

三七绞股蓝药对及其总皂苷配伍对兔动脉粥样硬化模型主动脉的影响

于涓, 陈德兴*

(上海中医药大学, 上海 201203)

[摘要] 目的: 观察三七绞股蓝药对及其总皂苷配伍对兔动脉粥样硬化模型血脂及主动脉的影响。方法: 取 40 只雄性新西兰兔, 随机分为 5 组: 正常对照组、三七绞股蓝饮片组、三七绞股蓝皂苷组、阳性药物组、模型对照组。除正常组给予普通兔饲料, 其余各组给予高胆固醇饲料并注射牛血清白蛋白, 在造模的同时预防给药。12 周后测定血脂, 用计算机图象分析系统观察动脉损伤后血管重构相关指标的变化。结果: 三七绞股蓝饮片可降低平滑肌细胞核密度百分数(VSMC)水平, 减小中膜面积($P < 0.01$); 三七绞股蓝皂苷组可减小中膜面积($P < 0.05$); 三七绞股蓝饮片组、三七绞股蓝皂苷组均能增大管腔面积($P < 0.01$), 减小内膜面积($P < 0.01$), 减少内膜厚度($P < 0.01$)。结论: 三七绞股蓝药对及其总皂苷配伍具有抗血管重构的作用。

[关键词] 三七; 绞股蓝; 三七总皂苷; 绞股蓝总皂苷; 动脉粥样硬化

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)08-0120-04

Effects of *Panax notogiuseng*(PN) and *Gynostemma pentaphyllum*(Gp) on Aorta in Rabbit with Experimental Atherosclerosis

YU Juan, CHEN De-xing*

(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of *Panax notogiuseng*(PN), *Gynostemma pentaphyllum*(Gp) and their total saponins(PNs and Gps) on vascular remodeling in experimental atherosclerosis rabbit and to explore the possible mechanism. **Method:** Forty healthy male Zelanian white rabbits were used in the experiment. They were randomly selected and allocated as 5 groups: group 1 normal control group, group 2 treated with PN and Gp, group 3 treated with PNs and Gps, group 4 treated with captopril, group 5 positive control group. Normal control group were fed with normal diet, the other groups were fed with hypercholesterol diet. After administered for 12 weeks, histopathological examination of abdominal aorta with the most obvious lesion was performed, and the changes of related vascular remodeling indexes were observed using computerized image analyzing system. **Result:** PN and Gp could significantly decreased the number of VSMC($P < 0.01$). The area of medial membrane of group 2 were significantly lower than that in the positive control group. **Conclusions:** PN, Gp and their total saponins played its action in preventing and treating atherosclerosis through inhibiting intimal proliferation and intervening pathological vascular remodeling.

[Key words] *Panax notogiuseng*; *Gynostemma pentaphyllum*, PNs; Gps; atherosclerosis

[收稿日期] 2009-11-30

[基金项目] 上海市方剂学学科建设项目(Z09011)

[通讯作者] 陈德兴, Tel: (021) 51322206; E-mail: cdx419@

163.com

高血脂、动脉粥样硬化为临床常见病、多发病。中医认为动脉粥样硬化的主要病因是痰浊、瘀血和气虚。本研究采用有活血化瘀作用的三七和有益气化痰活血作用的绞股蓝相配伍, 借助动脉粥样硬化模型

家兔, 利用光学显微镜和计量组织学方法观察三七、绞股蓝药对及其有效组分三七总皂苷(PNS)和绞股蓝总皂苷(Gps)配伍对模型家兔主动脉的影响。

1 材料

1.1 动物 纯种雄性新西兰兔 40 只, 体重 2 ~2.5 kg, 月龄 3 ~4 月, 上海中医药大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(沪) 2004 - 0007。

1.2 药物 三七混悬液: 每次称取三七粉 24 g, 溶于 200 mL 蒸馏水, 玻棒搅匀, 制成含生药 0.12 g·mL⁻¹ 的混悬液; 绞股蓝水煎液: 每次称取药材 945 g, 在 10 L 蒸馏水中浸泡 3 h, 煎煮 90 min, 取滤液, 残渣加入 5 L 蒸馏水再次煎煮 60 mins, 合并两次滤液, 直火浓缩至 2 625 mL, 制成含生药 0.36 g·mL⁻¹ 的水煎液。三七、绞股蓝饮片均购自上海康桥中药饮片公司(批号 081030、081126)。三七总皂苷, 粉剂, 纯度 99%, 购自云南云科药业有限公司(批号 080901); 绞股蓝总皂苷, 粉剂, 纯度 98%, 购自陕西安康禾焯麦迪森植物药业有限公司(批号 HLS080901); 卡托普利, 中美上海施贵宝制药有限公司; 牛血清白蛋白, 上海伟群生物技术有限公司(批号 20070402)。

