

葛根枳椇子栀子提取物对大鼠酒精性脂肪肝的作用研究

梁金强^{1,2}, 陶施民¹, 余庆涛³, 卢贤欢¹, 郭雅娟¹, 葛亚中³, 马忠华³, 黄芝瑛^{1*}

1. 中山大学药学院, 广东广州 510006

2. 广东省实验动物监测所, 广东广州 510663

3. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510663

摘要: 目的 探讨葛根枳椇子栀子提取物(PHGE)解酒护肝作用。方法 SPF级Wistar雄性大鼠120只,随机分为对照组、模型组和PHGE低、中、高剂量(0.2、0.5、1.2 g/kg)组,每组24只。除对照组外,其他组别通过喂饲Regular型Lieber-DeCarli酒精液体模型饲料造模,造模过程中,PHGE各组动物ig不同剂量的PHGE。每周测定动物体质量1次,每天测定摄食量1次;给药4周和8周每组分别取半数动物禁食过夜,采血测定血清生化指标;解剖取肝脏称质量并计算脏体系数;取部分肝脏冰冻切片进行油红“O”染色,观察肝脏脂肪肝情况;测定肝脏总脂肪含量,测定肝脏组织超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、总谷胱甘肽(GSH)、乙醇脱氢酶(ADH)和乙醛脱氢酶(ALDH)。结果 4周和8周造模,大鼠体质量均增长减缓($P<0.05$ 、 0.01),第8周PHGE高剂量组动物体质量显著低于模型组($P<0.05$);摄食量未见明显差异。造模4周,模型组血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆固醇(TCHO)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、血糖(GLU)显著高于对照组($P<0.05$ 、 0.01);与模型组比较,PHGE低、中、高剂量组AST、GLU,中、高剂量组ALT、TCHO、HDL,中剂量组LDL均显著下降($P<0.05$ 、 0.01),并呈明显的剂量相关性,造模8周与造模4周结果一致。造模给药8周,模型组GSH显著高于对照组($P<0.01$),PHGE高剂量组GSH显著高于模型组($P<0.01$),高剂量组ADH显著高于模型组($P<0.05$);与对照组比较,造模给药4、8周,模型动物肝脏脂肪量显著升高($P<0.05$ 、 0.01),给药8周,PHGE高剂量组肝脏脂肪量显著低于模型组($P<0.05$)。模型组肝脏质量与对照组比较未见显著性差异,而脏体系数显著增加($P<0.01$),应为动物体质量较小引起,PHGE各剂量组脏体系数与同期模型组比较未见显著性差异。肝脏脂肪染色后,造模动物主要表现为弥漫性肝细胞内、中央静脉周边肝细胞内红染脂滴,PHGE中、高剂量组评分低于模型组。结论 PHGE发挥明显预防和/或改善酒精性脂肪肝的作用,改善肝功能,降低血糖和胆固醇。

关键词: 葛根枳椇子栀子提取物;酒精性脂肪肝;护肝;肝功能;脂代谢;血糖;脏体系数

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)11-1981-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.11.009

Efficacy of *Puerariae Lobatae* - *Hovenia acerba* - *Gardeniae Fructus* extractive on alcoholic fatty liver in rats

LIANG Jinqiang^{1,2}, TAO Shimin¹, YU Qingtao³, LU Xianhuan¹, GUO Yajuan¹, GE Yazhong³, MA Zhonghua³, HUANG Zhiying¹

1. School of Pharmaceutical Science, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China

2. Guangdong Laboratory Animals Monitoring Institute, Guangzhou 510663, China

3. Infinitus (China) Co. Ltd, Guangzhou 510663, China

Abstract: Objective To study the efficacy of *Puerariae Lobatae* - *Hovenia acerba* - *Gardeniae Fructus* extractive (PHGE) for anti-alcohol and hepato-protection. **Methods** Rat model of alcoholic fatty liver was induced by feeding with 5% ethanol-containing Lieber-DeCarli liquid diet for 4 and 8 weeks. 120 SPF Wistar male rats were assigned into 5 groups, include vehicle control, model control and treatment groups which were 0.2, 0.5, 1.2 g/kg Gegen-Zhijuzi-Zhizi extract. Food consumption was detected daily. And body weight was detected weekly. Animals were sacrificed after overnight fasting at 4 and 8 weeks of study. Blood samples were collected for biochemical analysis. Livers were weighed, and prepared for histopathological examination with oil red O stain. The

