

柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠脂质代谢及肝脏的影响

王青虎, 敖苏日古嘎, 包文林, 何祥, 徐艳华

内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽 028000

摘要:目的 研究柳蒿 *Artemisia integrifolia* 脂溶性部位对高脂血症大鼠脂质代谢及肝脏的影响。方法 采用高脂乳剂建立大鼠高脂血症模型, 给予辛伐他汀或柳蒿脂溶性部位进行干预, 观察大鼠体质量及肝脏外观形态变化; 采用全自动生化分析仪检测大鼠血清中三酰甘油 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL)、直接胆红素 (direct bilirubin, DBIL) 水平和碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 活性; 采用苏木素-伊红 (HE) 染色法观察各组大鼠肝组织病理变化; 采用免疫组化法检测各组大鼠肝组织单磷酸腺苷活化蛋白激酶 α (adenosine monophosphate-activated protein kinase α , AMPK α)、固醇调节元件结合蛋白-1 (sterol regulatory element binding protein-1, SREBP-1) 和血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM 1) 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 给药第 30 天, 柳蒿脂溶性部位组大鼠体质量显著降低 ($P < 0.05$); 大鼠肝脏颜色暗红, 体积稍小, 表面光滑, 油腻感轻, 肝小叶结构完整, 未见脂滴、脂肪样变性、空泡样变性, 可见少量炎细胞浸润; 大鼠血清中 TC、TG 和 LDL-C 水平均明显降低 ($P < 0.01$), HDL-C 水平显著升高 ($P < 0.05$); 大鼠肝组织 SREBP-1 和 VCAM1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), AMPK α 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$)。**结论** 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠具有显著的调血脂和保肝作用, 其作用机制可能为通过调节 AMPK α 、SREBP1 和 VCAM1 蛋白的表达, 从而调控血脂中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平, 维持体内脂质代谢平衡, 避免肝脂化。

关键词: 柳蒿脂溶性部位; 高脂血症; 血脂; 肝功能; 脂质代谢

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)11-3402-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.11.016

Effect of liposoluble parts from *Artemisia integrifolia* on lipid metabolism and liver in hyperlipidemia rats

WANG Qing-hu, AO Su-ri-gu-ga, BAO Wen-lin, HE Xiang, XU Yan-hua

College of Traditional Mongolian Medicine, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China

Abstract: Objective To study the effect of liposoluble parts from *Artemisia integrifolia* on lipid metabolism and liver in hyperlipidemia rats. **Methods** High-fat emulsion was used to establish a rat model of hyperlipidemia, and simvastatin or liposoluble parts from *A. integrifolia* were given for intervention, changes in body weight and appearance of liver were observed. Levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL) and activities of alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) in serum of rats were detected by automatic biochemical analyzer; Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes in liver tissue of rats in each group; Immunohistochemical method was used to detect protein expressions of adenosine monophosphate-activated protein kinase α (AMPK α), sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) and vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM 1) in liver tissue of rats in each group. **Results** Compared with model group, on 30th day of administration, body weight of rats in liposoluble parts from *A. integrifolia* group was significantly decreased ($P < 0.05$); Liver of rats was dark red in color, slightly smaller in size, smooth in surface, light in greasy feeling, and in liver lobules, structure was intact, no lipid droplets, fatty degeneration, vacuolar degeneration were seen, and a small amount of inflammatory cell infiltration was seen; TC, TG and LDL-C levels in serum were significantly decreased ($P < 0.01$), and HDL-C level was significantly increased ($P < 0.05$);

收稿日期: 2022-02-15

基金项目: 内蒙古自治区科技计划项目 (2019GG118)

作者简介: 王青虎, 博士生导师, 教授, 研究方向为蒙药有效物质基础及其药理研究。Tel: 15894890037 E-mail: wqh693@163.com

SREBP-1 and VCAM1 protein expressions in liver tissue of rats were significantly decreased ($P < 0.05$), and AMPK α protein expression was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Liposoluble parts from *A. integrifolia* has significant blood lipid-regulating and liver-protecting effects in hyperlipidemia rats, and its mechanism may be through regulating the expressions of AMPK α , SREBP1 and VCAM1 proteins, thereby regulating TC, TG, LDL-C and HDL-C levels in blood lipids, maintain lipid metabolism balance in body and avoid liver lipidation.

