

三七总皂苷减少高脂血症兔动脉壁损害作用的实验研究

官兵¹⁾, 韦旭斌¹⁾, 刘国光²⁾, 普俊学²⁾, 刘一丹²⁾, 杨兆祥²⁾

(1) 昆明医科大学第二附属医院心内三科, 云南昆明 650101; 2) 昆明制药集团股份有限公司药物研究院, 云南昆明 650100)

[摘要] **目的** 观察三七总皂苷 (PNS) 减少高脂血症兔动脉壁损害作用。 **方法** 将健康新西兰兔随机分为正常对照组 (NC)、动脉粥样硬化模型组 (HC)、PNS 中剂量治疗组 (MD) 及 PNS 高剂量治疗组 (HD), NC 组喂饲普通饲料, 后 3 组喂食 1.5% 高胆固醇饲料。 PNS 治疗组 HD、MD 分别采取静脉注射给药法经兔耳静脉注射 PNS 100、50 mg/(kg·d), 于第 3~4 周第 7~8 周以及第 11~12 周每隔 14 d 给药 PNS 3 个疗程。 于 12 周结束由耳缘静脉取血酶法测定血脂含量, 摘取主动脉通过光镜和电镜观察病理学改变。 **结果** 三七总皂苷能显著抑制血清总胆固醇 (TC), 低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平的下降 ($P < 0.05$)。 **结论** 三七总皂苷对实验性动脉粥样硬化的形成有抑制作用。

[关键词] 三七总皂苷; 高胆固醇血症; 动脉粥样硬化

[中图分类号] R541.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2014) 06 - 0029 - 04

Experimental Study on Protecting Effect of Total Saponins of Panax Notoginseng against Damage of Arterial Wall in Rabbit Caused by Hyper-lipemia

GUAN Bing¹⁾, WEI Xu-bin¹⁾, LIU Guo-guang²⁾, PU Jun-xue²⁾, LIU Yi-dan²⁾, YANG Zhao-xiang²⁾

(1) Dept. of Cardiology, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101; 2) Drug Research Institute, Kunming Pharmaceutical Corporation Limited, Kunming Yunnan 650100, China)

[Abstract] **Objective** To study the protecting effect of Total Saponins of Panax Notoginseng (PNS) on arterial wall in Hyperlipidemic rabbit model. **Methods** New Zealand rabbits were randomized into four groups: normal control group (NC) fed with common diet for 12 weeks; Hypercholesterolemia group (HC), medium-dose PNS group (MD, PNS 50 mg/(kg·d) and high-dose PNS group (HD, PNS 100 mg/(kg·d), fed with 1.5% cholesterol for 12 weeks. In MD and HD groups, PNS was injected from 3th to 4th weeks for 2 weeks, 7th to 8th weeks for 2 weeks, and 11th to 12th weeks for 2 weeks. The plasma levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were measured at the end of 12th week of experiment. Light microscopy and transmission electron microscopy were adopted to assess the degree of pathologic damage of arterial wall. **Result** PNS could reduce the levels of serum TC and LDL-C, as compared with the HC group, $P < 0.05$. **Conclusion** PNS has effect of inhibiting development of experimental atherosclerosis.

[Key words] Total saponins of panax notoginseng; Hypercholesterolemia; Atherosclerosis

[基金项目] 云南省卫生厅中医药科研基金资助项目 (NO.000016)

[作者简介] 官兵(1962~),男,四川荣县人,医学学士,副主任医师,主要从事心血管病及老年病的临床及教学工作。

[通讯作者] 刘国光. E-mail:lgg_power@163.com

三七皂苷 (total saponins of panax notoginseng, PNS) 对多种心血管疾病有良好的预防和治疗作用, 而动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 形成是导致这些疾病发生、加重的关键环节. AS 病理结构变化是以大、中动脉壁内皮细胞功能障碍及损坏脱落, 以及内皮下脂质沉积、炎症反应, 动脉壁中层平滑肌细胞增殖与迁移为主从而导致动脉壁 AS 病灶形成的病理改变. PNS 对抗 AS 实验多以口服灌胃施行, 其生物利用度低, 已有通过改变剂型提高其口服生物利用度的报道^[1], 而本研究通过静脉给 PNS 方法以提高生物利用度增强疗效观察 PNS 对兔高脂血症导致的 AS 病变影响, 减少动脉内膜厚度及其超微结构的损伤, 起到抗 AS 作用, 为临床应用 PNS 防治心脑血管病提供实验依据.