收稿日期: 2018-06-04

第一作者: 梁金强(1972—),男,高级工程师,主要从事药理及毒理学研究。Tel: (020)84106817 E-mail: Ljqtoxic@21cn.com

*通信作者: 黄芝瑛,研究员,博士生导师。Tel: (020)39943092 E-mail: hzhiying@mail.sysu.edu.cn

content of liver ADH, ALDH, GSH, SOD and MDA in rats were also determined. **Result** After 4 and 8 weeks, the body weight gained of rats slowed down ($P < 0.05, 0.01$). At 8 weeks, the body weight of rats in the high dose PHGE group was significantly lower than that of the model group ($P < 0.05$), and there was no significant difference in food intake. After 4 weeks, the levels of ALT, AST, TCHO, HDL, LDL and GLU in the model group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05, 0.01$). Compared with the model group, AST and Glu in PHGE low, middle and high dose group, ALT, TCHO, HDL in middle and high dose group, and LDL of middle dose group were significantly decreased, and showed significant dose dependence. The results of 8 weeks and 4 weeks were consistent. After 8 weeks, GSH in model group was significantly higher than that in control group ($P < 0.01$), GSH in high dose PHGE group was significantly higher than that in model group ($P < 0.01$), and ADH in high dose PHGE group was significantly higher than that in model group ($P < 0.05$). There was no significant difference in liver weight between the model group and the control group, but the liver relative weight increased significantly ($P < 0.01$), which should be caused by the small lower lever of animal weight. There was no significant difference in liver relative weight between the PHGE dose groups and the model group at the same time. After liver fat staining, diffuse hepatocytes and peripheral hepatocytes of central vein were the main manifestations of model animals. The score of middle and high dose PHGE group was lower than that of model group. **Conclusions** PHGE plays a significant role in preventing and/or improving alcoholic fatty liver, improving liver function, reducing blood sugar and cholesterol.

Key words: *Puerariae Lobatae* - *Hovenia acerba* - *Gardeniae Fructus* extractive; alcoholic fatty liver; hepatic protection; hepatic function; lipid metabolism; blood sugar; liver coefficient

脂肪肝与饮食肥厚油腻、纵恣饮酒等有非常密切的关系,中医认为证型多以湿热型为主^[1]。葛根枳椇子栀子提取物(*Puerariae Lobatae* - *Hovenia acerba* - *Gardeniae Fructus* extractive, PHGE, 无限极金昭胶囊的原料)为结合宋代名著《严氏济生方》“葛根汤”及元代《世医得效方》“枳椇子丸”化裁,并配合现代研究科学搭配而成,用于湿性导致的肝脏不适。葛根具有解诸毒功效,有助于肝脏排毒,既可解肌退热,使湿热之邪从肌表排出,又可鼓舞胃气上行,避免其它寒凉药物伤胃;栀子入肝经而能泻火解毒,清热利湿,尤善于清肝胆经之邪热而利小便,可使湿热邪气从小便而去,配以葛根为君药可清解肝胆经之湿热、酒毒、郁火;枳椇子,能润五脏,以滋补因肝热而耗伤的阴血,且能通利二便,帮助湿热毒邪从二便排出。三药同用,清中寓疏,泻中寓补,既可清热利湿解毒以调肝胆,又能升脾胃清阳,生津润脏而养肝,兼能通利二便,可使蕴结于肝胆之邪从肌表及二便而去,又兼能升阳、生津、润脏而顾护正气,祛邪扶正两相兼顾。

葛根、枳椇子、栀子在解酒及护肝方面分别都有较多的研究,特别对于酒精性及非酒精性脂肪肝都分别有相关的报道,如葛根能明显降低非酒精性脂肪肝大鼠模型肝脂水平,改善脂肪变性,降低肝脏炎症反应;还可通过减少组织脂肪和炎症,改善脂质过氧化,降低血浆、肝内 TNF- α 水平,从而达到防治酒精性脂肪肝的作用^[2-3];降低血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平可能是枳椇子防治非酒精性脂肪肝进展的重要机制之一,另外,枳椇子可通过降低血清天

冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT),改善肝脏脂肪变及炎症而预防酒精性脂肪肝作用^[4-5];栀子的保肝作用机制可能与降低血脂以及增强抗氧化能力有关^[6]。

