

茴香提取液对糖尿病大鼠早期肝损害的保护作用

黄丽娟¹, 方晓燕², 何显教¹, 黄彦峰¹, 晋玲^{1*}, 阳秀英¹, 黎昀¹

(1. 右江民族医学院应用生理研究室, 广西百色 533000;
2. 右江民族医学院形态学实验室, 广西百色 533000)

[摘要] 目的: 观察茴香提取液对糖尿病大鼠早期肝损害的保护作用。方法: 采用链脲佐菌素(STZ)诱导大鼠糖尿病模型。将造模成功后的大鼠按血糖值随机分为模型组、二甲双胍组(0.15 g·kg⁻¹)、茴香低剂组(1.5 g·kg⁻¹)和茴香高剂组(3.0 g·kg⁻¹), 另取10只为正常对照组。模型组和对照组灌等体积的生理盐水, 其他各组按相应药物剂量每天灌胃1次, 共14 d。于末次给药2 h后, 各鼠采血测空腹血糖值(FBG)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)的含量和超氧化物歧化酶(SOD)活力。取肝脏切片, 做HE染色, 观察肝脏组织形态学的改变。结果: 与正常组比较, 模型组显著升高FBG、MDA、AST、ALT水平, ($P < 0.05, 0.01$), 降低SOD活性($P < 0.01$), 肝组织结构不清, 肝细胞溶解坏死明显; 与模型组比较, 茴香治疗组(高剂组、低剂组)显著增高血清中SOD活性($P < 0.01$), 降低MDA、ALT、AST和FBG水平($P < 0.01$), 明显改善肝组织结构, 肝细胞坏死数量少, 肝细胞再生明显, 高剂组改善更为明显。结论: 茴香对糖尿病大鼠早期肝损害有一定的保护作用。

[关键词] 糖尿病大鼠; 茴香; 肝脏损害

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0181-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014070181

[收稿日期] 20130625(028)

[基金项目] 广西自然科学基金项目(桂科自0728245)

[第一作者] 黄丽娟, 讲师, 从事中草药药效学研究, Tel: 0776-2849485, E-mail: huanglj36@163.com

[通讯作者] * 晋玲, 高级实验师, 从事中草药药效学研究, Tel: 0776-2849485, E-mail: jinl0523@163.com

和IL-6的水平, 这提示决明子可能通过其抗炎作用, 发挥其在抗动脉粥样硬化和冠心病预防中的作用。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 135.
- [2] 古娜尔, 哈山. 决明子治疗高血脂症的临床观察[J]. 中国民间疗法, 2009, 17(11): 27.
- [3] 马路, 江梦溪, 刘剑刚, 等. 决明子和山楂组分配伍对兔肝细胞膜高密度脂蛋白受体活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 24.
- [4] 潘正军, 陆祈, 潘丽, 等. 决明子水提液对高血压小鼠血压血脂及肾脏结构的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 195.
- [5] 姜岩. 中药血脂康治疗高血脂症疗效分析[J]. 首都医药, 2002, 12: 55.
- [6] Hansson G K, Libby P, Schonbeck U, et al. Innate and adaptive immunity in pathogenesis of atherosclerosis [J]. Circ Res, 2002, 91(4): 281.
- [7] Binder C J, Hartvigsen K, Chang M K, et al. IL-5

links adaptive and natural immunity specific for epitopes of oxidized LDL and protects from atherosclerosis [J]. J Clin Invest, 2004, 114(3): 427.

- [8] Ridker P M, Rifai N, Stamper M J, et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men [J]. Circulation, 2000, 101(15): 1767.
- [9] Amar J, Fauvel J, Drouet L, et al. Interleukin 6 is associated with subclinical atherosclerosis: a link with soluble intercellular adhesion molecule 1 [J]. J Hypertens, 2006, 24(6): 1083.
- [10] 阎国辉, 张洋, 智光, 等. 高血脂小鼠Th1/Th2细胞因子的检测及相关性分析[J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(4): 293.
- [11] 焦宏, 马建伟, 陈彦静, 等. 桂枝汤对高血脂症心肌缺血大鼠炎症细胞因子的影响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(11): 1634.
- [12] 杨牧祥, 马全庆, 田元祥, 等. 脂调康胶囊对高血脂症大鼠血清IL-6的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(9): 12.

