

搏心通对饲高脂家兔抗氧化损伤、改善内皮功能作用的实验研究

张介眉¹ 时绍红¹ 郝建军¹ 郝飞虹²

摘要 目的:观察搏心通对饲高脂家兔抗氧化损伤、改善内皮功能的作用。方法:将 32 只健康家兔随机分为正常对照组、空白模型组、搏心通组、速效救心丸组,正常对照组给予普通饲料,其它 3 组给予高脂饮食,制备动脉粥样硬化模型,同时各组给予相应药物,最后 1 次给药后 1 小时,取兔耳缘静脉血,离心取血清,并检测相关指标,评价搏心通的疗效。结果:速效救心丸和搏心通均能有效调节一氧化氮、丙二醛、超氧化物歧化酶、氧化低密度脂蛋白、C 反应蛋白、内皮素、血栓烷、6-酮前列环素的含量(均 $P < 0.01$),且搏心通疗效优于速效救心丸($P < 0.01$)。结论:搏心通具有抗氧化损伤、改善内皮功能的作用,能用于防治动脉粥样硬化。

关键词 动脉粥样硬化/中医药疗法 @ 搏心通

动脉粥样硬化(AS)从发生、发展以及临床症状的各个阶段都存在内皮功能障碍(ED)。本实验旨在研究搏心通抗氧化损伤、改善内皮功能的作用机制,以便为临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物:体重为(2 ± 0.2) kg 的健康新西兰白兔 32 只,雌雄各半,由湖北省实验动物研究中心提供,许可证号:SCXK(鄂)2003-0003。

1.1.2 药物:精选百合科植物葱(*Allium fistulosum* L, 本实验用葱取自湖北黄陂)近根部的鳞茎(葱白),切去须根及叶,剥去外膜,榨汁,配成浓度为 250%的搏心通液体,4℃冰箱储存备用;速效救心丸用蒸馏水配制成浓度为 2.4%的液体。

1.1.3 试剂:胆固醇购自北京市化学试剂公司,批号:20040508;一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、氧化低密度脂蛋白(OX-LDL)、C 反应蛋白(CRP)测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,批号:20041115、20050106、20041203、20041005、20040809;内皮素(ET-1)、血栓烷(TXB₂)、6-酮前列环素(6-keto-PGF_{1α})放免测定试剂盒购自中国人民解放军

总医院科技开发中心东亚免疫技术研究所,批号:20050121。

1.1.4 仪器与设备:FJ2003/50G 型 γ 免疫计数器(国营二六二厂生产);DG3022 型酶联免疫检测仪(南京华东电子管厂生产);SSOOPP 半自动生化分析仪(法国 SECOMAM 公司生产);XYJ-801 型电动离心机(江苏医疗器械厂生产)。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模方法:将以上动物随机分为 4 组,分笼饲养(饲养环境温度保持在 26℃,室内湿度控制在 70%左右,自动通风器保持室内通风),观察各组动物毛色、眼神、进食、活动、粪便,每周记录 1 次体重;适应性喂养 1 周后,正常对照组继续以基础饲料喂养,空白模型组、搏心通组、速效救心丸组按朱愉等的方法造模^[1],即予以高脂饲料喂饲,配方为:基础饲料 80%、蛋黄粉 15%、食用猪油 5%、胆固醇每日 1g,每日进食 100~120g,自由饮水,喂养 3 周;将饲料中的胆固醇减去,再喂 5 周,配方为:基础饲料 80%、蛋黄粉 15%、食用猪油 5%,每日进食 100~120g,自由饮水。

1.2.2 给药方法:从造模即日起搏心通组按 12.5g 生药/kg 体重灌胃,速效救心丸按 0.12g 生药/kg 体重灌胃,正常对照组和空白模型组用等体积生理盐水灌胃,连续灌胃 8 周。

1.2.3 观察指标及方法:末次给药后 1 小时,取兔耳缘静脉血于肝素管内,离心 10 分钟(2500 转/分钟),取血清备用。用硝酸还原酶法测定 NO,黄嘌呤氧化酶法测定 SOD,硫代巴比妥酸法测定 MDA,生化法测定 CRP,ELISA 法测定 OX-LDL,放射免疫法测定 ET-1、TXB₂、6-keto-PGF_{1α} 的含量。所有检测均由武汉市中西医结合医院检验中心完成。

