

实验研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.03.016

通心络超微粉对兔动脉粥样硬化早期外膜微血管新生的影响

刘美之¹, 贾振华^{2,3}, 魏 聪^{2,4}, 王宏涛^{2,5}, 梁俊清^{2,5}, 张军芳^{2,5},
肖维刚², 郎艳松¹, 吴以岭^{1,2*}(1. 河北医科大学, 河北省石家庄市中山路 361 号, 050017; 2. 河北以岭医药研究院; 3. 河北医科大学附属以岭医院;
4. 国家中医药管理局心脑血管络病重点研究室; 5. 河北省络病重点实验室)

摘要 目的 探讨通心络超微粉对兔动脉粥样硬化早期外膜微血管新生的影响及可能作用机制。方法 采用颈动脉套术联合高脂饮食喂养建立兔动脉粥样硬化早期颈动脉损伤的模型。将造模成功的 90 只新西兰白兔随机分为空白组、模型组、阿托伐他汀组和通心络高、中、低剂量组, 每组 15 只。通心络高、中、低剂量组分别给予通心络超微粉 0.60、0.30、0.15 g/(kg·d), 阿托伐他汀组给予阿托伐他汀溶液 2.50 mg/(kg·d), 空白组与模型组按 3 ml/(kg·d) 给予 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液。各组连续灌胃 4 周。各组取兔术侧颈动脉标本, 观察血管病理特征, 检测颈动脉外膜微血管密度 (MVD)、血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活力、丙二醛 (MDA) 含量、血管外膜组织中超氧阴离子 (O_2^-)、颈动脉组织 p38MAPK 及 p-p38MAPK 蛋白的表达水平。结果 HE 染色显示通心络高、中剂量组和阿托伐他汀组术侧颈动脉损伤均较模型组有不同程度减轻。与模型组比较, 通心络高、中剂量组和阿托伐他汀组血清 SOD 活力升高, MDA 含量、颈动脉外膜 MVD、 O_2^- 、p-p38MAPK 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 通心络超微粉具有抑制兔动脉粥样硬化早期外膜微血管新生作用, 其机制可能与提高血管系统和外膜组织的抗氧化能力、抑制 p38MAPK 通路激活有关。

关键词 动脉粥样硬化; 氧化应激; 血管新生; 抗氧化能力; 通心络超微粉

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是多种心血管疾病如心肌梗死、中风等的重要病理基础, 严重威胁着人类生命健康。血管新生直接关系到 AS 发生、发展, 血管壁微血管含量与病变进展和斑块的稳定性密切相关^[1], 抑制血管壁的微血管新生能增加斑块稳定性有效延缓 AS 发病进程。在 AS 早期, 血管外膜即可被激活, 表现为局部氧自由基产生增多和外膜微血管病理性新生等^[2-3]。p38MAPK 是丝裂原活化蛋白激酶家族 (MAPKs) 的重要成员, 参与氧化应激介导的细胞增殖和分化^[4]。通心络胶囊是基于中医络病理论为指导研制而成的中药复方制剂, 具有降脂、抗炎、抗氧化等

作用, 能够有效稳定易损斑块, 防止斑块破裂^[5]。本实验观察通心络超微粉对兔 AS 早期外膜微血管新生的作用, 探讨其影响血管新生的可能机制。

1 材料

1.1 动物

普通级健康新西兰白兔, 3~4 月龄, 雄性, 体重 (2.0 ± 0.2) kg, 购自北京富豪实验动物养殖中心, 实验动物许可证号 SCXK2010-0010。

1.2 主要药物与试剂

通心络超微粉, 石家庄以岭药业股份有限公司提供 (批号 S130901); 阿托伐他汀钙片由辉瑞制药有限公司生产 (批号 H20051408); 超氧化物阴离子荧光探针 (美国 Sigma 公司); 鼠抗兔 CD31 单克隆抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 ab9498); 兔抗人 p38MAPK 多克隆抗体 (英国 Biorbyt 公司, 批

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973” 计划) (2012CB518606)

* 通讯作者: jiatcm@163.com, (0311) 83803120

号 orb76573); 鼠抗人 p-p38MAPK 抗体 (美国 CST 公司, 批号 9211S); 丙二醛 (MDA) 测试盒和超氧化物歧化酶 (SOD) 测试盒购自南京建成生物工程研究所 (批号 20140108、20140103)。