Key words: liposoluble parts from *Artemisia integrifolia* Linn.; hyperlipidemia; blood lipid; liver function; lipid metabolism

随着人们生活水平的提高,生活习惯发生了巨大改变,高脂血症已成为危害人类健康的罪魁祸首,我国正常人群高脂血症的发病率为20%~40%,并以每天万人的速度递增^[1]。高脂血症是指以血浆中一种或多种脂质成分,主要指三酰甘油(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)异常增高为特征的代谢紊乱综合征^[2]。目前,脂质代谢异常被认为是引起脂肪肝、糖尿病、冠心病、动脉粥样硬化等疑难杂症的首要危险因素^[3-4]。目前临床上高脂血症的治疗仍然以化学药为主,虽然化学药疗效显著,市场潜力良好,但往往存在一定的不良反应^[5]。因此,天然药物预防和治疗高脂血症、提前防治动脉粥样硬化、有效降低心脑血管疾病的发病率,逐渐成为研究的重点和热点^[6-8]。

蒙医认为高脂血症属于“通拉嘎未消病”范畴,是人体因饮食起居以及其他因素的影响,体内“三根”(人体赖以进行生命活动的3种能量和基本物质——赫依、希拉、巴达干,称为三根)失去正常平衡,使体内新陈代谢紊乱致产生过多的恶血(病血)而形成的^[9]。蒙医治疗此病以调理胃火及清除巴达干黏液为主,视病情选药,辨证施治。长期以来,蒙医药专家与学者在“通拉嘎未消”病方面积累了丰富的治疗方法和传统用药经验,临床疗效显著,并且不良反应小。

柳蒿 *Artemisia integrifolia* Linn.系菊科多年生草本植物,蒙文名奥孙-协日乐吉,是内蒙古呼伦贝尔地区达斡尔民族的菜肴“库木勒”,营养丰富,被认为是“清热解酒”的绿色蔬菜。民间流传柳蒿具有清除巴达干黏液、健脾去火、解毒消炎、破血行淤、下气通络、利尿等功效,对高脂血症、高血压、糖尿病、脂肪肝、肝硬化等均有特殊的疗效和防治作用^[10]。经查阅近年相关国内外文献可知,人们对柳蒿的使用仅仅停留在民间流传中,国内外专家和学者对其高脂血症的治疗作用未见报道。本课题组前期考察了柳蒿不同溶剂提取物对高脂血症模型大鼠的调血脂作用,发现其石油醚和二氯甲烷等亲脂性溶剂提取物的调血脂作用明显高于醋酸乙酯

和正丁醇等亲水性溶剂提取物。从其石油醚和二氯甲烷提取物中主要分离得到化合物有脂肪酸类、炔烃类、苯丙素类及萜类等^[11-13]。这些化合物具有多种生物活性,如兰香油奥具有调血脂^[14]、抗炎、抗过敏和抗溃疡的作用^[15];丁香酚具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗过敏、解热、抑制血小板凝聚等作用^[16]; α -亚麻酸能够降低血清TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、极低密度脂蛋白水平,升高血清高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平^[17-18]。本研究以柳蒿脂溶性部位为切入点,采用高脂乳剂建立大鼠高脂血症模型,检测大鼠血脂水平、肝脏功能及脂质代谢相关蛋白表达,初步探讨柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠脂质代谢及肝脏的影响。

1 材料

1.1 动物

SPF级雄性SD大鼠50只,体质量(200±20)g,7周龄,购自辽宁长生实验动物中心,动物合格证号SCXK(辽宁)2017-0001。动物饲养于内蒙古民族大学蒙医药学院动物室,室温24℃,湿度40%,自由进食饮水,适应性饲养1周。动物实验经内蒙古民族大学附属医院国家药物临床研究机构伦理委员会批准(批准号NM-LL-2018-05-22-01)。

1.2 药材

柳蒿的嫩芽采集于内蒙古呼伦贝尔,经内蒙古民族大学蒙医药学院蒙药教研室布和巴特尔教授鉴定为菊科多年生草本植物柳蒿*A. integrifolia* Linn.的嫩芽。柳蒿芽标本(No.20170627)保存于内蒙古民族大学蒙医药学院蒙药化学教研室。

1.3 药品与试剂

TC试剂盒(批号27630201)、TG试剂盒(批号27979801)、HDL-C试剂盒(批号24236201)、LDL-C试剂盒(批号23441801)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)试剂盒(批号33628901)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)试剂盒(批号32409501)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)

试剂盒(批号 3549601)、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)试剂盒(批号 34940601)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒(批号 34856601)购自上海罗氏诊断产品有限公司;辛伐他汀片(批号 H20083840)由上海信谊万象药业股份有限公司提供;苏木素-伊红(HE)染色液(批号 20190104)购自南京建成科技有限公司;中性树胶(批号 20190106)购自上海慈洋仪器有限公司;10%中性福尔马林固定液购自合肥博美生物;组织包埋盒(批号 19029)、黏附载玻片(批号 188105)、显微镜盖玻片(批号 132012)购自江苏世泰实验器材有限公司;单磷酸腺苷活化蛋白激酶 α (adenosine monophosphate-activated protein kinase α , AMPK α)抗体(批号 WL02254)、固醇调节元件结合蛋白-1(sterol regulatory element binding protein-1, SREBP-1)抗体(批号 WL02093)、血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1)抗体(批号 WL02474)购自沈阳万类生物科技有限公司;HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(批号 31460)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;山羊血清(批号 SL038)、DAB 显色液(批号 DA1010)购自北京索莱宝科技有限公司。

