

玉米苞叶煎剂对动脉粥样硬化家兔血清内皮素、前列环素及病理形态学影响

甄艳军, 侯建明, 吴中秋, 刘淑君, 武梅芳, 王林, 王菊素

(河北医科大学病理学教研室, 河北省石家庄市 050091)

[关键词] 病理学; 玉米苞叶煎剂的抗动脉粥样硬化作用; 家兔动脉粥样硬化模型; 主动脉; 粥样硬化斑块; 内皮素; 前列环素

[摘要] 为研究玉米苞叶对动脉粥样硬化的治疗作用, 通过建立高脂饮食性兔动脉粥样硬化模型, 观察了玉米苞叶煎剂治疗用药后对血清内皮素、 6-酮-前列腺素 及主动脉粥样硬化病理形态学的影响。结果发现, 模型组血清内皮素和 6-酮-前列腺素 较对照组均明显降低, 每日饲喂含硅量 $2 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 玉米苞叶煎剂 $100 \text{ mL}/\text{只}$ (低剂量组) 或含硅量 $4 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 玉米苞叶煎剂 $100 \text{ mL}/\text{只}$ (高剂量组)。于实验 17 周末发现, 血清内皮素较模型组有所上升, 6-酮-前列腺素 F1a 较模型组明显升高 (模型组为 66 ± 26 , 低剂量组为 122.4 ± 2.4 , 高剂量组为 117 ± 64 , $P < 0.05$), 内皮素与前列环素比值也明显降低 (模型组为 7.0 ± 1.2 , 低剂量组为 5.1 ± 1.4 , 高剂量组为 5.7 ± 1.3 , $P < 0.05$), 主动脉内膜粥样斑块病变程度和面积较模型组明显减轻和缩小。结果提示, 玉米苞叶煎剂具有保护动脉内膜损伤, 调节内皮细胞血管活性物质分泌, 治疗家兔动脉粥样硬化作用。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

The Effects of Corn Bract Decotion on Endothelin and Prostacyclin and Morphology of Atherosclerosis in Rabbits

ZHEN Yan-Jun, HOU Jian-Ming, WU Zhong-Qiu, LIU Shu-Jun, WU Mei-Fang, WANG Lin, and WANG Ju-Su

(Department of Pathology, Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050091, China)

[KEY WORDS] Antiatherosclerosis; Animal Experiment; Corn Bract Decotion; Aorta; Atherosclerotic Plaques; Endothelin; Prostacyclin

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect of corn bract decotion on atherosclerosis. **Methods** The experimental model of atherosclerosis in rabbits was established by hyper-lipoidal feed. Endothelin (ET), 6-keto-PGF1a and morphological atherosclerosis changes were evaluated after the treatment of corn bract decotion. **Results** At the end of seventeenth week, the level of endothelin in corn bract decotion group were improved in compared with that in model group. The concentration of 6-keto-PGF1a were also increased markedly (model group: 66 ± 26 , lowdose: 122.4 ± 2.4 , highdose: 117 ± 64 , $P < 0.05$). The ratio of ET/ 6-keto-PGF1a were decreased significantly compared with model group (model group: 7.0 ± 1.2 , lowdose: 5.1 ± 1.4 , highdose: 5.65 ± 1.33 , $P < 0.05$). Morphological changes on aortic intima were also decreased significantly compared with model group. **Conclusions** The decotion of corn bract was found to protect arterial endothelium from injury, and regulate the secretion of endothelial cell. This means the decotion of corn bract has therapeutic effect on atherosclerosis in rabbit.

玉米苞叶是农作物玉米棒的外皮。我们前期实验发现, 玉米苞叶煎剂预防用药具有降低鹌鹑和家兔的实验性高血脂, 改善动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 斑块病变的作用^[1]。为进一步探讨玉米苞叶降血脂抗 As 的作用机制, 并深入研究其对已成模的家兔 As 的影响, 本文观察了玉米苞叶对家兔血清

内皮素 (endothelin) 和 6-酮-前列腺素 F1a (以下简称前列环素) 及主动脉粥样硬化斑块发生率及病变的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

实验用玉米苞叶为采集成熟洁净的玉米棒外皮, 晒干切碎, 每克玉米苞叶加蒸馏水 100 mL , 浸泡 3 h , 煮沸 3 h , 测定为含一定量硅的淡黄色溶液储存备用。

