参莲提取物对动脉粥样硬化家兔血管病理形态和脂质代谢的影响

李玉洁，朱晓新*，杨 庆，翁小刚，陈 颖
中国中医科学院中药研究所，北京 100700

摘 要：目的 观察参莲提取物（由丹参和穿心莲组成）对动脉粥样硬化（artherosclerosis, AS）的影响。**方法** 以球囊导管内皮损伤术和高脂饵食法建立家兔 AS 模型，通过胸主动脉油红 O 大体染色、股动脉 HE 染色、平滑肌细胞计数等方法观察参莲提取物对 AS 斑块形成过程中血管病理形态和脂质代谢的影响。**结果** 辛伐他汀和参莲提取物各剂量均可显著减少 AS 模型家兔斑块形成面积，降低最大内膜厚度值（MIT）和中膜层平滑肌细胞数；参莲提取物 1.12、4.48 g/kg 剂量组家兔股动脉 MIT 值明显低于模型组。辛伐他汀和参莲提取物各剂量组可明显降低 AS 模型家兔血清总胆固醇（TC）；参莲提取物 2.24、4.48 g/kg 剂量组血清三酰甘油（TG）水平明显低于模型组。辛伐他汀可显著提高 AS 模型家兔高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C），参莲提取物无明显作用。辛伐他汀及参莲提取物各剂量组均可明显降低 AS 模型家兔低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C），与模型组比较具有显著差异（$P<0.01$、0.05）。**结论** 参莲提取物对 AS 斑块形成具有显著的预防和治疗作用，其作用与改善脂质代谢有关。

关键词：动脉粥样硬化；参莲提取物；脂质代谢；丹参；穿心莲
中图分类号：R285 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2011)04 - 0760 - 05

Effect of *Salviae Miltiorhize Radix* and *Andrographitis Herba* extracts on vessel pathological changes and lipid metabolism in artherosclerosis rabbits

LI Yu-jie, ZHU Xiao-xin, YANG Qing, WENG Xiao-gang, CHEN Ying
Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Key words: artherosclerosis (AS); *Salviae Miltiorhize Radix* and *Andrographitis Herba* extracts (SAE); lipid metabolism; *Salviae Miltiorhize Radix*; *Andrographitis Herba*

动脉粥样硬化（atherosclerosis，AS）是引发多种缺血性心脑血管疾病的主要原因。在 AS 形成发展过程中，各种机械性、化学性、免疫性损伤因子均可损伤血管内皮，造成内皮自平衡系统紊乱而引发炎症反应过程。血管局部的炎症反应与 AS 过程中脂质浸润沉积相互作用，互为因果，在 AS 过程中伴随始终。目前“炎症学说”、“损伤－反应学说”已成为 AS 发病机制的主流学说之一[1-2]。通过对 AS 炎症反应网络中的一些关键点进行干预，可影响 AS 形成过程，从而减轻病变程度[3]。目前针对 AS 炎症反应的药物研究方兴未艾[4]。

中医学认为 AS 病机属本虚标实。近年来，不少医家通过不断的临床实践逐渐认识到 AS 与“内生毒邪”、“毒损脑络”密切相关[5]。中医学 AS“内生毒邪”病机与目前 AS 形成的主流学说“炎症学说”、“损伤-反应学说”有着本质的联系，以干预 AS“内生毒邪”或“炎症反应”为切入点，以活血化瘀、清热解毒为法，探讨中医药预防治疗 AS 疾病的作用，将是具有一定理论和实践意义的有益尝试。本研究以这一治则为基点，探讨了由活血化瘀、清热解毒代表药物组成的参莲提取物（由丹参和穿心莲组成，*Salviae Miltiorhize Radix* and *Andrographitis Herba* extracts，SAE）通过干预炎症反应防治 AS 的作用。本实验在建立以炎症反应为特点的家兔 AS 模型的基础上[6]，观察了参莲提取物对 AS 家兔病理形态和脂质代谢的影响。