高脂饲料: 胆固醇 1%、猪油 5%、蛋黄粉 7.5% 和 86.5% 基础饲料, 委托河北医科大学实验动物中心加工; 胆固醇购买于北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司 (批号 28910460); 猪油、蛋黄粉分别由驻马店顶升食品有限公司、安徽亳州市红日蛋制品有限责任公司提供。

1.3 主要仪器

3K15 低温高速离心机 (美国 Sigma 公司); Spectra Max M2 多功能酶标分析仪 (美国 Molecular Devices 公司); Eclipse 2000-U 普通光学显微镜及图像采集系统 (日本 Nikon 公司); IX71 荧光倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); RM2015 石蜡切片机、CM3050 冰冻切片机 (德国 Leica 公司); Gel. Doc 2000 凝胶成像系统 (美国 UVP 公司); DYZ-22A 型双恒定时电泳仪 (北京市六一仪器厂); 170-3940 半干转膜仪系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 模型制备

参照文献 [6] 建立硅胶管包裹兔右颈总动脉模型: 3% 戊巴比妥钠 (1 ml/kg) 经耳缘静脉麻醉, 待麻醉脱毛后, 将兔仰卧位固定于手术台上。沿其颈部正中中线甲状软骨下方剪开皮肤并逐层钝性分离各层, 暴露右侧颈总动脉鞘, 仔细游离出 3~4 cm 的颈总动脉, 采用医用硅胶管, 内径 1.6 mm, 长 20 mm, 纵向切开后包裹于新西兰兔的右颈总动脉, 生理盐水冲洗, 缝合伤口, 局部滴加青霉素钠 80 万 U/d。术后连续 3 天, 每日 1 次, 预防感染。

2.2 动物分组及给药

新西兰白兔 90 只, 经普通饲料适应性喂养 7 天后, 采用随机数字表分为空白组、模型组、阿托伐他汀组及通心络高、中、低剂量组, 每组 15 只。

空白组全程给予普通饲料, 其余各组术后次日开始喂养高脂饲料, 每兔每日限量 120 g, 分 2 次喂饲, 连续 4 周。术后次日通心络高、中、低剂量组分别给予通心络超微粉 0.60、0.30、0.15 g/(kg·d), 阿托伐他汀组给予阿托伐他汀溶液 2.50 mg/(kg·d) 灌胃给药, 空白组与模型组按 3 ml/(kg·d) 给予 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液。

各组连续灌胃 4 周。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 HE 染色 采用随机数字表法每组选取 3 只动物的术侧颈动脉, 4% 多聚甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 间断均匀切片, 切片厚约 5 μm, 常规 HE 染色。

2.3.2 CD31 免疫组化染色 采用 EnVision 免疫组化染色方法, 进行 CD31 标记。用已知 CD31 阳性标本切片作为阳性对照, 用 PBS 代替一抗作为阴性对照。用 5% BSA 按 1: 200 稀释好的一抗覆盖组织, 4℃ 孵育过夜, 其他操作按试剂盒说明书进行。以镜下出现棕黄色颗粒为阳性标准, CD31 在光镜下将血管内皮细胞染为棕黄色。采用 Weidner 等 [7] 提出的方法对研究结果进行微血管密度 (MVD) 量化分析。首先在 40 倍光镜视野下扫视整个切片寻找微血管高密度集中区域作为“热点”。然后在 400 倍光镜视野下, 各计数 5 个高倍视野, 取其平均值作为该标本的微血管密度。凡单个孤立的或多个紧密排列的内皮细胞团, 只要与邻近细胞及周围结缔组织分界清楚, 不论有无血管腔, 即可计为 1 条血管。

