

通心络对兔髂动脉球囊损伤后内膜增生的影响

熊清萍¹, 张社兵², 吕新华², 谭湘明², 刘君实³

(1. 湖南省郴州市第四人民医院心内科, 湖南省郴州市 423000;

2. 湖南省湘南学院附属医院心内科; 3. 贵州省心血管病研究所)

[关键词] 内科学; 通心络对内膜增生的影响; 免疫组织化学; 内膜增生; 球囊损伤; 增殖细胞核抗原; 家兔

[摘要] 探讨通心络对动脉球囊损伤后内膜增生的影响及其机制。36 只健康家兔随机分球囊损伤组($n=12$)、球囊损伤+通心络组($n=12$)和假手术组($n=12$), 分别于第 7 天及 28 天处死家兔。组织切片行 Wergert 弹力纤维染色和增殖细胞核抗原免疫组织化学染色, 并行形态学观察及形态计量分析。结果发现, 球囊损伤组与球囊损伤+通心络组及假手术组相比内膜面积、内膜面积与中膜面积之比显著增大, 管腔面积显著减小($P<0.05$)。三组均有增殖细胞核抗原表达, 但球囊损伤组较球囊损伤+通心络组及假手术组增殖细胞核抗原阳性细胞数、阳性百分率、增殖指数显著增高($P<0.05$)。结果提示, 通心络可抑制动脉球囊损伤后内膜增生, 这一作用的机制可能与通心络抑制动脉壁细胞增殖细胞核抗原的表达有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

经皮腔内冠状动脉成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA)是冠心病介入治疗的一种重要手段。但是术后 3~6 个月 25%~50% 的再狭窄率严重影响了其远期疗效, 如何防治再狭窄的发生已成为当今介入心脏病学领域需迫切解决的课题。中药制剂防治再狭窄的研究报道较少, 本研究旨在探讨通心络对防治再狭窄的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用家兔(贵阳医学院实验动物中心); 2.5F 冠状动脉球囊导管(美国 Boston Scientific 公司); 增殖细胞核抗原免疫组织化学染色所需试剂(北京中山生物技术有限公司); 通心络(河北以岭医药); 其余材料与试剂由贵阳医学院试剂配送中心提供。

1.2 动物模型制备

健康家兔 36 只, 雌雄不拘, 体重 2.65 ± 0.14 kg, 普通饲料喂养, 随机分成球囊损伤组($n=12$)、球囊损伤+通心络组($n=12$)和假手术组($n=12$)。每组再随机分成术后 7 天处死组和术后 28 天处死组, 每组各为 6 只。球囊损伤+通心络组从术前 3 天开始饲通心络 $0.5 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 分早晚两次饲喂。球囊损伤组和假手术组则饲以等剂量的安慰剂。

1.3 髂动脉球囊损伤

20% 乌来糖(5 mL/kg) 静脉注射麻醉, 无菌条件下分离右侧股动脉并剪一小口, 球囊损伤组和球囊损伤+通心络组自切口处插入 2.5F 的冠状动脉球囊导管至 10 cm 深处, 接压力泵, 注入生理盐水使压力达 8 个大气压充盈球囊, 缓慢回拉导管至切口处并回抽压力泵, 重复操作 3 次, 移出导管, 结扎股动脉, 分层缝合切口。假手术组除不插入球囊导管外, 其余操作步骤相同。

1.4 组织切片制作

颈动脉放血处死家兔, 仔细分离并切取约 1.0 cm 长的髂动脉, 冰生理盐水冲洗, 10% 中性福尔马林固定。标本经充分水洗 2 h, 先后经酒精梯度脱水, 二甲苯透明、浸蜡、石蜡包埋, 每段髂动脉横断均匀切片 6 张, 切片厚度 5 μm , 间断 24 μm , 其中一张用于 Wergert 弹力纤维染色, 其余 5 张用于增殖细胞核抗原免疫组织化学染色。所用载玻片皆经 2% 3-氨基丙基三氧硅烷丙酮溶液防脱片处理。

1.5 指标检测

切片经 Mbio Mias 图像分析仪(四川大学)进行形态计量分析。弹力纤维染色切片观测管腔面积、内弹力板围绕面积、外弹力板围绕面积, 并计算出内膜面积、内膜面积与中膜面积之比。免疫组织化学切片为每张切片计算每 100 个细胞中增殖细胞核抗原呈阳性的细胞个数(阳性百分率), 每例共计 5 张切片, 再根据平均阳性百分率按文献[1]方法换算成四级增殖指数(iv 级为 0~25%, ⊕ 级为 26%~

[收稿日期] 2003-12-04

[修回日期] 2004-08-27

[作者简介] 熊清萍, 副主任医师, 主要研究方向为心血管药理。张社兵, 主治医师, 主要研究方向为心血管介入。吕新华, 副主任医师, 主要研究方向为冠心病。

50%, ④级为 51%~75%, ⑤级为 76%~100%)。

1.6 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验。计数资料以分级指数, 采用等级序值法。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 增殖细胞核抗原阳性细胞计数

