

降糖消脂片对肥胖大鼠模型的影响

金龙 葛争艳 董小霞 杨斌 李宏坤 郭宇洁 任烨 洪晓华 王杨慧 刘建勋

(中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 中药药理北京市重点实验室, 北京, 100091)

摘要 目的: 观察降糖消脂片对肥胖模型大鼠 Lee's 指数、血脂及病理形态学等指标的影响, 研究其药理作用。方法: 采用 SD 大鼠, 高脂饲料喂养 18 周, 造成肥胖大鼠模型。普通饲料组为对照组, 高脂饲料组分为模型组、二甲双胍组 (0.3 g/kg)、辛伐他汀组 (4 mg/kg)、降糖消脂片高、中、低剂量组 (8、4、2 g 生药/kg)。12 只/组, 连续灌胃给药 8 周, 1 次/d。观察给药期间大鼠体质量及摄食量的变化, 测定 Lee's 指数、血脂及游离脂肪酸 (FFA), 并对肝脏和脂肪进行形态学观察。结果: 给药 8 周后与模型组比较, 降糖消脂片高、中剂量组大鼠肥胖症状明显减轻、体质量明显降低 ($P < 0.05 \sim 0.01$); Lee's 指数明显降低 ($P < 0.05 \sim 0.01$)、总胆固醇 (TC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 明显降低 ($P < 0.05$); 高剂量组高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 明显升高 ($P < 0.01$)、TC/HDL-C 有所降低 ($P < 0.05$); 低剂量组极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C) 有所降低 ($P < 0.05$); 降糖消脂片各剂量组 FFA 明显降低 ($P < 0.01$); 病理结果显示: 降糖消脂片各剂量组的肝脏和脂肪组织病理变化与模型组比较, 有不同程度的减轻; 降糖消脂片各剂量组肝脏脂肪变性有明显改善 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。结论: 降糖消脂片有明显减重、降脂、改善肝脏脂肪变性的作用, 其机制可能与降低 FFA, 改善脂代谢紊乱有关。

关键词 肥胖; 大鼠; Lee's 指数; 游离脂肪酸; 血脂; 降糖消脂片

Effects of Jiangtang Xiaozhi Pills on Rat Models with Nutritional Obesity

Jin Long, Ge Zhengyan, Dong Xiaoxia, Yang Bin, Li Hongkun, Guo Yujie, Ren Ye,

Hong Xiaohua, Wang Yangyui, Liu Jianxun

(Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences,

Beijing Key Laboratory of Chinese Materia Medica, Beijing 100091, China)

Abstract Objective: To observe the effects of Jiangtang Xiaozhi Pills (JTXZP) on Lee's index, blood lipid and pathological morphology of obesity rat models and to study its pharmacology. **Methods:** SD rats were fed for 18 weeks with high-fat diet to induce rat model. The animals were divided into 7 groups of normal control group (common diet), model group, metformin group (0.3 g/kg), simvastatin group (4 mg/kg) and high-dose, middle-dose and low-dose JTXZP groups (2 g, 4 g and 8 g crude drug/kg), respectively, with 12 rats in each group. The duration of treatment was 8 weeks, 1 time/day. The changes in body weight (BW) and dietary intake were observed during the treatment time, and Lee's index, blood lipid and free fat acid (FFA) were tested. The morphological observation was conducted on the liver and the fat. **Results:** Compared with the model group after 8 weeks of drug administration, the symptoms of obesity were significantly improved, the body weight ($P < 0.05 \sim 0.01$), Lee's index ($P < 0.05 \sim 0.01$), total cholesterol (TC), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) were all decreased significantly ($P < 0.05$). High density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in high-dose group increased significantly ($P < 0.01$), and TC/HDL-C decreased ($P < 0.05$). Low-dose group LDL cholesterol (VLDL-C) decreased ($P < 0.05$). FFA values were decreased in all three dose of JTXZP groups ($P < 0.01$). Pathology results showed that there was improvement of different levels in the liver and fat at all dose of groups of JTXZP. Each dosage group of JTXZP had a significant improvement in hepatic steatosis ($P < 0.05$). **Conclusion:** JTXZP could decrease the body weight, blood fat and improve the hepatic steatosis. Its mechanism may be related to reducing FFA and improving lipid metabolic disorder.

Key Words Obesity; Rats; Lee's index; Free fat acid; Blood fat; Jiangtang Xiaozhi Pills

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.01.002

肥胖症是一种慢性代谢性疾病, 是导致高血压、心脏病、2 型糖尿病及脑卒中等疾病的重要危险因素, 肥胖症已经成为目前世界范围内最严重的公共

卫生问题之一^[1]。肥胖症与过度进食、偏食高脂脂肪类食物及缺乏运动等密切相关, 是由遗传因素、环境因素等多种因素相互的结果, 其具体发病原因尚不

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 项目 (2015CB554405); 国家科技重大专项“重大新药创制” (2017ZX09301018)

作者简介: 金龙 (1964.07—), 男, 本科, 副主任技师, 研究方向: 中药药理学研究, Tel: (010) 62835623, E-mail: jinlong5991@sina.com