1.3 饲料 动物均单笼喂饲, 饮水不限, 自由摄食, 每日每只进食 150 g 饲料。高脂饲料在 99% 基础饲料的基础上, 添加 1% 胆固醇。高脂饲料和普通饲料均购自苏州双狮实验动物饲料科技有限公司。

1.4 仪器 全自动生化分析仪; OLYMPUS BX51 显微摄影系统、IMAGINE PRO 图像分析软件(BHCE 型, 北京惠中公司产品)。

2 方法

2.1 造模与分组 3 ~4 月龄雄性新西兰兔 40 只, 适应性饲养 1 周后, 随机分为 5 组, 每组 8 只: 正常组、三七绞股蓝饮片组、三七绞股蓝皂苷组、阳性药组、模型组。除正常组外, 其余各组耳缘 iv 牛血清

白蛋白 250 mg·kg⁻¹ 1 次。正常组给予普通兔饲料, 其余各组给予高胆固醇饲料, 共 12 周^[1]。各药物组在造模的同时预防给药: 三七绞股蓝饮片组: 三七 0.3 g·kg⁻¹ + 绞股蓝 0.9 g·kg⁻¹ (生药量)^[1]; 三七绞股蓝皂苷组: 三七总皂苷 7 mg·kg⁻¹ + 绞股蓝总皂苷 10.5 mg·kg⁻¹ (约为临床剂量的 2 倍); 阳性药组: 卡托普利 12.5 mg·kg⁻¹; 正常组、模型组: 生理盐水(2 mL·kg⁻¹), 1 次/d, 共 12 周。

2.2 血脂检测 末次药后 1.5 h, 心脏采血 5 mL, 3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 取血清 1 mL, 运用酶法采用全自动生化分析仪测定总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c)。

2.3 组织形态学观测 末次取血后用木槌击晕动物, 打开胸腹腔, 分离胸主动脉, 剥除周围脂肪及结缔组织, 用生理盐水将血液冲洗干净, 于主动脉弓下 0.5 cm 处及 1.5 cm 处始向下分别取 0.5 cm 长血管, 置于中性福尔马林固定, 常规制片, 切片厚 5 μm。平滑肌细胞核密度(VSMC)核采用 HE 染色, 胶原纤维采用天狼猩红染色, 弹力纤维采用地衣红染色。组织形态学观察分析采用显微镜-微机彩色图像处理系统在内膜增生最明显的切片上进行。测量参数包括: VSMC 核数密度百分数、管腔面积(mm²)、内膜面积(mm²)、内膜厚度(μm)、中膜面积(mm²)^[3]。

2.4 统计学处理 实验结果以 珠±s 表示。采用统计软件 SPSS 11.0, 两组间比较用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 血脂的测定 模型组 TC, TG, LDL-c 水平显著升高(P < 0.01), 三七绞股蓝饮片组 TC 水平较模型组明显降低(P < 0.05), 三七绞股蓝皂苷组 TG 水平较模型组明显降低(P < 0.05), 详见表 1。

表 1 三七、绞股蓝药对及其总皂苷配伍对兔动脉粥样硬化模型血脂水平的影响 (mmol·L⁻¹, 珠±s, n=8)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常	—	1.64 ±0.32	0.61 ±0.16	0.65 ±0.19	0.72 ±0.22
三七绞股蓝饮片	300 + 900	25.81 ±6.71 ¹⁾	1.04 ±0.35	2.75 ±0.54	19.24 ±4.94
三七绞股蓝皂苷	7 + 10.5	30.76 ±5.52	0.72 ±0.36 ¹⁾	3.13 ±0.90	22.81 ±2.89
卡普利	12.5	25.71 ±10.51	1.14 ±0.24	2.92 ±1.10	20.64 ±3.37
模型	—	35.24 ±5.59	1.48 ±0.32	3.20 ±0.74	21.98 ±4.63

注: 与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01 (下同)

3.2 形态学观察

3.2.1 组织病理学变化 肉眼可见正常对照组动脉内膜光滑, 无斑块形成; 模型组主动脉内壁有大量黄白色脂样物质向管腔突出; 三七绞股蓝饮片组、三七绞股蓝皂苷组和阳性药组动脉内壁密集分布有乳白色针点状、小椭圆状斑块, 稍凸起, 大小不一, 数量不定。光学显微镜下可见, 正常对照组动

