

## 普罗布考与阿托伐他汀联合用药对高脂饮食 自发性高血压大鼠血脂的影响

衣桂燕<sup>1</sup>, 杨庭树<sup>2</sup>, 李云芝<sup>2</sup>, 张华巍<sup>2</sup>

[摘要] 目的 评价普罗布考和阿托伐他汀联合用药的调脂作用。方法 将 92 只雄性自发性高血压大鼠随机分为普通饲料 + 生理盐水组(C 组)、高脂饲料 + 生理盐水组(M 组)、高脂饲料 + 普罗布考组(P 组)、高脂饲料 + 阿托伐他汀组(A 组)和高脂饲料 + 阿托伐他汀 + 普罗布考组(P + A 组),实验 8 周后处死。实验前及实验结束时均抽血查血脂,包括总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),以及肝功能,如谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)。结果 高脂饮食各组动物血清 TC、LDL-C、HDL-C 水平较实验前均明显升高( $P < 0.01$ ),TG 明显下降( $P < 0.01$ );各用药组动物(尤其是 P + A 组)TC、LDL-C 均明显低于 M 组( $P < 0.01$ );P + A 组血清 HDL 水平明显低于 M 组和 A 组( $P < 0.01$ ),TG 水平明显低于 M 组( $P < 0.01$ ),并低于 P 组( $P < 0.05$ );A 组 TG 水平亦明显低于 M 组( $P < 0.01$ )。高脂饮食各组动物血清 GPT、GOT 水平均较实验前明显升高(M 组最高),且 P + A 组明显低于 A 组(均  $P < 0.01$ )。结论 高脂饮食可导致血脂紊乱及肝功能损害;普罗布考与阿托伐他汀联合用药可增强调脂作用,且较两者单独用药效果更佳;两者联合用药可减轻高脂饮食对肝功能的损害,并减轻阿托伐他汀的肝毒性。

[关键词] 普罗布考;阿托伐他汀;自发性高血压大鼠;高脂血症;肝功能

Effects of Combination Therapy of Probucol and Atorvastatin on Adjusting Lipids in Spontaneously Hypertensive Rat with High Lipids Diet YI Gui-yan, YANG Ting-shu, LI Yun-zhi, et al. The General Hospital of Beijing Military Region, Beijing 100700, China

**Abstract:** **Objective** To evaluate the effects of combination therapy of probucol and atorvastatin on adjusting lipids. **Methods** 92 spontaneously hypertensive rats (SHR) were randomly divided into the group C (control group) fed with normal diet and normal saline (NS), and group M, group A, group P and group P + A all fed with high lipids diet. At the same time, group M was added with NS, group P with probucol (150 mg/kg/day), group A with atorvastatin (10 mg/kg/day), and group P + A with probucol (150 mg/kg/day) plus atorvastatin (10 mg/kg/day). After 8 weeks, all rats were killed. The total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), glutamic-pyruvic transaminase (GPT) and glutamic-oxal(o)acetic transaminase (GOT) were measured respectively before and after experiment. **Results** The serum levels of TC, LDL-C, HDL-C in every group with high lipids diet were obviously higher than baseline data ( $P < 0.01$ ), but TG level decreased. The serum levels of TC and LDL-C in the group P, group A and group P + A were significantly lower than that in the group M ( $P < 0.01$ ), especially in the group P + A. The serum level of HDL-C in the group P + A was obviously lower than that in the group M and group A ( $P < 0.01$ ). The serum levels of TG in the group P + A and group A were significantly lower than that in the group M ( $P < 0.01$ ), and that in the group P + A was lower than that in the group P ( $P < 0.05$ ). The serum levels of GPT and GOT in every group with high lipids diet (especially in the group M) were higher than ever ( $P < 0.01$ ), and that in the group P + A was obviously lower than that in the group A ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** High lipids diet may due to the disorder of serum lipids and liver dysfunction. Combination therapy of probucol and atorvastatin can strengthen the effects on adjusting lipids, furthermore the effects are stronger than that of monotherapy. Combination therapy may reduce the hepatic damage that high lipids diet duo to, and decrease the hepatic negative effects of atorvastatin.

**Key words:** probucol; atorvastatin; spontaneously hypertensive rat; hyperlipemia; liver function

[中图分类号] R972.6 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2008)10-0934-03

[本文著录格式] 衣桂燕, 杨庭树, 李云芝, 等. 普罗布考与阿托伐他汀联合用药对高脂饮食自发性高血压大鼠血脂的影响 [J]. 中国康复理论与实践, 2008, 14(10): 934-936.