通信作者: 刘建勋 (1955.03—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 药理学研究, E-mail: liujx0324@sina.com

清楚^[2]。降糖消脂片来源于临床经验方,由女贞子、黄芪、黄连、荔枝核、昆布等中药组成,具有益气养阴,行气通络之功效,是治疗糖尿病前期糖脂代谢紊乱,症见乏力、困倦、多汗、头晕、口干、多饮、易饥、尿频、大便不爽、肢体麻木、舌质黯红、苔白微腻或黄腻、舌下静脉迂曲,脉弦细或濡或滑等。前期临床研究显示,该方剂可以有效的降低糖尿病患者体质量及体质量指数(BMI),改善患者炎性反应及纤溶活性^[3]。进一步的动物实验显示,降糖消脂片降糖消脂片对 KK-Ay 糖尿病肥胖小鼠有明显的降糖、降脂及改善胰岛素抵抗的作用^[4]。本研究观察降糖消脂片对单纯性肥胖(Diet Induced Obesity, DIO)大鼠模型的影响,为临床应用提供实验依据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SD 雄性大鼠,体质量(130.43 ± 7.15) g,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)2009-0007。参考文献方法制定高脂饲料^[5]:猪油 10%、蔗糖 10%、胆固醇 1.5%、胆盐 0.5%、蛋黄粉 5%、普通饲料 73%,由北京华阜康生物科技股份有限公司加工。

1.1.2 药物 降糖消脂片,实验用其干粉,5.4 g 生药/g 粉,由中国中医科学院西苑医院基础医学研究所药化研究室提供,批号 20100308;盐酸二甲双胍片,北京协和药厂产品,批号 101205;辛伐他汀片,杭州默沙东制药有限公司产品,批号 09547。

1.1.3 试剂与仪器 血脂试剂盒:均为中生北控生物科技股份有限公司产品,TC 批号 111511, TG 批号 114491, HDL-C 批号 110531, LDL-C 批号 110571; FFA 试剂盒:由北京尚柏生物医学技术有限公司提供,批号 120210。全自动生化分析仪,日立 7080 型(日本产);生物组织包埋机, TB-718 型,常州市中威电子仪器有限公司产品;组织切片机 RM2235 型,德国 Leica 产品;烤片机, HI1220 型,德国 Leica 产品;全自动组织脱水机, ST5020 型,德国 Leica 产品;显微镜,日本 OLYMPUS 公司 BX41 型。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 动物模型制备周期为 18 周,给药周期为 8 周。即大鼠分为普通饲料组和高脂饲料组进行喂养,4 周、6 周、8 周、12 周及 18 周时(大鼠禁食 16 h),分别取对照组和高脂饲料组数只,尾尖采血进行 TC、TG 测定,每次抽测均选同一批动物,以便动态观察。待血脂升高至与对照组差异有统计学意义时,麻醉动物,称体质量后用皮尺测

量大鼠身长(鼻尖至尾根的长度)及尾长(尾根至尾尖的长度),计算药前 Lee's 指数,再进行心脏取血,分离血清测定 TC、TG,高脂组大鼠体质量和血脂均升高,可进行分组。普通饲料组为对照组(12 只),高脂饲料组(72 只)分为模型组、二甲双胍组(0.3 g/kg)、辛伐他汀组(4 mg/kg)、降糖消脂片 8、4、2 g 生药/kg 组。除对照组外,各组继续高脂饲料喂养。(因造模动物心脏取血后,有 10 余只大鼠死亡,故实验后期动物由每组 12 只变为每组 10 只)。

1.2.2 给药方法 连续灌胃给药 2 个月,体积为 10 mL/kg;对照组和模型组灌胃等体积灭菌水。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 造模 18 周大鼠体质量的变化 造模期间,隔周称体质量。

1.2.3.2 造模 18 周大鼠摄食量测定 造模期间,隔周称饲料(每笼定量加料,第 2 天称余料),计算每 100 g 体质量的摄食量,至造模 18 周。摄食量 = (加料 - 余料) / 笼总体质量 $\times 100$ 。

1.2.3.3 造模 18 周大鼠 Lee's 指数测定 麻醉动物,称体质量、量身长及尾长,计算造模后 Lee's 指数。Lee's 指数 = [体质量(g) $\times 103$ / 身长(cm)] $^{1/3}$ 。

1.2.3.4 造模 18 周大鼠血脂测定 麻醉动物,心脏取血,分离血清,用生化仪测定 TC、TG。

1.2.3.5 给药 8 周大鼠体质量的变化 每周称体质量。

1.2.3.6 给药 8 周大鼠摄食量测定 每周称体质量及摄食,计算每 100 g 体质量的摄食量。

1.2.3.7 给药 8 周大鼠 Lee's 指数测定 麻醉动物,称体质量、量身长及尾长,计算给药后的 Lee's 指数。

1.2.3.8 给药 8 周大鼠血脂测定 麻醉动物,腹主动脉取血,离心后分离血清,用生化仪进行 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 的测定。

