

薏苡仁提取物调节大鼠非酒精性脂肪肝病游离脂肪酸的代谢作用机制

朱 凯, 陈 壮, 黄金龙, 王凯华

(广西中医药大学附属瑞康医院, 广西 南宁 530011)

摘要: **目的** 探讨薏苡仁提取物调节大鼠非酒精性脂肪肝病(NAFLD)游离脂肪酸的代谢作用机制。**方法** 选取成年大鼠 30 只制作 NAFLD 模型,随机分为模型组、高剂量组、低剂量组各 10 只,同时选取健康大鼠 10 只为对照组,对比 4 组大鼠代谢指标。**结果** 与对照组比较,模型组的 TC、FFA 上升,同时 ADP 下降($P<0.05$),治疗组 TC、FFA 明显低于模型组,同时 ADP 高于模型组($P<0.05$),不同剂量大鼠组间对比差异有统计学意义($P<0.05$);同正常组比较,模型组的 ALT 以及 AST 明显上升($P<0.05$),治疗组 ALT、AST 水平明显低于模型组($P<0.05$),高剂量组低于低剂量组大鼠($P<0.05$);模型组 AMPK 活性降低,同时 FAS、ACCa-se 等表达明显上升($P<0.05$),治疗组 AMPK 活性上升,同时 FAS、ACCa-se 等表达明显下降($P<0.05$),不同剂量大鼠组间对比差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 薏苡仁提取物能有效提高 NAFLD 大鼠脂联素水平,诱发下游的脂质代谢反应,从而改善游离脂肪酸的代谢。

关键词: 薏苡仁提取物; 大鼠; 非酒精性脂肪肝病; 游离脂肪酸; 代谢

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2018)01-0016-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2018.01.004

Effect of Coix Extract on the Metabolism of NAFLD Free Fatty Acid in Rats

ZHU Kai, CHEN Zhuang, HUANG Jinlong, WANG Kaihua

(Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530011, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the metabolic mechanism of the extract of Coix seed to regulate free fatty acid (fats) of NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease) in rats. **Methods** 30 adult rats were selected to make NAFLD models. They were randomly divided into model group, high-dose group and low dose group with 10 rats in each group. Meanwhile, 10 healthy rats were selected as control group, and the metabolic indexes of four groups were compared. **Results** Compared with control group rats, the rats in the model group TC, FFA increased and ADP decreased ($P<0.05$), the rats in the treatment group TC, FFA and ADP was significantly lower than that of model group was higher than in the model group ($P<0.05$), different doses of rats to form comparison have significant difference($P<0.05$); compared with normal rats, the rats in the model group significantly increased ALT and AST($P<0.05$), the treatment of ALT and AST levels in rats was significantly lower than that of model group ($P<0.05$), the high dose group rats were significantly lower than that of low dose group rats ($P<0.05$); AMPK activity model rats were lower and FAS, ACCa-se expression increased significantly ($P<0.05$), the treatment group rats increased AMPK activity and FAS, ACCa-se expression decreased significantly ($P<0.05$), different doses of rats to form comparison have significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** The extract of Coix seed can effectively improve the level of adiponectin in NAFLD rats and induce the lipid metabolic reaction in the lower reaches, thus improving the metabolism of free fatty acids.

KEY WORDS: Coix extract; rats; nonalcoholic fatty liver disease(NAFLD); free fatty acid; metabolism

非酒精性脂肪肝病(NAFLD)是除了酒精因素以及其他肝损伤因素诱发的肝脏损伤,患者的临床特征主要是肝细胞出现大泡性脂肪病变,肝细胞的脂性调

亡可以说是该病患者最为典型的病理特征^[1]。随着研究深入,医务人员发现 NAFLD 是导致无症状患者转氨酶水平上升的重要影响因素,患者呈现低龄化趋

收稿日期: 2018-01-23

作者简介: 朱凯(1977-),男,硕士,主治医师,从事中医内科工作。

势。为此需分析 NAFLD 发生机制,采取针对性防止措施^[2]。薏苡仁调节大鼠生理的作用主要体现在调节脾胃蠕动,从而发挥利湿健脾的干预效果,对于血液指标的影响并不显著,不过最新的化学试剂制作的大鼠 NAFLD 模型同这样情况并不相符。高脂饲料是制作非酒精性脂肪性肝大鼠模型的常用途径,病理机制同人体比较接近^[3]。本研究利用高脂饲料制作大鼠 NAFLD 模型,在此基础上分析薏苡仁提取物对于大鼠模型游离脂肪酸代谢产生的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取成年雄性大鼠 30 只制作 NAFLD 模型,体质量 (200±10)g,动物许可证号:SCXK(豫)2012-0003。随机分为模型组、高剂量组、低剂量组各 10 只,同时选取健康大鼠 10 只为对照组,对比 4 组大鼠代谢指标。使用我院自制薏苡仁提取物。