[责任编辑 聂淑琴]

Protective Effect of *Foeniculum vulgare* Extract on Hepatic Injury of Early Stage in Diabetic Rats

HUANG Li-juan¹, FANG Xiao-yan², HE Xian-jiao¹, HANG Yan-feng¹, JIN Ling^{1*}, YANG Xiu-ying¹, LI Yun¹

(1. Department of Application Physiological Laboratory, Youjiang Medical College For Nationalities, Baise 533000, China; 2. Partment of Application Morphological Laboratory, Guangxi Youjiang Medical College For Nationalities, Baise 533000, China)

[Abstract] Objective: To observe the protective effect of *Foeniculum vulgare* extract on hepatic injury of early stage in diabetic rats. **Method:** The rat diabetes model was induced by streptozotocin (STZ). Diabetic rats based on blood glucose values were randomly divided into model group, metformin group (0.15 g·kg⁻¹), low (1.5 g·kg⁻¹) and high (3.0 g·kg⁻¹) -doses of *F. vulgare* groups, and 10 rats were choose as normal group. All groups were perfused once a day for 14 days, the normal control group and model group were intragastrically given the same amount of saline. Two hours after last administration, fasting blood glucose (FBG), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), malondialdehyde (MDA) contents and superoxide dismutase (SOD) activity for all rats were measured. The morphological changes of liver tissue by routine HE staining were observed. **Result:** Compared with normal group, the levels of MDA contents, ALT, AST and FBG were increased significantly in the model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the levels of serum SOD activity were decreased significantly ($P < 0.01$). The liver tissue structure was not clear and necrotic cells were obvious. Compared with model group, the levels of serum SOD activity were increased significantly ($P < 0.01$) in high and low-doses of *F. vulgare* groups, the MDA contents, ALT, AST and FBG levels were decreased significantly ($P < 0.01$). The liver tissue structure was improved obviously, the number of necrotic cells was less, the regeneration of liver cells was obvious, in the higher dose group which was improved more obviously. **Conclusion:** *F. vulgare* has a protective effect on liver injury of early stage in diabetic rats.

[Key words] diabetic rats; *Foeniculum vulgare*; hepatic injury

糖尿病肝损害是一种严重影响糖尿病患者身心健康的常见并发症之一,主要表现为脂肪肝、脂肪性肝炎,非特异性肝功能损伤,肝硬化等^[1-3]。据相关文献报道,糖尿病肝损害的发生率为 20% ~ 30%^[4]。所以,积极探索和努力寻找防治糖尿病肝损伤的治疗方法和药物,已经成为目前医学界亟待解决的重大课题。近年来的实验研究表明,一些中草药在防治糖尿病的同时也有护肝作用^[5-6]。伞型科植物茴香(*Foeniculu vulgare* Mill)是我国传统中药,味甘辛,性温,含有挥发油、脂肪油、有机酸、甾醇及糖苷、黄酮、氨基酸等多种类型的化合物^[7-8],其民间用途也多种多样,有些作为一种治疗肝病的药物使用;实验研究表明,小茴香(成熟果实)具有抗肝纤维化、对急性肝毒性有保护作用^[9-10]。笔者课题组前期研究发现生草本茴香(茎叶部分)有降血糖作用。本研究旨在探讨茴香(茎叶部分)提取液对链脲佐菌素所致糖尿病大鼠早期肝脏损伤是否具

有保护作用,为茴香的药用价值开发利用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级(SPF)雄性 SD 大鼠 50 只,体重(200 ± 20) g,广西医科大学实验动物中心提供,动物生产许可证号 SCXK(桂)2009-0002。

1.2 药品和试剂 茴香 *Foeniculu vulgare* Mill,广西省百色市市售,经广西右江民族医学院民族医学覃道光教授鉴定为茴香的地上部分,晒干备用;二甲双胍片(北京四环制药有限公司生产,批号 20110119);链脲佐菌素(美国 Sigma 公司产品);超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(均为南京建成生物工程研究所,批号分别为 20110711,20110720)。

1.3 仪器 Motic BA400 数码显微镜(厦门麦克奥迪股份有限公司);Accu-Chek Active 型罗康全 TM 活力型血糖检测仪和测试纸(德国罗氏诊断有限公

司,试纸批号 23430631);755 型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);日立全自动生化分析仪(日立株式会社高新技术公司)。