1.2.3.9 给药 8 周大鼠 FFA 测定 麻醉动物,腹主动脉取血,离心后分离血清,用生化仪进行测定。

1.2.3.10 肝脏形态学观察 各组大鼠解剖取肝脏,10% 甲醛固定、乙醇脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色,光镜下进行肝脏形态学观察。采用参比差值法进行肝脏脂肪变性分级(正常:无肝细胞脂肪变性;轻度:肝细胞脂肪变性累及肝组织的 1/3 以下的肝小叶或仅见个别肝细胞脂肪变性;中度:肝细胞脂肪变性累及肝组织的 2/3 至 1/3 的肝小叶;重度:肝细胞脂肪变性累及肝组织的 2/3 以上的肝小叶并且脂

变程度较重)。

1.2.3.11 脂肪病理学观察 各组大鼠解剖取脂肪,10% 甲醛固定、乙醇脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色,光镜下进行脂肪形态学观察。HE 染色后进行脂肪细胞计数,计数每个高倍视野中脂肪细胞数,每组共计 30 个高倍镜视野,再取平均值。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,实验结果以均数标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计量数据组间差异比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),肝脏脂肪变性分级采用采用 Pearson 卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模 18 周体质量的变化 高脂饲料喂养 2 周时,与对照组比较,高脂组大鼠体质量明显降低($P < 0.01$);造模 4 周时,高脂组体质量与对照组持平;造模 6 周时,高脂组体质量超过对照组,但差异无统计学意义;造模 8~18 周,高脂组体质量明显高于对照组($P < 0.01$),说明肥胖模型非常成功。见

表 1~2。

2.2 造模 18 周摄食量的改变 高脂饲料喂养 2 周时,高脂组摄食量与对照组差异无统计学意义;造模 4 周开始,高脂组各时间点的摄食量与对照组比较明显降低($P < 0.01$),可能是由于饲料中脂肪含量较高,导致大鼠进食量减少,但高脂组体质量明显高于对照组。见表 3~4。

2.3 造模 18 周 Lee's 指数的变化 高脂饲料喂养 18 周后,高脂组大鼠的体质量和身长与对照组比较均明显增加($P < 0.05 \sim 0.01$),故 Lee's 指数与对照组比较也明显增加($P < 0.01$),尾长则无明显变化。提示大鼠已明显肥胖,可取血测定药前 TC、TG 等指标。见表 5。

2.4 造模 18 周血脂的变化 由于动物尚未开始给药,故检测 TC、TG 需心脏取血。高脂饲料喂养 18 周后,高脂组大鼠的 TC 与对照组比较明显升高($P < 0.01$),TG 与对照组比较也有所增加($P < 0.05$),说明大鼠造模后血脂已明显升高,可进行分组、灌胃

表 1 大鼠造模后体质量的变化($\bar{x} \pm s, g$)

组别	造模 2 周	造模 4 周	造模 6 周	造模 8 周	造模 10 周
对照组($n = 12$)	221.35 $\pm$ 13.43	331.68 $\pm$ 19.16	403.19 $\pm$ 22.44	434.90 $\pm$ 26.96	496.68 $\pm$ 31.69
高脂组($n = 72$)	189.67 $\pm$ 13.55 **	326.54 $\pm$ 22.40	411.24 $\pm$ 28.49	456.74 $\pm$ 34.02 **	527.44 $\pm$ 42.73 **

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$

表 2 大鼠造模后体质量的变化($\bar{x} \pm s, g$)

组别	造模 12 周	造模 14 周	造模 16 周	造模 18 周
对照组($n = 12$)	526.39 $\pm$ 36.93	551.71 $\pm$ 34.96	571.16 $\pm$ 38.59	575.19 $\pm$ 46.43
高脂组($n = 72$)	562.41 $\pm$ 45.43 **	585.85 $\pm$ 48.63 **	612.19 $\pm$ 50.19 **	635.60 $\pm$ 51.28 **

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$

表 3 大鼠造模后摄食量的变化($\bar{x} \pm s, g/100 g$ 体质量)

组别	造模 2 周	造模 4 周	造模 6 周	造模 8 周	造模 10 周
对照组($n = 12$)	12.19 $\pm$ 0.49	8.54 $\pm$ 0.58	6.95 $\pm$ 0.31	6.42 $\pm$ 0.61	5.26 $\pm$ 0.39
高脂组($n = 72$)	13.08 $\pm$ 1.13	7.26 $\pm$ 0.41 **	5.82 $\pm$ 0.35 **	4.93 $\pm$ 0.29 **	4.57 $\pm$ 0.38 **

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$

表 4 大鼠造模后摄食量的变化($\bar{x} \pm s, g/100 g$ 体质量)

组别	造模 12 周	造模 14 周	造模 16 周	造模 18 周
对照组($n = 12$)	5.05 $\pm$ 0.16	4.85 $\pm$ 0.08	4.40 $\pm$ 0.06	4.71 $\pm$ 1.00
高脂组($n = 72$)	4.23 $\pm$ 0.31 **	4.01 $\pm$ 0.27 **	3.60 $\pm$ 0.32 **	3.44 $\pm$ 0.29 **