1.2 方法

1.2.1 制作薏苡仁提取物 称取薏苡仁 500 g,5 倍量水反复煎煮 2 次,每次持续 30 min,煎煮液经过合并以及过滤之后,减压干燥后得到薏苡仁提取物。给药之前将薏苡仁提取物使用 0.5%的 CMC-Na 溶液制作成为浓度为 2 g/mL 的混悬液。

1.2.2 制作动物模型 将大鼠随机分成 4 组,分别为对照组、模型组、高剂量组、低剂量组,每组各 10 只大鼠。持续饲养 7 d 之后,对照组大鼠应用普通饲料,其余大鼠使用高脂饲料,第 4-8 天进行药物干预,每天称重大鼠,根据体质量确定给药量。正常组以及模型组大鼠应用 0.5% CMC-Na 溶液根据 0.02 mL/g 进行灌胃。药物剂量应用体表面积以及等效剂量的 1 倍(低剂量)以及 60 倍(高剂量)进行计算。

1.2.3 采集标本 第 8 周实验结束后进行大鼠称重,最后给药之后禁食不禁水,8 h 后在麻醉条件下取血,低温条件下持续离心 10 min,检测血清指标。分离大鼠的肝组织以及脂肪组织,生理盐水反复冲洗之后应用滤纸擦干,称重之后进行指数计算。

1.3 观察指标

1.3.1 血清指标检测 血清当中的 TC、ALT、FFA 以及 AST 检测方面,严格按照说明进行操作,检测血清当中的 TC 水平、ALT 水平、FFA 水平以及 AST 水平,应用 ELISA 法检测血清当中的 ADP 水平^[4]。

1.3.2 肝组织指标检测 MALONYL-CoA、FAS 以及 ACCa-se 检测方面,取肝组织 1 g,分别添加 2 mL 的生理盐水并放置到冰水当中,匀浆之后持续离心 20 min,取上清液并检测指标,应用 ELISA 法检测并严格根据说明进行操作^[5]。

1.3.3 AMPK 活性检测 采用 WesternBlot 法检测大鼠肝脏组织的 AMPK 活性水平。应用含有 1% PMSF(苯甲基磺酰氟)溶液裂解液进行组织裂解,持续离心 10 min 之后取上清液,使用 BCA 法进行蛋白水平的检测,添加缓冲液之后加热到 100 ℃,并维持 20 min,凝胶电泳之后孵育,使用凝胶成像系统完成显影^[6]。

1.4 统计学方法 数据计算应用 SPSS20.0 软件进行,计数资料进行 χ^2 检验,计量资料进行 F 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠脂质代谢指标对比 与对照组比较,模型组的 TC、FFA 上升同时 ADP 下降 ($P<0.05$),治疗组 TC、FFA 显著低于模型组,同时 ADP 高于模型组 ($P<0.05$),不同剂量大鼠组间对比有差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠脂质代谢指标对比($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量	TC /(mmol·g ⁻¹)	FFA /(μmol·g ⁻¹)	ADP /(μg·mL ⁻¹)
正常组	10	-	6.72±2.19	69.23±4.28	25.49±1.86
模型组	10	-	18.89±3.96	215.36±6.24	11.93±1.52
高剂量组	10	20 g/kg	7.39±0.85	95.53±1.62	25.41±3.62
低剂量组	10	5 g/kg	13.12±0.75	108.91±2.12	18.46±0.91
F			8.743	26.271	17.851
P			0.000	0.000	0.000

2.2 各种大鼠肝功能指标对比 同正常组比较,模型组的 ALT 以及 AST 明显上升 ($P<0.05$),治疗组 ALT、AST 水平明显低于模型组 ($P<0.05$),高剂量组明显低于低剂量组 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各种大鼠肝功能指标对比($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
正常组	10	-	25.82±1.18	26.83±4.63
模型组	10	-	78.54±5.31	108.12±5.62
高剂量组	10	20 g/kg	33.12±2.19	40.64±5.81
低剂量组	10	5 g/kg	45.29±1.53	39.32±5.16
F			31.865	35.303
P			0.000	0.000

2.3 各组大鼠 FFA 代谢对比 模型组 AMPK 活性降低,同时 FAS、ACCa-se 等表达明显上升($P<0.05$),治疗组 AMPK 活性上升,同时 FAS、ACCa-se 等表达

