

葛根芩连汤对动脉粥样硬化伴随牙周炎大鼠的影响

王丹¹, 李文娟¹, 赵兵², 方谦¹, 周雪¹, 彭伟^{1*}

(1. 河北联合大学 口腔医学院, 河北 唐山 063000; 2. 唐山市中医医院, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的: 讨论葛根芩连汤对动脉粥样硬化伴随牙周炎大鼠模型的治疗效果。方法: 将40只健康雄性Wistar大鼠, 分为健康正常组和模型组, 正常组10只, 模型组30只, 正畸结扎丝结扎于左上颌第二恒磨牙牙颈部龈沟内, 高脂饮食辅助药物诱导造模, 造模成功后分为模型组、甲硝唑治疗组(0.05 g·kg⁻¹·d⁻¹)、阿伐他汀组(0.08 g·kg⁻¹·d⁻¹)、甲硝唑联合阿伐他汀组、葛根芩连汤组(0.42 g·kg⁻¹·d⁻¹), 每组6只, ig给予相应药物, 4周后, HE染色光镜下观察治疗前后牙周组织和腹主动脉病理变化, 检测治疗前后牙周袋深度及附着丧失检测和血脂总胆固醇(TC), 甘油三酯(TG), 低密度脂蛋白(LDL), 高密度脂蛋白(HDL)水平的改变。结果: 与正常组比较, 模型组牙周袋深度及附着丧失和血脂TC, TG, LDL水平明显升高($P < 0.05$), HDL明显降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 甲硝唑组、阿伐他汀组、甲硝唑联合阿伐他汀组、葛根芩连汤组牙周袋深度及附着丧失和血脂TC, TG, LDL水平均较模型组显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), HDL明显升高($P < 0.05$); 甲硝唑联合阿伐他汀组与葛根芩连汤组比较牙周袋深度及附着丧失和血脂TC, TG, LDL, HDL水平无差异。HE染色观察发现牙周炎症破坏明显, 结合上皮与牙面分离, 上皮向根方增殖, 组织深部可见大量炎症细胞浸润, 骨小梁稀疏, 牙槽骨表面可见骨吸收, 牙槽嵴顶高度降低, 呈垂直吸收, 牙周膜纤维粗细不均或断裂, 排列紊乱, 各给药组均有不同程度的改善, 尤其是甲硝唑联合阿伐他汀组与葛根芩连汤组更为明显。结论: 葛根芩连汤能够改善模型大鼠牙周炎症水平并且能够降低大鼠血脂水平, 提示该药对牙周炎伴动脉粥样硬化疾病有良好的治疗效果。

[关键词] 葛根芩连汤; 阿伐他汀; 甲硝唑; 牙周炎; 动脉粥样硬化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0145-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015060145

Effect of Gegen Qinlian Tang in Periodontitis Combined Atherosclerosis Rat Model WANG Dan¹, LI Wen-juan¹, ZHAO Bing², FANG Qian¹, ZHOU Xue¹, PENG Wei^{1*} (1. Hebei United University of Stomatology College, Tangshan 063000, China; 2. Tangshan Hospital of Traditionnal Chinese Medicine, Tangshan 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the effect of Gegen Qinlian Tang on periodontitis and atherosclerosis rats. **Method:** The rat model was induced by ligating the second molars of upper left jaw, feeding high fat diet and medications treatment as a complementary method. Thirty successful model rats were divided into the model group, the metronidazole treatment group (0.05 g·kg⁻¹·d⁻¹), the atorvastatin group (0.08 g·kg⁻¹·d⁻¹), the metronidazole combined with atorvastatin group, and the Gegen Qinlian Tang group (0.42 g·kg⁻¹·d⁻¹) of 6 rats in each group. Another 10 rats were assigned to the normal group and feeding with the common forage. After 4-week treatment of the corresponding drug, the changes of periodontal tissue and abdominal aortic pathology were observed under light microscope, HE staining, respectively. The periodontal pocket depth and attachment loss detection, changes of blood lipid total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL) were detected. **Result:** Compared with the normal group, periodontal pocket depth and attachment loss, levels of lipid TC, TG, LDL increased significantly ($P < 0.05$), HDL level decreased significantly ($P < 0.05$) in the model group. Compared with the model group, periodontal pocket depth and attachment loss, and lipid TC, TG, LDL levels decreased significantly ($P < 0.05$), HDL increased significantly