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$

表 5 造模 18 周大鼠 Lee's 指数的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	体质量(g)	身长(cm)	尾长(cm)	Lee's 指数
对照组($n = 12$)	585.03 $\pm$ 37.98	27.56 $\pm$ 1.24	20.00 $\pm$ 0.89	27.68 $\pm$ 0.59
高脂组($n = 72$)	636.97 $\pm$ 53.58 **	28.06 $\pm$ 0.71 **	20.18 $\pm$ 0.67	28.29 $\pm$ 0.63 **

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$

给药。见表6。

表6 造模18周大鼠血脂的变化($\bar{x} \pm s$, mmol/L)		
组别	TC	TG
对照组($n=12$)	1.45 ± 0.21	1.16 ± 0.22
高脂组($n=72$)	2.15 ± 0.36 **	1.31 ± 0.32 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.5 降糖消脂片对肥胖大鼠体质量的影响 造模

表7 降糖消脂片对肥胖大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$, g, $n=12$)						
组别	剂量	药前	给药1周	给药2周	给药3周	给药4周
对照组	—	576.58 ± 41.57	577.50 ± 43.98	598.00 ± 47.59	599.25 ± 49.72	601.08 ± 49.75
模型组	—	635.42 ± 62.38 *	641.75 ± 60.98 **	657.58 ± 62.76 *	669.83 ± 66.35 **	679.83 ± 71.36 **
二甲双胍组	0.3 g/kg	636.08 ± 58.76	629.67 ± 62.32	626.83 ± 65.12	628.33 ± 54.08	638.91 ± 47.37
辛伐他汀组	4 mg/kg	636.83 ± 54.41	637.92 ± 56.35	644.08 ± 56.15	656.58 ± 54.73	666.33 ± 55.69
降糖消脂片组	2 g/kg	635.58 ± 39.85	643.42 ± 41.42	647.83 ± 41.82	650.25 ± 48.66	659.82 ± 48.71
降糖消脂片组	4 g/kg	633.42 ± 43.69	630.08 ± 41.62	638.92 ± 44.42	642.17 ± 39.84	648.67 ± 44.60
降糖消脂片组	8 g/kg	634.17 ± 57.69	626.08 ± 62.99	616.64 ± 35.72	616.55 ± 36.39 [△]	618.27 ± 39.86 [△]

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$

表8 降糖消脂片对肥胖大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$, g, $n=12$)					
组别	剂量	给药5周	给药6周	给药7周	给药8周
对照组	—	604.83 ± 50.61	604.64 ± 48.32	609.64 ± 47.70	605.50 ± 41.39
模型组	—	685.92 ± 72.13 **	698.18 ± 74.90 **	708.64 ± 75.69 **	734.20 ± 66.61 **
二甲双胍组	0.3 g/kg	646.55 ± 48.06	655.73 ± 42.44	663.27 ± 41.74	667.10 ± 42.28 [△]
辛伐他汀组	4 mg/kg	676.00 ± 55.52	685.18 ± 57.01	690.45 ± 60.11	704.90 ± 58.68
降糖消脂组	2 g/kg	660.45 ± 47.36	670.73 ± 49.12	680.82 ± 52.16	695.80 ± 53.17
降糖消脂组	4 g/kg	649.82 ± 36.67	654.18 ± 43.03	665.18 ± 48.53	672.00 ± 54.97 [△]
降糖消脂组	8 g/kg	625.40 ± 40.63 [△]	629.30 ± 33.80 [△]	634.60 ± 27.97 ^{△△}	641.90 ± 25.70 ^{△△}

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

表9 降糖消脂片对肥胖大鼠摄食量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$, g/100 g 体质量)						
组别	剂量	药前	给药1周	给药2周	给药3周	给药4周
对照组	—	4.52 ± 0.16	4.61 ± 0.41	4.10 ± 0.05	4.65 ± 0.43	4.09 ± 0.03
模型组	—	3.38 ± 0.28 **	3.38 ± 0.14 **	3.18 ± 0.17 **	3.63 ± 0.12 *	3.39 ± 0.20 **
二甲双胍组	0.3 g/kg	3.13 ± 0.15	2.88 ± 0.23 [△]	3.39 ± 0.18	3.27 ± 0.33	3.93 ± 0.24 [△]
辛伐他汀组	4 mg/kg	3.29 ± 0.31	3.59 ± 1.14	3.55 ± 0.97	3.97 ± 0.56	3.94 ± 0.73
降糖消脂片组	2 g/kg	3.25 ± 0.08	2.71 ± 0.52	3.35 ± 0.28	3.89 ± 0.37	3.93 ± 0.78
降糖消脂片组	4 g/kg	3.15 ± 0.08	2.81 ± 0.27 [△]	2.93 ± 0.30	4.10 ± 0.51	3.36 ± 0.50
降糖消脂片组	8 g/kg	3.26 ± 0.20	3.14 ± 0.47	3.63 ± 1.05	3.84 ± 0.77	3.98 ± 1.03