明显下降($P<0.05$),不同剂量大鼠组间对比差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠 FFA 代谢对比($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量	AMPK/(IU·g ⁻¹)	FAS/(nmol·L ⁻¹)	ACCa-se/(nmol·L ⁻¹)	MALONYL-CoA/(nmol·L ⁻¹)
正常组	10	—	2.31±0.65	6.81±0.82	4.43±0.52	0.48±0.23
模型组	10	—	0.69±0.22	15.32±0.32	15.92±1.33	3.18±0.08
高剂量组	10	20 g/kg	1.81±0.04	8.38±1.05	9.51±0.64	1.66±0.09
低剂量组	10	5 g/kg	1.01±0.04	11.84±0.95	11.62±1.35	3.31±0.85
<i>F</i>			7.465	30.573	25.444	10.163
<i>P</i>			0.000	0.000	0.000	0.000

3 讨论

薏苡仁最早在《神农本草经》中作为药材记载,能发挥清热排脓、止泻除痹、健脾渗湿等效果^[7]。上世纪九十年代,研究人员提取薏苡仁油,并应用于肝癌、肺癌的治疗,并且逐渐扩展到头颈部肿瘤、白血病等治疗^[8]。近年来,薏苡仁成为代谢综合征预防以及治疗的重要保健食品。研究提示,薏苡仁对于高血脂动物模型以及高血糖动物模型,都能够发挥降脂降糖以及减肥效果,同时可以抑制高血脂以及高血糖诱发的并发症,有效减轻动物模型的动脉粥样硬化症状、氧化应激反应以及脑缺血问题^[9]。薏苡仁提取物能够借助于强化葡萄糖激酶的活性水平,提高葡萄糖利用程度,从而抑制糖代谢紊乱问题以及胰岛素抵抗症状,同时借助于抗氧化效果来保护动物的β细胞,避免β细胞遭受自由基破坏,从而提高糖尿病动物模型的免疫功能^[10]。薏苡仁含有的羟基脂肪酸借助于刺激PPARs,能够强化糖代谢以及脂代谢。薏苡仁中的多酚化合物一方面能够发挥降血脂功能,另一方面又可以激活Nrf2/ARE保护基因,抑制氧化应激从而保护细胞^[11]。薏苡仁因此成为临床上高血脂、糖尿病以及代谢综合征防止的重要保健食品。因薏苡仁的营养较为丰富,同时含有较多热能,在进食薏苡仁的时候,需要相应地控制其他食品成分的摄入,从而合理平衡膳食,发挥理想的治疗效果^[12]。

中医学认为NAFLD的发展同瘀血蕴结以及肝脾不和等因素有关,气机郁滞导致血行不畅,从而发展成为脂肪肝^[13]。薏苡仁能补益脾土,渗湿利水,散结除痹,在临床治疗NAFLD组方中均含有薏苡仁成分^[14]。在NAFLD患者的治疗方面,往往综合应用调脂措

施、护肝降酶措施、抗氧化措施以及改善胰岛素抵抗的措施,不过药物的治疗效果往往不够理想,同时部分患者表现出程度不同的不良反应^[15]。中医药治疗已成为NAFLD临床治疗的重要措施,药理学研究提示,薏苡仁提取物可以刺激过氧化物酶体受体(PPARs),从而调控大鼠丘脑当中的神经肽Y受体mRNA表达,影响到神经分泌活性程度,通过这一途径发挥降低血脂的效果^[16]。薏苡仁能够增强胰岛素抵抗,从而简介影响脂肪因子表达以及胰岛素抵抗,从而通过多种不同的作用机制来减轻脂肪肝病损,有效缓解患者的肝脏炎症症状^[17]。

本研究中,与对照组比较,模型组的TC、FFA上升同时ADP下降($P<0.05$),治疗组TC、FFA明显低于模型组,同时ADP高于模型组($P<0.05$),不同剂量大鼠组间对比有明显差异($P<0.05$)。FFA是非酯化的脂肪酸之一,是分解中性脂肪热量以及物质最为关键的来源,FFA的水平高低能够发挥双向调节作用。在生理状态健康的条件下,FFA能够作为身体临时的能量来源,也就是在肌肉活动过程当中能量消耗殆尽的时候,脂肪组织能够分解脂肪转化成为FFA从而提供能量供应^[18]。在病理条件下,人体当中的FFA水平显著上升,有细胞毒性以及组织毒性。研究认为FFA属于人体当中脂类代谢以及糖类代谢必不可少的连接点,能够传导胰岛素受体信号,FFA能够影响到葡萄糖水平的转运,因此FFA是诱发胰岛素抵抗最为常见的物质之一。脂联素是人体当中apM1编码的一种特异性因子,也称脂肪补体蛋白(Acrp30),具有抑制胰岛素抵抗、加速糖脂代谢以及抑制动脉粥样硬化等功能^[19]。脂联素在同受体实现结合之后,可以持续

激活 AMPK, 改变下游分子的活性水平, 在此过程当中降低 ACCase 活性, 加速脂肪酸氧化进程, 通过这一机制调控 FFA 水平, 最终抑制肝脏当中脂肪的持续沉积构建脂质代谢的通路^[20]。