[收稿日期] 20140720(003)

[基金项目] 唐山市科技攻关项目(13130283z)

[第一作者] 王丹, 主治医师, 从事口腔内科研究, Tel:0315-3721501, E-mail:307095172@qq.com

[通讯作者] * 彭伟, 硕士, 教授, 从事口腔内科研究, Tel:0315-3721501, E-mail:pengwei196810@gmail.com

($P < 0.05$) in all treatment groups. No significant difference was found between metronidazole combined with atorvastatin group and Gegen Qinlian Tang group. HE staining showed the destroyed periodontal inflammation, the separation of junctional epithelium and tooth surface, and the proliferation from epithelial to root. The deep tissue showed a large amount of inflammatory cell infiltration and bone trabecular sparse, alveolar bone surface visible bone resorption, alveolar ridge crest height reduced vertical absorption, periodontal ligament fibroblasts dimensional uneven thickness or fractured, arrangement disorder in the model group. These results had good improvement after treatment, and the results were better in the metronidazole combined with atorvastatin group and Gegen Qinlian Tang group. **Conclusion:** Gegen Qinlian Tang could improve the periodontal inflammation levels and reduce the blood lipid level of model rats. The results suggest that Gegen Qinlian Tang has a good therapeutic effect on periodontitis associated with atherosclerosis disease.

[Key words] Gegen Qinlian Tang; atorvastatin; metronidazole; periodontitis; atherosclerosis

流行病学调查显示^[1],口腔牙周感染与动脉粥样硬化斑块形成之间存在着正相关性,其中重度牙周病的患者较牙周正常者发生动脉粥样硬化的危险性增加了 1.58 倍;牙槽骨吸收者发生动脉粥样硬化的几率为牙周正常者的 1.6 倍。牙周炎已经成为动脉粥样硬化的独立危险因素^[2]。目前对于牙周炎患者多采用牙周基础治疗配合药物治疗及手术治疗,但是由于基础治疗和手术治疗疗程长、操作过程复杂、治疗效果不佳、复发率高、西药治疗有耐药性、心血管病人不耐受等原因,目前临床上尚缺乏对牙周炎伴动脉粥样硬化疾病的系统治疗方法。葛根芩连汤是一首经典中药方,其各药物组分对于牙周炎和动脉粥样硬化疾病都有很好的治疗作用,相关文献^[3-7]研究已证明该药的各组分对于单纯的牙周炎和动脉粥样硬化都有治疗作用,但是该药对于牙周炎伴动脉粥样硬化疾病的治疗效果目前尚无相关报道,笔者复制了牙周炎合并动脉粥样硬化大鼠的模型并且观察该药对于两种疾病伴发时的治疗作用,从中药治疗牙周炎伴随动脉粥样硬化方面为临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,雄性,体重(200 ± 20) g,北京华阜康生物科技股份有限公司采购,合格证号 SCXK(京)2012-0004。

1.2 药物及试剂 葛根芩连汤合剂:由葛根(批号 1110035)、黄芩(批号 1202152)、黄连(批号 1111019)、炙甘草(批号 1112083)中药配方颗粒组成(广州一方制药有限公司),唐山市中医医院提供;甲硝唑片(亚宝药业集团有限公司,批号 111020),阿伐他汀片(北京嘉林药业股份有限公司,批号 H20093819)。

1.3 仪器 BX53 型自动研究级显微镜(日本

Olympus 公司),EG1150H 型石蜡包埋机(德国 Leica 公司),CM11850V 型超低温冰箱,HI1220 型烤片机,低速离心机,RM2235 型组织切片机(德国 Leica 公司),Friedy 型牙周探针(河北联合大学口腔医院),图像采集及分析系统(河北联合大学口腔医院)。

