

· 基础研究 ·

黄芪葛根汤对高脂血症大鼠脂质代谢和氧化应激的影响

周遵明^{1,2} 谭梅傲¹ 彭冲^{1,3} 于小庆¹ 叶晋通¹ 凡思敏¹ 柯雪红¹ 黄可儿¹

摘要 **目的** 观察黄芪葛根汤对高脂饲料(HFD)诱导的高脂血症模型大鼠的影响。**方法** 将 50 只大鼠随机分为正常组、模型组、阿托伐他汀钙组(阿托伐他汀钙片 5 mg/kg)、黄芪葛根汤低剂量组(5 g/kg)、黄芪葛根汤中剂量组(10 g/kg), 每组 10 只;采用 HFD 喂养制备高脂血症模型大鼠,造模同时灌胃给药,正常组和模型组给予等量生理盐水,每天 1 次,连续灌胃 20 天。采用全自动生化分析仪检测血清 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 水平,HE 染色及油红染色观察大鼠肝脏病理变化,ELISA 法测定肝组织活性氧簇(ROS)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)水平,RT-PCR 及 Western Blot 法检测核转录因子 NF-E2 相关因子 2(Nrf2)和血红素加氧酶-1(HO-1)mRNA 及蛋白的表达水平。**结果** 与正常组比较,模型组血清 TC、TG、LDL-C 和肝脏 ROS、MDA 水平升高($P<0.01$),血清 HDL-C、肝脏 Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白和肝脏 GSH、SOD 水平下降($P<0.01, P<0.05$),肝脏脂肪、脂滴显著堆积。与模型组比较,黄芪葛根汤低剂量组血清 TC、TG、LDL-C 和肝脏 ROS、MDA 水平降低($P<0.01, P<0.05$),Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白水平及肝脏 GSH、SOD 水平升高($P<0.01, P<0.05$),模型大鼠肝脏脂肪堆积和脂滴积聚改善。**结论** 黄芪葛根汤对 HFD 诱导的高脂血症大鼠具有降血脂作用,并通过激活 Nrf2/HO-1 通路改善高脂血症大鼠的氧化应激状态。

关键词 高脂血症;黄芪葛根汤;氧化应激;Nrf2/HO-1 通路

Impact of Huangqi Gegen Formula on Lipid Metabolism and Oxidative Stress in Hyperlipidemia

Rats ZHOU Zun-ming^{1,2}, TAN Mei-ao¹, PENG Chong^{1,3}, YU Xiao-qing¹, YE Jin-tong¹, FAN Si-min¹, KE Xue-hong¹, and HUANG Ke-er¹ 1 Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou (510405); 2 The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou (510405); 3 Lingnan Medical Research Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou (510405)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Huangqi Gegen Formula (HGF) on hyperlipidemia rats induced by high fat diet (HFD). **Methods** Fifty rats were randomly divided into normal group, model group, atorvastatin calcium group (atorvastatin calcium tablet 5 mg/kg), low-dose HGF group (5 g/kg) and medium-dose HGF group (10 g/kg), 10 in each group. Hyperlipidemia model rats were prepared by feeding HFD, and were given intragastric administration at the same time. Normal group and model group were given the equal volume of normal saline once a day for 20 consecutive days. Serum TC, TG, HDL-C and LDL-C levels were detected by automatic biochemical analyzer, and the pathological changes of liver were observed by HE staining and Oil red staining. The levels of hepatic reactive oxygen species (ROS), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GSH) were determined by ELISA. RT-PCR and Western Blot were used to

基金项目: 广州中医药大学学科研究重点项目(No. XK2019011); 广州中医药大学第一附属医院“创新强院科研项目之院内制剂开发项目”(No. 211010010602); 国家自然科学基金项目(No. 82074099)

作者单位: 1. 广州中医药大学第一附属医院脾胃科(广州 510405); 2. 广州中医药大学第一临床医学院(广州 510405); 3. 广州中医药大学岭南医学研究中心(广州 510405)

通讯作者: 黄可儿, Tel: 020-36591391, E-mail: hke8989@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20210811.184

detect the mRNA and protein expressions of hepatic nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1). **Results** Compared with the normal group, serum TC, TG and LDL-C, as well as hepatic ROS and MDA levels increased significantly ($P < 0.01$), serum HDL-C, hepatic Nrf2 and HO-1 mRNA and protein expression, as well as hepatic GSH and SOD levels decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Hepatic fat and lipid droplets accumulated significantly in the model group. Compared with the model group, serum TC, TG and LDL-C, as well as hepatic ROS and MDA levels decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$), Nrf2, HO-1 mRNA and protein expression, as well as hepatic GSH and SOD levels increased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$) in low-dose HGF group. The accumulation of fat and lipid droplets in model rats were obviously improved in low-dose HGF group. **Conclusion** HGF can reduce blood lipid levels in hyperlipidemia rats induced by HFD, and improve the oxidative stress of hyperlipidemia rats by activating Nrf2/HO-1 pathway.

