

决明山楂燕麦胶囊对大鼠脂肪肝的防治作用

马存根, 杨立志, 白建平, 张海飞, 尉杰忠, 丰玲(山西大同大学脑科学研究所, 山西 大同 037009)

摘要: 目的 研究决明山楂燕麦胶囊对大鼠脂肪肝的防治作用。方法 采用高脂饮食喂养方式建立大鼠脂肪肝模型, 以大鼠一般情况, 血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)含量、肝脏病理改变为评价指标, 观察药物的保护作用。结果 与大鼠脂肪肝模型组相比, 决明山楂燕麦胶囊可显著降低大鼠血清 TC 和 TG 含量($P<0.01$); 升高 HDL-C($P<0.05$); 降低大鼠血清 MDA、ALT 和 AST 含量($P<0.05$), 并明显改善脂肪肝大鼠的肝脏病理改变, 减轻肝脏的脂肪变性。结论 决明山楂燕麦胶囊具有调节血脂, 防治大鼠脂肪肝的作用。

关键词: 高脂血症; 脂肪肝; 燕麦; 功能食品; 决明山楂燕麦胶囊

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2011)09-0781-05

Preventive and Therapeutic Effects of Semen Cassiae Hawthorn Oat Capsules on Fatty Liver in Rats

MA Cungen, YANG Lizhi, BAI Jianping, ZHANG Haifei, YU Jiezhong, FENG Ling(Institute of Brain Science, Shanxi Datong University, Datong 037009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the preventive and therapeutic effects of Semen Cassiae Hawthorn Oat capsules on fatty liver in rats. **METHODS** Fatty liver model of rat was established by feeding high fat diet. By measuring the general physical state, contents of serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), superoxide disutase (SOD), malondiadehyde (MDA) and hepatic pathological changes in rats, the protective effect of Semen Cassiae Hawthorn Oat capsules were evaluated. **RESULTS** Compared with fatty liver model group, Semen Cassiae Hawthorn Oat capsules could significantly lower the contents of TC and TG ($P<0.01$), significantly increase the contents of the HDL-C($P<0.05$), significantly lower the contents of MDA, ALT and AST in sera ($P<0.05$), obviously ameliorate hepatic pathological changes and lighten hepatic steatosis of fatty liver rats in treated groups. **CONCLUSION** Semen Cassiae Hawthorn Oat capsules have effects of regulating the blood lipids and preventing and treating fatty liver in rats.

KEY WORDS: hyperlipidemia; fatty liver; oat; functional foods; Semen Cassiae Hawthorn Oat capsules

近年来,随着人们生活方式以及饮食结构的改变,脂肪肝的发病率有明显增高的趋势,有资料显示已成为我国第一大肝病。降血脂是防治脂肪肝的手段之一,但一些降血脂药物是通过促进血液中脂质运输至肝脏进行代谢、排泄,若长期服用会导致肝脂质代谢障碍,增加肝脏脂肪沉积而引起对肝脏的进一步损害。因此,研究具有降血脂功能,同时不妨碍肝脏正常功能的理想药物具有重要的临床预防和保健意义^[1-2]。决明子、山楂、荷叶等均是可作食品的中药材,因此具有无毒、安全的优点。大量报道证实决明子、山楂、荷叶有降脂、保肝、减肥等功效^[3-7]。本实验把决明子、

山楂、荷叶的提取物添加到燕麦粉中制成决明山楂燕麦胶囊用于动物高脂模型,取得了较为满意的效果。

1 材料

1.1 实验动物

SD 大鼠 40 只,体质量(180±10)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物合格证号: SCXK(京)2006-0009。该研究经山西大同大学生物和医学研究伦理审查委员会批准。

1.2 实验饲料

大鼠用基础饲料、大鼠用高脂饲料,购自北京科澳协力饲料有限公司,许可证编号: SCXK(京)

基金项目: 山西省科技攻关项目(20100321105)

作者简介: 马存根,男,博士,教授 Tel: (0352)7158663

E-mail: macungen2001@yahoo.com.cn

2009-0012。

1.3 实验药物及试剂

决明山楂燕麦胶囊(大同长兴制药有限责任公司,批号:1002101,规格:0.45 g)。复方蛋氨酸胆碱片(中国通化东宝药业股份有限公司,批号:100109)。ALT 试剂盒、AST 试剂盒、TC 试剂盒、TG 试剂盒、HDL-C 试剂盒、SOD 试剂盒、MDA 试剂盒(南京建成生物医学研究所)。

