

荣脉汤预防动脉硬化实验研究

刘洪普¹, 谭奇纹²(1 济南军区总医院, 济南 250031; 2 山东中医药大学, 济南 250014)

中图分类号: R285.5 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)06-0042-03

荣脉汤在临床上治疗闭塞性动脉硬化症的经验中显示出较好的临床效果^[1]。为探讨作用机理, 进行有关荣脉汤预防动脉硬化(arteriosclerosis, AS)的药效学研究, 采用喂饲高脂的方法复制 AS 的家兔动物模型^[2], 同时予灌服荣脉汤预防 AS, 观察实验兔的血脂、血浆脂蛋白水平、动脉壁的病理变化及超微结构变化, 现将实验结果总结如下。

1 材料

1.1 动物 比利时家兔, 体重 2.15 ± 0.25kg, 由山东中医药大学实验动物部提供。

1.2 药物 荣脉汤为自组方: 黄芪 90g、党参 30g、丹参 30g、赤芍 30g、川芎 15g、地龙 15g、牛膝 15g、海藻 15g、水蛭 10g; 加水 600ml, 煎汤后温浴浓缩至 166ml, 使每 ml 含生药 1.5g。以上药物均购自山东中医药大学附院中药房。

2 方法

2.1 模型制备及分组 选用 24 只雄性家兔, 先以普通饲料喂养 1 周后, 随机取 8 只喂普通饲料, 做健康对照组(A 组); 余 16 只家兔喂养用 15% 蛋黄粉、5% 猪油、79% 基础饲料和 1% 胆固醇配成的动脉粥样硬化饲料共 3 周, 使血清胆固醇升高至一定水平后, 再用含蛋黄粉和猪油的饲料继续喂养 5 周, 造成动脉粥样硬化模型, 其中 8 只在造模过程中灌服荣脉汤, 20ml/只/d, 为预防组(B 组); 余 8 只为造模组(C 组)。

2.2 血液采集及指标测定 实验末期, 清晨

8 时经兔耳采集受试家兔空腹 12h 静脉血 5ml, 常规分离血清待测。甘油三酯(TG)、胆固醇(TCH)、高密度脂蛋白胆固醇(HDLc)、高密度脂蛋白胆固醇亚组分 3(HDL_{3c}) 均用酶学法分析, 高密度脂蛋白胆固醇亚组分 2(HDL_{2c})、低密度脂蛋白胆固醇(LDLc) 用 Friedewald^[3] 公式计算。

2.3 组织标本的采集及检查 实验结束后, 处死全部实验兔, 取主动脉根部至髂动脉分叉处的胸腹主动脉标本, 沿动脉纵轴切开, 生理盐水冲洗干净后, 肉眼观察动脉内膜病变状况; (1) 取胸主动脉中段标本分组标号, 10% 甲醛溶液固定, 石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜下观察并拍照; (2) 标本分组标号, 2.5% 戊二醛固定, 乙醇脱水, IB-5 离子溅射仪镀铂, 日立 S-570 扫描电镜观察并拍照; (3) 标本分组标号; 2.5% 戊二醛固定, 1% 钨酸固定, 丙酮脱水, 包埋切片, 铅铀双染, 日立 H-500 型透射电镜观察并拍照。

2.4 斑块分级与光镜下评定标准^[4] (1) 斑块分级标准: 内膜表面光滑, 无奶油色变化为 0 级; 内膜有广泛的奶油色或乳白色变化, 但未见凸出于表面的斑块为 0.5 级; 有凸起的奶油色斑块, 面积 < 2mm² 为 1 级; 斑块面积 2~3mm² 为 2 级; 有许多大小不等的斑块, 有的融合成片, 大的斑块面积超过 3mm² 为 3 级; 动脉内膜的表面几乎全为融合的斑块所覆盖为 4 级。(2) 光镜下评定病变程度: 泡沫细胞 6 层以下为轻度; 泡沫细胞 7~12 层, 但无明显粥样物形成为中度; 泡沫细胞超过 12 层, 并有明显粥样灶形成及较多纤维成分为重度; (3) 病变性质: 平滑肌细胞增生, 炎症

细胞浸润不明显为静止型;平滑肌细胞增生,并有较明显的炎性细胞浸润为一般进展型;平滑肌细胞增生活跃及炎性细胞浸润十分明显为进展活跃型。

2.5 统计学分析 表中数据以均数±标准差表示,组间差异用 *t* 检验。

表1 各组血脂及血浆脂蛋白比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	TG	TCH	HDL _c	HDL _{2c}	HDL _{3c}	LDL _c
A组	0.86±0.27	2.45±0.53	0.63±0.18	0.43±0.16	0.20±0.07	1.55±0.23
B组	7.70±0.04** $\Delta\Delta$	16.24±6.91** $\Delta\Delta$	1.02±0.47* Δ	0.72±0.15** $\Delta\Delta$	0.30±0.25	13.68±6.13** $\Delta\Delta$
C组	17.13±4.92	25.70±4.20	0.55±0.24	0.39±0.11	0.14±0.05	21.72±2.98

