

# 补肾宁心方对去卵巢兔动脉粥样硬化的保护作用

郝 群 李大金 朱 影 袁敏敏 王明雁 孟 毅

**摘要** 目的 研究补肾宁心方对去卵巢兔动脉粥样硬化形成的影响。方法 26 只 3 月龄新西兰雌兔随机分为正常组、假手术组、对照组(卵巢切除)、中药组(卵巢切除并灌以补肾宁心方),除正常组外均于手术 2 周后给予高脂饮食,中药组同时灌胃给补肾宁心方中药,连续 3 个月。各组于第 12 周末测定血脂(TC、TG、LDL-C 和 HDL-C)以及一氧化氮(NO)水平,取主动脉行组织形态学观察以及在光镜和扫描电子显微镜下行病理学检查,利用图像分析仪计算动脉粥样硬化斑块内膜面积比和内膜中膜厚度比、面积比。结果 12 周末除正常组外,各组动物血脂测定结果比较,差异无显著性。与对照组比较,中药组血清 NO 水平明显升高,动脉硬化斑块面积与动脉内膜比值,内膜中膜厚度比、面积比均明显降低,主动脉病理变化减轻。结论 补肾宁心方可抑制去势雌兔动脉粥样硬化形成,对血管内皮细胞具有保护作用。

**关键词** 补肾宁心方;去势;动脉粥样硬化;血脂;一氧化氮

**Protective Effect of Bushen Ningxin Recipe on Ovariectomized Rabbits with Atherosclerosis** HAO Qun, LI Da-jin, ZHU Ying, et al *Laboratory for Reproductive Immunology, Institute of Obstetrics and Gynecology, Fudan University, Shanghai (200011)*

**Objective** To study the effects of Bushen Ningxin recipe (BNR) on atherosclerosis in ovariectomized rabbits. **Methods** Twenty-six female New Zealand white rabbits of three months old were randomly divided into four groups, the normal group, the sham operation group, the control group (ovariectomized) and the treated group (ovariectomized and treated with BNR). All rabbits, except the normal group, were fed with high-cholesterol diet starting from two weeks after operation, and to the treated group BNR was given additionally for 3 months. Levels of blood lipid (TC, TG, LDL-C and HDL-C) and NO were measured at the end of the 12th week, and at the same time, histomorphological and pathological examination of aorta under light microscopy and scanning electron microscopy, and the ratio of atherosclerotic area of lesion/endothelium ratio (AL/AE) and thickness of endothelium/medium ratio (TE/TM) were estimated using image analyzer. **Results** No significant difference was found in levels of blood lipid between groups, except those in the normal group. As compared with the control group, in the treated group, level of serum NO was higher, AL/AE and TE/TM were lower and the pathological changes of aorta was milder. **Conclusion** BNR could inhibit the atherosclerosis formation in ovariectomized rabbits, it showed protection on vascular endothelial cells.

**Key words** Bushen Ningxin recipe; ovariectomy; atherosclerosis; blood lipid; nitric oxide

妇女进入围绝经期后由于雌激素水平锐减,心血管功能发生明显变化,特别是动脉粥样硬化症(atherosclerosis, AS)的发病率逐渐接近男性<sup>[1]</sup>。激素替代疗法(hormone replacement therapy, HRT)虽可改善更年期妇女的自主症状以及预防骨质疏松,但由于其致癌的危险性限制了该法的广泛应用。此外,国内外学者对于 HRT 能否降低心血管疾病的危险性褒贬不一,因此寻求新的治疗方案已成为围绝经期病症治

疗的当务之急。本实验通过建立去势雌兔 AS 模型,观察补肾宁心中药复方对 AS 的影响,以期为中西医结合防治女性绝经后 AS 提供实验依据。

## 材料与方法

1 动物及分组 3 月龄雌性健康纯种新西兰兔 26 只,体重 2.0~2.4 kg,由中国科学院上海实验动物中心提供,适应性饲养 1 周后,随机分为 4 组,即正常组(6 只)、假手术组(6 只,行假性手术,不切除卵巢)、对照组(7 只,行双侧卵巢切除术)、中药组(7 只,行双侧卵巢切除术并灌服补肾宁心方)。

