

桃红四物汤调节血管内皮细胞功能及治疗动脉硬化闭塞症的实验研究

李润生^{1*} 李大勇¹ 陈文娜² 马贤德² 张 扬¹ 李雪晶¹

摘要 目的 探讨桃红四物汤调节血管内皮细胞功能、治疗动脉硬化闭塞症(arteriosclerosis obliterans, ASO)的作用。**方法** 采用高脂饮食饲喂及动脉内膜损伤的方法制作大鼠 ASO 模型,随机分为正常组(10 只)、模型组(9 只)、桃红四物汤低浓度组(中药 A 组,12 只)、桃红四物汤中浓度组(中药 B 组,10 只)、桃红四物汤高浓度组(中药 C 组,9 只),造模后 8 周用激光多普勒血流仪观测肢体血流灌注,光镜、透射电镜观察动脉大体形态,Percoll 密度梯度离心法测定循环内皮细胞(circulating endothelial cells,CECs)数量,酶联免疫吸附(ELISA)双抗体夹心法检测血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1、内皮素-1(ET-1)和 NO 水平。**结果** 成功建立了大鼠 ASO 模型,模型组大鼠血脂水平明显升高,左后肢血流灌注量明显下降,外周血中 CECs 数量明显增多,动脉管腔不规则狭窄,血管壁超微结构被破坏,大鼠血清 TNF- α 、IL-1、ET-1 水平均明显升高,NO 水平明显降低,与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,中药 B 组和中药 C 组的上述各项指标均有明显改善,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论** 内皮细胞损伤及分泌功能的异常是 ASO 发生的重要病理过程,桃红四物汤能够保护血管内皮细胞,改善血管内皮细胞的分泌功能,是 ASO 的有效治疗方药。

关键词 桃红四物汤;动脉硬化闭塞症;内皮细胞;循环内皮细胞

Taohong Siwu Decoction Regulated Functions of Endothelial Cells and Treated Arteriosclerosis Obliterans: an Experimental Study LI Run-sheng¹, LI Da-yong¹, CHEN Wen-na², MA Xian-de², ZHANG Yang¹, and LI Xue-jing¹ 1 Department of Vascular Surgery, First Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang (110032), China; 2 Centre for Experimental Teaching, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang (110847), China

ABSTRACT Objective To discuss the effect of Taohong Siwu Decoction (TSD) in regulating functions of endothelial cells and treating arteriosclerosis obliterans (ASO). **Methods** The ASO model was prepared by using high-fat diet plus intimal injury. They were randomly divided into the model group ($n = 10$), the normal control group ($n = 9$), the low dose TSD group (group A, $n = 12$), the middle dose TSD group (group B, $n = 10$), and the high dose TSD group (group C, $n = 9$). Eight weeks after modeling, the limb blood perfusion was observed using laser Doppler flowmetry. The arterial morphology was observed using light microscope and transmission electron microscope. The number of circulating endothelial cells (CECs) was determined using Percoll density gradient centrifugation method. Serum levels of TNF- α , IL-1, ET-1, and NO were detected using double antibody sandwich assay of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The ASO rat model was successfully established. Blood lipids levels significantly increased, the blood perfusion of left hind limbs significantly decreased, the number of CECs in the peripheral blood significantly increased, the arterial lumen was irregularly narrowed, the ultra-structure of vessel walls was damaged, serum levels of TNF- α , IL-1, and ET-1 significantly increased, and the serum level of

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81173273);辽宁省自然科学基金资助项目(No. 201202154);辽宁省高等学校优秀人才支持计划项目(No. LJQ2012083);沈阳市科学技术项目(No. F12-277-1-73)

作者单位:1. 辽宁中医药大学附属医院血管外科(沈阳 110032);2. 辽宁中医药大学教学实验中心(沈阳 110847)

通讯作者:李大勇, Tel: 024-86291229, E-mail: sylidy@126.com

* 现在大连大学中山医院血管外科(辽宁大连 116001)

DOI: 10. 7661/CJIM. 2014. 02. 0191

NO significantly decreased in the model group, showing statistical difference when compared with the normal control group ($P < 0.01$). Compared with the model group, significant improvement in the aforesaid indices was shown in group B and C ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusions** The injury and abnormal functions of endothelial cells is an important pathological process of ASO. As an effective recipe for treating ASO, TSD could protect vascular endothelial cells and improve the secretion function of vascular endothelial cells.

