

贵州獐牙菜抗小鼠脂肪肝作用研究

郭佳晨, 沈开静, 王延, 徐婷, 伍沙沙, 钱海兵* (贵州中医药大学, 贵州贵阳 550025)

摘要 [目的]探讨不同剂量的贵州獐牙菜对高脂饮食所致的小鼠脂肪肝的防治作用。[方法]采用高脂饲料(基础饲料 78.39%+胆固醇 10%+猪油 10%+蛋黄粉 10%+丙硫氧嘧啶 0.61%)连续喂养 28 d KM 小鼠建立脂肪肝模型。用贵州獐牙菜水煎液灌胃给药 28 d 后, 摘取小鼠肝脏观察制作石蜡切片和 HE 染色, 比较各小鼠肝细胞的病理学变化; 并测定小鼠血清中的总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)的含量。[结果]根据 HE 染色和切片结果, 与空白组相比, 模型组肝脏细胞结构变性; 且模型组的血清 TC、TG、LDL-C 指数明显升高, HDL-C 指数降低。贵州獐牙菜组的 HE 染色切片与模型组相比病理程度减轻, 血清 TC、TG、LDL-C 指数表达量降低, HDL-C 指数升高。[结论]贵州獐牙菜具有抗小鼠高脂血症及缓解脂肪肝的作用。

关键词 贵州獐牙菜; 高血脂; 脂肪肝; 防治

中图分类号 R 285.5 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)08-0169-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.08.040



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Anti-fatty Liver Effect of *Swertia kouitchensis* Franch on Mice

GUO Jia-chen, SHEN Kai-jing, WANG Yan et al (Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract [Objective] The research aimed to explore the effect of *Swertia kouitchensis* in different doses on fatty liver of mice induced by high fat diet. [Methods] KM mice were fed with high fat diet (Basic feed 78.39% + Cholesterol 10% + Lard 10% + Yolk powder 10% + Propylthiouracil 0.61%) for 28 days to establish fatty liver model. After 28 days of oral administration of *Swertia kouitchensis* water decoction, the liver of mice was extracted to observe and make paraffin section and HE staining, and the pathological changes of liver cells of mice were compared. The contents of four items of blood lipids (TC, TG, HDL-C, LDL-C) in serum of mice were measured. [Result] According to the results of HE staining and sectioning, compared with the blank group, the liver cell structure of the model group was degenerated; and the serum TC, TG, and LDL-C indexes of the model group were significantly increased, and the HDL-C index was decreased. Compared with the model group, the HE stained sections of *Swertia kouitchensis* group had less pathological degree, the expression levels of serum TC, TG, LDL-C index decreased, and HDL-C index increased. [Conclusion] *Swertia kouitchensis* has the effects of anti hyperlipidemia and alleviating fatty liver in mice.

Key words *Swertia kouitchensis* Franch; High blood fat; Fatty liver; Prevention and cure

每年死于心脑血管疾病的人数全球高达 1 500 万人, 居各种死因之首^[1-2]。其中血脂异常的人比其他人更具有患心脑血管疾病的风险, 目前 1/3 的成年人血脂普遍偏高, 每年导致中风的病人近 350 万人, 高脂血症已成为人类健康的第一隐形杀手^[3]。其中血脂异常为主要因素引起的脂肪肝是由多种疾病和病因引起的脂肪肝, 是多种慢性肝病以及心脑血管疾病共同的病理基础与特征, 又称为非酒精性脂肪肝, 尤其以肥胖病人常见^[4]。该病发生率极高, 若不及时干预, 则会导致其他心血管疾病的发生, 现在脂肪肝的发生严重威胁人类的健康, 全世界超过一大半的人群存在发生该病的危险。

贵州獐牙菜(*Swertia kouitchensis* Franch)在现代药理活性研究中显示其具有突出的调节血脂、调节脂质代谢以及清肝利胆等作用^[5], 显示出较强的抗动脉粥样硬化潜力^[6]。大多数贵州苗药都为地方的老百姓使用, 且其药用价值有待于未来药理发展的研究。因此, 该试验在遵循中医药理论研究的基础上, 探讨贵州獐牙菜对治疗小鼠脂肪肝的疗效。

