

高脂血症对兔动脉管壁血流量及氧供的影响

肖维刚<sup>1,2</sup>, 张秋艳<sup>2</sup>, 王宏涛<sup>3</sup>, 魏 聪<sup>4</sup>, 贾振华<sup>1,5</sup>

(1. 河北医科大学中西医结合教研室, 河北省石家庄市 050017; 2. 河北以岭医药研究院, 3. 河北省络病重点实验室, 4. 国家中医药管理局心脑血管络病重点研究室, 河北省石家庄市 050035; 5. 河北以岭医院心内科, 河北省石家庄市 050091)

[关键词] 高脂血症; 动脉粥样硬化; 微血管密度; 血流量; 缺氧诱导因子 1α

[摘 要] **目的** 观察高脂血症对兔动脉管壁微血管血流量及氧供的影响。**方法** 将 20 只雄性新西兰兔随机分为正常对照组和高脂饮食组, 每组 10 只, 正常对照组饲喂普通饲料, 高脂饮食组饲喂高脂饲料, 实验 4 周时留取血流样本及主动脉组织样本, 采用全自动生化分析仪测量其血脂四项水平, 彩色微球技术测量其主动脉管壁微血管血流量, 免疫组织化学染色观测其管壁微血管密度及缺氧诱导因子 1α(HIF-1α) 阳性表达, 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-qPCR)和 Western blot 测定动脉组织中 HIF-1α 的 mRNA 表达及蛋白水平。**结果** 高脂饮食组血脂四项水平均显著高于正常对照组( $P < 0.01$ ); 高脂饮食组主动脉管壁微血管血流量较正常对照组明显增加 [ $58.56 \pm 6.21 \mu\text{L}/(\text{min} \cdot \text{g})$  比  $39.17 \pm 4.47 \mu\text{L}/(\text{min} \cdot \text{g})$ ,  $P < 0.01$ ]; 高脂饮食组主动脉管壁微血管密度也显著高于正常对照组( $5.1 \pm 0.4 \text{ n}/\text{mm}^2$  比  $2.7 \pm 0.7 \text{ n}/\text{mm}^2$ ,  $P < 0.01$ ); 而两组动脉组织中 HIF-1α 的 mRNA 表达及蛋白水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 高脂血症增加了兔主动脉管壁微血管密度及微血管内的血流量, 但并不影响动脉管壁的氧供。

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

Effect of Hyperlipedemia on Rabbit Aortic Wall Blood Flow Volume and Oxygen Supply

XIAO Wei-Gang<sup>1,2</sup>, ZHANG Qiu-Yan<sup>2</sup>, WANG Hong-Tao<sup>3</sup>, WEI Cong<sup>4</sup>, and JIA Zhen-Hua<sup>1,5</sup>

(1. Teaching and Research Section of Combine Traditional Chinese and Western Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050017, China; 2. Hebei Yiling Pharmaceutical Research Institute, 3. Hebei Key Laboratory of Collateral Disease, 4. Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei 050035, China; 5. Yiling Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050091, China)

[KEY WORDS] Hyperlipidemia; Atherosclerosis; Microvessel Density; Blood Flow Volume; Hypoxia Inducing Factor-1α

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of hyperlipidemia on the microvascular blood flow volume and oxygen supply of the rabbit aortic wall. **Methods** Twenty male New Zealand rabbits were randomly divided into normal control group or high-fat diet group, 10 rabbits in each group, and were fed for 4 weeks. Blood and abdominal aorta samples were collected at the end of the study. The serum lipoprotein levels were measured by automatic biochemical analyzer, microvascular blood flow of the rabbit aortic wall was measured by color microspheres technology. Immunohistochemical staining was used to observe the microvessel density and the hypoxia condition in abdominal aorta wall. Hypoxia inducing factor-1α (HIF-1α) mRNA and protein expression of the arterial wall tissue were detected respectively by Western blot and Real-time fluorescent quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR). **Results** Serum lipoprotein levels in high-fat diet group were increased significantly compared to normal control group (all  $P < 0.01$ ). Color microspheres test result showed the microvascular blood flow of the aortic wall in high-fat diet group was significantly higher than that in the normal control group [ $58.56 \pm 6.21 \mu\text{L}/(\text{min} \cdot \text{g})$  vs.  $39.17 \pm 4.47 \mu\text{L}/(\text{min} \cdot \text{g})$ ,  $P < 0.01$ ], and the wall microves-

