

实验研究

祛瘀消斑胶囊消退动脉粥样硬化的实验研究

刘运芳¹ 赵玉霞² 于会明¹ 王 岩¹ 孟晓慧¹ 郑玉兰¹

摘要 目的:应用高频超声显像技术观察动脉粥样硬化(AS)的自然消退及祛瘀消斑胶囊消退 AS 的作用。方法:20 只兔喂以高胆固醇饲料,12 周末 16 只造模兔随机分为自然消退组和中药组,每组 8 只。于实验开始、12 周末和 24 周末分别进行血脂和超声检测,并和病理检测结果对比。结果:经过 12 周造模后,实验兔的血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)显著升高,腹主动脉内中膜厚度(IMT)显著增厚($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。24 周末两组实验兔各项血脂指标均显著降低,中药组的 TC、TG 和 LDL-C 显著低于自然消退组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),IMT 显著小于自然消退组($P<0.05$),腹主动脉超声图像平均回声强度的校正值(AIIC%)较造模后测量值显著增大($P<0.01$)。造模后、自然消退组和中药组形态学检查有明显差异。结论:祛瘀消斑胶囊具有消退实验兔 AS 的作用,高频超声技术可作为定性和定量随访 AS 动态变化的可靠方法。

主题词 动脉粥样硬化/中医药疗法 @ 祛瘀消斑胶囊

Experimental Study on Quyu Xiaoban Capsule for Removing Atherosclerosis

Liu Yunfang¹, Zhao Yuxia², Yu Huiming¹, et al.

(Institute of Diagnosis, Medical College of Shandong University, Jinan 250012; 2. Qilu Hospital of Shandong University)

Objective: To observe the action of Quyu Xiaoban Capsule in removing atherosclerosis(AS) with high frequency ultrasonography.

Methods: 20 rabbits were fed with forage of high cholesterol, and at the end of the 12th week, 16 model rabbits were randomly divided into a natural removing group (control group) and a Chinese drug group, 8 in each group. Blood lipids determination and high frequency ultrasonography were carried out and the outcomes were compared with the results of pathological examination at the beginning, the end of the 12th week and the end of the 24th week. **Results:** 12 weeks after modeling, blood total cholesterol (TC), triglyceride(TG) and lower density lipoprotein-cholesterol(LDL-C) in the model rabbit increased significantly and intima-media thickness(IMT) thickened significantly($P<0.05$ or $P<0.01$). At the end of the 24th week, all indexes of blood lipids in both groups decreased significantly, and TC, TG and LDL-C in the Chinese drug group were significantly lower than those in the control group, and IMT was significantly smaller than that in the control group ($P<0.05$). The corrective value of the mean intensity of the ultrasonogram of the abdominal aorta(AIIC%) in the model rabbit increased significantly($P<0.01$), and no significant difference between the two groups in morphological examinations was found. **Conclusion:** Quyu Xiaoban Capsule has the function of removing AS, and high frequency ultrasonography is a reliable method for qualitatively and quantitatively following-up dynamic changes of AS.

Key Words Atherosclerosis/TCM ther; @ Quyu Xiaoban Capsule

动脉粥样硬化(AS)是心脑血管疾病的主要病理基础,大量基础和临床研究证实,在一定条件下,AS 病变的确可以延缓或停止发展甚至逐渐消退^[1,2]。从中草药中寻找防治 AS 的有效药物一直是人们关注的课题,国内已有中药具有抗 AS 作用的报道^[3],但以往研究多集中于血液生化的改变,且关于中药对斑块质地和稳定性影响的研究甚少。本课题根据中医理论,自拟中药祛瘀消斑胶囊,应用高频超声显像和病理学技术

观察 AS 的自然消退及祛瘀消斑胶囊消退 AS 的作用,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物及模型制备:雄性纯种新西兰兔 20 只,体重 1.5~2.5kg(山东省实验动物中心提供),喂以含 1% 胆固醇的颗粒饲料,每日 120~140g,造模期为 12 周。造模期中有 1 只兔因腹泻死亡,12 周末随机抽取 3 只兔作为 AS 验证组,处死后病理检查确认 AS 形成。