1.4 实验仪器

LDZ-5 低温高速离心机(北京医用离心机厂); DR-HW-1 恒温水浴(北京西城区医疗器械厂); UV-7504PC 分光光度计(上海新茂仪器有限公司); XSZ-G 显微镜(重庆光学仪器厂); YD-6D 智能型生物组织包埋机、YD-1508R 轮转式切片机、YD-AB 型生物组织摊片机(浙江省金华市益迪医疗设备厂)。

2 实验方法^[8-12]

2.1 实验动物分组

大鼠在实验室适应观察 1 周,在活动、进食、粪便均无异常后,40 只大鼠按随机数字表随机分为 5 组,即空白对照组、脂肪肝模型对照组(模型组)、复方蛋氨酸胆碱组、决明山楂燕麦低剂量组、决明山楂燕麦高剂量组。

2.2 脂肪肝模型制备

参考文献[8]建立高脂饮食性脂肪肝模型,高脂饲料由 82.5%基础饲料、10%猪油、5%蛋黄粉、2%胆固醇、0.5%胆酸钠组成。除空白对照组基础饲料喂养外,其余 4 组均采用高脂饲料连续喂养 8 周造模。

2.3 给药方法

自造模第 1 天起,复方蛋氨酸胆碱组:10%的复方蛋氨酸胆碱水溶液以 $0.54 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃;决明山楂燕麦低、高剂量组:20%的决明山楂燕麦水溶液分别按 0.8, $1.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃;空白对照组及模型组:灌胃等容量生理盐水。每日上午灌胃 1 次,连续 8 周。

2.4 标本采集与制备

2.4.1 血清制备 实验第 8 周结束时,隔夜禁食后称重,20%乌拉坦 $1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉,摘眼球取血,在低温下 $3000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分离血清置 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,待测各项指标。

2.4.2 病理标本采集 采血后迅速剖取肝脏并称肝湿重(liver weight, LW),肉眼观察肝脏形态

病理变化情况。在肝脏最大边缘 5 mm 处取小块肝脏组织,置于 10%甲醛溶液中固定,石蜡包埋切片,常规 HE 染色,光镜下观察肝脏组织病理变化情况。

2.5 检测项目

2.5.1 一般情况观察 实验前测量大鼠体质量,实验中观察比较各组大鼠精神、运动、饮食、排便、皮毛等情况,实验结束后称取体质量、肝重,计算肝指数。肝指数=肝湿重/末体质量 $\times 100\%$ 。

2.5.2 血清 TC、TG、HDL-C、ALT、AST、SOD 和 MDA 的测定 均按试剂盒说明书操作。

2.5.3 肝组织病理学检测 肉眼观察肝脏大小、形态、颜色、表面光滑度、边缘锐利度及切面情况。在光镜下观察肝脏组织形态、肝小叶结构、脂肪变程度、肝细胞变性和坏死、炎症细胞浸润以及纤维增生等情况。由大同大学医学院组织胚胎学、病理学教研室两位副教授完成。

2.6 统计学处理

用 SPSS 13.0 统计分析软件进行检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用方差分析。

3 结果

3.1 一般情况观察

模型组大鼠可见皮毛无光泽,活动减少,其余组无明显不良反应。空白对照组、模型组与各治疗组大鼠平均体质量均随喂养时间延长而增大,但各组间差异无统计学意义。模型组大鼠肝指数显著高于空白对照组($P<0.01$),各治疗组大鼠肝指数均显著低于模型组($P<0.01$)。结果见表 1。

3.2 血脂测定

模型组血清 TG 和 TC 值显著高于空白对照组($P<0.01$),HDL-C 显著低于空白对照组($P<0.01$);与模型组比较,决明山楂燕麦低剂量组大鼠血清 TG、TC 含量明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),HDL-C 含量显著升高($P<0.05$)。结果见表 2。

3.3 血清 ALT 和 AST 测定

模型组大鼠血清 ALT、AST 值显著高于空白对照组($P<0.05$);各治疗组血清 ALT、AST 值均低于模型组,但决明山楂燕麦高剂量组血清 ALT,复方蛋氨酸胆碱组血清 AST 值与模型组比无统计学差异。结果见表 3。