KEYWORDS Taohong Siwu Decoction; arteriosclerosis obliterans; endothelial cell; circulating endothelial cell

动脉硬化闭塞症(arteriosclerosis obliterans, ASO)是动脉粥样硬化所致的慢性动脉闭塞性疾病,是全身动脉硬化性病在下肢的重要表现,亦是周围动脉疾病的重要组成部分^[1,2]。70 岁以上人群 ASO 的发病率在 15%~20%,其中 20% 的患者会出现包括间歇性跛行、静息痛、缺血性溃疡及末端肢体坏疽在内的典型症状^[3]。本病属于中医“脱疽”的范畴,临床上往往以活血化瘀药物贯穿治疗的始终,希望建立侧支循环,改善肢体供血^[4]。本实验拟通过大鼠 ASO 模型,探讨活血化瘀中药复方桃红四物汤对动脉内皮细胞功能的影响及对 ASO 的治疗作用。

材料与方法

1 动物 8~10 个月龄清洁级 Wistar 大鼠 50 只,体质量(200 ± 20)g,由辽宁中医药大学实验动物中心提供,实验动物质量合格证号 SCXK(辽)2010-0017。

2 实验试剂及仪器 酶联免疫吸附(ELISA)双抗体夹心法检测试剂盒均购自上海越研生物技术有限公司,白细胞介素-1(IL-1,批号:AE98022Ra),肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,批号:AE90133Ra),内皮素-1(ET-1,批号:AE90650Ra),一氧化氮(NO)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所(批号:201209)。兔抗鼠抗 VIII 因子-FITC 抗体购自武汉博士德生物公司。电热恒温培养箱(HH·B11·500,上海跃进医疗器械有限公司),微量移液器(Thermo,美国泰尔茂公司),酶标仪(Anthos2010,奥地利),多通道激光多普勒血流检测仪(Moor VMS,英国),透射电镜(JEM-1200EX,日本),荧光显微镜(Leica,德国),生化分析仪(日立 7600,日本),胰岛素注射器(贝朗,德国)。

3 药物 高脂饲料组成:62.8%基础饲料、20%猪油、150 g/L 胆固醇、20 g/L 胆酸钠及 2 g/L 丙基硫氧嘧啶。桃红四物汤按原方的组方比例,并根据体表面积比率折算出 200 g 大鼠的等效用药剂量作为桃红四物汤中浓度组,另取其 1/2 剂量和 2 倍剂量作为桃红四物汤低浓度和桃红四物汤高浓度组,于辽宁中医药大学附属医院药剂科统一购买饮片,并请辽宁中医药大学王

淑清教授鉴定,符合《中华人民共和国药典》(2005 版)各项的规定。纯净水煎 3 次,时间分别为 1.5 h、1 h 和 45 min,合并煎煮液后过滤并浓缩至预定浓度,4℃冰箱保存。桃红四物汤组的最终浓度分别为:0.5 g 生药/mL、1.0 g 生药/mL、2.0 g 生药/mL。实验过程中每次中药制剂均按同一标准进行。

4 模型制作、分组及给药方法 联合采用高脂饮食喂饲及隐动脉内膜损伤的方法制作大鼠 ASO 模型^[5]。实验前适应性喂养 1 周,排除饮食异常大鼠,高脂饮食喂饲 1 周后于清洁动物实验室内用 10% 水合氯醛(300 mg/kg)腹腔注射麻醉,每只大鼠均取左后肢消毒。从腹股沟中点向后肢内侧纵行切开皮肤,分离并暴露隐动脉,动脉夹阻断隐动脉远、近端共 1.5~2.0 cm,取胰岛素注射器 1 支,沿隐动脉血管长轴从远端向近端刺入血管腔,将 0.2~0.3 mL 注射用无菌蒸馏水缓慢注入阻断部位血管,至血管充盈为止。5 min 后取下针头和动脉夹,压迫止血,缝合切口。内膜损伤模型完成后继续每日饲喂高脂饮食,并应用维生素 D3(30 万 U/kg),右后肢肌肉注射。共制作大鼠 ASO 模型 40 只,采用随机数字表法分为模型组(9 只)、桃红四物汤低浓度组(中药 A 组,12 只)、桃红四物汤中浓度组(中药 B 组,10 只)、桃红四物汤高浓度组(中药 C 组,9 只)。另取 10 只清洁级 Wistar 大鼠作为正常组。造模后次日,每组均予相应浓度的中药制剂 3 mL 灌胃,模型组予生理盐水 3 mL 灌胃,每日 1 次,直至造模后 8 周。

