

[文章编号] 1007-3949(2011)19-11-0885-06

• 实验研究 •

丹酚酸 B 对高脂高糖联合介导的载脂蛋白 E 基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块稳定性的影响

郑 纺, 郭茂娟, 顾立彦, 范英昌
(天津中医药大学, 天津市 300193)

[关键词] 丹酚酸 B; 载脂蛋白 E 基因敲除小鼠; 脂核面积; 纤维帽; 斑块糜烂; 血管新生

[摘要] 目的 观察丹酚酸 B 对高脂高糖联合介导的载脂蛋白 E 基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块稳定性的影响及可能的发生机制。方法 选取 50 只 8 周龄雌性载脂蛋白 E 基因敲除小鼠, 腹腔注射链脲佐菌素 200 mg/kg 联合高脂饲料喂养 12 周, 将血糖水平 > 11.1 mol/L 的 40 只载脂蛋白 E 基因敲除小鼠随机分为模型组、丹酚酸 B 高剂量组、丹酚酸 B 中剂量组和洛伐他汀组, 每组 10 只。其中丹酚酸 B 高剂量组灌服丹酚酸 B 160 mg/(kg·d), 丹酚酸 B 中剂量组灌服丹酚酸 B 80 mg/(kg·d), 洛伐他汀组灌服洛伐他汀 2.3 mg/(kg·d), 模型组灌服等量蒸馏水, 连续灌胃 8 周。实验期满后, 取小鼠血样测空腹血糖和血脂水平; 取小鼠主动脉, 分别制备主动脉冰冻切片和石蜡包埋切片, 进行苏丹 III 染色、MASSON 染色和免疫荧光化学染色, 观察斑块内脂质中心面积和纤维帽厚度及斑块糜烂发生率和斑块内新生血管数目。结果 丹酚酸 B 高剂量组、洛伐他汀组与模型组比较空腹血糖和总胆固醇水平明显降低 ($P < 0.05$); 丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组及洛伐他汀组与模型组比较甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平明显降低 ($P < 0.05$), 而高密度脂蛋白胆固醇水平明显升高 ($P < 0.05$)。丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组与模型组比较脂质中心面积占斑块面积百分比、斑块内新生血管数目及斑块糜烂发生率明显降低 ($P < 0.01$), 纤维帽平均厚度明显增高 ($P < 0.01$)。结论 丹酚酸 B 能够提高糖尿病动脉粥样硬化斑块的稳定性, 该作用可能是通过增加平均纤维帽厚度, 降低斑块内脂质含量、斑块糜烂发生率和斑块内血管新生等方式来实现的。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effects of Salvianolic Acid B on Stability of Atherosclerotic Plaque in Apolipoprotein E Gene Knock-out Mice Treated with STZ and High Fat Diet

ZHENG Fang, GUO Mao-Juan, GU Li-Yan, and FAN Ying-Chang

(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[KEY WORDS] Salvianolic Acid B; Apolipoprotein E Gene Knock-out Mice; Lipid Core Area; Fibrous Cap; Plaque Erosion; Neovascularization

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of Salvianolic acid B (SalB) on atherosclerotic plaque stabilization in diabetic atherosclerosis animal models prepared from apolipoprotein E (ApoE) gene knock-out mice treated by intraperitoneal injection of STZ and high fat diet. **Methods** Fifty two-month female ApoE gene knock-out mice were injected with STZ and fed with high fat diet for 12 weeks. Then fasting blood glucose (FBG) level was measured and forty diabetic atherosclerosis mice were selected for the following treatment experiment. Diabetic atherosclerosis mice were randomly divided into four groups. Each group was fed with same high fat diet and intragastrically administrated with different drugs for 8 weeks, named model group (distilled water), SalB high dose group (160 mg/(kg·d)), SalB medium dose group (80mg/(kg·d)) and Lovastatin group (2.3 mg/(kg·d)). Then frozen sections and paraffin sections of mice aortas were made. The lipid core area, thickness of fibrous cap, incidence of plaque erosion and the number of neovascularization in atheromatous plaque were measured by Sudan III staining, MASSON staining and immunohistochemistry staining.