脉管腔未见异常改变, 内皮细胞完整, 单层紧贴内弹力板, 无内膜层, 中层平滑肌细胞排列整齐。模型组动脉内皮细胞完全脱落, 内弹力板层部分完整, 内膜开始增生, 动脉内壁明显增厚, 内膜下层可见大量梭形增生细胞及泡沫细胞。各药物组动脉内皮缺损面减少, 内膜增厚较模型组明显减轻, 泡沫细胞减少(图 1)。

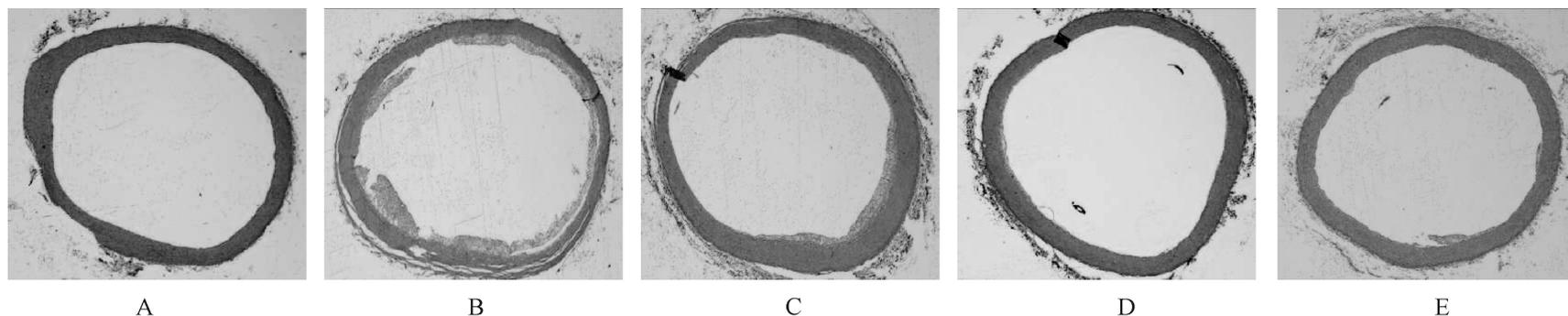


图 1 各组兔动脉内膜的组织病理学变化(HE 染色)

A. 正常组; B. 模型组; C. 阴性药组; D. 三七绞股蓝组; E. 三七绞股蓝皂苷组

3.2.2 形态学分析 模型组 VSMC、管腔面积、内膜面积、内膜厚度、中膜面积显著升高 ($P < 0.01$); 三七绞股蓝饮片组、阳性药组的 VSMC 水平较模型组显著降低; 三七绞股蓝饮片组、三七绞股蓝皂苷组、阳性药组的管腔面积较模型组显著增大 ($P < 0.01$); 三七绞股蓝饮片组、三七绞股蓝皂苷组的内膜面积较模型组显著减小 ($P < 0.01$), 阳性药组的

内膜面积较模型组明显减小 ($P < 0.05$); 三七绞股蓝饮片组、阳性药组的中膜面积较模型组显著减小 ($P < 0.01$), 三七绞股蓝皂苷组的中膜面积较模型组明显减小 ($P < 0.05$); 三七绞股蓝饮片组和三七绞股蓝皂苷组的内膜厚度较模型组显著减少 ($P < 0.01$), 阳性药组的内膜厚度较模型组明显减少 ($P < 0.05$), 详见表 2。

表 2 三七、绞股蓝及其有效成分对动脉粥样硬化兔模型动脉形态学的影响 (均 ± s, n = 8)

组别	剂量 / mg · kg ⁻¹	VSMC / %	管腔面积 / mm ²	内膜面积 / mm ²	内膜厚度 / μm	中膜面积 / mm ²
正常	—	3.96 ± 0.77	4.93 ± 1.18	0.012 ± 0.003	10.91 ± 3.49	0.155 ± 0.047
三七绞股蓝饮片	300 + 900	5.27 ± 1.67 ²⁾	3.26 ± 0.50 ²⁾	0.076 ± 0.020 ²⁾	95.67 ± 46.18 ²⁾	0.183 ± 0.026 ²⁾
三七绞股蓝皂苷	7 + 10.5	7.04 ± 4.46	4.38 ± 1.20 ²⁾	0.130 ± 0.041 ²⁾	154.86 ± 40.54 ²⁾	0.198 ± 0.041 ¹⁾
卡普托里	12.5	5.54 ± 2.23 ²⁾	3.48 ± 0.81 ²⁾	0.136 ± 0.040 ¹⁾	163.35 ± 56.87 ¹⁾	0.158 ± 0.027 ²⁾
模型	—	11.55 ± 2.92	0.55 ± 0.24	0.193 ± 0.060	229.36 ± 45.40	0.271 ± 0.048