5 标本收集 肢体血流灌注检测完成后,麻醉大鼠方法同前,腹部消毒,剪开皮肤,由腹主动脉采血 4~5 mL,分为 2 份,1 份于肝素钠抗凝管中待测循环内皮细胞(circulating endothelial cells,CECs);余 1 份 2 500 r/min 离心 5 min 后,分离出血清分装于-80℃保存,用于血脂及免疫学检测。游离出左隐动脉上段,剪下约 1 cm,分成 2 部分,分别于 4% 多聚甲醛溶液和 2.5% 戊二醛溶液中固定保存。

6 主要观察指标

6.1 肢体血流灌注测定 在每组大鼠的实验终

点,用激光多普勒血流仪记录每只大鼠左后肢的血流灌注量、血细胞浓度、血流速度和皮肤温度。

6.2 大鼠血管壁普通病理学及超微结构观察
多聚甲醛固定的血管制成蜡块,常规病理切片、HE 染色进行病理学观察。戊二醛固定的血管以 PBS 漂洗,1% 锇酸再固定, PBS 漂洗,梯度酒精(30% ~ 100%)、100% 丙酮脱水, Epon 812 浸透、包埋、聚合,半薄切片定位血管,超薄切片 70 nm,醋酸铀、柠檬酸铅染色,透射电镜下观察、摄片。

6.3 CECs 检测 取 1.5 mL 淋巴细胞分离液于离心管中,将 1 mL 肝素钠抗凝管中外周血用玻璃吸管缓慢加入淋巴细胞分离液面上部,1 800 r/min 离心 15 min,弃去上层血浆层,尽量取出全部第 2 层环状乳白色淋巴细胞层,加 PBS 液混匀,1 300 r/min 离心 5 min,弃上清液,取下层细胞悬液,滴于血细胞计数池中,光镜下计数 9 个大方格的 CECs 数,同一标本计数 4 次,取平均值(单位为 cells/0.9 μ L)。另取下层细胞悬液 100 μ L,加入 500 μ L 多聚甲醛 4 $^{\circ}$ C 固定 10 min,取 50 μ L 备测细胞悬液于专用 EP 管中,加入 2 μ L 兔抗鼠抗 VIII 因子-FITC 抗体,振荡混匀,室温避光孵育 30 min,加入 PBS 液混匀,1 300 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 50 μ L PBS 液重悬细胞,于荧光显微镜下观察阳性细胞(表达绿色荧光)。

6.4 血脂及内皮细胞功能指标检测 应用生化分析仪测定血脂情况,包括血清胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)。采用 ELISA 双抗体夹心法对各组大鼠血清中 IL-1、肿瘤坏死因子-1(TNF- α)、内皮素-1(ET-1)的含量进行检测,具体检测过程严格按照试剂盒中说明书步骤进行操作,于 450 nm 处检测各孔吸光度(OD)值,根据标准品浓度及相应 OD 值拟合标准曲线及方程,计算各检测孔中待测因子的浓度。采用化学法对各组大鼠血清中 NO 含量进行检测。具体检测过程严格按照试剂盒中说明书步骤进行操作,于 540 nm 比色,根据公式计算各待测样本中 NO 含量。

7 统计学方法 用 SPSS 11.0 进行统计描述和分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组一般状态比较 各组大鼠均成活至标本采集,造模后恢复较好,切口愈合良好。造模后 1 周以

