

复方贞术调脂胶囊抗兔动脉粥样硬化的实验研究

韦燕萍, 郭 娇, 唐春萍, 杨超燕, 曾昭智, 江 涛*

(广东药学院, 广东 广州 510006)

摘要:目的 观察复方贞术调脂胶囊对兔实验性动脉粥样硬化(AS)的影响。方法 取 50 只家兔分为对照组、模型组、辛伐他汀(3 mg/kg)组、复方贞术调脂胶囊高、低剂量(生药 1.6、0.8 g/kg)组,每组 10 只。采用高脂饮食法建立兔 AS 模型,药物组在喂高脂饲料的同时每天给予相应的药物,连续喂养 12 周。实验末,检测血清脂质、载脂蛋白水平、主动脉组织中总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)水平以及主动脉内膜斑块面积比,观察主动脉病理形态学变化。结果 复方贞术调脂胶囊组血清 TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、动脉粥样硬化指数(AI)及载脂蛋白 B(ApoB)水平较模型组显著降低($P < 0.05, 0.01$),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平和载脂蛋白 A1/载脂蛋白 B(ApoA1/ApoB)值显著升高($P < 0.05$); ApoA1 水平有升高趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$);主动脉组织中的脂质的量以及内膜斑块面积比显著低于模型组($P < 0.05, 0.01$)。光镜下观察结果显示,各给药组主动脉病变程度均明显减轻。结论 复方贞术调脂胶囊具有抑制实验性动脉粥样硬化形成的作用,可能与其调节脂质代谢作用有关。

关键词: 复方贞术调脂胶囊; 动脉粥样硬化; 高脂饮食; 调血脂

中图分类号: R286.26 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)05-0782-04

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是中老年人常见的心血管疾病之一,近年来,随着人民生活水平的提高和饮食习惯的改变,该病呈明显增加的趋势。AS 是综合性的慢性病理过程,其发病机制错综复杂,而脂质在动脉壁的沉积和浸润是 AS 共有的病理特征,故调节脂代谢异常对治疗 AS 具有重要意义。复方贞术调脂胶囊是在多年临床实践基础上总结并经临床证实疗效确切而无明显不良反应的一个调血脂纯中药复方制剂。前期的研究工作表明^[1-3],复方贞术调脂胶囊对饮食性高脂血症大鼠具有调节脂代谢紊乱、降低动脉粥样硬化指数、改善血液流变学异常和抗氧化的作用。本实验采用高脂饮食建立兔 AS 模型,从血脂代谢、动脉内膜粥样硬化斑块面积和内膜病变程度等方面探讨复方贞术调脂胶囊抗 AS 形成的作用,为其开发和临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药物及试剂: 复方贞术调脂胶囊由女贞子、白术、丹参、三七、黄连等 8 味中药组成,每粒胶囊含齐墩果酸 1.80 mg,由广东药学院药物研究所提供,批号 080520; 辛伐他汀片(杭州默沙东制药有限公司,批号 08128); 胆固醇(国药集团化学试剂有限公司); 总胆固醇(TC)试剂盒(批号 080621.200805)、甘油三酯(TG)试剂盒(批号

082491.200807)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒(批号 080211.200805)、载脂蛋白 A1/B(ApoA1/ApoB)试剂盒(批号 080221)均为中生北控生物科技股份有限公司产品。

1.2 动物: 新西兰兔,雌雄各半,体质量 2.0~2.5 kg,由广东省医学实验动物中心提供,许可证号: SCXK(粤)2003-0002。

1.3 仪器: 全自动生化分析仪(北京奥普森科技发展有限公司), TGL-16G 型离心机(上海安亭科学仪器厂), 岛津 UV-2450 紫外-可见分光光度计(岛津制作所)。

2 方法

2.1 动物分组与模型制备: 取 50 只新西兰兔,在实验条件下给普通饲料适应性喂养 1 周后,根据血清 TC 水平将实验动物分为 5 组: 对照组,模型组,辛伐他汀(3 mg/kg)组,复方贞术调脂胶囊高剂量、低剂量(生药 1.6、0.8 g/kg)组,每组 10 只。除对照组喂给普通饲料外,其余均喂高脂饲料(配方: 89% 普通饲料+ 10% 猪油+ 1% 胆固醇),各药物组在高脂饲料的基础上按 3 mL/kg 给予相应药物,对照组和模型组给予同体积的生理盐水,每天 1 次,连续给药 12 周。期间每周称量体质量,根据体质量变化改变给药量。