注: B组与A组比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与C组比 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;

3.2 肉眼及光镜下观察 肉眼观察: A组内膜表面光滑,无奶油色变化为0级;B组内膜有广泛的奶油色或乳白色变化,未见凸起于表面的斑块,为0.5级者5例;有凸起的奶油色斑块,面积 $< 2\text{mm}^2$ 为1级者3例;C组均内膜几乎为融合的斑块所覆盖,为4级。光镜下见A组无病理改变;B组均病变程度轻,病变性质为静止型;C组均病变程度重,全为进展活跃型。

3.3 超微结构观察 扫描电镜: A组主动脉内皮细胞顺血流方向排列整齐,可见凸起的细胞核,无脂质沉积。B组内皮细胞基本完整,有脂质和纤维组织沉积于内皮表面。C组内皮细胞消失,粥样斑块分层排列,表面交织排列纤维组织,并粘附有聚集成团的红细胞。透射电镜: A组弹力膜完整,平滑肌细胞无增生,细胞核规整,可见核仁;B组平滑肌细胞增生,向血管腔移行,细胞核不规则,胞浆内可见少量脂滴;C组内皮细胞节段状膨大,细胞内吞饮泡增多,内质网扩张,平滑肌细胞侵入内膜,间质纤维成分多,可见含多量脂滴的泡沫细胞。

4 讨论

AS的形成是由于血液成分的异常和血管壁本身功能的改变等多种因素互相影响的结果,但真正病因未完全明确,一致认为过多食用动物脂肪引起血胆固醇增高,在AS的

3 结果

3.1 血脂及血浆脂蛋白 B组TG、TCH、HDL_{2c}、LDL_c均显著高于A组($P < 0.01$); TG、TCH、LDL_c显著低于C组($P < 0.01$), HDL_{2c}显著高于C组($P < 0.01$); HDL_c明显高于A组和C组($P < 0.05$)。见表1。

发病过程中起重要作用。通过实验我们发现,预防组TG、TCH、LDL_c明显低于造膜组($P < 0.01$),说明荣脉汤有延缓TG、TCH和LDL_c升高的作用;预防组HDL_c高于健康组和造膜组($P < 0.05$),明显升高HDL_c。血液中TCH升高是内皮细胞损伤的最重要因素,造膜组TCH显著升高,扫描电镜下内皮细胞消失,透射电镜下内皮细胞节段状膨大,细胞内吞饮泡增多即验证了此点;内膜损伤后失去对大分子物质的屏障作用,引起脂质浸润和沉积;TG以极低密度脂蛋白循环于血液中,极低密度脂蛋白如转变为小而致密的低密度脂蛋白则致AS能力增强^[5]。荣脉汤有明显降低TG的作用,从而延缓了AS的发展。LDL_c升高是AS进展的重要条件,实验结果显示荣脉汤可降低LDL_c,升高HDL_c, HDL_c抗AS的作用机制之一是可以抑制LDL_c的氧化^[6], HDL_c及其亚组分HDL_{2c}的升高,使细胞内(如泡沫细胞)TCH的清除增多,结果斑块中脂质减少。本实验肉眼、光镜及超微结构观察均证实预防组AS病变轻,造膜组AS病变重;但是,预防组与健康组对照, TG、TCH和LDL_c均显著升高($P < 0.01$),而肉眼、光镜和超微结构观察均存在轻度AS病变,说明在家兔高脂饲养的条件下,荣脉汤能延缓AS的发展,不能防止AS的发生。

参考文献:

- [1] 刘洪普. 荣脉汤治疗闭塞性动脉硬化症临床研究[J]. 山东中医药大学学报, 1998, 22(4): 269~ 273.
- [2] 施新猷. 医学动物实验方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 233~ 234.
- [3] Friedwald WT. Estimation of concentration of low Density Lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparation ultracentrifuge[J]. Clin chem, 1972; 18: 499~ 501.
- [4] 汪建, 卢泳才, 刘小青, 等. 高血脂兔过氧化脂质代谢与 PGI/TXA₂ 平衡[J]. 中华医学杂志, 1987, 67(5): 276~ 278.
- [5] 中华心血管杂志编委会血脂异常防治对策专题组. 血脂异常防治建议[J]. 中华心血管病杂志, 1997, (25): 169~ 171.
- [6] Parthaurath S. High density Lipoprotein inhibits the Oxidative modification of low density lipoprotein[J]. Biochim Biophys Acta, 1990, 275: 1044.