内,各组均有部分大鼠患侧肢体呈拖拉步态,但 1 周后均逐渐恢复正常。

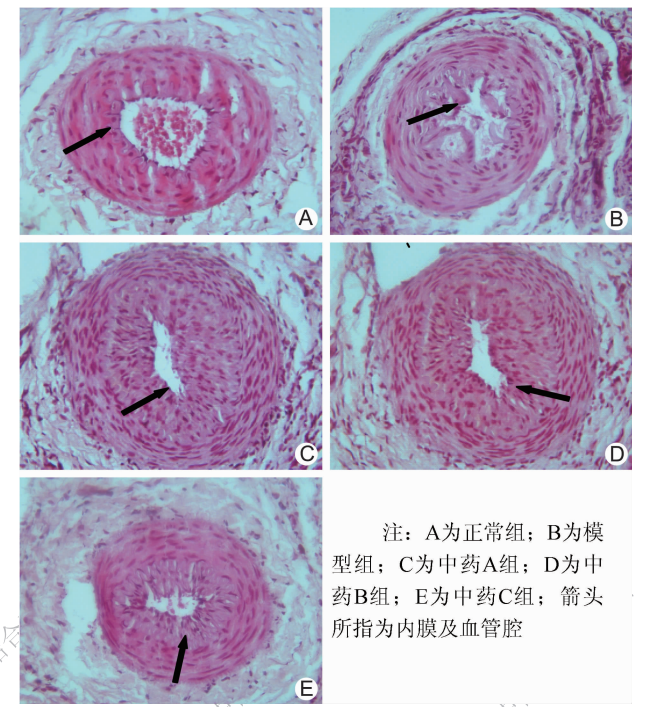
2 各组大鼠左后肢血流灌注量、血细胞浓度、血流速度及皮肤温度情况比较(表 1) 与正常组比较,模型组大鼠左后肢血流灌注量及血细胞浓度明显下降,差异有统计学意义(*P* < 0.01)。与模型组比较,中药 B、C 组大鼠后肢血流灌注明显改善,差异有统计学意义(*P* < 0.01);中药 B、C 组血细胞浓度明显增高,差异有统计学意义(*P* < 0.05,*P* < 0.01)。各组血流速度及皮肤温度差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 1 各组大鼠左后肢血流灌注检测情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	血流灌注量 (PU)	血细胞浓度 (con)	血流速度 (mm/s)	皮肤温度 ($^{\circ}$ C)
正常	10	107.9 $\pm$ 9.2	267.0 $\pm$ 23.5	19.9 $\pm$ 2.1	29.4 $\pm$ 0.5
模型	9	65.7 $\pm$ 5.4 *	187.0 $\pm$ 16.7 *	18.5 $\pm$ 1.5	28.3 $\pm$ 0.3
中药 A	12	73.5 $\pm$ 7.2	199.0 $\pm$ 18.4	18.5 $\pm$ 1.7	28.3 $\pm$ 0.3
B	10	92.8 $\pm$ 9.9 $\Delta\Delta$	210.0 $\pm$ 21.3 Δ	18.7 $\pm$ 2.0	28.8 $\pm$ 0.6
C	9	97.2 $\pm$ 9.1 $\Delta\Delta$	231.0 $\pm$ 24.7 $\Delta\Delta$	18.9 $\pm$ 2.4	29.2 $\pm$ 0.6

注:与正常组比较,**P* < 0.01;与模型组比较, Δ *P* < 0.05, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01

3 各组大鼠隐动脉病理学情况比较(图 1) 正常组大鼠隐动脉内皮细胞、内弹力板及平滑肌细胞均排列规整,血管腔未见狭窄;模型组大鼠隐动脉管腔不规则狭窄,动脉壁内皮细胞、内弹力板及平滑肌细胞均排列紊乱;中药 A、B 组大鼠隐动脉壁组织结构趋于改善,管腔逐渐扩大;中药 C 组大鼠隐动脉管腔狭窄程度明显减轻。



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为中药 A 组; D 为中药 B 组; E 为中药 C 组; 箭头所指为内膜及血管腔

图 1 各组大鼠隐动脉病理学比较 (HE, $\times 100$)