2 药物及试剂 补肾宁心方由生地、知母、黄柏、

基金项目:上海市科技攻关项目(No. 004019061)

作者单位:复旦大学附属妇产科研究所生殖免疫室(上海 200011)

通讯作者:李大金, Tel: 021-63770161 转 286, E-mail: djli@

shmu.edu.cn

枸杞子、菟丝子、仙灵脾、酸枣仁、泽泻组成,水煎浓缩为每毫升含生药 3.7g 供实验用(上海顺天堂国药店制剂)。TC、TG 测定试剂盒(由上海张江生物医药股份有限公司提供),HDL-C、LDL-C 测定试剂盒(由上海北海生物试剂公司提供),NO 测定试剂盒(由南京建成生物工程研究所提供),其他试剂均为进口或国产分析纯。

3 仪器 全自动生化分析仪为日本 Hitachi 公司产品,721 型分光光度计为上海精密科学仪器有限公司产品,图像分析仪为上海申腾信息技术有限公司产品,扫描电镜型号为 Hitachi S-520。

4 造模及给药方法 除正常组、假手术组外,对照组和中药组剖腹切除双侧卵巢,假手术组剖腹后暴露子宫、输卵管、卵巢后即关腹,不切除卵巢。除正常组外各组均于术后 2 周饲以高脂饲料(胆固醇 0.5%、蛋黄粉 15%、猪油 5%、基础饲料 79.5%),中药组同时每日灌胃补肾宁心方 5ml/kg 1 次,连续 12 周。正常组、假手术组、对照组均给予等量自来水灌胃。给予高脂饲料前及给药 12 周后,均留取空腹血清标本待测。于给药 12 周末停药,各组兔耳缘静脉空气栓塞法处死,生理盐水以及 4% 多聚甲醛溶液原位灌流固定。取其主动脉大体标本,置于 4% 多聚甲醛溶液中固定;取降主动脉弓前壁行扫描电镜观察。

### 5 观察指标及检测方法

5.1 体重测量 于饲养前及给予高脂饲料 12 周末,分别称动物体重。

5.2 血脂检测 血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的测定均按照试剂盒说明书进行,采用全自动生化分析仪测定吸光度。

5.3 血清 NO 检测 采用硝酸还原酶法,按照试剂盒说明书进行操作,用 721 型分光光度计测定其吸光度。

5.4 斑块/内膜面积比检测和计算 主动脉大体标本(从近主动脉弓部降主动脉到腹主动脉分支处)以 4% 多聚甲醛溶液中浸泡固定 48h 后,纵向剪开,流水浸洗 8h,苏丹Ⅲ染色 30min,75% 乙醇浸泡 3min,铺平,摄像。图像分析仪测定斑块面积及血管内膜总面积,并计算斑块/血管内膜面积比。

5.5 组织形态学检查 选取靠近主动脉弓部的降主动脉,置于 4% 多聚甲醛溶液中浸泡 48h。常规酒精脱水、石蜡包埋,将其横断面制成 3 $\mu$ m 厚连续切片,行 HE 染色。从 HE 染色片上随机选取 5 个视野,图像分析仪测定血管内膜及中膜厚度、内膜及中膜面积,并计算内膜/中膜厚度比、内膜/中膜面积比。

5.6 扫描电镜观察 选取靠近主动脉弓部的降主动脉前壁,置于 2.5% 戊二醛溶液中 4℃ 初固定 24h 以上,1% 锇酸后固定,梯度脱水,临界点干燥,喷镀金膜后观察。

6 统计学方法 用 SPSS 统计软件进行统计学处理,组间比较采用方差分析。

## 结 果

1 各组动物体重变化 见表 1。于饲养前、饲以高脂饲料 12 周末称动物体重,4 组动物体重均较实验前显著增加( $P < 0.05$ ),但各组之间比较差异无显著性。

