

丹参多酚酸盐对 ApoE 基因敲除小鼠血清脂质的干预作用

高玉琪 李晓燕 牛爱军 梁 春 吴宗贵

【摘要】 目的:观察中药丹参多酚酸盐对高脂饮食 ApoE^{-/-}小鼠脂质代谢的影响,探讨丹参多酚酸盐抗动脉粥样硬化作用机制。 方法:将4周龄雄性 C57BL/6J ApoE^{-/-}小鼠喂食高脂饮食,随机分为4组。模型组腹腔注射生理盐水、丹参多酚酸盐干预分为低剂量组(60 mg/kg)、中剂量组(120 mg/kg)和高剂量组(240 mg/kg)腹腔注射丹参多酚酸,另设 C57BL/6J 野生型小鼠为对照组。于24周末时处死各组小鼠,留取血清,检测各组小鼠血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平。 结果:与对照组比较,ApoE^{-/-}鼠血清 TC、LDL-C 均明显升高($P<0.05$),表明敲除 ApoE 基因能导致血脂代谢紊乱。应用丹参多酚酸盐后,各干预组 TC、LDL-C 水平均明显降低($P<0.05$),但 TG 和 HDL-C 水平无明显改变,中、高剂量组尤为显著。 结论:丹参多酚酸盐可降低 ApoE^{-/-}小鼠血清 TC 和 LDL-C 水平,可能是其抗动脉粥样硬化的作用机制之一。

【关键词】 丹参多酚酸盐;动脉粥样硬化;血脂;载脂蛋白 E

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2012.02.017

Effects of salvianolate on serum lipid levels in ApoE^{-/-} mice GAO Yu-q¹, LI Xiao-yan¹, NIU Ai-jun², LIANG Chun³, WU Zong-gui³. 1. Department of Cardiology; 2. Department of Laboratory Jinan Military General Hospital, Shandong 250031; 3. Department of Cardiology, Shanghai Changzheng Hospital 200003, China

【Abstract】 Objective: To investigate the anti-atherosclerotic effects of salviaolate (Sal), a Chinese medical herb, on serum lipid levels in Apo E^{-/-} mice fed with high fat diet. **Methods:** Twenty-four C57BL/6J Apo E^{-/-} mice (4-week old male) were randomly divided into four groups according to intraperitoneal injection of saline (Saline group), 60mg/kg (low-dose group), 120 mg/kg (middle-dose group), or 240mg/kg (high-dose group) of Sal. Another five C57BL/6J wild mice served as normal controls. At the end of 24 weeks, all animals were sacrificed, and serum levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein (HDL-C), and low-density lipoprotein (LDL-C) were assessed by a RX-2000 Automatic biochemical analyzer. **Results:** Compared with normal controls, serum levels of TC and LDL-C were significantly higher in the Apo E^{-/-} mice. After treatment with Sal, serum levels of TC and LDL-C were decreased, which was more obvious in the middle- and high-dose groups. Serum levels of TG and HDL-C were not significantly changed. **Conclusion:** Sal can decrease serum levels of TC and LDL in Apo E^{-/-} mice, suggesting its anti-atherosclerotic effects.

【Key words】 Salvianolate; Atherosclerosis; Lipid; Apolipoprotein E

脂质代谢紊乱是致动脉粥样硬化的重要危险因素,调脂治疗是防治动脉粥样硬化的有效措施之

一^[1]。他汀类调脂药物在动脉粥样硬化防治中有重要作用,但中药对动脉粥样硬化的作用还未深入研究。丹参多酚酸盐(salvianolate, Sal)是祖国传统中药丹参的水溶性有效成分,药理学研究证实其作用广泛,具有抗氧化、降低细胞内游离钙浓度、抗血小板聚集、改善微循环、抗血栓形成、促进内皮修复等多重功效^[2]。丹参多酚酸盐可能具有抗动脉粥样

作者单位:250031 山东济南,济南军区总医院心内科(高玉琪, 李晓燕);济南军区总医院实验诊断科(牛爱军);200003 上海,第二军医大学长征医院心内科(梁 春,吴宗贵)

通信作者:梁 春,Email:chunliangliang@hotmail.com

硬化的作用,但其机制尚未完全阐明。本研究通过观察丹参多酚酸盐对 ApoE^{-/-} 小鼠血清脂质的影响,探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验分组与给药

