及血清 NO 和 vWF 含量的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)Table 3. Contents of ET-1 in plasma, NO and vWF in serum of hyperlipidemia rats($\bar{x}\pm s, n=12$)

分 组	ET-1 (ng/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)	vWF
正常对照组	82.51 \pm 12.34	36.49 \pm 6.14	11.25% \pm 3.14%
模型对照组	153.16 \pm 13.85 ^a	23.80 \pm 4.64 ^a	22.84% \pm 4.98% ^a
氟伐他汀组	144.39 \pm 9.43 ^{ab}	21.26 \pm 3.61 ^a	18.60% \pm 3.54% ^{ab}
当归挥发油高剂量组	136.64 \pm 14.35 ^{ab}	33.25 \pm 6.02 ^b	17.99% \pm 3.60% ^{ab}
当归挥发油中剂量组	124.33 \pm 16.73 ^{ab}	29.94 \pm 3.45 ^b	18.10% \pm 4.38% ^{ab}
当归挥发油低剂量组	145.45 \pm 19.94 ^a	26.11 \pm 5.66 ^{ab}	21.36% \pm 5.07% ^a

a 为 $P<0.05$, 与正常对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与模型对照组比较。

2.4 当归挥发油对高血脂大鼠血管内皮结构的影响

正常大鼠胸主动脉内、中、外膜层清晰可见, 分界清楚。内膜结构完整、厚度分布均匀、无泡沫细胞、无脂质沉积; 中膜厚度分布均匀、平滑肌细胞排列整齐。模型对照组胸主动脉结构紊乱, 内膜厚度分布不均匀, 内膜局部有斑块突向管腔, 斑块内有泡沫细胞形成。当归挥发油高、中剂量组胸主动脉

内皮结构较正常, 内、中、外膜较清晰, 内膜结构较完整, 厚度分布不均匀, 内膜下有较少的泡沫细胞, 中层平滑肌排列较整齐。当归挥发油低剂量组胸主动脉内皮结构异常, 中层平滑肌排列紊乱, 内、中、外膜模糊。提示高、中剂量当归挥发油对高血脂大鼠胸主动脉血管内皮结构损伤具有一定的保护作用(图 1)。

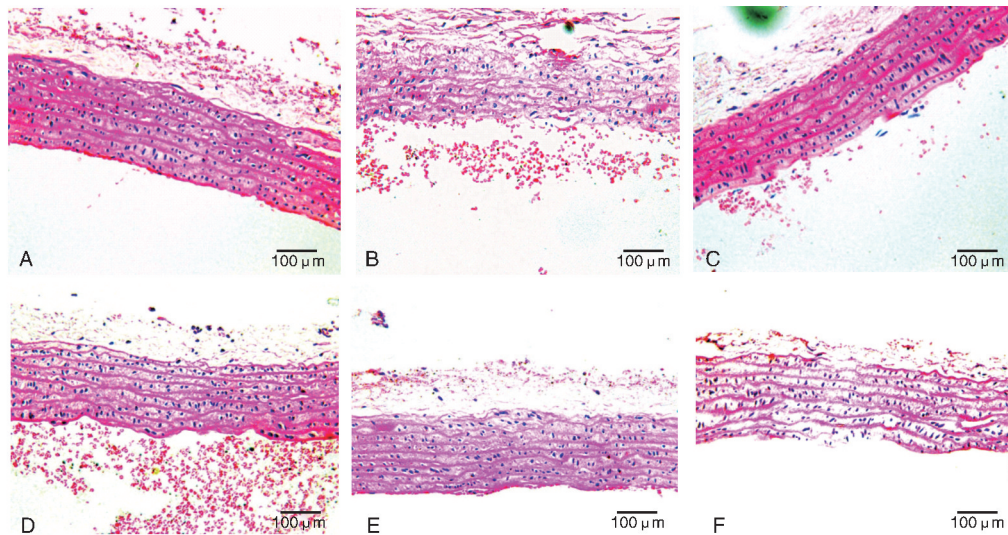


图 1. 当归挥发油对高血脂大鼠胸主动脉血管内皮结构的影响(HE 染色) A 为正常对照组, B 为模型对照组, C 为氟伐他汀组, D 为当归挥发油高剂量组, E 为当归挥发油中剂量组, F 为当归挥发油低剂量组。

Figure 1. Effect of Angelica sinensis volatile oil on the structure of vascular endothelium of thoracic aorta in hyperlipidemia rats (HE stain)

3 讨论

高脂血症是指血浆中的一种或多种脂质含量超过正常范围值的疾病, 其中血浆中 TC、LDLC 过高是高脂血症发生的主要原因, 降低 TC 和 LDLC 有利于防治高脂血症及相关疾病的发生发展^[1]。当血浆中的 TC 和 TG 水平升高时, 可以改变凝血系统和

纤溶系统的功能, 促进血栓的形成, 从而导致心血管疾病的发生^[7]; 脂代谢紊乱学说认为^[8], LDLC 通常是高 TC 和高 TG 患者血浆的主要成分, 它能够引起血管内皮细胞的损伤、诱导多种细胞黏附分子的表达、引起平滑肌细胞增殖、参与泡沫细胞的形成等。另外, AI 值在临床上作为评价动脉粥样硬化病变的参考指标之一^[9]。因此, 降低 TC、TG、LDLC 水