表 1 各组动物用药前后体重变化比较 (kg,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	体重	
		用药前	用药 12 周末
正常	6	2.15 $\pm$ 0.14	2.92 $\pm$ 0.42 *
假手术	6	2.20 $\pm$ 0.18	3.08 $\pm$ 0.30 *
对照	7	2.18 $\pm$ 0.21	2.67 $\pm$ 0.35 *
中药	7	2.19 $\pm$ 0.16	2.93 $\pm$ 0.54 *

注:与本组用药前比较,\* $P < 0.05$

2 各组动物血脂检测结果 见表 2。除正常组外,各组血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 于饲以高脂饲料 12 周末均有明显升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),假手术组、对照组以及中药组 3 组之间各项血脂指标比较差异无显著性。

表 2 各组动物用药前后血脂变化比较 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常 用药前	1.45 $\pm$ 0.30	1.10 $\pm$ 0.36	0.45 $\pm$ 0.10	1.08 $\pm$ 0.21
(6) 用药后	1.40 $\pm$ 0.03	0.42 $\pm$ 0.15	0.40 $\pm$ 0.01	0.63 $\pm$ 0.15
假手术 用药前	1.49 $\pm$ 0.26	1.14 $\pm$ 0.59	0.42 $\pm$ 0.08	1.08 $\pm$ 0.36
(6) 用药后	32.11 $\pm$ 4.40 **	2.74 $\pm$ 0.97 *	1.89 $\pm$ 0.09 *	17.02 $\pm$ 4.42 **
对照 用药前	1.42 $\pm$ 0.29	1.17 $\pm$ 0.30	0.39 $\pm$ 0.07	1.09 $\pm$ 0.23
(7) 用药后	31.73 $\pm$ 1.81 **	4.08 $\pm$ 2.10 *	1.85 $\pm$ 0.10 *	16.44 $\pm$ 6.42 **
中药 用药前	1.71 $\pm$ 0.66	0.99 $\pm$ 0.18	0.49 $\pm$ 0.19	1.10 $\pm$ 0.40
(7) 用药后	33.60 $\pm$ 2.81 **	2.99 $\pm$ 1.17 *	1.88 $\pm$ 0.08 *	18.00 $\pm$ 3.95 **

注:与本组用药前比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$  ( )内数据为动物数

3 各组动物血清 NO 水平测定结果 见表 3。实验结束时,与正常组比较,其余 3 组血清 NO 水平均有不同程度的降低,以对照组降低最为明显( $P < 0.01$ );与对照组比较,中药组血清 NO 水平明显升高( $P < 0.05$ )。

表 3 各组动物血清 NO 水平测定结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	NO( $\mu$ mol/L)
正常	6	96.37 $\pm$ 5.47
假手术	6	78.13 $\pm$ 10.58 * $\Delta$
对照	7	66.20 $\pm$ 7.24 **
中药	7	76.36 $\pm$ 4.35 * $\Delta$

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与对照组比较, $\Delta P < 0.05$

4 各组动物病理形态学改变 肉眼所见 :正常组内膜光滑 ,无斑块形成 ;对照组主动脉管壁有大量白色脂样物向管腔凸出 ,并连成片状 ,而假手术组与中药组斑块明显减少 ,除近主动脉前端外 ,较少连接成片 ,主要分布于血管分支处。HE 染色可见 ,对照组内膜显著增厚 ,斑块隆起明显 ,内含大量泡沫细胞 ;假手术组与中药组的病变较对照组明显减轻。假手术组与中药组的斑块/内膜面积比、内膜厚度、内膜/中膜厚度比、内膜/中膜面积比均较对照组显著减少(  $P<0.05$  ,见表 4 )。

表 4 各组动物斑块/内膜面积比、内膜厚度、内膜/中膜厚度比、内膜/中膜面积比结果比较 (  $\bar{x} \pm s$  )

组别	n	斑块/内膜面积比( % )	内膜厚度( $\mu\text{m}$ )	内膜/中膜厚度比( % )	内膜/中膜面积比( % )
假手术	6	13.49 $\pm$ 7.46	66.10 $\pm$ 20.59	24.62 $\pm$ 6.71	27.63 $\pm$ 6.21
对照	7	35.27 $\pm$ 29.89 *	235.22 $\pm$ 24.45 **	49.37 $\pm$ 15.20 *	45.48 $\pm$ 8.32 *
中药	7	13.93 $\pm$ 5.27 $\Delta$	61.64 $\pm$ 42.58 $\Delta$	23.64 $\pm$ 13.03 $\Delta$	30.43 $\pm$ 5.71 $\Delta$

