

[文章编号] 1007-3949(2002)10-02-0097-04

• 实验研究 •

牡蛎提取物对鹌鹑实验性动脉粥样硬化的抑制作用及机制

刘 赛, 仲伟珍, 张 健, 刘占涛

(青岛大学医学院药理学教研室, 山东省青岛市 266021)

[主题词] 牡蛎提取物; 动脉粥样硬化; 血脂; 超氧化物歧化酶; 鹌鹑

[摘要] 为研究牡蛎提取物对动脉粥样硬化的抑制作用及其可能的作用机制, 通过建立高脂食饵性鹌鹑动脉粥样硬化模型, 观察了牡蛎提取物预防用药对血清脂质(酶法)、载脂蛋白(免疫比浊法)、血浆超氧化物歧化酶和脂过氧化物丙二醛(微量快速法)的影响, 并对主动脉、冠状动脉和肝脏进行肉眼和光镜组织学检查。结果发现, 牡蛎提取物 10 g/kg 胃内连续给药 8 周后, 鹌鹑主动脉、冠状动脉内膜动脉粥样硬化斑块形成的程度明显减轻, 于动脉粥样硬化造型 4 周时测定血浆总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇和载脂蛋白 B 分别为 17.47 ± 0.78 、 1.16 ± 0.35 、 10.94 ± 3.17 mmol/L 和 2.47 ± 0.78 g/L, 均较模型组明显减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。于动脉粥样硬化造型 8 周后血浆总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇和载脂蛋白 B 水平仍明显低于模型组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 心肌及主动脉壁中的总胆固醇和甘油三酯含量显著降低, 血清中超氧化物歧化酶升高。结果表明, 牡蛎提取物具有调血脂、抗动脉粥样硬化作用, 其作用机制与抑制脂质过氧化损伤有关。

[中图分类号] R961

[文献标识码] A

The Research of Inhibitory Action of the Oyster Extract on Experimental Atherosclerosis in Quail and its Mechanism

LIU Sai, ZHONG Wei Zhen, ZHANG Jan, and LIU Zhan-Tao

(Department of pharmacology, the Medical College of Qingdao University, Qingdao, 266021, China)

[MeSH] Oyster Extract; Atherosclerosis; Lipids/blood; Superoxide Dismutase; Quail

[ABSTRACT] **Aim** To study the inhibitory action of Oyster Extract (OE) on atherosclerosis and its mechanism.

Methods The model of experimental atherosclerosis in quail was established by hyper lipoidal feed. The content of serum lipid and apolipoprotein was detected with enzyme method and immunization photoextinction. The atherosclerotic plaque lesion of aortic and coronary artery were observed by eyes and through light microscope. The serum superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in quail were observed with microcontent fast detecting method. **Results** Oral administration OE 10 g/(kg•d) for an 8 weeks period significantly reduced the degree of atherosclerotic lesion in aortic and coronary arterious endothelium in OE group. The serum total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDLC) and apolipoprotein B (Apo B) are 17.47 ± 0.78 , 1.16 ± 0.35 , 10.94 ± 3.17 mmol/L and 2.47 ± 0.78 g/L respectively in OE group at 4 weeks, and were less than model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). At 8 weeks OE marked reduced the TC, TG, LDLC, and ApoB in serum and TC, TG in cardiac muscle and aorta ($P < 0.05$, $P < 0.01$). At the same time and serum SOD in serum was 415.55 ± 72.48 k u/L in OE group. It was higher than model group ($P < 0.05$). **Conclusions** OE has an inhibitory effect on the development of experimental atherosclerosis lesions in quails, the mechanism may be related to regulation of lipid metabolism and antioxidant action.

牡蛎(oyster)属软体动物门瓣鳃纲(Lamellibranchia)牡蛎科(Ostreidae)。体内含多种活性物质, 如不饱和脂肪酸、牛磺酸、多种氨基酸、糖类、维生素、类胡萝卜素、甾体化合物、微量元素等^[1]。牡蛎为一种传统中药材, 具有滋阴养血、镇静敛汗、固精止带、化痰软坚、清热除湿、止心脾气痛等功效。

