

文章编号: 1672-2019(2008)01-0009-04

· 论著 ·

脑安软胶囊抑制高脂兔动脉粥样硬化的作用及其机制

刘克清

(湖南岳阳职业技术学院, 湖南 岳阳 414000)

摘要: 目的 探讨脑安软胶囊对动脉粥样硬化兔模型血管重建的影响及其可能的机制。方法 高脂饲料(1%胆固醇+5%猪油+5%蛋黄粉+89%基础饲料)12周致家兔动脉硬化,利用计算机图像分析系统观察动脉粥样硬化血管形态学的改变。给予脑安软胶囊[40 mg/(kg·d)]治疗12周,观察脑安软胶囊对动脉粥样硬化血管的保护作用及对血流的影响;利用³H-胸腺嘧啶掺入率探讨脑安软胶囊对内皮细胞增殖的影响。结果 高脂饲养12周后,颈动脉血管内膜明显增厚,并伴有颈动脉血流速度下降。脑安软胶囊[40 mg/(kg·d)]治疗能明显改善动脉粥样硬化兔颈动脉的血流速度,抑制高脂所致血管内膜增厚。体外培养的内皮细胞还发现,模拟体内血流减慢诱导内皮细胞过度增殖,脑安软胶囊预先孵育6h可抑制由流速降低所致内皮细胞的过度增殖。结论 脑安软胶囊能明显抑制高脂所致的内膜增厚,对高脂饲料导致的动脉粥样硬化具有保护作用,脑安软胶囊这种保护作用可能与其改善血流速度的作用有关。

关键词: 脑安软胶囊;动脉粥样硬化;血管重建

中图分类号: R543.12

文献标识码: A

Effect of Naoan capsule in development of atherosclerosis in high-fat diet rabbits

LIU Ke-qing

(Yueyang Vocational Technical College, Yueyang, Hunan 414000, P.R.China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of Naoan capsule on the development of atherosclerosis in high-fat diet rabbit and its possible mechanisms. **Methods** Male new Zealand rabbits were assigned to three groups at random: control group, high-fat diet group and high-fat diet group treated with Naoan capsule [40 mg/(kg·d)]. The blood flow velocities were obtained by means of ultrasonography Doppler. Cultured bovine endothelial cells were harvested and the proliferation status of endothelial cells under lower shear stress in a parallel-plate flow chamber was determined by ³H-thymidine incorporation analysis. **Results** Naoan capsule treatment markedly prevented the development and processing of atherosclerosis in high-fat diet rabbits, which was accompanied by the elevation of the blood flow velocities. Furthermore, the proliferation of endothelial cells under the 5 dynes/cm² shear stress were increased, which was inhibited by the pre-incubation of Naoan capsule. **Conclusion** These results suggest that Naoan capsule can protect the vessel damage in vivo, and the beneficial effect of Naoan capsule may relate to its effort to propel the circulation.

Key words: Naoan capsule; atherosclerosis; vascular remodeling

脑安软胶囊(由川芎、当归、红花、人参和冰片5味中药组成)是根据传统中药补阳还五汤的组方,结合二氧化碳超临界萃取现代制药工艺而开发的国家级新药。最近研究发现,该药具有活血化淤、改善

脑血管功能的作用,是脑血管疾病预防和治疗的有效药物^[1]。生理状态下,血管是通过细胞分裂、增殖、细胞主动死亡之间的动态平衡实现的,这种平衡一旦破坏,可导致血管结构与功能的重建^[2,3]。最近国

收稿日期: 2007-08-04

外学者发现,流速减慢(切应力为 5 dynes/cm²时)作用于血管内皮细胞,可使细胞过度增殖,破坏了机体细胞的稳态,从而促进动脉粥样硬化的发生和发展^[4,5],但脑安软胶囊活血化淤、改善脑血管功能的作用是否与此有关,尚未见文献报道。为探讨脑安软胶囊的保护机制,本实验利用多普勒检测各组颈动脉血流速度,并采用低切应力诱导体外血管内皮细胞增殖和凋亡异常,试图从细胞水平阐述脑安软胶囊抑制动脉粥样硬化血管重建的内在机制,为活血化淤中药防治动脉粥样硬化血管重建提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 一般材料

1.1.1 动物 成年健康新西兰纯种大耳白兔 15 只,雄性,体重 2.0~2.5 g,3~4 个月龄,由中国科学院上海药物所实验动物中心提供。

1.1.2 药物 脑安软胶囊:上海祥鹤制药厂提供,由川芎、当归、红花、人参和冰片 5 味中药组成。

1.1.3 仪器 显微镜-微机彩色图像处理系统(BHEC 型,北京惠中公司产品),低温离心机(JJ-6R,Beckman),UV-755B 可见光分光光度计(上海分析仪器总厂),平行平板流动腔(上海理工大学研制开发)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组 动物随机分为 3 组,每组 5 只:正常组饲普通颗粒饲料;模型组饲高脂饲料(1%胆固醇+5%猪油+5%蛋黄粉+89%基础饲料);药物组喂以高脂饲料的同时,另予脑安软胶囊(上海祥鹤制药厂,批号 040821) 40 mg/(kg·d)灌胃。动物分笼喂养,每日进食量限制为 100 g/只,饮水不限,定期测体重,实验共 12 周。