4 各组大鼠血管壁超微结构比较(图 2) 正常组大鼠内皮细胞形态完整,覆于血管腔面,内弹力板清晰,无破坏;模型组大鼠内皮细胞不连贯,内膜不完整,内皮下层暴露于血管腔面,内弹力板部分破坏,平滑肌细胞变形,核浓聚,并向内膜迁移;中药 A、B 组大鼠血管壁内皮细胞、平滑肌细胞增生活跃,细胞器增多,细胞核的形态有所改善;中药 C 组大鼠动脉内皮细胞排列较为规则,弹力板连续。

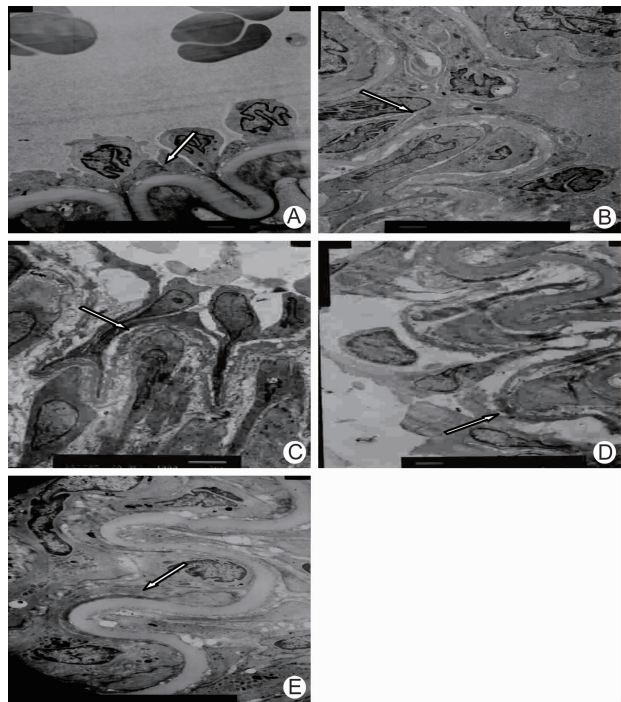


图2 各组大鼠血管壁超微结构比较(×3 000)

5 各组大鼠血脂水平比较(表 2) 与正常组比较,模型组大鼠的 TC、TG、LDL-C 水平明显升高,HDL-C 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,中药 B、C 组 TC、TG 水平明显下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$),但 LDL-C、HDL-C 的变化不明显($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠血脂水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)					
组别	n	TG	TC	LDL-C	HDL-C
正常	10	0.55 ± 0.07	2.71 ± 0.24	1.21 ± 0.17	1.81 ± 0.19
模型	9	1.88 ± 0.21 *	9.01 ± 0.93 *	7.54 ± 0.69 *	1.03 ± 0.11 *
中药 A	12	1.65 ± 0.16	8.18 ± 0.73	6.42 ± 0.54	0.77 ± 0.09
B	10	1.14 ± 0.10 Δ	5.49 ± 0.61 Δ	6.84 ± 0.57	0.96 ± 0.13
C	9	0.85 ± 0.08 Δ	4.28 ± 0.50 Δ	5.76 ± 0.63	1.13 ± 0.14

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,Δ $P < 0.05$

6 各组大鼠 CECs 数量比较(图 3,表 3) 正常组外周血中 CECs 数量极少。与正常组比较,模型组大鼠外周血中 CECs 数量明显增多,差异有统计学意

义($P < 0.01$)。与模型组比较,中药 B 组 CECs 数量下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);中药 C 组 CECs 数量下降明显,差异有统计学意义($P < 0.01$)。Ⅷ因子相关抗原免疫荧光染色发现阳性细胞超过 95%。