[收稿日期] 2014-02-19  
[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划) 项目(2012CB518606)  
[作者简介] 肖维刚, 博士, 副主任医师, 研究方向为中西医结合防治心脑血管病, E-mail 为 xiaoyan144@163.com。张秋艳, 硕士, 副主任医师, 研究方向为心脑血管药理学。通讯作者贾振华, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为中西医结合防治心脑血管病, E-mail 为 jiatcm@163.com。

sel density in high-fat diet group was also significantly higher than that in the normal control group ( $5.1 \pm 0.4 \text{ n/mm}^2$  vs.  $2.7 \pm 0.7 \text{ n/mm}^2$ ,  $P < 0.01$ ), as HIF-1 $\alpha$  expression also had no obvious changes in protein and mRNA levels ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Hyperlipidemia increases the microvessel density and microvascular blood flow volume of the rabbit aortic wall, but does not affect the oxygen supply.

高脂血症是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 形成的独立危险因素之一,与心脑血管疾病的发生发展密切相关,调控血脂也已经成为临床上控制心脑血管疾病最常用的和最基本的治疗措施之一<sup>[1]</sup>。作为血液运行的通道,动脉的结构和功能正常与否直接关系到血液在血管内的正常运行。研究表明,弹性动脉和肌性动脉的内膜及中膜内 1/3 的营养供给来自于管腔内部的直接弥散,而中膜外 1/2 至 2/3 区域的营养来自于管壁外膜上的滋养血管<sup>[2,3]</sup>。稳定的血氧供给是动脉管壁保持其自身内环境稳态和营养代谢平衡的关键。我们前期研究发现,高脂血症明显降低了微循环内的血流速度<sup>[4]</sup>,但高脂血症是否影响动脉管壁自身的血流量及氧供,我们却不得而知,目前国内外有关此方面的研究也相对较少。本研究通过彩色微球技术、免疫组织化学和分子生物学方法观察高脂血症对动脉管壁微血管内血流量以及氧供的影响,以探讨动脉粥样硬化早期病变的发病机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂和仪器

胆固醇购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司,批号 28910460;血脂四项试剂盒购自北京九强生物技术有限公司;DYE-TRAK 彩色微球购自美国 Triton Technology 公司,批号 15TB0911;CD34 兔多克隆抗体购自英国 Biorbyt 公司,批号 A8349;缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia inducing factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 抗体购自英国 Abcam 公司,批号 GR112531-1;兔 SP 检测试剂盒和 DAB 显色试剂盒均购自北京中杉金桥公司,其余试剂均为国产分析纯;PCR 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;实时荧光定量逆转录聚合酶链反应 (RT-qPCR) 试剂盒、SYBR Green I (加拿大 BBI 公司);7080 全自动生化分析仪 (日本日立公司);756 型紫外分光光度计 (美国 Thermo Fisher 公司);ABI 7300 Real-Time PCR System (美国 ABI 公司);DM6000B 型全自动生物显微镜 (德国 Leica 公司)。

### 1.2 实验动物及分组

普通级雄性新西兰兔 20 只,体重  $2.0 \pm 0.2 \text{ kg}$ ,

购于北京富豪实验动物养殖中心,动物许可证编号为 SCXK(京)2010-0010,单笼饲养。每天昼夜节律各 12 h,温度  $20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ ,相对湿度 40% ~ 70%。适应性喂养 2 周后,随机分为正常对照组和高脂饮食组,每组 10 只,两组动物的体重无显著性差异 ( $P > 0.05$ ),正常对照组继续饲喂普通饲料,高脂饮食组改喂高脂饲料 (胆固醇 1%,蛋黄粉 7.5%,猪油 5%,基础饲料 86.5%)。每只兔每日喂食 100 g,分两次喂饲,自由饮水,实验周期为 4 周。

### 1.3 血脂水平检测

取材前禁食 12 h,耳缘静脉收集血样,采用日立 7080 全自动生化分析仪检测血脂四项水平:总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 及低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC)。

### 1.4 彩色微球测量管壁微血管血流量

1.4.1 测量原理 将直径为  $15 \mu\text{m}$  的彩色微球从动物的左心室注入后,可随体循环播散至全身各个组织器官并嵌顿于微血管内,经过组织处理后将待测器官或组织中嵌顿的彩色微球回收,再以有机溶剂将彩色微球表面附着的有机染料洗脱收集,紫外分光光度计检测吸光度值以计算待测组织器官的微循环血流量。