注 :与假手术组比较 , \*  $P<0.05$  , \*\*  $P<0.01$  ;与对照组比较 ,  $\Delta P<0.05$  ,  $\Delta\Delta P<0.01$ 。

5 扫描电镜观察 扫描电镜显示正常组内皮细胞呈长梭形 ,细胞长轴与血流方向一致 ,胞核微隆起 ,突向管腔 ,内皮细胞完整性好 ,排列整齐 ,无缺损 ,未见单核细胞黏附 (图略) ;对照组内皮细胞较多区域内皮细胞脱落 ,暴露内皮下胶原 ,脱落区附近单核细胞大量黏附 ,而假手术组与中药组内皮细胞脱落区明显减少 ,周围仅有少量单核细胞黏附 (见图 1、2 )。

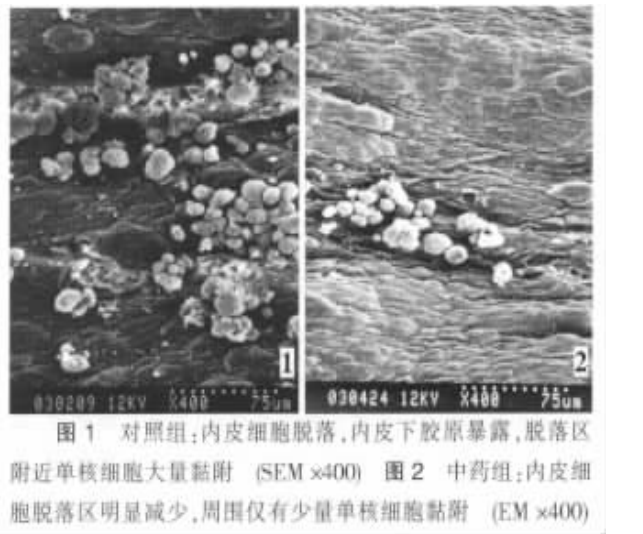


图 1 对照组 :内皮细胞脱落 ,内皮下胶原暴露 ,脱落区附近单核细胞大量黏附 (SEM  $\times 400$ ) 图 2 中药组 :内皮细胞脱落区明显减少 ,周围仅有少量单核细胞黏附 (EM  $\times 400$ )

讨论 有研究表明 ,绝经后妇女雌激素治疗能减少心血管疾病的危险性<sup>[2]</sup> ,因此雌激素曾被广泛认为对心血管系统具有保护作用。然而最近由美国政府资助的妇女健康倡导 (Women 's Health Initiative ,WHI) 一项研究显示 ,与安慰剂组比较 ,HRT 组的冠心病、卒中和肺

栓塞的发病率均有所增加 ,HRT 对心血管病发生并无一级预防作用 ,临床上不宜再将预防心血管病列为 HRT 的适应症。此外 ,AS 性心血管病的高危因素应考虑作为 HRT 的慎用指征或禁忌症<sup>[3]</sup>。因此本研究在成功诱导去势雌兔 AS 的基础上 ,观察了补肾宁心中药复方对去势雌兔 AS 的影响 ,以期应用中药复方防治女性绝经后动脉粥样硬化提供实验依据。

AS 是一种慢性炎症 ,血管内皮细胞慢性损伤是 AS 发生的先决条件及重要机制<sup>[4]</sup> ,内皮功能损害程度和 AS 严重程度成正比 ,NO 水平降低是血管内皮细胞受损的重要特征。来自血液的炎性细胞 (主要为单核/巨噬细胞及淋巴细胞) 对血管壁的浸润在 AS 的发展中起重要作用 ,单核细胞与内皮细胞的黏附并移行于内膜下 ,是 AS 发病的早期病理过程<sup>[5、6]</sup>。本实验结果显示 ,补肾宁心方对去势雌兔血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平无明显影响 ,但其能显著升高发生 AS 的去势雌兔血清中 NO 的水平 ,抑制去势后由于雌激素水平下降所致的主动脉内皮的病理形态学改变 ,减轻病变部位胶原的暴露以及单核细胞的黏附 ,减少主 AS 斑块的形成。由此提示 :补肾宁心方可能是通过抑制单核细胞对内皮细胞的黏附 ,抑制炎症反应的发生发展 ,从而发挥对绝经后血管内皮的保护作用。

