

· 论著 ·

贻贝多糖 MA 对实验性动脉粥样硬化兔的作用

毛峻琴¹, 侯中海², 陈大贵², 张文² (1. 解放军 85 医院, 上海 200052; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] 目的 探讨贻贝多糖 MA 对实验性动脉粥样硬化兔的降血脂作用及其机制, 并观察其对肝脏和主动脉的影响。方法 采用喂饲高脂饲料的方法建立实验性动脉粥样硬化兔模型, 连续给予 MA 4 周后, 测定兔血脂水平, 如血清三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL) 水平, 以及与血脂代谢相关酶如脂蛋白酯酶 (LPL)、肝酯酶 (HL)、羟甲基戊二酸单酰辅酶-A 还原酶 (HMG-CoAR) 活性; 并进行肝脏的病理组织学和超微结构检查; 油红染色观察兔主动脉粥样硬化斑块的脂质沉积情况。结果 贻贝多糖 MA 能显著降低实验性动脉粥样硬化兔血清 TG、TC、LDL 水平, 并显著增加 HL 和 LPL 的活性 ($P < 0.05$)。MA 能减轻肝脏脂质沉积, 减少主动脉粥样硬化斑块的脂质沉积和斑块形成。结论 贻贝多糖 MA 通过增加 HL 和 LPL 活性发挥调血脂功能, 可用于防治家兔动脉粥样硬化和脂肪肝。

[关键词] 动脉粥样硬化; 贻贝; 多糖; 血脂

R[中图分类号] R931.77, R965 [文献标志码] A [文章编号] 1006-0111(2014)01-0027-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2014.01.007

Anti-hyperlipidemic effects of polysaccharide MA from *Mytilus coruscus* on experimental atherosclerosis in rabbits

MAO Junqin¹, HOU Zhonghai², CHEN Dagui², ZHANG Wen² (1. No. 85th Hospital of PLA, Shanghai 200052, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To explore the anti-hyperlipidemic effects and mechanism of polysaccharide MA from *Mytilus coruscus* in the experimental atherosclerosis rabbits and to observe the effects of MA on liver and aorta. **Methods** The atherosclerosis rabbit model was established by high-fat diet. The blood lipid such as triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL) in serum and enzymes metabolizing blood lipid such as lipoprotein lipase (LPL), hepatic lipase (HL) and hydroxymethylglutaryl CoA reductase (HMG-CoAR) were measured after atherosclerosis rabbits fed MA for 4 weeks. Histopathology and ultramicroscopic structure of hepatic tissue was observed. Lipid storage in aortic atherosclerotic plaque was observed by the oil red staining method. **Results** MA significantly reduced the level of TG, TC, LDL in serum and increased HL, LPL ($P < 0.05$). MA reduced lipid storage in liver and aortic atherosclerotic plaque. **Conclusion** MA might play regulating effects in serum lipid by enhancing the activities of LPL and HL, and inhibit formation of atherosclerosis and fatty liver.

[Key words] atherosclerosis; *Mytilus coruscus*; polysaccharide; blood lipid

海洋软体动物贻贝 (*Mytilus sp.*) 广泛分布于我国辽宁、山东、浙江等省沿海地区, 养殖范围广, 生产数量大, 经济价值高, 也有一定的药食价值, 在《本草纲目》、《本草拾遗》及《日华子本草》中均有记载。现代药理学研究表明, 贻贝具有促进免疫^[1]、抗肿瘤^[2]、清除氧自由基^[3]、调节血脂^[4]、抗动脉粥样硬化^[5]等药理作用。贻贝的清除氧自由基作用源于贻贝多肽^[3], 调血脂活性则基于其多糖成分^[6], 贻贝总多糖的主体成分是贻贝多糖 MA^[7]。笔者对贻贝多糖 MA 抗高血脂作用及其机制进行了试验, 同

时观察了 MA 的抗动脉粥样硬化作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 新西兰兔, 雄性, 体重 2~2.3 kg, (上海甲干生物科技有限公司, 实验动物许可证号: SCXK(沪)2010-0028)。