[收稿日期] 2001-08-14 [修回日期] 2002-02-25

[基金项目] 国家自然科学基金(39270315)资助

[作者简介] 刘赛, 女, 1951年6月出生, 山东省诸城市人, 汉族, 中山医科大学心血管药理专业硕士研究生毕业, 教授。研究方向为心血管药理及海洋药物。仲伟贞, 女, 1970年7月出生, 山东省莱州市人, 汉族, 沈阳药学院中药专业本科毕业, 讲师, 研究方向为心血管药理学。张健, 女, 1964年7月出生, 山东省荣城市人, 汉族, 沈阳药学院化学制剂专业本科毕业, 讲师, 研究方向为心血管药理专业。

现代医学研究表明, 牡蛎提取物具有抗菌、抗病毒作用, 能提高急性放射性小鼠的存活率, 提取物的水溶性成份可提高动物的免疫功能^[1]。关于牡蛎是否对动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的形成产生影响尚未见报道, 因此, 本文采用高脂食饵性动物As模型, 观察牡蛎提取物(oyster extract, OE)的抗As作用。并对其抗氧化作用进行了研究, 初步分析其抗As的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

朝鲜鹌鹑, 雄性, 体重 90~105 g, 由青岛大学医学院动物管理科提供。OE, 为 200 g(生药)% 的混悬液; 烟酸肌醇酯(inositol hexaniconate, IH) 由济南制药厂生产; 胆固醇为进口分装, 由上海化学试剂公司提供; 血清脂质测定试剂盒(胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白) 为澳斯邦生物工程有限公司生产; 载脂蛋白 A、B 测定盒由上海玉兰生物有限公司提供; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) 及丙二醛(malondialdehyde, MDA) 测定药盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 动脉粥样硬化模型建立与动物分组

取鹌鹑 64 只, 随机分为 4 组: 正常对照组喂饲普通饲料; 模型组喂饲高脂饲料(含 1% 胆固醇, 14% 猪油, 6% 花生油, 其它成份同普通饲料); OE 组喂高脂饲料+ OE 10 g(生药)/kg; IH 组喂高脂饲料+ IH 0.15 g/kg。将药物与高脂饲料混匀同时给予鹌鹑, 4 组均喂养八周。

1.3 血清学检查

各组鹌鹑于实验开始后第 4 周和第 8 周末, 禁食 12 h, 称重, 经颈静脉取血, 分离血清, 测定血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、载脂蛋白 A(apolipoprotein A, Apo A) 和载脂蛋白 B(apolipoprotein B, Apo B)。上述测定按酶学或免疫透射比浊法进行。

1.4 心肌和主动脉中脂质含量测定

于实验第 8 周末, 处死鹌鹑, 取出心脏及主动脉, 经匀浆离心, 测定每克组织中 TC 及 TG 的含量。

1.5 病理形态学观察

8 周后处死动物, 取心、肝和主动脉, 肉眼观察动脉粥样病变程度。部分标本切片, HE 和 SudanIII 染色, 于光镜下观察各脏器病变情况。按文献[2]中关于 As 病变的定量及分级的标准和方法进行分级比较。

1.6 血清中超氧化物歧化酶和丙二醛含量测定

用药 8 周后的鹌鹑经颈静脉取血, 采用黄嘌呤氧化酶法和微量快速比色法测定血清总 SOD 以及丙二醛含量。

1.7 统计学处理

实验所得计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 病理学检测数据采用秩和检验。

2 实验结果

2.1 血清脂质含量变化

模型组鹌鹑在实验第 4 周时血清中的 TC、TG、LDLC(表 1, Table 1) 和载脂蛋白 B(表 2, Table 2) 明显提高, 与正常对照组比较差异非常显著($P < 0.01$), 表现出典型的高脂血症, 实验第 8 周时, 上述各项血脂仍呈现高水平, 而 OE 组动物两次测得的 TC、TG、LDLC(表 1, Table 1) 和载脂蛋白 B(表 2, Table 2) 虽然也有上升趋势, 但明显低于模型组, 其差异有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$)。尤其血清 TG 降低最为明显($P < 0.01$)。OE 组的 HDLC 及载脂蛋白 A 与模型组比较差别不大($P > 0.05$)。IH 组鹌鹑血清 TG 和 LDLC 水平低于模型组, 而 HDLC 高于其它各组($P < 0.01$, 表 1, Table 1)。

表 1. 药物对血清总胆固醇、甘油三酯、低密度和高密度脂蛋白胆固醇含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)。

Table 1. The effects of OE and IH on serum TC, TG, LDLC, and HDLC.