32 只清洁级 C57BL/6J ApoE^{-/-} 小鼠,20~40g,4 周龄。单笼、自由饮水、适应性饲养 1 周后给予高脂饲料(2%胆固醇、5%脂肪、其余为普通饲料)。6 只 C57BL/6J 野生型小鼠,20~40g,4 周龄,同时进食高脂饲料。喂养 12 周后,随机处死 ApoE^{-/-} 鼠 2 只,取主动脉根部,HE 染色普通光镜下观察,确定已形成动脉粥样硬化斑块。将其余 30 只 C57BL/6J ApoE^{-/-} 小鼠随机分成 4 组:模型组($n = 7$ 仅腹腔注射生理盐水)、丹参多酚酸盐 60 mg/kg 组($n = 7$)、丹参多酚酸盐 120 mg/kg 组($n = 8$)、丹参多酚酸盐 240 mg/kg 组($n = 8$),另设 6 只 C57BL/6J 野生型小鼠为正常对照组。将注射用丹参多酚酸盐 100 mg 溶于 0.9% 的氯化钠溶液 10 ml 中,按以上剂量分别给予小鼠腹腔注射,每日 1 次,每周 5 次,继续高脂饲料喂养至 24 周。

实验用小鼠均购自北京大学实验动物中心。注射用丹参多酚酸盐由上海绿谷制药有限公司生产,生产批号:070602,规格为每支 100 mg。

1.2 标本采集和检测

表 1 丹参多酚酸盐对 ApoE^{-/-} 小鼠血质水平的影响 (mmol/L)

组别	<i>n</i>	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照组	5	2.81 ± 0.15	0.62 ± 0.12	2.65 ± 0.08	0.57 ± 0.13
模型组	6	18.65 ± 0.98 ⁽¹⁾	0.52 ± 0.15	2.80 ± 0.10	6.22 ± 0.54 ⁽¹⁾
60 mg/kg 组	6	15.64 ± 1.78 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.60 ± 0.12	2.68 ± 0.15	5.30 ± 0.50 ⁽¹⁾⁽²⁾
120 mg/kg 组	6	12.88 ± 1.28 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	0.59 ± 0.13	2.71 ± 0.10	4.48 ± 0.39 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾
240 mg/kg 组	6	9.21 ± 1.10 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	0.52 ± 0.01	2.69 ± 0.10	3.57 ± 0.33 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾

注:与正常对照组比较,⁽¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较,⁽²⁾ $P < 0.05$;与 60 mg/kg 组比较,⁽³⁾ $P < 0.05$;与 120 mg/kg 组比较,⁽⁴⁾ $P < 0.05$

3 讨论

祖国医学渊源流长,传统中医药有独特的疗效。从中医学活血化瘀等理论出发,结合现代药理研究方法,已研制了一些抗动脉粥样硬化药物,如丹参、丹参酮等。丹参多酚酸盐是从丹参中提取的水溶性有效成分,具有抗脂质过氧化和清除自由基的作用,能降低细胞内胆固醇合成和抗脂蛋白氧化作用^[3],降低氧化性脂蛋白对细胞的毒害。给新西兰大白兔同时喂养高胆固醇和丹参多酚酸 12 周后,与单纯喂养胆固醇组比较,丹参多酚酸盐组腹主动脉粥样硬化程度减轻了 56%,胸主动脉胆固醇沉积

于实验 24 周末,将各组小鼠禁食 12 h,腹腔注射苯巴比妥钠麻醉后摘取眼球,在处死前取血约 1.5 ml,立即离心 10 min(速度为 800 转/分),取血清于 - 70℃ 冰箱保存,用于测定血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。

使用 RX-2000 型全自动生化分析仪检测各组小鼠血脂水平,采用酶比色法检测 TC 和 TG,采用直接测定法检测 HDL-C 和 LDL-C。

1.3 统计学分析

采用 SPSS11.0 统计软件进行分析,如 Shapiro-wilk 检验发现数据方差不齐,应用 Hemenyi 非参数处理数据。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

在饲养过程中,对照组小鼠死亡 1 只,模型组和丹参多酚酸盐 60 mg/kg 组各死亡 1 只,丹参多酚酸盐 120 mg/kg 组和丹参多酚酸盐 240 mg/kg 组各死亡 2 只。与对照组比较,其他各组 ApoE^{-/-} 小鼠血 TC、LDL-C 水平均明显升高($P < 0.05$),说明敲除 ApoE 基因可导致血脂代谢紊乱。经丹参多酚酸盐干预后,各组 TC、LDL-C 水平均明显降低,高剂量组降低更明显($P < 0.05$,见表 1)。

