

两种高脂饲料致鹌鹑动脉粥样硬化病变的比较

季慧芳 张陆勇 谢文敏 张 锐

(中国药科大学生理学教研室, 南京 210009)

摘 要 持续用高脂 I、高脂 II 饲料喂养鹌鹑 7 周后, 血清 TC、TG、LDL-C、VLDL-C 和 AI 明显升高, HDL-C、HDL₂-C、HDL₃-C 及 HDL-C/TC 和 HDL₂-C/HDL₃-C 值明显降低。动脉壁 TG、TC、CE、MDA 含量及 CE/TC 值均明显升高, 而且, 主动脉内膜形成了明显的动脉粥样硬化斑块, 病理检查表明: 高脂 II 组较高脂 I 组的病变程度更高。吉非罗齐 (50, 100 mg/kg) 能明显改善高脂饲料引起的鹌鹑血脂紊乱, 减少胆固醇及其酯在动脉壁的沉积, 抑制动脉粥样硬化。

关键词 鹌鹑; 高脂饲料; 血脂; 动脉粥样硬化; 吉非罗齐

鹌鹑用于动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 模型的研究已有诸多报道, 但所用高脂饲料的配方各有不同^[1~3], 究竟何种高脂饲料配方所诱发的 AS 病变更明显、更稳定, 目前尚无明确报道。为了了解饲料配方与 AS 病变之间的关系, 本实验比较了两种不同配方的高脂饲料所诱发鹌鹑 AS 的病变程度, 并观察了调血脂药吉非罗齐 (Gemfibrozil, Gem) 对鹌鹑 AS 形成的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 饲料 (1) 基础饲料配方 (%): 玉米粉 55; 豆粉 25; 鱼粉 5; 石粉 2; 骨粉和贝粉 4; 菜豆干粉 4; 酵母粉 3; 食盐 0.8; 蛋氨酸 0.15; 氯化胆碱 0.05; 添加剂 1; (2) 高脂 I 饲料配方 (%): 基础饲料 79; 胆固醇 1; 羊油 8; 猪油 8; 花生油 4; (3) 高脂 II 饲料配方 (%): 面粉 65; 麸皮 4; 骨粉和贝粉 6; 胆固醇 1; 羊油 10; 猪油 10; 花生油 4。

1.1.2 试剂与药物 胆固醇由南京生化制药厂生产, 批号 940101; 总胆固醇测定药盒、甘油三酯测定药盒、高密度脂蛋白胆固醇测定药盒及低密度脂蛋白胆固醇测定药盒均由

宁波市慈城生化试剂厂生产, 批号 941216; 丙二醛测试盒, 购自南京建成生物工程研究所, 批号: 941220; 吉非罗齐, 系无锡第七制药厂生产, 批号 930423; 临用时, 用 0.5% CMC-Na 溶液配成 5, 10 mg/ml 混悬液。

1.2 方法

选用健康雄性朝鲜鹌鹑 60 只, 体重 100 ± 6 g, 6 周龄, 观察 1 周后按体重随机分成 5 组: 普食对照组、高脂 I 组、高脂 II 组、吉非罗齐低剂量组 (50 mg/kg) 和吉非罗齐高剂量组 (100 mg/kg)。普食组喂以基础饲料, 高脂 I 组喂以高脂 I 饲料, 其余各组给予高脂 II 饲料, 分别饲养于 50 × 35 × 30 cm 铁丝笼内, 每日光照 14 h, 室温 20 ± 2℃, 给予充足的水和饲料, 各实验组按 1 ml/100 g 每日灌胃给药或给水一次, 连续 7 周。于 7 周末禁食 15 h 后, 称重断头取血, 分离血清, 以酶法测定血清总胆固醇 (TC), 甘油三酯 (TG) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C), 以一步沉淀法分离高密度脂蛋白 (HDL) 及亚组分 III (HDL₃), 再以酶法测定其中胆固醇含量, 计算出极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C), HDL₂-C, HDL-C/TC、HDL₂-C/HDL₃-C 值及动脉粥样硬化指数 (AI)。其中 $VLDL-C = TC - (HDL-C + LDL-$

