

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2013.05.0274

·论著·

## 大黄素对大鼠非酒精性脂肪肝及其糖脂代谢紊乱的防治作用

张亚辉<sup>1</sup>,周伏喜<sup>2</sup>,卢放根<sup>2</sup>

(1.永州市中心医院消化内科,湖南 永州 425000;

2.中南大学湘雅二医院消化内科,湖南 长沙 410011)

**【摘要】目的** 探讨大黄素对大鼠非酒精性脂肪肝及其糖脂代谢紊乱的防治作用。**方法** SD大鼠随机分为A组和M组,分别予普通饲料和高脂饲料喂养;于4周末验证有脂肪肝后,M组再随机分为B、C、D和E组,各大鼠饲养不变,其中,C、D、E组分别予低、高剂量大黄素、二甲双胍干预。8周末测定肝指数、OGTT、转氨酶、血脂及肝脂质含量,评价肝脏脂肪变和炎症程度。**结果** C、D组肝指数和血ALT、AST均较B组降低( $P<0.01$ )。大黄素可改善糖耐量( $P<0.01$ )。与B组比较,大黄素能降低血TC、TG、LDL及降低肝TC、TG含量( $P<0.01$ ),均有剂量依赖关系( $P<0.01$ );同时D组血HDL较B组升高( $P<0.01$ )。与B组比较,C、D组大鼠肝脏脂肪变有不同改善( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),而肝脏炎症均有改善( $P<0.01$ )。**结论** 大黄素具有改善大鼠非酒精性脂肪肝及其糖脂代谢紊乱的作用。

**【关键词】** 非酒精性脂肪肝;大黄素;高脂血症;代谢综合征**【中图分类号】** R-332   **【文献标识码】** A   **【文章编号】** 1003—6350(2013)05—0636—03

**Effect of emodin on nonalcoholic fatty liver disease and its disturbance in the lipid and glucose metabolism in rat.** ZHANG Ya-hui<sup>1</sup>, ZHOU Fu-xi<sup>2</sup>, LU Fang-gen<sup>2</sup>. Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Yongzhou, Yongzhou 425000, Hunan, CHINA; 2. Department of Gastroenterology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan, CHINA

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of emodin on NAFLD and its disorder of glucose-lipid metabolism. **Methods** SD rats were randomly divided into group A and M, which were separately fed with ordinary diets and high fat diets. Four weeks later, when hepatic steatosis were identified, group M were divided randomly into group B, C, D and E. All feeding were unchanged. Group C, D and E were separately intervened with emodin by low doses, emodin by high doses and metformin. Four weeks later, the liver indexs and OGTT were observed. The serum transaminase, lipid and hepaticlipid were measured. The degree of steatosis and inflammation of liver were evaluated. **Results** The liver indexs, the serum ALT and AST in group C and D were lower than those in group B ( $P<0.01$ ). The sugar tolerance in rats were improved ( $P<0.01$ ). The emodin reduced serum TC, TG, LDL and hepaticlipid ( $P<0.01$ ), increased serum HDL ( $P<0.01$ ), and the effect had a dose-dependent ( $P<0.01$ ). The steatosis and hepatic inflammatory activity were reduced ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). **Conclusion** The emodin is effective to treat the NAFLD, and can correct its disorder of glucose-lipid metabolism.

**【Key words】** Nonalcoholic fatty liver disease; Emodin; Hyperlipemia; Metabolic syndrome

非酒精性脂肪肝(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)为目前临幊上最常见的慢性肝病之一。据研究<sup>[1]</sup>,它与高脂血症、糖耐量异常、2型糖尿病、肥胖及高血压病等代谢综合征(Metabolic syndrome, MS)密切相关,而且当它合并MS或MS组分后严重心脑血管事件发生风险显著增加,因此对NAFLD合并MS组分的防治具有非常重要的意义。本文通过高脂饲料喂养大鼠诱导非酒精性脂肪肝模型,进一步探讨大黄素对非酒精性脂肪肝及其代谢并发症的防治作用。