Results Compared with the model group, both the level of FBG and total cholesterol (TC) in the SalB high dose group

[收稿日期] 2010-12-15

[基金项目] 教育部高等学校博士点专项科研基金(20060063007)

[作者简介] 郑纺, 副教授, 研究方向为内分泌与代谢病的中西医基础与临床, E-mail 为 zhcnfang_1979@163.com。通讯作者范英昌, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管病的中西医基础与临床。

and Lovastatin group reduced significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, both the level of triglyceride (TG) and low density lipoprotein cholesterol (LDLC) in the SalB medium dose group, SalB high dose group and Lovastatin group reduced significantly ($P < 0.05$), whereas the level of high density lipoprotein cholesterol (HDLC) increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, lipid core area, the number of neovascularization in atheromatous plaque and the incidence of plaque erosion in the SalB medium dose group, SalB high dose group reduced significantly ($P < 0.01$), whereas average thickness of fibrous cap became thicker significantly ($P < 0.01$). **Conclusions** SalB may stabilize the diabetic atherosclerotic plaques by increasing average thickness of fibrous cap and decreasing lipid core area, incidence of plaque erosion and neovascularization in atheromatous plaque.

丹酚酸 B 作为活血化瘀中药丹参的主要有效单体,具有防治动脉粥样硬化的药理作用^[1],其机制涉及调节脂质相关代谢、保护血管内皮功能、抗脂质过氧化、抑制平滑肌细胞增殖、抗凝、促纤溶作用等方面。但丹酚酸 B 是否能干预糖尿病动脉粥样硬化(As)不稳定性斑块尚未见系统报道。为此本研究选择载脂蛋白 E 基因敲除(ApoE^{-/-})小鼠作为实验动物,在高脂高糖的联合作用下,复制糖尿病 As 小鼠模型,进而从 As 斑块的脂质含量、纤维帽厚度、斑块糜烂发生率和斑块内血管新生等方面观察丹酚酸 B 对糖尿病 As 斑块稳定性的影响及可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物、试剂与仪器

50 只 8 周龄 ApoE^{-/-} 小鼠,雌性,体重 20 ± 2 g,由北京大学医学部动物科技部从美国 Jackson 实验室引进、繁育,许可证号 SCXK(京)2006-0008。高脂饲料由军事医学科学院实验动物中心生产;链脲佐菌素(STZ)购自美国 Sigma 公司,批号 087K1403;丹酚酸 B 由天士力公司提供;洛伐他汀胶囊购自扬子江药业(国药准字 H12980272),规格每粒 20 mg;CD31 一抗工作液购自北京博奥森生物技术有限公司。RM1508 石蜡切片机、CM1900 冰冻恒温切片机和 OCT 包埋剂均为德国 Leica 有限公司产品,体视显微镜、CX31 光学显微镜均为日本 OLYMPUS 公司产品,7600-020 型全自动生化分析仪为日本 HITACHI 公司产品,Image-Pro Plus 6.0 专业图像分析系统为美国 Media Cybernetics 公司产品。

1.2 糖尿病动脉粥样硬化模型小鼠的制备

50 只 ApoE^{-/-} 小鼠普通饲料适应性喂养一周后,空腹(自由饮水)12 h,腹腔注射 STZ 200 mg/kg (STZ 用 pH4.2 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液溶解,配成 1% 的溶液,配好后 30 min 内注射)。STZ 注射结束后,恢复进食,予以 SPF 级高脂饲料喂养 12 周,期间观察小鼠状态、进水和进食量的变化。12 周后随机

处死 6 只小鼠,剥离胸主动脉下约 2 cm,立即甲醛固定,进行常规形态学检查;其余 44 只小鼠测定空腹血糖,以血糖值 > 11.1 mmol/L 为标准筛选出 40 只作为糖尿病 As 模型造模成功者^[2],纳入后续实验。

1.3 实验分组

糖尿病 As 模型组(简称模型组)10 只,洛托伐他汀组 10 只,丹酚酸 B 高剂量组 10 只,丹酚酸 B 中剂量组 10 只。各组均饲以高脂饲料,洛托伐他汀组灌服洛伐他汀 2.3 mg/(kg·d),丹酚酸 B 高剂量组灌服丹酚酸 B 160 mg/(kg·d),丹酚酸 B 中剂量组灌服丹酚酸 B 80 mg/(kg·d),洛伐他汀和丹酚酸 B 均用蒸馏水溶解。模型组给予蒸馏水灌胃。各组均连续灌胃 8 周。