Group	TC		TG		LDLC		HDLC	
	4 wks	8 wks	4 wks	8 wks	4 wks	8 wks	4 wks	8 wks
Control	5.5 ± 0.5	5.3 ± 0.7	0.8 ± 0.3	1.0 ± 0.3	3.2 ± 0.5	4.1 ± 0.9	1.9 ± 0.3	1.6 ± 0.3
Model	31.7 ± 2.3 ^c	32.2 ± 4.9 ^c	3.7 ± 1.1 ^c	3.0 ± 0.5 ^c	18.2 ± 3.5 ^c	21.6 ± 4.3 ^c	3.4 ± 1.2	1.8 ± 0.4
IH	25.1 ± 6.1	24.4 ± 4.0	2.3 ± 0.5	2.1 ± 0.8	13.3 ± 3.5	14.7 ± 2.1 ^a	7.4 ± 2.1 ^b	2.3 ± 0.7
OE	17.5 ± 0.8 ^a	23.9 ± 4.0 ^a	1.2 ± 0.3 ^b	1.8 ± 0.6 ^b	10.9 ± 3.2 ^a	13.0 ± 2.5 ^a	3.4 ± 0.4	1.8 ± 0.5

a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$, compared with model group; c: $P < 0.01$, compared with control group.

2.2 组织中脂质含量变化

模型组动物在连续喂饲 8 周高脂饲料后, 动物的心肌及主动脉壁中的 TG 及 TG 含量明显高于正常对照组($P < 0.01$), 表明大量脂质沉积于主动脉及冠状动脉内膜中。预先应用 OE 及 IH 的鹌鹑, 其

心肌及主动脉中的 TC 及 TG 含量均较低, 与模型组比较差异明显($P < 0.05$, 表 3, Table 3)。

2.3 病理学检查

2.3.1 主动脉粥样硬化病变 正常对照组主动脉无斑块形成。模型组的 As 病变最为严重, 主要发

生在主动脉根部、升主动脉及主动脉的分支血管开口处。肉眼可见明显隆起内膜表面的灰白色斑块,镜检粥样斑块处可见大量泡沫细胞,呈镶嵌性排列,内皮细胞脱落,中膜平滑肌层断裂,排列紊乱。根据主动脉 As 病变分级标准,多数病变在 2 级以上。OE 组及 IH 组鹌鹑主动脉 As 病变程度较轻,多数在 1 级以下(表 4, Table 4)。镜下可见多数动脉内膜完整,有轻度脂质浸润,内含散在泡沫细胞和平滑肌细胞(图 1, Figure 1)。

表 2. 药物对血清载脂蛋白 A 和 B 的影响($\bar{x} \pm s$, g/L)。

Table 2. The effects of drugs on serum Apo A and Apo B.

Groups	Apo A		Apo B	
	4 weeks	8 weeks	4 weeks	8 weeks
Control	0.39±0.01	0.66±0.10	0.28±0.05	0.6±0.3
Model	2.3±0.4 ^c	2.9±1.1 ^c	5.7±1.6 ^c	6.3±2.0 ^c
IH	2.2±0.4	2.8±1.2	4.8±1.8	8.2±2.7
OE	2.1±0.8	2.5±0.7	2.5±0.8 ^a	4.9±1.1

a: $P < 0.05$, compared with model group; c: $P < 0.01$, compared with control group

2.3.2 冠状动脉粥样硬化病变 除正常对照组外,其余 3 组均有程度不等的血管病变,主要发生在心肌中冠状动脉的中小分支处,以模型组最明显。多数内膜增厚,管腔狭窄,有斑块形成,并可见中膜血管平滑肌增生。OE 组及 IH 组多数动物病变程度明显轻于模型组($P < 0.01$, 表 4 和图 2, Table 4 and Figure 2)。

表 3. 药物对组织中总胆固醇和甘油三酯含量的影响。

Table 3. The effects of drugs on TC and TG of cardiac muscle and vessel ($\bar{x} \pm s$, g/L)。