目前为止,未见葛根、枳椇子、栀子三者配伍对于脂肪肝防治作用的系统研究。本研究通过给予酒精性脂肪肝模型大鼠不同剂量的 PHGE,验证其对酒精性脂肪肝的防治作用。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠,体质量 126~165 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号为 SCXK(京)2012-0001,实验动物质量合格证号 11400700153721。动物饲养于中山大学药学院药物安全评价中心屏障系统,动物使用许可证号为 SYXK(粤)2016-0112,每笼饲养不多于 5 只,适应饲养 7 d,由专人饲养管理。动物饲养环境温度 20~25 °C,湿度 40%~70%,实验动物伦理批准号 IACUC-DD-16-0202。

1.2 模型饲料

Regular 型 Lieber-DeCarli 酒精液体模型饲料(代号 TP 4030A)及其对照饲料(代号 TP 4030C),购自南通特洛菲饲料科技有限公司。饲料成分按提供热量百分比计,模型饲料:脂肪 35%,蛋白质 18%,碳水化合物 11%,酒精 36%;对照饲料:脂肪 35%,蛋白质 18%,碳水化合物 47%。

1.3 药物与主要试剂

PHGE 粉末,由无限极(中国)有限公司提供,由

葛根、枳椇子和栀子水提、真空干燥而成,每100 g粉末含总黄酮量 ≥ 500 mg; ALT、AST、总胆固醇(TCHO)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、血糖(GLU)血液生化试剂盒,均购自广州科方生物技术有限公司;乌来糖(国药集团化学试剂有限公司);乙醇脱氢酶(ADH)检测试剂盒(批号20160516)、乙醛脱氢酶(ALDH)检测试剂盒(批号20160714),均来自南京建成生物工程研究所;总超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(批号S0109)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号S0131)、总谷胱甘肽(GSH)、Bradford蛋白浓度测定试剂盒(批号P0006-1),均来自碧云天生物工程有限公司。

1.4 主要仪器

AB104S电子天平(瑞士Mettler Toledo);PL403型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo);高速组织匀浆器(美国Biospec公司);Multiskan GO 1510型全波长酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific);台式大容量冷冻离心机(湘仪L535R);CX5型全自动生化分析仪(美国Beckman Coulter);冰冻切片机(Leica,CM1900)。

2 方法

2.1 动物分组、造模、给药

实验设对照组、模型组和PHGE低、中、高剂量(0.2、0.5、1.2 g/kg),金昭胶囊的人用量折合为PHGE的量为每天2.8 g,即为0.04 g/kg(人按70 kg体重计),PHGE低、中、高剂量为人用量的5、12、30倍,相当于人等效剂量的0.8、2.0、5.0倍。每组24只大鼠,雌雄各半。

通过喂饲Regular型Lieber-DeCarli酒精液体模型饲料4周/8周造模,给料方法:参考由南通特洛菲饲料科技有限公司提供的《酒精液体饲料喂养过渡方法和配对喂养法》,除对照组外,其他组别动物于检疫期第2、3天喂饲液体对照饲料,第4~7天按液体对照饲料、模型饲料(酒精液体模型饲料)2:1、1:1各

过渡喂养2 d,之后转为全部模型饲料,每天于16:00左右测定剩余量,并配制和加入新的模型饲料。分为4周、8周造模组,从造模开始(过渡喂养完成后)ig给药,10 mL/kg,每天给药1次,直至实验结束,最后1次给药后第2天采血解剖动物。

2.2 观察指标

2.2.1 动物一般状态观察 每天观察动物的症状,并测定摄食量,每周测定动物体质量。

2.2.2 血清生化指标检测 于给药造模第4周和第8周分别取半数大鼠禁食过夜,大鼠以0.6 mL/100 g ip 20%乌来糖麻醉,腹主动脉采血,3 000 r/min离心10 min分离血清,试剂盒法测定血清生化指标ALT、AST、TCHO、TG、HDL、LDL、TP、ALB、GLU水平,观察受试物对脂肪肝动物的肝功能、血脂及血糖的药效作用。

2.2.3 肝损伤检测 解剖并取肝脏称质量,计算脏器比;取部分肝脏进行冰冻切片,油红O染色观察肝脏脂肪含量及分布,并进行病理改变程度评分,未观察到组织学改变(-) 0分,损伤范围0%~20%(+)、21%~40%(++)、41%~100%(+++)分别记为1、2、3分;取部分肝脏匀浆测定肝脏总脂肪含量,另取部分肝脏匀浆,试剂盒法测定肝脏ADH、ALDH、SOD、MDA、GSH水平,观察肝损伤及药效作用机制。