2 方法

2.1 分组与造模方法 动物适应性饲养 1 周,造模前禁食不禁水 12 h,尾尖采血测定空腹血糖值(FBG)。将血糖值正常的 SD 大鼠随机分为正常对照组($n = 10$)和模型组($n = 40$)。模型组单次 ip $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 链脲佐菌素(STZ),正常对照组单次 ip 等体积柠檬酸缓冲液。注射 STZ 48 h 后测大鼠 FBG,以血糖值 $\geq 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 判断为成模标准。将成模后的 SD 大鼠按血糖值随机分为模型组、二甲双胍组($0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、茴香低剂组($1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和茴香高剂组($3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。各组按相应药物剂量每天灌胃 1 次,模型组和对照组灌等体积的生理盐水,共 14 d。

2.2 茴香水提液的提取^[11] 采用微波萃取技术进行提取,微波处理后,常温浸提 2 次,每次 30 min,合并 2 次滤液,抽滤后浓缩至含生药 $1.0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。冰箱冷藏,用时分别稀释为 $0.6, 0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 指标检测 于末次给药前禁食不禁水 12 h,末次给药 2 h 后,各鼠剪尾采血测 FBG,行腹主动脉采血,收集血液标本,一部分送右江民族医学院附属医院检验科检测大鼠血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST);一部分超速冷冻离心机分离血清,按说明书测定 SOD 活力,MDA 含量;取肝脏固

定、脱水、石蜡包埋、HE 染色,光镜观察肝脏病理组织学变化。

2.4 结果处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对糖尿病大鼠血糖的影响 给药 2 周后,茴香高、低剂量组均能显著降低糖尿病大鼠血糖的水平,与模型组比较,差异有显著性($P < 0.01$),茴香高剂量组降低血糖的效应与二甲双胍组相当。见表 1。

表 1 茴香提取液对糖尿病大鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血糖 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	
		实验前	实验后
正常	-	5.84 ± 0.92	5.04 ± 0.77
模型	-	$25.31 \pm 4.71^{1)}$	$22.89 \pm 5.63^{3)}$
二甲双胍	0.15	$24.88 \pm 4.78^{1)}$	$7.82 \pm 4.94^{5)}$
茴香	1.5	$24.91 \pm 3.9^{1)}$	$11.09 \pm 4.67^{3,5)}$
	3.0	$24.37 \pm 3.6^{1)}$	$8.67 \pm 6.07^{5)}$

注:与实验前正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与实验后正常组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$;与模型组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 对糖尿病大鼠 SOD,MDA,AST,ALT 的影响 模型组显著降低 SOD 活性,升高 MDA,AST,ALT 含量,与正常组比较,差异有显著性($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,茴香治疗组和阳性对照组均能显著升高 SOD 活性,降低 MDA,AST,ALT 水平,差异有显著性($P < 0.01$)。见表 2。

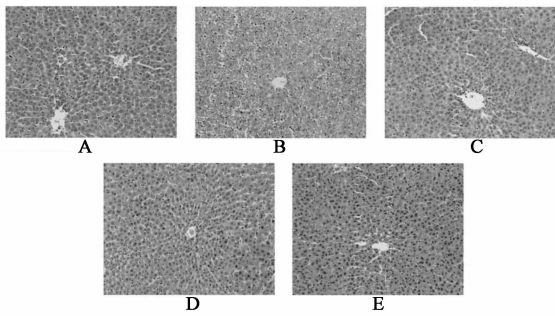
表 2 茴香提取液对糖尿病大鼠 SOD,MDA,AST,ALT 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD	MDA	ALT	AST
		$/\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$/\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	$/\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$
正常	-	162.6 ± 18.2	4.72 ± 1.24	46.0 ± 11.6	153.7 ± 17.6
模型	-	$119.5 \pm 17.7^{3)}$	$7.40 \pm 0.89^{2)}$	$170.0 \pm 8.7^{3)}$	$411.4 \pm 150.9^{3)}$
二甲双胍	0.15	$146.1 \pm 19.6^{2,5)}$	$6.29 \pm 0.86^{2,4)}$	$91.8 \pm 45.7^{2,5)}$	$235.7 \pm 82.2^{2,5)}$
茴香	1.5	$143.6 \pm 18.1^{2,5)}$	$6.11 \pm 0.87^{2,5)}$	$81.7 \pm 24.9^{5)}$	$209.3 \pm 53.4^{5)}$
	3.0	$154.4 \pm 16.8^{5)}$	$5.45 \pm 1.09^{5)}$	$79.3 \pm 24.1^{5)}$	$198.0 \pm 37.9^{5)}$

