

[文章编号] 1007-3949(2005)13-06-0705-04

• 实验研究 •

通脉颗粒对兔动脉粥样硬化模型血脂水平及主动脉和冠状动脉病变的影响

肖 纯¹, 孙 明², 金益强³, 周宏研², 钱昭昕², 杨向东⁴

(1. 衡阳市中心医院, 湖南省衡阳市 421001; 2. 中南大学湘雅医院心内科, 湖南省长沙市 410008;

3. 中南大学中西医结合研究所, 湖南省长沙市 410008; 4. 南华大学心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 通脉颗粒; 血脂; 动脉粥样硬化; 冠状动脉疾病; 动物模型

[摘要] 目的 观察通脉颗粒对动脉粥样硬化兔模型血脂水平及主动脉和冠状动脉病变的影响。方法 将 40 只日本大白兔随机分为空白对照组、模型对照组、通脉颗粒小剂量组、通脉颗粒大剂量组, 每组 10 只, 空白组普通饲料喂养, 其余各组予高脂饮食(含 5% 猪油、0.5% 胆固醇)喂养 12 周复制成动脉粥样硬化模型, 其中后两组同时予大小剂量通脉颗粒灌胃, 观察各组动物实验前后血脂水平变化及主动脉和冠状动脉病理形态改变(包括主动脉粥样斑块厚度、斑块覆盖面积和冠状动脉狭窄状况)。结果 各模型组动物在实验结束时血浆甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白均明显上升, 但通脉颗粒干预组上升幅度低于模型组, 其中大剂量组上升幅度最小, 与其他各组比较有显著性差异($P < 0.05$); 空白对照组主动脉、冠状动脉正常, 其余各组均有不同程度粥样斑块形成和冠状动脉狭窄, 主动脉斑块厚度、斑块覆盖面积占整条主动脉面积的百分比以及狭窄冠状动脉百分比, 大小剂量组均比模型组小, 而大剂量组最小($P < 0.05$)。结论 通脉颗粒可显著降低动脉粥样硬化兔模型的血脂水平、延缓动脉粥样斑块的发生发展, 这可能是该药治疗冠心病心绞痛的重要机理之一。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Effects of Tongmai Granules on Blood Lipids, Aorta and Coronary Artery Pathological Morphology in Atherosclerosis Rabbit Model

XIAO Chun¹, SUN Ming², JIN Yi-Qiang³, ZHOU Hong-Yan², QIAN Zhao-Xin², and YANG Xiang-Dong⁴

(1. Department of Cardiology, Hengyang Central Hospital, Hengyang 421001; 2. Department of Cardiology, Xiangya Hospital, Changsha 410008; 3. Institute of integrated TCM and Western Medicine, Central South University, Changsha 410008; 4. Institute of Cardiovascular Disease, Nanhua University, Hengyang 421001, China)

[KEY WORDS] Tongmai Granules; Blood Lipid; Atherosclerosis, Animal Model; Coronary Disease

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of Tongmai granules on blood lipids, aorta and coronary artery pathological morphology in atherosclerosis rabbit model. **Methods** Forty Japanese big ear rabbits were randomly divided into negative control group, model control group, low dosage TongMai granules group and high dosage TongMai granules group, each group consisting of ten rabbits. The negative control group was fed on common diet, the other groups were high lipid fed (5% pork fat, 0.5% cholesterol) to establish atherosclerosis model. The latter two groups were given low dosage and high dosage Tongmai granules respectively. Blood lipid, aorta and coronary artery pathological morphology (including the thickness and the area of the aorta atherosclerosis plaque and the percentage of stenosis of the coronary artery supplying left ventricle) were observed in all the rabbits before and/or after the treatment. **Results** Blood TG, TC, LDLC were elevated significantly in the rabbits of the model group, but the elevation in the Tongmai group was lower than those of the model group, especially in the high dosage group. There are significant differences as compared with those of other groups ($P < 0.05$). Normal aorta and coronary arteries are seen in the negative control group while in the other groups atherosclerosis of various degrees and coronary arteries stenosis came into being. Aorta plaque thickness, plaque area/ aorta area and the percentage of stenosis of coronary arteries is lower in the Tongmai group than those in the model group, with those of the high dosage group being the lowest ($P < 0.05$). **Conclusions** Tongmai granules can significantly reduce blood lipids, prevent and treat atherosclerosis. The mechanisms by which Tongmai granules alleviates angina pectoris may be attributed to its properties of reducing blood lipids, preventing and treating atherosclerosis