1 材料与方

1.1 试验材料

1.1.1 实验动物。雄性 KM 小鼠 60 只, 体重 18~20 g, 由贵

基金项目 贵州省国内一流学科建设项目(GNYL[2017]008); 贵州省普通高等学校特色重点实验室建设项目(黔教合 KY 字[2017]006)。

作者简介 郭佳晨(1995—), 女, 四川成都人, 硕士研究生, 研究方向: 中药及民族药药效物质基础及作用机制。* 通信作者, 教授, 博士, 从事中药及民族药药效物质基础及作用机制研究。

收稿日期 2020-01-02; **修回日期** 2020-02-13

州中医药大学基础医学院药理实验室提供。

1.1.2 主要药品与试剂。血脂康胶囊(北京北维信生物科技有限公司, 批号 20171212); 总胆固醇(南京建成生物工程研究所, 批号 20181102); 甘油三酯(南京建成生物工程研究所, 批号 20181102); 高密度脂蛋白(南京建成生物工程研究所, 批号 0181031); 低密度脂蛋白(南京建成生物工程研究所, 批号 20181102); 丙硫氧嘧啶片(上海朝晖药业有限公司, 批号 20180324); 蛋黄粉(源叶生物, 批号 20180911); 胆固醇(源叶生物, 批号 20180921)。病理切片用 HE 染色(索莱宝, 批号 20181021); 无水乙醇(国药集团, 批号 20180827); 载玻片(世泰, 批号 20180911); 盖玻片(世泰, 批号 20180911); 中性树脂胶(国药集团, 批号 20180910); 石蜡(国药集团, 批号 20181024); 包埋盒(国药集团, 批号 20180822)。

1.1.3 主要仪器。包埋机(Lecia, 型号 EG1150H); 切片机(Lecia, 型号 RM2265); 分析天平(上海卓精电子科技有限公司, 型号 BSM-3200); 离心机(湖南湘立科学仪器有限公司, 型号 TD5A-WS); 酶标仪(Thermo, 型号 Multiskan)。

1.2 试验方法

1.2.1 分组与造模。将 60 只 KM 小鼠随机分为空白组、模型组、贵州獐牙菜高剂量(2.275 00 g/kg)组、中剂量(1.137 50 g/kg)组、低剂量(0.568 75 g/kg)组、阳性药物(血脂康胶囊)组。除空白组给予正常饲料外, 各组小鼠均给予高脂饲料(基础饲料 78.39%+胆固醇 10%+猪油 10%+蛋黄粉 10%+丙硫氧嘧啶 0.61%)^[7]连续喂养 28 d, 诱导脂肪肝形成。

每周称一次体重,观察小鼠的体重变化。

1.2.2 检测。给药 28 d 后,用摘眼球取血的方法将各组小鼠的血清移至 1.5 mL 的 EP 管中静置 2 h 后离心,将肝脏浸泡在提前配制好的 10% 福尔马林溶液中固定 24 h。

1.2.2.1 血脂 4 项检测。将已经准备好的血清取出,严格按照试剂盒说明书,测定各组小鼠血脂 4 项含量。

1.2.2.2 肝组织病理学检查。将浸泡在福尔马林中的肝脏常规脱水,石蜡包埋,切片,并进行 HE 染色,最后用封固剂封片,显微镜下观察,最后进行拍照留存。

1.3 统计学分析 所有数据均采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm S$)表示,计数资料以频数表示。计量资料的组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD 法。以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异^[8-10]。

2 结果与分析

2.1 小鼠体重 由图 1 可见,各组小鼠的体重呈不同幅度增长。模型组小鼠的体重较给药前体重增长明显,给药后高剂量组体重出现下降,阳性组及中剂量组体重略微下降。模型组小鼠较空白组小鼠活动度减少。在取材摘取小鼠肝脏时可见肝的整体外观上切面肥大肿胀,模型组小鼠肝脏上呈现白色颗粒状,肝脏均比正常组肥大,颜色较其余各组的颜色浅,切面有油腻感。

