

水蛭和丹参对血管成形术后平滑肌细胞增殖影响的实验研究*

张 涛 杜兰萍 崔 萍 吕树铮 张慧信

内容提要 **目的:**探讨腔内血管成形术(transluminal angioplasty, TA)后再狭窄的预防方法。**方法:**将 60 支髂动脉(30 只家兔)随机分为 3 组(每组 20 支髂动脉):水蛭组、丹参组和对照组,造成实验性动脉粥样硬化狭窄并进行 TA 后,水蛭组每天饲喂 2g 水蛭粉和普通饲料,丹参组每天饲喂 2g 丹参粉和普通饲料,对照组每天只饲喂普通饲料,30 天后,进行血管造影和病理形态学检查。**结果:**(1)水蛭组髂动脉内膜厚度($40.1 \pm 9.8\mu\text{m}$)显著小于丹参组($48.2 \pm 8.2\mu\text{m}$)和对照组($69.3 \pm 9.2\mu\text{m}$), $P < 0.05$ 。(2)TA 后管腔狭窄度,水蛭组(31.4%)和丹参组(48.4%)显著小于对照组(62.8%), $P < 0.05$ 。(3)透射电镜观察表明,水蛭组和丹参组动脉内膜平滑肌细胞分化较好,细胞内粗面内质网较少,肌丝较多,而在对照组,平滑肌细胞内含有较多的粗面内质网,合成型平滑肌细胞较为多见。**结论:**中药水蛭和丹参有抑制 TA 后血管平滑肌细胞增生,减轻内膜增厚,降低再狭窄发生率的作用,水蛭的效果更为显著。

关键词 腔内血管成形术 再狭窄 水蛭 丹参 血管平滑肌细胞

Experimental Study of Hirudo and Salvia miltiorrhiza on Smooth Muscle Cell Hyperplasia after Balloon Angioplasty Zhang Tao, Du Lanping, Cui Ping, et al *Beijing Cardio-Pulmonary and Vascular Disease Institute, Beijing (100029)*

Objective: To find the preventive method of restenosis after transluminal angioplasty (TA). **Methods:** Sixty rabbit iliac arteries of 30 rabbits were divided randomly into three groups, group A, B and C, 20 in each. After experimental atherosclerotic stenosis and TA performing, ordinary forage plus 2g of hirudo powder was fed to the group A every day, to the group B, 2 g *Salvia miltiorrhiza* powder was added and to the group C, ordinary forage only. Angiography and pathomorphological examination were carried out 30 days later. **Results:** (1)Hirudo significantly reduced the thickness of iliac intima as compared with the other two groups ($P < 0.05$), the thickness in the group A, B and C was $40.1 \pm 9.8\mu\text{m}$, $48.2 \pm 8.2\mu\text{m}$ and $69.3 \pm 9.2\mu\text{m}$ respectively. (2)The incidence of restenosis after TA in both group A (31.4%) and group B (48.4%) were significantly lower than that in the group C (62.8%, $P < 0.05$). And significant difference was also found in comparison of group A and group B ($P < 0.05$). (3)Ultrastructure change examined by transmission electron microscopy showed that less rough endoplasmic reticulum and more myofilaments in well differentiated smooth muscle cell (SMC) of the arterial intima in the group A and B, while in the group C, more rough endoplasmic reticulum, more synthetic cells were seen in SMC. **Conclusions:** Hirudo and red sage root could effectively inhibit the hyperplasia of SMC in arterial intima and reduce the intima thickness and the incidence of restenosis after TA significantly, thus might play a role in the prevention of restenosis after TA. The effect of hirudo is more potent than that of red sage root.

