

稳斑方对模型兔动脉粥样硬化斑块稳定性的影响

莫新民¹ 曾 英² 侯 斌¹ 谢海波² 刘 锐¹ 李劲平³

(1. 湖南中医药大学研究生处, 湖南省长沙市含浦科教园象嘴路, 410208;

2. 湖南中医药大学第一附属医院心内科; 3. 中南大学药学院)

[摘 要] **目的** 观察稳斑方对动脉粥样硬化(AS)模型兔斑块稳定性的影响。**方法** 56 只日本大耳白兔随机分成空白组、模型组、他汀组和稳斑方组, 每组 14 只。喂食高脂饲料 12 周建立兔动脉粥样硬化模型, 造模成功后他汀组和稳斑方组分别开始给予相应药物, 8 周后处死。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)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平; 取主动脉病理切片, 观察斑块面积、脂质核心面积、内膜及中膜厚度、纤维帽厚度。**结果** 稳斑方组血清 TC、TG、LDL-C 水平显著低于模型组($P < 0.01$), 而各组 HDL-C 水平的差异无统计学意义。与模型组比较, 稳斑方组主动脉斑块面积、脂质核心面积、内膜厚度、内膜/中膜厚度均减少($P < 0.01$), 而纤维帽厚度、纤维帽厚度/脂质核心面积则升高($P < 0.01$)。**结论** 稳斑方能降低血脂水平改善斑块内部结构, 对稳定 AS 斑块有良好疗效。

[关键词] 稳斑方; 动脉粥样硬化; 辛伐他汀; 动脉斑块

Influence of Wenban Recipe on the Stability of Atherosclerotic Plaques in Model Rabbits

MO Xinmin¹, ZENG Ying², HOU Bin¹, et al.

(1. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208; 2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT **Objective** To observe the influence of Wenban Recipe (Recipe for stabilizing the atherosclerotic plaques) on the stability of atherosclerotic plaques of rabbits. **Methods** The 56 white rabbits were randomized into blank group, model group, simvastatin group, and Wenban Recipe group, with 14 rabbits in each. The atherosclerosis models were made through feeding high-fat diet for 12 weeks and then medication was given. The rabbits were killed 8 weeks later, and the serum was collected for measuring total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C); the aortic pathological section was used to observe the areas of plaque and lipid core and the thickness of intima, media and fibrous cap. **Results** The levels of TC, TG, and LDL-C of Wenban Recipe group were significantly lower than those of the model group ($P < 0.01$), while the level of HDL-C in all groups was without statistical difference. Compared with the model group, the areas of plaque and lipid core and the thickness of intima, and intima/media of Wenban Recipe group were significantly decreased ($P < 0.01$), but thickness of fibrous cap and fibrous cap thickness/lipid core area were significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** Wenban Recipe can decrease the blood fat in improving the inner structure of atherosclerotic plaques, being effective for stabilizing the plaques.

Key Words Wenban Recipe (Recipe for stabilizing the atherosclerotic plaques); Atherosclerosis; Simvastatin; Arterial plaques

急性冠状动脉综合征(ACS)是由于冠状动脉内粥样斑块的破裂、血小板的聚集和血栓形成导致冠状动脉完全或不完全阻塞引起的一组临床综合征, 是严重危害人类健康的一大类疾病。大量临床和动物试验证实 ACS 的主要病理基础是动脉粥样硬化(AS)斑块发生破裂, 并继发急性血栓形成, 而与冠脉管腔本身的狭窄程度无关^[1]。因此, 人们对 AS 的关注点已从血管管腔狭窄的程度逐步转移到 AS 的生物学特征上, 即如何采取措施增强斑块稳定性, 对防治 ACS, 避免急性心血管不良事件的发生有着重要的意义。本研究拟从血脂水平和病理形态学方面观察稳斑方对 AS 模型兔斑块稳定性的影响。

1 材料

1.1 动物

日本大耳白兔 56 只, 雌雄各半, 体重 1.5~2.0 kg, 由湖南中医药大学动物实验中心提供。合格证号: 医动字 02-03。

1.2 药品

稳斑方: 由黄芪、丹参、瓜蒌、川芎等药物组成, 由湖南中医药大学第一附属医院药剂科制备, 成人每天 88g 生药, 水煎服, 并浓缩成每毫升含 1.7g 生药的溶液备用。辛伐他汀片: 由宜昌长江药业有限公司生产, 批号 H20056876。用前均匀磨成粉剂, 用冷开水配成含药量 39% 浓度的溶液备用。