1 材料与方法

1.1 实验动物及模型建立

健康纯种新西兰兔 35 只, 体重 2.1 ~ 3.2 kg (云南制药集团股份公司实验动物中心提供), 常规饲养 1 周后称重, 并随机分为 4 组: 正常对照组 (NC 组, 8 只), 喂饲标准饲料; 高脂血症模型组 (HC, 9 只), 喂饲标准饲料加 1.5%胆固醇粉 (分析纯由上海化学试剂供应站提供); PNS 中剂量治疗组 (MD, 9 只): 每天高脂饲料 (普通颗粒标准饲料 + 1.5%胆固醇) + PNS 静脉注射 50 mg/kg; PNS 高剂量治疗组 (HD, 9 只): 每天高脂饲料 + PNS 静脉注射 100 mg/kg. 4 组平行试验 12 周, MD 组、HD 组于试验过程中第 4 ~ 5、7 ~ 8、11 ~ 12 周每天由兔耳静脉注射给 PNS 3 个疗程. 实验第 12 周末动物经静脉抽血后空气栓塞处死取出主动脉制作光镜及电镜标本.

1.2 观察指标及测定方法

1.2.1 血脂测定 全部动物 12 周末处死前耳中央动脉采血 2 mL 测血脂浓度, 血清甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC) 及低密度脂蛋白 (LDL-C) 及高密度脂蛋白 (HDL-C) 测定采用酶法.

1.2.2 主动脉病理观察 光镜观察: 动物处死后立即将主动脉取出, 剪除外膜附着组织, 10%福尔马林固定, 切取胸动脉上段 2 cm、常规石蜡切片, HE 染色, 制作光镜标本. 经 Olympus BX50 光学显微镜观察及 Mias-2000 型图像分析系统法分析光镜标本. 电镜观察: 每组随机取 3 份主动脉标本 1 cm, 用 2.5%戊二醛固定后经 LKBV 型超薄切片机切片, JEOL100CX 透射电镜进行的超微结构成像, 观察主动脉血管壁组织及细胞形态学改变.

1.3 统计学处理

采用 SPSS 分析数据. 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用方差分析比较, 两组间的比较用 q 检验.

2 结果

2.1 动物的一般情况

实验中大部分动物健康状况良好, 其中, 中、高剂量 PNS 组在 10 周因肺部感染、腹泻等原因各死亡 1 只动物. 实验结束时动物存活 32 只 (NC 组 8 只, HC 组 9 只, MD 组 8 只, HD 组 8 只).

2.2 PNS 对家兔血脂的影响

12 周末, HC 组血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 均显著高于 N 组 ($P < 0.05$), 说明造模成功. 静脉注射 PNS 2 组动物, 12 周后与 HC 组比较, MD 组 HD 组的 TC 和 LDL-C 显著降低 ($P < 0.05$), 而 TG 和 HDL-C 却无显著性差异 ($P > 0.05$); MD、HD 组组间比较无显著性差异 ($P > 0.05$), 说明 PNS 能明显抑制 TC 和 LDL-C 的上升趋势 (表 1).

2.3 主动脉病理观察

2.3.1 光镜观察 4 组动物的主动脉中膜厚度无显著性差异 ($P > 0.05$). 内膜厚度及内膜厚度 / 中膜厚度比, HC 组高于 MD 组与 HD 组 ($P < 0.05$), 但 MD、HD 组也高于 NC 组 ($P < 0.05$), 见表 2. 提示 PNS 可减少实验性高脂血症所诱发的动脉内膜增生.

HE 染色显示, 空白对照 N 组主动脉内膜光滑、连续, 内皮细胞完整, 排列整齐, 无脂质沉积; 内弹力膜清晰完好; 中膜由平滑肌细胞 (见 SMC) 组成, 排列整齐; 外弹力膜完整 (见图 1A). HC 组血管内膜内皮细胞不完整, 内膜不均匀明显增厚且含有 10 ~ 20 层泡沫细胞, 底部泡沫细胞发生变性坏死及脂质沉积形成空泡; 内弹力膜消失; 中膜 SMC 增殖, 排列紊乱向内膜迁移, 并可见到大量泡沫细胞及纤维结缔组织 (见图 1B). 其他两不同剂量 PNS 治疗组内膜轻度增厚, 泡沫细胞少量, 内弹力膜尚清晰完整, 中膜 SMC 排列尚整齐, 外膜改变明显减轻 (见图 1C、1D).