1.4 血液及组织标本的采集

实验期满后,各组 ApoE^{-/-} 小鼠于空腹 12 h 后乙醚麻醉,心脏取血,血液离心 3000 r/min \times 25 min,分离血清,全自动生化分析仪测定空腹血糖(FBG)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDLC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)水平。处死各组动物,立即分离主动脉,自主动脉弓始至髂总动脉,在体视镜下纵剖后,立即用 4% 多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,间断均匀切片,切片厚度均为 5 μ m,分别作 HE 染色、MASSON 染色和免疫荧光化学染色。部分主动脉标本取出后,将其放入滴加 Leica 公司的 OCT 包埋剂的持物托上,直接放入恒温箱中冷冻切片,厚度为 10 μ m,切片后进行苏丹 III 染色。

1.5 图像分析系统检测动脉粥样硬化斑块结构指标

苏丹 III 染色和 MASSON 染色后,利用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件计算各个切面动脉粥样硬化斑块内脂质中心面积占斑块面积的百分比(脂质中心/斑块面积)、平均纤维帽厚度。

1.6 免疫荧光化学染色检测斑块糜烂发生率和斑块内血管新生

石蜡切片在 62℃ 烤箱烤 20 min 之后,二甲苯和梯度乙醇脱蜡;将切片置于 0.01 mol/L 枸橼酸钠缓冲液(pH6.0)中,100℃ 加热 5 min,修复抗原;自

然冷却后,切片置于内源性过氧化物酶封闭液中 10 min 灭活内源性过氧化物酶;5% 山羊血清蛋白封闭切片,室温孵育 15 min;滴加 CD31 单克隆抗体(1:100),4℃ 孵育过夜;滴加适量荧光标记二抗工作液(1:200),湿盒内避光孵育 45 min;滴加适量甘油封片。按照 Weidner 标准^[3],应用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统,任何被 CD31 荧光标记的亮点或亮斑都认为是一个可计数的微血管。在 400 倍视野下,每条动脉随机取斑块内 10 个视野计数,取平均值。凡斑块上内皮部位 CD31 表达阴性者为内皮细胞剥脱部位,即为斑块糜烂部位,每一条动脉数出所有斑块数及内皮细胞剥脱部位个数(即斑块糜烂部位数量),计算每组斑块糜烂发生率(内皮剥脱部位总数/斑块总数)。

1.7 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Student-Newman-Keuls 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 镜下观察染色情况

模型组镜下可见脂质斑块形成,内皮下大量脂质沉积,并见大量泡沫细胞积聚,部分斑块表面可见内皮细胞脱落,其中膜内可见内弹力板迂曲断裂,平滑肌细胞稀疏,弹力纤维排列紊乱,内膜及中膜内均见有大量胶原纤维出现。MASSON 染色可见斑块内

有大块坏死中心,有大量泡沫细胞,纤维帽较薄,纤维组织少,显示斑块不稳定。丹酚酸 B 中剂量组和高剂量组多为早中期粥样硬化,管壁厚薄较均匀,可见轻中度增厚隆起,内皮下脂质沉积,并见泡沫细胞积聚,少量斑块表面可见内皮细胞脱落,中膜较模型组厚,可见脂纹脂斑及粥样斑块期病灶,但明显少于模型组。MASSON 染色显示斑块呈稳定状态,有大量纤维结缔组织增生,部分标本可见斑块内有钙盐沉积。洛伐他汀组对主动脉组织形态的影响与丹酚酸 B 组相似,但 MASSON 染色纤维组织增生不明显。苏丹 III 染色后,模型组可见大面积红染的脂质斑块存在,有些区域可见斑块中心破溃形成粥样溃疡,丹酚酸 B 组和洛伐他汀组斑块面积均较模型组减少(图 1 和 2)。

2.2 丹酚酸 B 对血糖、血脂水平的影响

丹酚酸 B 高剂量组、洛伐他汀组与模型组比较 FBG、TC 水平明显降低($P < 0.05$),丹酚酸 B 中剂量组与模型组比较 FBG、TC 水平无统计学差异。

丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组及洛伐他汀组与模型组比较 TG、LDLC 水平明显降低($P < 0.05$);丹酚酸 B 中剂量组 TG、LDLC 水平高于丹酚酸 B 高剂量组和洛伐他汀组($P < 0.05$)。丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组及洛伐他汀组与模型组比较 HDLC 水平明显升高($P < 0.05$),丹酚酸 B 中剂量组 HDLC 水平低于丹酚酸 B 高剂量组和洛伐他汀组($P < 0.05$;表 1)。

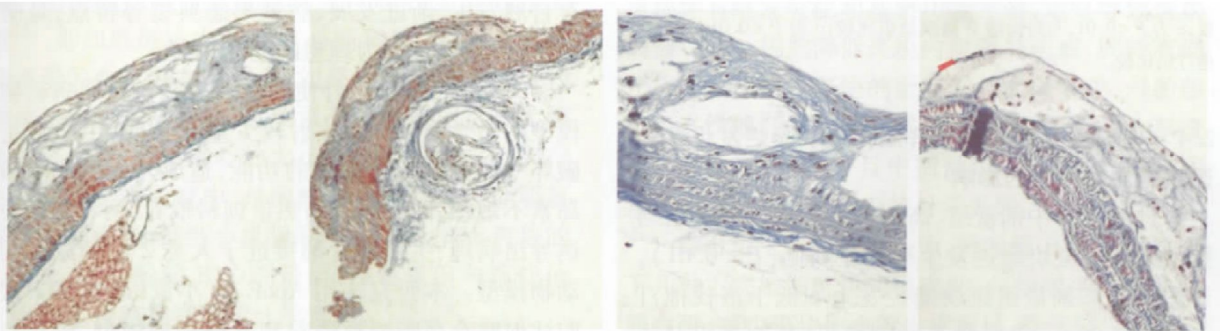


图 1. MASSON 染色(100 ×) 从左至右分别为模型组、丹酚酸 B 中剂量组、丹酚酸 B 高剂量组、洛伐他汀组。
Figure 1. MASSON staining

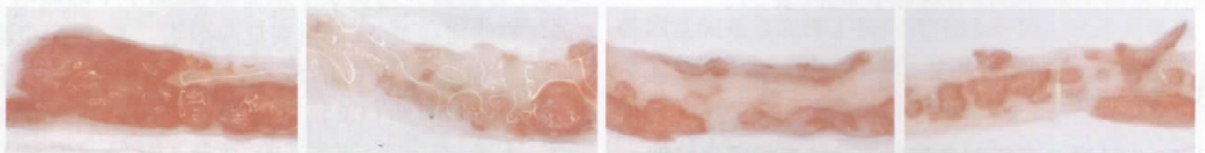


图 2. 苏丹 III 染色(50 ×) 从左至右分别为模型组、丹酚酸 B 中剂量组、丹酚酸 B 高剂量组、洛伐他汀组。
Figure 2. SudanIII staining

表 1. 丹酚酸 B 对 FBG、TG、TC、LDLC 和 HDLC 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L, $n = 10$)**Table 1. Impact of SalB on levels of FBG, TG, TC, LDLC and HDLC**

分 组	FBG	TC	TG	LDLC	HDLC
模型组	14.58 ± 1.63 ^{cd}	21.57 ± 5.16 ^{cd}	11.26 ± 4.98 ^{bcd}	10.14 ± 4.39 ^{bed}	0.39 ± 0.08 ^{bed}
丹酚酸 B 中剂量组	13.41 ± 2.97 ^{cd}	21.46 ± 9.04 ^{cd}	8.63 ± 3.42 ^{acd}	6.76 ± 1.21 ^{acd}	0.88 ± 0.36 ^{acd}
丹酚酸 B 高剂量组	10.18 ± 1.76 ^{ab}	12.11 ± 5.43 ^{ab}	4.64 ± 1.26 ^{ab}	2.98 ± 1.27 ^{ab}	1.12 ± 0.63 ^{ab}
洛伐他汀组	10.33 ± 4.53 ^{ab}	12.26 ± 5.02 ^{ab}	4.22 ± 4.05 ^{ab}	2.74 ± 1.12 ^{ab}	1.35 ± 0.69 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$, 与模型组比较; b 为 $P < 0.05$, 与丹酚酸 B 中剂量组比较; c 为 $P < 0.05$, 与丹酚酸 B 高剂量组比较; d 为 $P < 0.05$, 与洛伐他汀组比较。