1.2 动物分组及给药:在剩余 16 只造模兔中,停喂胆固醇饲料,并随机分为两组,每组 8 只。自然消退组喂以普通饲料,不用药物;中药组喂以普通饲料加祛瘀消斑胶囊。该胶囊由炙黄芪、生水蛭、海藻、生山楂等组

基金项目:山东省卫生厅“九五”重点攻关项目(9711)

1 山东大学医学院诊断学研究所,山东省济南市文化西路 11 号(250012)

2 山东大学齐鲁医院

收稿日期:2004-12-27;修回日期:2005-01-29

表1 各组实验兔血脂水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	ApoAI/B100
造模前	20	1.63 ± 0.80	0.64 ± 0.31	0.68 ± 0.63	0.32 ± 0.95	1.49 ± 1.68
造模后	19	24.49 ± 7.12 [*]	0.96 ± 0.61 [*]	1.07 ± 0.59 [*]	22.11 ± 7.10 [*]	0.46 ± 0.27 [*]
自然消退组	8	6.63 ± 6.52 [*]	0.81 ± 0.34	1.47 ± 1.06 [*]	4.89 ± 5.26 [*]	0.82 ± 1.31
中药组	8	1.42 ± 0.87 [△]	0.19 ± 0.26 [△]	1.22 ± 0.68	1.16 ± 1.35 [△]	1.37 ± 0.47

与造模前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与自然消退组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

成,加水10倍量,浸润1小时,加垫提取3遍(2小时、1.5小时、1小时),提取液合并,滤过,浓缩至相对密度1.16(垫测),喷雾干燥,制备颗粒,灌装胶囊,每粒胶囊含生药1.7g,以黄芪甲苷为质控指标,每1g胶囊内容物含黄芪甲苷不得低于1.25mg,由山东大学齐鲁医院制药厂提供,批准文号:济卫药制(99)F₂002-02,给药量为生药5.75g·kg⁻¹·d⁻¹,消退治疗时间为12周。

1.3 血液生化检查:分别于实验开始、12周末、24周末空腹耳缘静脉采血检测血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、载脂蛋白AI(ApoAI)和载脂蛋白B100(ApoB100),并计算低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),公式:LDL-C=(TC-HDL-C-TG)/2.2。

1.4 超声检查:使用美国惠普公司生产的SONOS 5500型超声仪,周围血管探头频率为4~10MHz。分别于实验开始、12周末、24周末作腹主动脉超声检查。用血管探头自剑突下至髂总动脉分叉处自上而下探查腹主动脉,记录其长轴和短轴图像。测量腹主动脉内中膜厚度(IMT),调整感兴趣区(ROI)的形状、方向和大小,分别置于腹主动脉内中膜和外膜,每个部位分析62帧图像,仪器可自动计算出图像平均回声强度(AII,单位dB)。内中膜和外膜的测量值分别以AII-I和AII-A表示。

1.5 病理学及电镜检查:12周末对AS验证组的3只兔进行病理学检查,24周末处死所有实验兔,截取自主动脉瓣上起始段至髂总动脉分叉处的主动脉全长,剥净外膜结缔组织,胸主动脉剪取1cm长血管环,经石蜡切片、HE染色、Masson三色染色等处理,进行病理学检查。

1.6 统计学方法:计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 t 检验分析。

2 结果

2.1 各组实验兔血脂水平比较:表1示,实验兔各项血脂指标在12周造模后均明显升高,其中以TC和LDL-C升高最为显著($P < 0.01$),ApoAI/B100显著降低,HDL-C略有升高。消退治疗后,除自然消退组HDL-C略高外,两组实验兔各项血脂指标均显著低于

