

[文章编号] 1007-3949(2004)12-01-0023-04

•实验研究•

甘薯的抗家兔主动脉粥样硬化形成作用

郭素芬, 包海花, 李志强

(牡丹江医学院病理学教研室, 黑龙江省牡丹江市 157011)

[关键词] 病理学与病理生理学: 甘薯糖蛋白的抗动脉粥样硬化作用; 血清学和病理学检查: 血脂: 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 动脉粥样硬化; 兔

[摘要] 为观察甘薯糖蛋白对家兔实验性动脉粥样硬化形成的影响并探讨其可能的发病机制。将 40 只新西兰白兔随机分为正常组(饲以普通饲料)、高脂组(饲以胆固醇饲料)、低剂量甘薯糖蛋白(简称低剂量)组[饲以胆固醇饲料+糖蛋白 0.06 g/(kg·d)]和高剂量甘薯糖蛋白(简称高剂量)组[饲以胆固醇饲料+糖蛋白 0.1 g/(kg·d)]。在实验开始时和 12 周时分别检测血清总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、超氧化物歧化酶和丙二醛含量。第 12 周末处死动物,行主动脉病理形态学观察。结果发现,实验前各组血清检测指标无明显差异。实验 12 周,高脂组、低剂量组和高剂量组血清总胆固醇、甘油三酯、低密度和高密度脂蛋白胆固醇以及丙二醛含量均高于或明显高于正常组(正常组、高脂组、低剂量组和高剂量组的总胆固醇分别为 1.27 ± 0.73 、 20.26 ± 0.13 、 15.27 ± 0.83 和 11.28 ± 1.62 mmol/L;甘油三酯分别为 0.85 ± 0.18 、 1.85 ± 0.35 、 1.71 ± 0.28 和 1.51 ± 0.11 mmol/L;低密度脂蛋白胆固醇分别为 0.50 ± 0.07 、 18.99 ± 2.65 、 14.27 ± 3.04 和 12.13 ± 3.56 mmol/L;高密度脂蛋白胆固醇分别为 0.54 ± 0.11 、 0.75 ± 0.10 、 0.81 ± 0.06 和 0.94 ± 0.08 mmol/L;丙二醛分别为 3.51 ± 0.27 、 4.53 ± 0.34 、 4.13 ± 0.18 和 3.83 ± 0.26 mmol/L, $P < 0.01$);但与高脂组比,低剂量组和高剂量组的上述指标除高密度脂蛋白胆固醇升高外,其它的都轻度下降或明显下降($P < 0.01$)。高脂组、低剂量组和高剂量组超氧化物歧化酶活性比对照组降低(对照组为 424 ± 34 ,高脂组为 156 ± 16 ,低剂量组为 186 ± 21 ,高剂量组为 231 ± 6 , $P < 0.01$);但低剂量组和高剂量组的该项指标较高脂组分别为轻度升高和明显升高($P < 0.01$)。低剂量组和高剂量组动物主动脉斑块面积明显小于高脂组(高脂组 0.47 ± 0.08 ,低剂量组 0.34 ± 0.05 ,高剂量组 0.29 ± 0.06 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果提示,甘薯糖蛋白具有抗家兔主动脉粥样硬化形成的作用,并且这种作用具有一定的量效关系。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Antiatherogenic Effect of Batata in Rabbits Aorta

GUO Su-Fen, BAO Hai-Hua, and LI Zhi-Qiang

(Department of Pathology, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Batata glycoprotein; Total cholesterol; Triglyceride; Superoxide dismutase; Malonyldialdehyde

[ABSTRACT] **Aim** To observe the antiatherogenic effect of batata glycoprotein (BG) and its mechanisms. **Methods**