1 材料

1.1 动物

新西兰家兔，雌雄不拘，体质量 2.2～2.8 kg，由北京市海淀区学院路通力实验动物养殖场提供，

收稿日期：2010-06-03
基金项目：国家直属科研院所技术开发研究专项资金（NCSTE-2007-JKZX-301）；国家自然基金面上项目（30973901）；重大新药创制综合性中药新药研究开发技术大平台项目（2009 ZX093 01－005-2-4）；中国中医科学院自主选题项目（ZZ20090207）
*通讯作者 朱晓新 E-mail: zhuxx59@yahoo.com.cn

合格证号：SCXK（京）2005-0003。

1.2 主要仪器和试剂

2000 半自动生化分析仪（德国 Humalyzer），2.5 mm×20 mm PTCA 球囊导管、4F 动脉鞘管（美国 Cordis）。油红 O [批号 R20020301，中国医药（集团）上海化学试剂公司]，总胆固醇（TC）试剂盒、三酰甘油（TG）试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）试剂盒均为中生北控生物科技股份有限公司生产。参莲提取物采用醇提取、大孔吸附树脂富集纯化的方法制备，提取物中含丹参酮 II_A 3%、丹酚酸 B 38%、穿心莲内酯 20%，由中国中医科学院中药研究所化学室提供。辛伐他汀片（Simvastatin，批号 0511203），哈药集团三精制药有限公司生产。

2 方法

2.1 动物分组及给药

家兔适应性饲养 1 周，随机分为 6 组：假手术组（普通饮食），模型组（采用文献方法[7]建立的 AS 模型），辛伐他汀组（0.47 mg/kg），参莲提取物低、中、高剂量（1.12、2.24、4.48 g/kg）组。除假手术组外，其他各组均喂食高脂饲料。各组均手术造模后开始 ig 给药，每天 1 次，每次 1.5 mL/kg。假手术组、模型组给予同体积生理盐水。

2.2 取材及指标检测

分别于造模给药 6、10 周麻醉家兔，从耳缘静脉取血，分离血清。10 周后放血处死动物，取腹主动脉分叉至股动脉结扎线之间血管段 2 cm 常规固定，HE 染色，用于病理形态学观察并测定最大内膜厚度值（maximum intima thickness，MIT），计数法检测平滑肌细胞数。取主动脉弓向下胸主动脉段 6 cm，纵向剖开，生理盐水冲洗干净，展开贴于滤纸上，用于胸主动脉油红 O 大体染色，Image Toll 图像分析软件测量斑块面积。TG、TC、HDL-C 检测按照试剂盒说明操作。LDL-C 计算方法[8]：LDL-C＝TC−HDL-C−TG/5。

2.3 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS12.0 软件进行检验，多组间差异比较采用方差分析。

3 结果

3.1 参莲提取物对 AS 模型家兔胸主动脉斑块面积的影响

参莲提取物、辛伐他汀各剂量组可明显减少 10 周时胸主动脉斑块形成面积（$P<0.05$、0.01），结果见表 1。

表 1 参莲提取物对 AS 家兔胸主动脉斑块面积的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 8$）

Table 1 Effects of SAE on plaque area of thoracic aorta in AS rabbits ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组 别	剂量/(g·kg^{-1})	斑块面积/mm^2
假手术	−	0.40± 0.89
模型	−	61.07±33.15**
辛伐他汀	4.7×10^{-4}	17.99±13.66$^{\triangle\triangle}$
参莲提取物	1.12	28.70±20.74$^{\triangle}$
	2.24	16.22± 6.37$^{\triangle\triangle}$
	4.48	22.46±37.92$^{\triangle\triangle}$

与假手术组比较：$^{**}P<0.01$

与模型组比较：$^{\triangle}P<0.05$ $^{\triangle\triangle}P<0.01$，下同

$^{**}P<0.01$ *vs* sham group

$^{\triangle}P<0.05$ $^{\triangle\triangle}P<0.01$ *vs* model group, same as below