2.2 检测结果

2.2.1 小鼠血脂 4 项检测结果。从图 2a 可以看出,模型组

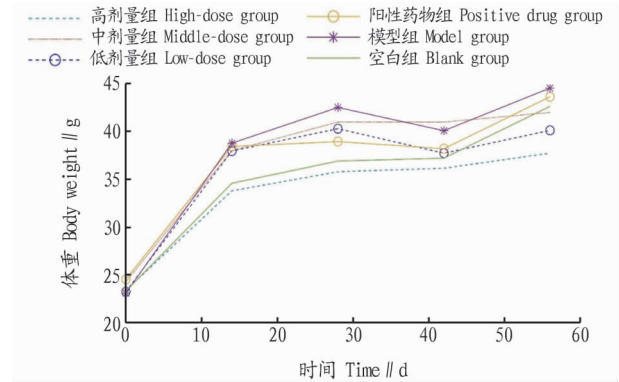
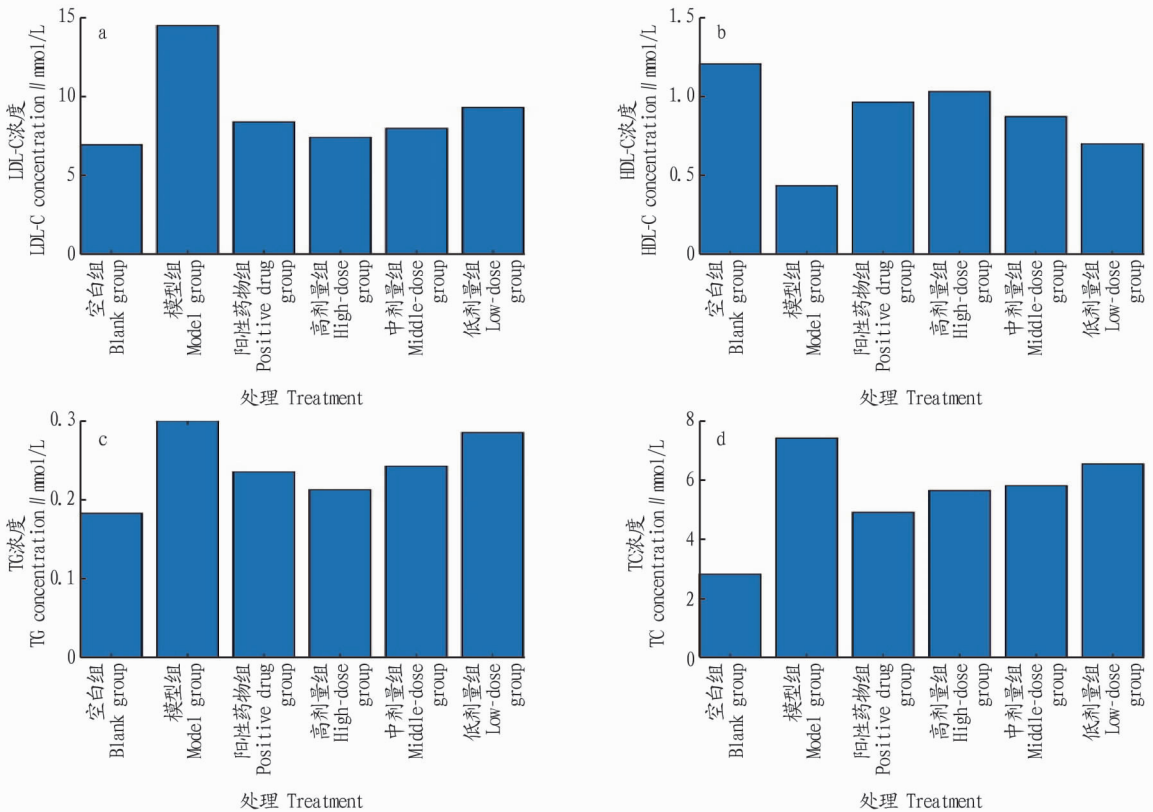