1.2 高脂饲料 基础饲料粉 79.5%、蛋黄粉 15%、猪油 5%、胆固醇 0.5% (上海斯莱康实验动物有限公司)。

1.3 实验药品与试剂 贻贝多糖 MA (第二军医大学药学院海洋药物教研室制备, 批号: 20110810-1); 血脂康 (北京北大维信生物科技有限公司, 批号: 20110410); 普伐他汀片 (中美上海施贵宝制药有限公司, 批号: 1103042)。三酰甘油 (TG) 测试盒 (批

[基金项目] 上海市科委生物医药重点项目 (10431902400)。

[作者简介] 毛峻琴, 女, 副主任药师。Tel: (021) 58172412, E-mail: maojq204@163.com。

[通讯作者] 张文。Tel: (021) 81871257, E-mail: wenzhang1968@163.com。

号:20100413),总胆固醇(TC)测试盒(批号:20100907),低密度脂蛋白胆固醇(LDL)测试盒(批号:20100702),高密度脂蛋白胆固醇(HDL)测试盒(批号:20100702),均为北京北化康泰临床试剂有限公司产品。总酯酶[脂蛋白酯酶(LPL)/肝脂酶(HL)]测试盒为南京建成生物工程研究所产品(批号:20111123)。兔羟甲基戊二酸单酰辅酶-A还原酶(HMG-CoAR)测试盒为上海裕平生物科技有限公司产品(批号:201111)。

1.4 实验仪器 透射电子显微镜(日立 H-600型);Anke TDL-5 离心机(上海安亭科学仪器厂);SCREEN MASTER 3000 半自动化分析仪(北京富利泰医学科技有限公司);CP225D 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.5 实验方法

1.5.1 实验步骤 在适应性喂养 7 d 后,于兔耳缘静脉取血,根据血脂水平将兔随机分为 7 组,即空白对照组,模型组,阳性对照血脂康组(0.12 g/kg)和普伐他汀组(4 mg/kg),MA 低、中、高剂量组(15、30、60 mg/kg)每组 6 只兔。空白对照组兔喂普通颗粒饲料外,其余各组兔喂高脂饲料 4 周后,除空白对照组外,其他各组继续喂上述高脂饲料并开始给药。空白对照组及模型组均灌胃给予等量的 0.5% CMC-Na 溶

液,其余各组给予药物,1 次/d,连续给药 4 周。每周称重 1 次,根据体重调整给药剂量。

1.5.2 指标检测 在连续给药 4 周后,所有实验兔均禁食、自由饮水 12 h,并于末次给药 1 h 后予 3% 戊巴比妥钠(1 ml/kg)麻醉。从腹主动脉取血液 5 ml 用于测定血脂,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,按试剂盒说明测定 TG、TCH、LDL 和 HDL。取小块肝脏分别行病理检查和透射电子显微镜观察超微结构。取其余肝脏,冷冻后,制备 10% 肝组织匀浆,待测 LPL、HL 和 HMG-CoAR。取主动脉,将动脉血管剖开后,直接进行油红染色观察。

1.5.3 统计学处理 实验数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS13.0 软件做方差分析和显著性检验;显著性水平 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 MA 对实验性动脉粥样硬化兔血脂水平的影响 与空白对照组比较,模型组兔的血清 TG、TC、LDL 水平显著升高($P < 0.01$),HDL 也有所升高。与模型组相比,MA 组兔血清 TG、TC、LDL 明显降低($P < 0.05$),其降低程度与剂量呈一定依赖关系。阳性对照血脂康和普伐他汀组均显著降低血清 TG、TC 和 LDL 水平,HDL 升高($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 MA 对高脂血症家兔血脂水平的影响($n = 6, \bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