1.4.2 测量方法 用 3% 戊巴比妥钠 ( $30 \text{ mg/kg}$ ) 耳缘静脉麻醉后,行右侧腹股沟插管 (导管内预先充满 50 kIU/L 的肝素生理盐水,另一端与 1 mL 注射器相连)。然后沿正中中线小心剪开胸骨,打开心包,暴露心脏,将  $500 \mu\text{L}$  含有  $1.2 \times 10^6$  个黄色微球 (最大吸光度波长 448 nm) 的悬浮液直接注射至左心室 (10 s 内注射完毕),在黄色微球注射前 5 s 放开股动脉插管持续采血 1 min (肝素抗凝)。随后立即处死动物,迅速取出主动脉 (由主动脉弓至髂动脉分支处),部分置入 10% 中性福尔马林溶液中,留做免疫组织化学染色;部分置入液氮中以备分子生物学检测;剩余称重后置入 15 mL 聚丙烯离心管中,计算血液样本及组织样本重量。具体操作方法严格按照说明书进行,利用 Triton Technology 公司提供的 Excel 宏文件 (Triton1 Plus Control) 计算各组织样本中管壁微血管血流量值。

1.5 病理学及免疫组织化学检查

固定后的动脉组织标本经脱水、包埋等处理后制成厚4 μm切片,分别进行苏木精-伊红染色(HE染色)和免疫组织化学染色。免疫组织化学染色采用SP法,切片再经脱蜡、修复、孵育、封闭后,分别滴加CD34(1:300)和HIF-1α(1:50)一抗工作液,并以PBS代替一抗作为阴性对照,4℃孵育过夜。PBS冲洗后,滴加二抗工作液,37℃孵育30 min。按照说明书使用DAB试剂显现免疫组织化学染色。苏木素核复染、中性树胶封片后进行光镜下观察。参考文献[5,6],在光学显微镜下计算管壁微血管密度值。

1.6 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应检测 HIF-1α mRNA 表达

从液态氮中取出冷冻组织样本,匀浆机充分匀浆,Trizol 试剂提取总 RNA。用紫外分光光度计检测总 RNA 完整性及纯度,并用 M-MLV 逆转录酶系统和随机引物逆转录。以 GAPDH 作为内参照基因,分别与各组相比,得到目的基因表达的相对定量值(RQ 值),将 RQ 值用于统计分析。GAPDH 引物上游 5'-AGA GAT TGT GCG GGA TGT C-3',下游 5'-CCA GTG AGG AAG ATG CTG CT-3';HIF-1α 引物上游 5'-CCT GCC TCT GAA TCT CCA A -3',下游 5'-AGA AGG ACT TGC TGG CTG A-3'。PCR 热循环条件参数:首次 96℃ 4 min,然后经 94℃ 30 s,58℃ 30 s,72℃ 30 s 三步,循环数为 40 次,在每个循环的第三步即 72℃ 30 s 时收集荧光信号。

表 1. 两组血脂水平比较( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

Table 1. Changes of serum lipids in the two groups ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

分 组	<i>n</i>	TC	TG	HDLC	LDLC
正常对照组	10	3.1 ± 0.9	0.82 ± 0.23	0.77 ± 0.16	1.60 ± 0.62
高脂饮食组	9	41.6 ± 7.3 <sup>a</sup>	3.10 ± 0.96 <sup>a</sup>	2.81 ± 0.75 <sup>a</sup>	25.82 ± 6.12 <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.01$ ,与正常对照组比较。

2.3 主动脉管壁微血管血流量及微血管密度比较

彩色微球结果显示,与正常对照组相比,高脂饮食组主动脉管壁微血管血流量明显增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ;表 2);免疫组织化学染色显示,高脂饮食组 CD34 阳性标记的管壁微血管密度也显著高于正常对照组( $P < 0.01$ ;图 1 和表 2)。