1.3 试剂

胆固醇: 安徽省淮北市创凯生化原料厂生产, 批号

0072572091; 蛋黄粉: 安徽省亳州市众意蛋业有限公司, 批号 07051749; 丙基硫氧嘧啶: 上海复星朝晖药业有限公司生产, 批号 070101; 总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、甘油三酯(TG)测定试剂盒购自上海罗氏公司提供; 1% 戊巴比妥钠、5% 硝酸甘油、95% 乙醇、二甲苯、苏木素-伊红染液、10% 甲醛。

1.4 实验仪器

JY 3002 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司), Leica DM LB2 型双目显微镜(德国 Leica 公司), Shandon 325 型石蜡切片机(英国 Shandon 公司), 7170A 日立全自动生化分析仪(日本日立公司), TDZ4-WS 低速台式离心机(上海华岩仪器设备有限公司), MIAS 医学图象分析系统(北航公司生产)。

2 方法

2.1 实验分组

日本大耳白兔 56 只, 普通饲料适应性喂养 1 周后, 先按雌雄分层, 再按随机数字表法随机分为空白组、模型组、稳斑方组、他汀组共 4 组, 每组 14 只。每只家兔单笼喂养, 自由饮水。

2.2 造模方法

除空白组继续普通饲料喂养外, 其余各组给予高脂饲料每只每天 100g 喂养(高脂饲料配制^[2,3]: 1% 胆固醇、8% 猪油、7.5% 蛋黄粉、83.5% 标准饲料, 每 100g 高脂饲料中加入 20mg 丙基硫氧嘧啶, 拌匀), 自由饮水。造模 12 周后模型组、稳斑方组、他汀组每组各随机抽取 1 只高脂模型兔处死, 取出自心脏至髂动脉分叉处的主动脉标本作病理切片证实产生粥样硬化斑块, 标志 AS 斑块造模成功。至 12 周末主要因灌胃失误、腹泻和正常处死, 空白组剩余动物 12 只、模型组 11 只、稳斑方组 12 只、他汀组 11 只进入下一阶段实验。

2.3 给药方法

各组均从第 13 周造模成功后改用普通饲料喂养, 同时开始给药, 每天灌胃 1 次, 连续 8 周。除空白组和模型组每天灌胃相应体积冷开水外(2.5ml/kg), 其余两组剂量按人兔体表面积折算。稳斑方组予中药稳斑方相当于 4.24g 生药 · kg⁻¹ · d⁻¹; 他汀组予辛伐他汀 0.98mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 灌胃体积 2.5ml/kg。

2.4 标本处理及指标检测

第 20 周末实验结束, 最终空白组剩余 7 只, 模型组 8 只, 稳斑方组 8 只, 他汀组 7 只。每只家兔耳缘静脉采血 5ml 后, 分离血清检测血脂(包括 TC、TG、LDL-C、HDL-C), 然后耳缘静脉静推空气 5ml 处死。立即剖开胸腔、腹腔, 游离主动脉全长, 剥离外膜脂肪组织, 生理

盐水冲洗后纵行剖开, 置于 10% 甲醛中固定 48h, 常规乙醇逐级脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 制成 4μm 厚连续切片。切片 HE 染色, 100 倍普通光镜下, 每张切片随机选取 5 个视野, 观察病理形态变化并显微摄像, 利用计算机 MIAS 医学图像分析系统分别测量斑块面积、斑块内脂质中心面积、内膜、中膜及纤维帽厚度, 每个标本取 5 个视野测量的平均值, 并计算内膜/中膜厚度比和纤维帽厚度/脂质中心面积^[4]。

2.5 统计学方法

所有数据均用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。所有数据均先经方差齐性检验, 方差齐则用方差分析、*q* 检验; 方差不齐用秩和检验。

3 结果

3.1 各组动物血清血脂水平比较

表 1 示, 与模型组比较, 空白组、他汀组和稳斑方组的血清 TC、TG、LDL-C 均明显下降, 差异有统计学意义(*P* < 0.01); 空白组 HDL-C 较之模型组明显升高, 而他汀组和稳斑方组 HDL-C 与模型组接近, 但 4 组指标之间差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。提示稳斑方和辛伐他汀都能显著降低 AS 模型兔的血清 TC、TG、LDL-C 水平。