2.3.3 血清 SOD、MDA 测定 于实验结束时取血分离血清, 按照试剂盒说明书测定血清 SOD 活力和 MDA 含量。

2.3.4 血管组织中超氧阴离子 (O_2^-) 检测 采用随机数字表法每组选取 3 只动物的术侧颈总动脉新鲜组织 20 mm, 采用 DHE 荧光染色法 [8], 迅速置于 OCT 包埋剂中, 冷冻后用冰冻切片机切片, 片厚 30 μm。DHE 探针用 DMSO 溶解, 然后用 PBS 稀释至浓度为 10 μmol/L 的工作液; 将 100 μl DHE 探针工作液滴加到切片表面, 立即置于避光的湿盒中, 于 37℃ 下反应 30 min, 使 DHE 被 O_2^- 氧化生成溴化乙锭 (EB) 与细胞核的 DNA 结合并呈现红色荧光。洗去未反应探针后将样品置于荧光显微镜下, 激发波长 490 nm, 发射波长 520 nm, 观察红色荧光的强度, 用显微成像分析进行图像采集, Imge-Pro Plus 6.0 (美国 Media Cybernetics 公司) 对图片进行荧光强度定量分析。

2.3.5 Western blot 法检测 p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白表达 取颈动脉组织加入组织裂解液, 匀浆后 4℃ 离心分离上清, 用改良型 Lowry 法测定蛋白浓度 [9]。取各组等量蛋白提取液, 经质量浓度为 10% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离, 电转移至 PVDF 膜上; 用 5%

脱脂奶粉封闭后,分别与 p38MAPK、p-p38MAPK 抗体于 4℃ 反应过夜,再与 HRP 标记的相应二抗室温反应 90 min,洗膜后应用增强型 ECL 化学发光法显色。采用 Gel. Doc 2000 凝胶成像系统,对胶片进行扫描灰度值,以目的蛋白与内参 β -actin 的比值表示。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件包进行数据处理,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,对数据进行正态性和方差齐性检验,方差齐性检验用 Levene 法,两两比较采用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,方差不齐用 Dunnertt's T3 法。两变量相关性检验采用 Spearman 相关性分析,以双侧 $P < 0.05$ 为显著性水准。

3 结果

3.1 各组兔术侧颈动脉血管病理结果

图 1 示,空白组颈总动脉内膜光滑,单层内皮细胞完整连续,内弹力膜呈波浪状,中膜以平滑肌细胞为主,弹力板连接紧密有序,外膜为结缔组织,分布有少量的微血管。模型组血管内皮可见剥脱,新生内膜形成,平滑肌细胞增殖明显,外膜结缔组织明显增生,微血管数目增多,炎症细胞浸润明显。与模型组比较,通心络高、中剂量组术侧颈动脉损伤有不同程度减轻,表现为内膜增生减轻,中膜平滑肌走行较清晰,外膜结缔组织增生较不明显,微血管数量不同程度减少,炎症细胞浸润减轻。通心络低剂量组与阿托伐他汀组与模型比较,

改善不明显。

3.2 各组兔术侧颈动脉外膜 MVD 比较

表 1 示,与空白组比较,模型组外膜微血管数目显著增多 ($P < 0.01$);与模型组比较,通心络高、中剂量组和阿托伐他汀组 MVD 显著降低 ($P < 0.01$),而通心络低剂量组与模型组 MVD 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组兔术侧颈动脉外膜颈动脉外膜微血管密度比较 (条/mm², $\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	CD31
空白组	3	1.20 $\pm$ 0.35
模型组	3	12.47 $\pm$ 0.81*
通心络低剂量组	3	11.51 $\pm$ 0.87
通心络中剂量组	3	2.73 $\pm$ 0.42 Δ
通心络高剂量组	3	1.93 $\pm$ 0.42 Δ
阿托伐他汀组	3	3.67 $\pm$ 1.21 Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

3.3 各组兔血清 SOD、MDA 比较

表 2 示,与空白组比较,模型组血清 SOD 活力显著下降,MDA 显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,通心络高、中剂量组和阿托伐他汀组血清

表 2 各组兔血清血清 SOD、MDA 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	SOD (U/ml)	MDA (nmol/ml)
空白组	8	356.33 $\pm$ 2.45	5.35 $\pm$ 0.56
模型组	8	148.89 $\pm$ 1.61*	23.06 $\pm$ 0.51*
通心络低剂量组	8	149.03 $\pm$ 3.84	22.46 $\pm$ 0.71
通心络中剂量组	8	240.89 $\pm$ 3.90 Δ	15.48 $\pm$ 0.32 Δ
通心络高剂量组	8	311.98 $\pm$ 2.42 Δ	7.22 $\pm$ 0.59 Δ
阿托伐他汀组	8	312.08 $\pm$ 3.27 Δ	7.74 $\pm$ 0.67 Δ