减少了 50%,提示其有防治动脉粥样硬化的作用^[4]。

丹参水溶性有效活性成分多具有酚酸性结构,主要为酚酸类化合物,包括丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、迷迭香酸、甲酯和丹酚酸 A、B、C 等。丹参素是其中最有效的活性成分,而丹酚酸 B 是最主要的活性成分^[5]。研究表明,丹参多酚酸盐能够明显抑制 CuSO₄ 和内皮细胞诱导的 LDL-C 氧化修饰,且有明显的浓度依赖效应,其抗氧化能力比维生素 C 强,提示丹参多酚酸盐可能对动脉粥样硬化有抑制作用。实验证明丹参素具有减少细胞内胆固醇合成

和抗脂蛋白氧化作用,能降低氧化脂蛋白对细胞的毒性,可能有防治动脉粥样硬化的作用^[6]。丹参可降低动脉粥样硬化兔血清 TG 水平,而对 TC、LDL-C 和 HDL-C 无影响^[7]。本研究发现,丹参多酚酸盐能够降低 ApoE^{-/-}小鼠血清 TC 和 LDL-C。丹参多酚酸盐可能通过降低血清 TC 和 LDL-C 水平来发挥防治动脉粥样硬化的作用。另外,丹参多酚酸盐对小鼠和兔血脂成分的不同影响,可能与动物种属和动物的不同病理生理状态有关。

参 考 文 献

- [1] Choy PC, Siow YL, Mymin D, et al. Lipids and atherosclerosis [J]. *Biochem Cell Biol*, 2004, 82(1): 212-224.
 - [2] 袁恒杰. 丹参素药理作用研究新进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2006, 26(5): 604-606.
 - [3] 叶 勇. 丹参有效成分分离的研究进展[J]. *药品评价*, 2005, 2(2): 146-148, 118.
 - [4] 杜冠华, 张均田. 丹参水溶性有效成分——丹酚酸研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2000, 20(5): 394-398.
 - [5] 王 洁, 张均田. 总丹酚酸抗脑缺血与抗血栓的关系[J]. *中国药理学通报*, 1999, 15(3): 237-239.
 - [6] 颜 平, 罗心平, 施海明, 等. 丹参多酚酸盐对血小板功能影响的临床研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2005, 14(16): 2092-2094.
 - [7] Zhao L, Gaudry L, Dunkley S, et al. Modulation of platelet and leucocyte function by a Chinese herbal formulation as compared with conventional antiplatelet agents[J]. *Platelets*, 2008, 19(1): 24-31.
- (收稿: 2011-08-31 修回: 2011-09-19)
(本文编辑: 丁媛媛)
-
- (上接第 108 页)
- [16] Chen JF, Murchison EP, Tang R, et al. Targeted deletion of Dicer in the heart leads to dilated cardiomyopathy and heart failure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(6): 2111-2116.
 - [17] Corsten MF, Dennert R, Jochems S, et al. Circulating MicroRNA-208b and MicroRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010, 3(6): 499-506.
 - [18] Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, et al. Assessment of plasma miRNAs in congestive heart failure[J]. *Circ J*, 2011, 75(2): 336-340.
 - [19] Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure[J]. *Circ Res*, 2010, 106(6): 1035-1039.
 - [20] Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2[J]. *Nat Med*, 2007, 13(4): 486-491.
 - [21] Lu YJ, Zhang Y, Shan H, et al. MicroRNA-1 downregulation by propranolol in a rat model of myocardial infarction: a new mechanism for ischaemic cardioprotection[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 84(3): 434-441.
 - [22] Xiao J, Luo X, Lin H, et al. MicroRNA miR-133 represses HERG K⁺ channel expression contributing to QT prolongation in diabetic hearts [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(17): 12363-12367.
 - [23] Fu JD, Rushing SN, Lieu DK, et al. Distinct Roles of MicroRNA-1 and -499 in ventricular specification and functional maturation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes[J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27417.
 - [24] van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(35): 13027-13032.
 - [25] Yin C, Wang X, Kukreja RC. Endogenous microRNAs induced by Heat-shock reduce myocardial infarction following ischemia-reperfusion in mice [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(30): 4137-4142.
 - [26] Dong SM, Cheng YH, Yang J, et al. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(43): 29514-29525.
 - [27] Cheng Y, Tan N, Yang J, et al. A translational study of circulating cell-free microRNA-1 in acute myocardial infarction[J]. *Clin Sci(Lond)*, 2010, 119(2): 87-95.
 - [28] Adachi T, Nakanishi M, Otsuka Y, et al. Plasma microRNA 499 as a biomarker of acute myocardial infarction[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(7): 1183-1185.
 - [29] Kukreja RC, Yin C, Salloum FN. MicroRNAs, new players in cardiac injury and protection[J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 80(4): 558-564.
- (收稿: 2011-10-25 修回: 2011-12-19)
(本文编辑: 丁媛媛)