图 1 小鼠体重变化

Fig.1 Changes of body weight of mice

低密度脂蛋白(LDL-C)与空白组比较明显升高($P < 0.05$),说明造模成功;而阳性药物组、贵州獐牙菜高、中、低剂量组与模型组相比有了明显降低($P < 0.05$),说明贵州獐牙菜水煎液能使血清中的 LDL-C 降低。图 2b 结果显示,与空白组相比,模型组小鼠的高密度脂蛋白(HDL-C)降低($P < 0.05$);贵州獐牙菜高、中、低剂量组和阳性药物组与模型组相比,HDL-C 有明显升高($P < 0.05$),说明贵州獐牙菜水煎液能使血清中的 HDL-C 升高。图 2c 结果显示,模型组与空白组相比小鼠甘油三酯(TG)指标升高($P < 0.05$),而与模型组相比,贵州獐牙菜高、中、低剂量组和阳性药物组 TG 指标下降趋势明显($P < 0.05$)。图 2d 结果显示,模型组总胆固醇(TC)指标与空



注:a.LDL-C;b.HDL-C;c.TG;d.TC

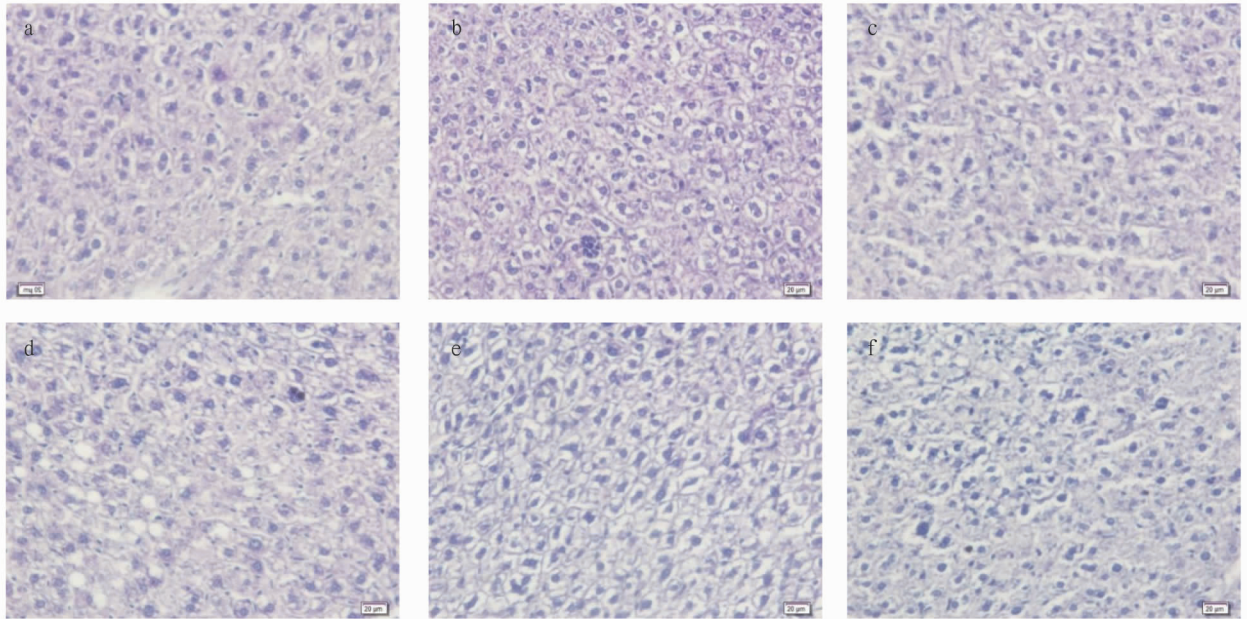
图 2 小鼠血脂 4 项检测结果

Fig.2 Results of four tests of mouse blood lipids

白组相比,有了明显升高;贵州獐牙菜高、中、低剂量组和阳性药物组与模型组相比,模型组血清中 TC 升高明显。上述各项指标与模型组比较,贵州獐牙菜高、中、低剂量组脂肪肝病理程度减轻,其中,高剂量组的效果最优。