2.3 统计分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS 20.0统计软件进行完全随机设计的单因素方差分析(one-way ANOVA),各样本均数之间的多重比较采用LSD-*t*检验。

3 结果

3.1 一般症状观察

实验中除模型动物被毛较为粗糙外,未见明显的异常。

3.2 体质量和摄食量

如表1、2所示,动物喂饲Regular型Lieber-DeCarli酒精液体模型饲料后,体质量增长减缓($P <$

表1 PHGE连续ig 4周对酒精性脂肪肝大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of PHGE on body weight of rat with alcoholic fatty liver for 4 weeks ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	体质量/g					
		给药前1周	开始给药	给药1周	给药2周	给药3周	给药4周
对照	—	146±7	218±14	280±19	332±28	379±37	405±41
模型	—	146±7	206±8*	213±10**	240±11**	273±15**	308±17**
PHGE	0.2	147±7	200±16*	212±12**	238±13**	271±16**	313±20**
	0.5	147±6	209±9*	214±10**	248±14**	266±25**	309±18**
	1.2	146±7	210±8*	216±8**	246±12**	278±16**	313±18**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs solvent control group

表2 PHGE连续ig 8周对酒精性脂肪肝大鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 2 Effect of PHGE on body weight of rat with alcoholic fatty liver for 8 weeks ($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	给药前1 周	开始给 药	给药1 周	给药2 周	给药3 周	给药4 周	给药5 周	给药6 周	给药7 周	给药8周
对照	—	147±7	216±5	277±7	326±13	363±17	394±21	420±26	438±30	457±34	463±36
模型	—	147±6	206±7**	215±12**	254±17**	280±25**	317±31**	346±32**	371±29**	386±32**	409±34**
PHGE	0.2	148±7	208±10*	210±6**	241±9**	271±14**	308±16**	339±21**	360±22**	371±23**	391±25**
	0.5	147±7	208±10*	217±12**	246±14**	277±22**	315±25**	337±27**	357±32**	371±33**	388±36**
	1.2	147±7	212±9	218±13**	250±19**	284±22**	313±26**	334±32**	351±33**	364±37**	374±36**#

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01; 与模型组比较: #P<0.05

*P<0.05 **P<0.01 vs solvent control group; #P<0.05 vs model group

0.05、0.01),除第8周受试物高剂量组动物体质量低于模型组(P<0.05)外,其他时间给药各组动物体质量与模型组比较未见显著性差异。各组动物摄食模型饲料的量未见明显差异。

3.3 血清生化指标

如表3所示,酒精性脂肪肝模型动物造模4周,ALT、AST、TCHO、HDL、LDL、GLU显著高于对照组动物(P<0.05、0.01);如表4所示,造模8周与造模4周结果一致,肝功能指标(ALT、AST)、血脂(TCHO、HDL)显著升高(P<0.01),LDL和GLU也有明显升高。ig PHGE,上述指标均降低,与模型

组比较,低、中、高剂量组AST、GLU,中、高剂量组ALT、TCHO、HDL,中剂量组LDL差异显著(P<0.05、0.01),并呈明显的剂量相关性。结果表明,酒精饲料造模可使动物产生酒精性脂肪肝,使肝功能受损、血糖和血脂代谢异常,PHGE能预防或使这些异常改变得到改善。

3.4 肝损伤检测

如表5、6所示,造模给药4周,与对照组比较,模型动物SOD水平显著降低(P<0.01);给予PHGE呈进一步降低趋势,其中高剂量组SOD值显著低于模型组(P<0.01)。与对照组比较,模型组MDA呈

表3 PHGE连续ig 4周对酒精性脂肪肝模型大鼠血清生化的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effects of PHGE on serum biochemistry in rats with alcoholic fatty liver by ig administration for 4 weeks ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	n/只	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)	TCHO/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	HDL-C/ (mmol·L ⁻¹)	LDL-C/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	12	25.2±4.3	93±16	60.3±2.3	17.0±0.7	8.5±1.4	1.91±0.32	0.58±0.38	1.21±0.28	0.67±0.23
模型	—	12	92.6±39.0**	199±67**	57.8±4.8	17.3±1.5	12.2±2.5**	3.07±0.72**	0.30±0.23*	2.12±0.51**	0.97±0.36*
PHGE	0.2	12	69.4±20.9	148±38#	54.6±5.3	16.8±1.2	10.4±1.6#	2.73±0.48	0.19±0.20	1.85±0.48	0.77±0.20
	0.5	11	63.1±13.0#	148±34#	55.3±2.5	17.1±0.7	9.4±1.9##	2.39±0.43#	0.14±0.18	1.70±0.45#	0.68±0.25#
	1.2	12	50.3±15.0##	147±51#	55.4±6.0	15.2±5.0	9.4±1.7##	2.07±0.43##	0.20±0.14	1.37±0.37##	0.71±0.28