2.2 动物处理: 于实验第 12 周末禁食 12 h,耳缘

①收稿日期: 2009-08-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(30873414); 广东省科技厅重大项目(2008A030101005)

作者简介: 韦燕萍(1984-),女,硕士研究生,研究方向: 中药药理。Tel: (020) 39350048 E-mail: wakeyyan@yahoo.com.cn

* 通讯作者 江涛 Tel: (020) 39352152 E-mail: tjiang66@21cn.com

静脉取血,分离血清,于 -20℃ 下保存备用。采用空气栓塞法处死动物,迅速取出自心脏到髂动脉分叉处之间的动脉,将动脉周围的脂肪组织剔除干净后,分别进行斑块面积测定、病变分级、病理形态学观察和动脉脂质测定。

2.3 观察及检测指标

2.3.1 血清指标:于全自动生化仪上测定血清 TC、TG、HDL-C 水平,并根据 Friedwald 公式计算低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) ($LDL-C = TC - HDL-C - TG/2.2$),动脉粥样硬化指数 (AI) 由公式 $[AI = (TC - HDL-C)/HDL-C]$ 计算。采用免疫透射比浊法检测血清 ApoA1、ApoB 水平,具体步骤均按照试剂盒使用说明书进行操作。

2.3.2 主动脉脂质测定:定量称取主动脉组织,按每克样本加 9 mL 甲醇-氯仿混合液 (1:1) 的比例制成匀浆,震荡抽提 24 h 后,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液按血脂测定方法测定 TC、TG,并计算每克主动脉组织 (湿质量) 中所含 TC、TG 的量。

2.3.3 病变分级和斑块面积测定:清除血管外组织,洗去残血,沿背侧面纵行剪开,肉眼观察动脉内膜,进行病变分级评分。分级标准如下^[4]:0 级 (0 分):内膜表面光滑,无奶油色变化,即无斑块;0.5 级 (0.5 分):内膜有广泛的奶油色或乳白色变化,但无突出表面的斑块;1 级 (1 分):有明显的奶油色

突出斑块,面积小于 3 mm²;2 级 (2 分):斑块面积小于 3 mm²;3 级 (3 分):有许多大小不等的斑块,有的融合成片,斑块面积超过 3 mm²;4 级 (4 分):动脉内膜的表面几乎全部被融合的斑块所覆盖。观察后将标本用 60% 异丙醇溶液洗两遍,然后放入配好的油红 O 染液内,上下翻动 10 次,至斑块呈现鲜红色时,取出,迅速用 60% 异丙醇脱色、分化,直至血管内膜上的浮色脱掉为止^[5]。此时斑块呈鲜红色,血管内膜为淡红色。铺平,用透明塑胶片盖紧标本,以直接描图法^[6]计算斑块与整条主动脉内膜的面积比。

2.3.4 病理形态学检查:各标本取同一部位约 0.5 cm 动脉组织于 10% 中性甲醛溶液中固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察主动脉壁形态。

2.4 统计学处理:采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数间比较采用 *t* 检验,等级数据用 Ridit 分析。

3 结果

3.1 对血脂水平的影响:实验末,各高脂饮食组家兔血清 TC、TG、LDL-C 水平和 AI 均较对照组显著升高 ($P < 0.01$),模型组 HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较,各给药组 TC、TG、LDL-C 水平和 AI 均明显降低, HDL-C 水平明显升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01$)。见表 1。

表 1 复方贞术调脂胶囊对家兔血脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of Fufang Zhenzhu Tiaozi Capsula on serum lipid level in rabbits ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	AI
对照	-	2.08 ± 0.32	0.55 ± 0.09	1.09 ± 0.18	0.74 ± 0.15	0.94 ± 0.43
模型	-	46.77 ± 11.58 [*]	3.00 ± 0.67 [*]	0.67 ± 0.12 [*]	44.74 ± 9.35 [*]	65.53 ± 15.34 [*]
辛伐他汀	0.003	12.81 ± 5.68 ^{▲▲}	1.16 ± 0.24 ^{▲▲}	0.91 ± 0.15 ^{▲▲}	11.37 ± 4.29 ^{▲▲}	13.47 ± 5.60 ^{▲▲}
复方贞术	1.6	26.23 ± 8.19 ^{▲▲}	1.58 ± 0.54 ^{▲▲}	1.21 ± 0.22 ^{▲▲}	24.30 ± 5.73 ^{▲▲}	21.73 ± 9.78 ^{▲▲}
调脂胶囊	0.8	33.59 ± 7.40 ^{▲▲}	2.22 ± 0.63 [▲]	0.87 ± 0.17 ^{▲▲}	31.71 ± 7.05 ^{▲▲}	37.73 ± 9.37 ^{▲▲}

