

小陷胸汤加味方对动脉粥样硬化大鼠炎症因子的影响

李娜^{1*} 张林²

(1. 北京市石景山区中医医院, 北京市石景山区八角北路, 100043; 2. 河北以岭医药集团)

* 通讯作者: lina19800512@sina.com, 13466685849

[摘要] **目的** 探讨小陷胸汤加味方对动脉粥样硬化(AS)模型大鼠的干预作用。 **方法** 60只SD大鼠随机分成空白组、模型组、辛伐他汀组、小陷胸汤加味方组,每组15只,参照高脂饮食合并一次性腹腔注射维生素D₃的方法建立AS大鼠模型,空白组和模型组给予生理盐水,其他两组给予等体积药物处理。8周后检测血脂、血液流变学、血清炎症因子的变化以及血管细胞黏附分子-1(ICAM-1)和细胞间黏附分子-1(VCAM-1)mRNA的表达。 **结果** 小陷胸汤加味方能降低AS大鼠的血脂及血液流变学各指标($P < 0.01$);且能明显抑制AS大鼠主动脉内皮细胞高敏C反应蛋白(hs-CRP)表达,减少ICAM-1和VCAM-1 mRNA的表达($P < 0.01$),在降低炎症因子表达方面优于辛伐他汀。 **结论** 小陷胸汤加味方能够有效改善AS模型大鼠血脂、血液流变学、血清炎症因子,起到干预AS炎症机制的作用。

[关键词] 小陷胸汤加味方;动脉粥样硬化;炎症因子;高脂血症

Effect of Modified Xiaoxianxiong Decoction on Inflammatory Factors of Atherosclerosis Rats

LI Na¹, ZHANG Lin²

(1. Beijing Shijingshan TCM Hospital, Beijing 100043; 2. Hebei Yiling Pharmaceutical Group)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Modified Xiaoxianxiong Decoction (Minor decoction for relieving stuffiness in the chest) on inflammatory factors of atherosclerosis (AS) rats. **Methods** Sixty SD rats were randomized into blank control group, model group, simvastatin group, and Xiaoxianxiong group, with 15 in each, and AS models were established by high fat diet and intraperitoneal injection of vitamin D₃. The blank group and model group were administered normal saline and the other two groups were treated with simvastatin or Modified Xiaoxianxiong Decoction of the same volume. Eight weeks later, blood fat, hemorheology, serum inflammatory factors and expression of ICAM-1 and VCAM-1 mRNA were determined. **Results** The Modified Xiaoxianxiong Decoction could decrease the total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), reduce the whole blood viscosity in high, medium, and low cut, and reduce plasma viscosity, hematocrit, and platelet adherence. It could inhibit the expression of hs-CRP of endotheliocytes and make less gene expression of ICAM-1 and VCAM-1 ($P < 0.01$). Modified Xiaoxianxiong Decoction is better than simvastatin in decreasing the inflammatory factor expression. **Conclusion** The Modified Xiaoxianxiong Decoction can effectively improve the blood fat, hemorheology, serum inflammatory factors, and expression of ICAM-1 and VCAM-1 mRNA, functioning to intervene the inflammatory pathogenesis of AS rats.

Key Words Modified Xiaoxianxiong Decoction (Minor decoction for relieving stuffiness in the chest); atherosclerosis; inflammatory factors; hyperlipemia

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是多种病因造成的始发于动脉壁内膜的一系列复杂分子和细胞改变的结果。血管炎症是其重要病理机制^[1],因此,人们把炎症因子高敏C反应蛋白(hs-CRP)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)作为AS发生发展的危险因素和预测因子。小陷胸汤出自《伤寒论》,原用于治疗热实结胸,认为火热结胸与胸痹高度相关。西医中的AS性心脏病属

中医“胸痹”范畴,而AS的发生与炎症病变相关,故针对小陷胸汤的功效为清热祛痰,化痰通络,则有可能可以改善冠状动脉的炎症病理过程。为此我们选用小陷胸汤加味方通过实验研究观察其对AS炎症机制的改善作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60只成年健康雄性SD大鼠,体重200~220g,