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01; 与模型组比较: #P<0.05 ##P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs control group; #P<0.05 ##P<0.01 vs model group

表4 PHGE连续ig 8周对酒精性脂肪肝模型大鼠血清生化的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Effects of PHGE on serum biochemistry in rats with alcoholic fatty liver by ig administration for 8 weeks ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	n/只	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)	CHOL/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	HDL-C/ (mmol·L ⁻¹)	LDL-C/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	12	33.2±6.3	119±22	59.3±5.1	16.9±1.7	10.33±2.50	1.87±0.23	0.32±0.28	1.21±0.29	0.70±0.23
模型	—	12	78.8±25.8**	230±47**	55.8±6.2	16.6±1.8	12.16±3.26	2.67±0.56**	0.16±0.14	1.77±0.53**	0.92±0.28
PHGE	0.2	12	66.3±23.8	211±87	55.0±3.3	17.0±0.9	9.20±1.69#	2.63±0.67	0.32±0.39	1.64±0.42	0.83±0.29
	0.5	11	54.4±21.6#	208±110	52.0±4.7	16.2±1.4	10.74±1.22	1.88±0.46##	0.16±0.16	1.35±0.39#	0.68±0.28#
	1.2	12	32.0±8.9##	115±29##	54.1±3.6	17.4±1.2	9.63±1.17	1.50±0.38##	0.12±0.12	1.16±0.37##	0.56±0.24##

与对照组比较: **P<0.01; 与模型组比较: #P<0.05 ##P<0.01

**P<0.01 vs control group; #P<0.05 ##P<0.01 vs model group

表5 PHGE连续ig 4周对酒精性脂肪肝模型大鼠肝内物质含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of PHGE on content of substances in liver of rats with alcoholic fatty liver by ig administration for 4 weeks ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	n/只	SOD/ (U·mg ⁻¹)	MDA/ (nmol·mg ⁻¹)	GSH/ (mmol·mg ⁻¹)	ADH/ (U·mg ⁻¹)	ALDH/ (U·mg ⁻¹)	肝脂肪量/ (mg·g ⁻¹)
对照	—	12	304±80	0.063±0.022	40.3±6.9	3.30±0.96	40.1±9.3	69±9
模型	—	12	199±65**	0.071±0.030	37.6±8.3	3.23±1.10	49.7±11.1*	86±20*
PHGE	0.2	12	167±98**	0.081±0.017	41.7±7.1	3.28±0.77	45.5±12.5	98±23*
	0.5	11	141±62**	0.087±0.030	36.5±13.4	3.54±0.94	44.6±17.3	86±25*
	1.2	12	123±34***	0.092±0.024	42.5±12.0	3.15±1.60	40.4±13.9	87±17*

与对照组比较:*P<0.05 **P<0.01;与模型组比较:##P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs control group; ##P<0.01 vs model group

表6 PHGE连续ig 8周对酒精性脂肪肝大鼠肝内物质含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of PHGE on content of substances in liver of rats with alcoholic fatty liver by ig administration for 8 weeks ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	n/ 只	SOD/ (U·mg ⁻¹)	GPx/ (U·mg ⁻¹)	GSH/ (mmol·mg ⁻¹)	MDA/ (nmol·mg ⁻¹)	ADH/ (U·mg ⁻¹)	ALDH/ (U·mg ⁻¹)	肝脂肪量/ (mg·g ⁻¹)
对照	—	12	192±78	39.4±4.7	56.4±3.0	0.056±0.012	4.24±1.27	13.6±2.6	49.2±18.0
模型	—	12	140±36	41.9±4.9	64.2±8.5**	0.075±0.015**	4.03±0.99	15.7±3.2	97.1±21.6**
PHGE	0.2	12	128±48	38.3±7.6	70.7±10.1**	0.070±0.020**	3.86±0.80	14.5±3.7	81.5±17.4**
	0.5	12	123±27	37.9±6.1	71.5±12.3**	0.084±0.025**	5.09±1.48	15.1±2.4	96.2±28.0**
	1.2	12	110±41	37.2±8.4	75.3±8.0***	0.103±0.028***	5.16±1.48#	16.6±4.4	49.1±25.4#