模型组 AMPK 活性降低同时 FAS、ACCa-se 等表达明显上升 ($P<0.05$), 治疗组 AMPK 活性上升同时 FAS、ACCa-se 等表达明显下降 ($P<0.05$), 不同剂量组间对比有明显差异 ($P<0.05$)。这提示薏苡仁提取物能够调节游离脂肪酸代谢, 并且药物干预能够使得 FFA 浓度伴随着 ADP 水平的上升而降低, 并且 TC、ALT 以及 AST 指标也降低明显。在 ALT 以及 AST 指标的调解过程当中, 有着显著的量效依赖关系, 同时高剂量组以及低剂量组对比存在明显区别 ($P<0.05$)。这是因为 FFA 降低导致 FFA 代谢轴出现相应的反应, ADP 水平上升从而激活 AMPK, 改变信号分子从而影响脂肪代谢。

综上所述, 薏苡仁提取物能够有效提高 NAFLD 大鼠脂联素水平, 诱发下游的脂质代谢反应, 从而改善游离脂肪酸的代谢。

参考文献:

- [1] 汪付田, 靳子明, 郭敏. 薏苡仁油-羟丙基- β -环糊精包合物制备工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(10): 56-57.
- [2] 武皓, 巩丽丽, 杨勇, 等. 薏苡仁水溶性蛋白提取工艺的优化[J]. 中药材, 2015, 38(2): 376-380.
- [3] KWAK M S, YIM J Y, KIM D, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with coronary artery calcium score in diabetes patients with higher HbA1c [J]. Diabetesology Metabolic Syndrome, 2015, 7: 28.
- [4] 陈立震, 姜曼, 辛永宁, 等. 甘油三酯在成纤维细胞生长因子-21 减轻非酒精性脂肪性肝病中的作用及其机制[J]. 中华肝脏病杂志, 2016, 24(2): 102-107.
- [5] 张洋婷, 马洪波, 宋春梅, 等. 薏苡仁多糖的提取及其对油脂的抗氧化作用研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(18): 58-61.
- [6] MAXIMOS M, BRIL F, PORTILLO S P, et al. The role of liver fat and insulin resistance as determinants of plasma aminotransferase elevation in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2015, 61(1): 153-160.
- [7] WATANABE S, HASHIMOTO E, IKEJIMA K, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis [J]. Journal of Gastroenterology, 2015, 50(4): 364-377.
- [8] 商红叶, 杨茂, 郭卉. 薏苡仁三酰甘油联合化疗栓塞对晚期肝癌患者免疫功能的影响[J]. 介入放射学杂志, 2015(9): 807-810.
- [9] 黄庆德, 郑利, 陈丹, 等. 薏苡仁油纳米粒大鼠体内生物利用度及药动学研究[J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(1): 40-45.
- [10] 陈杰, 张晶, 何秋水. Toll 样受体在非酒精性脂肪性肝病发生发展中的作用 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(7): 1153-1155.
- [11] 杜倩, 万茶艳, 程存归. 薏苡仁及其伪品衰减全反射傅里叶变换红外光谱及傅里叶自去卷积的鉴别 [J]. 医药导报, 2015, 34(1): 104-107.
- [12] 韩晓春, 季旭明, 张亚楠, 等. 薏苡仁不同组分对脾虚水湿不化大鼠空肠基底膜相关基因的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(6): 466-469.
- [13] PORTILLO-SANCHEZ P, BRIL F, MAXIMOS M, et al. High prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus and normal plasma aminotransferase levels [J]. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2015, 100(6): 2231-2238.
- [14] 郭梦斐, 瞿鼎, 王理想, 等. 转铁蛋白/叶酸双重修饰的薏苡仁油-雷公藤红素微乳制备及其体外靶向抗肿瘤研究[J]. 中草药, 2017, 48(9): 1748-1756.
- [15] 汤坚, 凌芳. 二甲双胍对大鼠非酒精性脂肪性肝炎的防治作用[J]. 中国药房, 2008, 19(13): 987-989.
- [16] 林磊, 朱建宇. 薏苡仁主治效用探析 [J]. 上海中医药杂志, 2016(5): 63-64.
- [17] YOUNOSSI Z M, OTGONSUREN M, HENRY L, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009 [J]. Hepatology, 2015, 62(6): 1723-1730.
- [18] 马小庭, 黄锁义. 薏苡仁抗氧化活性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(7): 188-191.
- [19] 田洪星, 郑晓霞, 徐剑. 薏苡仁多糖提取工艺的研究进展 [J]. 贵州农业科学, 2017(2): 154-157.
- [20] 韩晓春, 季旭明, 王彦芳, 等. 薏苡仁不同组分干预脾虚水湿不化大鼠细胞间隙基因变化 [J]. 中华中医药杂志, 2016(5): 1955-1958.