3.4 血清 SOD 和 MDA 测定

模型组血清 SOD 值显著低于空白对照组($P<0.05$),MDA 值显著高于空白对照组($P<0.05$);

各治疗组大鼠血清 SOD 值高于模型组, 但无统计学差异, 决明山楂燕麦低剂量组 MDA 值显著低于

模型组($P<0.05$), 其他治疗组虽然 MDA 值低于模型组, 但无统计学差异。结果见表 4。

表 1 各组大鼠体质量和肝指数的变化($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 The change of body weight and liver index of rats in each group($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	初体质量/g	末体质量/g	肝指数/%
空白对照组	-	178.9 \pm 7.4	390.8 \pm 8.7	3.34 \pm 0.13
模型组	-	187.6 \pm 8.2	386.7 \pm 9.6	4.03 \pm 0.15 ¹⁾
复方蛋氨酸胆碱组	0.54	182.3 \pm 8.8	389.5 \pm 11.9	3.46 \pm 0.16 ²⁾
决明山楂燕麦低剂量组	0.8	185.9 \pm 11.4	384.5 \pm 29.2	3.54 \pm 0.22 ²⁾
决明山楂燕麦高剂量组	1.2	177.4 \pm 9.5	382.6 \pm 10.6	3.46 \pm 0.19 ²⁾

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.01$

表 2 各组大鼠血清 TG、TC、HDL-C 含量($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 The contents of serum TG, TC and HDL-C of rats in each group($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	TG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	TC/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	HDL-C/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
空白对照组	-	0.73 \pm 0.09	1.89 \pm 0.21	0.94 \pm 0.08
模型组	-	1.09 \pm 0.12 ²⁾	6.29 \pm 1.51 ²⁾	0.73 \pm 0.10 ²⁾
复方蛋氨酸胆碱组	0.54	0.91 \pm 0.09 ¹⁾³⁾	2.20 \pm 0.46 ⁴⁾	0.84 \pm 0.12 ³⁾
决明山楂燕麦低剂量组	0.8	0.88 \pm 0.26 ¹⁾⁴⁾	2.28 \pm 0.53 ⁴⁾	0.82 \pm 0.10 ¹⁾³⁾
决明山楂燕麦高剂量组	1.2	0.77 \pm 0.58 ⁴⁾	2.15 \pm 0.33 ⁴⁾	0.89 \pm 0.09 ³⁾

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

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with model group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$

表 3 各组大鼠血清 ALT 和 AST 含量($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 The contents of serum ALT and AST of rats in each group($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	ALT/U	AST/U
空白对照组	-	39.25 \pm 10.78	83.12 \pm 18.80
模型组	-	56.50 \pm 14.22 ¹⁾	124.75 \pm 23.37 ¹⁾
复方蛋氨酸胆碱组	0.54	42.75 \pm 12.49 ²⁾	102.00 \pm 38.15
决明山楂燕麦低剂量组	0.8	42.62 \pm 13.94 ²⁾	97.62 \pm 10.08 ²⁾
决明山楂燕麦高剂量组	1.2	48.87 \pm 15.95	94.75 \pm 15.05 ²⁾

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$

表 4 各组大鼠血清 SOD 和 MDA 的含量($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 4 The contents of serum SOD and MDA of rats in each group($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
空白对照组	-	140.67 \pm 3.48	8.73 \pm 0.45
模型组	-	134.12 \pm 4.47 ¹⁾	9.58 \pm 0.69 ¹⁾
复方蛋氨酸胆碱组	0.54	138.01 \pm 9.72	9.15 \pm 0.57
决明山楂燕麦低剂量组	0.8	137.07 \pm 5.91	8.77 \pm 0.67 ²⁾
决明山楂燕麦高剂量组	1.2	138.75 \pm 5.29	9.21 \pm 1.25

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$

3.5 肝脏形态学的改变

肉眼观察空白对照组大鼠肝脏大小、颜色、表面光滑度形态均无异常; 模型组大鼠肝脏体积明显增大, 呈淡黄色或奶油黄色, 包膜紧张、色泽黄腻, 为典型的肝脂肪变性; 各治疗组大鼠肝脏病理变化显示出肝脂肪变性有不同程度的改善趋势, 色泽基本正常, 呈暗红色, 形态接近正常肝组织。