与对照组比较:**P<0.01;与模型组比较:#P<0.05 ##P<0.01

**P<0.01 vs control group; #P<0.05 ##P<0.01 vs model group

升高趋势,给药后MDA呈进一步升高趋势。造模给药8周与4周呈同样的改变趋势,机制有待进一步研究。

造模给药8周,模型组GSH显著高于对照组($P<0.01$),PHGE高剂量组GSH显著高于模型组($P<0.01$);造模给药8周,高剂量组动物ADH显著高于模型组($P<0.05$);与对照组比较,造模给药4、8周,模型动物肝脏脂肪量显著升高($P<0.05, 0.01$),但给予PHGE 4周未见明显降低,给药8周,PHGE高剂量组肝脏脂肪量显著降低($P<0.05$)。

表7 PHGE连续ig 4周对酒精性脂肪肝大鼠肝脏质量及系数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Effects of PHGE on liver weight and relative weight in rats with alcoholic fatty liver by ig administration for 4 weeks ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	n/只	体质量/g	肝脏质量/g	脏器系数/%
对照	—	12	381±23	11.8±1.8	3.09±0.34
模型	—	12	296±33**	10.8±1.1	3.67±0.467**
PHGE	0.2	12	293±16**	10.8±1.3	3.67±0.30**
	0.5	11	291±15**	10.8±1.1	3.70±0.30**
	1.2	12	292±17**	11.4±1.6	3.89±0.46**

与对照组比较:**P<0.01

**P<0.01 vs control group

3.5 肝脏质量及系数

如表7、8可见,造模4、8周,模型组肝脏质量与对照组动物比较未见显著性差异,而肝脏系数增加($P<0.01$),应为模型组动物体质量较小引起,PHGE各剂量组动物与同期的模型组比较未见显著性差异。

3.6 肝脏脂肪染色及评分

从图1、2,表9、10可见,肝脏脂肪染色后,造模动物主要表现为弥漫性肝细胞内红染脂滴,中央静脉周边肝细胞内可见红染脂滴,经评分后发现PHGE中、高剂量组动物的平均分降低,说明PHGE

表8 PHGE连续ig 8周对酒精性脂肪肝大鼠肝脏质量及系数的影响($\bar{x} \pm s$)Table 8 Effects of PHGE on liver weight and relative weight in rats with alcoholic fatty liver by ig administration for 8 weeks ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	n/只	体质量/g	肝脏质量/g	脏器系数/%
对照	—	12	448±33	12.8±2.0	2.85±0.33
模型	—	12	389±31**	13.1±1.8	3.36±0.29**
PHGE	0.2	12	384±38**	12.3±1.1	3.22±0.28**
	0.5	12	371±33**	12.4±1.4	3.34±0.20**
	1.2	12	336±67**#	11.8±1.6	3.87±2.19**

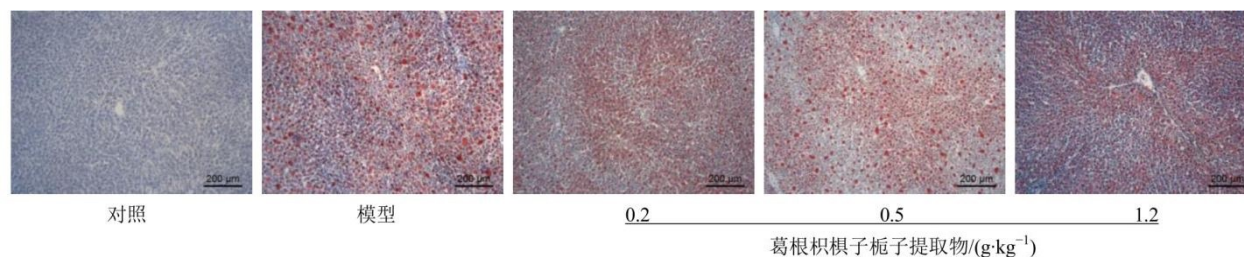
与对照组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:# $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group

图1 造模及给药4周大鼠肝组织的病理变化(油红O染色)

Fig. 1 Histological change on liver in rat with alcoholic fatty liver by ig administration for 4 weeks (Oil Red O staining)