由河北医科大学实验中心提供, 许可证号: SCXK (冀) 2003-1-003。

1.2 药品和试剂

小陷胸汤加味方由黄连10g、半夏12g、瓜蒌15g、水蛭8g、姜黄15g、连翘15g等组成; 辛伐他汀片购自北京万生药业有限责任公司(批号: H20060904); 维生素D₃注射液购自上海通用药业股份有限公司(批号: 061007)。总胆固醇(TC)试剂盒(批号: 07-0209)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒(批号: 07-0305)均购自北京九强生物有限公司; hs-CRP ELISA试剂盒、ICAM-1和VCAM-1山羊多克隆抗体(批号: 070908)系美国SantaCruz公司产品; dNTPs和Taq DNA polymerase(批号: 070506)系上海Sangon公司产品; Trizol试剂系美国GibcoBRL(070608)公司产品; 逆转录酶(AMV)、焦碳酸乙二酯(DEPCH₂O)和100bpDNAMarker(060302)系美国Promega公司产品。

1.3 主要仪器

7080型全自动生化分析仪(日本日立公司产品), 血液黏附仪和血液黏度仪(北京普利生公司产品), PTC-200型PCR仪(美国MJ公司)。

1.4 分组与模型建立

将60只大鼠适应性喂养1周后, 依据随机数字表法分为4组, 分别为空白组、模型组、辛伐他汀组、小陷胸汤加味方组各15只。空白组给予普通饲料喂养, 模型组及用药组均给予高脂饲料喂养(饲料配方: 3%胆固醇, 0.5%胆酸钠, 0.2%丙基硫氧嘧啶, 5%蔗糖, 10%猪油和81.3%的基本饲料)^[2], 同时在喂养开始一次性腹腔注射维生素D₃ 60万单位/kg体重, 各组分笼喂养, 自由饮水。

1.5 给药方法

辛伐他汀组给予辛伐他汀10mg/(kg·d)⁻¹^[3], 小陷胸汤加味方组给予小陷胸汤加味方3.24g/(kg·d)⁻¹, 均在高脂饮食基础上灌胃给药(灌液量2ml/kg); 空白组和模型组给予等体积生理盐水灌胃。连续给药8周。

1.6 标本采集与处理

末次给药后, 各组动物用2%的戊巴比妥钠45mg/kg, 腹腔注射麻醉, 固定于鼠板上, 依次切开颈部皮肤, 分离颈动脉, 插管采血, 分别检测血脂、血液流变学; 另室温下静置15min, 3500r/min, 离心

10min, 取血清, -70℃冻存, 备用。实验动物取血后, 左心耳灌注, 先用生理盐水灌注30min, 再用4%多聚甲醛灌注, 快速分离动脉段(主动脉段与腹主动脉段), 取主动脉段-70℃冻存, 匀浆备用。

1.7 指标检测

8周末检测大鼠血清中TC、TG、LDL-C、HDL-C含量; 用血液黏附仪和血液黏度仪检测血液流变学各项指标; 免疫比浊法测量hs-CRP; 免疫组织化学染色观察ICAM-1、VCAM-1; 采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测主动脉匀浆中ICAM-1、VCAM-1 mRNA的表达。

1.8 统计学方法

采用SPSS 12.0统计软件处理, 计量数据均用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间差异性比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠血脂水平比较

表1示, 与空白组比较, 模型组TC、TG、LDL-C均明显升高, HDL-C明显降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 小陷胸汤加味方组和辛伐他汀组的TC、TG、LDL-C显著降低($P < 0.01$), HDL-C无显著变化($P > 0.05$); 小陷胸汤加味方组和辛伐他汀组比较, TC含量差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示小陷胸汤加味方与辛伐他汀均可治疗高脂血症。

