

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)10-0883-03

苦荞壳提取物对高脂饲料诱导的大鼠脂肪肝的预防作用

童红莉, 田亚平, 汪德清, 董振南, 邓心新 (解放军总医院生化科, 北京 100853)

Preventive effect of tartarian buckwheat shell extract on fatty liver induced by high-lipid diet in rats

TONG Hong-Li, TIAN Ya-Ping, WANG De-Qing, DONG Zhen-Nan, DENG Xin-Xin

Department of Clinical Biochemistry, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 AIM: To investigate the preventive effect of tartarian buckwheat shell extract (TBSE) on fatty liver induced by high-lipid diet in rats and its mechanism. **METHODS:** Fifty male Wistar rats were randomly separated into 5 groups according to body weight. They were fed with normal diet, high-lipid diet, high-lipid diet supplemented with different concentrations of TBSE (0.825 g/kg, 0.165 g/kg), high-lipid diet supplemented with Lipingzhi capsules (LPZ, 0.067 g/kg), respectively. After 12 weeks, in liver tissues, Ch, Tg, MDA concentrations, SOD, GPX activities were measured, and the histological changes were observed. **RESULTS:** Compared with normal diet group, in high-lipid diet group liver Ch, Tg, MDA concentrations increased significantly ($P < 0.01$); liver SOD activity decreased significantly ($P < 0.01$); liver GPX activity decreased, but there was no significant statistical difference ($P > 0.05$). Compared with high lipid diet group, in TBSE groups, liver Ch concentration decreased significantly ($P < 0.05$), liver SOD activity increased significantly ($P < 0.05$), and liver GPX activity increased, but there was no significant statistical difference ($P > 0.05$); in high-dose TBSE group, liver Tg, MDA concentration decreased significantly ($P < 0.05$); in low-dose TBSE group, liver Tg, MDA concentration decreased, but there was no significant statistical difference ($P > 0.05$). In LPZ group, compared with high-lipid diet group, liver Ch concentration, GPX activity decreased significantly ($P < 0.05$); liver MDA, Tg concentration, SOD activity had no significant statistical changes ($P > 0.05$). **CONCLUSION:** TBSE could decrease liver Ch, Tg concentra-

tion, reduce liver lipid deposition and lipid peroxidation, increase liver antioxidant activity in rats with hyperlipidemia, which could protect hepatocytes from fatty degeneration.

【Keywords】 tartarian buckwheat shell extract; fatty liver; rats; antioxidants

【摘要】目的: 观察苦荞壳提取物对高脂饲料诱导的大鼠脂肪肝的预防作用, 探讨其机制。方法: 雄性 Wistar 大鼠 50 只, 按体重随机分为普通饲料组、高脂模型组、苦荞壳提取物高剂量组 (0.825 g/kg)、低剂量组 (0.165 g/kg) 和力平之对照组 (0.067 g/kg)。于实验后第 12 wk 测定大鼠肝脏 Ch, Tg, MDA 浓度和 SOD, GPX 活力, 并观察大鼠肝组织病理变化。结果: 高脂模型组大鼠肝脏 Ch, Tg, MDA 含量显著高于普通饲料组 ($P < 0.01$); SOD 活力显著低于普通饲料组 ($P < 0.01$); GPX 活力低于普通饲料组, 但无统计学差异 ($P > 0.05$)。与高脂模型组相比, 苦荞壳提取物各组大鼠肝组织 Ch 浓度显著降低, SOD 活力显著升高 ($P < 0.05$), GPX 活力升高, 但无统计学差异 ($P > 0.05$); 高剂量组 Tg, MDA 浓度显著降低 ($P < 0.05$); 低剂量组 Tg, MDA 浓度降低, 但无统计学差异 ($P > 0.05$)。力平之组大鼠肝脏 Ch 降低 ($P < 0.05$), Tg, MDA 含量和 SOD 活力无显著性变化 ($P > 0.05$) 而 GPX 活力显著降低 ($P < 0.05$)。结论: 苦荞壳提取物可减少高脂血症大鼠肝脏脂质沉积, 降低肝脏脂质过氧化水平, 提高肝脏抗氧化能力, 预防脂肪肝的形成。