注:SOD,超氧化物歧化酶;MDA,丙二醛;与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

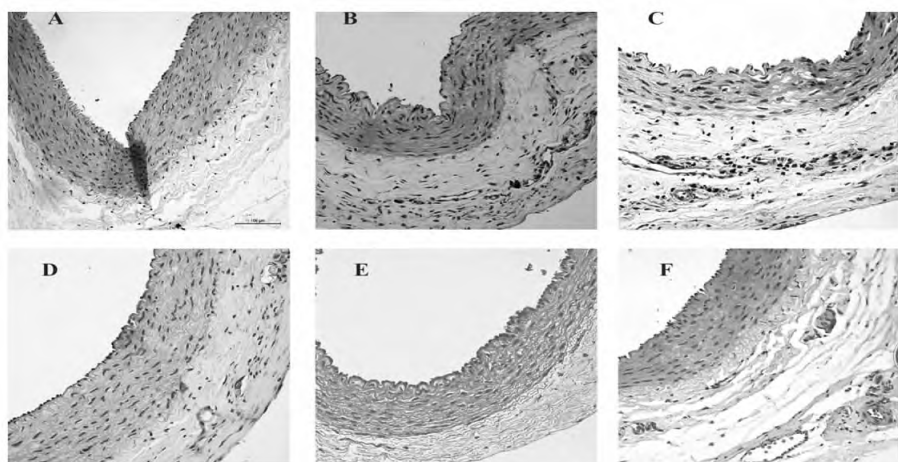


图 1 各组兔术侧颈动脉形态病理结果 (HE 染色, $\times 200$)

注: A. 空白组; B. 模型组; C. 通心络低剂量组; D. 通心络中剂量组; E. 通心络高剂量组; F. 阿托伐他汀组

SOD 活力明显升高, MDA 水平显著下降 ($P < 0.01$); 通心络低剂量组与模型组血清 SOD 及 MDA 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3.4 各组兔术侧颈动脉血管组织中 O_2^- 水平比较
表 3 示, 与空白组比较, 模型组血管组织中 O_2^- 荧光强度明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 通心络高、中剂量组和阿托伐他汀组 O_2^- 荧光强度显著下降 ($P < 0.01$)。

表 3 各组兔术侧颈动脉血管组织中超氧阴离子水平比较 ($/mm^2, \bar{x} \pm s$)

组别	兔数	荧光强度
空白组	3	1225.64 ± 163.23
模型组	3	7280.76 ± 1714.82*
通心络低剂量组	3	6492.66 ± 615.11
通心络中剂量组	3	3653.79 ± 1207.83 Δ
通心络高剂量组	3	2832.99 ± 500.04 Δ
阿托伐他汀组	3	4787.70 ± 831.20 Δ

注: 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

3.5 各组兔术侧颈动脉组织 p-p38MAPK、p38MAPK 蛋白表达比较

表 4 示, 各组兔术侧颈动脉组织中 p38MAPK 蛋白表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与空白组比较, 模型组颈动脉组织 p-p38MAPK 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 通心络高、中剂量组与阿托伐他汀组表达均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 4 各组兔术侧颈动脉组织 p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	p-p38MAPK	p38MAPK
空白组	3	0.40 ± 0.03	1.03 ± 0.17
模型组	3	0.87 ± 0.05*	0.93 ± 0.04
通心络低剂量组	3	0.80 ± 0.11	0.96 ± 0.11
通心络中剂量组	3	0.67 ± 0.08 $\Delta\Delta$	0.98 ± 0.11
通心络高剂量组	3	0.49 ± 0.10 $\Delta\Delta$	0.86 ± 0.08
阿托伐他汀组	3	0.71 ± 0.12 Δ	0.87 ± 0.05

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

3.6 AS 模型兔血管外膜 MVD 与 O_2^- 含量的相关性
图 2 示, 对外膜 MVD 与的 O_2^- 水平进行双变量 Spearman 相关性分析, 相关分析显示外膜 MVD 与 O_2^- 含量呈显著正相关 ($r = 0.893$, $P < 0.01$)。