Key words transluminal angioplasty, restenosis, hirudo, *Salvia miltiorrhiza*, vascular smooth muscle cell

经皮冠状动脉腔内成形术(percutaneous translumi-

nal coronary angioplasty, PTCA)是治疗冠脉狭窄,心肌缺血的重要方法,但术后再狭窄使 PTCA 的应用受到限制⁽¹⁾,目前对于再狭窄尚无有效的预防方法,为了探讨中药对再狭窄的预防作用,本实验研究了中药水蛭和丹参对于再狭窄的预防作用,观察了二者对于动物

*北京市自然科学基金资助项目(No. 7922014)
北京心肺血管疾病研究所(北京 100029)

腔内血管成形术(TA)后血管平滑肌细胞增殖的影响。现将实验结果报告如下。

材料和方法

1 动物及分组 新西兰纯种雄性白兔 30 只,月龄 5~6 个月,体重 2.5~3.5kg,由北京生物制品鉴定所实验动物繁育场提供。将 30 只家兔(60 支髂动脉)随机分为 3 组:对照组、丹参组和水蛭组,每组 20 支血管。

2 药物及试剂 丹参和水蛭均购自中药店,研磨成粉末,给药剂量分别是每天每只 2g。肝素由上海生物化学制药厂生产,批号:960426,剂量:200IU/kg。

3 实验仪器 投射电镜由日本电子公司生产,型号 JEM 1200-EX。图像分析仪由美国 Tractor Northern 公司生产,型号:8502。

4 动物模型及实验方法 按孙宝贵等报告的方法⁽²⁾,3 组家兔用冠状动脉扩张导管加压,剥脱左右髂动脉的内膜,术后用抗生素抗感染治疗 1 周,并饲喂含 1%胆固醇的饲料,每日 100g,分上、下午两次喂食,饮水不限。喂食上述胆固醇饲料 7 周后,进行 TA,动脉给予肝素后,从兔右颈总动脉插管至腹主动脉,行腹主动脉——髂外动脉造影。根据髂外动脉狭窄程度选用 2.50mm 球囊导管,分别插入左、右髂外动脉狭窄处,球囊加压至 5 个大气压(atm)持续 30s。连续扩张 3 次。TA 后再次动脉造影,以确认狭窄动脉被扩张。TA 后对照组仅喂食普通饲料,丹参组每日在普通饲料中掺入丹参粉,水蛭组每日在普通饲料中掺入水蛭粉,各组于 TA 后 30 天再次动脉造影后处死。

5 观察项目及检测方法 (1)病理组织学观察:动物处死之后,取出髂动脉生理盐水冲洗,10%福尔马林原位固定 24h,在原 TA 的部位取材,常规制片,苏木素伊红(HE)和弹力纤维染色,做光镜检查。每组随机用 2~3 支血管做透射电镜观察,缓冲液冲洗后,5%戊二醛固定,常规制片,透射电镜检查。(2)血管的测量方法:取光镜病理切片,用图像分析仪测量动脉横断面内膜和中膜的平均厚度和管腔面积。内膜和中膜平均

厚度以微米(μm)表示,管腔相对面积 = 管腔面积/(管腔面积 + 管壁面积) $\times 100\%$ 。管腔再狭窄的程度用狭窄度表示,狭窄度 = $100 \times [(1 - \text{TA 后 30 天的管腔面积}) / \text{TA 后即刻的管腔面积}]^{(3)}$ 。

6 统计学处理 SPSS/PC 软件对各组血管的测量数值进行方差分析。

结 果

1 各组之间在光镜下比较观察 家兔髂外动脉经球囊剥脱术和喂高胆固醇饲料 7 周后,全部动物血管造影均显示该动脉出现狭窄,狭窄程度为 40%~90%。TA 后管径直径明显扩大,残余狭窄 < 10%。TA 后 30 天,各组管腔直径均有不同程度减少和内膜增厚。病变处主要由平滑肌细胞,大量泡沫细胞及纤维结缔组织构成。对照组血管内膜增生严重,内皮下可见大量平滑肌细胞增生,亦可见泡沫细胞及坏死物质。管腔多呈偏心性狭窄。中膜亦增厚及有不同程度的平滑肌增生及肌源性泡沫性细胞聚集。对照组中有 2 支在内膜平滑肌增生的基础上形成血栓并机化,几乎使血管完全闭塞。与对照组相比,丹参组和水蛭组的内膜和中膜增厚程度均较轻,管腔面积较大,狭窄度较小,各项指标均有显著性差异($P < 0.05$),内膜平滑肌增生,有少量泡沫细胞聚集。水蛭组与丹参组相比,水蛭组内膜和中膜增厚程度较轻,内膜平滑肌细胞轻度增生,内膜修复完整,管腔面积较大,狭窄度也较小,各项指标均有显著性差异($P < 0.05$),见附表。