[收稿日期] 2004-10-09 [修回日期] 2005-07-05

[基金项目] 湖南省自然科学基金(02JJY3034)

[作者简介] 肖纯, 博士研究生, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病防治及介入治疗, E-mail 为 hysxiaoc@medmail.com.cn。孙明, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为高血压病防治。金益强, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为中医肝脏脏象的研究。

心血管病正日益成为严重威胁人们生命健康的最重要因素, 有人预测, 到 2020 年心血管病在发展中国家大流行已不可避免, 且大多数是冠心病和脑卒中^[1]。如何有效地防治冠心病, 是摆在广大医学工作者面前的重大课题。冠心病心绞痛属中医“胸痹”范畴, 祖国医学经过几千年的临床实践, 对该病的防治

积累了丰富的经验,努力发掘其精华对冠心病的防治无疑有着重大意义。通脉汤是孙明教授经过多年临床实践总结出来的经验方。70年代初即开始观察该方治疗冠心病心绞痛的临床疗效,症状总有效率87.5%,心电图有效率71.9%^[2]。1999年我们将其制成颗粒剂。研究发现,该药可明显减少心绞痛发作次数和硝酸甘油用量,显著改善患者运动耐量和生活质量,其远期疗效明显优于消心痛,而副作用明显少于消心痛^[3]。本文在已有的研究基础上,进一步观察了通脉颗粒对动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)兔模型血脂水平及主动脉和冠状As斑块的影响,以探讨其可能的治疗机制,现予报告。

1 材料与方法

1.1 药物

通脉颗粒由中南大学湘雅医院药剂科研制提供,制剂标示量为3g/包,每1g相当生药15.7g,临床用量6g/d,相当生药94g

1.2 动物与分组

雄性日本大耳白兔40只,3月龄,体重2.0~2.5kg,由中南大学湘雅医学院实验动物中心提供。随机分为空白对照组(简称空白组),普通饲料喂养,不做任何处理;模型组,高脂饲料(在94.5%基础饲料中加入0.5%胆固醇和5%猪油配制而成)喂养,每日150g/只,自由饮水;同时予等体积生理盐水灌胃,连续3个月。通脉颗粒小剂量组(简称小剂量组),高脂饲料喂养方法同模型组,同时予通脉颗粒按1g:10mL比例与蒸馏水配成的药液灌胃,剂量2.8mL/(kg·d),相当于生药0.28g/(kg·d),连续3个月。通脉颗粒大剂量组(简称大剂量组),高脂饲料喂养方法同模型组,同时予通脉颗粒按1g:2mL比例与蒸馏水配制的药液灌胃,剂量2.8mL/(kg·d),相当于生药1.4g/(kg·d),连续3个月。以上大、小剂量组药物剂量按动物体表面积系数折算,分

别相当70kg成人临床剂量的5倍和1倍。

1.3 血脂测定

实验前后各测定血脂一次。由左心室穿刺取血,EDTA抗凝,离心取血浆。总胆固醇(total cholesterol, TC)按CHOD-PAP法测定,低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)按PTA-Mg²⁺法测定,甘油三酯(triglyceride, TG)按GPO-PAP法测定,均严格按照试剂盒说明书操作。

1.4 主动脉及冠状动脉形态学观察

所有动物均于实验第三月末采血后用空气栓塞法处死,留取主动脉(一直取至髂动脉分叉处)及心脏,10%福尔马林溶液固定一周。

1.4.1 主动脉斑块面积与厚度 主动脉纵行切开平铺,苏丹Ⅲ染色,肉眼观察病变,透明方格纸法(1mm×1mm)^[4]测量主动脉总面积及斑块面积,计算病变面积占总面积的百分比;然后主动脉弓部取材做石蜡切片,HE染色,光镜下观察主动脉壁形态,并用微测尺测量斑块厚度。

1.4.2 冠状动脉病变观察 于心脏房屋沟直下方每0.3cm作一横切面,共切3块,每块约0.3cm,快速冰冻切片,HE染色,主要观察左心室游离面心肌内冠状动脉病变。计算10×10低倍镜下狭窄25%以上冠状动脉的百分比。