光镜下, 空白对照组大鼠肝小叶结构完整, 肝索排列整齐、肝窦明显、肝细胞未见明显变性; 模型组肝细胞广泛脂肪变性, 细胞体积增大, 肝窦不明显, 中央静脉血管扩张充血; 复方蛋氨酸胆碱组、决明山楂燕麦低、高剂量组肝小叶结构完整, 肝脂肪变性比模型组明显减轻。结果见图 1。

4 讨论

研究表明许多脂肪肝的发生与饮食结构不合理密切相关^[13]。模拟目前人类不良饮食方式, 本实验采用高脂饮食 8 周成功建立了 SD 大鼠脂肪肝动物模型。组织学显示, 模型组肝细胞广泛脂肪变性, 细胞体积增大, 肝窦不明显, 中央静脉血管扩张充血。表明采用高脂肪、高热量饮食诱导

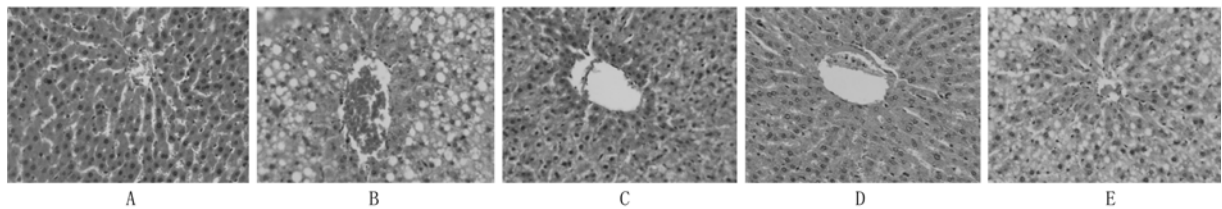


图1 大鼠肝组织病理切片(40×)

A-空白对照组; B-模型组; C-复方蛋氨酸胆碱组; D-决明山楂燕麦低剂量组; E-决明山楂燕麦高剂量组

Fig 1 The pathological slices of liver tissue(40×)

A-control group; B-model group; C-compound methionine and choline group; D-Semen Cassiae Hawthorn Oat low dose group; E-Semen Cassiae Hawthorn Oat high dose group

大鼠脂肪肝模型与人类非酒精性脂肪肝自然发病过程相符合。因此,该动物模型具有一定的科学性和可靠性。

机体脂类代谢失调是诱发脂肪肝的重要因素,脂肪肝患者往往血清 TC 和 TG 明显升高, HDL-C 明显下降^[14]。因此,TC、TG 和 HDL-C 的测定可作为检测脂肪肝的有效指标。本研究显示:决明山楂燕麦胶囊可显著降低大鼠血清 TC 和 TG 含量;升高 HDL-C,推测药物通过调节血脂产生保肝作用。

当肝脏细胞受损时,ALT 和 AST 溢出导致血清 ALT 和 AST 含量升高,所以通过测量血清 ALT 和 AST 活性可反映肝细胞损害的程度及肝细胞的修复情况^[15]。在本实验中,决明山楂燕麦胶囊显著降低大鼠血清 ALT 和 AST 含量提示药物具有抗肝细胞损伤、促进肝功能恢复的作用。

脂肪肝的形成及其后续发展的整个过程与脂质过氧化损伤有着密切的关系^[16-17]。SOD 是机体内重要的抗氧化剂,MDA 是脂质过氧化反应的代谢产物,因此可通过测定 SOD 和 MDA 含量来反映机体抗氧化和保护肝细胞的作用。本实验结果表明,模型组血清 SOD 值显著低于空白对照组,MDA 值显著高于空白对照组,说明模型组动物发生肝脂肪变性时,自由基产生增加,整体抗氧化能力下降。同时观察到,决明山楂燕麦低剂量组 MDA 值显著低于模型组。其他各治疗组大鼠血清 SOD 值高于模型组,MDA 值低于模型组,但无统计学差异。提示药物有一定降低体内自由基活性,增强机体抗氧化能力,减少脂质过氧化反应终产物产生的作用,但作用并不是很显著,可能与用药时间短有关。