1.2.4 统计学方法:实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,结果用单因素方差分析,组间用 q 检验。

2 结果

2.1 搏心通对 AS 兔血清 NO 和 ET-1 的影响:表 1 示,造模后 NO 的含量明显下降($P < 0.01$),ET-1 的含量明显增加($P < 0.01$);干预治疗后速效救心丸和搏心通均能有效调节 NO 和 ET-1 的含量($P < 0.01$)。

基金项目:湖北省卫生厅科研基金项目(JX2B80)

1 武汉市中西医结合医院心内科,湖北省武汉市中山大道 215

号(430022)(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 湖北中医学院中药研究所

收稿日期:2005-07-11;修回日期:2005-09-05

表 1 搏心通对 AS 兔血清 NO 和 ET-1 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	NO($\mu\text{mol/L}$)	ET-1(pg/ml)
正常对照组	8	97.43 $\pm$ 1.40	512.41 $\pm$ 4.62
空白模型组	8	36.43 $\pm$ 1.70*	962.02 $\pm$ 5.33*
速效救心丸组	8	54.77 $\pm$ 1.23 Δ	752.73 $\pm$ 3.51 Δ
搏心通组	8	72.23 $\pm$ 2.38 $\Delta\blacktriangle$	640.25 $\pm$ 4.86 $\Delta\blacktriangle$

与正常对照组比较, * $P<0.01$;与空白模型组比较, $\Delta P<0.01$;与速效救心丸组比较, $\blacktriangle P<0.01$ 。以下表同

2.2 搏心通对 AS 兔血清 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 和 TXB $_2$ 的影响:表 2 示,造模后 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 的含量明显下降, TXB $_2$ 的含量明显升高(均 $P<0.01$), 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ /TXB $_2$ 的比值下降;干预治疗后速效救心丸和搏心通均能有效调节 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 和 TXB $_2$ 的含量, 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ /TXB $_2$ 的比值也相应增加(均 $P<0.01$)。

表 2 搏心通对 AS 兔血清 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 和 TXB $_2$ 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	6-keto-PGF $_{1\alpha}$ (pg/ml)	TXB $_2$ (pg/ml)	6-keto-PGF $_{1\alpha}$ /TXB $_2$
正常对照组	8	558.69 $\pm$ 1.23	624.07 $\pm$ 2.03	0.89 $\pm$ 0.003
空白模型组	8	256.00 $\pm$ 5.28*	944.33 $\pm$ 4.24*	0.27 $\pm$ 0.005*
速效救心丸组	8	462.26 $\pm$ 4.43 Δ	862.82 $\pm$ 3.03 Δ	0.54 $\pm$ 0.005 Δ
搏心通组	8	484.25 $\pm$ 5.79 $\Delta\blacktriangle$	724.87 $\pm$ 3.32 $\Delta\blacktriangle$	0.67 $\pm$ 0.006 $\Delta\blacktriangle$

2.3 搏心通对 AS 兔血清 MDA 和 SOD 的影响:表 3 示,造模后 SOD 的含量明显下降($P<0.01$), MDA 的含量明显增加($P<0.01$);干预治疗后速效救心丸和搏心通均能有效调节 MDA 和 SOD 的含量($P<0.01$)。

表 3 搏心通对 AS 兔血清 MDA 和 SOD 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	MDA($\mu\text{mol/L}$)	铜锌-SOD(U/ml)	T-SOD(U/ml)
正常对照组	8	1.36 $\pm$ 0.08	1553.28 $\pm$ 7.61	1387.87 $\pm$ 3.69
空白模型组	8	4.50 $\pm$ 0.15*	1048.25 $\pm$ 7.53*	1180.91 $\pm$ 8.31*
速效救心丸组	8	2.09 $\pm$ 0.07 Δ	1352.28 $\pm$ 4.68 Δ	1029.21 $\pm$ 4.38 Δ
搏心通组	8	3.39 $\pm$ 0.05 $\Delta\blacktriangle$	1441.81 $\pm$ 5.06 $\Delta\blacktriangle$	1279.29 $\pm$ 5.82 $\Delta\blacktriangle$