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; ▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$ vs model group

3.2 对载脂蛋白的影响:与对照组比较,模型组 ApoA1 水平及 ApoA1/ApoB 值显著降低 ($P < 0.05, 0.01$),ApoB 水平明显升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,复方贞术调脂胶囊高、低剂量组 ApoA1 水平有升高趋势,差异无统计学意义,各给药组 ApoB 水平显著降低, ApoA1/ApoB 值显著升高 ($P < 0.05, 0.01$),见表 2。

3.3 对主动脉中脂质的影响:模型组主动脉中的 TC、TG 的量较对照组明显升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组主动脉的 TC 量显著降低 ($P < 0.01$),辛伐他汀组和复方贞术调脂胶囊高剂量组的

TG 量显著降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.4 对病理组织学的影响

3.4.1 主动脉大体观察:对照组家兔主动脉内膜光滑,无脂质斑块形成。模型组主动脉可见大面积的不规则灰黄色斑块或脂质条纹凸起于内膜表面,病灶主要位于升主动脉及主动脉弓部的分支血管开口处,严重者大部分主动脉内膜几乎全为融合的脂质斑块覆盖,油红 O 染色后呈现鲜红色。各给药组家兔主动脉内膜病变程度较模型组明显减轻,辛伐他汀和复方贞术调脂胶囊高剂量组各有 2 只动物内膜光滑,无明显粥样病变,其他有病变的主动脉主要以

表 2 复方贞术调脂胶囊对家兔血清 ApoA1、ApoB 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of Fufang Zhenzhu Tiaozi Capsula on ApoA1 and ApoB in serum of rabbits ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	ApoA1/(g·L ⁻¹)	ApoB/(g·L ⁻¹)	ApoA1/ApoB
对照	-	0.55±0.12	0.11±0.05	5.00±0.53
模型	-	0.42±0.13*	1.24±0.18**	0.34±0.08**
辛伐他汀	0.003	0.38±0.09	0.21±0.09▲▲	1.81±0.22▲▲
复方贞术	1.6	0.50±0.13	0.49±0.14▲	1.02±0.12▲▲
调脂胶囊	0.8	0.49±0.17	1.06±0.17▲▲	0.46±0.08▲▲

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01;

与模型组比较: ▲ P < 0.05 ▲▲ P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs control group;

▲ P < 0.05 ▲▲ P < 0.01 vs model group

早期的点线状脂质病灶为主。油红 O 染色后, 经计算统计, 各给药组主动脉斑块面积占主动脉内膜总面积之比均显著低于模型组 (P < 0.05)。各组主动脉内膜斑块面积百分比及病变分级评分情况见表 3。

3.4.2 主动脉病理观察: 对照组的主动脉内膜内皮细胞连接紧密, 内弹力膜清晰完好, 弹力纤维分布均匀, 中膜平滑肌细胞形态正常, 内膜及中膜均未见泡沫细胞及脂质沉积。模型组内膜显著增生, 大量泡

表 3 复方贞术调脂胶囊对家兔主动脉脂质水平及内膜斑块的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of Fufang Zhenzhu Tiaozi Capsula on aortic lipid levels and atherosclerotic plaque of rabbits ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	主动脉 TC/(mg·g ⁻¹)	主动脉 TG/(mg·g ⁻¹)	主动脉斑块	
				(斑块面积/总面积)/%	级别/分
对照	-	1.28±0.32	1.02±0.35	0	0
模型	-	5.34±1.10**	3.07±0.79**	50.72±19.18*	3.22±0.83**
辛伐他汀	0.003	1.81±0.56▲▲	2.11±0.43▲	15.86±7.92▲▲	1.10±0.62▲▲
复方贞术	1.6	2.37±0.63▲▲	2.27±0.48▲	20.80±11.00▲▲	1.82±0.67▲▲
调脂胶囊	0.8	3.02±0.89▲	2.90±0.61	27.88±14.60▲	2.21±0.65▲

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01;

与模型组比较: ▲ P < 0.05 ▲▲ P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs control group;

▲ P < 0.05 ▲▲ P < 0.01 vs model group

沫细胞聚集, 形成粥样斑块病灶, 中膜增厚, 平滑肌细胞呈不规则纵向排列, 多数内弹力板厚薄不均, 有的分离、断裂, 甚至消失。辛伐他汀组部分内皮细胞脱落, 内膜增生不明显, 结构较完整。复方贞术调脂胶囊高剂量组较低剂量组病变程度稍轻, 病变部位内膜较微增厚, 内皮细胞下有少量泡沫细胞聚集, 弹力板较完整。见图 1。