2 方法

2.1 动物分组及模型建立 40 只大鼠,随机分为两组:正常组 10 只,模型组 30 只。模型组:10% 水合氯醛(3 mL·kg⁻¹)麻醉下将 0.2 mm 正畸结扎丝结扎于左上颌第二恒磨牙牙颈部龈沟内,高脂饮食辅助药物诱导(高脂饲料配方:3% 胆固醇 + 10% 猪油 + 0.5% 脱氧胆酸钠 + 0.2% 丙基硫氧嘧啶 + 86.3% 基础饲料。在喂饲开始时,1 次性 ip 维生素 D 370 万 U·kg⁻¹),持续 12 周建立慢性牙周炎伴随动脉粥样硬化模型^[4]。造模成功后将模型组大鼠随机分成 5 组:模型组、甲硝唑组、阿伐他汀组、甲硝唑联合阿伐他汀组、葛根芩连汤组。经过上述处理后,根据《药理学实验方法学》^[5]等剂量系数折算法,临床给药剂量换算为 200 g 标准体重大鼠的用药剂量。甲硝唑用量 0.05 g·kg⁻¹·d⁻¹;阿伐他汀用量 0.08 g·kg⁻¹·d⁻¹;葛根芩连汤用量 0.42 g·kg⁻¹·d⁻¹;正常组、模型组 ig 0.9% 生理盐水;所有动物 ig 体积每天不超过 4 mL·kg⁻¹,每天 ig 1 次,ig 4 周后,处死所有动物,HE 染色光镜下观察牙周组织和腹主动脉病理变化,测量牙周袋深度(PD)和附着丧失(AL)水平,腹主动脉取血,检测血脂总胆固醇(TC),甘油三脂(TG),低密度脂蛋白(LDL),高密度脂蛋白(HDL)水平的改变。

2.2 组织病理学观察 牙周组织病理学观察,分别于实验第 12,16 周取动物上颌骨上颌标本,经生理盐水清洗后,40 g·L⁻¹多聚甲醛溶液固定 48 h 以上,

在滴水条件下进行组织修整,放入 100 g·L⁻¹ EDTA 脱钙液(pH 7.3) 4 ℃ 水浴脱钙 4 周,常规石蜡包埋,沿组织块颊舌向切片,片厚 5 μm,HE 染色,采用 Olympus 光学显微镜图像采集及分析系统精确测量大鼠实验牙周袋深度及附着丧失,并根据标尺换算单位,得出数据进行统计学分析。动脉组织病理学观察:取全部动物腹主动脉中段,清洗固定,常规石蜡包埋,HE 染色,光学显微镜观察。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 分析软件,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对牙周袋深度及附着丧失的影响 与正常组比较,模型组牙周炎伴随动脉粥样硬化大鼠牙周临床指标 PD, AL 明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,甲硝唑组、阿伐他汀组、甲硝唑联合阿伐他汀组及葛根芩连汤组牙周临床指标 PD, AL 明显降低($P < 0.05$);与甲硝唑联合阿伐他汀组比较,葛根芩连汤组的牙周临床指标无显著性差异。见表 1。

表 2 葛根芩连汤对牙周炎合并动脉粥样硬化大鼠血脂水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of Gegen Qinlian Tang on blood fat levels of periodontitis and atherosclerosis rat($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹	LDL/mmol·L ⁻¹	HDL/mmol·L ⁻¹
正常	-	10	0.57 ± 0.17	0.46 ± 0.09	0.47 ± 0.29	2.55 ± 0.40
模型	-	6	8.95 ± 1.24 ¹⁾	1.86 ± 0.18 ¹⁾	5.50 ± 0.76 ¹⁾	1.13 ± 0.16 ¹⁾
甲硝唑	0.05	6	7.91 ± 1.19 ²⁾	1.67 ± 0.20 ²⁾	5.31 ± 0.57 ²⁾	1.08 ± 0.22 ²⁾
阿伐他汀	0.08	6	3.56 ± 0.80 ²⁾	1.12 ± 0.11 ²⁾	2.03 ± 0.49 ²⁾	1.51 ± 0.09 ²⁾
联合用药	0.05 + 0.08	6	2.36 ± 0.21 ²⁾	0.55 ± 0.16 ²⁾	0.59 ± 0.11 ²⁾	2.25 ± 0.49 ²⁾
葛根芩连汤	0.42	6	2.45 ± 0.65 ²⁾	0.62 ± 0.28 ²⁾	0.63 ± 0.17 ²⁾	2.12 ± 0.32 ²⁾