1.2.2 观察项目及检测方法

颈动脉血流变化及血管形态学测定 实验开始前采用超声多普勒(上海麦登医疗器械公司)记录各组兔颈动脉最大流速(V_{max})、平均流速(V_{mean})和最小流速(V_{min})。实验结束时(第 12 周)在检测各组颈动脉血流后,取胸主动脉起始部约

0.5 cm 处的动脉组织,4%多聚甲醛固定标本,制成石蜡切片,经 HE 染色,形态学分析采用显微镜-微机彩色图像处理系统进行。测量参数包括:血管斑块面积及最大内膜中膜厚度。

血生化指标测定 实验结束时,各组动物由兔耳中央动脉抽血(空腹)检测血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、脂质过氧化产物丙二醛和超氧化物歧化酶(SOD),均采用酶法测定。

细胞增殖的测定 取新生牛胸主动脉内皮细胞,用 0.5%和 1%不同浓度脑安软胶囊预孵育 6 h,将其置于切应力反应模拟测试装置的平行平板流动腔中^[6]。模拟体内动脉粥样硬化处血流情况给予 5 dynes/cm²切应力作用 12 h,在 0、4、8 和 12 h 不同时间点收集细胞。取 1×10⁶ 内皮细胞置于 96 孔培养板,再加 74 kBq ³H-胸腺嘧啶(特异活性为 8.14×10¹² Bq/mol;中科院上海原子核研究所提供),分析脑安软胶囊对低切应力作用的内皮细胞 ³H-胸腺嘧啶掺入率的影响。

1.3 统计学处理

所有数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS10.0 软件包进行组间 t 检验,以双侧 P<0.05 认为差异有显著性。

2 结果

2.1 脑安软胶囊对兔血清生化指标的影响

结果显示:模型组与正常组血脂含量差异有显著性(P<0.01),脑安软胶囊能明显降低兔血清中 TC、TG、LDL 的含量,较模型组差异有显著性。本实验还发现,模型组体内脂质过氧化产物丙二醛(MDA)水平明显升高,并伴有 SOD 活性的显著下降;脑安软胶囊能逆转高脂所致的 MDA 水平的上升和 SOD 活性的下降,见表 1。

2.2 脑安软胶囊对兔血管重建的影响

光学显微镜下,正常组胸主动脉管腔未见异常改变,内皮细胞完整,单层紧贴内弹力板,中层平滑肌细胞排列整齐。模型组动物胸主动脉内皮细胞缺

表 1 脑安软胶囊对各组实验兔血清中生化指标的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	TG (mmol/L)	TQ (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)	MDA (μmol/L)	SOD (mmol/L)
对照组	1.78±0.13	0.82±0.10	0.81±0.09	0.41±0.06	8.43±1.23	198.10±10.79
模型组	20.20±1.48 ²⁾	1.36±0.29 ²⁾	0.74±0.14	15.78±1.99 ²⁾	16.63±1.80 ²⁾	151.10±11.92 ²⁾
给药组	14.92±2.75 ²⁾⁴⁾	0.98±0.23 ¹⁾⁴⁾	0.79±0.26	9.51±1.14 ²⁾⁴⁾	11.03±2.04 ²⁾⁴⁾	187.10±8.36 ⁴⁾

注:与正常组比较,1) P<0.05, 2) P<0.01;与模型组比较,3) P<0.05, 4) P<0.01

损, 内膜增生严重, 管腔表面不光滑, 管腔明显变窄而大小不规则, 内膜出现大量充满脂质空泡的泡沫细胞, 有的泡沫细胞极度膨大, 呈气球样改变, 并可见脂肪坏死中心; 中膜亦可见不规则增厚, 并有少量泡沫细胞浸润, 平滑肌细胞排列紊乱。药物组动脉内皮缺损面减少, 内膜增厚较高脂组明显减轻, 泡沫细胞减少, 见图 1。对血管重构和内膜增殖指标进行量化分析, 模型组斑块面积和内膜 - 中层厚度与正常组比较差异显著 ($P < 0.01$), 但药物组兔主动脉斑块面积和内膜 - 中层厚度均较模型组有明显减小 ($P < 0.01$), 见表 2。