2 各组之间在电镜下的观察比较 对照组内皮细胞肿胀,排列紊乱,形态不规则,增生的平滑肌细胞胞体肥大,细胞内粗面内质网显著增多,高尔基体、线粒体增多,肌丝含量减少,合成型平滑肌较多。丹参组和水蛭组内皮细胞排列规整,增生的平滑肌细胞浆内粗面内质网、高尔基体、线粒体较少,肌丝含量较多,细胞分化程度较好,收缩型平滑肌细胞较多。总之,丹参和水蛭可有效地抑制家兔髂动脉 TA 后的内膜增厚平滑肌细胞的过度增生,水蛭的作用更为明显。

附表 各组动物动脉管腔狭窄程度和管壁厚度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	狭窄度 (%)	管腔内径 (μm)	内膜厚度 (μm)	中膜厚度 (μm)	管腔面积 (μm^2)	管腔相对面积 (%)
对照	20	62.8 $\pm$ 4.9	110.2 $\pm$ 18.3	69.3 $\pm$ 9.2	135.3 $\pm$ 10.3	20143.2 $\pm$ 3227.2	16.3 $\pm$ 9.4
丹参	20	48.4 $\pm$ 6.5 *	189.2 $\pm$ 21.2 *	48.2 $\pm$ 8.2 *	119.3 $\pm$ 11.3	31427.7 $\pm$ 2444.4 *	29.3 $\pm$ 8.6 *
水蛭	20	31.4 $\pm$ 5.2 * [△]	218.7 $\pm$ 24.7 * [△]	40.1 $\pm$ 9.8 * [△]	102.5 $\pm$ 13.6 * [△]	36984.9 $\pm$ 3154.3 *	37.1 $\pm$ 10.4 * [△]

注:与对照组比较, * $P < 0.05$; 与丹参组比较, [△] $P < 0.05$

讨 论

TA 后再狭窄的发生与内皮细胞的损伤、血小板粘附聚集、血小板衍生生长因子释放和血栓机化以及平滑肌细胞在内膜的过度增生等多因素有关⁽⁴⁾。本实验主要观察了水蛭和丹参对 TA 后内膜平滑肌增殖的影响。

本实验中 TA 30 天后,水蛭组动脉内膜最薄,管腔最大。管腔狭窄程度为 20%~40%,无 1 支血管腔面积减少在 50% 以上,也未见有机化血栓。轻度增生的平滑肌多呈收缩型,表明处于低增殖状态。说明水蛭较有效地抑制了 TA 后内膜平滑肌细胞的过度增生,可能对 TA 后再狭窄的减轻起一定的作用。

实验研究表明水蛭具有明显的抗凝血、抗血栓作用。水蛭可以抑制血小板的聚集及释放反应⁽⁵⁾,水蛭可能通过减少血小板衍生生长因子的释放,从而减少对平滑肌细胞增殖,因而对于平滑肌细胞的增殖具有抑制作用。另外,水蛭还能够降低血浆中纤维蛋白原的浓度⁽⁶⁾,纤维蛋白原增高不仅可以使血液粘滞性增加,凝血机能亢进,还能促进平滑肌细胞增殖及血小板聚集。

结果还表明,TA 后 30 天,丹参组动脉内膜平滑肌增生较轻,内膜轻度增厚,管腔直径较大。管腔狭窄程度为 30%~65%。其中 35% (7/20 支)血管腔面积减少在 50% 以上,而对照组 80% (16/20 支)血管腔面积减少在 50% 以上,本组也未见有机化血栓,增殖的平滑肌细胞以收缩型为主,处于低增殖状态,说明丹参对于 TA 后内膜平滑肌过度增殖也有一定的抑制作用,