【关键词】 苦荞壳提取物; 脂肪肝; 大鼠; 抗氧化剂

【中图分类号】 R575.5 **【文献标识码】** A

0 引言

脂肪肝是肝脏最常见的疾病之一, 随着人们生活水平的提高和饮食结构的改变, 发病率呈逐年上升趋势。肝脏脂肪变性可影响肝功能, 使其代偿能力不足, 对缺氧、中毒等耐受性降低。若其致病因子持续作用, 部分患者还可能进一步发展成为脂性肝炎、肝纤维化和肝硬化甚至肝功能衰竭。因此, 积极防治脂肪肝对阻止慢性肝病的进展和改善预后具有十分重要的意义。目前, 没有用于治疗脂肪肝特别有效的药物。而大量的流行病学调查和研究均表明, 高脂血症是导致脂肪肝的重要致病因素之一。苦荞壳提取物含有丰富的黄酮类物质, 可提高机体的抗氧化能力, 具有降低血脂的作用^[1]。因而我们用高脂饲料建立脂肪肝模型, 观察苦荞壳提取物对高脂饮食诱导的大

收稿日期: 2006-02-22; 接受日期: 2006-03-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270350)

通讯作者: 田亚平。Tel: (010) 66939374 Email: tianyp@301.hospital.com.cn

作者简介: 童红莉, 硕士生 (导师田亚平), 主管技师。Tel: (010) 66936214 Email: tonghlihn@yahoo.com.cn

鼠脂肪肝形成的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 苦荞壳提取物由北京长城制药厂制备, 芦丁含量为 40 g/kg 提取物。血清总胆固醇试剂盒 (Ch), 甘油三酯 (Tg) 试剂盒购自柏定生物工程有限公司。高、低密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C, LDL-C) 试剂盒购自利德曼生化技术有限公司。谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 试剂盒购自九强生物工程有限公司。脂质过氧化物 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂为本实验室配制, 黄嘌呤氧化酶购自 Sigma 公司。雄性 Wistar 大鼠 50 只, 体质量 (257.0 ± 14.8) g, 由解放军总医院实验动物中心提供。

1.2 方法 健康雄性 Wistar 大鼠 50 只, 按体质量随机分为 5 组, 每组 10 只。普通饲料组, 喂普通饲料。高脂模型组, 喂高脂饲料 (主要成分为: 普通饲料 78.8%, 猪油 10.0%, 蛋黄粉 10.0%, 胆固醇 1.0% 和胆酸盐 0.2%)。苦荞壳提取物高、低剂量组, 分别将苦荞壳提取物以 0.825 g/kg, 0.165 g/kg 的剂量加入高脂饲料。力平之组, 将力平之以 0.067 g/kg 的剂量加入高脂饲料。所有饲料均委托北京科澳协力饲料有限公司加工。上述 5 组动物均连续喂养 12 wk, 每周测体质量。喂养 12 wk 后, 空腹 16 h, 速眠新、氯胺酮混和液 (速眠新: 氯胺酮: 生理盐水 = 1:2:3) 0.3 mL/只麻醉, 取肝组织称质量, 计算肝指数。取右叶部分肝组织冰冻匀浆测 Ch, Tg, MDA 浓度和 SOD、GPX 活力, 以每克肝组织中的含量或活力计, 另一部分用 100 g/L 中性甲醛固定, 做石蜡切片, HE 染色, 观察肝细胞形态学变化。

统计学处理: 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析, 两两比较采用 LSD 检验。数据处理采用 SPSS10.0 统计软件包。

2 结果

2.1 一般情况 所有动物全部存活, 生长良好。模型组大鼠腹腔肥大, 脂肪组织丰富, 肝体积明显较正常对照组增大, 包膜紧张, 色泽黄腻, 呈典型脂肪变。苦荞壳预防组肝脏肿大程度减轻, 颜色较红, 接近正常对照组。

2.2 对肝脏脂质的影响 苦荞壳提取物高、低剂量组大鼠肝脏 Ch 和高剂量组的 Tg 显著低于高脂模型组 ($P < 0.01$), 低剂量组大鼠肝脏 Tg 低于高脂模型组, 但无统计学差异 (表 1)。力平之组大鼠肝脏 Ch

较高脂模型组降低 ($P < 0.05$), Tg 与高脂模型组无显著性差异, 表明苦荞壳提取物可显著降低高脂血症大鼠肝脏脂质沉积。

表 1 苦荞壳提取物对高脂血症大鼠肝脏脂质的影响

(n = 10, mmol/g, $\bar{x} \pm s$)		
组别	Ch	Tg
普通饲料	0.006 ± 0.001 ^d	0.035 ± 0.004 ^d
高脂模型	0.036 ± 0.007 ^b	0.066 ± 0.009 ^b
力平之对照	0.029 ± 0.008 ^{bc}	0.059 ± 0.012 ^b
苦荞壳高剂量	0.016 ± 0.004 ^{bd}	0.055 ± 0.011 ^{bc}
苦荞壳低剂量	0.020 ± 0.013 ^{bd}	0.061 ± 0.006 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 普通饲料; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 高脂模型。