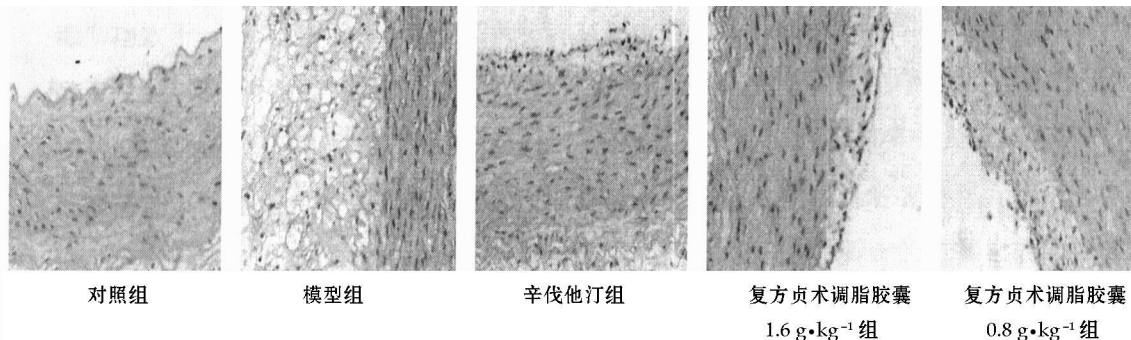


图 1 复方贞术调脂胶囊对主动脉病理形态改变的影响

Fig. 1 Effects of Fufang Zhenzhu Tiaozi Capsula on pathomorphological changes of aorta

4 讨论

现已公认高脂血症是 AS 发生的最重要的原因。血清 TC、TG、LDL 以及作为 LDL 的主要载脂蛋白 ApoB 水平升高被视为 AS 的危险因素^[7]。TG 能抑制纤维蛋白降解, 使血液具有高凝倾向, 同时使极低密度脂蛋白 (VLDL) 增多, VLDL 也可发生氧化修饰, 损伤血管内皮, 促进致炎因子的产生, 参与 AS 形成^[7]。LDL-C 的主要生理作用是将 TC 从肝脏转运到全身, 故作为 LDL-C 的主要载脂蛋白 ApoB 水平升高可使 LDL-C 在血液和血管壁中滞留时间延长, 利于 LDL-C 分子结构发生变化, 从而增加巨噬细胞对 LDL-C 的吸收, 这些携带脂质的巨噬细胞变为泡沫细胞, 促使 AS 的发生^[8]。

有资料表明 ApoA1 和 HDL-C 下降是导致高脂血症的危险因素, 血清 ApoA1 和 HDL-C 水平都是评价调血脂药物疗效的重要指标^[9]。HDL-C 可将外周组织如动脉壁的 TC 转运至肝脏分解或代谢为胆酸排入胆道, 作为 HDL-C 的主要载脂蛋白 ApoA1 约占 HDL-C 的 60%~70%, 它可激活卵磷脂胆固醇酰基转移酶, 促进主动脉成纤维细胞中游离胆固醇的清除, 酯化周围组织游离胆固醇并将其转入肝内代谢, 对防止外周组织脂质沉积有重要意义。本实验对 AS 家兔模型的血脂水平进行检测, 结果表明复方贞术调脂胶囊可以降低 AS 家兔血清 TC、TG、LDL-C、ApoB 水平和 AI, 升高 HDL-C 水平, 对 ApoA1 的影响不显著, 但可通过降低 ApoB

来提高 ApoA1/ApoB 的值。表明复方贞术调脂胶囊可以调节 AS 兔模型的脂代谢异常。

中医理论认为, AS 属本虚标实、血瘀痰浊之范畴,“肝肾亏虚、痰瘀阻络”是其基本病机,治从补益肝肾、健脾益气、滋阴养血、活血化瘀、祛痰降浊等法^[10]。复方贞术调脂胶囊由女贞子、白术、黄连、三七、丹参等药味组成,方中女贞子滋补肝肾,白术益气健脾,与女贞子相配,则脾肾双补;三七与丹参均具有活血化瘀之功效,配伍使用,使瘀浊更易祛除;黄连兼具清热燥湿解毒之功效,诸药合用,集“调肝降脂、健脾补肾、祛瘀解毒”功效于一方。现代药理学研究表明,女贞子能降低喂饲胆固醇和猪油家兔的血清 TC 及 TG,可预防和消减动脉粥样硬化斑块,减轻斑块厚度,减少冠状动脉粥样硬化病变数,降低血管的阻塞程度^[11]。白术可使自发性高血压脑卒中大鼠甘油三酯(TG)明显降低,体质量增长受到抑制,脂肪沉着量减少。三七能降低血清总胆固醇,对动脉壁的总胆固醇和总脂质也有减少作用,致使斑块消退^[12]。丹参所含的丹参素能降低血液中的甘油三酯和总胆固醇的量,抑制低密度脂蛋白的形成^[13]。黄连的主要成分为小檗碱,研究表明,它能明显地降低血清 TG、TC 及极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)的量^[14,15]。