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$

表10 降糖消脂片对肥胖大鼠摄食量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$, g/100 g 体质量)					
组别	剂量	给药5周	给药6周	给药7周	给药8周
对照组	—	4.17 ± 0.07	4.26 ± 0.24	4.27 ± 0.24	4.39 ± 0.21
模型组	—	3.44 ± 0.11 **	3.40 ± 0.08 **	3.55 ± 0.21 *	3.36 ± 0.26 **
二甲双胍组	0.3 g/kg	3.61 ± 0.37	3.53 ± 0.21	3.39 ± 0.32	3.59 ± 0.08
辛伐他汀组	4 mg/kg	3.94 ± 0.43	3.56 ± 0.96	3.38 ± 1.09	3.58 ± 0.34
降糖消脂片组	2 g/kg	3.84 ± 0.56	3.91 ± 0.55	3.57 ± 0.62	3.97 ± 0.55
降糖消脂片组	4 g/kg	3.33 ± 0.99	3.24 ± 0.65	3.30 ± 0.69	3.35 ± 0.55
降糖消脂片组	8 g/kg	4.26 ± 1.77	4.38 ± 1.66	4.28 ± 1.55	4.24 ± 0.85

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

后(给药前),各组动物体质量明显高于对照组($P < 0.05 \sim 0.01$),大鼠已明显肥胖。灌胃给药后,与模型组比较,降糖消脂片大剂量组从药后3周开始,体质量有所下降($P < 0.05$);药后7周时体质量下降明显($P < 0.01$);药后8周时,大剂量组体质量下降极其明显($P < 0.01$),且中剂量组体质量也有所下降($P < 0.05$)。见表7~8。

表 11 降糖消脂片对肥胖大鼠 Lee's 指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	体质量(g)	身长(cm)	尾长(cm)	Lee's 指数
对照组	—	605.50 ± 41.39	28.38 ± 0.60	21.00 ± 0.78	27.73 ± 0.66
模型组	—	734.20 ± 66.61 ^{**}	28.81 ± 0.77	20.90 ± 0.73	29.40 ± 0.72 ^{**}
二甲双胍组	0.3 g/kg	667.10 ± 42.28 [△]	28.39 ± 0.72	20.40 ± 0.67	28.63 ± 0.54 [△]
辛伐他汀组	4 mg/kg	704.90 ± 58.68	28.33 ± 0.79	20.96 ± 0.81	29.18 ± 0.73
降糖消脂片组	2 g/kg	695.80 ± 53.17	28.35 ± 1.08	20.40 ± 0.88	29.05 ± 0.83
降糖消脂片组	4 g/kg	672.00 ± 54.97 [△]	28.63 ± 0.68	20.76 ± 0.58	28.61 ± 0.71 [△]
降糖消脂片组	8 g/kg	641.90 ± 25.70 ^{△△}	28.50 ± 0.62	20.40 ± 0.91	28.24 ± 0.41 ^{△△}

注:与对照组比较,^{**} $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

表 12 降糖消脂片对肥胖大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n = 10, \text{mmol/L}$)

组别	剂量	TC	TG	HDL-C	LDL-C	VLDL-C	TC/HDL-C
对照组	—	1.15 ± 0.21	0.43 ± 0.06	0.11 ± 0.05	0.57 ± 0.15	0.44 ± 0.08	13.76 ± 10.59
模型组	—	1.64 ± 0.40 ^{**}	0.61 ± 0.18 ^{**}	0.08 ± 0.04	1.06 ± 0.46 ^{**}	0.54 ± 0.09 [*]	25.42 ± 19.92 ^{**}
二甲双胍组	0.3 g/kg	1.38 ± 0.22	0.49 ± 0.14	0.11 ± 0.05	0.82 ± 0.28	0.45 ± 0.15	15.17 ± 8.61
辛伐他汀组	4 mg/kg	1.24 ± 0.25 [△]	0.58 ± 0.13	0.27 ± 0.07 ^{△△}	0.68 ± 0.16	0.29 ± 0.13 ^{△△}	4.78 ± 1.71 ^{△△}
降糖消脂片组	2 g/kg	1.48 ± 0.24	0.63 ± 0.13	0.13 ± 0.07	0.98 ± 0.25	0.38 ± 0.16 [△]	14.29 ± 6.44
降糖消脂片组	4 g/kg	1.30 ± 0.24 [△]	0.59 ± 0.11	0.11 ± 0.04	0.66 ± 0.08 [△]	0.53 ± 0.15	12.70 ± 2.94
降糖消脂片组	8 g/kg	1.28 ± 0.33 [△]	0.47 ± 0.13	0.21 ± 0.08 ^{△△}	0.51 ± 0.38 [△]	0.55 ± 0.19	6.50 ± 2.38 [△]

注:对照组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

2.6 降糖消脂片对肥胖大鼠摄食量的影响 与对照组比较,模型组各时间点的摄食量明显降低($P < 0.05 \sim 0.01$),灌胃给药后,降糖消脂片中剂量组药后 1 周时,摄食量比模型组有所下降($P < 0.05$),其他各剂量组药后摄食量与模型组比较差异无统计学意义。见表 9 ~ 10。