平和升高 HDLC 水平,有利于防治高血脂及其相关疾病的发生。

高脂饲料喂养联合丙基硫氧嘧啶灌胃诱导大鼠出现高脂血症是经典的高血脂动物模型研究方法^[10],经消化道摄入造模剂,诱导时间相对较长,与人类因膳食结构改变而形成的高脂血症相似,对于调血脂药物的开发应用具有很高的价值,研究结果显示,与正常大鼠比较,模型大鼠血清 TC、LDLC 水平显著升高,AI 升高,提示高脂血症大鼠模型建立成功。

现代研究表明当归挥发油具有广泛的药理作用,如双向调节子宫平滑肌、降压、抗心肌缺血、平喘、增强免疫,尤其还具有抗血小板聚集、延长凝血酶原时间^[11]、抗炎镇痛等作用,因此推测当归挥发油可能通过抗凝血、抗炎等作用发挥其调节血脂的作用。本研究中各组大鼠给药 3 周后,氟伐他汀组和当归挥发油高、中高剂量组 TC、LDLC 水平显著降低,HE 染色结果显示,模型对照组大鼠胸主动脉血管内皮结构有不同程度的损伤、血管内皮细胞破坏、平滑肌条排列紊乱等,当归挥发油高、中剂量可改善上述病理变化。但当归挥发油低剂量组大鼠血清 TG、AI 有所升高,且对胸主动脉血管内皮结构没有改善作用,推测可能是由于不同剂量的当归挥发油对血脂的调节具有双向作用,具体机制还需进一步研究。

长期高血脂可促使血管内皮细胞产生自由基,氧化生物膜中多价不饱和脂肪酸,引起细胞损伤,还对血管内皮细胞合成、释放 ET 和 NO 的功能也有损伤作用^[12];ET-1 通常以极低的生理浓度存在于体内,但在伴有血管内皮损伤的病理过程中,其合成、释放增加可达数倍或数十倍^[13];NO 具有强大的舒张血管、抑制血管平滑肌细胞增殖、减轻氧自由基造成的血管内皮损伤的作用;vWF 是目前文献中公认的血管内皮功能的标记物^[14],本研究结果显示光镜下可见模型大鼠胸主动脉内膜结构明显改变,血浆 ET-1 和血清 vWF 水平明显增加,血清 NO 水平显著下降,表明存在血管内皮损伤。本实验研究发现当归挥发油可改善损伤的血管内皮结构,降低大鼠血浆 ET-1 和血清 vWF 含量,升高血清 NO 水平,表明当归挥发油对高血脂引起的血管损伤具有一定的保护作用。

[参考文献]

[1] 齐绪峰,洪排,罗志毅,等. 心舒宝对高血脂模型大鼠

血脂水平的影响[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(5): 1084-086.

- [2] 李靓,谢巍,姜志胜,等. 我国动脉粥样硬化基础研究近三年进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(11): 182-188.
- [3] Wang K P, Cao P, Shui W Z, et al. Angelica sinensis polysaccharide regulates glucose and lipid metabolism disorder in prediabetic and streptozotocin-induced diabetic mice through the elevation of glycogen levels and reduction of inflammatory factors [J]. Food Funct, 2015, 44(6): 902-909.
- [4] 李曦,张丽宏,王晓晓,等. 当归化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-027.
- [5] 刘雪东. 当归 CO₂ 超临界萃取物保护血管内皮细胞的物质基础研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2010; 45-47.
- [6] 刘海利,肖学风,莫凡,等. 几种高脂血症实验动物模型的研究进展[J]. 实验动物科学, 2010, 27(2): 39-41.
- [7] 陈朝勇,闫智勇,李少华,等. 蜘蛛香对高脂血症大鼠血脂及肝功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 154-156.
- [8] 戴俏武,徐绥宁,王中群,等. 内质网应激介导的凋亡在糖尿病 ApoE^{-/-}小鼠内皮钙化中的作用[J]. 2015, 23(11): 1093-099.
- [9] 郑刚. 血脂异常全面管理的目标和现状[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2012, 14(5): 557-560.
- [10] 陈美娟,邱服斌,张海杰,等. 建立雄性 SD 大鼠高脂血症模型研究[J]. 中国预防医学杂志, 2010, 11(11): 1113-115.
- [11] 李敏,孙虹,李琰,等. 不同产地当归对血小板聚集及凝血时间活性的比较[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(2): 47-50.
- [12] Hyun-Soo Shina, Jong-Min Hanb, Hyeong-Geug Kimb, et al. Anti-atherosclerosis and hyperlipidemia effects of herbal mixture, Artemisia iwayomogi Kitamura and Curcuma longaLinne, in apolipoprotein E-deficient mice[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 144(12): 142-150.
- [13] Gupta MP, Ober MD, Patterson C, et al. Nitric oxide attenuates H₂O₂(2)-induced endothelial barrier dysfunction: mechanisms of protection [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2001, 280(1): 116-126.
- [14] Rosito GA, D'Agostino RB, Massaro I, et al. Association between obesity and a prothrombotic state: the Framingham Offspring Study [J]. Thromb Haemost, 2004, 91(4): 683-689.

(此文编辑 许雪梅)