本研究通过动物实验对复方贞术调脂胶囊抗 AS 的作用进行了初步探讨,结果表明,复方贞术调脂胶囊除了可以调节 AS 家兔模型的血脂水平外,还能够降低主动脉中脂质的量,抑制主动脉脂质斑块形成,改善主动脉病变情况,提示复方贞术调脂胶囊具有抗 AS 的作用。今后将从抗炎、抗氧化、影响内皮功能等方面进一步对复方贞术调脂胶囊抗 AS

的作用机制进行研究,为其进一步开发利用提供实验依据。

参考文献:

- [1] 唐春萍,郭皎,杨超燕,等. 调脂灵对高脂血症大鼠脂质过氧化、血液流变学的影响[J]. 中药材, 2007, 30(7): 837-839
- [2] 唐春萍,郭皎,杨超燕,等. 调脂灵对高脂血症大鼠脂代谢酶及载脂蛋白的影响[J]. 广东药学院学报, 2007, 23(2): 175-177
- [3] 郭彤,郭皎,梁颖瑜,等. 复方降脂灵胶囊对高脂血症患者血流变学的调节作用[J]. 江西中医药, 2006, 37(7): 24-25
- [4] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 2002
- [5] 王建英. 动脉粥样化斑块染色技巧[J]. 实验室研究与探索, 1999(3): 90-100
- [6] 张均田. 现代药理实验方法学[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998
- [7] 李世英,刘斌,刘昊. 急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块与相关危险因素关系的研究[J]. 陕西医学杂志, 2007, 36(8): 977-980
- [8] 于红,张冬霞,徐传和,等. 血清脂类测定在诊断老年动脉粥样硬化及冠心病中的意义[J]. 中国实用医药, 2007, 17(2): 32-33
- [9] 何杨,张威,赵益明,等. 黄金血康治疗兔高脂血症和动脉粥样硬化的疗效研究[J]. 苏州大学学报:医学版, 2007, 27(6): 859-861
- [10] 薛文隽,吴国忠. 中药抗动脉粥样硬化的药理学研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2003, 7(37): 58-60
- [11] 孙玉文,张英杰. 女贞子治疗高脂血症及其实验研究[J]. 中医杂志, 1993, 34(8): 493-494
- [12] 王楠,万建波,李铭源,等. 三七治疗动脉粥样硬化的研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(5): 787-790
- [13] 胡小戎,曹凤梅. 丹参的药理、临床应用与制剂研究[J]. 中国新医药, 2003, 2(6): 54-56
- [14] 郑洪艳,徐为人. 小檗碱药理作用研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(6): 708-711
- [15] 勾祥辉. 黄连素治疗高血脂 59 例[J]. 人民军医, 1995(2): 35

青蒿琥酯对骨髓瘤 RPMI 8226 细胞增殖、凋亡及对 Survivin、Caspase 3、Caspase 7 的影响

王素云^{1,2}, 杨晓阳¹, 邓凯¹, 成志勇¹, 陈浩¹, 杨静慈¹, 尚银涛¹, 潘峻^{1*}

(1. 河北医科大学第二医院, 河北 石家庄 050000; 2. 河北省人民医院 血液科, 河北 石家庄 050051)

摘要: 目的 探讨青蒿琥酯对体外培养的人多发性骨髓瘤细胞株 RPMI8226 的增殖、凋亡及对凋亡相关基因 survivin 及 caspase 3、caspase 7 表达的影响。方法 采用 MTT 法检测青蒿琥酯对 RPMI8226 细胞增殖的抑制作

①收稿日期: 2009-08-11

基金项目: 河北省科技攻关计划项目(072761130)

作者简介: 王素云(1974—), 女, 河北人, 博士, 副主任医师, 研究方向为恶性血液病微小残留病变的诊治与信号转导。

Tel: 13831198857 E-mail: suyunwcn@163.com

* 通讯作者 潘峻 E-mail: lingpan20002000@yahoo.com.cn