3.2 参莲提取物对家兔股动脉病理形态的影响

各观察时间点假手术组家兔动脉血管内膜光滑，厚薄均匀，内皮细胞排列有序，细胞大小均一，无损伤，内皮下间隙未见增宽，内弹力板完整，层次清楚，中膜平滑肌呈纵行排列，外膜结缔组织未见异常。造模 10 周后内膜层显著增厚，可见高耸的脂质斑块，斑块深部大量细胞外脂质、崩解坏死组织堆积及针状空隙。个别血管腔内被沉积的脂质堵塞，形成了脂质栓，并有腔内瘀血，内膜层和外膜层炎细胞浸润明显。辛伐他汀可显著抑制 AS 病变组织中脂质沉积和炎细胞浸润，内膜、中膜层结构排列整齐；参莲提取物各剂量组 AS 病变程度均明显减轻。见图 1。

3.3 参莲提取物对家兔股动脉 MIT 的影响

图像分析结果显示，10 周时模型组家兔股动脉 MIT 值显著增大，是同期假手术组的 1.6 倍（$P<0.01$），模型组中膜层平滑肌细胞数目明显增多；参莲提取物 1.12、4.48 g/kg 剂量组家兔股动脉 MIT 值明显低于模型组（$P<0.01$）；参莲提取物和辛伐他汀各剂量组中膜层平滑肌细胞数明显低于模型组（$P<0.01$）。见表 2。

3.4 参莲提取物对 AS 家兔血清 TC、TG 的影响

与同期假手术组相比，模型组家兔血清 TC 水平随时间延长而进行性升高，在造模 6、10 周时血清 TC 水平分别为同期假手术组的 4.6 倍和 6.8 倍（$P<0.01$）。模型组家兔血清 TG 水平在 6 周时有增高趋势，10 周时 TG 为同期假手术组的 3 倍（$P<0.01$）。辛伐他汀和参莲提取物 2.24 g/kg 组在 6 周时即对 TC 升高有明显的抑制作用（$P<0.01$），辛伐他汀及参莲提取物各剂量组 10 周时对 TC 水平升高均表现为明显的抑制作用（$P<0.01$、0.05）；辛伐他汀和

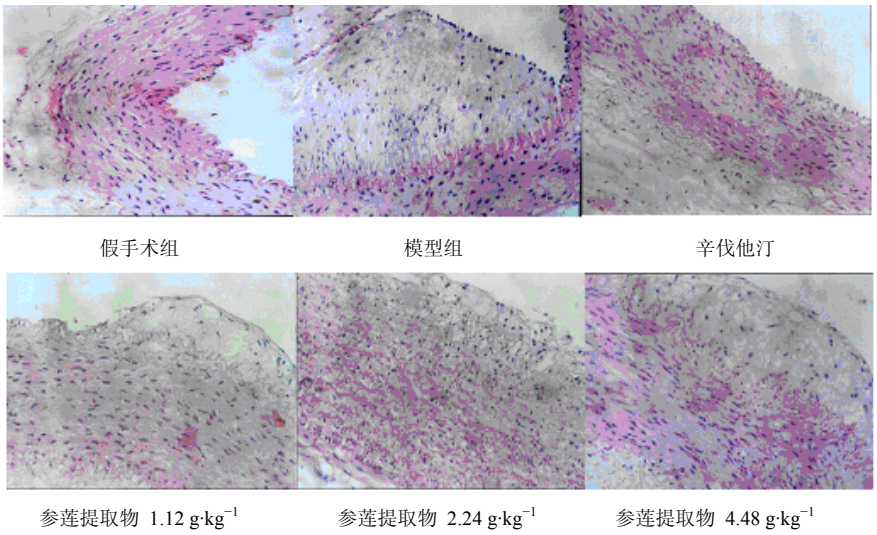

图 1　参莲提取物对 AS 家兔股动脉病理形态的影响

Fig. 1　Effect of SAE on pathomorphology of arteria cruralis in AS rabbits

表 2　参莲提取物对 AS 家兔股动脉 MIT 和平滑肌细胞数的影响（$\bar{x}\pm s, n=8$）

Table 2　Effects of SAE on MIT and number of smooth muscle of arteria cruralis in AS rabbits ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组　别	剂量/(g·kg^{-1})	MIT/μm	细胞数
假手术	−	473.88± 43.22	18.20±2.15
模型	−	776.01±193.04**	55.90±5.97**
辛伐他汀	4.7×10^{-4}	599.83±153.93	23.10±4.86$^{\triangle\triangle}$
参莲提取物	1.12	368.56±131.30$^{\triangle\triangle}$	18.00±3.16$^{\triangle\triangle}$
	2.24	627.76±286.00	21.90±5.49$^{\triangle\triangle}$
	4.48	501.08±122.68$^{\triangle\triangle}$	28.10±4.01$^{\triangle\triangle}$