2.3 丹酚酸 B 对主动脉粥样硬化斑块脂质中心面积及纤维帽厚度的影响

丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组及洛伐他汀组与模型组比较脂质中心面积占 As 斑块的百分比明显降低 ($P < 0.01$), 纤维帽厚度明显增高 ($P < 0.01$), 而丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组及洛伐他汀组间比较差异没有统计学意义 (表 2)。

表 2. 丹酚酸 B 对脂质中心面积及纤维帽厚度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)**Table 2. Impact of SalB on lipid core area and average thickness of fibrous cap**

分 组	脂质中心面积/ 斑块面积	纤维帽厚度 (μm)
模型组	41.32% ± 1.98% ^{bcd}	0.61 ± 0.08 ^{bcd}
丹酚酸 B 中剂量组	21.14% ± 3.25% ^a	1.27 ± 0.17 ^a
丹酚酸 B 高剂量组	19.53% ± 1.65% ^a	1.27 ± 0.11 ^a
洛伐他汀组	20.23% ± 2.18% ^a	1.24 ± 0.13 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与模型组比较; b 为 $P < 0.01$, 与丹酚酸 B 中剂量组比较; c 为 $P < 0.01$, 与丹酚酸 B 高剂量组比较; d 为 $P < 0.01$, 与洛伐他汀组比较。

2.4 丹酚酸 B 对动脉粥样硬化斑块糜烂发生率和斑块内血管新生的影响

丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组及洛伐他汀组与模型组比较斑块糜烂发生率明显降低 ($P < 0.01$), 丹酚酸 B 高剂量组斑块糜烂发生率低于洛伐他汀组 ($P < 0.05$)。丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组及洛伐他汀组与模型组比较新生血管数明显降低 ($P < 0.01$), 而丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组与洛伐他汀组比较新生血管数没有统计学差异 (表 3)。

3 讨 论

3.1 STZ 联合高脂制备糖尿病动脉粥样硬化模型

ApoE^{-/-} 小鼠是美国洛克菲勒大学生化遗传与代谢实验室和北卡罗莱那大学病理遗传实验室应用

表 3. 丹酚酸 B 对斑块糜烂发生率及斑块内血管新生的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)**Table 3. Impact of SalB on incidence of plaque erosion and the number of neovascularization in atheromatous plaque**

分 组	斑块糜烂发生率	新生血管数 (个)
模型组	28.26% ± 4.32% ^{bcd}	12.55 ± 1.72 ^{bed}
丹酚酸 B 中剂量组	9.32% ± 1.87% ^a	6.94 ± 1.25 ^a
丹酚酸 B 高剂量组	8.54% ± 1.35% ^a	6.47 ± 1.19 ^a
洛伐他汀	10.23% ± 2.12% ^{ac}	6.38 ± 1.60 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与模型组比较; b 为 $P < 0.01$, 与丹酚酸 B 中剂量组比较; c 为 $P < 0.05$, 与丹酚酸 B 高剂量组比较; d 为 $P < 0.01$, 与洛伐他汀组比较。

胚胎干细胞基因敲除技术于 1992 年培育成功的。这种小鼠在正常饮食下即可形成明显的高脂血症及弥漫纤维增殖性 As 损伤病灶。其所致的 As 模型是缘于遗传因素损伤, 其病变更接近于人类的 As, 具有自然发生、渐进发展、病理形态典型等特点, 是研究 As 发病机理较为理想的动物模型。

STZ 是目前国内外使用较多的制备糖尿病动物模型的化学诱导剂。注射少量 STZ 时, 由于只是破坏一部分胰岛 β 细胞的功能, 造成外周组织对胰岛素不敏感, 同时给予高热量饲料喂养, 两者结合便诱导出病理、生理改变都接近于人类 2 型糖尿病的动物模型。本研究选用 ApoE^{-/-} 小鼠, 通过 STZ 腹腔注射联合高脂饲料喂养制备糖尿病模型, 模拟目前人们的饮食结构情况下的 2 型糖尿病 As, 具有一定的新颖性, 对临床有较大的指导价值。