C), $HDL_2-C = HDL-C - HDL_3-C$, $AI = (TC - HDL-C) / HDL-C$ 。断头处死动物后,立即取出主动脉及左、右头臂动脉,沿主动脉前壁中线纵行切开主动脉及左、右头臂动脉,直接以肉眼观察主动脉斑块的情况,并将主动脉内膜病变从轻到重分为6级,即0,0.5,1,2,3,4级进行病变定级^[1]。然后将动脉标本称湿重,按Folch法^[4]抽取动脉壁脂质,并参照Cho氏法^[5],测定动脉壁TC和游离胆固醇(FC)的含量,二者之差即为胆固醇酯(CE)。同时,用丙二醛(MDA)测试盒测定MDA的含量,以此表示脂质过氧化物(LPO)的含量。取肝脏和心脏作病理切开,以观察肝脏和冠状动脉的病变情况,各组数据用 t 检验统计处理。

2 结果

2.1 各组对体重的影响

实验2周末,各组体重均有增加,4周末,普食组和高脂I体重增加,喂予高脂II饲料的各组体重均减少,至7周末,普食组和高脂I组体重增加,但高脂I组增加幅度减小,其余各组体重仍下降,以高脂II组下降最为明显(见图1)。

2.2 各组对鹌鹑血清脂质的影响

Tab 1. Effects of the various groups on the serum TC, TG, LDL-C, VLDL-C and AI in quails ($\bar{x} \pm s$)

| Groups | n | TC, mmol/L | TG, mmol/L | LDL-C, mmol/L | VLDL-C, mmol/L | AI |
|------------------|----|------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Stock diet | 12 | 6.10 ± 0.42 | 1.33 ± 0.22 | 2.86 ± 0.67 | 0.61 ± 0.32 | 1.26 ± 0.38 |
| Rich-fat diet I | 12 | $17.76 \pm 4.58^{***\Delta\Delta\Delta}$ | $2.45 \pm 0.54^{***}$ | $5.43 \pm 1.03^{***\Delta\Delta\Delta}$ | $10.83 \pm 3.98^{***\Delta\Delta}$ | $11.32 \pm 3.96^{***}$ |
| Rich-fat diet II | 11 | $23.67 \pm 3.7^{***}$ | $2.64 \pm 0.53^{***}$ | $7.16 \pm 1.23^{***}$ | $14.86 \pm 3.39^{***}$ | $13.44 \pm 3.07^{***}$ |
| Gem 50 mg/kg | 11 | $8.00 \pm 1.01^{\Delta\Delta\Delta}$ | $1.51 \pm 0.54^{\Delta\Delta\Delta}$ | $2.70 \pm 0.50^{\Delta\Delta\Delta}$ | $3.08 \pm 0.85^{\Delta\Delta\Delta}$ | $2.65 \pm 0.62^{\Delta\Delta\Delta}$ |
| Gem 100 mg/kg | 11 | $7.77 \pm 0.89^{\Delta\Delta\Delta}$ | $1.29 \pm 0.63^{\Delta\Delta\Delta}$ | $2.40 \pm 0.69^{\Delta\Delta\Delta}$ | $2.66 \pm 1.06^{\Delta\Delta\Delta}$ | $1.85 \pm 0.29^{\Delta\Delta\Delta}$ |

*** $P < 0.01$ compared with stock diet group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ compared with rich-fat diet I group

Tab 2. Effects of the various groups on the serum HDL-C and its subfractions in quails ($\bar{x} \pm s$)

| Groups | n | HDL-C, mmol/L | HDL ₂ -C, mmol/L | HDL ₃ -C, mmol/L | HDL-C/TC, % | HDL ₂ -C/HDL ₃ -C, % |
|------------------|----|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------|
| stock diet | 12 | 2.75 ± 0.36 | 1.06 ± 0.34 | 1.69 ± 0.26 | 45.4 ± 7.8 | 65.4 ± 25.7 |
| Rich-fat diet I | 12 | $1.49 \pm 0.32^{***}$ | $0.47 \pm 0.31^{***}$ | $1.03 \pm 0.25^{***\Delta\Delta}$ | $8.8 \pm 2.6^{***}$ | $35.1 \pm 16.1^{***}$ |
| Rich-fat diet II | 11 | $1.66 \pm 0.19^{***}$ | $0.40 \pm 0.14^{***}$ | $1.26 \pm 0.23^{***}$ | $7.3 \pm 1.7^{***}$ | $34.6 \pm 19.1^{***}$ |
| Gem 50 mg/kg | 11 | $2.23 \pm 0.33^{\Delta\Delta\Delta}$ | $0.79 \pm 0.24^{\Delta\Delta\Delta}$ | $1.43 \pm 0.29^{\Delta}$ | $28.1 \pm 4.8^{\Delta\Delta\Delta}$ | $58.6 \pm 23.0^{\Delta\Delta}$ |
| Gem 100 mg/kg | 11 | $2.73 \pm 0.18^{\Delta\Delta\Delta}$ | $1.22 \pm 0.35^{\Delta\Delta\Delta}$ | $1.51 \pm 0.33^{\Delta}$ | $35.1 \pm 3.4^{\Delta\Delta\Delta}$ | $66.3 \pm 17.0^{\Delta\Delta\Delta}$ |