表 1 各组动物血脂水平比较(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	TC	TG	HDL-C	LDL-C
空白组	7	2.20 ± 1.27 *	0.59 ± 0.39 *	0.63 ± 0.16	0.67 ± 0.15 *
模型组	8	14.13 ± 4.60	3.02 ± 0.99	0.45 ± 0.14	7.41 ± 1.36
他汀组	7	5.39 ± 2.88 *	1.46 ± 0.88 *	0.51 ± 0.15	2.11 ± 0.78 *
稳斑方组	8	6.87 ± 3.18 *	1.57 ± 1.00 *	0.48 ± 0.10	2.50 ± 0.72 *

注: 与模型组比较, * *P* < 0.01

2.2 各组动物主动脉斑块病理形态学观察

2.2.1 肉眼观察 空白组主动脉柔软, 内膜光滑, 未见脂纹, 无斑块形成; 模型组、他汀组和稳斑方组主动脉壁较空白组明显增厚变硬, 内膜均可见不同程度脂纹和粥样斑块隆起, 而模型组尤为明显, 斑块连成片状, 从主动脉近端到远端, 斑块逐渐减轻; 他汀组和稳斑方组内膜上脂纹、斑块较模型组明显减少, 除近端外, 较少连成片状, 主要分布于主动脉弓和血管分支处。

2.2.2 光镜下观察 HE 染色切片, 100 倍普通光镜下观察提示空白组主动脉内皮细胞排列完整, 中膜外膜分界清楚, 内弹力板及中膜弹力纤维形态正常, 平滑肌细胞走行良好, 无泡沫细胞堆积及斑块形成; 模型组主动脉内膜显著增厚, 内皮不光滑不完整, 中膜平滑肌增生, 斑块隆起明显, 内含大量泡沫细胞; 他汀组和稳斑方组内膜可见部分增厚, 内皮细胞排列较完整, 其下

表 2 各组动物主动脉斑块面积、内膜及中膜厚度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	斑块面积(μm^2)	内膜厚度(μm)	中膜厚度(μm)	内膜/中膜厚度($\times 10^{-2}$)
空白组	7	—	5.94 $\pm$ 1.64**	309.61 $\pm$ 45.58*	1.93 $\pm$ 0.49**
模型组	8	48901.61 $\pm$ 10186.60	47.76 $\pm$ 9.18	384.78 $\pm$ 45.63	12.53 $\pm$ 2.56
他汀组	7	33101.11 $\pm$ 9240.94**	20.50 $\pm$ 7.57**	349.94 $\pm$ 54.53	5.88 $\pm$ 2.22**
稳斑方组	8	32235.90 $\pm$ 7011.92**	23.43 $\pm$ 5.76**	364.26 $\pm$ 12.67	6.45 $\pm$ 1.70**

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

有少量泡沫细胞堆积,有少许斑块隆起。

2.3 各组动物主动脉斑块面积及内膜、中膜厚度比较

表 2 示,与模型组比较,他汀组和稳斑方组斑块面积、内膜厚度、内膜/中膜厚度都显著减小,差异有统计学意义($P<0.01$),而中膜厚度无明显变化($P>0.05$)。他汀组和稳斑方两组间各指标比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 各组动物主动脉斑块纤维帽厚度及脂质面积比较

表 3 示,与模型组比较,他汀组和稳斑方组脂质核心面积明显下降,而纤维帽厚度、纤维帽厚度/脂质核心面积显著升高($P<0.01$)。提示辛伐他汀和稳斑方均能增加斑块的稳定性。

表 3 各组动物主动脉斑块脂质面积、纤维帽厚度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	脂质面积(μm^2)	纤维帽厚度(μm)	纤维帽厚度/脂质面积($\times 10^{-2}$)
模型组	8	19095.70 $\pm$ 4692.88	53.83 $\pm$ 13.07	0.30 $\pm$ 0.08
他汀组	7	13857.41 $\pm$ 4154.75*	71.73 $\pm$ 11.22*	0.53 $\pm$ 0.08*
稳斑方组	8	12548.61 $\pm$ 1636.38*	69.31 $\pm$ 13.66*	0.56 $\pm$ 0.15*