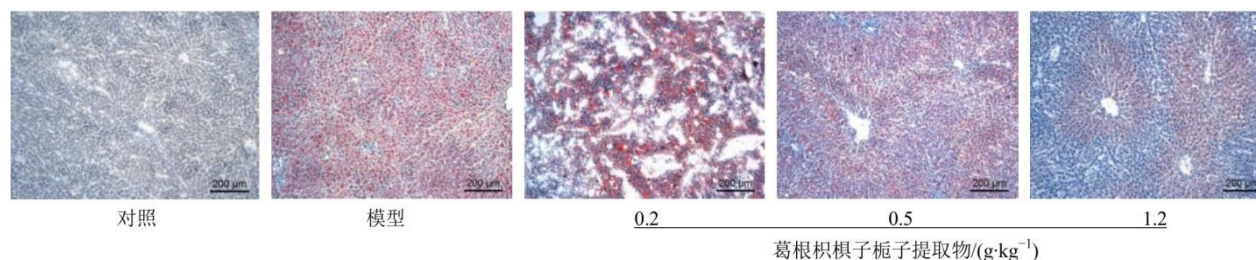


图2 造模及给药8周大鼠肝组织的病理变化(油红O染色)

Fig. 2 Histological change on liver in rat with alcoholic fatty liver by ig administration for 8 weeks (Oil Red O staining)

可使动物脂肪肝程度减轻。

4 讨论

慢性酗酒是酒精性脂肪肝的主要原因,据统计,我国有近2 000万人酗酒,其中有10%~20%人患上酒精性脂肪肝,部分人引起酒精性肝炎、肝纤维化和肝硬化。

本实验的动物选择、分组及剂量设计等符合《保健食品检验与评价技术规范(2003版)》的要求^[7]。实验动物通过用喂饲 Regular 型 Lieber-DeCarli 酒精液体模型饲料造成脂肪肝,已有较多报道^[8-10],本实验在给予模型饲料过程中同时给药,以观察 PHGE 对酒精性脂肪肝的预防和改善作用,1~4 周各组动物对模型饲料的摄取量未见明显差异,5~8 周 PHGE 高剂量组动物摄食量比模型组有所减小,同时体质量增长也减缓,但摄食量和体质量的比值相当,说明各组造模条件一致。

造模动物肝脏红油 O 染色病理组织学主要表现为弥漫性肝细胞内和中央静脉周边肝细胞内红染脂滴,肝脏总脂肪含量也显著增加,肝功能指标(ALT 和 AST)显著性升高,同时血清 TCHO、HDL、LDL 等血清脂类也显著性升高,GLU 升高,说明模型动物同时有脂类和糖代谢异常,与文献报道相同^[11-14],与临床上脂肪肝症状相近,而人类胆固醇的主要载体是 LDL,大鼠为 HDL^[15],因此大鼠脂肪肝高胆固醇模型可同时使血清 LDL 和 HDL 升高,治疗后可同时降低^[16],造模 4 周和 8 周未见明显区别。在造模过程中 ig 给予 PHGE 4、8 周后,模型动物的肝功能、血脂和血糖均得到明显改善。

酒精性脂肪肝模型动物肝脏的 SOD 降低、MDA 和 GSH 升高,与文献资料一致^[12],而给予 PHGE 的动物 SOD 值低于模型组,MDA 升高,其是否为模型动物肝脏损伤和药效作用机制有待进一步

表9 PHGE 给药4周对酒精性脂肪肝模型动物肝细胞内脂肪的影响(油红O染色)

Table9 EffectofPHGEonlivercellularfattyinratwithalcoholicfatty liverbyigadministrationfor4weeks(OilRedOstaining)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	n/只	病理改变 程度/n	肝细胞内可见弥 漫性红染脂滴/n	中央静脉周边肝细胞 内可见红染脂滴/n	汇管区周边肝细胞 内可见红染脂滴/n	评分
对照	—	12	—	12	12	8	0.4
			+	0	0	3	
			++	0	0	1	
			+++	0	0	0	
模型	—	12	—	8	4	12	2.8
			+	0	0	0	
			++	0	3	0	
			+++	4	5	0	
PHGE	0.2	12	—	0	12	12	2.8
			+	0	0	0	
			++	3	0	0	
			+++	9	0	0	
	0.5	11	—	0	11	11	2.3
			+	1	0	0	
			++	3	0	0	
			+++	7	0	0	
	1.2	12	—	0	12	12	2.4
			+	1	0	0	
			++	5	0	0	
			+++	6	0	0	

表10 PHGE 给药8周对酒精性脂肪肝动物肝细胞内脂肪的影响(油红O染色)