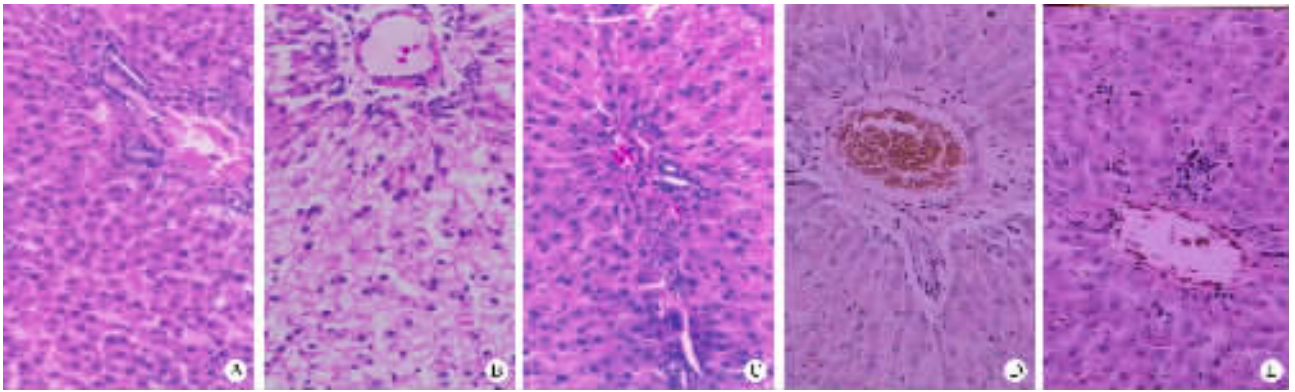
2.3 对大鼠肝脏抗氧化指标的影响 苦荞壳提取物高、低剂量组大鼠肝组织 MDA 显著低于高脂模型组 ($P < 0.05$), SOD 活力显著高于高脂模型组 ($P < 0.01$), GPX 有增高趋势, 但与高脂模型组无明显差异。力平之组大鼠肝脏 GPX 活力显著降低 ($P < 0.05$), MDA 和 SOD 与高脂模型组无明显差异 (表 2), 表明苦荞壳提取物可显著降低高脂血症大鼠肝脏脂质过氧化水平, 提高抗氧化能力。

表 2 苦荞壳提取物对高脂血症大鼠肝脏抗氧化指标的影响

(n = 10, $\bar{x} \pm s$)			
组别	MDA (nmol/g)	SOD (nkat/g)	GPX (nkat/g)
普通饲料	27 ± 5 ^d	2041 ± 87 ^d	274 ± 50
高脂模型	42 ± 9 ^b	1811 ± 96 ^b	258 ± 50
力平之对照	38 ± 6 ^b	1897 ± 171 ^b	196 ± 78 ^{bc}
苦荞壳高剂量	36 ± 7 ^{bc}	1969 ± 64 ^d	276 ± 55
苦荞壳低剂量	38 ± 4 ^b	1975 ± 100 ^d	281 ± 56

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 普通饲料; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 高脂模型。

2.4 肝脏 HE 染色 HE 染色光镜下 (图 1) 显示, 普通饲料组动物肝组织形态学正常, 高脂模型组大鼠肝弥漫性脂肪变性、水肿、伴点片状坏死及炎细胞浸润现象, 大量脂滴堆积于细胞内和细胞间隙; 力平之组肝细胞弥漫性水肿, 体积较正常肝细胞明显增大, 肝脂肪变性程度与模型组相比虽有改善, 但效果不如苦荞壳提取物预防组, 苦荞壳提取物预防组肝结构完整, 脂肪变性肝细胞数目较模型组明显减少, 仅低剂量组有极少数肝细胞内可见脂滴, 表明苦荞壳提取物可降低高脂血症大鼠肝脏脂质沉积, 预防脂肪肝的发生。