1.5 统计学处理

所有实验数据采用SPSS 11.0软件做统计学处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内实验前后比较用 t 检验,多组间两两比较用SNK- q 检验。

2 结果

2.1 通脉颗粒对动脉粥样硬化兔模型血脂的影响

高脂饲料喂养各组在实验3个月时,血TG、TC及LDLC均明显升高($P < 0.01$,表1,Table 1),其中通脉大剂量组升高幅度最小,通脉小剂量组其次,模型组升高最显著。

表1. 各组实验前后血脂比较($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 1. Comparison of blood lipids between pre and post experiment in the four groups

分 组	动物数	实验前			实验后		
		TG	TC	LDLC	TG	TC	LDLC
空白组	10	1.03±0.18	4.43±0.48	3.1±0.4	1.18±0.22	4.69±0.49	3.3±0.4
模型组	10	1.10±0.22	4.50±0.65	3.0±0.6	7.37±1.76 ^{ad}	40.7±8.9 ^{ad}	36.6±8.7 ^{ad}
小剂量组	10	1.03±0.15	4.21±0.47	2.91±0.44	5.39±1.51 ^{abd}	27.5±2.9 ^{abd}	24.4±3.0 ^{abd}
大剂量组	10	1.11±0.17	4.62±0.41	3.16±0.36	3.18±0.54 ^{abcd}	13.4±2.8 ^{abcd}	11.0±2.6 ^{abcd}

a为 $P < 0.05$,与空白组比较; b为 $P < 0.05$,与模型组比较; c为 $P < 0.05$,与小剂量组比较; d为 $P < 0.05$,与实验前比较。

2.2 通脉颗粒对动脉病理形态变化的影响

2.2.1 主动脉病理形态学改变 空白组主动脉正常,无一例有粥样斑块或脂质斑点,而模型组及大、小剂量组均有 As 斑块形成,但大剂量组明显减轻。大小剂量组斑块覆盖面积占整条主动脉面积的百分比模型组明显减少,而大剂量组减少尤为明显。镜检空白组主动脉内膜结构完整,内皮下无脂质沉积,无内膜增厚及 As 斑块形成,而模型组可见内膜明显增厚,有大量泡沫细胞堆积及 As 斑块形成。小剂量组有类似改变,但相对局限,大剂量组改变更轻。镜下斑块最大厚度以模型组最大,大剂量组最小,小剂量组介于两者之间,各组之间均有显著性差异,以上改变见表 2(Table 2) 及图 1(Figure 1)。

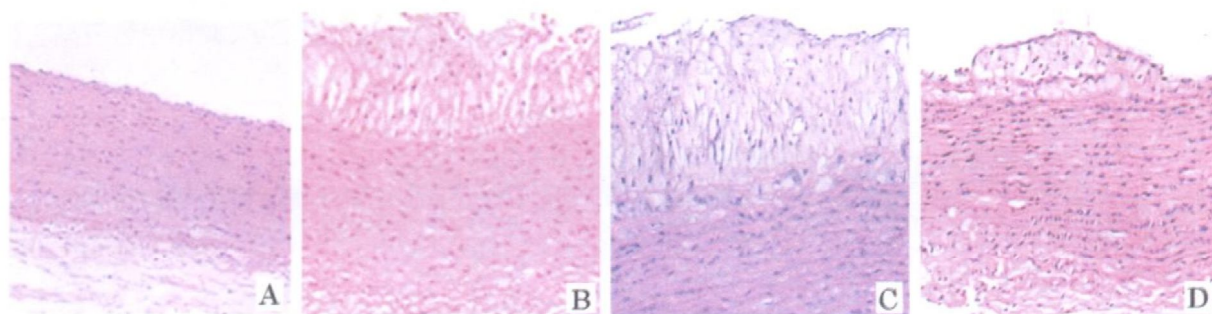


图 1. 各组主动脉病理形态改变(HE × 100) A 为空白组, B 为模型组, C 为小剂量组, D 为大剂量组。

Figure 1. Comparison of aorta artery pathological morphology in four groups

2.2.2 冠状动脉病理形态学改变 空白组动物冠状动脉正常,无粥样斑块及脂质斑点形成。其余各组可见冠状动脉内皮下有不同程度的蛋白质浸润,蛋白质内有数量不等的泡沫细胞及梭形细胞。由此形成的粥样斑块造成冠状动脉管腔不同程度狭窄,其中以模型组最明显,大剂量组最轻,而狭窄冠状动脉百分比以模型组最大,小剂量组次之,大剂量组最低,各组间有显著性差异,见表 3(Table 3) 及图 2(Figure 2)。