Groups	TC		TG	
	CM	Vessel	CM	Vessel
Control	5.9±0.6	7.5±2.0	8.9±2.3	28±7
Model	13.4±4.2 ^c	14.6±3.5 ^c	11.6±1.7 ^c	56±15 ^a
IH	8.7±1.7 ^a	12.2±4.1	4.9±2.0 ^a	30±10 ^a
OE	8.9±2.6 ^a	10.1±1.5	7.8±2.9 ^a	38±14 ^a

CM: cardiac muscle. a: $P < 0.05$, compared with model group; c: $P < 0.01$, compared with control group

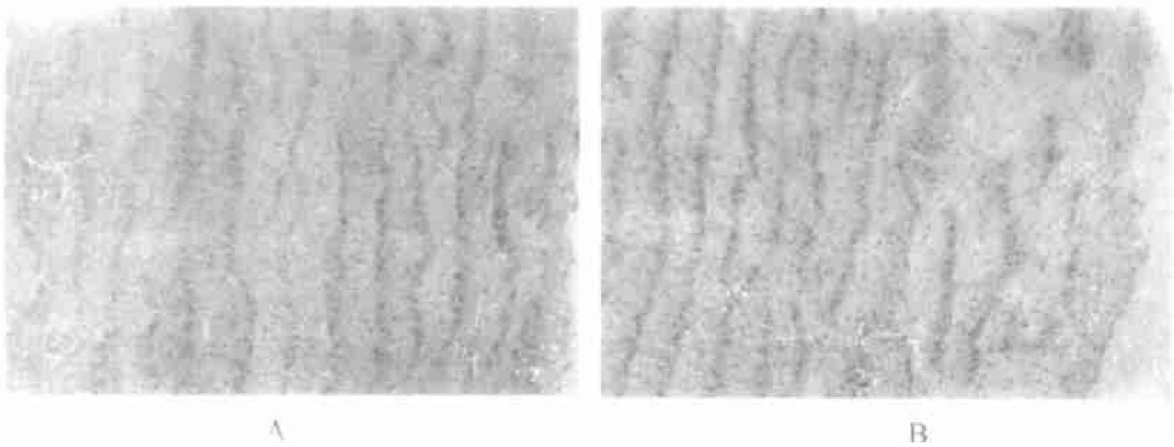


图 1. 主动脉内膜光学显微镜图像。

Figure 1. Microscope graph of aorta lintima. A: OE group (HE × 200); B: model group (HE × 200)。

表 4. 药物对鹌鹑主动脉和冠状动脉粥样硬化斑块病变的影响

Table 4. Effects of drugs on atherosclerotic plaque of aortic and coronary artery in quail.

Group	Aorta (Grade)						Coronary artery (Grade)						
	0	1	2	3	4	total	0	0.5	1	2	3	4	total
Control	1	15	0	0	0	15	12	4	0	0	0	0	2
Model	0	1	8	6	1	39 ^c	3	2	7	2	2	0	18 ^c
IH	6	3	4	3	0	20 ^b	8	8	0	0	0	0	4 ^b
OE	9	4	3	0	0	10 ^b	13	1	2	0	0	0	2. 5 ^b

b: $P < 0.01$, compared with model group; c: $P < 0.01$, compared with control group.

2.4 血清超氧化物歧化酶和丙二醛含量变化

模型组鹌鹑经 8 周喂饲高脂饲料后, 血清 SOD 明显降低, 而丙二醛明显升高, (与空白组比较, $P <$

0.01)。而 OE 组动物的 SOD 则高于模型组, 差异非常显著($P < 0.05$), 但血清丙二醛含量与模型组差别不明显($P > 0.05$, 表 5, Table 5)。

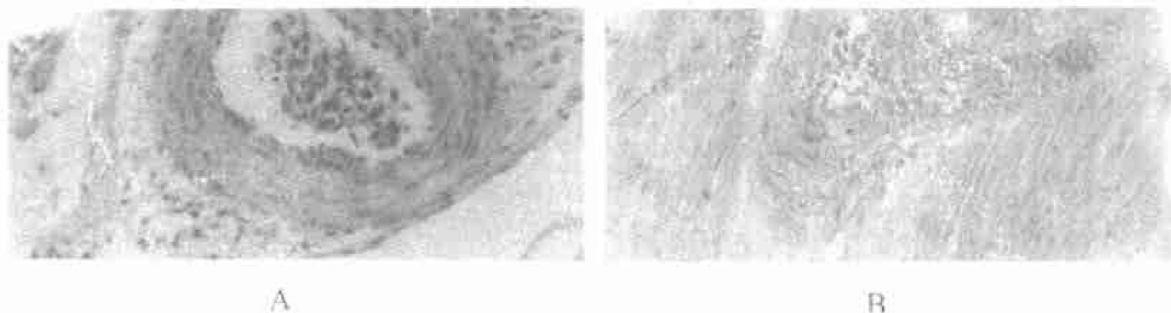


图 2. 冠状动脉内膜光学显微镜图像

Figure 2. Microscope graph of coronary arterios lintima. A: OE group (HE × 400); B: model group (HE × 400).