参莲提取物 2.24、4.48 g/kg 剂量组可显著降低造模 10 周时家兔血清 TG 水平（$P<0.01$、0.05），各用药组间无明显差异。见表 3。

3.5　参莲提取物对 AS 家兔血清中 HDL-C、LDL-C 的影响

与同期假手术组相比，10 周时模型组家兔血清 HDL-C 水平明显降低（$P<0.01$），辛伐他汀可提高 HDL-C 水平（$P<0.01$），参莲提取物无明显作用。模型组家兔血清 LDL-C 水平从造模第 6 周到第 10 周均维持在较高水平，第 6、10 周时分别为同期假手术组的 13.6、8.8 倍（$P<0.01$）；辛伐他汀及参莲提取物各剂量均可明显降低 LDL-C 水平，与模型组比较具有显著差异（$P<0.01$、0.05）。见表 4。

4　讨论

参莲提取物对 AS 斑块形成具有显著的预防和治疗作用，可明显延缓 AS 斑块的形成并减轻病变程度，其作用可能与减轻血管内皮损伤，减少脂质的吸收和在血管局部的沉积、抑制平滑肌细胞迁移增殖等有关。脂质是体内外实验证实唯一能独立致病的 AS 危险因子，也是 AS 炎症反应的重要诱因。本实验中球囊导管损伤和高脂饵食法复制的 AS 模型存在明显的脂质代谢异常，家兔血清 TC、TG、LDL-C 水平随高脂饮食时间延长而进行性升高。

表 3　参莲提取物对 AS 家兔血清 TC 和 TG 水平的影响（$\bar{x}\pm s, n=8$）

Table 3　Effect of SAE on contents of TC and TG in AS rabbits ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组　别	剂量/(g·kg^{-1})	TC/(mmol·L^{-1})		TG/(mmol·L^{-1})	
		6 周	10 周	6 周	10 周
假手术	−	1.68±0.80	2.40±0.79	0.68±0.33	1.03±0.28
模型	−	7.31±2.67**	16.25±4.63**	1.26±1.33	3.06±1.97**
辛伐他汀	4.7×10^{-4}	4.22±0.31$^{\triangle\triangle}$	8.46±0.51$^{\triangle\triangle}$	0.28±0.12	1.77±0.80
参莲提取物	1.12	4.97±2.33	11.20±3.86$^{\triangle}$	0.63±0.32	2.18±1.41
	2.24	4.12±1.41$^{\triangle\triangle}$	8.78±1.28$^{\triangle\triangle}$	0.60±0.39	1.10±0.69$^{\triangle}$
	4.48	5.31±3.63	11.29±4.42$^{\triangle}$	0.51±0.17	0.90±0.93$^{\triangle\triangle}$

表 4 参莲提取物对 AS 家兔血清 HDL-C 和 LDL-C 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 4 Effect of SAE on levels of HDL-C and LDL-C in AS rabbits ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组 别	剂量/(g·kg^{-1})	HDL-C/(mmol·L^{-1})		LDL-C/(mmol·L^{-1})	
		6 周	10 周	6 周	10 周
假手术	—	0.67±0.43	0.70±0.27	1.11±3.23	1.52±1.34
模型	—	0.54±0.09	0.43±0.06**	15.14±6.32**	13.38±4.46**
辛伐他汀	4.7×10^{-4}	0.68±0.41	0.69±0.19$^{\triangle\triangle}$	7.30±2.09$^{\triangle\triangle}$	4.46±1.13$^{\triangle\triangle}$
参莲提取物	1.12	0.39±0.18	0.32±0.14	8.24±1.10$^{\triangle}$	6.02±1.08$^{\triangle}$
	2.24	0.38±0.13	0.48±0.04	10.16±3.14$^{\triangle}$	8.34±4.44
	4.48	0.61±0.13	0.52±0.07	10.25±3.04$^{\triangle}$	9.08±3.09$^{\triangle}$