3.3 对主动脉弓及牙周病理组织的影响 正常组:牙龈上皮结构完整,结合上皮、沟内上皮结构正常,牙周膜纤维排列整齐,牙槽嵴处未见骨吸收,血管管壁均匀一致,没有内层增生。模型组:牙周炎症破坏明显,结合上皮与牙面分离,上皮向根方增殖,组织深部可见大量炎症细胞浸润,骨小梁稀疏,牙槽骨表面可见骨吸收,牙槽嵴顶高度降低,呈垂直吸收,牙周膜纤维粗细不均或断裂,排列紊乱。腹主动脉内层增厚,管腔明显缩窄,出现动脉斑块。葛根芩连汤组:治疗 4 周后,牙周组织炎性细胞浸润比模型组明显减少,牙槽嵴吸收程度减轻,牙龈上皮炎症有不同程度的减轻,牙周膜纤维排列较整齐,腹主动脉内膜厚度变薄,增生不明显;甲硝唑组、阿伐他汀组牙周组织和腹主动脉壁改变相似甲硝唑联合阿伐他汀组

表 1 葛根芩连汤对牙周炎合并动脉粥样硬化大鼠 PD, AL 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of Gegen Qinlian Tang on PD and AL of periodontitis and atherosclerosis rat($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	PD/μm	AL/μm
正常	-	10	300.00 ± 18.71	-
模型	-	6	419.20 ± 14.62 ¹⁾	209.60 ± 8.76 ¹⁾
甲硝唑	0.05	6	339.60 ± 21.76 ²⁾	161.40 ± 6.27 ²⁾
阿伐他汀	0.08	6	411.40 ± 10.01 ²⁾	201.60 ± 5.94 ²⁾
联合用药	0.05 + 0.08	6	321.60 ± 12.48 ²⁾	147.60 ± 6.58 ²⁾
葛根芩连汤	0.42	6	317.00 ± 11.09 ²⁾	152.20 ± 4.55 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 对血脂水平的影响 与正常组比较,模型组牙周炎伴随动脉粥样硬化大鼠血脂 TC, TG, LDL, HDL 含量明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,各给药组血脂 TC, TG, LDL, HDL 含量均明显降低($P < 0.05$),与甲硝唑联合阿伐他汀组比较,葛根芩连汤组的血脂水平均无显著性差异。见表 2。

与葛根芩连汤组治疗效果最明显,炎症程度较甲硝唑组联合阿伐他汀组轻。见图 1, 2。

4 讨论

葛根芩连汤^[3]为张仲景的名方之一,其组方为葛根半斤、炙甘草二两、黄芩三两、黄连三两。其具有解热、抗菌、抗病毒、降糖、增强机体免疫功能的作用。葛根中的葛根素主要有效成分是异黄酮类化合物,其具有促进成骨细胞增殖、分化及矿化的作用,可以促进成骨细胞合成和分泌碱性磷酸酶,同时可以造成体外培养的破骨细胞空泡性变,骨吸收陷窝面积减少等^[6]。黄芩含黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素等黄酮类有效成分,研究表明^[7],黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素能显著抑制脂多糖诱导的炎症反应,并能够在一定程度上抑制基质金属蛋白酶