Forty adult male New-Zealand rabbits were randomly divided into normal control group, hyper-cholesterol group, low dose BG and high dose BG group. Each group was fed respectively with common forage, high cholesterol forage, high cholesterol forage andding BG (0.06g/kg. d) and high cholesterol forage andding BG (0.1g/kg. d). At week 0 and 12, the levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDLC) and high density lipoprotein cholesterol (HDLC) in the serum were determined. The levels of serum superoxide dismutase (SOD) activity and malonyldialdehyde (MDA) were measured. At the end of the twelfth week, all rabbits were killed to observe aorta pathological changes. **Results** At the end of the twelfth week, the levels of serum TC, TG, LDLC and MDA were lightly decreased or significantly decreased in low dose group and high dose group compared with those in hypercholesterol group (hypercholesterol group, low dose group and high dose group: TC was respectively 20.26 ± 0.13 , 15.27 ± 0.83 , 11.28 ± 1.62 . TG was respectively 1.85 ± 0.35 , 1.71 ± 0.28 , 1.51 ± 0.11 . LDLC was respectively 18.99 ± 2.65 , 14.27 ± 3.04 , 12.13 ± 3.56 . MDA was respectively 4.53 ± 0.34 , 4.13 ± 0.18 , 3.83 ± 0.26 $P < 0.01$), while the levels of serum HDLC and SOD activity were increased or significantly increased in low dose group and high dose group compared with those in hypercholesterol group (hypercholesterol group, low dose group and high dose group: HDLC was respectively 0.75 ± 0.10 , 0.81 ± 0.06 , 0.94 ± 0.08 . SOD was respectively 156 ± 16 , 186 ± 21 , 231 ± 6 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$). Plaque area of low dose group and high dose group was smaller than that of hypercholesterol group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusions** Batata glycoprotein can inhibit atherogenesis, and the effect correlates with the amount of adding batata glycoprotein.

[收稿日期] 2003-06-10

[修回日期] 2003-12-30

[作者简介] 郭素芬, 讲师, 在读硕士, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治。李志强, 教授, 硕士研究生导师, 从事动脉粥样硬化的发病机制与防治研究。包海花, 实验师。

研究发现, 高脂血症形成和血管内皮细胞损伤是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As) 发生的重要因素, 降脂治疗可降低 As 的发生率。杨立民曾报导日本营养学家最近发现甘薯中含有一种独特的粘液蛋白多糖(glycoprotein), 具有防止动脉粥样硬化, 减慢人体器官老化速度等作用^[1]。甘薯(batata) 又称红薯、番薯、山芋, 具有抗肿瘤^[2]、降低胆固醇、防止出血等多种功效, 但甘薯的抗粥样硬化作用国内研究很少。本实验是采用甘薯糖蛋白(batata glycoprotein, BG) 提取物喂饲家兔, 研究甘薯的抗 As 作用及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

甘薯(山东产北京 2 号) 于 60℃烘干研成粉末, 加适量水浸提 1 天, 过滤后残渣重复水提, 合并两次滤液, 离心除去不溶物, 上清液以 3 倍体积乙醇沉淀, 依次用丙酮、乙醚洗涤。沉淀物用蒸馏水溶解后, 用 Sevag 法去游离蛋白, 取其水液层透析 3 天, 收集透析内液。冷冻干燥得粗 BG。将粗 BG 依次经 DEAE-52 和 Sephadex G-100 柱层析后, 得到 BG 纯品^[2]。以 SDS-PAGE 电泳法进行纯度检测, 其中蛋白质含量约为 11.04%, 糖含量约为 79.67%。供动物实验用, 糖蛋白用量参照银耳多糖用量^[3]。复制动物模型用胆固醇由 HOLLAND 进口分装, 广州市器化医疗设备有限公司经销。

1.2 动物分组及处理

健康雄性新西兰白兔 40 只, 体重 2.29 ± 0.16 kg(由牡丹江医学院实验动物中心提供, 动物合格证号, P00305001), 随机分为正常组, 饲以普通饲料; 高脂组饲以胆固醇饲料(普通饲料+ 胆固醇); 低剂量 BG 组饲以胆固醇饲料+ BG 0.06 g/(kg·d); 高剂量 BG 组饲以胆固醇饲料+ BG 0.1 g/(kg·d)。每组 10 只, 实验 12 周, 分笼饲养, 自由饮水。