*** $P < 0.01$ compared with stock diet group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ compared with rich-fat diet I group

用高脂饲料喂养鹌鹑7周后,高脂I组、II组血清中TC、TG、LDL-C、VLDL-C和

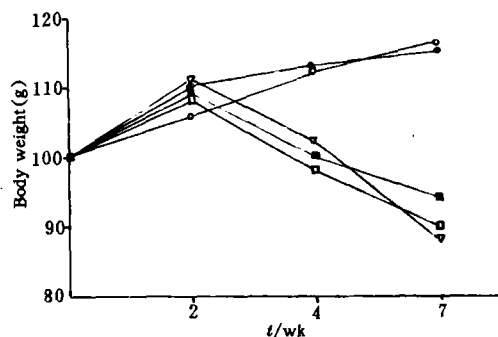


Fig1. Effects of the various groups on body weight in quails
—○—: stock diet group —●—: rich-fat diet I group;
—▽—: on rich fat diet II group; —■—: Gemfibrozil 50 mg/kg/d;
—□—: Gemfibrozil 100 mg/kg/d

AI值均较普食对照组明显升高,其中高脂II组血清中TC、LDL-C、VLDL-C较高脂I组升高更多;而高脂I组、II组血清中HDL-C、HDL₂-C、HDL₃-C、HDL-C/TC及HDL₂-C/HDL₃-C则较普食组显著降低,高脂I组与高脂II组相比较,除了HDL₃-C外,其余指标无明显差异;与高脂II组相比较,吉非罗齐(50,100 mg/kg)两个剂量组血清中TC、TG、LDL-C、VLDL-C和AI均显著下降,而HDL-C、HDL₂-C、HDL-C/TC及HDL₂-C/HDL₃-C则明显升高,这与文献报道一致^[6](表1,2)。

2.3 各组对动脉壁胆固醇和脂质过氧化物含量的影响

高脂 I、高脂 II 两组在单纯喂予高脂 I、高脂 II 饲料 7 周后,鹌鹑动脉壁 TG、TC、FC、CE 的含量及 CE/TC 比值均较普食对照组显

著增加,代表 LPO 的 MDA 含量也明显升高,说明高脂 I、高脂 II 饲料均可诱发胆固醇及其酯在动脉壁的沉积。吉非罗齐两剂量组动脉壁 TG、TC、CE 和 CE/TC 值均较高脂 II 组明显降低,MDA 含量也显著下降(表 3)。

Tab 3. Effects of the various groups on arterial TC, FC, CE, CE/TC, TG and MDA in quails ($\bar{x} \pm s$)

| Group | n | TC, $\mu\text{mol/L}$ | FC, $\mu\text{mol/L}$ | CE, $\mu\text{mol/L}$ | CE/TC | TG, $\mu\text{mol/L}$ | MDA, nmol/L |
|------------------|----|----------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| Stock diet | 12 | 9.3 \pm 2.2 | 6.9 \pm 1.5 | 2.4 \pm 0.9 | 0.26 \pm 0.06 | 8.3 \pm 1.3 | 294.9 \pm 92.6 |
| Rich-fat diet I | 12 | 21.3 \pm 4.6*** $\Delta\Delta\Delta$ | 10.3 \pm 1.9*** | 11.0 \pm 2.7*** $\Delta\Delta\Delta$ | 0.51 \pm 0.02*** $\Delta\Delta\Delta$ | 16.4 \pm 1.7*** | 592.4 \pm 96.8*** |
| Rich-fat diet II | 11 | 16.2 \pm 3.5*** | 8.9 \pm 2.0** | 7.3 \pm 1.7*** | 0.45 \pm 0.04*** | 16.8 \pm 3.1*** | 581.3 \pm 127.4*** |
| Gem 50 mg/kg | 11 | 9.1 \pm 2.5 $\Delta\Delta\Delta$ | 5.7 \pm 1.5 $\Delta\Delta\Delta$ | 3.4 \pm 1.0 $\Delta\Delta\Delta$ | 0.38 \pm 0.02 $\Delta\Delta\Delta$ | 6.7 \pm 2.1 $\Delta\Delta\Delta$ | 281.8 \pm 84.8 $\Delta\Delta\Delta$ |
| Gem 100 mg/kg | 11 | 10.1 \pm 1.3 $\Delta\Delta\Delta$ | 6.3 \pm 0.7 $\Delta\Delta\Delta$ | 3.9 \pm 0.7 $\Delta\Delta\Delta$ | 0.38 \pm 0.03 $\Delta\Delta\Delta$ | 6.1 \pm 1.3 $\Delta\Delta\Delta$ | 332.4 \pm 62.9 $\Delta\Delta\Delta$ |

*** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ compared with stock diet group; $\Delta\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ compare with rich-fat diet II

2.4 各组对动脉内膜斑块形成的影响

鹌鹑喂养 7 周后,可见高脂 II 组动脉内膜较粗糙,有大量的脂点、脂纹,且形成的斑块较大,显示出明显的 AS 病变。高脂 I 组也出现上病变,但斑块较小,与高脂 II 组相比,病变程度较轻。吉非罗齐两剂量组动脉内膜病变较高脂 I、II 组轻,仅见脂纹、斑块很少且小。从内膜病变级别分析,吉非罗齐对鹌鹑 AS 斑块形成有明显的抑制作用(表 4)。

Tab 4. Effect of the various groups on atherosclerosis formation in quails ($\bar{x} \pm s$)

| Group | n | Pathological grade |
|------------------|----|--------------------------------------|
| Stock diet | 12 | 0 |
| Rich-fat diet I | 12 | 0.96 \pm 0.99*** $\Delta\Delta$ |
| Rich-fat diet II | 11 | 2.00 \pm 1.20*** |
| Gem 50 mg/kg | 11 | 0.39 \pm 0.49 $\Delta\Delta\Delta$ |
| Gem 100 mg/kg | 11 | 0.29 \pm 0.39 $\Delta\Delta\Delta$ |

*** $P < 0.01$ compared with stock diet group; $\Delta\Delta P < 0.05$,

$\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ compared with rich-fat diet II group

2.5 各组对冠状动脉和肝病变的影响

与普食组相比,高脂 I 组鹌鹑冠状动脉血管壁均略有增厚,管腔变小,个别血管壁增厚明显。少数肝组织脂变;高脂 II 组血管壁明显增厚,血管壁有脂质沉积,管腔变小,大多数肝组织明显脂变。吉非罗齐两剂量组血管壁未见明显增厚,大多数肝组织轻度脂变。

3 讨论

AS 的发生和发展与血脂及脂蛋白密切

相关^[7]。血清 TC、TG 和 LDL-C 的升高,是促发 AS 的重要因素。尤其是 LDL-C 的升高可促使动脉壁内膜通透性增加,动脉壁内脂质,特别是胆固醇酯大量沉积,形成泡沫细胞,泡沫细胞是 AS 斑块中最早出现的细胞成分。MDA 的变化与 LPO 呈正相关,LPO 的升高可加速 LDL 的氧化修饰,并且损伤内皮细胞,加速 AS 的发生与发展^[8]。现已确认,HDL 有抗 AS 的作用,HDL₂ 是 HDL 抗 AS 的主要成分^[9],且 HDL-C/TC 及 HDL₂-C/HDL₃-C 比值的升高与 AS 呈明显的负相关。实验结果表明,高脂 I 组、高脂 II 组均能形成 AS 斑块,动脉壁 TC、TG、CE 含量显著升高,MDA 含量也明显上升,表明与之相关的 LPO 也上升。鹌鹑血清 TC、TG、LDL-C、VLDL-C 及 AI 值升高,HDL-C、HDL₂-C、HDL₃-C/TC 及 HDL₂-C/HDL₃-C 比值降低,表明高脂饲料可诱发鹌鹑血脂紊乱,从而增加胆固醇及其酯在动脉壁中的沉积,导致 AS 斑块的形成。高脂 II 组主动脉内膜病变级别明显高于高脂 I 组,镜检显示高脂 II 组冠状动脉病变程度较高脂 I 组高。高脂 I 与高脂 II 饲料的不同之处是:高脂 I 饲料以玉米粉为主食,并配以鱼粉、氯化胆碱等,而高脂 II 组以面粉为主食。玉米油和鱼油均为多价不饱和脂肪酸。据文献报道,玉米油能促进实验性 AS 病变的消退^[10],鱼油有调血脂作用^[11]。氯化胆碱也有