KEYWORDS hyperlipidemia; Huangqi Qegen Formula; oxidative stress; Nrf2/HO-1 pathways

高脂血症是一种以血清甘油三酯 (triacylglycerol, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 水平升高, 或伴高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 水平降低为主要表现的代谢性疾病, 是诱发冠心病、动脉粥样硬化等心脑血管疾病的主要危险因素^[1]。目前, 西医治疗高脂血症的药物, 如他汀类、贝特类等, 会引起丙氨酸氨基转移酶升高、消化道反应、肌炎等不良反应^[2]。寻找安全而有效的药物调节血脂有重要意义。

氧化应激是活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 家族在细胞内蓄积而引起的氧化损伤过程, 与高脂血症的发生发展密切相关^[3]。研究表明, 血脂水平过高会导致机体内产生大量 ROS, 多种抗氧化酶, 如超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH) 等的活性将会降低, 使机体不能有效清除氧自由基^[4]。氧自由基作用于脂质后, 脂质出现过氧化反应, 生成终产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA)^[5]。当 MDA 过多, 会导致 SOD、GSH 等表达水平进一步降低, 氧化应激反应亦随之加重^[6]。

黄芪葛根汤为本课题组经验用方, 药物配比为黄芪、葛根、广陈皮 (30:10:5)。课题组前期研究表明黄芪葛根汤能减轻四氯化碳或酒精引起的肝损伤, 能升高肝组织 SOD、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和 GSH 等抗氧化酶水平, 并能降低肝组织 MDA 水平, 具有抗氧化作用^[7,8]。但黄芪葛根汤对高脂血症模型大鼠的作用和机制尚不清楚, 故本研究拟通过观察黄芪葛根汤对高脂血症大鼠的血脂、肝脏病理变化、肝脏 ROS、SOD、MDA 及 GSH 水平、肝脏核转录因子 NF-E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2) 和血红素加氧酶 -1 (heme

oxygenase-1, HO-1) mRNA 与蛋白表达水平等指标的影响, 探讨其对脂质代谢和氧化应激的影响。

材料与方法

1 动物 8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只, 体重 (200 ± 20) g, 购于广东省医学动物实验中心 [许可证: SYXK (粤) 2018-0002], 动物饲养于广州中医药大学第一附属医院实验动物中心, 室内保持 12 h/12 h 昼夜节律, 温度 (22 ± 2) °C, 相对湿度 (65 ± 5) %, 大鼠自由摄食、饮水。本研究通过广州中医药大学第一附属医院伦理委员会审查 (No. TCMF1-2019011)。

2 药物及饲料 黄芪 (产地: 内蒙古, 批号: 190201651) 购于广东省普宁市康美药业股份有限公司; 野葛根 (产地: 江西, 批号: 20190103) 购于北京同仁堂 (亳州) 饮片有限责任公司; 广陈皮 (产地: 广东, 批号: 2013001) 购于广东阳江市新会区祥益陈皮有限公司; 阿托伐他汀钙片 (10 mg, 批号: 4309784) 购于辉瑞制药有限公司。所有中药均符合《中国药典》2015 年版的相关规定。按本课题组前期研究方法制备药物^[7], 黄芪: 葛根: 广陈皮 = 30:10:5 的比例配伍, 取适量黄芪、葛根和广陈皮, 先加 20 倍水浸泡 0.5 h, 武火煎沸后文火煮 0.5 h, 收集滤液。第 2 次及第 3 次均加入 15 倍水煮沸 0.5 h, 再次过滤, 收集滤液。将 3 次滤液合并, 浓缩至生药 0.5 g/mL 及 1.0 g/mL。