2.7 降糖消脂片对肥胖大鼠 Lee's 指数的影响

高脂饲料喂养 18 周后,与对照组比较,模型组大鼠 Lee's 指数明显升高($P < 0.01$),说明造模成功。连续灌胃给药 2 个月后,与模型组比较,降糖消脂片大剂量组 Lee's 指数明显降低($P < 0.01$),中剂量组 Lee's 指数也有所降低($P < 0.05$)。见表 11。

2.8 降糖消脂片对肥胖大鼠血脂的影响 结果显示,高脂饲料喂养 18 周后,与对照组比较,模型组 TC、TG、LDL-C、VLDL-C 及 TC/HDL-C 均明显升高($P < 0.05 \sim 0.01$),说明造模成功。连续灌胃给药 2 个月后,与模型组比较,降糖消脂片大、中剂量组 TC 和 LDL-C 明显降低($P < 0.05$);TG 有下降的趋势;高剂量组 HDL-C 明显升高($P < 0.01$)、TC/HDL-C 明显降低($P < 0.05$);低剂量组 VLDL-C 有所降低($P < 0.05$)。见表 12。

2.9 降糖消脂片对肥胖大鼠 FFA 等指标的影响 模型组 FFA 明显高于对照组($P < 0.01$);与模型组比较,降糖消脂片各剂量组 FFA 明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 13。

表 13 降糖消脂片对肥胖大鼠 FFA 等指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	FFA($\mu\text{Eq/L}$)
对照组	686.00 ± 98.97
模型组	924.50 ± 198.02 ^{**}
二甲双胍组(0.3 g/kg)	559.25 ± 104.11 ^{△△}
辛伐他汀组(4 mg/kg)	666.75 ± 132.98 ^{△△}
降糖消脂片低剂量组(2 g/kg)	564.25 ± 85.22 ^{△△}
降糖消脂片中剂量组(4 g/kg)	532.63 ± 74.75 ^{△△}
降糖消脂片高剂量组(8 g/kg)	565.13 ± 76.74 ^{△△}

注:与对照组比较,^{**} $P < 0.01$;与模型组比较,^{△△} $P < 0.01$

2.10 降糖消脂片对肥胖大鼠肝脏的影响

2.10.1 肉眼观察 对照组肝脏呈鲜红色,边缘锐利,表面光滑;模型组肝脏体积明显增高,边缘变钝,呈土黄色,质软,切面有油腻感,呈典型脂肪肝外观。各给药组肝脏体积增大,表面呈浅黄色,油腻感略减轻。

2.10.2 形态学观察 对照组肝细胞索围绕中央静脉呈放射状排列,肝细胞形态如常,汇管区无异常。模型组肝细胞大片脂肪变性,变性方式以胞质内小脂滴为主,肝细胞重度肿胀;肝细胞大片萎缩、坏死,不见残余的正常肝细胞索;汇管区炎性反应细胞浸润。二甲双胍组肝细胞大片脂肪变性,受累面积较模型组减少,肝细胞中度肿胀;见少量残余正常肝细胞索,汇管区炎性反应细胞浸润。辛伐他汀组肝细胞脂肪变性,受累面积明显减少,肝细胞轻度肿胀;见多量残余正常肝细胞索,汇管区少量炎性反应细

胞浸润。降糖消脂片高剂量组肝细胞轻度脂肪变性,受累面积明显减少,肝细胞轻度肿胀,见多量残余正常肝细胞索,汇管区炎性反应细胞浸润。降糖消脂片中、低剂量组肝细胞中度脂肪变性,受累面积略减少,肝细胞中度肿胀,汇管区炎性反应细胞浸润。见图 1。

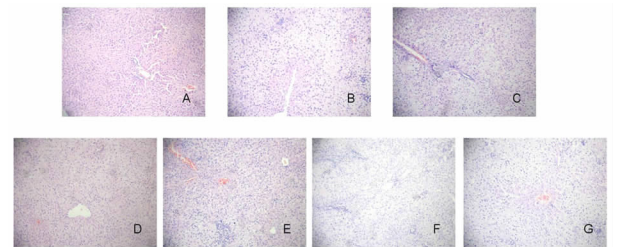


图 1 给药 8 周各组肥胖大鼠肝脏镜下照片 (HE 染色, ×100)

注: A 对照组; B 模型组; C 二甲双胍 0.3 g/kg 组; D 辛伐他汀 4 mg/kg 组; E 降糖消脂片 8 g/kg 组; F 降糖消脂片 4 g/kg 组; G 降糖消脂片 2 g/kg 组

2.10.3 肝脏脂肪变性分级 Ridit 分析结果显示,降糖消脂片各剂量组与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05 \sim 0.01$), 肝脏脂肪变性有明显改善。见表 14。