2.3.2 电镜观察 NC 组主动脉内膜等结构完整, 基底膜清晰可见, 未见任何脂滴空泡, 中膜浅层肌细胞内各细胞器及微肌纤维均可见, 未见脂滴空泡 (见图 2A). HC 组血管内膜层见大量脂滴空泡, 甚至形成脂囊的泡沫细胞 (见图 2B、2C), 平滑肌细胞大量空泡样变性、线粒体嵴消失、部分吞噬脂质, 平滑肌细胞被大量胶原纤维所包围 (见图

2D)。两不同剂量 PNS 治疗组血管内皮细胞肿胀、变性, 其内未见明显脂滴空泡, 但基底膜完整胶原纤维增生少见各种细胞器存在, 内弹力膜存在 (图 2E), 中层平滑肌细胞质内少量脂滴空泡, 均

可见细胞器及微肌丝 (见图 2F), 提示 PNS 静脉注射治疗可减轻高脂血症所致的血管壁超微结构损害。

表 1 高脂饮食对兔血脂的影响及不同药物的干预作用 $[(\bar{x} \pm s), \text{mmol/L}]$

Tab. 1 Effects of high fat diet on blood lipid of rabbit and effects of different drugs $[(\bar{x} \pm s), \text{mmol/L}]$

血脂	NC (n=8)	HC (n=9)	MD (n=8)	HD (n=8)
TC	1.64 ± 0.14	22.47 ± 2.43 [#]	12.64 ± 1.42 [△]	13.24 ± 1.83 [△]
TG	1.08 ± 0.10	2.46 ± 0.31 [#]	2.38 ± 0.29	2.36 ± 0.28
HDL-c	0.50 ± 0.08	0.42 ± 0.09 [#]	0.43 ± 0.11	0.41 ± 0.10
LDL-c	0.68 ± 0.15	22.14 ± 2.46 [#]	11.63 ± 2.87 [△]	10.68 ± 2.91 [△]

与 NC 比较, [#] $P < 0.05$; 与 HC 比较, [△] $P < 0.05$ 。

表 2 三七总皂苷对高胆固醇膳食兔治疗后主动脉内膜增生的对比 $(\bar{x} \pm s)$

Tab. 2 Comparison of intima thickness and media thickness between different groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	内膜厚度 (μm)	中膜厚度 (μm)	内膜厚度 / 中膜厚度 (%)
NC	8	62.1 ± 8.2	544.5 ± 51.1	11.6 ± 1.6
HC	9	184.4 ± 104.3 [#]	600.7 ± 119.7	30.5 ± 12.9 [#]
MD	8	94.1 ± 29.4 ^{#△}	585.5 ± 118.7	16.3 ± 5.8 ^{#△}
HD	8	91.5 ± 10.8 ^{#△}	596.8 ± 106.2	15.8 ± 5.9 ^{#△}