4 讨论

血脂紊乱导致的高脂血症是动脉粥样硬化血管重构的重要危险因素^[4]。动脉粥样硬化(AS)的形成包括一系列病理过程: 内皮损伤及功能不良, 黏附分子表达, 化学增殖剂的释放, 单核细胞聚集, 白细胞黏附及迁移, 氧化型低密度脂蛋白(OX-LDL)被巨噬细胞摄取、泡沫细胞形成, 活化的单核细胞释放细胞因子, 平滑肌细胞迁移和增殖, 最终形成粥样斑块^[5-7]。动脉壁的脂质沉积与浸润是 AS 最典型和共有的病理特征^[8]。本实验证实了 TC、TG、LDL 过高都是 AS 的危险因素。三七绞股蓝饮片组降低 TC 的作用比较明显, 三七绞股蓝皂苷组降低 TG 的作用明显, 但对 HLD 和 LDL 没有显著作用。

高血脂引起的炎症致使血管内皮损伤、中膜增厚, 其中主要原因是平滑肌细胞(SMC)的增殖与凋亡失衡。SMC 细胞数量增多, 体积变大, 使得血管壁增厚, 细胞外基质合成增多, 加重血管腔狭窄。同时向血管内膜迁移, 参与斑块的组成。这些过程相互作用, 造成了大量的新生内膜形成(内膜增殖), 内膜面积增大, 发生不利的血管结构重构, 从而引起动脉血管不同程度的狭窄^[9]。三七绞股蓝饮片组对平滑肌细胞的增殖有明显的抑制作用, 对主动脉内膜、中膜增生和动脉斑块的形成亦有明显的抑制作用。三七绞股蓝皂苷组对平滑肌细胞增殖的抑制作用不明显, 但对主动脉内膜、中膜增生和动脉斑块的形成有明显的抑制作用。

中医理论认为, AS 本属气虚, 标属痰浊与瘀血相互交结。三七性温, 能活血化瘀, 绞股蓝性凉, 功可补气祛痰, 二者相配伍, 可以活血消痰, 清热益气。三七总皂苷和绞股蓝总皂苷也具降低血脂、抑制血管重构的作用。临床上使用三七总皂苷和绞股蓝总皂苷有剂量准确和使用方便的特点。但在实验过程中, 三七绞股蓝皂苷组部分动物出现了明显的胃肠道反应, 临床使用时应加以注意。

[参考文献]

- [1] 文小平, 三七、绞股蓝抗兔血管重构的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(12): 24.
- [2] 周任新, 黄芪总皂苷和三七总皂苷配伍对大鼠局灶性脑缺血的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(8): 56.
- [3] 宋元英, 蒺藜总皂苷对家兔动脉粥样硬化血管重构的影响[J]. 中西医结合心脑血管杂志, 2006, 4(1): 37.
- [4] Shi YD. Studies on hemorheological behaviors and blood cell electrophoresis for cerebral vascular diseases[J]. Clin Hemorheol, 1990, 10(3): 309.
- [5] Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, et al. Association of variables of coagulation, fibrinolysis and acute phase

protein with atherosclerosis in coronary and peripheral arteries and those arteries supplying the brain[J]. Thromb Haemostas, 1995, 73: 374.

- [6] Hak A E, Stehouwer D A, Pots M L, et al. Association of C—reactive protein with measures of obesity, insulin resistance and subclinical atherosclerosis in healthy, middleaged women [J]. Arterioscler Thromb Vase Biol, 1999, 19(1): 986.
- [7] Fruebis J, Gonzalez V, Silvestre M, et al. Effect of pmucosal treatment on gene expression of VCAM-1, MCP-1, and M-CSF in the aortic wall of LDL receptor-deficient rabbit during early atherogenesis[J]. Arterioscler Thromb Vase Biol. 1997. 17(7): 1289.
- [8] Superko HR . The new thinking on lipid and coronary artery disease [J]. Cur Opin Cardiol, 1997; 12: 180.
- [9] Wiegman PJ, Barry WL, Mepheron JA, et al. All-transretinoic acid limits restenosis after balloon angioplasty in the focally atherosclerotic rabbit: A favorable effect on vessel remodeling [J]. Arterioscler Thromb Vase Biol, 2000, 20(1): 89.

[责任编辑 何伟]