表 3. 各组左心室横断面狭窄冠状动脉百分比比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3. Comparison of the percentage of stenosis of the coronary artery through left ventricle transection in the four groups

分 组	动物数	狭窄冠状动脉百分比
空白组	10	0
模型组	10	41.5% ± 5.0% ^a
小剂量组	10	28.8% ± 3.8% ^{ab}
大剂量组	10	17.5% ± 2.8% ^{abc}

a 与空白组比较 $P < 0.05$; b 与模型组比较 $P < 0.05$; c 与小剂量组比较 $P < 0.05$

表 2. 各组主动脉斑块覆盖面积及斑块厚度比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Comparison of the area and the thickness of the aorta in the four groups

分 组	动物数	脂质斑块面积占主动脉面积比	斑块最大厚度 (mm)
空白组	10	0	0
模型组	10	27.1% ± 6.2% ^a	208.8 ± 24.3 ^a
小剂量组	10	19.3% ± 3.9% ^{ab}	130.6 ± 13.5 ^{ab}
大剂量组	10	12.8% ± 2.0% ^{abc}	60.2 ± 14.4 ^{abc}

a 与空白组比较 $P < 0.05$; b 与模型组比较 $P < 0.05$; c 与小剂量组比较 $P < 0.05$

3 讨论

在现代医学对冠心病的研究不断深入、治疗手段日益增多的同时,我国传统中医对冠心病心绞痛的防治仍占有极为重要的地位。冠心病心绞痛属中医“胸痹”范畴,其发生多与寒邪内侵、饮食不当、情志失调、年老体虚等因素有关,主要病机为本虚标实,本虚以心肾气阴两虚多见,标实常见气滞、血瘀、痰阻,临床表现多虚实夹杂。其治疗原则为先治其标后顾其本或根据情况兼顾同治,祛邪治疗常用活血化瘀、通阳理气、泄浊豁痰为主,扶正固本常以益气养阴、滋阴益肾为法。目前国内治疗心绞痛的方剂已有数十种之多,如冠心 iv 号、㊟号、冠心苏含丸等,这些药物主要以“通”法祛邪为主。综合文献报导,其症状缓解率 70-80% 左右,心电图有效率 60% 左右。单用“通”法祛邪虽有一定疗效,但对虚象明显者全身症状改善往往不甚满意,且疗效亦不巩固,如加用补虚药物,“通补兼施”则疗效可以提高。有观点认为,补肾不但对冠心病有治疗作用,而且有一