表1 各组大鼠血脂水平比较(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TC	TG	HDL-C	LDL-C
空白组	15	1.47±0.30	0.79±0.10	1.12±0.15	1.00±0.13
模型组	15	4.83±1.83*	2.31±0.18*	0.59±0.12*	4.49±0.16*
辛伐他汀组	15	1.50±0.16#	0.75±0.15#	0.56±0.30	1.02±0.12#
小陷胸汤加味方组	15	2.25±0.18#△	0.82±0.11#	0.57±0.46	1.03±0.12#

注: 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.01$; 与辛伐他汀组比较, △ $P < 0.05$

2.2 各组大鼠血液流变学指标比较

表2示, 与空白组比较, 模型组的血液流变学各项指标均明显升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 辛伐他汀组血液流变学各项指标无统计学差异($P > 0.05$); 小陷胸汤加味方组与模型组比较, 血液流变学各项指标显著降低($P < 0.01$); 小陷胸汤加味方组血液流变学各指标改善优于辛伐他汀组($P < 0.05$)。提示小陷胸汤加味方可以改善血液流变学指标, 降低血浆黏度, 且效果优于辛伐他汀。

表2 各组大鼠血液流变学指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	全血低切 ($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	全血中切 ($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	全血高切 ($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	血浆黏度 ($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	红细胞压积 (%)	血小板黏附率 (%)
空白组	15	20.80±5.82	13.55±2.39	5.31±0.88	1.94±0.16	0.50±0.01	44.50±1.8
模型组	15	33.95±8.47*	21.66±2.89*	6.65±0.75*	4.29±0.21*	0.56±0.02*	59.12±3.10*
辛伐他汀组	15	29.06±5.32	19.46±2.44	6.41±0.69	2.21±0.39	0.57±0.02	59.12±4.5
小陷胸汤加味方组	15	20.12±5.59#△	14.53±3.26#△	5.40±0.64#△	1.93±0.16#△	0.49±0.01#△	45.00±0.12#△

注:与空白组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.01$;与辛伐他汀组比较,△ $P<0.05$

表3 各组大鼠血清hs-CRP、ICAM-1和VCAM-1 mRNA 的比较($\text{mg/L}, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	血清		mRNA 水平		
		hs-CRP	ICAM-1	VCAM-1	ICAM-1/GAPDH	VCAM-1/GAPDH
空白组	15	0.46±0.56	0.88±0.01	0.86±0.02	0.26±0.00	0.31±0.01
模型组	15	4.42±0.21*	2.06±0.83*	3.02±0.06*	0.55±0.00*	0.53±0.01*
辛伐他汀组	15	2.73±0.58#	1.56±0.15#	1.96±0.01#	0.47±0.00##	0.51±0.00#
小陷胸汤加味方组	15	0.89±0.62##△	0.93±0.05##△	0.98±0.02##△	0.40±0.00##△	0.43±0.01##△

注:与空白组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与辛伐他汀组比较,△ $P<0.01$

2.3 各组大鼠血清hs-CRP、ICAM-1、VCAM-1 浓度的比较

表3示,与空白组比较,模型组血清hs-CRP、ICAM-1和VCAM-1浓度显著升高($P<0.01$);辛伐他汀组、小陷胸汤加味方组与模型组比较,hs-CRP、ICAM-1、VCAM-1浓度显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);小陷胸汤加味方组ICAM-1、VCAM-1、hs-CRP浓度较辛伐他汀组显著降低($P<0.01$)。提示小陷胸汤加味方可以降低血浆中炎性因子水平,且优于辛伐他汀。

2.4 各组大鼠ICAM-1和VCAM-1在mRNA 水平的比较

表3示,与空白组比较,模型组ICAM-1mRNA和VCAM-1mRNA水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,辛伐他汀组、小陷胸汤加味方组ICAM-1mRNA和VCAM-1mRNA转录水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);小陷胸汤加味方组ICAM-1mRNA和VCAM-1mRNA转录水平显著低于辛伐他汀组($P<0.01$)。提示小陷胸汤加味方可以降低炎性因子基因表达,且优于辛伐他汀。