Table10 EffectofPHGEonlivercellularfattyinratwithalcoholicfatty liverbyigadministrationfor8weeks (OilRedOstaining)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	n/只	病理改变 程度	肝细胞内可见弥 漫性红染脂滴/n	中央静脉周边肝细胞 内可见红染脂滴/n	汇管区周边肝细胞 内可见红染脂滴/n	评分
对照	—	12	—	7	12	9	0.8
			+	4	0	3	
			++	1	0	0	
			+++	0	0	0	
模型	—	12	—	5	7	12	2.8
			+	0	1	0	
			++	0	1	0	
			+++	7	3	0	
PHGE	0.2	12	—	3	9	12	2.4
			+	0	2	0	
			++	2	1	0	
			+++	7	0	0	
	0.5	12	—	0	12	12	2.8
			+	1	0	0	
			++	0	0	0	
			+++	11	0	0	
	1.2	12	—	4	8	12	2.3
			+	1	1	0	
			++	2	3	0	
			+++	5	0	0	

步研究。造模给药8周,高剂量组ADH高于模型组($P<0.05$),PHGE可能促进乙醇在体内的代谢^[17]。

本实验结果表明,动物喂食酒精模型饲料4周和8周后,模型动物出现明显的酒精性脂肪肝,PHGE有明显的护肝作用,使肝功能指标(ALT、AST)降低,对GLU和TCHO升高有改善作用;肝脏总脂肪量下降,组织学检查见脂肪肝程度减轻;肝脏过氧化指标中的SOD含量降低,MDA和GSH含量升高。

参考文献

- [1] 周福生. 肝病中医临证旨要 [M]. 广州: 广东科技出版社. 2010.
- [2] 郑培永, 马赞颂, 柳涛, 等. 葛根素对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏脂质的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(1): 61-63.
- [3] 崔团, 彭景华, 胡义扬. 葛根总黄酮对酒精性脂肪肝的干预作用 [C]. 国际中西医结合肝病学术会议. 2010.
- [4] 徐晶莹, 朱肖鸿, 胡洁, 等. 枳椇子对非酒精性脂肪肝大鼠血清TNF- α 、IL-6、IL-8水平的影响 [J]. 中国中医药科技, 2012, 19(1): 35-36.
- [5] 丁静. 枳椇子预防大鼠酒精性脂肪肝的实验研究 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2007, 17(3): 156-158.
- [6] 傅永锦, 潘竞镨, 郑琳颖. 栀子提取物对脂肪肝大鼠增强胰岛素敏感性及抗脂肪肝作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(11): 878-883.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与技术评价规范 [S]. 2003.
- [8] Cao Y W, Jiang Y, Zhang D Y, et al. Protective effects of *Penthorum chinense Pursh* against chronic ethanol-induced liver injury in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 161: 92-98.
- [9] Wu X Q, Yang Y, Li W X, et al. Telomerase reverse transcriptase acts in a feedback loop with NF- κ B pathway to regulate macrophage polarization in alcoholic liver disease [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 18685.
- [10] Liu F, Bai X, Ding R B, et al. UPLC/Q-TOFMS-Based metabolomics studies on the protective effect of panax notoginseng saponins on alcoholic liver injury [J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(4): 695-714.
- [11] 汪国荣, 张露蓉, 严炜, 等. 保肝汤对酒精性脂肪肝预防和治疗作用的实验研究 [J]. 安徽医药, 2010, 14(1): 22-25.
- [12] 张伟, 洪汝涛, 田图磊. 大鼠酒精性脂肪肝模型的建立 [J]. 安徽医药, 2012, 16(7): 885-887.
- [13] 邱萍, 李相, 孔德松, 等. 酒精性肝病发病机制研究的新进展 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(2): 160-163.
- [14] 齐慧慧, 宋佳, 陈岳祥. 小鼠急性酒精性肝损伤模型的建立 [J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(9): 759-763.
- [15] Shefer S, Nguyen L B, Salen G, et al. Differing effects of cholesterol and taurocholate on steady state hepatic HMG - CoA reductase and cholesterol α -hydroxylase activities and mRNA levels in the rat [J]. *J Lipid Res*, 1992, 33(8): 1193-1200.
- [16] 刘祥兰, 徐颖, 张钰泉, 等. 猪苓多糖降血脂抗大鼠酒精性脂肪肝的药理实验研究 [J]. 中成药, 2013, 35(8): 1760-1764.
- [17] 王会肖, 刘继锋, 白玉. 葛花茯苓片的解酒作用及其机制 [J]. 实验动物科学, 2009, 26(6): 15-17.