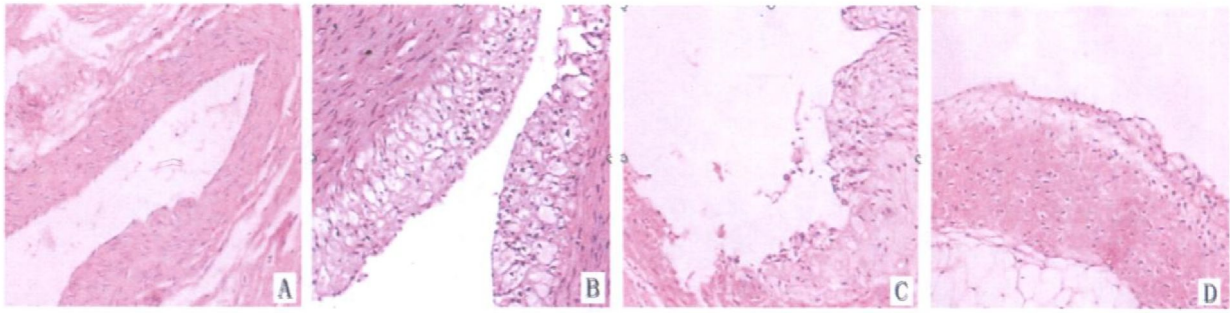


图 2. 各组主动脉病理形态改变(HE × 100) A 为空白组, B 为模型组, C 为小剂量组, D 为大剂量组。

Figure 2. Comparison of coronary artery pathological morphology in four groups

定预防作用。但查阅国内外文献,采用滋补心肾兼理气化痰法治疗心绞痛报道甚少。通脉颗粒是按“通补兼施,补肾为本”的原则组方而成,该方由制首乌 15g、红参 6g、麦冬 12g、川芎 10g、郁金 9g、枳实 9g 等 9 味中药组成。现代医学研究显示,制首乌有明显降血脂、防止粥样硬化发生发展并稳定、减退甚至消除斑块的作用^[5];红参、麦冬增加心肌营养血流量有增加心肌耐缺氧的能力^[6,7];枳实、川芎能显著增加冠状动脉血流量、抑制血小板聚集和抗血栓形成^[8-10];郁金则可有效防止自由基对心肌的损伤^[8]。可见,按西医观点,该方同样具有标本兼顾的特点:既能增加冠状动脉血流量、防止心肌损伤(标),又可降血脂、防止粥样硬化发生发展、抗血栓形成(本)。

研究表明,高脂饮食可引起动物高脂血症和动脉粥样硬化形成,且饲料中胆固醇含量愈大,血浆中胆固醇升高和动脉粥样硬化发生越快。高脂血症的形成,可增加血液凝固性,抑制纤维蛋白溶解,妨碍组织对氧的利用,使红细胞聚集,血流减慢,从而进一步促进粥样硬化的形成并增加血液粘滞度。家兔对外源性胆固醇的吸收率较高,可达 75%-90%,对高血脂清除能力很低,因此用高脂饲料很容易复制高脂血症及动脉粥样硬化模型。本研究显示:所有高脂饮食的家兔均见血甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)及低密度蛋白(LDL)明显升高以及主动脉和冠状动脉不同程度粥样硬化病变和狭窄形成,但同

时灌服通脉颗粒的动物血脂升高幅度相对较小,主动脉、冠状动脉粥样硬化病变相对较轻,狭窄冠状动脉数相对较少,且剂量越大,此作用越明显。可见通脉颗粒能明显延缓高脂饮食所致家兔高脂血症及主动脉、冠状动脉粥样硬化病变的发生发展,并进而防止或减少冠状动脉狭窄。因此我们推测,通脉颗粒治疗冠心病心绞痛的机制可能与该药降低血脂及延缓冠状动脉粥样硬化病变的发生发展等作用有关。

[参考文献]

- [1] 刘力生. 全球心血管病的发展趋势. 中华心血管病杂志, 1997, 25 (6): 407-408
- [2] 周宏研, 黎盛蓉, 王振华. 通脉汤治疗冠心病心绞痛 40 例疗效分析. 湖南医学院学报, 1977, 4: 52-54
- [3] 肖纯, 孙明, 周宏研, 钱昭昕. 通脉颗粒治疗冠心病心绞痛的临床研究. 中国现代医学杂志, 2004, 14 (9): 57-61
- [4] 张均田. 现代药理实验方法. 北京: 北京医科大学协和医科大学联合出版社, 1998: 1 266-268
- [5] 王巍, 景厚德. 制首乌醇提取物预防鹌鹑动脉粥样硬化的研究. 中西医结合杂志, 1984, 4 (12): 748-750
- [6] 陈修, 邓汉武, 刘立英. 人参皂甙对心血管系统的作用. 中华心血管病杂志, 1982, 10 (2): 147
- [7] 高广猷, 宋晓亮, 叶丽虹. 山麦冬总氨基酸对大鼠实验性心肌梗死的保持作用. 中国药理学通报, 1993, 9 (4): 281-283
- [8] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 《中华本草》. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 3 695
- [9] 陈立峰, 王瑰萱, 李群爱. 水仙甙和川芎嗪对心脏血液动力学作用的比较. 中国药理学报, 1987, 8 (2): 123-127
- [10] 吴国新, 吴锦昌, 马海涛, 阮长耿. 四甲基吡嗪对犬体外循环中血小板及动脉血栓形成的抑制作用. 中国药理学报, 1992, 13 (4): 330-333

(此文编辑 胡必利)