近年来,高脂血症的发病率和检出率明显上升,在非药物治疗措施(如饮食调节、运动锻炼)和单种调脂药物治疗不能使

血脂达标的情况下,调脂药物的联合应用受到重视。普罗布考与阿托伐他汀联合用药为近几年提出的调脂治疗联合方案之一。联合用药的调脂效果理论上应优于两药单独使用,且联合应用可减轻阿托伐他汀的剂量相关肝毒性。但目前对此仍缺乏进一步的研究。本研究以自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)作为研究对象,予以高脂饮食,同时联合应用阿托伐他汀和普罗布考,观察其调脂作用及对肝脏的安全性,为临床进一步了解调脂药物的联合治疗提供实验依据。

作者单位: 1. 北京军区总医院心肺血管中心三区,北京市 100700; 2. 解放军总医院心血管内科,北京市 100853。作者简介: 衣桂燕(1975-),女,山东烟台人,主治医师,主要研究方向:冠心病和高血脂症。通讯作者: 杨庭树(1953-),男,四川富顺县人,主任医师,教授,硕士研究生导师,主要研究方向:冠心病介入治疗和心力衰竭综合防治。

1 材料与方法

1.1 实验材料 健康普通级 SHR 92 只,雄性,12 周龄,体重(267.48±7.62)g,购自北京市实验动物中心,实验动物合格证书编号:SCXK(京)2002-0003。

饲料:普通饲料为大鼠生长繁殖期标准配方;高脂饲料配方为:4%胆固醇,10%蛋黄粉,10%猪油,5%蔗糖,0.5%胆盐、0.2%丙基硫氧嘧啶,70.3%基础饲料,均由北京科奥协力有限公司加工制作。合格证书编号:SCXK(京)2005-0007。

实验药物和试剂:普罗布考(之乐)由山东齐鲁制药有限公司提供原药制剂,批号:20050805,临用前用 0.5%羧甲基纤维素钠溶液配制。阿托伐他汀(立普妥)由德国 Godecke GmbH 公司生产,大连辉瑞制药有限公司提供,批号:65837015。乙醚、甲醛均为市售分析纯。

实验仪器:Bonso MODEL-1238 电子称重仪、大鼠尾动脉无创测压仪(HX II 型动物血压心率测量仪、Medlab U/4C501 生物信号采集处理系统)、HENG PING FA 1104 上皿电子天平、德国 Heraeus Biofuge 22R 型高速冷冻离心机。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 将大鼠随机分为 5 组:①C 组(标准对照组):12 只,予以普通饲料+生理盐水;②M 组(高脂模型组):20 只,予以高脂饲料+生理盐水;③P 组(普罗布考组):20 只,予以高脂饲料+普罗布考(150 mg/kg/d);④A 组(阿托伐他汀组):20 只,予以高脂饲料+阿托伐他汀(10 mg/kg/d);⑤P+A 组(联合用药组):20 只,予以高脂饲料+阿托伐他汀(10 mg/kg/d)+普罗布考(150 mg/kg/d)。

1.2.2 具体实验方法及步骤 大鼠购得后先以普通饲料适应性喂养 1 周,期间测尾动脉收缩压以确定高血压模型形成。1 周后禁食不禁水 12 h 以上,乙醚麻醉后眶后静脉丛采血,标本静置后离心,取上清液,测血脂、肝功能。抽血后按体重大小完全随机分组(详见实验分组)。按分组重新分窝,标记大鼠。随后各组开始喂饲相应的饲料,同时予以相应药物(详见实验分组)灌胃,1 次/d。每周于固定时间称重 1 次,根据体重调整用药量。实验 8 周后于禁食 12 h 后处死动物。以 20%乌拉坦注射液(5 ml/kg)腹腔注射麻醉后,开胸心腔内直接采血,采取与

实验前同样方法留取血清标本。

1.3 观测指标

1.3.1 血脂检测 实验前后测定,包括总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglyceride, TG)、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)。

1.3.2 肝功能检测 实验前后测定,包括谷丙转氨酶(glutamic pyruvic transaminase, GPT)、谷草转氨酶(glutamic oxaloacetic transaminase, GOT)。