阿托伐他汀钙片混悬液: 取 CMC-Na 粉末, 加入超纯水, 制成 0.5% CMC-Na。将阿托伐他汀钙片充分研磨成粉末, 加入 0.5% CMC-Na, 制成 0.5 mg/mL 的阿托伐他汀钙片混悬液。

高脂饲料配方: 蔗糖 20%、猪油 15%、胆固醇 1.2%、胆酸钠 0.2%、酪蛋白 10%、磷酸氢钙 0.6%、石粉 0.4%、预混料 0.4%, 基础饲料 52.2%。由广东

省医学动物实验中心提供。

普通维持饲料配方: 玉米 33.577%, 面粉 25%, 豆粕 17.5%, 小麦次粉 13.3%, 鱼粉 4.2%, 豆油 2.5%, 磷酸氢钙 (饲料级 I 型) 2%, 石粉 (碳酸钙) 1.3%, 盐 0.3%, 氯化胆碱 0.2%, 混合矿物质 0.08%, 鼠用维生素 0.035%, 维生素 E 0.01%。由广东省医学动物实验中心提供。

3 主要试剂和仪器 TC (批号: GS101Z)、TG (批号: GS111Z)、HDL-C (批号: GS131Z/S)、LDL-C (批号: GS141Z/S) 均购自北京九强生物公司; 总 RNA 提取试剂 (批号: 9767)、cDNA 反转录试剂盒 (批号: RR036A)、SYBR 扩增试剂 (批号: RR420A) 均购自北京宝日医生物技术有限公司; HO-1 兔多克隆抗体 (批号: 10701-1-AP)、Nrf2 兔多克隆抗体 (批号: 16396-1-AP) 均购自武汉三鹰公司; 大鼠活性氧族试剂盒 (批号: JL21051)、大鼠谷胱甘肽试剂盒 (批号: JL21015)、大鼠超氧化物歧化试剂盒 (批号: JL22893)、大鼠丙二醛试剂盒 (批号: JL13297) 均购自上海江莱生物有限公司; 蛋白预染 marker (批号: 26616)、BCA 蛋白定量试剂盒 (批号: 23225)、Western Blot 显影 AB 液均购自美国 Thermo Scientific 公司, 批号: WP20005); 全蛋白提取试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 批号: BC3710); 多聚甲醛溶液 (北京雷根生物技术有限公司, 批号: DF0135)。

全自动生化分析仪 (型号: A16, 深圳博泰生物有限公司); 电动匀浆机 (型号: AL104)、电子天平 (型号: 37025) 购自上海梅特勒-托利多公司; 脱水机 (型号: KD-RS2)、包埋机 (型号: KD-RS3)、切片机 (型号: KD-2358) 购自金华科迪仪器公司; 八联管离心机 (型号: LX-500, 海门 Kylin-Bell 公司); 酶标仪 (型号: 1510, 美国 Thermo Scientific 公司); RNA 浓度测定仪 (型号: NANODrop 2000, 美国 Thermo Scientific 公司); PCR 扩增仪 (型号: CFX96)、电泳槽 (型号: 552BR)、基础电泳仪 (型号: 164-5050)、凝胶成像仪 (型号: GelDoc XR+) 购自美国 Bio-Rad 公司。

4 分组及干预方法 50 只 SD 大鼠适应性喂养 7 天后, 将体重相近的大鼠分成一组, 每 10 只大鼠为一个区组, 分为 5 个区组, 根据计算机产生随机数字, 将大鼠分为以下 5 组: 正常组、模型组、阿托伐他汀钙组 (阿托伐他汀钙片 5 mg/kg)、黄芪葛根汤低剂量组 (5 g/kg)、黄芪葛根汤中剂量组 (10 g/kg); 每组 10 只。正常组大鼠给予普通维持饲料饲养, 采

用高脂饲料喂养大鼠制备高脂血症模型。与空白组比较, 模型组血清 TG 和 TC 水平显著升高, 伴或不伴血清 LDL-C 水平的显著升高表示造模成功^[9]。造模同时灌胃给药, 正常组和模型组给予等量生理盐水, 每天 1 次, 连续灌胃 20 天。

5 检测指标及方法 干预结束后, 所有大鼠使用腹腔注射 0.3% 戊巴比妥 (1.6 mL/kg), 然后打开大鼠腹腔, 收集腹主动脉血, 4 °C 3 000 r/min 离心 10 min, 吸取并分装血清, -80 °C 保存。摘取完整肝脏, 用相机拍照并记录, 用生理盐水洗净后, 剪取一部分肝右叶于 -80 °C 冻存, 取另一部分肝右叶 (约 0.5 cm × 1 cm × 2 cm) 用 4% 多聚甲醛固定保存。