1.2 动脉粥样硬化模型的建立与分组

大耳白家兔 32 只, 体重 $2 \sim 2.5 \text{ kg}$ (由河北省实

[收稿日期] 2002-07-31 [修回日期] 2003-01-23

[基金项目] 河北省中医药管理局基金 (200108) 资助。

[作者简介] 甄艳军, 女, 1952 年出生, 教授, 硕士研究生导师, 现从事病理学教学工作, 研究方向为中药治疗动脉粥样硬化的基础研究。侯建明, 男, 1957 年出生, 副教授, 现从事生物化学教学工作, 研究方向为中药治疗动脉粥样硬化的基础研究。吴中秋, 男, 1971 年出生, 讲师, 现从事针灸推拿教学工作, 研究方向为中药治疗动脉粥样硬化的基础研究。

验动物中心提供),雌雄各半,随机分成四组:正常对照组($n=8$)喂基础饲料,饮自来水;模型组和玉米苞叶煎剂低、高剂量组(均为 $n=8$)三组同时饲喂高脂饲料(基础饲料:猪油:胆固醇=85:14.5:0.5),饮用自来水。实验第9周后,三组同时停喂高脂饲料。玉米苞叶两组从第10周开始,每日上午自由饮用玉米苞叶煎剂,低剂量组为含硅量 $2\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 玉米苞叶煎剂 $100\text{ mL}/\text{只}$,高剂量组为含硅量 $4\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 玉米苞叶煎剂 $100\text{ mL}/\text{只}$ 。上午全部饮完后,下午改为饮用自来水,第17周实验结束。

1.3 血清内皮素和前列环素测定

实验第17周后,禁食12 h,于清晨耳缘静脉取血,制备血清,用放射免疫法按药盒说明书测定血清内皮素和前列环素含量,放射免疫药盒由北京东亚免疫研究所提供。

1.4 病理形态学观察

实验17周后,处死动物,自主动脉起始部至髂动脉分叉处取出主动脉条全长,剥净外膜结缔组织及脂肪组织,环主动脉取材,石蜡切片,HE染色。其余主动脉沿腹侧纵行剖开,肉眼观察As斑块病变程度,按文献[2]方法,将As病变分别进行分级记分,无病变为0级记分;内膜有奶油色变化但无斑块为0.5级记分;斑块凸起小于 3 mm^2 为1级记分;斑块凸起大于 3 mm^2 为2级记分;多个斑块融合成片为3级记分;内膜几乎被融合的斑块覆盖为4级记分。然后将动脉条平铺于滤纸上,10%甲醛固定24 h后,苏丹Ⅲ染色,As斑块处呈典型橘红色,LEIEAQ550IW图像分析系统测量主动脉内膜As斑块面积。

1.5 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验,各组As病变分级比较用秩和检验。

2 结果

2.1 血清内皮素和前列环素含量的变化

实验17周后,模型组内皮素水平较对照组和玉米苞叶煎剂组降低,但各组间均数无统计学意义。玉米苞叶煎剂两组动物血清前列环素较模型组明显升高($P<0.05$;表1,Table 1)。

2.2 病理形态学变化

正常组主动脉内膜粉白色,表面光滑,动脉管壁弹性好。模型组8只动物主动脉均发生典型As病变,且多为3~4级。动脉内膜弥漫增厚,淡黄、黄白色As斑块融合成片,环管壁全周,有的局部明显隆

表1. 玉米苞叶煎剂对血清内皮素和前列环素含量的影响

Table 1. The effects of corn bract decoction on serum ET and 6-keto-PGF1a ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

分 组	内皮素(E)	前列环素(P)	E/P
对照组	512 \pm 115	103 \pm 40	5.2 \pm 0.9
模型组	444 \pm 102	66 \pm 26 ^a	7.0 \pm 1.2 ^b
M+ LDC	526 \pm 172	122 \pm 2.4 ^c	5.1 \pm 1.4 ^c
M+ HDC	556 \pm 260	117 \pm 64 ^c	5.7 \pm 1.3 ^c

与对照组比较 a: $P<0.05$, b: $P<0.01$; 与模型组比较 c: $P<0.05$ 。M+ LDC: 模型+ 低剂量玉米苞叶煎剂; M+ HDC: 模型+ 高剂量玉米苞叶煎剂; 下同。