1.3 血脂、丙二醛和超氧化物歧化酶测定

分别于实验前和第 12 周末空腹从耳中央动脉采血, 置 37℃水浴 10 min, 以 2 500 r/min 离心 20 min, 收集血清备用。总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 和高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 测定采用酶法。血清丙二醛(malonyldialdehyde) 测定采用硫代巴比妥酸法。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) 活力测定采用硫代巴比妥酸法(以上试剂盒由南京建成生物工程研究所提供)。上述指标均于取血后 3 天内测定, 并用 7210 分光光度计完成。

1.4 病理学检查

12 周末处死动物, 解剖后立即将主动脉至髂动脉分叉处离断取出, 纵向剖开, 10% 甲醛固定, 部分经苏丹Ⅲ染色, 数码相机照相, 采用 HPIAS-1000 病理图像分析系统, 计算着色处面积占整条主动脉面积的百分比; 另一部分常规石蜡切片, HE 染色。

1.5 统计学处理

用 SPSS10.0 统计软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间差异分析采用单因素方差分析和 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 甘薯糖蛋白对血脂的影响

各组血清 TC、TG、LDLC 和 HDLC 变化见表 1 (Table 1)。可见实验前各组间血脂水平无显著性差异。第 12 周末, 低剂量甘薯糖蛋白组只有血清 TC 和 LDLC 显著低于高脂组($P < 0.01$), 但与正常组比, TC、TG、LDLC 和 HDLC 均明显升高($P < 0.01$); 高剂量甘薯糖蛋白组血清 TC、TG、LDLC 均显著低于高脂组($P < 0.01$), 但较正常组高($P < 0.01$), 而 HDLC 则明显高于高脂组和正常组($P < 0.05$)。

表 1. 甘薯糖蛋白对血清总胆固醇、甘油三酯、低密度和高密度脂蛋白胆固醇的影响($\bar{x} \pm s$, mmol/L, $n = 10$)

Table 1. Variety of serum TC, TG, LDLC, and HDLC in the four groups

分 组	TC		TG		LDLC		HDLC	
	0 周	12 周	0 周	12 周	0 周	12 周	0 周	12 周
正常组	1.28 ± 0.12	1.27 ± 0.73	0.84 ± 0.14	0.85 ± 0.18	0.45 ± 0.04	0.50 ± 0.07	0.53 ± 0.12	0.54 ± 0.11
高脂组	1.27 ± 0.88	20.26 ± 0.13 ^a	0.86 ± 0.08	1.85 ± 0.35 ^a	0.46 ± 0.11	18.99 ± 2.65 ^a	0.54 ± 0.09	0.75 ± 0.10 ^a
低剂量组	1.28 ± 0.37	15.27 ± 0.83 ^{ab}	0.86 ± 0.03	1.71 ± 0.28 ^a	0.4 ± 0.08	14.27 ± 3.04 ^{ab}	0.52 ± 0.10	0.81 ± 0.06 ^d
高剂量组	1.28 ± 0.23	11.28 ± 1.62 ^{ab}	0.85 ± 0.14	1.51 ± 0.11 ^{ab}	0.43 ± 0.04	12.13 ± 3.56 ^{ab}	0.53 ± 0.08	0.94 ± 0.77 ^{cd}

a: 与正常组 $P < 0.01$ b: 与高脂组比 $P < 0.01$ c: 与高脂组比 $P < 0.05$ d: 与正常组 $P < 0.05$

2.2 甘薯糖蛋白对血清丙二醛及超氧化物歧化酶的影响

各组血清 SOD 和丙二醛变化见表 2 (Table 2)。实验前各组间血清过氧化脂质水平无显著性差异。第 12 周末, 低剂量甘薯糖蛋白组 SOD 活力较高脂组升高, 但无统计学意义, 而与正常组比却明显降低 ($P < 0.01$); 丙二醛与正常组和高脂组相比均无统计学差异。高剂量甘薯糖蛋白组血清丙二醛含量明显低于高脂组 ($P < 0.01$), 但较正常组高 ($P > 0.05$); 而 SOD 活力明显高于高脂组 ($P < 0.01$), 但较正常组低 ($P < 0.01$)。