以上指标于本院生化科使用日本日立公司 7600-020 型全自动生化分析仪检测,各指标均采用盲法测定。

1.4 统计学处理 计数资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,所有实验数据均采用 CHISS 统计软件进行统计分析。各组内前后变化比较采用配对资料 *t* 检验;组间横向比较定量资料采用方差分析。

2 结果

实验过程中,P 组和 A 组各死亡 2 只大鼠(2 只因肠梗阻;2 只因鼻咽出血被同窝大鼠咬死);P+A 组死亡 1 只(肺部大片坏死灶被纤维包裹,可能为灌胃时药物误注入气管所致);M 组死亡 4 只(3 只因肠梗阻,1 只因肺栓塞)。死亡大鼠均被剔除出组,其余大鼠列入统计分析范围。具体结果如下:

2.1 血脂水平的变化(见表 1) 实验 8 周后,高脂饮食各组 TC、LDL-C、HDL-C 均明显升高,而 TG 明显下降;普通饮食的 C 组 TC 升高,其余均无明显变化。高脂饮食各组 TC、LDL-C 水平均高于采用普通饮食的 C 组(均  $P<0.01$ )。用药各组(P 组、A 组和 P+A 组)TC、LDL-C 水平均明显低于 M 组(均  $P<0.01$ ),P+A 组低于 A 组和 P 组(分别为  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。

高脂饮食各组的 HDL-C 水平均明显高于采用普通饮食的 C 组( $P<0.01$ ),而 P 组明显低于 A 组和 M 组( $P<0.01$ ),但 A 组却高于 M 组和 P+A 组(分别为  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),P+A 组低于 M 组( $P<0.05$ ),其余各组无显著性差异。

实验结束时,高脂饮食各组与普通饮食的 C 组相比,TG 均明显降低( $P<0.01$ ),P+A 组与 A 组明显低于 M 组(分别为  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ );P+A 组、A 组低于 P 组(均  $P<0.05$ )。

表 1 实验前后各组动物血脂水平的变化( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)
基础值	83	1.54±0.09	0.84±0.21	0.13±0.09	1.44±0.67
C 组	12	1.95±0.03 <sup>a</sup>	0.89±0.45	0.28±0.17	1.59±0.58
P 组	18	7.45±1.38 <sup>b,c</sup>	0.54±0.09 <sup>b,c</sup>	4.26±0.46 <sup>b,c</sup>	3.25±1.16 <sup>b,c</sup>
A 组	18	6.40±1.94 <sup>b,c,d</sup>	0.38±0.16 <sup>b,c,d</sup>	3.83±1.21 <sup>b,c,d</sup>	5.97±1.52 <sup>b,c,e</sup>
P+A 组	19	5.07±1.52 <sup>b,c,e,f</sup>	0.36±0.21 <sup>b,c,d</sup>	1.86±0.85 <sup>b,c,e,g</sup>	3.73±1.41 <sup>b,c,g</sup>
M 组	16	11.97±1.31 <sup>b,c,e,g,h</sup>	0.61±0.26 <sup>b,c,g,h</sup>	8.15±1.32 <sup>b,c,e,g,h</sup>	4.85±1.43 <sup>b,c,e,g,h</sup>

注:a.与基础值比较, $P<0.05$ ;b.与基础值比较, $P<0.01$ ;c.与 C 组比较, $P<0.01$ ;d.与 P 组比较, $P<0.05$ ;e.与 P 组比较, $P<0.01$ ;f.与 A 组比较, $P<0.05$ ;g.与 A 组比较, $P<0.01$ ;h.与 P+A 组比较, $P<0.01$ 。

2.2 肝脏检测指标的变化 高脂饮食各组 8 周后 GPT、GOT 水平均较基础值明显升高( $P<0.01$ );C 组 GPT 也较基础值升高( $P<0.05$ ),但 GOT 无显著性差异。M 组、A 组和 P+A 组的血清 GPT、GOT 水平较 C 组明显升高(均  $P<0.01$ ),而 P 组与 C 组无显著性差异,M 组明显高于各用药组(均  $P<0.01$ ),而 A 组和 P+A 组均明显高于 P 组(均  $P<0.01$ ),P+A 组 GPT 水平明显低于 A 组( $P<0.01$ ),见表 2。