表2 各组实验兔腹主动脉超声检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	IMT(mm)	AIIc%
造模前	0.192 ± 0.056(20)	
造模后	0.540 ± 0.074 [*] (19)	69.61 ± 8.40
自然消退组	0.617 ± 0.125 [*] (8)	73.24 ± 10.66
中药组	0.472 ± 0.059 [*] $\Delta\Delta$ (8)	80.35 ± 8.11 $\Delta\Delta$ (8)

与造模前比较, * $P < 0.01$; 与造模后比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 内中膜厚度较薄,无法测量;括号内为兔数

AS造模后的血脂测量值,且中药组的TC、TG和LDL-C显著低于自然消退组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。自然消退组的HDL-C较中药组高,但差异无显著性。

2.2 各组实验兔腹主动脉超声检测结果比较:表2示,实验兔造模后较造模前IMT显著增厚($P < 0.01$),自然消退组IMT继续增厚,而中药组IMT显著减小($P < 0.05$)。为消除仪器增益、探测深度及个体差异对声学密度(AD)测量值的影响,根据本实验室以往研究的结果,采用图像平均回声强度的校正值(AIIc%)作为统计指标, $AIIc\% = AII-I/AII-A \times 100\%$ 。由于造模前实验兔内中膜厚度过小,未进行AD测量。实验兔造模后和自然消退组AIIc%之间差异无显著性,中药组的AIIc%较自然消退组增大,但差异无显著性,而较造模后显著增大($P < 0.01$)。

2.3 病理学检查:AS造模后病理学检查可见脂质斑块弥漫或散在,内膜增厚,斑块内有大量增生的平滑肌源性泡沫细胞。自然消退组多有粥样物形成及更多的纤维组织增生。中药组斑块厚度减小,泡沫细胞减少,体积变小,细胞内脂肪空泡明显减少,纤维组织较明显增生,胆固醇结晶周围多有纤维包绕。

3 讨论

AS属中医学血瘀、痰阻、胸痹等范畴^[1]。本病是全身疾患,其病理变化主要表现为本虚标实,虚实夹杂,其标在血脉,而本在脏腑^[5]。《素问·脉要精微论》云:“脉者,血之府也。”AS是气滞血瘀痰凝阻痹于血脉所致。根据这一病理特点,我们选择炙黄芪、生水蛭、海藻、生山楂等组成祛瘀消斑胶囊。方中黄芪大补元气以帅血运,海藻咸寒软坚而祛经隧胶着之痰,水蛭咸苦性平,具活血化瘀之效,且可引诸药入络。海藻、水蛭相

配,既具化痰消瘀之功,能消除脉道的痰瘀病理产物以治其标,且水蛭少量缓投又可久用而不伤正。诸药相合,具有活血化瘀、通络化痰、调理气血之效。痰浊得化,瘀血得消,则血脉通畅。本研究中造模后血清 TC、TG 和 LDL-C 均显著升高,IMT 显著增大,但短期终止高胆固醇喂养斑块并不迅速消退,反而继续增大。造模后经 12 周普通饲料喂养,实验兔 TC 和 LDL-C 虽有显著降低,但尚未降至正常水平。有研究发现,在停止高胆固醇饮食后,内源性富含胆固醇的极低密度脂蛋白(VLDL-C)明显增多,并继续运送至血管和其他组织,这种脂质代谢的特点决定了其斑块消退需要较长的时间^[6]。24 周末中药组的 TC、TG、LDL-C 和 IMT 测量值较自然消退组显著降低,病理学及电镜检查结果进一步提供了 AS 消退的证据,说明祛瘀消斑胶囊阻止了停药高胆固醇饲料后 AS 的继续发展。