表 14 降糖消脂片对肥胖大鼠肝脏脂肪变性程度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)						
组别	剂量	正常	轻度	中度	重度	平均 ridit 值
对照组	—	10	0	0	0	0.9286
模型组	—	0	0	3	7	0.1936**
二甲双胍组	0.3 g/kg	0	3	6	1	0.4957 $\Delta\Delta$
辛伐他汀组	4 mg/kg	0	3	7	0	0.5293 $\Delta\Delta$
降糖消脂片组	2 g/kg	0	2	6	2	0.4286 $\Delta\Delta$
降糖消脂片组	4 g/kg	0	1	6	3	0.3614 Δ
降糖消脂片组	8 g/kg	0	4	6	0	0.5629 $\Delta\Delta$

注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.11 降糖消脂片对肥胖大鼠脂肪的影响

2.11.1 形态学观察 对照组脂肪细胞大小均一,排列匀称,未见新生脂肪细胞及间质炎性改变。模型组脂肪囊泡大小不等,新生脂肪细胞可见,细胞较小,核圆居中,胞质内见小脂滴。脂肪间血管轻度扩张、充血,少量炎性反应细胞浸润。二甲双胍组脂肪囊泡大小不等表现减轻,少量新生脂肪细胞,间质少量炎性反应表现。辛伐他汀组脂肪囊泡大小不等表现减轻,见少量新生脂肪细胞,间质少量炎性反应表现。降糖消脂片大剂量组脂肪囊泡大小不等表现减轻,见少量新生脂肪细胞,间质轻度炎性反应表现。降糖消脂片中、小剂量组脂肪囊泡大小不等表现减轻,见不等量新生脂肪细胞,间质少量炎性反应表

现。见图 2。

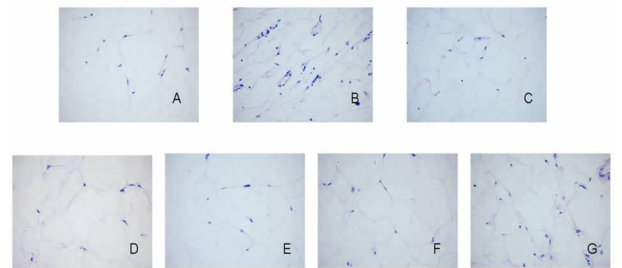


图 2 给药 8 周各组肥胖大鼠脂肪镜下照片 (HE 染色, ×400)

注: A 对照组; B 模型组; C 二甲双胍 0.3 g/kg 组; D 辛伐他汀 4 mg/kg 组; E 降糖消脂片 8 g/kg 组; F 降糖消脂片 4 g/kg 组; G 降糖消脂片 2 g/kg 组

2.11.2 脂肪细胞计数 计数每个高倍视野中脂肪细胞数,每组计 30 个高倍镜视野,取平均值。结果表明:与模型组比较,降糖消脂片各剂量组脂肪细胞数目明显减少 ($P < 0.05$)。见表 15。

表 15 降糖消脂片对肥胖大鼠脂肪细胞数目的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)	
组别	脂肪细胞计数
对照组	12.17 $\pm$ 2.87
模型组	14.70 $\pm$ 2.35**
二甲双胍组 (0.3 g/kg)	12.57 $\pm$ 2.47 $\Delta\Delta$
辛伐他汀组 (4 mg/kg)	12.77 $\pm$ 2.71 $\Delta\Delta$
降糖消脂片低剂量组 (2 g/kg)	13.57 $\pm$ 1.92 Δ
降糖消脂片中剂量组 (4 g/kg)	13.07 $\pm$ 2.53 Δ
降糖消脂片高剂量组 (8 g/kg)	13.33 $\pm$ 2.67 Δ

注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$, 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

肥胖和超重是心血管病、糖尿病、慢性肾病、多种癌症和一系列骨骼肌肉病的风险因素,这一点已经被大量流行病学研究结果证实。肥胖症在全球范围内持续增长,1980—2013 年成人肥胖率增加了 28%,儿童肥胖率增加达 47%,目前约 2.1 亿人口为超重和肥胖^[6]。我国肥胖症也逐年增多,研究显示我国成年男子腹型肥胖率达 35.3%,女性腹型肥胖率则高达 51.7%^[7]。因而,如何有效防治肥胖及其并发症已成为一个严重的公共健康问题^[8]。

肥胖症属于中医学“痰证”“水肿”“虚劳”等范畴,现代学者将肥胖症的常见中医证型分为痰湿内盛证、脾虚湿胜证、脾肾阳虚证和胃热滞脾证,茯苓、白术、泽泻、大黄、山楂、黄芪、甘草等为治疗肥胖症的最常用中药^[9-10]。降糖消脂片是魏子孝教授基于对 2 型糖尿病的中医病机认识,结合个人临床体会,汲取中药药理研究的成果,拟订用于治疗 2 型糖尿

病的中药复方。前期的临床研究结果显示,除了具有明显的降糖效果之外,还可以显著降低糖尿病患者的体质量及体质量指数^[3]。肥胖与 2 型糖尿病常常共同发生,肥胖可引起胰岛素抵抗和慢性炎症反应状态,胰岛素抵抗会导致 2 型糖尿病的发生,肥胖常常是糖尿病前期的常见症状^[11]。本研究观察了降糖消脂片对肥胖大鼠体质量及脂质代谢的调节作用。