组别	TG	TC	LDL	HDL
空白对照组	0.49 ± 0.12	2.77 ± 0.60	1.46 ± 0.51	0.36 ± 0.04
模型组	3.08 ± 0.96 ⁴⁾	17.20 ± 3.76 ⁴⁾	11.84 ± 3.26 ⁴⁾	0.55 ± 0.11
血脂康组	1.61 ± 0.50 ²⁾³⁾	10.39 ± 1.69 ²⁾⁴⁾	6.99 ± 1.73 ²⁾⁴⁾	0.76 ± 0.14 ¹⁾⁴⁾
普伐他汀组	1.58 ± 0.45 ²⁾³⁾	10.49 ± 2.20 ²⁾⁴⁾	7.07 ± 2.23 ²⁾⁴⁾	0.76 ± 0.13 ¹⁾⁴⁾
低剂量组	1.34 ± 0.32 ²⁾	12.75 ± 1.67 ¹⁾⁴⁾	8.33 ± 1.67 ¹⁾⁴⁾	0.68 ± 0.09 ⁴⁾
中剂量组	1.16 ± 0.39 ²⁾	10.74 ± 1.80 ²⁾⁴⁾	7.83 ± 1.41 ¹⁾⁴⁾	0.71 ± 0.11 ⁴⁾
高剂量组	1.07 ± 0.53 ²⁾	10.66 ± 1.62 ²⁾⁴⁾	6.74 ± 1.60 ²⁾⁴⁾	0.72 ± 0.14 ⁴⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$,与模型组比较;³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$,与空白对照组比较

2.2 MA 对实验性动脉粥样硬化兔 LPL、HL 和 HMG-CoAR 活性的影响 与空白对照组比较,模型组兔 LPL、HL 和 HMG-CoAR 活性水平明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较,MA 中、高剂量组明显增加 LPL 活性($P < 0.05, P < 0.01$);MA 低、中、高剂量组明显增加 HL 活性($P < 0.05, P < 0.01$);MA 对 HMG-CoAR 水平无显著影响。血脂康和普伐他汀可明显增加 LPL 和 HL 活性,降低 HMG-CoAR 活性。结果详见表 2。

2.3 MA 对实验性动脉粥样硬化兔肝脏的影响(图 1)

2.3.1 肉眼观察 空白对照组肝脏颜色红润,质软,无异常变化;模型组肝脏体积增大,呈红黄色,包膜紧张、边缘圆钝、切面油腻,属典型肝细胞脂肪变

性;MA 组和阳性药物组(并称给药组)呈轻微红黄色,质地、体积均有明显改善。

表 2 MA 对实验性动脉粥样硬化兔 LPL、HL 和 HMG-CoAR 活性的影响($n = 6, \bar{x} \pm s, \text{U/mg pro}$)

组别	LPL	HL	HMG-CoAR
空白对照组	10.20 ± 2.71	9.52 ± 1.77	253.61 ± 47.81
模型组	2.45 ± 0.98 ⁴⁾	1.01 ± 0.30 ⁴⁾	459.68 ± 29.78 ⁴⁾
血脂康组	7.60 ± 2.26 ¹⁾	4.14 ± 2.27 ¹⁾⁴⁾	391.22 ± 31.46 ¹⁾⁴⁾
普伐他汀组	7.42 ± 2.04 ¹⁾	3.95 ± 1.96 ¹⁾⁴⁾	383.85 ± 19.37 ²⁾⁴⁾
低剂量组	5.56 ± 2.23 ⁴⁾	3.61 ± 0.19 ¹⁾⁴⁾	435.46 ± 32.13 ⁴⁾
中剂量组	7.19 ± 1.95 ¹⁾³⁾	4.36 ± 0.59 ¹⁾⁴⁾	433.70 ± 21.53 ⁴⁾
高剂量组	8.26 ± 2.12 ²⁾	5.09 ± 2.06 ²⁾⁴⁾	407.37 ± 40.37 ⁴⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$,与模型组比较;³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$,与空白对照组比较