高脂血症属于祖国医学“痰湿”、“浊阻”、“血瘀”范畴，已有研究证实血脂增高和脂蛋白的异常与中医的“痰”有关，而血脂和脂蛋白的改变常并发的血液流变学异常属中医学“血瘀”的范畴。脂质过氧化作用是痰瘀相关的中心环节，内皮细胞损伤是由痰致瘀的主要病理特征。活血化瘀、健脾化湿、化痰、消食、补益肝肾类中药可明显降低 TC、TG 的水平。中药调节血脂的机制主要通过减少胆固醇的吸收、抑制内源性脂质合成、促进脂质转运和排泄等途径[9]。

参莲提取物组分丹参素能降低细胞内源性胆固醇合成、对抗脂蛋白氧化，降低大鼠血浆 TG、TC、LDL-C、ox-LDL 水平[10-11]；丹参酚酸对巨噬细胞清道夫受体活性有抑制作用，并可对抗 LDL 的氧化修饰[12]，同时通过影响血液流变学特性[13]而改善 AS 高脂血症的痰瘀状况。穿心莲对脂质代谢异常也有明显的改善作用。本实验中参莲提取物对模型家兔 TC、TG、LDL-C 的增高均有不同程度的抑制作用，可以推测参莲提取物防治 AS 的作用与改善脂质代谢有关。参莲提取物调节脂质代谢的途径有待进一步研究确认。

本研究在模型的复制过程中，用球囊导管损伤法模拟血管机械性炎症损伤，使复制的 AS 模型具备了与人类 AS 病变相似的、明显的平滑肌层改变，并具有渗出、增殖、坏死等 AS 炎性反应特征。在此基础上高脂饲料进一步诱发血管化学性炎症反应，从而在模型中再现了血管炎性反应两大重要诱因，使所复制的模型从发病机制的角度与临床实际更为接近。实验结果表明，此模型不但具备早期炎症反应、脂质条纹、纤维斑块等 AS 各个时相的一般病理学特征，而且存在着较为典型的一系列炎性反应过程，与文献报道[7]相吻合。HE 染色结果还显示，球囊损伤部位股动脉血管 AS 的各种改变明显重于胸主动脉血管段单纯高脂诱发形成的 AS 斑块的病变程度，也验证了血管内膜的损伤及其屏障作用的丧失在 AS 形成中的重要作用。该模型的建立一方面为从炎症角度干预 AS 提供了有效的工具，另一方面也再次证实炎症反应在 AS 发生发展过程中的重要作用和以这一病理环节为治疗靶点干预 AS 的可能性。实验结果表明，参莲提取物对家兔胸主动脉 AS 斑块面积，股动脉病变程度、MIT 值均有不同程度的减轻及改善。表明以活血、解毒立法组方的参莲提取物早期、长期给药可明显减小 AS 斑块形成面积，减轻 AS 病变程度。

此模型另一个显著特征是平滑肌细胞的增殖反应。辛伐他汀和参莲提取物对 AS 模型各个观察时间点平滑肌细胞增殖均有非常显著的抑制作用。提示参莲提取物防治 AS 的作用可能也与直接抑制平滑肌细胞增殖及影响其引发的后续效应有关。

参考文献

[1] Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2): 115-126.

[2] Binder C J, Chang M K, Shaw P X, *et al*. Innate and acquired immunity in atherogenesis [J]. *Nat Med*, 2002, 8(11): 1218-1126.

[3] 李玉洁, 杨 庆, 朱晓新. 抗炎—中医药治疗 AS 疾病的新思路 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9(2): 22-28.

[4] 韦燕萍, 郭 姣, 唐春萍, 等. 复方贞术调脂胶囊抗兔动脉粥样硬化的实验研究 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 782-785.