但比水蛭的作用要弱。

体外实验表明丹参可以抑制血管平滑肌细胞的增殖和 DNA 的合成,丹参能够抑制血管平滑肌从收缩表型向合成表型的转变,从而抑制血管平滑肌的增生和分泌胶原,血管壁胶原含量下降⁽⁷⁾。

本实验表明:水蛭可有效地抑制 TA 后血管内膜增厚和平滑肌细胞在内膜的过度增生,对减轻 TA 后再狭窄可能具有一定作用。丹参也有抑制内膜平滑肌细胞过度增生和内膜增厚的作用。本实验结果可能对于探讨中药减轻 TA 后再狭窄提供一定的实验依据。

参 考 文 献

1. Serruy PW, Rensing BJ, Lujiten HE, et al. Restenosis following coronary angioplasty. In Meier B (ed): Interventional cardiology, 1st ed. New York: Hans Huber Publishers, 1990: 79—115.
2. 孙宝贵, 黄永磷, 傅世英, 等. 动脉粥样硬化狭窄球囊腔内成形术后再狭窄过程的实验研究. 中华内科杂志 1995; 34(8): 528—530.
3. 杨水祥, 张永斌, 李天德, 等. 组织型纤溶酶原激活剂基因导入犬血管壁预防血管成形术后再狭窄. 中国循环杂志 1996; 11(7): 406—410.
4. Newby AC, George SJ. Proposed roles for growth factors in mediating smooth muscles proliferation in vascular pathologies. Cardiovascular Research 1993; 27: 1173—1178.
5. 侯安全, 徐淑文, 张林香, 等. 水蛭的临床运用和实验研究概要. 黑龙江中医药 1994; (4): 55—56.
6. 王 朋, 张 颖, 范亚明, 等. 水蛭、丹参对实验性动脉粥样硬化及纤溶系统的影响. 心肺血管病杂志 1996; 15(1): 52—55.
7. 孟振行, 朱甫详, 韩彩丽, 等. 丹参对家兔实验性动脉粥样硬化预防作用的研究. 心肺血管病杂志 1995; 14(2): 101—104.

(收稿: 1997-06-06 修回: 1997-11-16)

第二届全国中西医结合心身医学学术研讨会征文通知

为了进一步推动中西医结合心身医学学科的发展及其国内外学术交流与技术经济方面的合作,定于 1998 年 10 月中旬于苏州举行第二届全国中西医结合心身医学学术研讨会,现将有关事宜通知如下:

征文内容:(1)心身医学的理论研究。如心理应激理论、心身相关的神经内分泌免疫学、生物心理社会医学模式的进展、情绪反应与心身健康,中医心身医学理论等;(2)心身疾病的理论与应用研究。如心身疾病的病因、发病机制、诊断与综合治疗,内、外、妇、儿、神经、精神、五官、皮肤等临床各科的心身问题。中医情志疾病诊断治疗,心身疾病的护理、保健与康复等;(3)临床及健康心理咨询的应用研究。如心理咨询、心理测验、心理治疗的方法技术;儿童、青少年、中老年、妇女的心理健康问题;情绪障碍、行为障碍、适应障碍、各种神经证的心理咨询及治疗,现代高科技方法在心理咨询中的应用等。

征文要求和注意事项:(1)征文一般不超过 3000 字,请附加 250 字以内的摘要及 3~5 个关键词;(2)文稿请打印为每行 24 个字(含标点符号),图表用三线表;(3)作者文责自负,来稿务写明作者的详细地址及邮编;(4)征文截止日期为 1998 年 5 月 30 日;(5)底稿自留,无论录用与否,恕不退稿。

征文请寄天津中医学院中医研究所(天津市南开区玉泉路 88 号,邮编 300193),郑 林 袁红霞收。