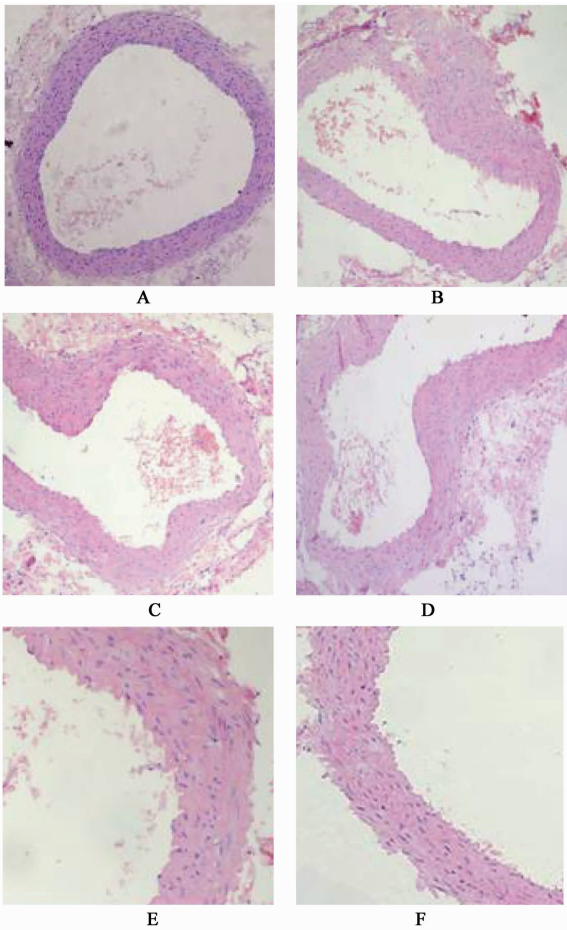


图1 葛根芩连汤对牙周炎合并动脉粥样硬化大鼠主动脉弓病理组织的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effects of Gegen Qinlian Tang on aortic arch pathological tissue of periodontitis and atherosclerosis rat(HE, ×200)

的活性,能够促进成纤维细胞的增殖和胶原蛋白的合成,其中以黄芩素和黄芩苷的作用最强。研究表明黄连对厌氧菌亦有较强的抗菌作用^[8]。葛根素具有调节血管内膜依赖性舒张因子、降低胆固醇、甘油三酯水平以及在一定程度上升高密度脂蛋白在外周血的含量的作用^[9],屈静等^[10]观察和探讨了葛根芩连汤加减治疗颈动脉粥样硬化火热证的临床疗效,认为葛根芩连汤具有很好的治疗效果。黄芩含有的总黄酮具有降低血胆固醇作用,于昕等^[11]研究表明黄芩苷能够降低动脉粥样硬化大鼠血清中的胆固醇、低密度脂蛋白水平,升高高密度脂蛋白水平,起到抗动脉粥样硬化的作用。

鉴于葛根芩连汤各组分在牙周炎和动脉粥样硬化中的相关研究成果,本实验采用葛根芩连汤对实验大鼠进行ig干预4周后,显示葛根芩连汤组和甲

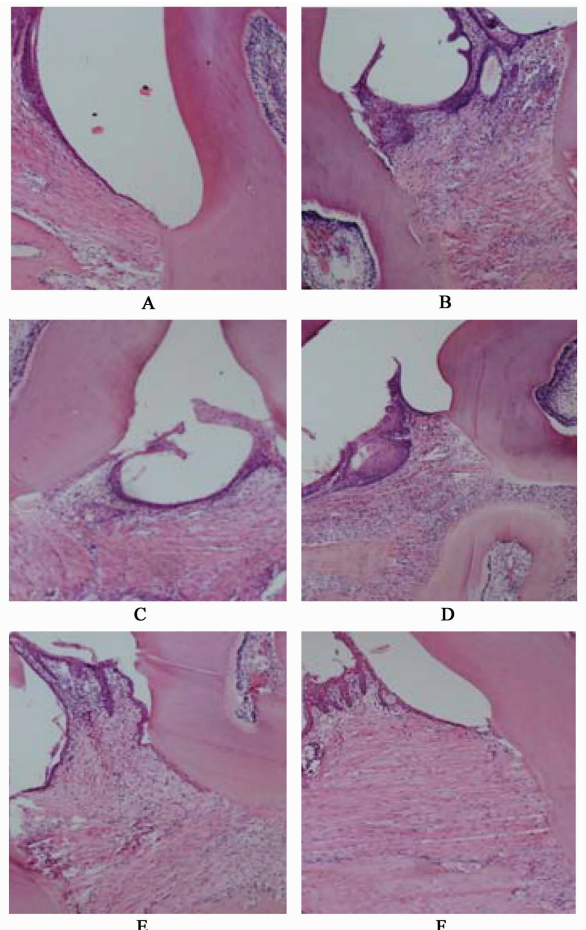


图2 葛根芩连汤对牙周炎合并动脉粥样硬化大鼠牙周病理组织的影响(HE, ×200)