### 1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性SD大鼠42只,购自上海斯莱克景达实验动物有限公司,清洁级,体重(140±10)g。

1.2 主要试剂、仪器与药品 胆固醇由北京鼎国生物技术有限公司提供(批号:94K102100);丙基硫氧嘧啶片由上海朝晖药业有限公司提供(批号:20081104);猪胆酸纳由北京市爱普华美生物科技有限公司提供(批号:20090312);胆固醇、甘油三酯试剂盒购自浙江东瓯津玛生物科技有限公司(批号:2009070044、2009060036);日立7600-020型全自动生化分析仪购自日本株式会社;大黄素由郑州荔诺生物科技有限公司提供(批号:090316),纯度98%以上;二甲双胍由北京中惠药业有限公司提供(批号:20081217)。

1.3 动物造模、分组与给药 42只大鼠在清洁动物房内单笼饲养,其控制条件为室内温度(20±2)℃,湿度(55±10)%,昼夜各12 h,自由饮水。适应性喂养

通讯作者:张亚辉。E-mail:2008zhangyahui@163.com

1周后,42只大鼠按体重大小以随机方法分为正常组(A组、8只)和高脂组(M组、34只),其中A组和M组分别给予普通饲料和高脂饲料(即参照文献[2]稍加改进的高脂饲料配方:基础饲料77.6%+猪油10%、蛋黄粉5%、蔗糖5%、胆固醇2%、胆盐0.2%、丙硫氧嘧啶0.2%)喂养。第4周末随机处死M组2只大鼠行肝脏HE染色病理学检查,验证有肝脏脂肪变后,A组(8只)大鼠予0.5%羧甲基纤维素钠(SCMC)10 ml·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃。剩余的32只M组大鼠又按体重大小随机分为四组(每组8只):B组(B组)、低剂量大黄素组(C组)、高剂量大黄素组(D组)和E组(E组),其中,B组予0.5%SCMC 10 ml·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃,C,D组分别予大黄素20 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>和40 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃,E组予二甲双胍150 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃,大黄素和二甲双胍均以0.5%SCMC溶解;各大鼠喂养饲料及方式均不变。

**1.4 标本采集与指标测定** 第8周末大鼠禁食12 h,行糖耐量试验(OGTT)试验(0 h,1 h,2 h),称体重,麻醉后下腔静脉取血分离血清后用生化仪测定血谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)及高密度脂蛋白(HDL)。取出肝脏,观察肝脏外形,称肝湿重,计算肝指数:(肝湿重/体重)×100%。取适量肝右叶组织制备以氯仿:甲醇(1:1)混合液为介质的10%肝组织匀浆,静置、离心后取上清液检测肝脂质TC、TG含量,按相应的试剂盒说明进行。取适量右肝组织,置于10%甲醛溶液中固定后常规HE染色,光镜下肝脏脂肪变程度计分方案<sup>[3]</sup>:<5%肝细胞脂肪变(0分);5%~30%肝细胞脂肪变(1分);31%~50%肝细胞脂肪变性(2分);51%~75%肝细胞脂肪变(3分);75%以上肝细胞脂肪变(4分)。肝脏炎症程度计分参照慢性肝炎的炎症计分方案<sup>[4]</sup>:计分指标共四项:汇管区炎症(P)、小叶内炎症(L)、碎屑坏死(PN)及桥接坏死(BN,包括多小叶坏死);每项指标按病变程度分别计分为1、2、3、4分;由于PN、BN的严重程度与病变活动度和预后有直接关系,故在计分时加倍;肝脏炎症程度计分公式为:P+L+2(PN+BN)。

**1.5 统计学方法** 资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,使用SPSS13.0统计软件分析,如果资料为正态性、方差齐,则以方差分析及SNK检验,否则采用非参数检验。