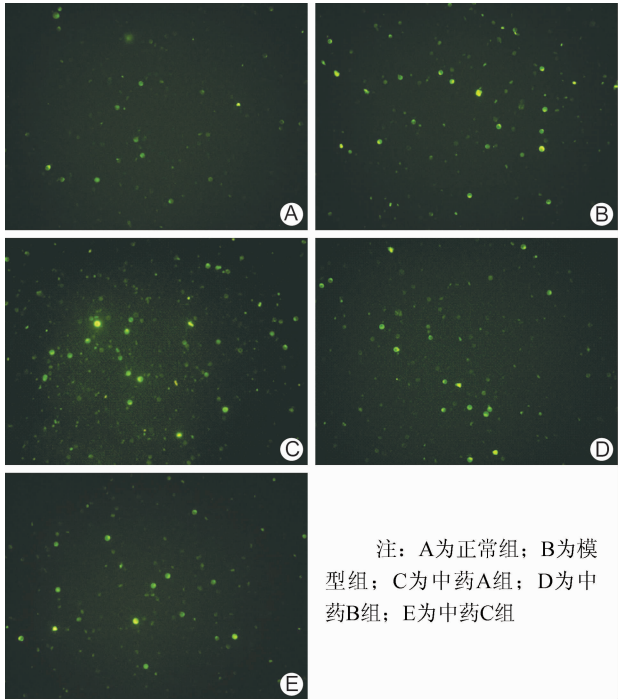


图3 各组大鼠 CECs 数量比较 (荧光免疫细胞化学,×200)

7 各组大鼠血清 TNF-α、IL-1、ET-1 及 NO 水平比较(表 3) 与正常组比较,模型组大鼠的血清 TNF-α、IL-1、ET-1 水平均明显升高,血清 NO 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,中药 B、C 组血清中的 TNF-α、IL-1、ET-1、NO 水平均有改善,以中药 C 组的变化最为明显,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

讨 论

目前尚缺乏经典的 ASO 动物模型,但脂质代谢紊乱结合免疫损伤的方法值得重点关注。大鼠具有饲养方便、抵抗力强,食性与人相近的特点,能够用于动脉粥样硬化的研究。本实验中给大鼠饲喂高脂饮食,其中胆酸钠能明显增加大鼠对胆固醇的吸收,丙基硫氧嘧啶能减少胆固醇的代谢,血中 TC、TG、LDL-C 的含量明显升高^[6]。予维生素 D3 注射后,血钙浓度迅速升高,加速了动脉粥样硬化的进程,再结合蒸馏水损伤动脉内膜,能在短时间内制成 ASO 模型,该模型能较好地模拟人 ASO 的病理变化^[5]。

表 3 各组大鼠 TNF- α 、IL-1、ET-1、NO 水平及 CECs 数量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α (ng/L)	IL-1 (ng/L)	ET-1 (ng/L)	NO (μ mol/L)	CECs (cells/0.9 μ L)
正常	10	13.11 $\pm$ 1.23	73.94 $\pm$ 6.25	35.24 $\pm$ 2.98	19.39 $\pm$ 1.51	0.9 $\pm$ 0.2
模型	9	31.29 $\pm$ 2.68 *	119.24 $\pm$ 11.25 *	90.98 $\pm$ 8.73 *	12.72 $\pm$ 1.04 *	5.1 $\pm$ 1.6 *
中药 A	12	29.18 $\pm$ 2.45	108.42 $\pm$ 10.13	70.88 $\pm$ 8.13	13.64 $\pm$ 1.03	3.1 $\pm$ 1.2
B	10	25.37 $\pm$ 2.33	94.75 $\pm$ 9.17 Δ	57.16 $\pm$ 6.71 $\Delta\Delta$	13.67 $\pm$ 1.55	2.8 $\pm$ 1.0 Δ
C	9	17.65 $\pm$ 1.87 $\Delta\Delta$	88.64 $\pm$ 9.13 $\Delta\Delta$	51.48 $\pm$ 5.68 $\Delta\Delta$	15.87 $\pm$ 1.49 $\Delta\Delta$	2.2 $\pm$ 1.0 $\Delta\Delta$

注:与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

现代药理研究证实,活血化瘀法具有抑制血小板聚集,改善血液流变学,控制动脉壁炎性细胞浸润,抑制血栓形成,平衡微量元素代谢等作用,是动脉粥样硬化及其冠心病、ASO 等多种并发症的主要治疗原则^[7]。桃红四物汤出自《医宗金鉴》,具有养血、活血、逐瘀之功效,是脱疽血脉瘀阻证的治疗主方^[4],但其治疗肢体缺血性疾病的机制尚缺少系统研究。