相同天数处死的各组比较, 球囊损伤+ 通心络组增殖细胞核抗原阳性细胞数及阳性百分率较球囊损伤组减少 (41.7 ± 6.1 比 68.1 ± 5.3 和 $29.4\% \pm 5.1\%$ 比 $43.3\% \pm 5.9\%$; $P < 0.01$), 较假手术组 (11.3 ± 3.0 和 $13.6\% \pm 3.2\%$) 增多 ($P < 0.01$), 其增殖指数与球囊损伤组和假手术组比较差异亦有显著性 ($P < 0.05$)。

2.2 Wergert 弹力纤维染色形态计量分析

损伤后 7 天, 三组间管腔面积、内膜面积、内膜面积与中膜面积之比差异无显著性 (分别为 $0.0625 \pm 0.0203 \text{ mm}^2$ 比 $0.0547 \pm 0.0031 \text{ mm}^2$ 比 $0.0768 \pm 0.0137 \text{ mm}^2$ 、 $0.0266 \pm 0.0065 \text{ mm}^2$ 比 $0.0145 \pm 0.0042 \text{ mm}^2$ 比 $0.0107 \pm 0.0019 \text{ mm}^2$ 、 0.2032 ± 0.0775 比 0.1187 ± 0.0109 比 0.1453 ± 0.0177 ; $P > 0.05$); 损伤后 28 天, 球囊损伤+ 通心络组管腔面积较球囊损伤组增大 ($0.0539 \pm 0.0254 \text{ mm}^2$ 比 $0.0117 \pm 0.0034 \text{ mm}^2$; $P < 0.01$), 内膜面积、内膜面积与中膜面积之比则减小 ($0.0549 \pm 0.0031 \text{ mm}^2$ 比 $0.134 \pm 0.0336 \text{ mm}^2$ 和 0.5203 ± 0.0109 比 1.6562 ± 0.2538 ; $P < 0.01$)。

3 讨论

关于动脉成形术后再狭窄的病理及病理生理过程研究较多, 但其确切机制尚未完全阐明。迄今为止的研究表明, 由于球囊扩张术后内皮细胞剥脱, 内弹力板及血管中膜被拉伸、撕裂, 血管壁完整性受到破坏, 内皮下基质暴露于血流, 引发血小板粘附、聚集, 继而形成血栓, 这是 PTCA 后损伤血管早期的病理变化。此后, 早期形成的血栓机化, 血管中膜平滑肌细胞在多种生长因子和血管活性物质的刺激下,

开始向内膜迁移、增殖, 同时分泌细胞外基质, 此即新生内膜的形成过程。血管成形术后受损内膜增生是再狭窄的主要机制^[2]。

增殖细胞核抗原又称周期素, 是一种酸性核蛋白。其出现与细胞增殖有关^[3]。增殖细胞核抗原作为 DNA 聚合酶 δ 的附属蛋白, 是 DNA 复制所必需, 其在核内表达的增加预示着细胞进入 DNA 合成期(S 期)或 DNA 合成前期(G_1 晚期), 但静止期(G_0 期)的细胞增殖细胞核抗原不表达。因此, 增殖细胞核抗原的表达既是细胞增殖的机制, 又是反映细胞增殖状态的一项可靠指标。

通心络为一中药制剂, 其主要成分为人参、水蛭、全蝎、土鳖虫、蜈蚣等, 具有通气活血、通络化淤之效。研究表明, 通心络能降低血液粘度, 抑制血小板的聚集, 并能降低血中的胆固醇水平^[4]。

本研究结果发现, 家兔未受球囊损伤的动脉壁细胞增殖细胞核抗原亦有少量表达, 但其增殖指数低。而球囊损伤后 7 天, 动脉壁细胞的增殖细胞核抗原表达大量增加, 应用通心络可显著抑制增殖细胞核抗原的表达。损伤后 28 天, 增殖细胞核抗原的表达虽已下降, 但仍显著高于假手术组, 提示动脉壁细胞特别是新生内膜处细胞仍在继续增殖。动脉球囊损伤后 7 天, 即有新生内膜形成, 损伤后 28 天, 新生内膜大量形成, 管腔面积显著低于其它各组, 应用通心络干预可显著抑制新生内膜形成, 减少管腔面积的丧失, 这一作用的机制可能是通心络抑制动脉壁细胞增殖细胞核抗原的表达, DNA 合成受抑制, 从而增殖受阻。以上提示通心络一定程度上可防止血管成形术后再狭窄的发生。当然, 通心络为中药复方制剂, 成分复杂, 如能精炼出其有效成分, 则其防止 PTCA 后再狭窄的应用前景将更为乐观。

[参考文献]

- [1] 陈茂怀, 李乔山, 吴贤英, 沈健, 梅品超. 鼻咽癌细胞群体的 PCNA 免疫组化研究. 临床与实验病理杂志, 1996, 12: 286-288
- [2] Powell JS, Clozel JP, Muller RKM. Inhibitors of ACE prevent myointimal proliferation after vascular injury. Science, 1989, 24: 186
- [3] 谭曾鲁, 周柔丽. 医学细胞生物学. 北京: 北京医科大学和中国协和医科大学联合出版社, 1992: 236-238
- [4] 贾志梅, 齐国先, 曾定尹. 通心络的临床疗效及作用机理探讨. 现代中西医结合杂志, 2001, 10 (11): 997-998

(此文编辑 文玉珊)