3.2 丹酚酸 B 对模型小鼠血糖、血脂水平的影响

高脂血症是 As 的重要危险因素。As 病变中脂质源于血浆脂蛋白的浸润, 主要为游离胆固醇 (FC)、胆固醇酯 (CE), 其次为 TG、磷脂和载脂蛋白。大量流行病学调查证明, 血浆 LDL 水平持续升高与 As 的发病率呈正相关; 而 HDL 可通过胆固醇逆向转运机制清除动脉壁的胆固醇, 将其转运至肝

代谢并排出体外。此外, HDL 有抗氧化作用, 能防止 LDL 氧化, 因此, HDL 有抗 As 作用。

Stern 等^[5] 提出糖尿病和 As 具有共同患病“土壤”的假说。在慢性高血糖情况下, 由于胰岛素作用受损, 直接影响了脂蛋白代谢的各个环节, 使脂蛋白的数量及组成发生改变, 造成脂代谢紊乱, 增加 As 的产生。在前期的模型制备研究中, 我们比较了单纯高脂组、单纯 STZ 组与模型组的血糖、血脂水平, 发现模型组血糖、血脂水平均高于单纯 STZ 和单纯高脂组, 差异有统计学意义(本文未提供数据)。说明高糖和高脂的联合作用能够加速、加重模型动物 As 斑块的形成。

本研究中, 高剂量丹酚酸 B 能降低模型小鼠 FBG、TC、TG 水平, 中剂量和高剂量丹酚酸 B 均能降低 LDLC 水平, 并提高 HDLC 水平。提示丹酚酸 B 能够通过影响血糖与血脂水平来减轻模型小鼠 As 斑块的进展。

3.3 丹酚酸 B 降低 As 斑块中脂质含量并增加 As 斑块纤维帽厚度

As 斑块由脂质核心和纤维帽组成。斑块的稳定与否主要取决于脂质核心面积的大小和纤维帽厚度。研究发现具有较大脂质核心的斑块容易发生破裂, 如果脂质核心面积超过斑块总面积 40%, 那么该斑块具有显著的不稳定性^[6]。而且由于脂质核心内部往往表达大量 TF, 所以此类斑块极易发生破裂而诱发血栓形成^[7]。另外生物力学研究发现斑块内脂质池面积与血流压力之间存在显著的相关性^[8], 即如果斑块内脂质核心面积越大, 那么该斑块承受的血流压力也越大; 如果用纤维斑块成分代替斑块内脂质核心后, 斑块承受的血流压力会大幅度下降, 表明脂质核心的大小与斑块不稳定之间存在正相关。本研究中, 丹酚酸 B 和洛伐他汀能明显降低糖尿病 As 模型小鼠脂质中心面积占 As 斑块的百分比, 而丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组与洛伐他汀组间比较差异没有统计学意义。

纤维帽覆盖在脂核表面使粥样硬化斑块与动脉管腔分割开来。不稳定性斑块纤维帽薄。许多研究认为纤维帽变薄是斑块破裂的先兆, 是易损斑块的特征^[9,10]。因此改善动脉粥样斑块纤维帽的厚度同样有助于降低斑块的不稳定性。本研究中, 丹酚酸 B 和洛伐他汀均能增加糖尿病 As 动物模型粥样硬化斑块中纤维帽厚度, 而不同剂量丹酚酸 B 和洛伐他汀间的作用没有统计学差异, 说明丹酚酸 B 在改善纤维帽的厚度从而提高 As 斑块稳定性方面与洛伐他汀效果相当。

3.4 丹酚酸 B 降低斑块糜烂发生率和斑块内血管新生

血管内皮细胞位于动脉血管腔的表面, 不仅是血流与血管壁之间的屏障结构, 而且有调节动脉血管舒缩、凝血系统平衡、血小板聚集、单核细胞黏附和促进新生血管生长等功能, 是维持血管正常功能的关键因素。内皮细胞凋亡与增殖之间的动态平衡维持着内皮细胞数量的稳定和血管的正常功能。正常的血管内皮细胞在凋亡后脱落, 由新生的内皮细胞所代替, 以保持血管内膜的完整性。As 形成过程中, 在各种致 As 因素的共同作用下, 血管内皮细胞凋亡加速; 内皮细胞的过度凋亡又促进了 As 的发生发展, 以致血管内皮细胞脱落增加, 内皮完整性受到破坏, 形成斑块糜烂, 从而加重动脉硬化斑块的不稳定性^[11,12]。因此减少内皮细胞凋亡, 降低斑块糜烂的发生率, 有助于提高动脉粥样斑块的稳定性。本研究中, 丹酚酸 B 中剂量组、高剂量组与洛伐他汀组比较斑块糜烂发生率有统计学差异, 其中丹酚酸 B 高剂量组斑块糜烂率低于洛伐他汀, 提示高剂量丹酚酸 B 较洛伐他汀更能明显降低糖尿病 As 动物模型斑块糜烂的发生率。