[5] 李澎涛, 王永炎. “毒损脑络”病机假说的形成及其理论与实践意义 [J]. 北京中医药大学学报, 2001, 24(1): 1-2.

[6] 李玉洁, 杨 庆, 朱晓新. 球囊导管损伤法复制的家兔 AS 模型中炎性反应特征分析 [J]. 中华老年心脑血管

病杂志, 2007, 9(4): 283-284.

[7] 李玉洁, 杨 庆, 朱晓新. 兔动脉粥样硬化模型炎性反应规律分析与评价 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23): 2500-2503.

[8] 张钧田. 现代药理学实验方法 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997.

[9] 王春英, 张兰桐, 袁志芳, 等. 何首乌醋酸乙酯部位与二苯乙烯苷的调血脂作用 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 78-83.

[10] 何淑虹. 丹参对花生四烯酸及血脂调节的大鼠实验研究 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2005, 15(12): 749-750.

[11] 张 梅, 温进坤, 孙辉臣, 等. 丹参注射液对动脉粥样硬化大鼠血脂及细胞间粘附分子-1 表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(10): 1871-1873.

[12] 熊 涛, 吴兴军. 丹参多酚酸盐抑制低密度脂蛋白氧化修饰 [J]. 中药药理与临床, 2004, 20 (4): 7-10.

[13] 孙丽莎, 吴航宇, 徐江平, 等. 丹酚酸 B 对家兔血液流变性的影响 [J]. 微循环学杂志, 2003, 13(1): 19-21.

欢迎订阅《中草药》杂志1996—2009年增刊

为了扩大学术交流，提高新药研究水平，经国家新闻出版主管部门批准，我部从1996年起，每年出版增刊一册。

1996年增刊：特邀了国内知名专家就中药新药研究的方向、法规及如何与国际接轨等热点问题撰文阐述。

1997年增刊：包括紫杉醇的化学成分、提取工艺及组织培养等方面的科研论文，并特邀国内从事紫杉醇研究的知名专家撰写综述文章，充分反映了紫杉醇研究方面的新成果、新进展和新动态。

1998年增刊：以当今国际研究的热点银杏叶为专论重点，包括银杏叶的化学成分、提取工艺、质量控制、药理作用及临床应用等方面，充分反映了国内银杏叶开发研究方面的新成果、新进展和新动态。

1999年增刊：为“庆祝《中草药》杂志创刊30周年”会议论文集，特邀中国工程院院士、国家药品监督管理局药品评审中心及知名专家就中药新药研究热点问题撰写了综述文章。

2000年增刊：以“中药新理论、新剂型、新工艺和新技术”为主要内容。

2001年增刊：特邀了中国工程院院士、专家就加快中药现代化的进程，我国入世后中药产业的发展新对策及西部药用植物资源的保护、开发和利用等撰写综述文章。

2002年增刊：以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容。

2003—2008年增刊：包括中药创新药物开发的思路和方法、中药现代化研究、中药知识产权保护、中药专利的申请及中药走向国际等热点内容。

2009年增刊：为庆祝“《中草药》杂志创刊40周年”和“中草药英文版（*Chinese Herbal Medicines*，CHM）创刊”，以中药创新药物开发的思路和方法、活性天然产物的发现及其作用机制研究、中药代谢组学研究、生药学研究、中药的安全性评价和不良反应监控、中药新药审评法规的最新进展、中药知识产权保护和专利的申请、民族药研究为主要内容；学术水平高，内容丰富，信息量大。

以上各卷增刊选题广泛、内容新颖、学术水平高、科学性强，欢迎广大读者订阅。以上增刊为我部自办发行，邮局订阅《中草药》不含增刊，但能提供订阅凭证者，购买增刊7折优惠，款到寄刊。

地址：天津市南开区鞍山西道308号 **邮编：**300193 **网址：**www.tiprpress.com; www.中草药杂志社.中国

电话：(022)27474913 23006821 **传真：**(022)23006821 **E-mail：**zcy@tiprpress.com

《中草药》杂志编辑部