5.1 体重、摄食量及血脂检测 观察大鼠一般状态 (毛色、活动量、排便、死亡情况等); 每天记录大鼠体重和进食量; 根据试剂盒说明书, 取 200 μL 血清样品, 使用全自动生化分析仪检测各组大鼠血清 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 水平。

5.2 肝脏组织 HE 及油红染色 取浸泡于 4% 中性多聚甲醛固定的肝组织, 用蒸馏水洗涤组织后, 放入 70% 乙醇中过夜; 经脱水、透明、石蜡包埋、切片 4 μm、封片后, 进行 HE 染色。取肝脏组织 OCT 包埋、冰冻切片 8 mm, 进行油红染色。200 倍光学显微镜下观察各组大鼠肝脏病理变化情况。

5.3 ELISA 法测定肝组织 ROS、MDA、GSH 和 SOD 水平 取冻存于 -80 °C 的肝组织, 各样品称量 100 g, 放入预冷的 0.9 mL 生理盐水中, 冰水浴下匀浆 (3 000 r/min、5 min), 得到 10% 肝组织匀浆液。按照 ELISA 试剂盒说明书配制标准品后加入待测样本, 加入辣根过氧化物酶后 37 °C 孵育 60 min, 洗涤液反复洗涤后加入显色剂, 37 °C 孵育 15 min, 最后加入终止液并于酶标仪检测吸光度, 根据标准品浓度和吸光度算出标准曲线的回归方程, 根据标准曲线计算 ROS、MDA、GSH 和 SOD 水平。

5.4 Western Blot 法测定肝组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平 取冻存于 -80 °C 的肝组织, 称定质量, 加入含有 PMSF 的 RIPA 裂解液, 置于冰上匀浆后, 以 4 °C、12 000 r/min 离心 30 min, 上清液采用 BCA 法进行蛋白定量。加上样缓冲液制备样品, 上样量 50 μg 蛋白, 组内样品按等量蛋白混匀后上样; 以 10% 的 SDS-PAGE 凝胶电泳, 再转移至 PVDF 膜上, 用含 5% 牛奶的 TBST 室温封闭 3 h。与制备好的一抗孵育。按照说明书稀释比例抗体 (Nrf2, 1:1 000; HO-1, 1:1 000; β-actin, 1:3 000); 4 °C 孵育一抗过夜, TBST 冲洗掉一抗; 加入二抗 (1:5 000)

室温孵育 1 h。TBST 冲洗,并用 ECL 化学发光显影。以 β -actin 为内参,采用 ImageJ 软件进行图像分析蛋白的变化。

5.5 Real-time PCR 法测定肝组织 Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达 使用总 RNA 提取试剂从肝组织提取总 RNA,检测 RNA 含量和纯度 ($A_{260}/A_{280}=1.8\sim 2.0$),使用 cDNA 反转录试剂盒进行逆转录反应,反应条件为:37 °C 15 min,85 °C 5 s,4 °C 保持。然后进行 PCR 扩增反应,反应体系为 20 μ L,反应条件:95 °C 30 s,95 °C 5 s,60 °C 30 s,40 个循环。引物购自捷瑞(中国上海),表 1 显示引物信息。 β -actin 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)
Nrf2	F: AGCAACTCCAGAAGGAACAGGAGA R: CTTGTTTGGGAATGTGGGCAACCT	156
HO-1	F: GGGTCCTCACACTCAGTTTC R: CCAGGCATCTCCTTCCATTC	228
β -actin	F: GAGACCTTCAACACCCAGC R: CACAGAGTACTTGGCGCTCAG	645

6 统计学方法 采用 SPSS 22.0 进行统计分析。符合正态分布的数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据符合正态分布,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般状态比较 实验过程中,各组大鼠均无死亡,皮毛光泽度好,正常进食饮水和排便,活动自如,对外界刺激反应迅速。