就临床危险程度而言,减小斑块的不稳定性比使斑块体积减小更为重要。因此,AS 的消退除应重视斑块体积的缩小外,更应注重斑块的质地变化,稳定斑块,预防急性心脑血管临床事件的发生。不稳定斑块的病理特征是^[7]:有细胞外脂质池,纤维帽薄弱,在斑块与正常内膜的交界处有较多富含脂质的巨噬细胞。本研究中,虽然中药组的 IMT 显著低于自然消退组,但未使 IMT 恢复到 AS 造模前的厚度,表明祛瘀消斑胶囊只是阻止了 AS 的继续发展。然而通过形态学观察发现,中药组斑块中的巨噬细胞数量明显减少,细胞内外脂质明显减少,胶原含量相对增加,提示祛瘀消斑胶囊能增加斑块的稳定性。

声学密度定量技术以背向散射积分为理论基础,可以真实地反映组织的结构信息和声学特征。本研究通过声学密度定量检测和病理学检查结果对比研究表明,AS 造模后兔内中膜富含脂质,AIIC%测量值较低;自然消退组胶原含量增加使 AIIC%略有增加;中药组内中膜脂质含量明显降低,胶原含量相对增加,AIIC%明显增加,进一步证实祛瘀消斑胶囊能增加 AS 斑块的声学密度,具有稳定斑块的作用。

参考文献

- 1 Kita T, Nagano Y, Yokode M, et al. Probucol prevents the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit, an animal model for familial hypercholesterolemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84(16):5928~5931.
- 2 Gotto AM Jr. Lipid lowering, regression, and coronary events. A review of the Interdisciplinary Council on Lipids and Cardiovascular Risk Intervention, Seventh Council meeting. *Circulation*, 1995, 92(3):646~656.
- 3 谢梅林, 顾振纶, 钟蓓, 等. 消瘀片对颈动脉粥样硬化患者颈动脉血流参数和形态学的影响. *中国中西医结合杂志*, 2002, 22(2):98~100.
- 4 陈可冀. 90 年代心脑血管病中医药的临床研究方向. *中医杂志*, 1990, 31(1):48~50.
- 5 成绍武. 中医对动脉粥样硬化的认识及防治研究进展. *湖南中医药导报*, 2003, 9(7):66~68.
- 6 Seddon AM, Woolf N, La Ville A, et al. Hereditary hyperlipidemia and atherosclerosis in the rabbit due to overproduction of lipoproteins. II. Preliminary report of arterial pathology. *Arteriosclerosis*, 1987, 7(2):113~124.
- 7 Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, et al. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J*, 1993, 69(5):377~381.

欢迎订阅《中医杂志》

《中医杂志》(月刊)是由中华中医药学会和中国中医研究院联合主办的国家级中医药学术期刊。创刊于 1955 年,是建国以后我国中医界创刊最早、发行量最大、最具权威和影响的中医药学术刊物。

特色栏目:(1)专家论坛:每期将约请有关专家就中医药学术发展的热点问题发表见解。(2)学术争鸣:将定期刊载内容选题广泛的争鸣文章,增加作者读者间的交流。(3)当代名医:主要介绍 20 世纪 90 年代以来由国家两部一局认定的名老中医的学术思想和经验。(4)医经研读:中国古代医学经典研讨。(5)海外中医:海外中医学者研究成果及发展信息。(6)验案采撷:中医临床疑难验案解析。(7)经验方荟萃:经方及个人验方的应用体会。(8)中医与写作:约请名家分析中医科技论文的写作技巧。(9)理论探讨:内容为中医现代化研究、中医病证研究、中医现代医家的学术思想研究等。(10)针灸推拿:内容为针灸推拿临床经验总结、理论研究等。(11)临证心得:老中医经验或普通作者个人临床经验总结。(12)专题笔谈:除中药应用专题以外,将陆续推出中医病证专题、中医治法专题等。

本刊全国各地邮局(所)均可订阅,邮局代号:2—698,2006 年每册 7.30 元。本刊地址:北京东直门内南小街 16 号,邮编:100700,电话:(010)64035632。稿件查询电话:(010)64014411 转 3036。

《中医杂志》(英文版)为季刊,本刊自办发行,每册 22.00 元,欢迎订阅。