2.3 主动脉病理变化

2.3.1 肉眼观察 正常对照组兔主动脉内膜光滑, 肉眼无脂质斑块形成(图 1A, Figure 1A); 高脂组兔主动脉内膜可见明显的脂质斑块形成, 重者整条主动脉内膜可见弥漫分布脂质斑块(图 1B, Figure 1B), 其主动脉脂质斑块与主动脉内膜表面积之比达 0.47 ± 0.08 ; 低剂量甘薯糖蛋白组兔主动脉内膜可见散在脂质斑块形成, 尤以主动脉起始部为重(图

1C, Figure 1C), 其主动脉脂质斑块与主动脉内膜表面积之比为 0.34 ± 0.05 , 较高脂组有所减轻 ($P < 0.05$); 高剂量甘薯糖蛋白组兔主动脉内膜虽可见少量脂质斑块形成(图 1D, Figure 1D), 但主动脉脂质斑块与主动脉内膜表面积之比为 0.29 ± 0.06 , 较高脂组明显下降 ($P < 0.01$)。

表 2. 甘薯糖蛋白对血清丙二醛及超氧化物歧化酶的影响
($\bar{x} \pm s$, mmol/L, $n = 10$)

Table 2. Variety of serum SOD and MDA in the four groups

分 组	SOD		丙二醛	
	0 周	12 周	0 周	12 周
正常组	452 \pm 35	424 \pm 34	3.43 \pm 0.32	3.51 \pm 0.27
高脂组	441 \pm 32	156 \pm 16 ^a	3.39 \pm 0.39	4.53 \pm 0.34 ^a
低剂量组	424 \pm 34	186 \pm 21 ^a	3.45 \pm 0.37	4.13 \pm 0.18
高剂量组	450 \pm 32	231 \pm 6 ^{ab}	3.41 \pm 0.52	3.83 \pm 0.26 ^{bc}