2 各组大鼠体重、摄食量比较(表 2) 各组大鼠体重及摄食量差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠体重、摄食量比较(g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重	摄食量
正常	10	324.7 \pm 21.7	102.95 \pm 10.73
模型	10	333.8 \pm 22.3	103.14 \pm 13.04
阿托伐他汀钙	10	332.7 \pm 22.2	99.81 \pm 14.76
黄芪葛根汤低剂量	10	324.7 \pm 21.7	101.35 \pm 11.26
黄芪葛根汤中剂量	10	326.6 \pm 21.3	101.72 \pm 6.31

3 各组大鼠血脂水平比较(表 3) 与正常组比较,模型组血清 TC、TG、LDL-C 水平均升高($P < 0.01$),血清 HDL-C 水平显著下降($P < 0.01$),高脂血症造模成功。与模型组比较,阿托伐他汀钙组和黄芪葛根汤低剂量组血清 TC、TG 及 LDL-C 水平

降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

4 各组大鼠肝脏外观及组织病理学比较(图 1~3) 正常组大鼠肝脏外观颜色鲜红,质地柔软,而模型组大鼠肝脏呈土黄色。正常组大鼠肝脏组织结构完整,中央门静脉周围的肝细胞排列有序,呈放射状分布,无脂肪变性等病变。模型组大鼠肝脏组织出现了明显的病理性变化,主要表现为肝组织空泡样脂肪堆积明显,脂肪含量增多。正常组无红色脂滴积聚,模型组肝脏脂滴积聚显著增加,多呈成片分布。与模型组比较,黄芪葛根汤低剂量组和阿托伐他汀钙组肝脏外观均有一定红润,肝组织脂肪堆积和脂滴积聚显著减少,而黄芪葛根汤中剂量组改善肝脏病理的效果较为轻微。

5 各组大鼠肝组织 ROS、SOD、MDA 和 GSH 水平比较(表 4) 与正常组比较,模型组肝脏 ROS、MDA 水平升高($P < 0.01$),GSH、SOD 水平降低($P < 0.01$)。与模型组比较,阿托伐他汀钙组和黄芪葛根汤低剂量组肝脏 ROS、MDA 水平降低($P < 0.01$, $P < 0.05$),GSH、SOD 水平升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

6 各组大鼠肝组织 Nrf2、HO-1 mRNA 表达比较(图 4) 与正常组比较,模型组肝组织 Nrf2、HO-1 mRNA 水平降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,阿托伐他汀钙组和黄芪葛根汤低剂量组肝组织 Nrf2、HO-1 mRNA 表达水平升高($P < 0.01$)。

7 各组大鼠肝组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达比较(图 5) 与正常组比较,模型组肝组织 Nrf2、HO-1 蛋白水平降低($P < 0.05$)。与模型组比较,阿托伐他汀钙组和黄芪葛根汤低剂量组肝组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达水平升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

讨 论

研究表明,高脂血症患者临床多见肥胖,头晕乏力、胸闷气短等症状^[10]。脾主运化,若脾失健运,则清阳不升,出现头晕,气机升降失调者,则胸闷气短;脾主肌肉,脾气虚则肌肉无所养,出现倦怠乏力;若饮食过多,损伤脾胃,则膏脂不化,引起血脂异常,故治疗高脂血症当以健脾祛湿、升清化浊为关键治法^[11]。黄芪葛根汤为本课题组经验用方,方中黄芪能补脾肺之气而升清阳,葛根有升清阳、生津液之功,陈皮有燥湿化痰、理气健脾之功,三药配伍后能显著调节血脂,可能与其健脾益气、升清化浊、燥湿祛痰之功有关。研究发现,黄芪葛根汤中含有川陈皮素、橙皮苷、葛根素、3'-羟基葛根素、

表 3 各组大鼠血脂水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常	10	0.83 ± 0.23	0.60 ± 0.12	0.86 ± 0.15	0.83 ± 0.11
模型	10	2.52 ± 0.47*	1.26 ± 0.39*	0.59 ± 0.15*	1.36 ± 0.22*
阿托伐他汀钙	10	1.87 ± 0.73 [△]	0.66 ± 0.17 ^{△△}	0.57 ± 0.12	0.94 ± 0.48 [△]
黄芪葛根汤低剂量	10	1.89 ± 0.45 [△]	0.81 ± 0.31 [△]	0.54 ± 0.12	0.95 ± 0.06 ^{△△}
黄芪葛根汤中剂量	10	2.13 ± 0.61	1.14 ± 0.15	0.59 ± 0.08	1.24 ± 0.21