中医学认为女子绝经是肾精不足、冲任亏损的表现 ,因此肾虚是女子绝经期及其之后各种病理改变的基础<sup>[7]</sup>。中医学历来有精血同源之说 ,肾藏精 ,心主血脉 ,肾精亏损 ,则心血亦然 ,经络脉管因之而失其所主。因此 ,绝经后动脉粥样硬化的发病机理 ,可用“其本在肾 ,其标在心”来概括 ,治疗应以补肾阴益精血为主。补肾宁心方中的生地、枸杞子滋阴补血 ,益精填髓 ;仙灵脾补肾壮阳 ,酸枣仁宁心安神 ,知母、黄柏生津润燥 ,泻火除蒸 ,泽泻清热利湿。全方阴阳并补而以养阴为主 ,且补中有泻 ,敛中有散 ,较好地针对绝经后妇女的临床实际证候表现。本实验提示以补肾中药为主要成分的补肾宁心方对绝经后血管内皮细胞具有保护作用 ,推测其作用机制可能还包括补肾中药对神经—内分泌—免疫网络的调节<sup>[8]</sup> ,对内皮-单核细胞相互作用的影响以及对雌激素受体的调节等方面 ,尚有待于进一步研究。

参 考 文 献

1 Nathan L , Chaudhuri G. Estrogens and atherosclerosis. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1997 ;37 (4) :477—515.  
2 Barrett-Connor E , Grady D. Hormone replacement therapy , heart disease and other consideration. Annu Rev Public Health

1998 ;19:55—72.

3 Writing Group for the Women 's Health Initiative Investigators. Risk and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women : principal results from the Women 's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 2002 ;288 ( 3 ):321—333.

4 Ross R. Atherosclerosis——an inflammatory disease. N Engl J Med 1999 ;340( 2 ):115—126.

5 Lusis AJ. Atherosclerosis. Nature 2000 ;407( 6801 ):233—241.

6 黄帝内经素问. 北京 :人民卫生出版社 ,1979:334—336. Plain Questions·the Yellow Emperor 's Internal Classic. Beijing :People 's Medical Publishing House ,1979:334—336.

7 沈自尹. 肾的研究 ( 续集 ). 上海 :上海科学技术出版社 ,1990:102—108. Shen ZY. Study of Kidney ( continued ). Shanghai :Shanghai Science-Technology Publishing House ,1990:102—108.

( 收稿 2003 - 07 - 05 修回 2004 - 03 - 10 )

## 生脉注射液对充血性心力衰竭患者血浆 B 型钠尿肽的影响

励伟芬 栾 军 柳 茵 徐 翌 陈玉林 黄洪章

生脉注射液在充血性心力衰竭 ( CHF ) 治疗中起着重要作用。B 型钠尿肽 ( B-type natriuretic peptide , BNP ) 是心功能紊乱时敏感和特异的指标之一。本研究用生脉注射液治疗 CHF 患者 , 并观察治疗前后血浆 BNP 水平的变化 , 从而阐明生脉注射液改善心功能的作用。

### 临床资料

1 病例选择 选择 2003 年 5—11 月在本院心内科住院的 CHF 患者 57 例 , 均符合 WHO 充血性心力衰竭的命名及诊断标准。排除 急性炎症、急性心肌梗死、慢性支气管炎、慢性肝病、肾功能不全及其他器质性心脏病。