2.4 主动脉 HE 染色及管壁 HIF-1α 免疫组织化学分析

HE 染色显示,正常对照组动脉内膜光滑完整无增生,中膜平滑肌细胞排列整齐,高脂喂养 4 周后动脉内膜明显增厚,内皮层下可见大量泡沫细胞形

1.7 Western blot 检测 HIF-1α 蛋白表达

组织匀浆液制作方法同上,加入细胞裂解液充分裂解 20 min,4℃、8000 r/min 离心 10 min,收集上清。取等量蛋白样品进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,与 HIF-1α(1:1000)一抗结合,4℃缓慢摇动过夜。然后加入适当的辣根过氧化物酶标记的二抗溶液,抗体结合区带用化学发光法检测,以 β-actin 作为内参照,以各组产物吸光度值与 β-actin 吸光度值的比值作为各组的相对吸光度值进行统计分析。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组样本间比较用  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 动物一般情况

实验过程中,正常对照组兔全部存活,高脂饮食组兔死亡 1 只。所有动物均动作灵活、反应灵敏,毛色白有光泽;实验后期高脂饮食组兔进食略差,但每日均能进食完所投放的饲料。

2.2 血脂水平比较

与正常对照组相比,高脂饮食组血清 TC、TG、LDLC 及 HDLC 水平在高脂喂养 4 周时均明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ;表 1)。

成,中膜平滑肌细胞排列紊乱;HIF-1α 免疫组织化学染色显示,高脂饮食组与正常对照组比较无明显差异(图 2)。

表 2. 两组主动脉管壁血流量及微血管密度比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2. Comparison of aortic wall microvascular blood flow volume and microvascular density in the two groups( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	<i>n</i>	微血管血流量 [μL/(min·g)]	微血管密度 (n/mm <sup>2</sup> )
正常对照组	10	39.17 ± 4.47	2.7 ± 0.7
高脂饮食组	9	58.56 ± 6.21 <sup>a</sup>	5.1 ± 0.4 <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.01$ ,与正常对照组比较。



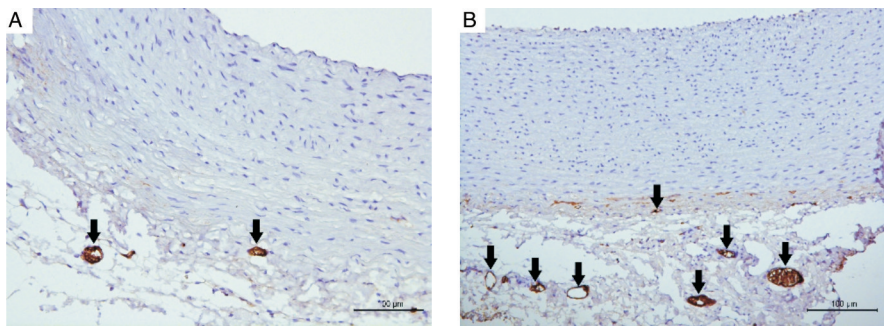


图 1. 主动脉管壁微血管密度(×200) A 为正常对照组,B 为高脂饮食组,箭头所示为 CD34 抗体标记阳性的管壁微血管。  
Figure 1. Microvessel density of the aortic wall (×200)

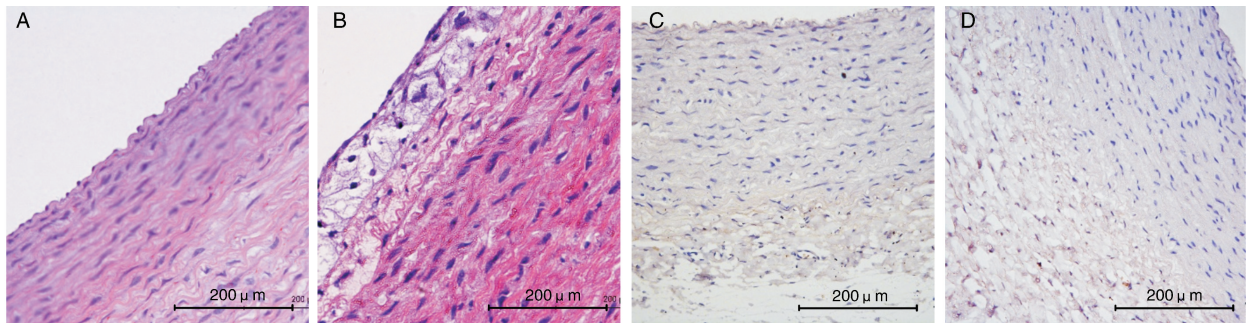


图 2. 主动脉 HE 染色(×400)及管壁 HIF-1α 免疫组织化学染色(×200) A 和 C 为正常对照组,B 和 D 为高脂饮食组。  
Figure 2. HE staining (×400) and HIF-1α immunohistochemical staining (×200) of the rabbit aortic wall