世界卫生组织(WHO)对成人做出的超重和肥胖定义如下:身体质量指数等于或大于 25 时为超重,身体质量指数等于或大于 30 时为肥胖^[12]。然而,WHO 制定的评价肥胖的指标只适用于衡量人的肥胖程度,对大鼠不适用,故本研究采用 Lee's 指数来衡量大鼠的肥胖程度。高脂饲料配方各不相同,含胆盐的高脂饲料可促进大鼠有效吸收胆固醇与脂肪。由于饲料中脂肪含量高,较油腻,导致大鼠进食量减少,但其体质量明显增加,出现明显的肥胖^[13]。此时发生的代谢紊乱主要体现在脂代谢上,表现为血中 FFA、TC、TG、LDL-C 升高,HDL-C 降低。肝脏是脂质和脂肪酸代谢的重要部位,其合成、分解和代谢在严密调控系统调节下保持相对平衡,当某些因素使调控系统受损,肝脏的脂质及脂肪酸过多,则脂肪沉积在肝脏,发生脂肪肝^[14-16]。

肥胖大鼠灌胃给药 2 个月后,降糖消脂片高、中剂量组的体质量明显降低,肥胖症状明显减轻, Lee's 指数和 TC、LDL 明显降低,TG 有下降的趋势;高剂量组 HDL 明显升高;降糖消脂片各剂量组 FFA 明显降低,肝脏指数有降低的趋势。病理结果显示:降糖消脂片各剂量组的肝脏及脂肪组织的病理变化与模型组比较,有不同程度的减轻;肝脏脂肪变性分级结果显示:降糖消脂片各剂量组肝脏脂肪变性有明显改善。过多的脂肪组织释放较多的 FFA,并参与 IR 的发生。本实验中模型组 FFA 明显高于对照组,而降糖消脂片各剂量组 FFA 比模型组明显降低,差异极其显著。因此,分析降糖消脂片的降脂机制有可能是通过降低 FFA,而改善脂代谢紊乱。

综上所述,降糖消脂片对肥胖大鼠有明显减重、降脂、改善肝脏脂肪变性的作用,其机制可能与降低 FFA,改善脂代谢紊乱有关。该研究为后期降糖消脂片治疗肥胖症的相关研究打下基础。

参考文献

- [1] Seidell JC, Halberstadt J. The global burden of obesity and the challenges of prevention[J]. *Ann Nutr Metab*, 2015, 66 Suppl 2:7-12.
- [2] Valenza M, Steardo L, Cottone P, et al. Diet-induced obesity and diet-resistant rats: differences in the rewarding and anorectic effects of D-amphetamine[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2015, 232 (17): 3215-3226.
- [3] 陈筑红, 夏城东. 降糖消脂胶囊与吡格列酮片治疗 2 型糖尿病气阴两虚、痰瘀互阻证的非劣效性试验[J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(9): 1042-1046.
- [4] 葛争艳, 金龙, 杨斌, 等. 降糖消脂片对 KK-A^y 转基因小鼠胰岛素抵抗的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(3): 331-337.
- [5] Cluny NL, Eller LK, Keenan CM, et al. Interactive effects of oligofructose and obesity predisposition on gut hormones and microbiota in diet-induced obese rats[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2015, 23(4): 769-778.
- [6] Smith KB, Smith MS. Obesity Statistics[J]. *Prim Care*, 2016, 43(1): 121-135, ix.
- [7] Du P, Wang HJ, Zhang B, et al. Prevalence of abdominal obesity among Chinese adults in 2011[J]. *J Epidemiol*, 2017, 27(6): 282-286.
- [8] Srivastava G, Apovian CM. Current pharmacotherapy for obesity[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(1): 12-24.
- [9] 江明洁, 林海雄, 王晓彤, 等. 中医治疗肥胖症综述[J]. *河南中医*, 2017, 37(2): 370-372.
- [10] 曾慧妍, 肖颖馥, 张锦明, 等. 基于中医辅助传承系统的中医药治疗单纯性肥胖方剂组方规律分析[J]. *广州中医药大学学报*, 2017, 34(4): 612-616.
- [11] 邹大进, 张征. 肥胖与 2 型糖尿病的治疗新靶点: 脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白的抑制研究方兴未艾[J]. *中华糖尿病杂志*, 2016, 8(2): 65-67.
- [12] Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(1): 13-27.
- [13] Marques C, Meireles M, Norberto S, et al. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat[J]. *Adipocyte*, 2016, 5(1): 11-21.
- [14] Sheridan DA, Aithal G, Alazawi W, et al. Care standards for non-alcoholic fatty liver disease in the United Kingdom 2016: a cross-sectional survey[J]. *Frontline Gastroenterol*, 2017, 8(4): 252-259.
- [15] Calzadilla BL, Adams LA. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): 774.
- [16] Reccia I, Kumar J, Akladios C, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A sign of systemic disease[J]. *Metabolism*, 2017, 72: 94-108.

(2017-12-20 收稿 责任编辑:王明)