## 2 结 果

**2.1 体重与肝指数** 各组间体重比较均无统计学意义( $P>0.05$ )。B组肝指数较A组升高( $P<0.01$ );C,D组和E组肝指数均较B组降低( $P<0.01$ ),见表1。

**2.2 血清ALT和AST** 与A组比较,B组大鼠血清ALT和AST升高( $P<0.01$ );大黄素治疗后血清

ALT、AST较B组降低( $P<0.01$ ),其中大黄素降低ALT有剂量依赖关系( $P<0.05$ );而E组血清ALT、AST较B组亦降低( $P<0.01$ , $P<0.05$ ),但D组较E组降低ALT、AST更明显( $P<0.01$ )。见表1。

表1 各组大鼠体重、肝指数及血清转氨酶的比较( $\bar{x}\pm s$ ,n=8)

组别	体重(g)	肝指数(%)	ALT(U/L)	AST(U/L)
A组	283.11±14.30	3.60±0.34	38.61±9.56	77.24±11.07
B组	298.45±17.63	5.07±0.19 <sup>a</sup>	105.26±17.72 <sup>a</sup>	143.96±25.83 <sup>a</sup>
C组	290.56±13.18	4.71±0.20 <sup>d</sup>	72.83±13.08 <sup>ad</sup>	98.06±22.06 <sup>bd</sup>
D组	287.68±15.45	4.56±0.30 <sup>d</sup>	58.30±12.53 <sup>adfc</sup>	83.64±23.52 <sup>df</sup>
E组	288.30±16.09	4.48±0.17 <sup>d</sup>	82.98±11.00 <sup>ad</sup>	116.10±17.15 <sup>c</sup>

注:与A组比较,<sup>b</sup>  $P<0.05$ ,<sup>a</sup>  $P<0.01$ ;与B组比较,<sup>c</sup>  $P<0.05$ ,<sup>d</sup>  $P<0.01$ ;与C组比较,<sup>e</sup>  $P<0.05$ ;与E组比较,<sup>f</sup>  $P<0.01$ 。

**2.3 各组OGTT测定结果比较** 空腹血糖在各组之间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。各组大鼠予葡萄糖5 g/kg灌胃后1 h血糖有不同程度升高,其中,B组血糖较A组明显升高( $P<0.01$ );C,D组和E组血糖均较B组降低( $P<0.01$ );于2 h时各组大鼠血糖不同程度恢复,其中,B组血糖仍较A组升高( $P<0.01$ ),C,D组和E组血糖较B组降低( $P<0.01$ ),见表2。

表2 各组大鼠OGTT结果(mmol/L,  $\bar{x}\pm s$ , n=8)

组别	0 h	1 h	2 h
A组	4.20±0.65	7.13±0.75	5.24±0.82
B组	4.54±0.61	10.14±1.63 <sup>a</sup>	8.65±1.19 <sup>a</sup>
C组	4.40±0.59	8.39±1.12 <sup>bc</sup>	6.89±1.23 <sup>ac</sup>
D组	4.29±0.60	8.49±1.18 <sup>bc</sup>	7.00±0.74 <sup>ac</sup>
E组	4.10±0.61	8.53±0.95 <sup>bc</sup>	6.68±0.96 <sup>ac</sup>

注:与A组比较,<sup>b</sup>  $P<0.01$ ,<sup>a</sup>  $P<0.05$ ;与B组比较,<sup>c</sup>  $P<0.01$ 。

**2.4 各组血清TC、TG、LDL、HDL及肝脂质TC、TG含量比较** B组大鼠血清TC、TG、LDL及肝TC和TG含量均较A组升高( $P<0.01$ ),而大鼠血清HDL较A组降低( $P<0.01$ );C,D组血清TC、TG、LDL及肝TC和TG含量较B组均降低( $P<0.01$ ),以D组降低更明显( $P<0.05$ );E组血清LDL较B组降低( $P<0.01$ ),肝TC和TG含量较B组、C组降低( $P<0.01$ );D组血清HDL较B组、C组升高( $P<0.01$ , $P<0.05$ ),见表3。

## 2.5 肝脏病理改变

**2.5.1 大体病理改变** A组肝脏形态大小正常,表面光滑细腻,边缘锐利,色泽红润。B组肝脏形态饱满,体积稍增大,表面粗糙有颗粒感,边缘较钝,色泽以土黄色为主。大黄素、二甲双胍治疗后肝脏表面、边缘、色泽等大体病理改变较B组有不同程度改善。