4 讨论

AS 早期外膜微血管病理性新生的过程, 即中

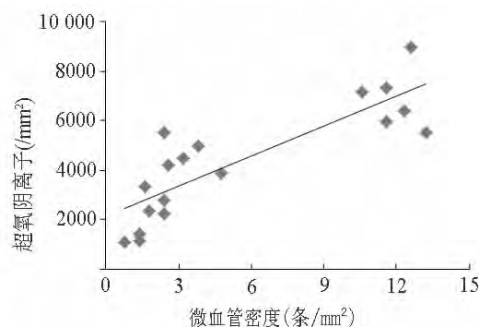


图 2 动脉粥样硬化兔血管外膜微血管密度与超氧阴离子含量相关分析散点图

医“久病入络”形成脉络病变的过程。正气亏虚为本, 痰瘀毒邪蕴积, 日久阻滞损伤脉络, 脉络瘀阻, 机体内稳态结构破坏, 是 AS 发生的主要病机。“络以通为用”, 中医防治 AS 的原则涉及益气通络、祛瘀通络、化痰通络、解毒通络等多个方面, 这些络病理论与血管新生可能有关^[4]。

我们的研究通过颈动脉套管术联合高脂饮食喂养, 成功建立兔 AS 早期颈动脉损伤的模型。CD31 主要是由内皮细胞及淋巴结中分化期的单核细胞分泌的内皮细胞黏附分子, 正常或病变组织内的血管内皮细胞均可表达, CD31 是评价微血管密度常用的血管新生指标^[1]。在本实验中 CD31 免疫组化染色显示, 模型组颈动脉外膜 MVD 显著增多, 而通心络高、中剂量组干预后, MVD 明显减少 ($P < 0.01$), 说明通心络超微粉抑制 AS 早期外膜微血管新生。

MDA 是细胞被自由基攻击, 经细胞壁破裂和细胞膜脂降解形成的最终裂解产物, 间接反映了自由基的生成量和对组织氧化损伤程度^[2]。SOD 是清除自由基的主要防御酶, 生理条件下自由基被 SOD 催化, 最终生成 H_2O 得以消除, 维持正常生物体内氧化系统与还原系统的动态平衡^[3]。联合检测 MDA、SOD 活性高低可更好反映氧化应激的程度^[4]。本实验结果显示, 通心络高剂量组、中剂量组较模型组血清 MDA 水平显著下降, SOD 活性明显升高, 说明通心络超微粉可以提高血管系统的抗氧化能力, 减少脂质过氧化物生成, 从而推测微血管血流中减少的过氧化脂质可以减轻对外膜微血管内皮的刺激, 这可能是通心络超微粉抑制外膜微血管新生的血清学基础。

O_2^- 是一种重要的活性氧 (ROS), 是需氧细胞在代谢反应中和刺激作用下产生的产物。p38MAPK 为 MAPKs 家族的重要成员, 是氧化应激

重要的传感器^[3]，在生理状态下参与引起细胞生长阻滞和凋亡的反应。从本研究的结果中可以看到增生状态的微血管内皮细胞可能产生大量的 O_2^- ，模型组外膜组织中的 O_2^- 的水平 and p-p38MAPK 水平较正常组显著升高，给予通心络高、中剂量进行干预后，外膜部位的 O_2^- 生成减少，p-p38MAPK 水平降低，但各组间 p38MAPK 总蛋白的表达水平差异无统计学意义。提示通心络超微粉抑制外膜微血管新生可能与减轻外膜氧化应激水平，抑制 p38MAPK 信号通路的激活有关。