起突向管腔,表面不光滑,管壁弹性下降。经8周玉米苞叶煎剂治疗后,低剂量组8只动物中仅有3例主动脉As斑块弥漫性隆起,程度较模型组减轻,其余5例仅见散在分布的淡黄色斑点或条纹。高剂量组8只动物中只有5例胸主动脉发生1~3级As病变,其余仅有少量脂斑脂纹形成,大部分内膜光滑,弹性好,两组动物胸、腹主动脉As发生率和病变程度较模型组明显减轻。

光镜观察,正常对照组兔主动脉壁结构清晰,内膜表面光滑,内皮细胞完整连续,未见白细胞粘附。内弹力板及中膜弹力纤维形态正常,平滑肌细胞走行良好(图1A, Figure 1A)。模型组8例主动脉均成典型As病变,可见斑块环管腔大部或全周,内膜明显增厚,管腔狭窄,斑块内主要成分为梭形的泡沫状细胞,成极向性多层排列,多者可达10~15层。内膜表面不光滑,内皮细胞缺失或不连续,有的斑块表面内皮已修复再生。内膜下可见弹力纤维断裂,平滑肌细胞排列紊乱,并有向内膜下迁移现象。部分斑块周围可见纤维母细胞增生,3例可见内膜下大片粘液样变性,3例斑块处可见白细胞粘附(图1B, Figure 1B)。低剂量组内膜仅见散在的1~2处局限性脂斑形成,为薄层泡沫细胞覆盖,多为单核细胞源性。大部分内膜结构清晰,表面光滑,内皮细胞连续(图1C, Figure 1C)。高剂量组4例仅见局限性脂斑形成,另有4例有薄层脂斑环管腔全周,但泡沫细胞仅为2~3层。其余动物主动脉内膜均光滑完整,1例可见内膜下粘液样变性(图1D, Figure 1D)。

2.3 对家兔主动脉粥样硬化斑块病变的影响

经服玉米苞叶煎剂后,家兔主动脉的As斑块记分均较模型组明显降低($P<0.01$, $P<0.05$,表2, Table 2)。对病变的图像分析发现,低剂量组As斑块面积明显小于模型组($P<0.05$),高剂量组与模型组相比差异非常显著($P<0.01$,表3, Table 3)。