**2.5.2 光镜下肝组织HE染色改变** A组大鼠肝脏无脂肪变及炎症改变。B组大部分肝细胞严重脂肪变性,肝窦受压变小、甚至消失,以小叶周边部更为明显;肝小叶边界不清,汇管区有不同程度炎症形成。大黄素及二甲双胍治疗后肝脏脂肪变及炎症程

表 3 各组大鼠血清脂质及 10% 肝匀浆肝脂质含量测定结果( $\text{mmol/L}, \bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	血清 TC	血清 TG	血清 LDL	血清 HDL	肝脂质 TC	肝脂质 TG
A 组	1.74±0.39	0.60±0.10	0.96±0.11	1.03±0.08	0.62±0.13	1.29±0.19
B 组	10.78±1.28 <sup>a</sup>	1.36±0.11 <sup>a</sup>	2.86±0.25 <sup>a</sup>	0.79±0.16 <sup>a</sup>	6.38±0.43 <sup>a</sup>	4.78±0.57 <sup>a</sup>
C 组	6.63±1.38 <sup>bc</sup>	1.14±0.08 <sup>bc</sup>	2.11±0.16 <sup>bc</sup>	0.82±0.09	3.61±0.47 <sup>bc</sup>	3.28±0.48 <sup>bc</sup>
D 组	5.13±1.25 <sup>bcc</sup>	1.01±0.11 <sup>bcd</sup>	1.92±0.11 <sup>bcc</sup>	0.96±0.11 <sup>bc</sup>	2.44±0.44 <sup>bcd</sup>	2.17±0.54 <sup>bcd</sup>
E 组	9.59±1.40	1.29±0.07	2.47±0.21 <sup>b</sup>	0.88±0.12	2.18±0.31 <sup>b</sup>	2.03±0.38 <sup>b</sup>

注:与 A 组比较, <sup>a</sup> P<0.01;与 B 组比较, <sup>b</sup> P<0.01;与 C 组比较, <sup>c</sup> P<0.05, <sup>d</sup> P<0.01;与 E 组比较, <sup>e</sup> P<0.01。

度较 B 组有好转,其中,C、D 组和 E 组肝脏脂肪变计分较 B 组有不同程度降低(P<0.05, P<0.01, P<0.01),而且肝脏炎症亦较 B 组有不同程度改善(P<0.01, P<0.01, P<0.05)。见表 4。

表 4 各组大鼠肝脏组织脂肪变程度计分和炎症活动度计分( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	脂肪变程度计分	炎症活动度计分
A 组	0.00±0.00	0.00±0.00
B 组	3.63±0.52 <sup>a</sup>	3.13±0.99 <sup>a</sup>
C 组	2.75±0.71 <sup>b</sup>	1.88±0.83 <sup>c</sup>
D 组	2.50±1.07 <sup>c</sup>	1.50±0.76 <sup>c</sup>
E 组	2.38±0.74 <sup>c</sup>	2.13±0.83 <sup>b</sup>

注:与 A 组比较, <sup>a</sup> P<0.01;与 B 组比较, <sup>b</sup> P<0.05, <sup>c</sup> P<0.01。

### 3 讨论

动物模型在研究 NAFLD 的发病机理及药物评价方面有重要作用。本实验以稍加改进的高脂饲料喂养 SD 大鼠后于第 8 周末 B 组肝脏呈中重度脂肪变,以重度为主,并伴一定炎症,出现肝指数、转氨酶及肝脂质含量增高,糖耐量异常,血脂异常等改变,证实成功复制了大鼠非酒精性脂肪肝模型并伴糖脂代谢紊乱。