Fig. 2 Effects of Gegen Qinlian Tang on Periodontal pathological tissue of periodontitis and atherosclerosis rat(HE, ×200)

硝唑组、阿伐他汀组以及联合用药组血脂水平均较模型组明显降低,牙周袋深度及附着丧失水平也有很大的改善;葛根芩连汤组与联合用药组效果最明显,差异无统计学意义。说明葛根芩连汤对实验性牙周炎合并动脉粥样硬化大鼠模型有很好的治疗效果,提示牙周炎与动脉硬化同时治疗有利于减轻牙周组织的炎症状态,改善心血管功能,本研究为葛根芩连汤用于治疗牙周炎伴动脉粥样硬化患者提供了实验依据。治疗牙周炎后是否可降低发生心血管疾病的危险系数以及是否有益于延缓动脉粥样硬化的发展也尚不明确,因此仍需进行进一步的研究证实。

[参考文献]

[1] Genco R, Offenbacher S, Beck J. Periodontal disease and cardiovascular disease epidemiology and possible mechanisms[J]. J Am Den Assoc, 2002, 133(Suppl 1): 14S-22S.
[2] Cotti E, Dessì C, Piras A, et al. Association of

- endodontic infection with detection of an initial lesion to the cardiovascular system [J]. J Endod, 2011, 37 (12):1624-1629.
- [3] 黄泰康,施诚. 中药方剂现代研究大典[M]. 北京:科学技术出版社,1996:325.
- [4] 钟良军,徐隽,张源明,等. 慢性牙周炎和动脉粥样硬化动物模型的建立及研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2009,44(8):464-468
- [5] 刘建文. 药理实验方法学:新技术与新方法[M]. 北京:化学工业出版社,2003:246.
- [6] 金为旭,苗波. 局部注射葛根素对鼠拔牙后剩余牙槽嵴吸收影响的研究[J]. 北京口腔医学,2010,18(2): 77-79.
- [7] Chung C P, Park J B, Bae K H. Pharmacological effects of methanolic extract from the root of scutellaria baicalensis and its flavonoids on human gingival fibroblast[J]. Planta Med,1995,61(2):150-153.
- [8] 黄吉燕,朱聘倬,刘力. 三种中药对牙周致病厌氧菌抑制作用的体外研究[J]. 上海中医药杂志,2006,40(5):62-63.
- [9] 史卫国,梁莉,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.
- [10] 屈静,丁元庆. 葛根芩连汤加减治疗颈动脉粥样硬化临床研究[J]. 山东中医杂志,2007,26(9):606-607.
- [11] 于昕,刘向群,陈焕芹,等. 黄芩苷对动脉粥样硬化大鼠凝血酶激活纤溶抑制物水平及血脂凝血纤溶指标的影响[J]. 中国老年学杂志,2010,30(22): 3299-3301.

[责任编辑 周冰冰]

欢迎订阅《中国中医药图书情报杂志》

本刊为国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的科技学术期刊,为中国中西医结合学会信息专业委员会、中国中医药信息研究会中医药信息数字化专业委员会的会刊。

本刊全面报道中医药图书情报方面的最新研究进展、科研教学成果,以及新技术、新方法在中医药图书情报领域的应用,促进中医药信息学学科的学术交流及人才培养,为中医药图书情报研究人员提供学术交流的平台。本刊已被《中国核心期刊(遴选)数据库》《中国学术期刊网络出版总库》《中国中医药期刊文献数据库》收录。

《中国中医药图书情报杂志》为双月刊,16开,62页,每册定价20元,全年120元。国内邮发代号:2-633,各地邮局订阅;国外代号:BM299,中国国际图书贸易集团有限公司(北京399信箱)订阅。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。

地址:北京市东直门内南小街16号 中国中医科学院中医药信息研究所《中国中医药图书情报杂志》编辑部,邮政编码:100700。

电话:010-64014411-3212

投稿网址: <http://tsqb.cintcm.com>

E-mail: tsqb@mail.cintcm.ac.cn