1.4 仪器

Cobas c311 型全自动生化分析仪(上海罗氏诊断产品有限公司);HITACHI 型低温离心机(日本国茨城县常陆那珂市);SOPTOP 型电子天平(舜宇恒平仪器有限公司);BG10-3A 型高速冷冻离心机(北京时代北利离心机有限公司);BD/BC-518C 型超低温冰箱(浙江星星冷链集成有限公司);EG1150H 型包埋机、RM2235 型切片机、DM2500 型光学显微镜(德国 Leica 公司);SFG-02B 型烘箱(湖北恒丰医疗器械);BX51 型数码照相显微镜(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 柳蒿脂溶性部位的制备

称取柳蒿芽 20 kg,用二氯甲烷回流提取,提取液回收二氯甲烷,得到二氯甲烷提取物。二氯甲烷提取物上硅胶色谱柱,先用石油醚洗脱,然后用石油醚-醋酸乙酯(20:1)洗脱。石油醚-醋酸乙酯(20:1)洗脱液减压回收溶剂,即得柳蒿芽亲脂性部位(得率为 24%)。为了考察柳蒿芽脂溶性部位化学信息及主成分的相对含量,本课题组前期研究中首先利用各种色谱技术对其进行分离,并经分离得到

化合物的核磁共振数据分析,确定其结构式;然后采用气相色谱法对其主成分进行含量测定^[11-13,19]。

2.2 高脂乳剂配制方法^[20-21]

高脂乳剂配方成分为 15%猪油、5%胆固醇、12.5%聚山梨酯 80、10%丙二醇、1%脱氧胆酸钠和 0.5%丙基硫氧嘧啶。将猪油 30 g,放在 200 mL 烧杯中,磁力搅拌器上加热,40 °C 水浴中加热溶化,加入 10 g 胆固醇搅拌溶解,再加丙基硫氧嘧啶 1 g,充分搅拌,加入适量水和聚山梨酯 80,不断搅拌至乳化现象产生。同时,在另一烧杯中加入 30 mL 蒸馏水和丙二醇 20 mL,加热至 60 °C,然后加入胆盐 2 g,充分搅拌直到完全溶解,然后缓慢加水溶至 100 mL。合并 2 个烧杯溶液至 200 mL,即可得到稳定的脂肪乳剂。

2.3 高脂血症大鼠模型建立及给药

75 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、辛伐他汀(4 mg/kg)组和柳蒿脂溶性部位低、高剂量(90、180 mg/kg)组,每组 15 只。模型组和各给药组 ig 高脂乳剂(15 mL/kg)建立高脂血症模型^[22],对照组 ig 等体积蒸馏水,1 次/d,连续 10 d。第 11 天禁食不禁水 12 h 进行尾静脉采血,3500 r/min 离心 10 min,取血清检测血脂四项指标,评估造模效果。以 TC、TG 和 LDL-C 水平均显著升高,HDL-C 水平显著降低作为造模成功依据。

去除造模未成功大鼠,每组各留下 10 只。每天上午各给药组 ig 以玉米油助溶的相应药物,对照组和模型组 ig 等体积玉米油;同时每天下午照造模方法模型组和各给药组 ig 高脂乳剂(15 mL/kg),连续 30 d。大鼠禁食不禁水 12 h,ip 10%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉,腹主动脉采血 5 mL,3500 r/min 离心 10 min,取血清保存于-20 °C 冰箱中,用于血脂四项和肝功能五项指标的检测。取肝组织用 10%中性甲醛固定,用于制作石蜡切片、HE 染色及免疫组化实验。

2.4 观察大鼠体质量变化

实验期间每 10 天称定大鼠体质量 1 次,以调整 ig 剂量,并观察柳蒿脂溶性部位对大鼠体质量变化的影响,并进行组间统计学分析。

2.5 观察大鼠肝脏外观形态

给药结束后,各组大鼠麻醉后暴露肝脏,拍照并观察大鼠肝脏外观颜色、脂肪附着、质地等情况。

2.6 血清中血脂四项及肝功能五项指标检测

采用全自动生化分析仪检测大鼠血清中血脂四

项(TC、TG、LDL-C、HDL-C)及肝功能五项(ALT、AST、ALP、DBIL、TBIL),其中TG、ALP和AST检测用比色法,TC、HDL-C和LDL-C检测用酶比色法,TBIL和DBIL检测用重氮法,ALT检测用IFCC法检测。

2.7 大鼠肝组织 HE 染色观察

取各组大鼠肝组织,石蜡包埋,制作切片(5 μm),经HE染色,于显微镜下观察并拍照。

2.8 免疫组化法检测肝脏组织中 AMPKα、SREBP-1 和 VCAM1 蛋白表达

各组大鼠肝组织切片按文献方法^[21]脱蜡至水,抗原修复及切片染色,于显微镜下观察并拍照,分析脂代谢相关蛋白阳性表达区域。采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统测定所采集全部图像的阳性表达区域吸光度(A)和面积,计算平均A值,进行组间比较分析。