与 NC 比较, [#] $P < 0.05$; 与 HC 比较, [△] $P < 0.05$ 。

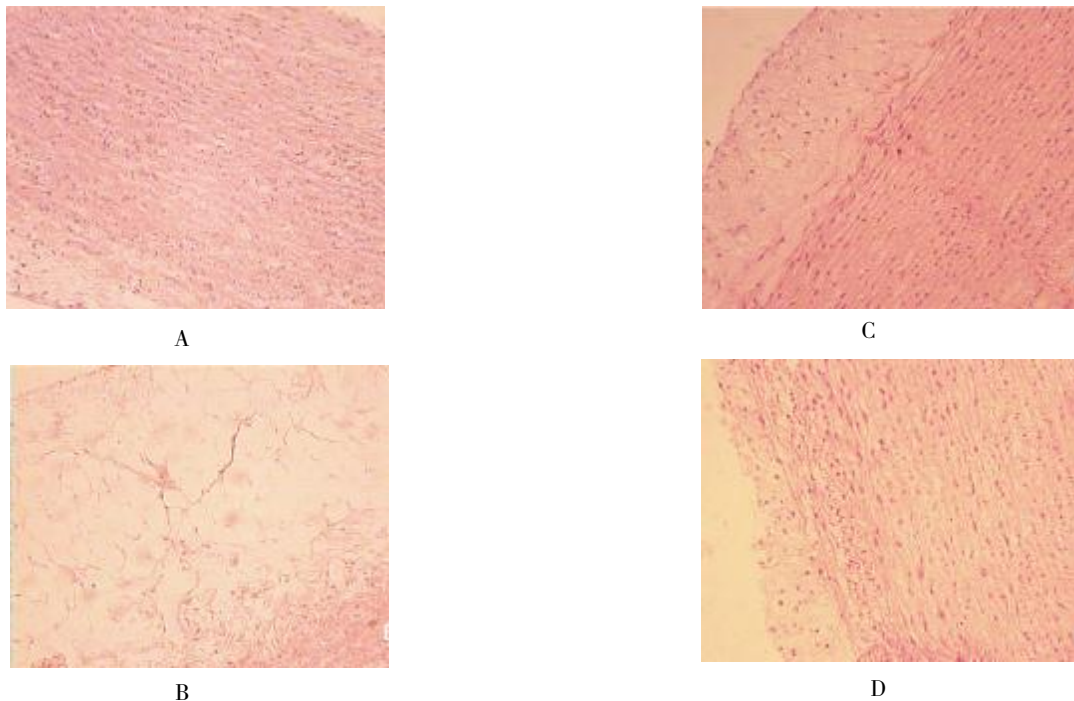


图 1 各组兔主动脉光镜下 HE 染色比较 ($\times 400$)

Fig. 1 Pathological features of rabbit aorta in different groups under light microscope ($\times 400$)

A: 组内膜光滑; B 组内膜增厚, 脂质斑块弥漫, 可见泡沫细胞积聚, 斑块底部泡沫细胞发生变性坏死, 内弹力层和中弹力板发生变性、断裂和崩解; C、D 组动脉病变情况较 B 组明显减轻。