本研究在动物整体水平上，初步证明了通心络超微粉抑制 AS 早期外膜微血管新生的作用，其机制可能与通过提高血管系统和外膜组织的抗氧化能力，抑制 p38MAPK 通路激活有关。但通心络超微粉影响 AS 早期外膜微血管新生中的具体调控机制，还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, et al. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta implications for plaque vulnerability [J]. Circulation, 2004, 110(14): 2032-2038.
- [2] Csányi G, Taylor WR, Pagano PJ. NOX and inflammation in the vascular adventitia [J]. Free Radic Biol Med, 2009, 47(9): 1254-1266.
- [3] Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, et al. Enhanced coronary vasa vasorum neovascularization in experimental hypercholesterolemia [J]. J Clin Invest, 1998, 101(8): 1551-1556.
- [4] Cuadrado A, Nebreda AR. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling [J]. Biochem J, 2010, 429(3): 403-417.
- [5] Zhang L, Liu Y, Lu XT, et al. Traditional Chinese medication Tongxinluo dose-dependently enhances stability of vulnerable plaques: a comparison with a high-dose simvastatin therapy [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 297(6): H2004-2014.
- [6] Jan H, van Berkel TJ, Biessen EA. Induction of rapid atherogenesis by perivascular carotid collar placement in apolipoprotein E-deficient and low-density lipoprotein receptor-deficient mice [J]. Circulation, 2001, 103(8): 1164-1170.
- [7] Weidner N, Carroll PR, Flax J, et al. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma [J]. Am J Pathol, 1993, 143(2): 401-409.
- [8] Szöcs K, Lassègue B, Sorescu D, et al. Upregulation of Nox-based NAD(P)H oxidases in restenosis after carotid injury [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002, 22(1): 21-27.
- [9] 薛爱群, 贾锋. 细菌总蛋白含量测定方法的改进 [J]. 微生物学通报, 1994, 21(1): 58-59.
- [10] 刘美之, 郎艳松, 张鑫月, 等. 从痰、瘀、毒论治动脉粥样硬化研究进展 [J]. 中医杂志, 2014, 55(9): 800-803.
- [11] 朱立新, 耿小平, 范上达. 多种血管新生指标在肝细胞肝癌中的表达及敏感性比较 [J]. 消化外科, 2003, 2(3): 153-157.
- [12] Duryee MJ, Klassen LW, Schaffert CS, et al. Malondialdehyde-acetaldehyde adduct is the dominant epitope after MDA modification of proteins in atherosclerosis [J]. Free Radic Biol Med, 2010, 49(10): 1480-1486.
- [13] Ye N, Liu S, Lin Y, et al. Protective effects of intraperitoneal injection of TAT-SOD against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Life Sci, 2011, 89(23-24): 868-874.
- [14] Zhang YM, Gao B, Wang JJ, et al. Effect of Hypotensive Resuscitation with a Novel Combination of Fluids in a Rabbit Model of Uncontrolled Hemorrhagic Shock [J]. PLoS One, 2013, 8(6): e66916.
- [15] Pani G, Galeotti T, Chiarugi P. Metastasis: cancer cell's escape from oxidative stress [J]. Cancer Metastasis Rev, 2010, 29(2): 351-378.

Influence of Tongxinluo Ultrafine Powder on Early Atherosclerotic Epicardial Angiogenesis

LIU Meizhi¹, JIA Zhenhua^{2,3}, WEI Cong^{2,4}, WANG Hongtao^{2,5}, LIANG Junqing^{2,5}, ZHANG Junfang^{2,5}, XIAO Weigang², LANG Yansong¹, WU Yiling^{1,2}

(1. Hebei Medical University, Hebei province, 050017; 2. Hebei Yiling Institute of Pharmaceutics; 3. Yiling Hospital, Hebei Medical University; 4. Key Laboratory of Cardiovascular and Cerebrovascular Collaterals Diseases, State Administration of Traditional Chinese Medicine of the People's Republic of China; 5. Hebei Province Key Laboratory of Collateral Diseases)

ABSTRACT Objective To investigate the influence of *Tongxinluo* (TXL) ultrafine power on rabbit early atherosclerotic epicardial angiogenesis and its possible mechanisms. **Methods** Carotid artery cannula and high fat diet were used to build early atherosclerotic carotid artery injury rabbit model. Ninety New Zealand white rabbit models were randomly divided into control group, model group, atorvastatin group and TXL high, medium and low dose