表 2 各组肝功能指标的变化( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	GPT(U/L)	GOT(U/L)
基础值	83	50.13±7.28	144.58±22.72
C 组	12	64.40±15.37 <sup>a</sup>	173.57±24.42
P 组	18	76.27±24.84 <sup>b</sup>	194.72±20.42 <sup>b</sup>
A 组	18	112.18±18.78 <sup>b,c,d</sup>	304.62±48.06 <sup>b,c,d</sup>
P+A 组	19	92.28±40.31 <sup>b,c,d,e</sup>	284.52±34.82 <sup>b,c,d</sup>
M 组	16	134.15±17.48 <sup>b,c,d,e,f</sup>	612.40±143.23 <sup>b,c,d,e,f</sup>

注:a.与基础值比较, $P<0.05$ ;b.与基础值比较, $P<0.01$ ;c.与 C

组比较,  $P < 0.01$ ; d. 与 P 组比较,  $P < 0.01$ ; e. 与 A 组比较,  $P < 0.01$ ; f. 与 P + A 组比较,  $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

阿托伐他汀是被研究较多的调脂药物。羟甲基戊二酰辅酶 A (hydroxy-methyl-glutaryl coenzyme A, HMG-CoA) 还原酶将 HMG-CoA 还原为  $\beta$ -甲基- $\beta$ - $\alpha$ -二羟戊酸是体内胆固醇合成的限速环节, 阿托伐他汀能竞争性抑制 HMG-CoA 还原酶, 从而抑制内源性胆固醇的合成。当肝细胞内胆固醇浓度降低时, 肝细胞膜的低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDL-R) 数目便代偿性增加, 使循环中更多的 LDL-C 及其前体进入肝脏与 LDL-R 结合而被清除, 从而使血浆 LDL-C 浓度降低。同时因胆固醇的合成受抑制, 极低密度脂蛋白胆固醇 (very low density lipoprotein, VLDL) 颗粒分泌和聚集, 从而引起 TG 浓度下降, 并升高 HDL-C 含量<sup>[1]</sup>。另外, 因阿托伐他汀由肝细胞色素 P450 (CYP) 3A4 代谢, 故有潜在的肝毒性。Newman 等汇总了 44 个已经完成的临床研究结果, 在接受阿托伐他汀治疗 (10~80 mg/d) 的 9 416 例患者中, 肝脏转氨酶持续升高超过正常上限 3 倍者占 0.5%<sup>[2]</sup>。大剂量的阿托伐他汀 (80 mg/d) 口服 GPT、GOT 升高至正常上限 3 倍以上的占 2.8%<sup>[1]</sup>。

普罗布考可抑制 HMG-CoA 还原酶和甲羟戊酸-焦磷酸脱羧酶 (mevalonate pyrophosphate decarboxylase, MPD), 从而抑制胆固醇的合成, 而且还可增强胆固醇酯转移蛋白 (cholesterol esters transfer protein, CETP) 的活性, 加强胆固醇逆向转运至肝, 经 LDL-R 清除。普罗布考亦可使肝细胞表面 LDL-R 数目和活性增加, 且可使 LDL<sub>1</sub> 向 LDL<sub>2</sub> 转化增加, 从而促进 LDL 代谢。通过以上途径, 普罗布考可有效降低血清 TC、LDL-C。另外, 普罗布考可改变 HDL-C 亚型, 使富含胆固醇的 HDL<sub>2b</sub> 向贫脂的颗粒小的 HDL<sub>3b</sub> 转变增加<sup>[3]</sup>。由于改变的是其中的胆固醇部分, 作为脂质转运体的 HDL 总分子数以及载脂蛋白部分并不改变, 故虽使血中 HDL-C 测定值下降, 但活性却明显增强, 更有利于胆固醇的代谢。普罗布考对 TG 影响较小。据报道, 普罗布考不仅无肝毒性, 而且可显著改善肝功能<sup>[4,5]</sup>。

日本学者 Takayama 等将普罗布考 (500 mg/d) 与阿托伐他汀 (10 mg/d) 联合应用与两种药物单独应用相对比, 结果治疗 6 个月后, 联合用药组 TC 和 LDL-C 水平显著降低, 且血管造影和血管内超声检查发现, 与用药前相比, 粥样斑块体积明显减小, 动脉管腔内径显著增加, 较两种药物单独应用效果更佳<sup>[6]</sup>。