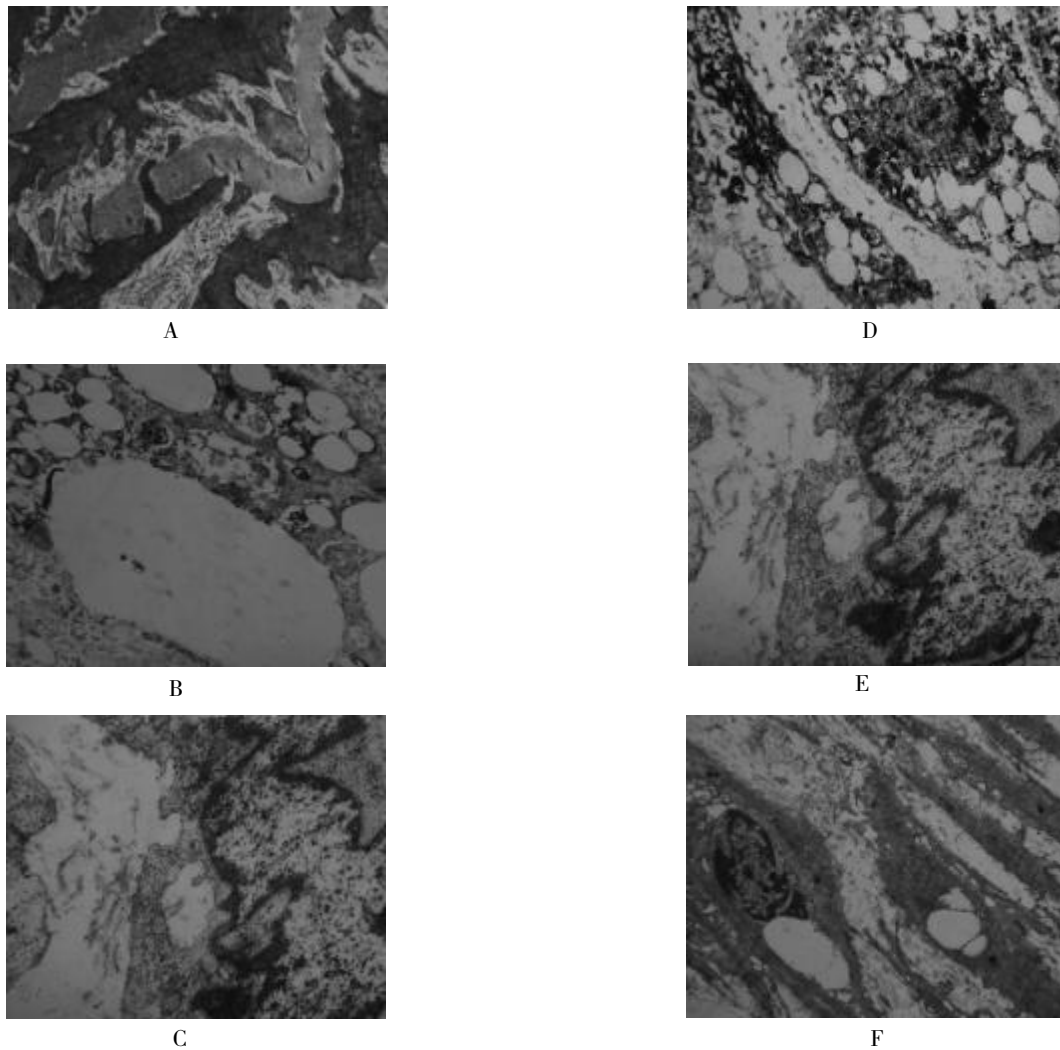


图 2 各组兔主动脉扫描电镜观察结果比较

Fig. 2 Ultrastructure of rabbit aorta in different groups under scanning electron microscope

A 为 N 组, B、C、D 为 HC 组, E、F 为治疗 MD 组和 HD 组.

3 讨论

血脂紊乱可明显损伤动脉内皮细胞, 导致内皮脱落, 造成动脉壁超微结构损害, 刺激内膜增生产生脂质斑块, 故脂质代谢紊乱所致的高脂血症被认为是促使 AS 病变的重要因素之一^[2,3]. 因为家兔对外源性胆固醇的吸收率高, 对血液中脂质的清除能力低, 而且病变近似人体, 也便于采血、静脉给药 (尤其是难溶于水的颗粒性制剂) 及饲养管理, 故本实验以高脂饵料饲养兔做动物模型, 通过静脉途径给 PNS 方法, 提高 PNS 的生物利用率以改善兔 AS 损伤结构, 经 12 周后, 两 PNS 干预组兔主动脉粥样硬化病变呈明显的修复状态. 主要表现在: 光镜下可见内膜光滑程度改善, 动脉粥样硬化病变厚度减小, 泡沫细胞明显减少, 新

生内膜中的 SMC 数量明显减少, 显著的内膜/中膜比下降. 电镜下可见内膜细胞表面破坏程度减轻, 内皮下层增生改善, 泡沫细胞减少, 平滑肌增殖减轻, 其细胞内含脂质稀少, 即细胞超微结构与正常对照组比较接近. 上述形态学改变与高脂模型组比较具有显著性差异, 但尚未达到空白对照组水平. 观察 PNS 中剂量 MD 组和 PNS 高剂量 HD 组之间动脉粥样斑块病变相似, 未见明显差异. 由此可见, 对于高脂喂食导致兔的动脉粥样硬化, 经由静脉途径给 PNS 治疗具有明显的疗效, 能显著改善动脉内膜超微结构的损伤程度, 延迟甚至逆转动脉粥样硬化的发生.

本试验证实 PNS 显著降低 TC 和 LDL-C ($P < 0.05$) 的调脂作用. 各种危险因素破坏动脉内皮细胞后, LDL 进入内皮下, 与细胞外基质的蛋白多糖

(下转第 50 页)