a: 与正常组比 $P < 0.01$, b: 与高脂组比 $P < 0.01$, c: 与正常组比 $P > 0.05$

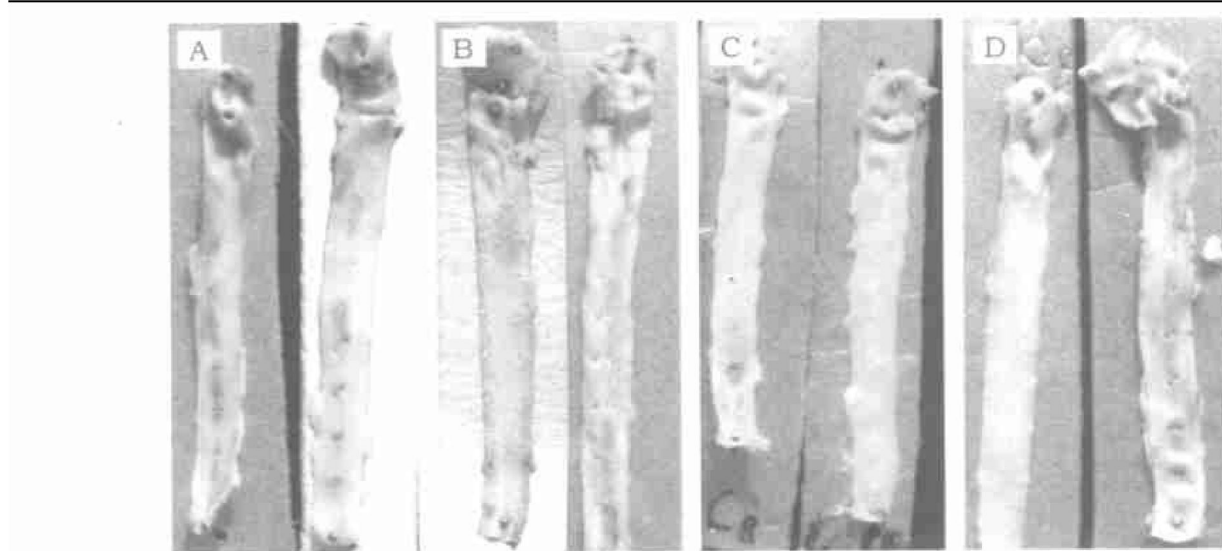


图 1. 兔主动脉内膜肉眼观 A 为正常对照组, B 为高脂组, C 为低剂量 BG 组, D 为高剂量 BG 组。

Figure 1. Observation of aortic intima of rabbits by naked eye

2.3.2 显微镜观察 正常对照组内皮细胞结构完整, 内皮下无泡沫细胞沉积(图 2A, Figure 2A); 高脂组内皮细胞下泡沫细胞丰富, 大量中膜平滑肌细胞向内膜迁移(图 2B, Figure 2B); 低剂量组内皮下中等量泡沫细胞, 泡沫细胞间有胶原纤维分布(图 2C, Figure 2C); 高剂量组内皮下泡沫细胞少而且体积小, 其间有多量胶原纤维分布(图 2D, Figure 2D)。

3 讨论

动脉粥样硬化(As)是心肌梗死和脑梗死的主要原因, 对于动脉粥样硬化来说, 血脂水平过高和内皮损伤是其发生的始动因子。故调节血脂水平, 减少脂质沉着, 保持内膜完整, 维持内皮功能是预防和治疗动脉粥样硬化的关键^[4]。本研究发现: (1) 甘薯糖蛋白有显著降低血中 TC、TG、LDLC, 升高 HDLC 的作用, 而且在低剂量组就可表现出 TC 和 LDLC 的显著降低(与高脂组比, $P < 0.01$)。血脂水平降低尤其