2.9 统计分析

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。

3 结果

3.1 柳蒿脂溶性部位的制备

从 20 kg 柳蒿芽中制备得到柳蒿芽亲脂性部位 4.8 kg,其得率为 24%。柳蒿芽亲脂性部位化学信息分离鉴定结果^[11-13]可知,其含有棕榈酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、12,13-环氧-亚麻酸、chamazulene、

acetylene(E)-2、acetylene(E)-3、acetylene(Z)-4、丁香酚、integracid、(+)-(S)-dihydro-ar-curcumene、(+)-(S)-ar-curcumene、(+)-(S)-dihydro-ar-turmerone、(+)-(S)-ar-turmerone。这些化合物中除 5 个脂肪酸类外,还有 3 个炔类、2 个简单苯丙素和 5 个倍半萜类化合物,相对分子质量小,均具有挥发性。在此基础上,经本课题组对柳蒿芽脂溶性部位的气相色谱分析得知,其主含成分(+)-(S)-dihydro-ar-curcumene、(+)-(S)-ar-curcumene、(+)-(S)-dihydro-ar-turmerone、(+)-(S)-ar-turmerone、丁香酚、棕榈酸、亚油酸、亚麻酸、12,13-环氧-亚麻酸、油酸和 chamazulene 在不同批次样品中平均质量浓度分别为 1.021、0.838、0.456、0.732、0.703、0.407、0.296、0.672、0.278、0.266、0.377 mg/mL^[19]。

3.2 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠体质量的影响

如表 1 所示,实验期间,与对照组比较,模型组大鼠体质量均显著升高($P < 0.05$);给药第 30 天,与模型组比较,柳蒿脂溶性部位高剂量组大鼠体质量显著降低($P < 0.05$)。

3.3 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠肝脏外观的影响

如图 1 所示,对照组大鼠肝脏颜色鲜红,表面光滑,无结节,无脂肪附着,边缘锐利,质地柔韧,各肝叶间无黏连;模型组大鼠肝脏颜色略呈土黄色,

表 1 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of liposoluble parts from *A. integrifoli* on body weight of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g			
		第 0 天	第 10 天	第 20 天	第 30 天
对照	—	224.41 ± 12.18	248.03 ± 12.23	269.07 ± 14.72	288.33 ± 16.17
模型	—	249.22 ± 13.78 [#]	267.23 ± 20.03 [#]	284.31 ± 29.43 [#]	324.26 ± 18.94 [#]
辛伐他汀	4	252.16 ± 11.54	261.04 ± 29.18	277.41 ± 31.09	295.18 ± 34.51
柳蒿脂溶性部位	90	251.89 ± 13.02	265.83 ± 30.24	280.38 ± 35.17	300.41 ± 31.27
	180	254.93 ± 14.22	262.77 ± 33.60	273.02 ± 36.29	289.93 ± 33.82 [*]

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下表同

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below tables

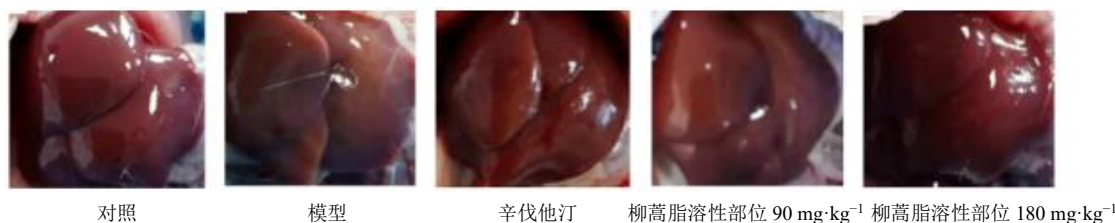


图 1 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠肝脏外观的影响

Fig. 1 Effect of liposoluble parts from *A. integrifoli* on liver appearance of hyperlipidemia rats

表面粗糙而油腻，且质地变脆。与模型组比较，辛伐他汀组大鼠肝脏颜色暗红，体积稍小，表面光滑，油腻感轻，质地柔韧；柳蒿脂溶性部位组大鼠肝脏颜色暗红，体积稍小，表面光滑，油腻感轻，接近对照组肝脏。

3.4 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平的影响

如表 2 所示，与对照组比较，模型组大鼠血清

中 TC、TG 和 LDL-C 水平均明显升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)，HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较，各给药组大鼠血清中 TC 和 LDL-C 水平均明显降低 ($P < 0.01$)；柳蒿脂溶性部位低、高剂量组大鼠血清中 TG 水平明显降低 ($P < 0.01$)，HDL-C 水平显著升高 ($P < 0.05$)。与辛伐他汀组比较，柳蒿脂溶性部位低、高剂量组大鼠血清中 TG 水平明显降低 ($P < 0.05$)。