注: 与正常组比较, *P<0.01; 与模型组比较, [△]P<0.05, ^{△△}P<0.01



图 1 各组大鼠肝脏外观比较

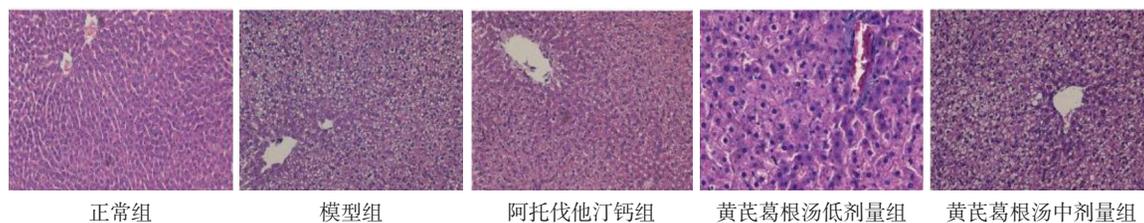


图 2 各组大鼠肝脏 HE 染色比较 (× 200)

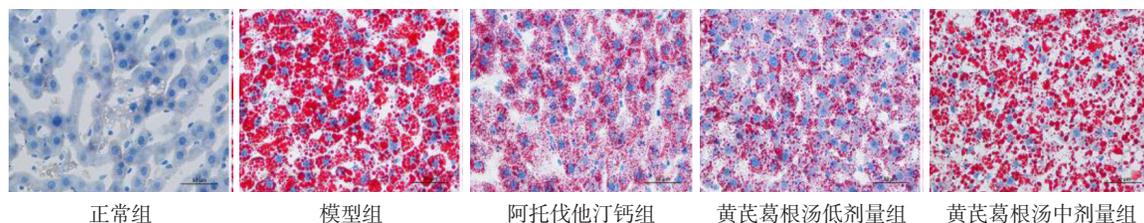


图 3 各组大鼠肝脏油红染色比较 (× 200)

表 4 各组大鼠肝组织 ROS、SOD、MDA 和 GSH 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

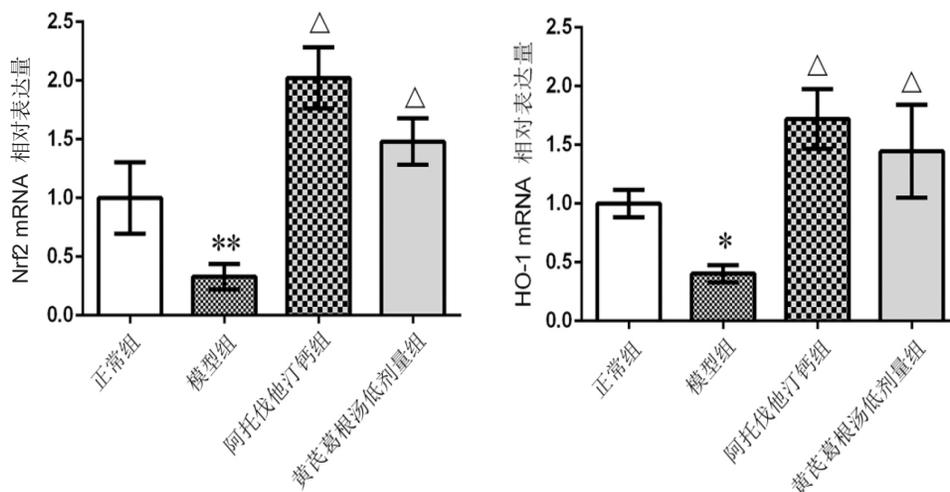
组别	n	ROS (U/mg protein)	GSH (mmol/g protein)	MDA (nmol/g protein)	SOD (U/mg protein)
正常	10	291.80 ± 21.17	123.81 ± 10.11	5.18 ± 1.31	214.15 ± 65.30
模型	10	410.76 ± 42.38*	57.12 ± 9.89*	11.13 ± 3.10*	130.12 ± 36.44*
阿托伐他汀钙	10	331.71 ± 22.29 ^{△△}	80.17 ± 9.10 ^{△△}	6.34 ± 1.14 ^{△△}	176.79 ± 26.58 ^{△△}
黄芪葛根汤低剂量	10	365.15 ± 22.42 [△]	73.24 ± 8.23 [△]	7.85 ± 1.92 [△]	170.17 ± 30.13 [△]
黄芪葛根汤中剂量	10	378.52 ± 28.94	62.06 ± 6.63	10.14 ± 2.90	148.21 ± 29.65