2.5 动脉组织 HIF-1α mRNA 和蛋白表达水平

高脂饮食组动脉组织中 HIF-1α mRNA 表达水平与正常对照组比较无显著性差异( $1.01 \pm 0.23$  比  $1.03 \pm 0.20$ ,  $P > 0.05$ );且高脂饮食组动脉组织中 HIF-1α 蛋白表达水平与正常对照组比较也无显著性差异( $0.66 \pm 0.17$  比  $0.59 \pm 0.13$ ,  $P > 0.05$ ;图 3)。

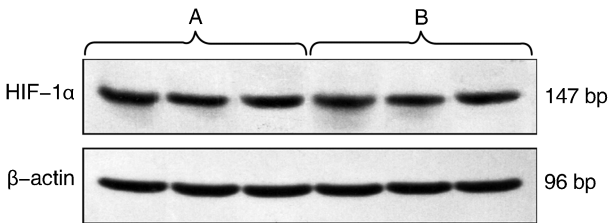


图 3. 两组 HIF-1α 蛋白表达水平比较 A 为正常对照组, B 为高脂饮食组。  
Figure 3. The protein expression of HIF-1α in the two groups

3 讨论

动脉粥样硬化被普遍认为是多发于大中动脉上的一种多因素参与的慢性炎症性病理过程<sup>[7]</sup>,涉及脂质沉积、炎症、氧化应激、血管新生等多个病理

环节<sup>[8-10]</sup>,并与高血压、高血糖、年龄等多种危险因素有关。高脂诱发 As 早期病变模型比较符合自然状态下人类 As,多继发于高脂血症的发病特点,以往许多有关 As 的研究也是基于高脂血症动物模型<sup>[11,12]</sup>。在本研究中,我们也采用此种方法,并在高脂饮食组动物主动脉内膜下观察到有泡沫细胞形成,符合美国心脏协会于 1995 年制定的 As 初始阶段的病变特点<sup>[13]</sup>,同时也发现其管壁微血管血流量及微血管密度均明显高于正常,而管壁上 HIF-1α 的 mRNA 和蛋白表达水平却没有发生明显变化。提示在高脂饮食诱发的 As 初始阶段,存在管壁微血管增生和微血流过度灌注,但缺氧并不明显。

血脂作为血液的组分之一,虽然是生命细胞基础代谢的必需物质,但过高的血脂水平对人体危害更大。它不仅可以使大量白细胞活化,引发炎症瀑布反应,损伤微血管内皮细胞,激活细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule, ICAM)和单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein, MCP),从而导致微循环障碍,而且还可以减缓微循环内的血流速度<sup>[4]</sup>,进而影响微循环灌注,破坏管壁内环境稳态。微血管内的血流量是反应微循环功能状态的指标之一,正常情况下,微循环血流量与组织器官的代谢水平相适应,并依赖自身的舒缩

功能调节回心血量,管壁微血管发生病变时,势必会影响到管壁自身的物质代谢及能量转换平衡,出现有害物质的入侵和代谢毒物的蓄积,进而引发管壁病变。本研究结果显示高脂饮食组血清 HDLC 显著高于正常对照组似乎有悖于常理,其原因可能与 HDL 的氧化修饰及肝脂酶表达减少有关<sup>[14]</sup>。

以往研究发现, HIF-1 $\alpha$  是反应缺氧的重要指标,它可以上调血管内皮生长因子( vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,继而促进血管新生。比如在缺血性心血管病或脑血管病发生以后,因局部缺氧而引起 VEGF 表达升高,进而促进了血管新生,改善了局部血液和氧的供给。但本研究结果显示高脂诱发的 As 早期病变管壁组织中 HIF-1 $\alpha$  的 mRNA 和蛋白的表达水平均没有发生明显变化,说明 As 病变在此阶段的管壁微血管新生机制可能与缺氧无关。正常情况下,管壁微血管数量相对恒定,维持着管壁本身血流量及氧供的平衡,管壁缺氧时代偿性血管新生固然是有利的,但非缺氧性血管新生无疑增加了炎性物质和氧化产物的侵入以及脂质在局部的蓄积,这更增加了 As 病变向更高阶段发展的风险<sup>[10]</sup>。