2 一般资料 57 例患者按入院前后顺序随机分成两组 , 治疗组 29 例 , 男 16 例 , 女 13 例 , 年龄 50~89 岁 , 平均 ( 72.96 ± 7.52 ) 岁 , 病程 2~12 年 , 平均 7.5 年 ; 心功能 ( 按纽约心脏病学会标准进行分级 ) :Ⅲ级 11 例 ,Ⅳ级 18 例 ; 原发病 : 冠心病 18 例 , 高血压性心脏病 10 例 , 老年性心脏病 1 例 ; 合并症 : 高血压 10 例 , 糖尿病 10 例 , 高脂血症 2 例。对照组 28 例 , 男 16 例 , 女 12 例 , 年龄 52~87 岁 , 平均 ( 73.79 ± 7.15 ) 岁 ; 病程 3~13 年 , 平均 7.9 年 ; 心功能 :Ⅲ级 8 例 ,Ⅳ级 20 例 ; 原发病 : 冠心病 19 例 , 高血压性心脏病 8 例 , 扩张型心肌病 1 例 ; 合并症 : 高血压 9 例 , 糖尿病 11 例 , 高脂血症 1 例。两组资料比较差异无显著性 , 具有可比性。

### 方 法

1 治疗方法 两组均常规使用强心、利尿、血管紧张素Ⅱ转化酶抑制剂 ( ACEI ) 等药物 , 治疗组在常规治疗的基础上同时加用生脉注射液 ( 每毫升含人参 1g、麦冬 3.12g、北五味子 1.56g , 上海和黄药业有限公司生产 ) 60ml 加入 250~500ml 液体中静脉滴注 , 每天 1 次 , 连续使用 15 天。对照组只用常规治疗 , 疗程同治疗组。

2 BNP 测定 于治疗前后采静脉血 2ml , 采用干式快速免疫荧光法检测 , 用 Triage 诊断仪 , 试剂由美国博适 ( Biosite ) 公

司提供。治疗期间监测心率、呼吸、血压等生命体征、心电图变化及不良反应。

3 统计学方法 采用 *t* 检验。

### 结 果

1 两组患者治疗前后血浆 BNP 含量测定结果 见表 1。两组治疗前血浆 BNP 含量比较差异无显著性 , 治疗后均显著下降 ( *P* < 0.01 ) , 两组差值比较差异有显著性 ( *P* < 0.05 ) , 提示加用生脉注射液治疗 CHF 疗效更显著。

表 1 两组患者治疗前后血浆 BNP 含量测定结果比较 ( ng/L  $\bar{x} \pm s$  )

组别	例数	治疗前	治疗后	差值
治疗	29	928.17 ± 534.46	167.56 ± 96.88 *	760.61 ± 433.12 <sup>△</sup>
对照	28	934.35 ± 570.54	383.83 ± 226.69 *	550.52 ± 304.37

注 : 与本组治疗前比较 , \* *P* < 0.01 ; 与对照组差值比较 , <sup>△</sup> *P* < 0.05

2 不良反应情况 治疗组治疗期间未见明显不良反应发生。

讨 论 血浆 BNP 是一种心脏神经激素 , 只在血容量增加和压力负荷增加时反应性的从心室分泌 , BNP 含量的升高可反映左室舒张末压的升高 , 不论是收缩功能不全和舒张功能减低引起的心力衰竭均有此改变 , 是目前 CHF 检测唯一的实验室指标 , 有助于 CHF 诊断、治疗疗效的判断。生脉注射液由人参、麦冬、北五味子组成 , 三药合用 , 一补一清一敛 , 增加心脏泵血功能 , 降低外周阻力 , 增加心肌收缩强度 , 提高心输出量 , 调节并稳定血压 , 减慢心率 , 降低心肌耗氧量 , 改善心肌代谢 , 改善微循环 , 提高心肌耐缺血缺氧的能力。本研究通过在常规抗心衰的基础上加用生脉注射液治疗 CHF , 在治疗前后测定 BNP 值 , 评定其改善心功能的程度 , 并与常规抗心衰治疗的疗效相对比 , 认为生脉注射液在 CHF 治疗过程中 , BNP 值下降更明显 , 有助于改善心功能 , 并未见不良反应发生。

( 收稿 2004 - 01 - 03 修回 2004 - 03 - 26 )