3 讨论

AS病理改变是动脉粥样斑块形成,主要累及颈动脉、主动脉、冠状动脉、脑动脉,造成脏器供血不足,最终成为心肌梗死、脑梗死发病原因。炎症反应贯穿于AS病变发生、发展和恶化的全过程,并且在一定程度上决定着斑块的稳定性^[4]。大量研究显示,有多种炎性因子、黏附分子和其他细胞因子参与AS的炎症过程,其中hs-CRP、ICAM-1、VCAM-1影响较大^[5]。

中医学认为,AS发病机理是气血不和,气不能行血导致脉道不畅,脉络闭阻或者由于阴寒内盛,阳气不振而致脉道血行不畅,痹阻于脉。治疗多采用益气活血、通络活血、温阳通脉治疗。大量临床观察发现痰浊瘀血胶结、郁久化热使血脉不畅,乃至闭塞,成为AS发展加重的主要因素。为此确立“清热祛痰,化瘀通络”的治法,主方为之小陷胸汤,该方以黄连为君,清热解毒,瓜蒌、水蛭为臣,开胸化痰,化瘀通络,半夏、姜黄为佐,半夏助瓜蒌增强化痰之力,姜黄助水蛭活血通瘀,使药连翘清热。全方合用共奏清热祛痰,化瘀通络之功,谨守病机,配伍严谨。现代药理研究认为,黄连提取物可明显增加具有抗AS炎症作用的保护性受体PPAR- γ 的蛋白和基因表达^[6];瓜蒌能够增加超氧化物歧化酶(SOD)活性,清除氧自由基,升高前列环素,从而抑制平滑肌细胞增殖^[7];水蛭具有良好的抗凝血酶活性作用,其中含有水蛭素等多种生物活性成分,能阻止凝血酶对纤维蛋白原的作用,预防血栓形成^[8-9];半夏对高脂血症的形成可以起到延缓作用,能够有效降低血液中的TC和LDL-C含量^[10];姜黄素不仅能够通过降低甘油三酯,促进脂蛋白代谢而发挥降脂作用^[11],还可以通过抑制核转录因子- κ B的活性,阻止许多与炎症反应有关的基因表达调控^[12];连翘苷有降低营养性高脂血症大鼠血浆中TG、TC、LDL-C水平的作用,并能升高HDL-C水平,从而阻止或延缓高脂血症引发的血管炎性反应^[13]。

本方能降低高脂大鼠的TC、TG、LDL-C,降低高切、中切、低切全血黏度,降低血浆黏度、红细胞压积、血小板黏附性。表明小陷胸汤加味方通过祛除痰

浊达到降低血脂,改善血液流变学达到保护血管内皮的目的,其可能是干预AS进程的一个途径;二是能明显抑制AS大鼠主动脉内皮细胞hs-CRP的表达,减少ICAM-1、VCAM-1的基因表达,通过其抗炎作用保护血管内皮,防止AS。而且在降低炎症因子表达方面优于辛伐他汀,显示出小陷胸汤加味方通过清热祛痰,化瘀通络达到了抑制AS炎症机制的目的,对血脂、血液流变学,以及血液中炎症因子的干预作用,表明小陷胸汤加味方可能能够用于治疗AS形成的冠心病、脑梗死属于痰瘀阻滞者,本研究仅初步揭示其药理学依据,其临床效果尚需进一步临床试验证实。

参考文献

- [1]冀友瑞,史载祥.血管紧张素Ⅱ的致炎作用及其在动脉粥样硬化中的作用[J].心血管病学进展,2005,26(9):105-108.
- [2]杨晓玲,赵迅霞,王菲,等.实验大鼠动脉粥样硬化模型的建立[J].宁夏医学院学报,2007,29(4):350-351.
- [3]吴敬华,吴宗贵,张华.辛伐他汀与罗格列酮对动脉粥样硬化大鼠CD40和CD40L表达的影响[J].上海医学,2005,28(4):281-283.
- [4]刘平,赵玉霞,张运,等.黄豆苷元干预老年冠心病患者血清炎症因子的临床观察[J].中国中西医结合杂志,2006,

26(1):42-45.