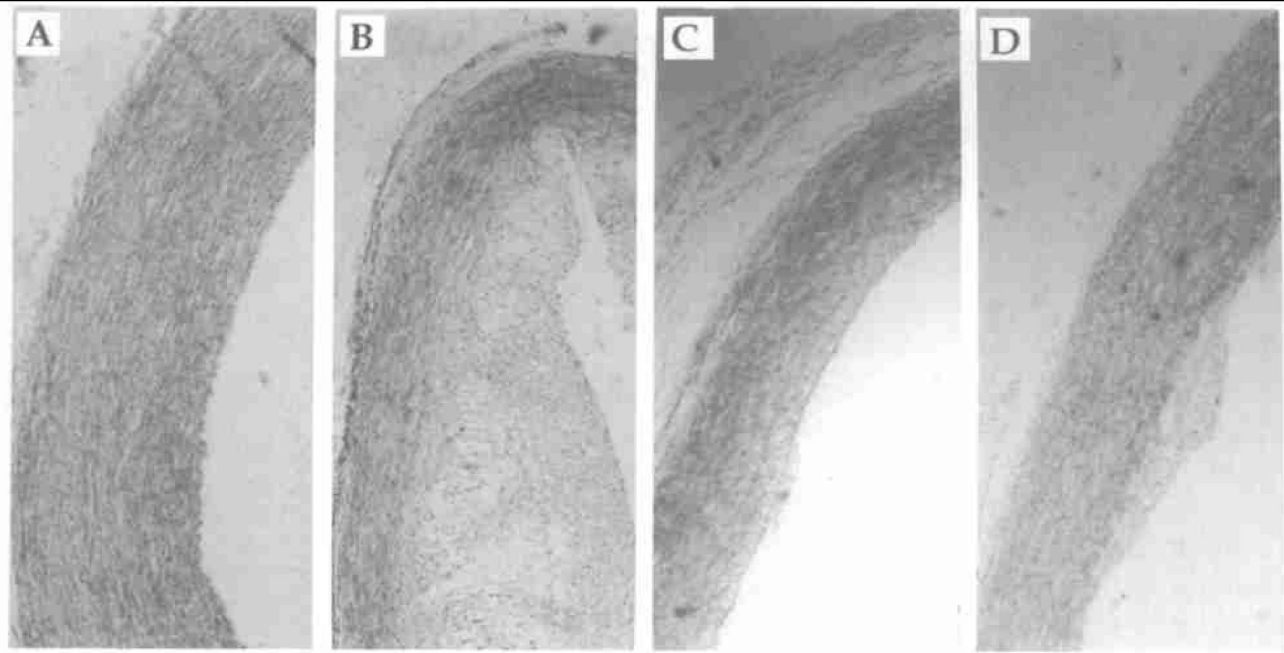


图 1. 兔主动脉粥样硬化斑块(HE 染色, 200×) A 为对照组, B 为模型组, C 为低剂量组, D 为高剂量组。

Figure 1. The atherosclerotic plaques of aorta in rabbits

表 2. 玉米苞叶煎剂对家兔胸、腹主动脉粥样硬化斑块病变的影响 (n= 8)

Table 2. The effects of corn bract decoction on atherosclerotic plaque of thoracic aorta and abdominal aorta in rabbits

分组	胸主动脉							腹主动脉						
	0 级	0.5 级	1 级	2 级	3 级	4 级	总分	0 级	0.5 级	1 级	2 级	3 级	4 级	总分
对照组	8	0	0	0	0	0	40	8	0	0	0	0	0	48
模型组	0	0	0	0	4	4	220 ^a	0	0	0	3	3	2	225 ^a
M+ LDC 组	0	0	4	2	2	0	145 ^c	6	0	1	1	0	0	113 ^d
M+ HDC 组	1	2	2	1	2	0	123 ^c	7	0	0	1	0	0	102 ^d

b: $P < 0.01$, 与对照组比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与模型组比较。

表 3. 玉米苞叶煎剂对主动脉粥样硬化面积的影响

Table 3. Effect of corn bract decoction on atherosclerotic area of aortic ($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	斑块面积占主动脉面积的%
对照组	8	0
模型组	8	63 ± 4.0 ^b
M+ LDC 组	8	43 ± 1.0 ^d
M+ HDC 组	8	49 ± 13 ^c

b: $P < 0.01$, 与对照组比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与模型组比较。

3 讨论

本实验在成功建立了家兔食饵性 As 模型基础上,观察了玉米苞叶煎剂不同剂量对 As 的治疗作用。结果发现模型组血清内皮素较其他三组有所降低,这与尚改平等^[3]和 Grantham 等^[4]实验结果相似。尚改平等发现 As 兔血浆内皮素 1 与对照组和给药

组水平无明显差异,Grantham 等发现 As 兔血浆内皮素 1 水平并不升高,只在局部表达增加。高脂血症或 As 动物血管内皮细胞的功能损伤要早于其结构的损伤,在动脉形态学或斑块出现之前,就发生了内皮依赖性的血管张力调节、屏障和抗血栓形成方面的内皮功能障碍,高脂饮食可明显增高大鼠血浆内皮素含量^[5]。

张冰等^[6]观察到高脂血症兔血浆内皮素显著高于对照组。本实验是在饲喂高脂饲料 9 周,As 病变非常典型后所测的模型组内皮素。我们认为模型组内皮素降低和血管内皮细胞严重受损,细胞坏死脱落,主动脉 As 斑块已明显形成后,导致内皮素合成减少有关。关于 As 时动物血清内皮素变化各家报道结果不一,是否在 As 发展的不同阶段,因内皮损伤程度不同,内皮素的合成和分泌有时相变化。孙金明等^[7]研究结果提示轻度高脂血症可引起内皮素