group, with 15 in each. The TXL high, medium and low dose group was given TXL ultrafine powder 0.60, 0.30, 0.15 g/ (kg · d) respectively. The atorvastatin group were given atorvastatin solution 2.50 mg/ (kg · d), while the control group and model group were given 0.5% sodium carboxymethyl cellulose solution 3 ml/ (kg · d). All groups were treated with gastric perfusion for 4 weeks. Carotid artery samples from the operation side were obtained to observe pathological features of vascular morphology. Microvessel density (MVD) of carotid artery adventitia, activity of serum superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) content, the expression levels of superoxide anion (O_2^-) in adventitia tissues, p38MAPK and p-p38MAPK protein in carotid artery tissues were detected. **Results** HE staining showed the carotid artery injuries of the TXL high and middle dose group and atorvastatin group were milder in varying degrees comparing with the model group. Also compared with the model group, the activity of serum SOD in the TXL high dose group and atorvastatin group increased, while MDA content, MVD of carotid adventitia, the expression levels of O_2^- , p-p38MAPK protein were decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** TXL ultrafine powder can inhibit epicardial neovascularization in the early stage of atherosclerosis, its mechanism might be related to increase of antioxidant capacity of the vascular system and adventitia tissue and inhibit on p38MAPK pathway activation.

Keywords atherosclerosis; oxidative stress; angiogenesis; antioxidant capacity; Tongxinluo ultrafine powder

(收稿日期: 2014-07-24; 修回日期: 2014-11-15)

编辑: 焦爽

中药上市后大品种二次研发高层培训班通知

由世界中医药学会联合会国际合作部、《世界中医药》杂志社联合主办的国家中医药继续教育项目“中药上市后大品种二次研发高层培训班”拟于2015年5月在北京举办。由北京华盛国际医药信息交流中心、北京漫青国际医药科技有限公司承办,由中国中医科学院中药所药物安全性评价中心主任、博士生导师、世界中联中药新型给药系统专业委员会会长、药品管理与中药知识产权保护委员会主任委员叶祖光首席研究员,中国中医科学院临床医院研究所常务副所长谢雁鸣研究员、中国中医科学院西苑医院翁维良首席研究员以及上海中医药大学(原国家药审中心中医临床部部长)张磊教授等主讲。

1. 授课内容: 中成药大品种上市后再评价; 循证医学在中药临床再评价中应用; 中药注射剂的风险评估与管理; 基于真实世界的临床研究; 中药IV期临床研究与再评价; 基于临床的中药新药的研发; 中药上市后合理用药的研究与评价; 中药上市后安全性再评价的研究; 中成药进入医保相关政策解读; 中药新药临床研究的进展等。

2. 培训对象: 各医药企业公司(厂)、保健品公司(厂)董事长、总经理、科研、市场、媒体筹划、产品开发(研发)、公共事务部、学术等部门负责人和各大院校(所)医院科研管理及研究人员等。

3. 培训时间与学费: 学期4天(报到1天,授课3天),每位学员学费2960元/人,海外学员3980元/人(含午餐、场地费、讲议费、专家课时费、证书费、纪念品等)。报名时交个人身份证复印件,2寸免冠照片2张。报名: 国内报名费200元/人(含在学费中); 海外学员报名费400元/人(含学费中,可将报名费汇到指定帐户或邮局,并提前1个月通知入学时间、地点,提前2个月报名者优惠10%)。

4. 学满课时待遇: 按国家中医药继续教育之规定,学满课时颁发中英文对照结业证书,并授予I类学分12学分证书。参加学习班学员的投稿达到《世界中医药》杂志登刊标准者优先发表。

5. 培训地点与住宿: 中国中医科学院内(北京市东直门内南小街16号)。

6. 汇款方式: 邮局汇款收款人: 北京华盛国际医药信息交流中心,地址: 北京市朝阳区小营路19号财富嘉园A座301室; 银行汇款户名: 北京华盛国际医药信息交流中心,开户银行: 兴业银行知春路支行,帐号: 321180100100043563。

7. 联系方式: 北京市朝阳区小营路19号财富嘉园A座301室,世界中医药学会联合会国际合作部。邮编: 100101。联系人: 王炳岐、徐晖、赵和爱、景晓杨(13901318403),邓爱英(13051608026)。邮箱: 13901318403@139.com。电话/传真: (010) 58239066、(010) 58239055。叶恒(13501288390)。邮箱: hy0388@163.com。