- blood pressure at the age of three to six in Yunnan province [J]. *Maternal and Child Health Care of China*, 2006, 21(11): 1 499 - 1 502.
- [9] 米杰. 预防高血压从控制儿童肥胖开始[J]. *中国儿童保健杂志*, 2010, 18(6): 448 - 449.
- [10] 孙金华, 王兴田, 刘锦桃, 等. 云南省 3 ~ 6 岁儿童血压水平的调查研究[J]. *中华预防医学杂志*, 2006, 40(4): 243.
- [11] 沈建华, 王兴田, 李燕, 等. 双生子分析法和非双生调查法对血压的影响因素分析[J]. *中国妇幼保健杂志*, 2007, 22(2): 261 - 264.
- [12] 王兴田, 孙金华, 郭子宏, 等. 3 ~ 6 岁儿童血压自然变化规律及儿童血压的轨迹现象[J]. *中国妇幼保健杂志*, 2006, 21(11): 1 499 - 1 502.
- [13] 杨虹, 唐振柱, 秦秋兰, 等. 广西 6 ~ 13 岁学龄儿童高血压患病情况及相关因素分析 [J]. *应用预防医学*, 2012, 18(6): 335 - 338.
- [14] 鞠红, 刘启贵. 大连市儿童高血压患病及影响因素分析[J]. *中国公共卫生*, 2010, 26(6): 677 - 678.
- [15] 侯冬青, 程红, 王天有, 等. 北京市 7 ~ 17 岁儿童青少年血压与肥胖状态的关系分析[J]. *中国实用儿科杂志*, 2010, 25(7): 524 - 527.
- [16] 卫生部.《中国心血管病报告》(2008-2009) [R]. 北京: 大百科全书出版社, 2009: 8.
- [17] 邓厚才. 心理社会因素与儿童青少年高血压的研究进展[J]. *护士进修杂志*, 2009, 24(2): 150 - 152.

(2014 - 03 - 04 收稿)

(上接第 32 页)

结合, 被氧化修饰为 oxLDL-C, 激活内皮细胞产生粘附分子和趋化因子. 趋化并黏附于内皮细胞的单核细胞与内膜下层相结合, 并分化为巨噬细胞, 巨噬细胞通过清道夫受体吞噬 oxLDL-C, 转化为泡沫细胞形成最早的粥样硬化病变脂质条纹. 充满氧化修饰脂蛋白的巨噬细胞分泌血小板源生长因子和成纤维细胞生长因子的作用下, SMC 中膜迁移至内膜并增值, 也可吞噬脂质成为泡沫细胞的另一重要来源. 这些均造成了 AS 的结构变化. PNS 能够通过降低 TC、LDL-C 水平, 能显著改善动脉内膜超微结构的损伤程度, 延迟甚至逆转动脉粥样硬化及其纤维斑块的形成.

近年来的研究 PNS 防止动脉粥样硬化作用还通过有效抑制泡沫细胞形成^[4]、保护血管内皮细胞^[5]、通过调节血脂与抑制炎症因子^[6]、粥样斑块稳定作用^[7]等途径发挥治疗 AS 的作用. 所以 PNS 抗 AS 作用机理仍将从分子水平等探讨下去.

[参考文献]

- [1] 邹亮, 冷静, 刘洋, 等. 三七总皂苷新型制剂研究进展 [J]. *四川中医*, 2010, 28(3): 23.
- [2] OHM OR I K, YAMADA H, YAMAMOTO A, et al. Anti-hyperlipidemic action of a newly synthesized benzoic acid derivative, S-2E [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2003, 471: 691.
- [3] ASZTALOS B F, SCHAEFER E J. HDL in atherosclerosis: actor or by stander [J]. *Atheroscler Suppl*, 2003, 3(4): 21.
- [4] 何雪峰, 李晓辉, 李淑慧, 等. 三七总皂苷对小鼠巨噬细胞源性泡沫细胞形成的影响 [J]. *中国药房*, 2007, 18(30): 2 323 - 2 325.
- [5] 潘少霞. 三七总皂苷对缺氧再给氧血管内皮细胞损伤保护效果研究 [J]. *中国医学工程*, 2012, 20(7): 98.
- [6] WAN J B, LEE S M, WANG J D, et al. Panax notoginseng reduces atherosclerotic lesions in ApoE - deficient mice and inhibits TNF-alpha-induced endothelial adhesion molecule expression and monocyte adhesion [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(15): 6 692 - 6 697.
- [7] 袁志兵, 李晓辉, 李淑慧, 等. 三七皂苷对动脉粥样硬化斑块稳定性的影响 [J]. *中国天然药物*, 2006, 4(1): 62 - 65.

(2014 - 03 - 01 收稿)