注: 与正常组比较, *P<0.01; 与模型组比较, [△]P<0.05, ^{△△}P<0.01

染料木素、毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮-7-葡萄糖苷、大豆苷、大豆苷元、芒柄花素、染料木苷和桔皮素等 12 种化学成分^[7], 黄芪葛根汤调节血脂的功能可能与上述有效成分有关, 如川陈皮素可显著降低高脂大鼠血脂水平、肝脂含量和 NAFLD 活性评分^[12], 葛根素能改善冠心病患者的胰岛素敏感性而改善脂质代谢, 发挥调节血脂的作用^[13]。

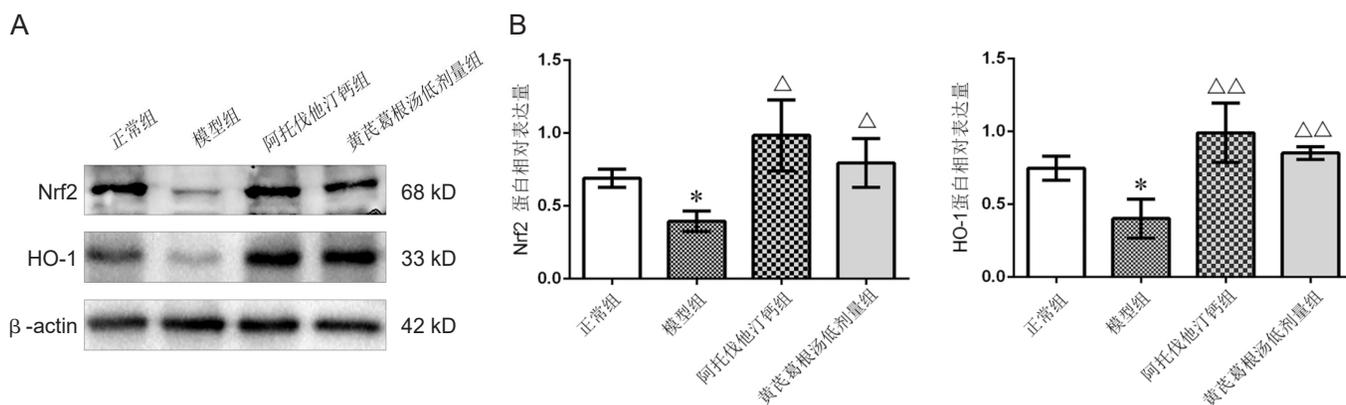
Nrf2/HO-1 通路是氧化应激反应中重要的通路

之一^[14], 在正常的生理状态下, 转录因子 Nrf2 与抑制蛋白 Kelch ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 共同存在于细胞质中, 保持在惰性状态。在氧化应激下, ROS 通过丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路磷酸化 Nrf2, 与 Keap-1 解离, 从而降低其泛素化, 将更多活化的 Nrf2 转移到细胞核内, 与 Maf 蛋白形成异二聚体, 再与抗氧化反应元



注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.01$ ； $n = 3$

图 4 各组大鼠肝组织 Nrf2、HO-1 mRNA 表达比较



注：A 为蛋白电泳图；B 为 Nrf2、HO-1 蛋白表达量比较；与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ； $n = 3$

图 5 各组大鼠肝组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达比较

件 (antioxidant responsive element, ARE) 结合，启动 HO-1 基因的转录，形成 Nrf2/HO-1 通路，表现出明显的抗氧化作用^[15]。本研究发现高脂喂养大鼠可导致肝脏 ROS 和 MDA 水平的增加，GSH 及 SOD 等抗氧化酶水平下降，与 Qiao Y 等^[16] 研究相似。黄芪葛根汤干预后肝脏 ROS 和 MDA 水平显著降低，GSH 及 SOD 水平显著升高，并激活 Nrf2/HO-1 信号通路以发挥抗氧化作用，表明黄芪葛根汤能够改善高脂血症大鼠的氧化应激状态。

本研究发现黄芪葛根汤中剂量组降脂效果不明显，同周朋辉等^[17] 研究相似，其原因考虑是药物的肠道吸收过程受药物摄入和自身储存水平的调节，过量补充药物或自身储存可能导致药物吸收率下降^[18]。