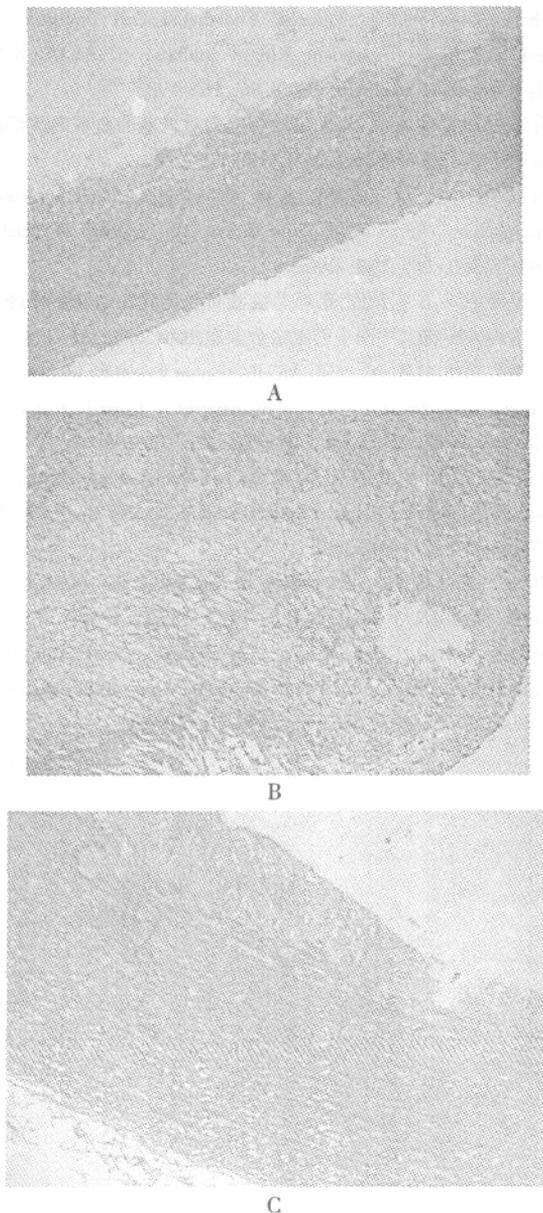


图 1 各组 AS 兔胸主动脉 HE 染色结果比较 ($\times 200$)

A. 正常组; B. 模型组; C. 药物组

表 2 脑安软胶囊对各组实验兔斑块面积和内膜 - 中层厚度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	斑块面积 (%)	内膜 - 中层厚度 (μm)
正常组	0	3.26 ± 0.34
模型组	$42.00 \pm 9.69^{1)}$	$14.18 \pm 0.59^{1)}$
药物组	$27.29 \pm 7.58^{1) 2)}$	$8.47 \pm 0.46^{1) 2)}$

注: 与正常组比较, 1) $P < 0.01$;

与模型组比较, 2) $P < 0.01$

2.3 脑安软胶囊对兔颈动脉血流的影响

实验前各组兔颈动脉血流速度没有明显差异。高脂饲养 12 w 时, 模型组兔颈动脉的 V_{\max} 、 V_{\min} 显著低于对照组 ($P < 0.05$), 脑安软胶囊能明显减缓颈动脉血流速度的降低, 见表 3。

表 3 脑安软胶囊对各组实验兔颈动脉血流的影响

组别	最大流速	平均流速	最小流速
正常组	33.28 ± 3.50	16.34 ± 2.88	11.35 ± 2.06
模型组	$23.11 \pm 2.86^{1)}$	$12.51 \pm 1.88^{1)}$	$6.32 \pm 1.17^{2)}$
药物组	$26.32 \pm 1.52^{3)}$	$14.51 \pm 2.17^{3)}$	$8.47 \pm 1.21^{4)}$

注: 与正常组比较, 1) $P < 0.05$;

与正常组比较, 2) $P < 0.01$;

与模型组比较, 3) $P < 0.05$;

与模型组比较, 4) $P < 0.01$

2.4 脑安软胶囊对内皮细胞增殖和凋亡的影响

体外培养的内皮细胞增殖能力随着时间的增加而明显下降, 表现为 ^3H - 胸腺嘧啶掺入率随时间下降, 低切应力 (5 dynes/cm^2) 作用内皮细胞可明显诱导内皮细胞增殖, 脑安软胶囊预孵育 6 h, 再给予内皮细胞低切应力作用, 能逆转低切应力诱导的内皮细胞的增殖异常, 并呈剂量依赖性。

3 讨论

血管重建是指机体在生长、发育、衰老和疾病过程中, 血管为适应体内外环境的变化而发生的形态结构和功能的改变。动脉粥样硬化过程中, 血管重建主要表现为血管壁细胞增殖、肥大、细胞内膜增厚等改变^[6,7]。本研究在体内实验也证实, 用高脂饲养正常兔 12 周后, 血清中血脂成分明显升高, 形态学检查胸主动脉发现血管内皮细胞明显损伤, 血管内膜增厚, 管腔表面不光滑, 管腔明显变窄而大小不规则, 内膜出现大量充满脂质空泡的泡沫细胞。最近 FUNG 等人研究证实, 血液流动产生的切应力及其累加效应作用于内皮细胞, 可引起血管壁组织重构, 从而影响动脉粥样硬化的发生、发展和病程转归^[8]。本实验研究证实, 高脂饲养 12 周后, 模型组兔颈动