As 部位血管常伴有外膜和内膜新生血管形成的增加。研究发现, 不稳定型心绞痛与稳定型心绞痛的罪犯血管损害相比新生血管形成已经增加; 并且这种变薄的新生滋养血管易于发生破裂, 引起斑块内出血, 并能招募炎症细胞进入 As 斑块, 使粥样斑块伴有继发炎症和基质功能失调, 最终导致斑块破裂^[13-15]。因此降低斑块内血管的生成, 同样有助于提高动脉粥样斑块的稳定性。本研究中, 丹酚酸 B 和洛伐他汀均能明显减少糖尿病 As 模型小鼠斑块内新生血管数; 并且中剂量组、高剂量丹酚酸 B 及洛伐他汀的作用没有统计学差异。

综合以上研究我们认为, 丹酚酸 B 可能通过以下几种方式增加斑块的稳定性, 包括减少斑块内脂质含量, 减少斑块中血管生成数目, 降低斑块糜烂发生率, 增加纤维帽的厚度等, 从而减缓糖尿病 As 斑块的形成及进展。由于糖尿病 As 斑块的形成和进展是一个多因素相互作用的复杂过程, 在此过程中, 各因素间是否发挥了协同作用以及是否有还其他因素参与并发挥了调控作用, 尚有赖于进一步的深入研究。

[参考文献]

- [1] 贾娜, 项海芝, 杨松松. 丹参水溶性部分丹酚酸的进展述评[J]. 辽宁中医学院学报, 2006, 8 (3): 41-42.

- [2] Martens GW, Arkan MC, Lee J, et al. Tuberculosis susceptibility of diabetic mice [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37 (5): 518-524.
- [3] Weidner N, Semple JP, Weckh WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 1991, 324 (1): 1-8.
- [4] Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, et al. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein [J]. *Science*, 1992, 258 (5801): 468-471.
- [5] Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease: the "common soil" hypothesis [J]. *Diabetes*, 1995, 44 (4): 369-374.
- [6] Wasserman BA, Sharrett AR, Lai S, et al. Risk factor associations with the presence of a lipid core in carotid plaque of asymptomatic individuals using high-resolution MRI: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA) [J]. *Stroke*, 2008, 39 (2): 329-335.
- [7] Farb A, Burke AP, Tang AL, et al. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death [J]. *Circulation*, 1996, 93 (7): 1 354-363.
- [8] Sirol M, Moreno PR, Purushothaman KR, et al. Increased neovascularization in advanced lipid-rich atherosclerotic lesions detected by gadofluorine-M-enhanced MRI [J]. *Circ Cardiovasc Imag*, 2009, 2 (5): 391-396.
- [9] Gao H, Long Q. Effects of varied lipid core volume and fibrous cap thickness on stress distribution in carotid arterial plaques [J]. *J Biomech*, 2008, 41 (14): 3 053-059.
- [10] Ni M, Wang Y, Zhang M, et al. Atherosclerotic plaque disruption induced by stress and lipopolysaccharide in apolipoprotein E knockout mice [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 296 (5): H1 598-606.
- [11] 方丽娟, 刘乃丰. 细胞凋亡与动脉粥样硬化关系的研究进展 [J]. *东南大学学报(医学版)*, 2010, 29 (1): 107-110.
- [12] 荆涛, 王绿娅, 王伟. 血管平滑肌细胞凋亡与动脉粥样硬化及其中药防治 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003, 11 (3): 271-273.
- [13] 唐雅玲, 杨永宗. 动脉粥样硬化斑块内血管新生的研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2004, 23 (B12): 1-5.
- [14] 周晓峰, 王佐. 内皮祖细胞在动脉粥样硬化进程中的作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15 (12): 940-942.
- [15] Moreno PR, Purushothaman KR, Sirol M, et al. Neovascularization in human atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2006, 113: 2 245-252.

(此文编辑 文玉珊)