综上，黄芪葛根汤对高脂血症大鼠具有降血脂作用，能减少肝脏脂肪堆积和脂滴积聚，降低大鼠肝脏 ROS、MDA 水平，升高 GSH、SOD 水平，并通过激活 Nrf2/HO-1 通路改善高脂血症大鼠的氧化应激状态。本实验存在不足之处，如黄芪葛根汤激

活 Nrf2/HO-1 通路的机制在本研究中未得到充分证实，且未设置高剂量组分组。后续需在 Nrf2 敲除小鼠或 Nrf2 蛋白阻断小鼠上进一步研究，并优化实验分组方案。本研究发现黄芪葛根汤对高脂血症大鼠具有降血脂作用，可为后续进一步实验或临床研究提供一定的参考。

利益冲突：无。

参 考 文 献

- [1] 诸骏仁, 高润霖, 赵水平, 等. 中国成人血脂异常防治指南 (2016 年修订版) [J]. 中国循环杂志, 2016, 31 (10): 937-953.
- [2] 胡大一, 郭晓蕙, 廖玉华, 等. 血脂异常老年人使用他汀类药物中国专家共识 [J]. 中华内科杂志, 2015, 54 (5): 467-477.
- [3] 李艳, 孙珂焱, 白芳, 等. 高脂血症相关疾病发病机制研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21 (4): 84-87.

[4] Ma H, Zhang B, Hu Y, et al. Correlation analysis of intestinal redox state with the gut microbiota reveals the positive intervention of tea polyphenols on hyperlipidemia in high fat diet fed mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67 (26): 7325–7335.

[5] Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25 (6): 1102–1111.

[6] Medina-Luna D, Santamaría-Olmedo MG, Zamudio-Cuevas Y, et al. Hyperlipidemic microenvironment conditionates damage mechanisms in human chondrocytes by oxidative stress [J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16 (1): 114.

[7] Peng C, Zhou Z, Li J, et al. CCl₄-Induced liver injury was ameliorated by Qi-Ge Decoction through the antioxidant pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 5941263.

[8] 朱恬. 芪葛颗粒对酒精性肝损伤的保护作用及代谢组学研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.

[9] 王燕萍, 彭丹虹, 刘晓琪, 等. 高脂饮食喂养建立高脂血症模型的验证及规律探讨 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27 (1): 5–10.

[10] 田原, 潘琳琳, 刘桂荣. 中医治疗高脂血症综述 [J]. *河南中医*, 2018, 38 (9): 1450–1454.

[11] 胡凤仪, 王一川. 浅议理脾调脂 [J]. *安徽中医学院学报*, 1998, (4): 4–5.

[12] Bunbupha S, Pakdeechote P, Maneesai P, et al. Nobiletin alleviates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease by modulating AdipoR1 and gp91^{phox} expression in rats [J]. *J Nutr Biochem*, 2021, 87: 108526.

[13] 史卫国, 渠莉, 王津文, 等. 葛根素干预冠心病患者胰岛素抵抗的研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2002, 22 (1): 21–24.

[14] 孙淑萍, 张小平, 李红星, 等. Nrf2/HO-1 通路介导的及己醇提取物致大鼠肾毒性研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40 (6): 733–739.

[15] 马学宽, 古丽葛娜·萨吾尔, 张华, 等. 天香丹对冠脉微循环障碍大鼠 Nrf2/ARE 信号通路表达的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40 (12): 1489–1494.

[16] Qiao Y, Sun J, Ding Y, et al. Alterations of the gut microbiota in high-fat diet mice is strongly linked to oxidative stress [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97 (4): 1689–1697.

[17] 周朋辉, 张静姝, 王晓军, 等. 核黄素对高脂血症大鼠血脂水平的影响 [J]. *中国慢性病预防与控制*, 2014, 22 (6): 662–664.

[18] 顾清, 周朋辉, 张静姝, 等. 核黄素对高脂血症大鼠脂质代谢的影响 [J]. *中国慢性病预防与控制*, 2015, 23 (1): 34–36.

(收稿: 2021–02–01 在线: 2021–10–22)
 责任编辑: 赵芳芳

欢迎投稿

欢迎订阅

中国中西医结合杂志

中国中西医结合杂志

中国中西医结合杂志

中国中西医结合杂志

中国中西医结合杂志