表 2 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of liposoluble parts from *A. integrifoli* on TC, TG, LDL-C and HDL-C levels in serum of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	1.44 ± 0.18	0.30 ± 0.06	0.32 ± 0.06	2.09 ± 0.21
模型	—	2.47 ± 0.19 ^{##}	0.34 ± 0.07 [#]	0.91 ± 0.06 ^{##}	1.64 ± 0.13 [#]
辛伐他汀	4	1.80 ± 0.13 ^{**}	0.30 ± 0.08	0.46 ± 0.01 ^{**}	1.68 ± 0.19
柳蒿脂溶性部位	90	1.90 ± 0.20 ^{**}	0.21 ± 0.07 ^{**△}	0.48 ± 0.11 ^{**}	1.86 ± 0.21 [*]
	180	1.88 ± 0.12 ^{**}	0.22 ± 0.06 ^{**△}	0.46 ± 0.07 ^{**}	1.83 ± 0.17 [*]

与辛伐他汀组比较：△ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ ，表 3 同
△ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ vs simvastatin group, same as Table 3

3.5 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活性及 DBIL、TBIL 水平的影响

如表 3 所示，与对照组比较，模型组大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活性及 DBIL、TBIL 水平均明显升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组比较，各给药组大鼠血清中 ALT、ALP 活性均明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，柳蒿脂溶性部位高剂量组大鼠血清中 AST 活性明显降低 ($P < 0.01$)，辛伐他汀组和柳蒿脂溶性部位高剂量组大鼠血清中 TBIL 水平明显降低 ($P <$

0.05)。与辛伐他汀组比较，柳蒿脂溶性部位低、高剂量组大鼠血清中 ALP 活性明显降低 ($P < 0.05$)，柳蒿脂溶性部位高剂量组大鼠血清中 AST 活性明显降低 ($P < 0.01$)。

3.6 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠肝组织病理变化的影响

如图 2 所示，对照组大鼠肝小叶结构完整，呈不规则形，核圆形蓝色位于细胞中央，胞质红色，肝细胞成条索状排列形成肝板，未见脂滴、脂肪样

表 3 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活性及 DBIL、TBIL 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of liposoluble parts from *A. integrifoli* on ALT, AST, ALP activities and DBIL, TBIL levels in serum of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	DBIL/(μmol·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	45.98 ± 6.54	77.68 ± 4.86	164.00 ± 16.24	1.03 ± 0.19	0.88 ± 0.29
模型	—	59.18 ± 6.34 ^{##}	114.20 ± 9.10 ^{##}	247.50 ± 19.10 [#]	1.48 ± 0.23 [#]	1.70 ± 0.12 ^{##}
辛伐他汀	4	40.95 ± 8.46 ^{**}	108.68 ± 5.78	179.29 ± 13.62 [*]	1.25 ± 0.19	1.25 ± 0.27 [*]
柳蒿脂溶性部位	90	47.92 ± 5.07 [*]	107.98 ± 8.23	153.80 ± 11.12 ^{*△}	1.40 ± 0.18	1.58 ± 0.16
	180	44.08 ± 5.55 ^{**}	78.12 ± 7.27 ^{**△△}	150.83 ± 11.55 ^{**△}	1.33 ± 0.33	1.05 ± 0.26 [*]

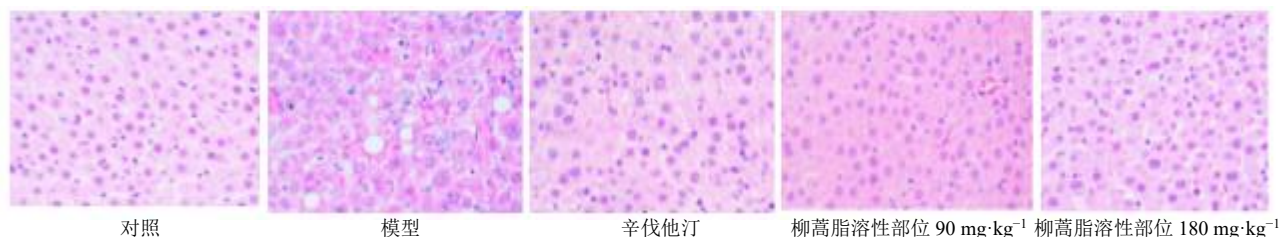


图 2 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠肝组织病理变化的影响 (HE, ×200)

Fig. 2 Effect of liposoluble parts from *A. integrifoli* on pathological changes of liver tissue of hyperlipidemia rats (HE, ×200)

变性、气球样变性等。模型组大鼠肝小叶结构不完整，呈不规则形，细胞内可见大量脂滴，明显脂肪样变性、肝组织内可见空泡状，气球样改变。个给药组大鼠肝小叶结构完整，未见脂滴、脂肪样变性、空泡样变性等，可见少量炎细胞浸润。