注:与模型组比较,* $P<0.01$

3 讨论

AS 斑块主要由脂质以及覆盖在其上面的纤维帽组成,斑块的组成和结构与斑块的稳定性密切相关,是斑块破裂的内因和主要因素。脂质核的大小、斑块的细胞成分以及纤维帽的厚度是决定斑块稳定性的重要因素。研究发现,当脂质核所占斑块比例大于 40%时,斑块易于发生破裂^[1]。纤维帽作为脂质与血液的分隔屏障,对维持斑块的结构完整、抵抗血流冲击、防止斑块的破裂及继发血栓形成起着十分重要的作用,纤维帽的组成和厚度是决定斑块破裂的主要形态学因素之一。在斑块破裂之前,可以通过检测斑块成分对斑块的易损性进行评价。纤维帽厚度和脂质面积的比值,是公认的评价斑块易损程度的指标^[4]。这一比例决定了斑块的稳定程度,比例越小,斑块越易破裂。

中医根据其病理变化,一般将 AS 归入“血瘀”、“痰浊”等范畴。AS 病位在血脉,病程较长,老年人多见。年老气血亏虚,络脉空虚,痰浊、瘀血停留和附着于脉中管壁之上,日久痰瘀胶结,络脉痹阻而发为本病。

稳斑方主要由黄芪、丹参、瓜蒌、川芎等药物组成,方中黄芪温阳补气,气生则血生,气旺则血行,为君药。丹参活血养血,祛瘀而不伤正,与瓜蒌合用清热化痰、活血化痰,配合黄芪共收益气活血、祛瘀化痰之功,共为臣药。川芎活血行气,为血中气药,能入络祛邪,协助君臣药活血通络。本实验结果表明,稳斑方组能明显降低 AS 模型兔血清 TC、LDL-C 水平。而且稳斑方组斑块面积、内膜厚度、内膜/中膜厚度较之模型组也明显减少,说明稳斑方一定程度上逆转了 AS 模型兔的病理形态学变化,对 AS 模型兔斑块有一定的消退作用。稳斑方组斑块内脂质面积也明显减少,纤维帽厚度、纤维帽厚度/斑块内脂质面积则明显增加,因此稳斑方减少斑块内脂质沉积,增加斑块纤维帽厚度,提高斑块抗易损性,对稳定 AS 斑块有良好的疗效。

参考文献

- [1] Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease[J]. Circulation, 2005, 111(25): 3481-3488.
 - [2] 徐艳辉,瞿湘苹,李智,等. 兔高脂蛋白血症模型建立及动脉粥样斑块形成的方法学[J]. 中国药理学通报, 1998, 14(5): 473-474.
 - [3] 李仪奎主编. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 399-400.
 - [4] Loree HM, Tobias BJ, Gibson LJ, et al. Mechanical properties of model atherosclerotic lesion lipid pools[J]. Arterioscler Thromb, 1994, 14(2): 230-234.
 - [5] Davies MJ. Pathophysiology of acute coronary syndromes[J]. Indian Heart J, 2000, 52(4): 473-479.
- (收稿日期: 2008-07-11; 修回日期: 2008-11-10)
[编辑: 邓媛]

寻求疑难杂症验方合作

您有效果神奇、应用已久、无副作用且功效显著的民间验方吗? 您希望它产业化吗? 您期盼它为更多人解除病痛吗? 这样的事情您自己完成有困难吗? 我们来合作好吗? 全国高科技健康产业委员会所属的权健国际自然医学集团集科研、生产、销售为一体, 服务网点遍及全国, 旗下的天津权健自然医学科技发展有限公司致力于民间神奇验方的收集整理使之产业化服务人民大众。

期待与您的真诚合作 共同造福人类!

公司: 天津市权健自然医学科技发展有限公司, 地址: 天津市武清区豆张庄乡权健道 1 号, 邮编: 301707, 电话: 022-22160816、022-22166188, 传真: 022-22160816, 联系人: 常小姐, 公司网址: www.ziranyixue.com。

合作流程: 来电咨询确认(咨询电话: 022-22160816) → 提供临床试验用品 10 份 → 试验治愈率 70% 为成功 → 洽谈合作事宜(一般为购买验方)