在 ASO 的发病过程中,动脉内斑块的形成导致血管腔不同程度的狭窄甚至闭塞,影响了肢体的供血,在临床上出现明显的发凉、麻木、跛行甚至肢体坏疽^[8,9]。本实验中大鼠肢体血流灌注和光镜、电镜的病理学检测发现,造模后 8 周,肢体血流灌注下降,动脉管腔不规则狭窄,动脉壁内皮细胞、内弹力板及平滑肌细胞均排列紊乱,应用桃红四物汤治疗后,动脉管腔狭窄程度明显减轻,内皮细胞、平滑肌细胞排列规则,弹力板连续,血流灌注量亦明显提高。血脂结果发现,中、高浓度的桃红四物汤能够明显降低甘油三酯、胆固醇的水平,表明本方能通过活血化瘀的作用荡涤血中“膏脂湿浊”,改善血液的流动性。因此,有效降脂、改善动脉硬化斑块狭窄、增加动脉管腔的供血面积,可能是桃红四物汤用于治疗冠心病、ASO 等动脉粥样硬化各种并发症的机制之一,与《素问·调经论》中“病在脉,调之血”的观点不谋而合。目前国内有学者通过检测乳腺癌患者治疗前后微血管密度(MVD)、血管内皮生长因子-A(VEGF-A)、血管内皮生长因子受体-1 的表达,发现桃红四物汤能抑制乳腺癌患者肿瘤血管生成^[10];亦有学者发现桃红四物汤在骨折愈合过程中,具有正向调高 VEGF mRNA 转录水平,促进微血管新生增殖,达到促进骨折愈合的作用^[11]。因此在治疗 ASO 时,桃红四物汤发挥的究竟是促血管生成作用还是抗血管生成作用,尚待进一步实验证明。

CECs 是指能够在外周血中测得的血管内皮细胞。正常人体内 CECs 的数量非常少,然而在内皮受损的病理状态下,循环内皮细胞会发生数量的变化,CEC 是目前在活体内唯一可以直接反映血管内皮损伤的标志物^[12]。血管内皮的损伤,可启动一系列反应

来诱导动脉粥样硬化的发生,也是 ASO 的早期病理过程之一^[13,14]。本实验采用密度梯度离心的方法检测发现,造模后大鼠外周血中 CECs 的数量明显增多,表明内皮细胞的损伤与 ASO 的发病存在密切关系。应用桃红四物汤后,各组血清中 CECs 的数量明显下降,提示了本方能够“祛瘀而不伤正”,减轻血管内皮的损伤,并对血管内皮产生较好的保护性作用。

ET-1 是由血管内皮细胞分泌的一种强有力的收缩肽,具有强烈的缩血管和促细胞增殖作用^[15],血管内皮损伤时,ET-1 合成和释放增加;NO 亦由血管内皮细胞分泌,是能阻止动脉粥样硬化病程发展的内皮保护因子^[16]。模型组大鼠血清中 ET-1 的水平显著升高,NO 的水平明显下降,进一步证实了内皮细胞功能受损,且血管内皮保护性因子缺乏是 ASO 早期的重要病理过程。动脉粥样硬化又是一种与炎症反应密切相关的疾病,促炎因子 TNF- α 、IL-1 是炎症反应中重要的启动因子,可以促进中性粒细胞对血管壁的黏附及平滑肌细胞增生,活化凝血因子,进而诱发动脉粥样硬化^[17]。造模后二者的表达水平明显升高,提示了炎症因子引发的炎症反应在 ASO 的发病中亦具有重要作用。

综上,桃红四物汤治疗后血管壁的病理学改变明显改善,且 ET-1、TNF- α 和 IL-1 的含量明显下降,NO 的含量明显升高,表明了本方具有保护血管内皮细胞,抑制促炎细胞因子的分泌,改善血管内皮细胞分泌的功能,能够从始动环节干预 ASO 的级联反应,是 ASO 早期、中期有效的治疗药物之一。

参 考 文 献

- [1] Moriya J, Minamino T, Tateno K, et al. Long-term outcome of therapeutic neovascularization using peripheral blood mononuclear cells for limb ischemia [J]. Circ Cardiovasc Interv, 2009, 2 (3): 245-254.
- [2] Aronow WS. Office management of peripheral arterial disease [J]. Am J Med, 2010, 123 (9): 790-792.