3.7 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠肝组织 AMPK α 、SREBP-1 和 VCAM1 蛋白表达的影响

如图 3 和表 4 所示，与对照组比较，模型组大

鼠肝组织 AMPK α 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$)，SREBP-1 和 VCAM1 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组比较，各给药组大鼠肝组织 SREBP-1 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)；辛伐他汀组和柳蒿脂溶性部位高剂量组大鼠肝组织 AMPK α 蛋白表达水平均明显升高 ($P < 0.05$)，VCAM1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。

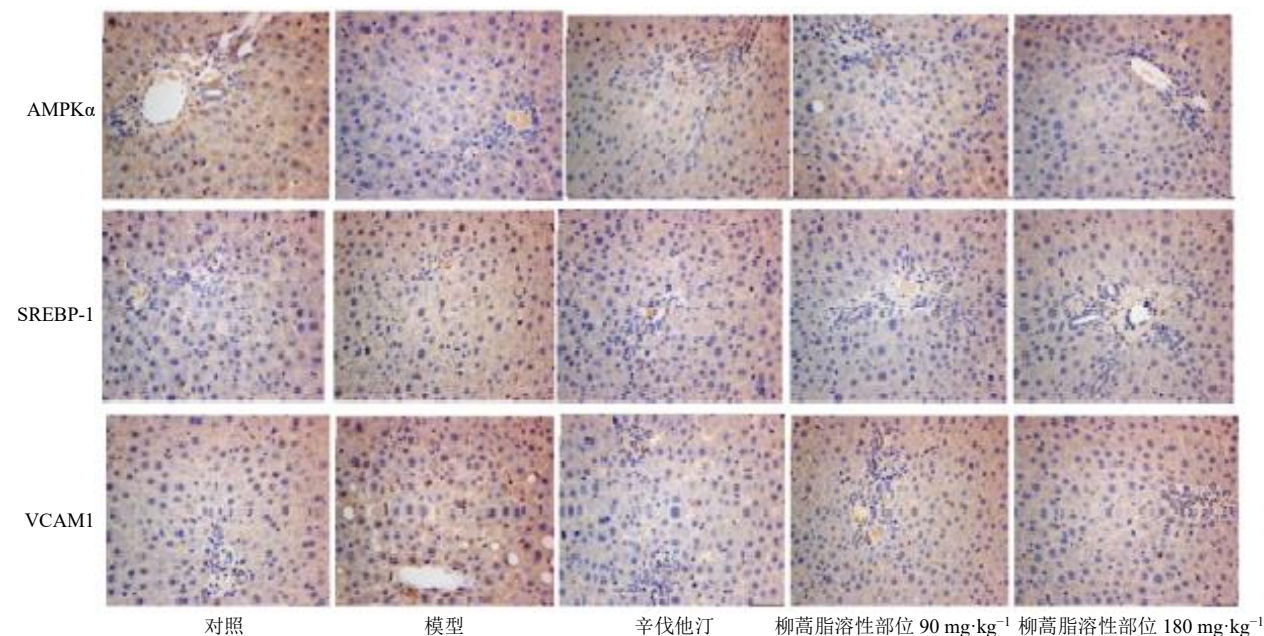


图 3 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠肝组织 AMPK α 、SREBP-1 和 VCAM1 蛋白表达的影响 ($\times 400$)

Fig. 3 Effect of liposoluble parts from *A. integrifoli* on AMPK α , SREBP-1 and VCAM1 protein expressions in liver tissue of hyperlipidemia rat ($\times 400$)

表 4 柳蒿脂溶性部位对高脂血症大鼠肝组织 AMPK α 、SREBP-1 和 VCAM1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of liposoluble parts from *A. integrifoli* on AMPK α , SREBP-1 and VCAM1 protein expressions in liver tissue of hyperlipidemia rat ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	平均 A 值		
		AMPK α	SREBP-1	VCAM1
对照	—	0.156 ± 0.021	0.023 ± 0.006	0.052 ± 0.010
模型	—	0.133 ± 0.025 [#]	0.038 ± 0.010 ^{##}	0.063 ± 0.012 [#]
辛伐他汀	4	0.159 ± 0.018 [*]	0.022 ± 0.005 ^{**}	0.044 ± 0.018 [*]
柳蒿脂溶性部位	90	0.136 ± 0.016	0.028 ± 0.011 [*]	0.059 ± 0.008
	180	0.154 ± 0.016 [*]	0.029 ± 0.009 [*]	0.050 ± 0.010 [*]

4 讨论

血脂异常防治中关于饮食疗法的内容包括饮食控制、减轻体质量、增加体力劳动。此方案旨在改变饮食习惯、调整膳食结构，以趋于达到合理健康的长期控制饮食，并能得到显著疗效。因此本研究在治疗过程中仍然持续 ig 高脂乳剂，避免调整膳食结构后血脂异常自然恢复后对实验造成干扰，尽量