随着生物医学工程技术的进步,微球技术已成为目前应用最广泛且较为精确的局部血流测定方法<sup>[15]</sup>。采用不同颜色染料标记的彩色微球,其理化性质稳定,不会引起弥散性微循环栓塞,也不会被机体溶解吸收,注入血液循环以后,微球会随血流到达毛细血管网,并滞留于毛细血管网内,提取组织中的染料并通过分光光度计测定,运用相关公式可以计算出当时局部组织的血流量。该技术一般多用于脑、心、肝、肾等组织器官的血流量测定,而在测定动脉管壁微血流量方面国内外鲜有报道。我们采用这一技术观测了高脂血症对兔动脉管壁血流量的影响,扩展了这一技术的应用范围,希望能为有关动脉管壁的血供研究提供参考。

必须承认本研究在设计和方法上还存在一些局限性,比如,我们只观察了高脂血症兔 4 周时管壁微血管血流量及 HIF-1 $\alpha$  的变化,而没有进行连续性观察。随着 As 病变的进一步发展,比如管壁的增厚和氧耗的增加,缺氧状况也可能会很快出现。此外,因为物种的差异,或因血管床不同,管壁微血管血流量及 HIF-1 $\alpha$  的表达可能会出现不同的变化。因此,在未来的研究中,本研究的结果还需在不同血管床及不同种属的动物模型上进行验证,我们下一步的研究工作也将就此展开。

总之,高脂血症引起了 As 早期阶段管壁微血管

新生,导致了管壁内微血管血流量和内皮交换面积的增加,增加了脂质沉积和炎性因子的入侵,进而促进了 As 的发生发展。因此,减少 As 早期阶段管壁的过度灌注,抑制动脉管壁微血管新生,可能会在一定程度上减少脂质在管壁上的沉积,减少炎性物质和氧化产物的侵入,进而减轻 As 的发生发展。

[参考文献]

[1] Stone NJ, Robinson J, Lichtenstein AH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines[J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63 (25PtB): 2 889-934.

[2] 刘录山, 杨永宗. 动脉壁血管发生与动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8 (2): 182-184.

[3] Kumar V, Robbins SL. Robbins basic pathology. 8th ed [M]. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2007, ISBN: 978-1-4160-2973-1, P340-P341.

[4] 肖维刚, 张秋艳, 郎艳松, 等. 通心络对高脂血症兔甲襞微循环血流速度的影响[J]. 微循环学杂志, 2013, 23 (4): 8-11.

[5] Tonar Z, Kural T Jr, Kochova P, et al. Vasa vasorum quantification in human varicose great and small saphenous veins[J]. Ann Anat, 2012, 194 (5): 473-481.

[6] 褚海波, 严菲, 王涛, 等. 含血栓的曲张大隐静脉管壁滋养血管分布与定量研究[J]. 中华普通外科学文献(电子版), 2012, 6 (2): 114-117.

[7] Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease[J]. N Engl J Med, 1999, 340: 115-126.

[8] 赵水平. 血脂与动脉粥样硬化及其干预新动向[J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17 (3): 169-171.

[9] 陈瑗, 周玫. 氧化应激-炎症在动脉粥样硬化发生发展中作用研究的新进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16 (10): 757-762.

[10] Moreno PR, Purushothaman KR, Sirol M, et al. Neovascularization in human atherosclerosis[J]. Circulation, 2006, 113: 2 245-252.

[11] 王晓杨, 毛宇飞, 张志琴, 等. 桑葚提取物对实验性兔动脉粥样硬化形成过程中细胞间黏附分子 1 表达的影响[J]. 老年学杂志, 2011, 31 (6): 1 009-012.

[12] 文伟明, 雷敏, 徐戈, 等. 烟酸对实验性动脉粥样硬化兔主动脉骨桥蛋白表达的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21 (2): 149-153.

[13] Sary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association [J]. Circulation, 1995, 92: 1 355-374.

[14] 赵德强, 王大英, 于宏梅, 等. 益气活血化痰方对高脂血症兔血脂及高密度脂蛋白亚型调节的实验研究[J]. 上海中医药杂志, 2012, 46 (4): 73-75.

[15] 沈伟, 范维琥, 施海明. 微球技术在血管新生研究领域中的应用进展[J]. 心血管病学进展, 2007, 28 (5): 763-766.