- [3] Selvin E, Erlinger TP. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999 – 2000 [J]. *Circulation*, 2004, 110(6): 738 – 743.
- [4] 李曰庆,何清湖主编. 中医外科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012:314 – 318.
- [5] 车兆义,宋清斌,张继文,等. 大鼠动脉硬化闭塞模型两种构建方法的比较[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(50): 9841 – 9844.
- [6] 李迎新,黄霖. 动脉粥样硬化动物模型制作方法的介绍[J]. *中国比较医学杂志*, 2008, 18(5): 70 – 73.
- [7] 孔增科,周海平,付正良主编. 常用中药药理与临床应用[M]. 赤峰: 内蒙古科学技术出版社, 2005:257 – 286.
- [8] 张立燕,张大伟,吴学君,等. 动脉硬化闭塞症患者股动脉粥样硬化斑块中血小板源生长因子 A 链的表达[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, 14(1): 61 – 63.
- [9] 化金凤,索炜,李廷荃. 动脉硬化闭塞症的中医治疗研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(2): 211 – 212.
- [10] 杨海燕,童彩玲,楚爱景,等. 桃红四物汤对乳腺癌血管生成的影响[J]. *广州中医药大学学报*, 2012, 29(6): 623 – 626.
- [11] 熊辉,左亚杰,罗志勇,等. 桃红四物汤对实验性骨折愈合过程中 VEGF mRNA 表达的影响[J]. *中医正骨*, 2004, 16(4): 8 – 9.
- [12] Eleftheriou D, Ganesan V, Hong Y, et al. Endothelial injury in childhood stroke with cerebral arteriopathy: a cross-sectional study [J]. *Neurology*, 2012, 79(21): 2089 – 2096.
- [13] Xu Y, Gong B, Yang Y, et al. Adenovirus-mediated overexpression of glutathione-s-transferase mitigates transplant arteriosclerosis in rabbit carotid allografts [J]. *Transplantation*, 2010, 89(4): 409 – 416.
- [14] 乔凯明,于亚娜,郝琳,等. 人体科学阴阳观与肢体动脉硬化闭塞症诊治思路探讨[J]. *现代中西医结合杂志*, 2011, 20(30): 3839 – 3842.
- [15] Raina A, Horn ET, Benza RL. The pathophysiology of endothelin in complications after solid organ transplantation: a potential novel therapeutic role for endothelin receptor antagonists [J]. *Transplantation*, 2012, 94(9): 885 – 893.
- [16] Madden JA. Role of the vascular endothelium and plaque in acute ischemic stroke [J]. *Neurology*, 2012, 79(13 Suppl 1): S58-S62.
- [17] Jeong YJ, Cho HJ, Whang K, et al. Melittin has an inhibitory effect on TNF- α -induced migration of human aortic smooth muscle cells by blocking the MMP-9 expression [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(11): 3996 – 4002.

(收稿:2013-02-25 修回:2013-11-10)

关于举办“中医药科研设计与 SCI 论文写作培训班”的通知

《Chinese Journal of Integrative Medicine》创办于 1995 年创刊,主编为陈可冀院士,是我国第一本被 SCI 收录的中医、替代医学及结合医学领域的杂志。2013 年 6 月公布本刊最新影响因子为 1.059,较以往继续稳步提升,在补充替代医学杂志领域学科排名也由 2012 年的 16 名上升至 12 名。

为进一步提高我国中医、中西医结合临床医生、科研人员的科研设计及 SCI 论文写作技巧,促进科研成果转化,编辑部拟于 2014 年 4 月 19-20 日于南京召开“中医药科研设计与 SCI 论文写作培训班”。会议将针对不同类型文章写作方法进行授课,将邀请陈可冀院士等国内外知名教授进行授课。同时,编辑部将会对作者稿件中常见问题进行分析及解答。详情请登录 www.cjim.cn 查看。