减少科研误差率的发生。

大量摄入高脂饮食是诱发高脂血症的重要因素，为此，本研究参照高脂乳剂 ig 法^[22]建立高脂血症大鼠模型。造模 10 d，从血清中血脂四项指标检测结果表明，该模型能够在短期内形成，导致大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 水平升高，而 HDL-C 水平降低。柳蒿脂溶性部位干预能显著降低血清中 TC、

TG 和 LDL-C 水平, 升高 HDL-C 水平, 其高剂量组对 TG 的降低较辛伐他汀组显著。

随着实验进行, 对照组大鼠体质量呈现稳步增长趋势, 模型组大鼠体质量也稳步增长, 且体质量高于对照组。柳蒿芽脂溶性部位组大鼠体质量增长较平稳, 治疗 10 d 内体质量高于对照组, 而治疗 20、30 d 时, 与对照组比较大鼠体质量无显著差异。从肝脏外观分析, 模型组肝脏颜色略呈土黄色, 表面粗糙而油腻, 可见明显脂代谢异常。而辛伐他汀组和柳蒿芽脂溶性部位组大鼠肝脏颜色暗红, 表面光滑, 油腻感轻, 这说明柳蒿芽脂溶性部位具有一定的促进肝脏脂肪代谢作用。肝组织病理学结果表明, 柳蒿芽脂溶性部位能够调节血脂代谢异常, 保护肝脏, 避免肝细胞脂滴形成, 延缓肝脏脂质化。

临床常用 ALT、AST、ALP、TBIL、DBIL 五项指标来评价肝脏的各种功能受损情况^[23]。肝细胞受损时以上指标升高, 其升高的程度与肝细胞受损的程度呈正相关^[24]。肝功能五项指标检测结果显示, 该模型导致肝功能五项均升高, 经柳蒿芽脂溶性部位干预后, ALT、AST、ALP 活性和 TBIL、DBIL 水平显著降低, 其中高剂量组对 AST、ALP 和 TBIL 的降低作用显著优于辛伐他汀, 表明柳蒿芽脂溶性部位对血脂异常引起的肝损伤具有一定保护作用。

AMPK 在调节机体能量代谢的平衡方面起总开关作用, 近期成为肥胖治疗的新靶点。研究显示, 肥胖会导致肝组织中 AMPK α 含量和活性降低^[25-26]。SREBP-1 也是 TG 代谢调控网络中的关键基因, SREBP-1 的过度表达会引起脂代谢紊乱。肖璐^[27]研究发现化湿祛浊方能通过抑制高脂血症大鼠 SREBP-1 基因表达, 使 TG 的合成减少。VCAM1 是一种重要的黏附分子, 正常状态下呈低表达或不表达, 在高脂血症中表达增多。研究表明, 血脂异常是动脉粥样斑块形成的危险因素, 而且常伴随着 VCAM-1 水平的上升^[28]。VCAM-1 的表达增多与 TC、LDL-C 水平呈正相关。

本研究中柳蒿芽脂溶性部位高剂量组大鼠肝组织 SREBP-1、VCAM1 蛋白表达水平较模型组显著低, 而 AMPK α 蛋白表达水平显著升高。同时, 柳蒿芽脂溶性部位组大鼠血清中 TG、TC、LDL-C 水平也较模型组显著降低, 表明柳蒿芽脂溶性部位可能通过下调 SREBP-1、VCAM1 蛋白表达水平并上调 AMPK α 蛋白表达水平, 从而抑制 TG、TC、LDL-C 水平。这一结果与辛伐他汀能对内源性胆固醇合成