2.2.2 小鼠肝脏病理切片检测结果。经过组织切片,HE 染色镜检,由图 3 可见,空白组小鼠肝细胞排列紧密均匀各一,肝组织结构正常。与空白组相比,模型组小鼠肝脏细胞肿

胀,形态模糊,组织内易见大量脂肪空泡且呈弥散性分布,肝细胞组织结构明显紊乱,包浆疏松明显,符合脂肪肝组织病理学改变。贵州獐牙菜(原生药)低、中、高剂量的肝组织内可见少量的肝细胞脂肪变性,肝细胞中脂肪空泡得到一定的改善,肝组织结构大致正常,结果提示小鼠脂肪肝在疾病过程得到一定的缓解,病理学表现与阳性药物组相似,且高剂量组的肝细胞的改善最明显。



注:a.空白组;b.模型组;c.阳性药物组;d.低剂量组;e.中剂量组;f.高剂量组

Note:a.Blank group;b.Model group;c.Positive drug group;d.Low-dose group;e.Middle-dose group;f.High-dose group

图 3 小鼠肝组织病理切片(400 倍)

Fig.3 Pathological sections of mouse liver tissue (400 times)

3 结论与讨论

该试验通过外源性给予改良后高脂饲料 28 d 模拟人类摄取食物方式造模,随机抽取小鼠测定血脂 4 项,可见 TC、TG、LDL-C 含量升高,HDL-C 含量减少;且通过病理组织学观察发现,肝脏细胞发生了明显的脂质和炎症浸润现象,说明造模成功。随后再给予贵州獐牙菜水煎液取高、中、低 3 个剂量来灌胃给药 28 d,给药后的小鼠血清中血脂 4 项变化明显,从 HE 染色结果提示不同剂量的贵州獐牙菜水煎液对小鼠脂肪肝起到一定的干预作用,且高剂量的水煎液的效果最优。

通过上述试验研究结果表明,不同剂量的贵州獐牙菜水煎液能够缓解不同程度的小鼠脂肪肝,能使小鼠血清中 TC、TG、LDL-C 降低,HDL-C 升高;在肝组织化学的病理程度上则能改变肝脏细胞的脂质以及炎症的浸润现象,能改善肝组织中的脂质累积,使肝细胞变性得到不同程度的改善,缓解脂肪肝的发展过程。该研究为贵州獐牙菜用于脂肪肝的预防及新药的研究开发提供依据。

参考文献

- [1] 陈烨华.防治心脑血管病的有效措施[J].世界最新医学信息文摘:电子版,2013(28):46.
- [2] 张国燕.小鼠高血脂快速造模法以及川西獐牙菜提取物对高血脂症作用的研究[D].西宁:青海师范大学,2015.
- [3] PATEL T P,RAWAL K, SONI S, et al. Swertiamarin ameliorates oleic acid induced lipid accumulation and oxidative stress by attenuating gluconeogenesis and lipogenesis in hepatic steatosis[J]. Biomed pharmacother, 2016, 83: 785-791.
- [4] 赵晓威,王江河.脂肪肝与高血脂症[J].安徽中医临床杂志,2002,14(6):521-524.
- [5] 万落生.贵州獐牙菜抗糖尿病活性和物质基础研究[D].武汉:华中科技大学,2013.
- [6] 徐列明,胡义扬.脂肪肝的中药治疗[J].中西医结合学报,2003,1(2):138-141.
- [7] 李雪斐,鲁尚德,陈铭,等.苗药铁筷子醇提物对心肌缺血性大鼠模型病理改变,血脂及 TNF- α 、IL-6 和 IL-18 的影响[J].中国民族民间医药,2019,28(22):22-27.
- [8] 李梦.益母草碱抗心肌纤维化的作用及机制研究[D].贵阳:贵阳中医学院,2017.
- [9] 高利超,王梦平,李雪,等.生肌素减轻大鼠糖尿病肾病[J].基础医学与临床,2019(2):165-169.
- [10] 商鲁翔,程新春,李瑞,等.住院患者心脏性猝死与室早负荷的相关性研究[J].临床心电学杂志,2018(5):350-353.