利于促进胆固醇的代谢,提示高脂 I 饲料可能因为上述原因导致 AS 形成速度较缓,病变程度较轻。

实验 7 周后,鹌鹑体重的变化可能与肝脂变有关,肝脂变程度升高,动物消化吸收能力降低,导致体重下降。

吉非罗齐为氯贝丁酯类调血脂药。实验表明,吉非罗齐能够明显改善高脂 II 饲料所致的鹌鹑血脂紊乱,减轻鹌鹑主动脉内膜病变程度,降低动脉壁 TC, TG, CE 值,并抑制高脂饮食造成的 LPO 升高,从而减少胆固醇及其酯在动脉壁中的沉积。因此,具有明显的抗 AS 作用。

研究结果表明,利用高脂饲料喂养鹌鹑,确实能形成 AS,这对于 AS 的病理研究和抗 AS 药物的筛选具有很大的意义。

参考文献

- 1 王 巍,景厚德. 鹌鹑动脉粥样硬化模型的建立. 中华心血管病杂志,1984,12(3):222
- 2 杨文凯,丁 华,党教鹏等. 精制鱼油对鹌鹑实验性动脉粥样硬化的影响. 中国海洋杂志,1992;2:7
- 3 董 榕,黄文兴,武继彪. 藻酸双酯钠对鹌鹑血清及动脉壁胆固醇含量的影响. 中国药理学与毒理学杂志,1990,4(3):187
- 4 Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the purification of total lipid from animal tissue. *J Biol Chem* 1957,226:497
- 5 Cho BHS. Improved enzymatic determination of total cholesterol in tissue. *Clin Chem*,1983,29:166
- 6 Kahonen M, ylikahri R. Effect of clobfibrate and gemfibrozil on the activities of mitochondrial carnitine acyltransferases in rat liver. *Atherosclerosis*, 1979, 32:47
- 7 中华医学杂志编委会. 动脉粥样硬化专题座谈会纪要. 中华医学杂志,1985,65(1):1
- 8 陈 媛,周 玫. 脂质过氧化作用与动脉粥样硬化. 生物化学与生物物理学进展,1989,16:278
- 9 Neel D, Beaudry P, Erlich D. The cholesterol of HDL₂ and HDL₃ subfraction of HDL in different normal cholesterolemic population. *Clin Chim Acta*, 1984,142:319
- 10 Chakrovarti RN. Reversibility of cholesterol-adrenaline induced atherosclerosis in rhesus monkeys: Evaluation of safflower oil and low-fat low-calorie diet. *Atherosclerosis*,1977, 28:405
- 11 丁 华等. 鱼油调整血脂作用的研究. 中国药理学通报,1991,7(2):114

Comparasion of Atherosclerosis Formation Induced by Two Kinds of Rich-fat Diets in Quails

Ji Huifang, Zhang Luyong, Xie Wenming, Zhang Rui

Department of Physiology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract 60 male Korean quails were divided into 5 groups at random. Group I : on stock diet; Group II : on rich-fat diet I ; Group III : on rich-fat diet II ; Group IV : on rich-fat diet II + Gemfibrozil (50 mg/kg/d, po); Group V : on rich-fat diet II + Gemfibrozil (100 mg/kg/d, po). At the end of 7 weeks, the serum TC, TG, LDL-C, VLDL-C and the index AI increased and HDL-C, HDL₂-C, HDL₃-C, HDL-C/TC and HDL₂-C/HDL₃-C reduced significantly. In group II and group III, the aortic TG, TC, CE, MDA and CE/TC also increased markedly. There was more obvious atheromatous plaque in aortic walls in group III than in group II. Gemfibrozil could improve the disorder of serum lipid and inhibit the deposition of cholesterol and its ester in aortic wall. Thus, it could prevent the formation of atherosclerosis.

Key words Quail; Rich-fat diet; Serum lipides; Atherosclerosis; Gemfibrozil