进行有效抑制, 并对血脂进行有效调节的作用特点基本一致^[29-30]。

综述, 柳蒿芽脂溶性部位对实验性高脂血症具有显著的调血脂作用和保肝作用, 其作用机制可能为通过调节 AMPK α 、SREBP-1 和 VCAM1 蛋白的表达, 从而调控血脂中 TC、TG 和 LDL-C 水平, 维持体内脂质代谢平衡, 避免肝脂化。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 哈斯高娃. 蒙医放血疗法与高脂血症 [J]. 亚太传统医药, 2013, 9(11): 16-17.
- [2] Gao H L, Long Y Z, Jiang X Q, *et al.* Beneficial effects of Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*) on hyperlipidemia in high-fat-fed hamsters [J]. *Exp Gerontol*, 2013, 48(6): 572-578.
- [3] 宋捷, 钟荣玲, 夏智, 等. 中药肝毒性研究方法技术的新进展及其应用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 41-48.
- [4] Jain K S, Kathiravan M K, Somani R S, *et al.* The biology and chemistry of hyperlipidemia [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15(14): 4674-4699.
- [5] Li W H, Wang D X, Song G H, *et al.* The effect of combination therapy of allicin and fenofibrate on high fat diet-induced vascular endothelium dysfunction and liver damage in rats [J]. *Lipids Health Dis*, 2010, 9: 131.
- [6] Félétou M, Cohen R A, Vanhoutte P M, *et al.* TP receptors and oxidative stress hand in hand from endothelial dysfunction to atherosclerosis [J]. *Adv Pharmacol*, 2010, 60: 85-106.
- [7] Ghule B V, Ghante M H, Saoji A N, *et al.* Antihyperlipidemic effect of the methanolic extract from *Lagenaria siceraria* Stand. fruit in hyperlipidemic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 124(2): 333-337.
- [8] Kwak Y S, Kyung J S, Kim J S, *et al.* Anti-hyperlipidemic effects of red ginseng acidic polysaccharide from Korean red ginseng [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(3): 468-472.
- [9] 好必斯嘎拉图. 试论高脂血症的预防与治疗 [J]. 中国蒙医药, 2010, 3(10): 25-26.
- [10] 托娅, 金晓红. 达斡尔人喜食: 柳蒿芽 [J]. 中国民间疗法, 2007, 15(8): 10.
- [11] 王青虎, 额尔敦布拉嘎, 徐艳华, 等. 柳蒿芽化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2018, 53(20): 1726-1728.
- [12] 照日格图, 吴双荣, 那仁朝格图, 等. 柳蒿芽石油醚提取物中脂肪酸类化合物的分离鉴定 [J]. 内蒙古民族大学学报: 自然科学版, 2016, 31(4): 331-332.
- [13] Wang Q H, Hao J S, Xu Y H, *et al.* Structure elucidation of A new iridoid from *Artemisia integrifolia* [J]. *Rec Nat Prod*, 2018, 12(6): 544-548.

- [14] Rekka E, Chrysselis M, Siskou I, *et al.* Synthesis of new azulene derivatives and study of their effect on lipid peroxidation and lipoxygenase activity [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(7): 904-907.
- [15] Yanagisawa T, Kosakai K, Tomiyama T, *et al.* Studies on anti-ulcer agents. II. Synthesis and anti-ulcer activities of 6-isopropylazulene-1-sodium sulfonate derivatives [J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(12): 3355-3358.
- [16] 邱电, 张魁华, 方炳虎. 丁香酚的药理作用 [J]. *动物医学进展*, 2007, 28(8): 101-103.
- [17] 刘志皋. 食品营养学 [M]. 第2版. 北京: 中国轻工业出版社, 2004: 102-109.
- [18] 钟耀广. 功能性食品 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 173-178.
- [19] 王青虎, 张国军, 何祥, 等. 气相色谱法同时测定柳蒿芽脂溶性部位中 11 个有效成分 [J]. *中国药学杂志*, 2021, 56(5): 346-350.
- [20] 朱竟赫, 赵金明, 秦文艳, 等. 高脂血症实验动物模型研究概述 [J]. *实验动物科学*, 2012, 29(2): 48-52.
- [21] 孙赫, 李文雄. 高脂血症大鼠模型几种造模方法的比较 [J]. *动物医学进展*, 2014, 35(3): 78-82.
- [22] 石鹤坤, 张宏, 杜青云, 等. 三种高脂乳剂诱导实验性大鼠高脂血症模型的比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2012, 22(9): 55-57.
- [23] Tai C J, Choong C Y, Shi Y C, *et al.* *Solanum nigrum* protects against hepatic fibrosis via suppression of hyperglycemia in high-fat/ethanol diet-induced rats [J]. *Molecules*, 2016, 21(3): 269.
- [24] 李红品, 朱虹宇, 高兴, 等. 基于特异质大鼠胆红素相关转运体功能抑制探讨首乌藤肝损伤机制 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(18): 3591-3595.
- [25] 丁晓洁, 王佑民, 王丽萍. 高脂饮食对大鼠肝脏组织 AMPK 表达及其活性的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2009, 44(6): 680-683.
- [26] 王春彬, 高大中. 高脂血症兔主动脉 NF- κ B、VCAM-1 和 VEGF 的表达及氟伐他汀的影响 [J]. *中国心血管病研究*, 2008(5): 379-382.
- [27] 肖璐. 化湿祛浊方通过 SREBP1、PPAR α 调节甘油三酯代谢的机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [28] 雷宇, 秦玲, 汲宏磊, 等. 动脉粥样硬化兔血清中血管细胞黏附分子-1 的表达及其与血脂相关性的研究 [J]. *中国老年学杂志*, 2006, 26(4): 532-534.
- [29] 彭小丽. 辛伐他汀在稳定血液透析患者的药物代谢动力学特征分析 [J]. *中国处方药*, 2014, 12(12): 36-37.
- [30] 史欣. 基于辛伐他汀对厄贝沙坦药代动力学影响的实验探索 [J]. *中国医药指南*, 2014, 12(31): 69-70.

[责任编辑 李亚楠]