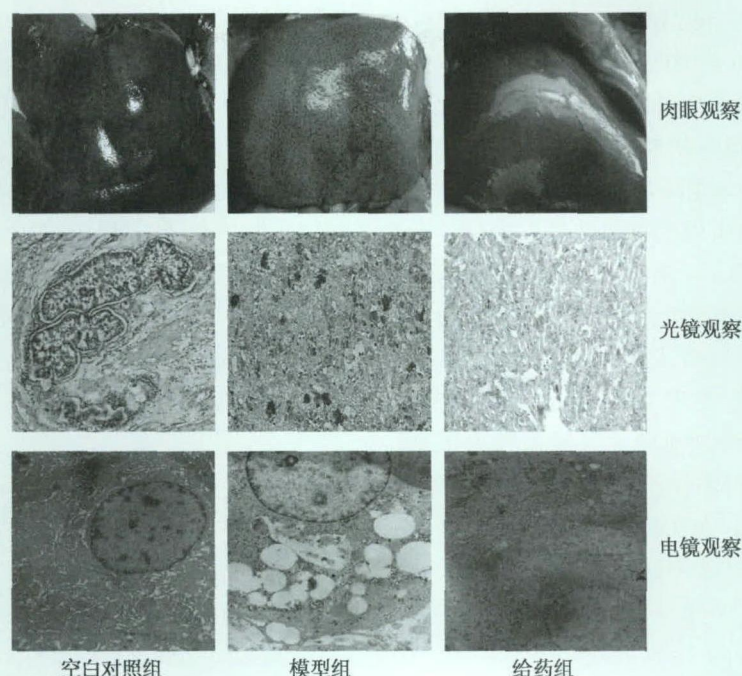


图1 MA对实验性动脉粥样硬化兔肝脏的影响

2.3.2 HE染色镜下组织学观察 空白对照组肝组织的形态学正常,肝小叶结构完整,未见脂肪变性的肝细胞。模型组肝组织均出现了肝细胞脂肪变性,病变以中央静脉周围最为明显,有成片的肝细胞呈泡沫样脂肪变性,以及灶性分布的大脂滴脂肪变性,病变区域出现肝细胞融合现象,部分肝细胞发生溶解性坏死。给药组可见肝小叶清晰、肝索明显,肝细胞基本

正常,少数肝细胞变大,胞浆内有少量脂滴沉着。

2.3.3 透射电镜观察 模型组兔肝脏有较多脂滴;与模型组比较,给药组肝脏脂滴明显减少。

2.4 MA对实验性动脉粥样硬化兔主动脉粥样硬化斑块的影响 用油红脂肪染色的方法可使主动脉粥样硬化区域脂肪呈鲜红色,用于观察动脉粥样硬化情况(图2)。

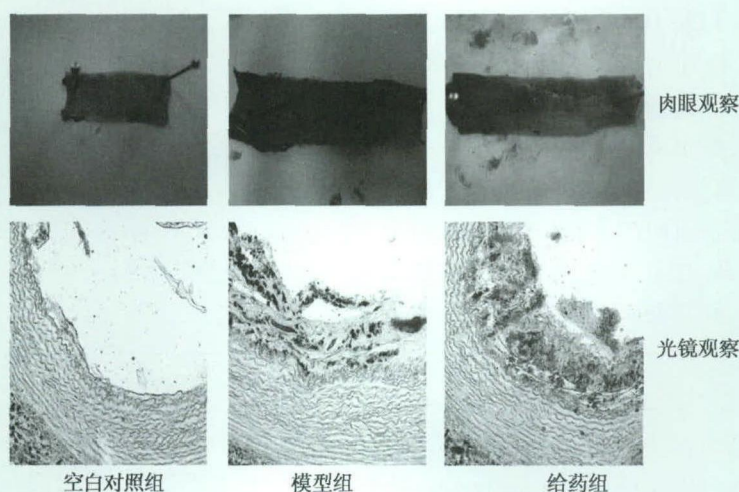


图2 MA对实验性动脉粥样硬化兔主动脉粥样硬化斑块的影响

2.4.1 肉眼观察 空白对照组主动脉内膜光滑,无红染的粥样硬化斑块形成;模型组主动脉内有较多的红染斑块,各给药组有少量的红染斑块。

脉内有大量的红色脂质沉积;给药组主动脉内红色脂质沉积少于模型组。

2.4.2 光镜观察 冰冻切片油红染色结果显示:空白对照组主动脉内无红色的脂质沉积;模型组主动

3 讨论

动脉粥样硬化是心脑血管疾病的主要病理学基