本研究结果显示, 高脂饮食后各组大鼠血清 TC、LDL-C 和 HDL-C 均较实验前明显增高, 普罗布考和阿托伐他汀虽然均可有效降低高脂饮食 SHR 的 TC 和 LDL-C 水平, 但联合用药的效果明显优于单独用药, 与文献报道一致。普罗布考组 HDL-C 水平明显低于高脂模型组, 而阿托伐他汀组 HDL-C 较高脂模型组升高, 差异有统计学意义。本实验显示, 联合用药组 HDL-C 降低, 但与普罗布考组无显著性差异, 既往文献未见报道, 可能与阿托伐他汀升高 HDL-C 的幅度小于普罗布考降低 HDL-C 的幅度有关。各用药组 HDL-C 水平均较实验前基础值升高, 原因是高脂饮食本身在升高 TC 和 LDL-C 的同时, 也升高 HDL-C 水平, 高脂模型组 HDL-C 水平明显升高也反映此趋势。本实验结果还显示, 普罗布考对 TG 的影响较小, 与高脂模型组无显著性差异, 联合用药组降 TG 的效果与单用阿托伐他汀亦

无显著性差异。值得注意的是, 本实验显示 TG 水平在 8 周高脂饮食后反而明显低于实验前的基础水平 (已重复测定确认), 与既往文献报道的高脂饮食后 TG 升高不符, 可能与肝细胞被破坏有关, 具体原因尚待进一步明确。

高脂饮食、药物均可影响大鼠的肝脏功能。高脂饮食可通过脂质在肝脏的堆积、炎症、氧化等机制损伤肝细胞而引起肝脏转氨酶升高。普罗布考不仅本身对肝脏无损害, 而且在通过调脂、抗炎、抗氧化等机制减轻高脂饮食对肝脏的损害的同时, 还可促进胆汁酸合成, 促进胆汁酸排泄<sup>[7]</sup>, 从而改善肝功能, 这是其他药物所不具备的优势。联合用药对肝功能有何影响, 与高脂饮食对肝功能的损害、药物通过调脂、抗炎、抗氧化等机制减轻对肝功能的损害以及药物本身代谢对肝功能的影响等因素中何种因素占优势密不可分, 也与两种药物的剂量有关。本实验中联合用药对肝功能的改善弱于普罗布考组, 但优于阿托伐他汀组。

综上所述, 对于临床上严重脂质代谢紊乱的患者, 阿托伐他汀与普罗布考联合应用的调脂效果优于单一药物, 且可在一定程度上降低阿托伐他汀肝毒性的发生率, 尤其对肝功能受损危险度较高的患者, 更可优势互补, 明显减少阿托伐他汀加量导致的副作用的发生。

### [参考文献]

- [1] Ballantyne CM, Blazing MA, Hunninghake DB, et al. Effect on high-density lipoprotein cholesterol of maximum dose simvastatin and atorvastatin in patients with hypercholesterolemia: results of the Comparative HDL Efficacy and Safety Study (CHESS) [J]. Am Heart J, 2003, 146(5): 862—869.
- [2] Newman CB, Palmer G, Silbershatz H, et al. Safety of atorvastatin derived from analysis of 44 completed trials in 9,416 patients [J]. Am J Cardiol, 2003, 92(6): 670—676.
- [3] Bagdade JD, Kaufman D, Ritter MC, et al. Probucol treatment in hypercholesterolemic patients: effects on lipoprotein composition, HDL particle size, and cholesteryl ester transfer [J]. Atherosclerosis, 1990, 84(2-3): 145—154.
- [4] Merat S, Malekzadeh R, Sohrabi MR, et al. Probucol in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: an open-labeled study [J]. J Clin Gastroenterol, 2003, 36(3): 266—268.
- [5] Merat S, Malekzadeh R, Sohrabi MR, et al. Probucol in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: Double blind randomized controlled study [J]. J Hepatol, 2003, 38(4): 414.
- [6] Takayama T. Aggressive lipid-lowering therapy for secondary prevention in patients with acute coronary syndrome: Volumetric and echogenicity analysis using intravascular ultrasound [C]// The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Tokyo, Japan, March 27—29, 2004.
- [7] Moghadasian M, Nguyen LB, Shefer S, et al. Hepatic cholesterol and bile acid synthesis, low-density lipoprotein receptor function, and plasma and fecal sterol levels in mice: Effect of apolipoprotein E deficiency and probucol or phytosterol treatment [J]. Metabolism, 2001, 50(6): 708.

(收稿日期: 2008-05-12)