mRNA 表达增加和外周血内皮素 1 含量增高。而重度高脂血症可引起内皮素 mRNA 表达下降和外周血内皮素 1 浓度降低。不同程度的高脂血症对血管内皮活性物质及基因表达的影响是不同的。本文实验结果与这一观点一致。模型组血清前列环素较对照组明显降低,可能是内皮受损严重,使之合成减少的结果。玉米苞叶煎剂组可使 As 家兔血清内皮素较模型组明显升高,前列环素水平大幅度上升,且 T/P 比值与模型组相比差异显著,提示玉米苞叶煎剂能够促进内皮修复,保护内皮功能,增加活性物质合成和分泌。前列环素是前列环素的代谢产物。前列环素是目前发现最强血小板聚集抑制剂,也是一种较强的血管扩张剂,其代谢产物可通过增加胆固醇脂的分解代谢使细胞内胆固醇沉积减少^[8],这可能是我们实验组兔主动脉 As 斑块病变程度减轻的原因。病理形态学证实,模型组主动脉全长内膜 As 发生率 100%,病变程度重;煎剂组主动脉 As 斑块主要表现在胸主动脉,腹主动脉病变极其轻微,且病变级别明显低于模型组。显示玉米苞叶煎剂有明显抗 As,使兔主动脉 As 斑块缩小或消失的作用,表明玉米苞叶煎剂治疗家兔 As 的效果与我们以往用其预防 As 的实验结果一致^[1]。但本实验不同剂量组间结果无明

显差异。玉米苞叶含硅量丰富,与中药问荆含量相当,临床用富硅草药问荆治疗高血脂,效果理想。我们以往实验表明,偏硅酸钠溶液降血脂、抗家兔 As 效果,与玉米苞叶煎剂相同,故推测玉米苞叶煎剂预防和治疗 As 作用可能和富硅有关,其作用机制有待深入探讨。

[参考文献]

- [1] 甄彦君,侯建明,刘淑君,武梅芳,王菊素,王利慧. 玉米苞叶对动物高血脂及 As 影响的实验研究. 中国中医基础医学杂志, 1999, 5 (12): 20-22
 - [2] 汪谦. 现代医学实验方法. 北京:人民卫生出版社, 1997; 955-956
 - [3] 尚改平,文志斌,何晓凡,汉建忠,李俊成,贺石林. 补阳还五汤抗家兔动脉粥样硬化形成机制. 中国动脉硬化杂志, 2002, 10 (2): 112-114
 - [4] Grantham JA, Schirger JA, Williamson EE, et al. Enhanced endothelin converting enzyme immunoreactivity in early atherosclerosis. J Cardiovasc Pharmacol, 1998, 3 (Suppl): 522-526
 - [5] 李瑞峰,温海涛,李莉,陈融,任冬梅,郭成浩,等. 半边莲不同组分对内皮细胞内皮素及内皮源性一氧化氮合酶的影响. 中国动脉硬化杂志, 2002, 10 (1): 19-22
 - [6] 张冰,刘小青,胡京红,高云艳,李云谷,何轶. 菊苣提取物对糖复合物高血脂模型兔血浆 WT、ET 及 PGI₂/TXA₂ 含量的影响. 北京中医药大学学报, 2000, 23 (6): 48-50
 - [7] 孙金明,胡壮丽,郑华英,钱家庆. 动态观察实验性高血脂症对血管内皮活性物质含量及其基因表达的影响. 中国药理学通报, 2001, 17 (6): 679-684
 - [8] 王福娣,陈百先,祝寿嵩,蔡梅雪. 复方山楂果茶对大鼠血浆血栓素与前列环素水平的影响. 中国老年学杂志, 1997, 17 (2): 108-110
- (此文编辑 胡必利)

•资料•

我刊被数据库和文摘杂志收录情况

至 2002 年 12 月,收录我刊的数据库有:

美国化学文摘社《Chemical Abstracts, CA》(《化学文摘》);
俄罗斯科技情报所《Abstract Journal, AJ》(《文摘杂志》);
科技部中国科技信息研究所《中国科技论文统计源期刊》;
中国科学院文献信息中心《中国科学引文数据库》;
科技部中国科技信息研究所《万方数据数字化期刊》;
科技部中国科技信息研究所《中国核心期刊(遴选)数据库》;
中国科协学会学术部《中国学术期刊文摘》;
科技部西南信息中心《中文科技期刊数据库》;
清华大学《中国学术期刊(光盘版)》;
清华大学等部门《中国科学文献计量评价数据库》;
中国学术期刊(光盘版)电子杂志社《中国期刊信息与知识数据库》;
中国医学科学院医学信息研究所《中国生物医学文献光盘数据库》;
解放军医学图书馆《中文生物医学期刊数据库》;
《中国医学文摘》;
《中国药学文摘》;
《中国生物学文摘》。