2.4 搏心通对 AS 兔血清 CRP 和 OX-LDL 的影响:表 4 示,造模后 CRP 和 OX-LDL 的含量明显增加($P<0.01$);干预治疗后速效救心丸和搏心通均可明显降低 CRP 和 OX-LDL 的含量($P<0.01$);搏心通干预治疗后 CRP 的含量与正常对照组比较,差异无显著性($P>0.05$)。

表 4 搏心通对 AS 兔血清 CRP 和 OX-LDL 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	CRP(mg/L)	OX-LDL($\mu\text{g/dL}$)
正常对照组	8	10.84 $\pm$ 0.14	1.80 $\pm$ 0.10
空白模型组	8	14.42 $\pm$ 0.22*	2.60 $\pm$ 0.16*
速效救心丸组	8	12.21 $\pm$ 0.10 Δ	1.63 $\pm$ 0.09 Δ
搏心通组	8	10.57 $\pm$ 0.05 $\Delta\blacktriangle$	1.41 $\pm$ 0.09 $\Delta\blacktriangle$

3 讨论

AS 的病理变化类似于中医学的“痰凝血瘀”。其病机为阳微气弱,痰瘀互结,脉络痹阻。病理变化主要表现为本虚标实,虚实夹杂,阳虚贯穿疾病的始终。临床多采用活血化瘀、化痰通络法治标,却忽视了阳微气弱是本病发生发展以及病情逆转的关键因素。我们认为本病当从“阳微气弱”入手,以“通阳宣痹”立法,通阳药可使药物直达病所,并可助阳扶正祛邪,宣痹通络。我们用通阳代表药葱白制剂搏心通防治 AS。

氧自由基(OFR)介导的脂质过氧化损伤参与了 AS 形成和发展的病理过程^[2],破坏血管内皮,导致其功能障碍^[3],使其分泌 NO 减少,ET 增加,NO/ET 平衡的破坏是动脉内皮受损的显著特征^[4];6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 减少,并且诱导血小板合成 TXB $_2$ 增多,血栓形成过程受 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ /TXB $_2$ 调控;同时 SOD 活性降低,导致脂质过氧化物清除障碍,MDA 含量增加,加重局部血管内皮细胞的病理损伤和血管调节失常^[5],从而促进 AS 的形成。现有研究多支持动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病。CRP 水平与动脉粥样硬化的发生发展及预后有直接的联系,并且与动脉粥样硬化的危险因素也有一定的相关性^[6]。

本实验结果表明,AS 兔模型体内存在着明显的脂质过氧化损伤,内皮功能障碍,血管活性物质分泌异常以及 AS 过程中伴随着慢性炎症反应,干预治疗能清除氧自由基,减轻炎症反应,改善内皮功能状态,进而逆转 AS 的进程,达到治疗 AS 的目的。搏心通具有明显的抗氧化,改善内皮功能的作用。这一结果说明中医对本病病因病机的认识是有科学依据的,脂质过氧化形成的氧化物可能是痰凝血瘀的物质基础,通过“通阳宣痹”疗法,不仅可以使各种血管活性物质在体内的表达及比例正常,而且可以使内皮功能得以恢复,其机理有待于进一步研究。

参考文献

1 朱愉,多秀瀛主编.实验动物的疾病模型.天津:天津科技翻译出版公司,1997:163~164.

2 Wick G, Perschinka H, Xu Q. Autoimmunity and atherosclerosis. Am Heart J, 1999, 138(5Pt2) :S444~S449.

3 Miyata K, Shimokawa H, Yamawaki T, et al. Endothelial vasodilator function is preserved at the spastic/inflammatory coronary lesions in pigs. Circulation, 1999, 100(13) :1432~1437.

4 戴瑞鸿,李勇,范维琥,等.保护内皮细胞功能在防治心血管疾病中的重要作用.国际心血管杂志,2000,2(4) :328~332.

5 Keaney JF Jr, Vita JA. Atherosclerosis, oxidative stress, and antioxidant protection in endothelium-derived relaxing factor action. Prog Cardiovasc Dis, 1995, 38(2) :129~154.

6 陈学军,李建军. C 反应蛋白与动脉粥样硬化.中国动脉硬化杂志, 2002, 10(4) :355~357.