据研究,NAFLD 的治疗意义不仅在于逆转或减轻脂肪肝,阻止脂肪性肝炎的发生与进展,减少肝病残疾和死亡;而且还重在控制代谢紊乱,减少 MS 相关组分或心脑血管事件发生的风险,而药物无疑是 NAFLD 重要治疗措施。大黄素是大黄等中药的主要有效单体成分,化学名为 1,3,8-三羟基-6-甲基蒽醌,用于防治脂肪肝及其代谢合并症的报道较少见。本研究显示大黄素治疗后大鼠肝脏脂肪变及炎症均有明显好转,进一步证实了大黄素防治 NAFLD 有效,此结果与文献<sup>[5]</sup>的报道相近。本实验显示大黄素及二甲双胍均可降低肝指数,提示此二药均有减少肝脏脂肪含量和内脏性肥胖的作用,而这可提高胰岛素敏感性,减少脂肪肝发生的一次打击<sup>[6]</sup>。

本研究显示高脂饲料喂养大鼠后出现了转氨酶升高,提示高脂饮食可使脂肪肝大鼠产生肝细胞损伤及炎症;而且有研究报道 NAFLD 伴转氨酶升高使 2 型糖尿病和 MS 发生风险增加<sup>[7]</sup>。本实验示大黄素治疗后脂肪肝大鼠血清 ALT、AST 降低,说明大黄素具有修复肝细胞损伤及炎症,改善肝功能的作用;其机制可能与大黄素改善脂肪肝大鼠肠道屏障功能、降低

肠源性内毒素吸收、抑制炎症等有关<sup>[8-9]</sup>。

本实验显示大黄素有降低餐后血糖、改善糖耐量的作用,其作用近似二甲双胍,其机制可能与大黄素具有提高胰岛素敏感性<sup>[10]</sup>有关,这有待进一步研究。

NAFLD 与脂质代谢紊乱关系密切,而且有研究示 NAFLD 患者进食后形成的高脂血症可能促使动脉粥样硬化加快形成<sup>[11]</sup>,由此促进心脑血管疾病的发生。而大黄素具有降低大鼠血清 TC、TG、LDL 及肝 TC、TG 含量的作用,同时升高血 HDL 的作用,说明大黄素有改善脂质代谢紊乱的作用,但其具体机制有待研究。

### 参考文献

- 余艺,傅晓英,周昭远,等.脂肪肝及其腹围与代谢综合征的相关性研究[J].海南医学,2011,22(18): 13-16.
- 胡克章,杨坤,黄正明.高糖高脂肪饲料诱导大鼠非酒精性脂肪肝的实验研究[J].解放军药学学报,2009,25(2): 136-138.
- 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组.非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[J].中华肝脏病杂志,2006,14(3): 161-163.
- 王泰龄,刘震,周元平,等.慢性肝炎炎症活动度及纤维化程度计分方案[J].中华肝脏杂志,1998,66(4): 195-197.
- Dong H, Lu FE, Gao ZQ, et al. Effects of emodin on treating murine nonalcoholic fatty liver induced by high caloric laboratory chow [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(9): 1339-1344.
- Moore JB. Non-alcoholic fatty liver disease: the hepatic consequence of obesity and the metabolic syndrome [J]. Proc Nutr Soc, 2010, 69(2): 211-220.
- Adams LA, Waters OR, Knuiman MW, et al. NAFLD as a risk factor for the development of diabetes and the metabolic syndrome: an eleven-year follow-up study [J]. Am J Gastroenterol, 2009, 104(4): 861-867.
- 章文,朱清静.大黄药理研究及其在肝病治疗中的应用进展[J].中西结合肝病杂志,2008,18(2): 126-129.
- Dong MX, Jia Y, Zhang YB, et al. Emodin protects rat liver from CCl<sub>4</sub>-induced fibrogenesis via inhibition of hepatic stellate cells activation [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(38): 4753-4762.
- 王慧莲,王琦,尹春梅.大黄素和小檗碱改善 HepG2 细胞胰岛素抵抗的机制研究[J].中国病理生理杂志,2009,25(10): 2044-2046.
- Musso G, Gambino R, De Micheli F, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis [J]. Hepatology, 2003, 37(4): 909-916.

(收稿日期:2012-09-20)