表 5. 药物对高脂性动脉粥样硬化的鹌鹑血清超氧化物歧化酶和丙二醛的影响($\bar{x} \pm s$).

Table 5. The effects of drugs on serum SOD and MDA.

Group	SOD (kNu/L)	MDA (mmol/L)
Control	451.6 ± 35.6	116.4 ± 17.4
Model	284.5 ± 35.1	626.8 ± 131.3
IH	289.8 ± 66.6	605.6 ± 87.4
OE	415.5 ± 72.5 ^a	650.8 ± 79.7

a: $P < 0.05$, compared with model group.

3 讨论

本文实验结果表明 OE 预防用药对高脂食饵性鹌鹑 As 的形成有显著抑制作用, 用药动物的主动脉、冠状动脉的病变程度较轻, 斑块面积缩小, 内膜增厚不明显, 泡沫细胞数量少。已知血清 TC、TG、LDL 及其载脂蛋白 B 水平持续升高与 As 的发病率呈正相关。本实验结果显示, 预先口服 OE 可明显降低鹌鹑血清中 TC、TG、LDL 及载脂蛋白 B 的水平, 尤其 TG 降低最为显著, 心肌及主动脉中 TG、TC 低于模型组, 减少了脂质在组织中的沉积, 表明 OE 对血脂代谢紊乱有明显调节作用, 这可能是 OE 抗 As 作用的重要机理之一。OE 通过降低异常升高的血脂、减少氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)的生成, 减轻其对动脉内膜的损伤, 阻止泡沫细胞形成及血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖, 从而抑制了 As 斑块的形成^[3]。

牡蛎提取物(OE)的抗 As 作用可能与制剂中含有丰富的不饱和脂肪酸(EPA 和 DHA)及牛磺酸有直接关系。已知海洋生物中的 EPA、DHA 及牛磺酸

具有降低血脂和血粘度, 抑制血小板聚集、血栓形成和平滑肌增殖等作用, 这些作用均有利于防止 As 的形成。

氧自由基引发过氧化物损伤参与 As 的形成已被许多学者所证实, 本实验结果显示, 模型组血清 SOD 明显降低, 而丙二醛升高, 表明 As 的鹌鹑体内清除氧自由基的能力降低, 脂质过氧化的代谢产物增加, 进一步说明在 As 病理发展过程中存在着脂质过氧化损伤。OE 可使动物的 SOD 升高, 提示它可提高机体清除氧自由基的能力, 具有一定抗氧化的作用, 可减轻脂过氧化物对动脉壁的直接损伤, 保护了内皮细胞的完整性, 在一定程度上抑制了 As 的发生及减轻了病变的程度。

由于 As 发病机制非常复杂, 为多因素参与, 导致药物防治 As 作用机理的多样性^[4]。我们在动物实验中发现 OE 具有抑制血小板聚集和抗血栓的作用(见另文)。因此, 初步分析 OE 预防用药的抗 As 作用除了与降低血脂及抗氧化作用有关外, 还可能与其抗血小板聚集、抗血栓等作用也有密切关系。其确切的作用机制有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 谭桂利, 李瑞声. 牡蛎的化学成分和药用价值. 中国海洋药物, 1993, 12 (4): 26
- [2] 张岫美, 魏欣冰. 动脉粥样硬化模型的病理形态学观察. 见: 张均田. 现代药理实验方法. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998; 1 263-271
- [3] 黄河清, 吴伟康, 程超. 四逆汤抗实验性粥样硬化的作用及其机制. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8 (4): 302-304
- [4] Fialove L. New finding on the pathogenesis of atherosclerosis. Cesk Fysiol, 1995, 44: 92

(此文编辑 胡必利)