A. 普通饲料组 B. 高脂模型组 C. 力平之组 D. 苦荞壳提取物高剂量组 E. 苦荞壳提取物低剂量组.

图1 苦荞壳提取物对高脂血症大鼠肝脏细胞形态的影响

3 讨论

脂肪肝是以肝组织中蓄积大量脂肪,肝细胞发生显著脂肪变性为特点的一种脂肪代谢障碍性疾病。高脂血症循环和肝脏游离脂肪酸增加,过量的游离脂肪酸通过高表达细胞色素 P-450 2E₁, 激活枯否细胞, 减弱抗氧化能力和加重脂质过氧化损伤等一系列连锁反应导致肝实质细胞脂肪变性、坏死、炎症细胞浸润及纤维化的发生^[2]。H₂O₂ 等氧自由基在乙醇喂养的大鼠、高脂饲料喂养的大鼠和肥胖基因大鼠肝脏线粒体中都显著增加^[3], 表明脂质过氧化和氧化压力是脂肪肝形成的重要原因^[4-5]。

苦荞壳提取物中含有丰富的类黄酮化合物, 苦荞类黄酮可降低血脂, 减少自由基的产生^[6]。有研究表明苦荞壳提取物可清除 O₂⁻; OH 等自由基^[7], 抑制 MDA 生成, 抑制肝脏脂质过氧化和线粒体肿胀^[8], 具有抗氧化和肝脏保护作用。

本结果显示, 高脂模型组大鼠的肝脏明显脂肪化, 肝组织 Ch, Tg 含量明显高于普通饲料组, 表明模型建立成功。高脂模型组肝脏脂质过氧化产物 MDA 浓度显著高于普通饲料组, 抗氧化酶 SOD, GPX 活力低于普通饲料组, 表明高脂模型大鼠肝脏的脂质过氧化水平提高, 氧化压力显著增加, 而抗氧化能力显著下降, 氧化与抗氧化状态失衡。苦荞壳提取物预防组大鼠肝组织 Ch, Tg 和 MDA 含量显著降低, SOD, GPX 活力升高, 表明苦荞壳提取物不仅能抑制肝脏脂质沉积, 而且能降低肝脏脂质过氧化水平, 提高肝脏的抗氧化能力, 促使机体氧化与抗氧化机制恢复平衡, 以减轻肝脏的氧化损伤, 从而减轻肝脏的炎性损伤和脂肪变性程度, 因而对高脂饲料诱导的大鼠脂肪肝有一定的预防作用。力平之即微粒化非诺贝特为

第三代苯氧芳酸药物, 可降低血中 Ch, Tg 和 LDL-C 水平, 临床用于治疗高脂血症, 疗效确切。研究表明它虽可显著降低血脂^[1], 但对高脂血症大鼠的肝脏 TG 无显著影响, 而且肝脏的 H₂O₂ 清除酶 GPX 活力显著降低, HE 染色显示肝脏弥漫性水肿。这表明在保护肝组织完整性和抑制肝组织脂质沉积方面, 苦荞壳提取物比对照药力平之更具有肝脏保护作用。

另外, 苦荞壳来自药食兼用的天然植物苦荞, 安全无毒副作用。它是苦荞麦粉生产的副产品, 来源方便且能变废为宝, 因而在降血脂、保护肝脏和保健品的开发方面有重要的应用价值。

【参考文献】

- [1] 董红莉, 田亚平, 汪德清, 等. 苦荞壳提取物对大鼠血脂的调节作用[J]. 第四军医大学学报, 2006, 27(2): 120-122.
- [2] Diehl AM. Nonalcoholic steatohepatitis[J]. Semin Liver Dis, 1999, 19(2): 221-229.
- [3] Tania R, Yang SQ, Aymen K, et al. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease[J]. Am J Pathol, 2003, 163: 1301-1311.
- [4] Duvnjak M, Virovic L. Non-alcoholic steatohepatitis[J]. Acta Med Croatica, 2003, 57(3): 189-199.
- [5] Fraenkel E, Lazurova I, Feher J, et al. Role of lipid peroxidation in non-alcoholic steatohepatitis[J]. Orv Hetil, 2004, 145(12): 611-618.
- [6] 李洁, 梁月琴, 郝一彬. 苦荞类黄酮降血脂作用的实验研究[J]. 山西医科大学学报, 2004, 35(6): 570-571.
- [7] 张民. 苦荞壳提取物抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 312-314.
- [8] Tomomi M, Sun BX. Antioxidant activities of buckwheat hull extract toward various oxidative stress in vitro and in vivo[J]. Biol Pharm Bull, 2001, 24(3): 209-213.