决明山楂燕麦胶囊组方含有多种成分,可能通过多机制、多靶点发挥调脂保肝作用。由于组

方中各成分均是食品类药物,具有无毒、安全的优点。加之这些物质来源广泛,价廉易得,确是促进脂肪肝改善的一个经济、有效、安全、方便的健康组方,有很好的开发前景,有必要对其进行更深入的研究,扩大临床实验,进一步确定其有效性及安全性。争取为脂肪肝患者提供一个疗效高、毒性低的健康食品,造福人类。

致谢:衷心感谢病理教研室杨秀兰副教授、研究生李雁翔在实验中的帮助。

REFERENCES

- [1] YE X Y, XU M H, LI X F, et al. Effects of hawthorn leaf flavonoids on reducing blood lipids and preventing fatty liver in the quails [J]. Fudan Univ J: Med Sci(复旦大学学报:医学版), 2009, 36(2): 142-148.
- [2] COMAR K M, STERLING R K. Drug therapy for non-alcoholic fatty liver disease [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2006, 23(2): 207-215.
- [3] ZHANG Z S, WALTER K K, HUANG H Y, et al. Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit is mediated by regulation of cholesterol-7 α -hydroxylase and acyl CoA: cholesterol acyltransferase [J]. Food Res Int, 2002, 35(9): 885-891.
- [4] XIE W H, SUN C, LIU S M, et al. Effect of hawthorn flavanone on blood-fat and expression of lipogenesis and lipolysis genes of hyperlipidemia model mouse [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2009, 34(2): 224-225.
- [5] CHO S H, KIM T H, LEE N H, et al. Effects of Cassia tora fiber supplement on serum lipids in Korean diabetic patients [J]. J Med Food, 2005, 8(3): 311-318.
- [6] LIU B W, ZHAO H, WANG Y, et al. Impacts of juemingzi ethyl acetate extract on fatty liver induced by multiple factors in rats [J]. World J Integr Trad West Med(世界中西医结合杂志), 2008, 3(10): 579-581.
- [7] JIN J, SUN Y. Study on blood lipid regulation of compound lotus leaf preparation [J]. J Jiangxi Coll Tradit Chin Med(江西中医学院学报), 2008, 20(5): 69-70.
- [8] LI J, FENG W J. Experimental study into the effect of raw hawthornfruit, alisma and zedoary in treating fatty liver and the interaction of the three herbs [J]. Shanxi J Tradit Chin Med(山西中医), 2006, 22 (3): 57-59.
- [9] LI W B, WANG Y R. Experimental study on treatment of fatty liver with hyperlipemia by Qingyuan Tiaozhi (QYTZ) capsule

- [J]. Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis(中西医结合肝病杂志), 2001,11 (3): 159-161
- [10] PENG H G, WANG P, AI C Z, et al. Experimental study of Jiawaisinisan (JWSNS) on fatty liver [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med(中国中医药信息杂志), 2003, 10(7): 32-33.
- [11] WANG X J, ZHANG X G, ZHANG X W, et al. Experimental study on the effect of Qinggan Huoxue decoction on resisting fatty liver rats [J]. Chin J Integr Tradit West Med Dig(中国中西医结合消化杂志), 2003, 11(2): 70-72.
- [12] ZHANG S P, QI X H, WANG R Y, et al. Experimental research on effect of chitosan in treating hepatic adipose infiltration [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med: Nat Sci(南京中医药大学学报: 自然科学版), 2001, 17(2): 107-109.
- [13] CHENG X L, LI B. Discussion on treating fatty liver by diet [J]. Chin J Pract Chin Mod Med(中华实用中西医杂志), 2010, 23(6): 21-22.
- [14] LI Q Y, YU R M, ZHAO J P, et al. The combined effects of selenium zinc and radix puerariae, fructus crataegi and semen cassiae on blood lipid and fatty liver in rats [J]. J Prev Med Chin PLA(解放军预防医学杂志), 1997, 15(6): 411-414.
- [15] CLARK J M, BRANCASTI F L, DICHL A M. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States [J]. Am J Gastroenterol, 2003, 98(5): 960-967.
- [16] ZHANG G L, PANG D W, WU G, et al. Effect of mongolia on super oxidation of the lipid in hyperlipidemic rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2006, 23(8): 738-740.
- [17] BING F H, CHANG Q, HAO J J, et al. Effect of prepration of Chinese *Allium fistulosum* L. on the damage of lipid peroxidation and cytokine in fatty liver rats [J]. J Tradit Chin Med(中医杂志), 2003, 48(5): 446-449.

收稿日期: 2010-11-12