- [5]杨胜利,刘惠亮,何作云.炎症和急性冠脉综合征[J].中国危重病急救医学,2004,16(9):570-572.
- [6]周明学,徐浩,陈可冀,等.活血解毒中药有效部位对ApoE基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块炎症反应的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2002,5(12):1202-1205.
- [7]周盛.瓜蒌研究进展[J].山东医药工业,2002,21(6):27-29.
- [8]张红,王兴臣,高晓昕.水蛭临床和实验研究进展[J].中国中医药信息杂志,2009,16(5):98-100.
- [9]刘向敏.活血化瘀治疗高黏血症临床疗效分析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2009,7(3):349-350.
- [10]洪行球,沃兴德,何一中,等.半夏降血脂作用研究[J].浙江中医学院学报,1995,19(2):28-29.
- [11]杜铁良.复方姜黄微囊调脂作用及机理的实验研究[J].中国中医药信息杂志,1996,18(5):26-28.
- [12]林梅瑟,陈碧新,赵志光,等.姜黄素对动脉粥样硬化家兔核转录因子- κ B的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2007,14(3):95-98.
- [13]赵咏梅,李发荣,杨建雄,等.连翘苷降血脂及抗氧化作用的实验研究[J].天然产物研究与开发,2005,17(2):157-159.

(收稿日期:2009-10-16;修回日期:2010-05-31)

[编辑:行之]

(上接第146页)

本研究结果表明,动物造模后,模型组心脏重量及左心室/体重指数增加,这种心系数的变化间接的反映了心室壁病理性肥厚的程度。说明此时可能已发生糖尿病心肌损伤的典型改变——心肌肥厚。冬连组分大剂量组效果最好,可显著降低大鼠心脏重量、左心室/体重指数,对大鼠心肌组织AngⅡ、ET含量也有显著降低作用,并抑制心肌ACE受体表达。说明冬连组分可延缓糖尿病大鼠心肌肥厚的进程,纠正血管收缩-舒张及心脏激素调节失衡状态,改善心肌收缩和舒张功能,最终达到改善实验性DC大鼠的目的。

综上所述,抑制糖尿病大鼠的心肌组织ACE受体表达,降低心肌组织AngⅡ、ET含量,是冬连组分保护糖尿病大鼠心肌组织的可能机制。冬连组分是麦冬多糖和黄连生物碱组分配伍而成,其多途径、多层次、多靶点的机制有待进一步研究。

参考文献

- [1]Rullber S, Dulgush J, Yuceogl YZ, et al. New type of cardiomyopathy associated with diabetic Glomerulosclerosis[J]. Am J Cardiol, 1972, 30(6):595.
- [2]Hamblby RI, Zonerach S, Sheman L. Diabetic cardiomyopathy[J]. JAMA, 1974, 229(13):1749-1754.
- [3]安潍洲,龚敏.糖尿病心肌病发病机理的研究进展[J].辽宁实用糖尿病杂志,2004,12(3):53-54.
- [4]徐叔云,卞如谦,陈修.药理实验方法学[M].2版,北京:人民卫生出版社,1991:1275-1278.
- [5]王智杰,荀小林.麦冬降血糖作用的药效学研究[J].中医药学刊,2003,21(6):898-899.
- [6]程金波,卫洪吕,章忱,等.麦冬提取物抗犬心肌缺血的药效学实验研究[J].中国病理生理杂志,2001,17(8):810.
- [7]郭登洲,王月华,边东,等.活血化癥消癥中药对糖尿病肾病大鼠血管紧张素系统的影响[J].中医杂志,2010,51(1):77-78.
- [8]杜昕.肾素-血管紧张素系统研究的新进展[J].中国心血管病研究杂志,2007,5(4):306-307.

(收稿日期:2009-12-04;修回日期:2010-04-20)

[编辑:行之]