脉的 V_{max} 、 V_{min} 显著低于对照组,提示血流减慢可能与动脉粥样硬化的进程密切相关。

脑安软胶囊由活血化瘀中药川芎、当归和红花等组成,方中川芎能“上行头目,下调经水,中开郁结”,为血中气药,具有祛风止痛、活血通脉、畅达气血之功效;当归为补血药,其味甘平,性温。红花味辛,性温,具有活血通经、消肿止痛等作用。以往研究表明,脑安软胶囊具有改善脑供血,抗血小板聚集和抗血栓形成等药理作用^[1]。本实验发现,模型组兔颈动脉的 V_{max} 、 V_{min} 显著低于对照组,脑安软胶囊能明显减缓颈动脉血流速度的降低。提示脑安软胶囊抑制动脉粥样硬化的血管重建可能与改善血流有关。已知内皮细胞被覆于血管内壁,它不仅是血管与血液的主要屏障,而且在维持血液正常流动中起着重要的作用。通常内皮细胞更新是缓慢的,SHO 等人结扎胸主动脉与腹主动脉交界处,发现血流减少可诱导血管壁细胞增殖明显^[9]。本实验同样证实,低切应力环境下,内皮细胞增殖和凋亡出现明显异常,内皮细胞更新加快。本实验进一步研究发现,不同浓度脑安软胶囊预孵育内皮细胞,可逆转切应力降低所致的内皮细胞增殖和凋亡的调节失控,提示脑安软胶囊还能够抑制血流减慢导致的细胞增殖和凋亡异常。

总之,本实验结果表明脑安软胶囊能抑制高脂所致的动脉粥样硬化血管重建过程,其机制可能与脑安软胶囊改善血液流动和维持内皮细胞稳定等有关。但脑安软胶囊改善血液流动的具体机制,尚有待于深入研究。

参 考 文 献:

- [1] 张旭静,范柳,王素春,等.脑安胶囊的不同制剂对大鼠血小板聚集的影响[J].医药导报,2003,22(2):77-79.
- [1] ZHANG XJ, FAN L, WANG SC, et al. An effects on rat platelet aggregation by different preparations of Brain capsule.[J]. Medical Journal, 2003, 22(2): 77- 79. Chinese
- [2] WALSH K, SMITH RC, KIM HS. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture[J]. Circ Res, 2000, 87 (3): 184- 188.
- [3] DAI Q, THOMPSON MA, PIPPEN AM, et al. Alterations in endothelial cell proliferation and apoptosis contribute to vascular remodeling following hind-limb ischemia in rabbits[J]. Vasc Med, 2002, 7(2): 87- 91.
- [4] AKIMOTO S, MITSUMATA M, SASAGURI T, et al. Laminar Shear Stress Inhibits Vascular Endothelial Cell Proliferation by Inducing Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor p21Sdi1/Cip1/Waf1 [J]. Circulation Research, 2000, 86: 185- 190.
- [5] 孙继虎,于彦铮,郝鸣阳,等.流动切应力对培养的血管内皮细胞形态的影响[J].解剖学杂志,1996,19(4):295-298.
- [5] SUN JH, YU YZ, LI MY, et al. Affection on culturing vascular endothelial cells by flow shear stress [J]. Journal of Anatomy, 1996, 19(4): 295- 298. Chinese
- [6] 徐凤芹,徐浩,刘剑刚,等.芎芎胶囊对兔实验性动脉粥样硬化血管重构的影响[J].中国中西医结合杂志,2004,24(4):331- 335.
- [6] XU FQ, XU H, LIU JG, et al. An effecton on the rabbit atherosclerotic vascular remodeling by Xiongshao capsule. Journal of Integrative Medicine in China[J]. 2004, 24(4): 331- 335. Chinese
- [7] ZHANG W, XI Y, SUN HJ, et al. An association of apoA with thrombus and atherosclerosis[J]. China Journal of Modern Medicine, 2007, 17(20): 2500- 2505. Chinese
- [8] FUNG YC, LIU SQ. Elementary mechanics of the endothelium of blood vessels[J]. J Biomech Eng, 1993, 115(1): 1- 12.
- [9] SHO E, NANJOH, SHOM, et al. Arterial enlargement, tortuosity, and intimal thickening in response to sequential exposure to high and low wall shear stress[J]. J Vasc Surg, 2004, (3): 601- 612.

(潘一峰 编辑)