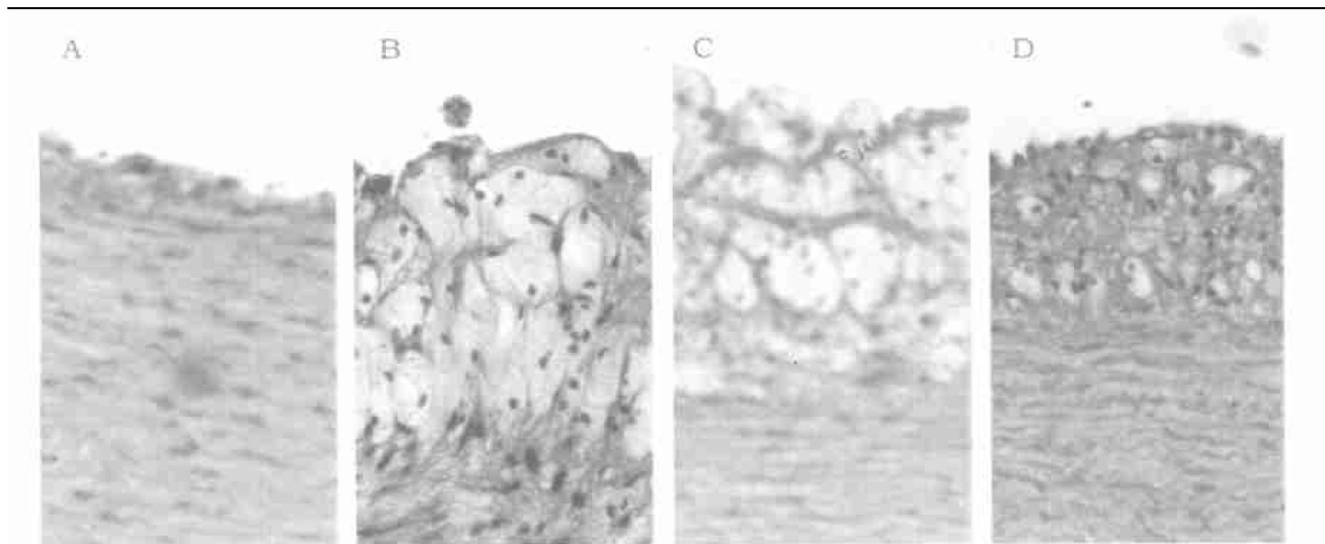


图2. 兔主动脉内膜显微镜照片(HE染色, 10×20) A为正常对照组, B为高脂组, C为低剂量BG组, D为高剂量BG组。

Figure 2. Microscopic photos of aortic intima of rabbits dyed with HE

是LDLC的降低可使其在动脉壁的沉积减少,从而预防动脉粥样硬化的发生和发展;而血浆中高密度脂蛋白被认为是一种保护性蛋白,高密度脂蛋白与冠心病和脑梗死的发生具有显著的相关性。(2)甘薯糖蛋白具有明显降低血中丙二醛含量和升高SOD活力的作用,这一作用在高剂量组表现最突出(与高脂组比, $P < 0.01$)。丙二醛既能氧化修饰LDL形成ox-LDL,促进单核巨噬细胞清道夫受体吞噬ox-LDL而不受胆固醇负反馈调节,从而发展成泡沫细胞;又能损伤血管内皮细胞破坏TXA₂/PGI₂平衡,促使血小板聚集及血栓形成;还能增加胆固醇的细胞膜转移,使细胞内胆固醇堆积;并且也能整合到细胞膜中,改变膜的通透性和流动性,引起细胞死亡,从而从多方面促进动脉粥样硬化发生与发展^[6]。SOD是预防机体由于氧代谢接受电子不足,而形成的超氧阴离子自由基损害的主要活性酶, SOD活力增高,可对自由基清除增加,从而减轻对组织的损伤和抑制LDL的氧化,因此起到抗动脉粥样硬化作用。

综上所述,甘薯有很好的降血脂和抗氧化功效,从而来预防动脉粥样硬化的形成,其有效成分是蛋白多糖。甘薯是否还有其它的抗动脉粥样硬化作用还有待于进一步探讨。

[参考文献]

- [1] 杨立民, 陈锡民. 浅谈甘薯综合开发利用. 国外农学-杂粮作物, 1995, 2: 44-45
- [2] 陈彦, 李一琨, 包森林, 周虎. 白头翁糖蛋白的分离纯化及其性质. 中国生化药物杂志, 1997, 4: 180-183
- [3] 何斌, 熊子仙, 李本常, 尹光平. 皱木耳多糖降血脂作用的研究. 食用菌, 1998, 4: 7
- [4] 张铁忠, 万迎新. 通脉益智胶囊抗动脉粥样硬化作用的实验研究. 北京中医药大学学报, 2002, 5: 33-37
- [5] 刘立英, 文继舫, 涂江华, 钟志莲, 吴晋湘. Cariporide对高脂饮食所致兔动脉粥样硬化的保护作用. 中国动脉硬化杂志, 2002, 10: 1-5
- [6] Superko HR. The new thinking on lipid and coronary artery disease. Curr Opin Cardiol, 1997, 12: 180-187
- [7] 李卫萍, 孙明, 周宏研. 高血压病患者血管内皮依赖性舒张功能与血清一氧化氮和超氧化物歧化酶的关系. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11: 155-158
- [8] 吴伟康, 黑子清, 孙惠兰, 梅开勇, 罗汉川. 四逆汤对高胆固醇饲料所致动脉粥样硬化形成和氧化损伤的影响. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11: 505-508

(此文编辑 胡必利)