3.3 对肝脏组织学病理变化的影响 正常组肝组织结构清晰,无肝细胞变性、坏死;模型组肝组织结构不清,肝细胞弥漫水肿,胞浆疏松化,部分肝细胞胞浆空泡变性,肝细胞溶解坏死明显;与模型组比较,茴香治疗组肝组织结构、肝细胞溶解坏死数量等均有较大的改善,肝细胞再生明显,特别是茴香高剂量组改善最为显著,二甲双胍组肝细胞变性坏死较茴香低剂组多,肝细胞再生少。见图 1。

4 讨论

本实验通过链脲佐菌素诱导大鼠高血糖模型,经过两周的观察,大鼠血糖稳定、明显升高;模型组胰腺病理组织切片示胰岛细胞数量极少,细胞团基本缩小,排列紊乱,部分细胞出现萎缩、水肿(另文发表),说明糖尿病大鼠造模成功。模型组肝组织结构不清,肝细胞弥漫水肿,胞浆疏松化,部分肝细胞胞浆空泡变性,肝细胞溶解坏死明显,ALT,AST 均高于正常对照组。提示糖尿病大鼠出现明



A. 正常对照组; B. 模型组; C. 茴香 1.5 g·kg⁻¹组;
D. 茴香 3.0 g·kg⁻¹组; E. 二甲双胍 0.15 g·kg⁻¹组

图1 茴香对糖尿病大鼠肝脏病理改变的影响(HE染色, ×200)

显的肝损害。

糖尿病肝损害的产生是一个复杂的过程,目前多认为糖尿病存在胰岛素抵抗(IR),甘油三酯在肝脏蓄积沉着,肝细胞变性肿大形成脂肪肝^[1,3];基因表达异常、肝细胞氧化应激、线粒体结构和功能被破坏导致脂肪沉积、细胞凋亡、坏死等发生^[1,12-13];高血糖症,引起糖原在肝脏堆积及肝脏微血管病变,也造成肝功能损害^[14]。本实验结果显示,通过茴香治疗后,糖尿病大鼠FBG,ALT,AST显著降低,肝组织结构明显改善,变为清晰,肝细胞坏死数量减少,肝细胞再生明显,特别是高剂量组改善最为显著,说明茴香能减轻肝细胞水肿,抑制肝细胞变性坏死,促进肝细胞再生,对STZ诱导糖尿病大鼠肝损害具有一定的保护作用。模型组血清中的SOD活性明显降低,而MDA含量增高,说明糖尿病大鼠处于氧化应激状态;而茴香治疗组SOD高于模型组,MDA降低,与范强等^[10]研究的结果相一致,说明茴香对肝细胞的保护作用可能通过降低肝细胞中氧化脂质的含量,提高机体抗氧化酶的活性,促进自由基的清除,减轻自由基对肝细胞的损伤。另一方面,笔者研究发现,茴香能提高组织细胞对胰岛素的敏感性、改善组织细胞对胰岛素抵抗(IR)的反应^[11],说明茴香也通过改善胰岛素抵抗来降低糖尿病肝损害。同时,茴香组血糖明显降低,也说明茴香可能通过降低血糖间接对肝脏的保护作用。由此可见,茴香对糖尿病肝损害的保护机制可能通过改善胰岛素抵抗、减轻自由基对肝细胞的损伤以及降血糖等来发挥作用。除此之外,是否还有其他作用机制,仍有待于深入研究。二甲双胍降糖效应较茴香组好,但肝功能和肝脏组织结构的改善不如茴香治疗组。

本实验研究结果表明,茴香不仅有降糖作用,还有降低转氨酶、减轻肝细胞的变性坏死,抑制肝脏炎

症,增加肝细胞的再生能力等保肝降酶功效,对糖尿病早期肝损害有一定的保护作用。但是由于中药成分复杂,加上糖尿病肝损害的机制也复杂,其治疗的机制仍需做进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 吴悠,丛晓东,张云. 糖尿病肝损伤相关机制及中药干预[J]. 中国民族民间医药, 2011(21):16.
- [2] 刘丽丽,杨成. 中西医治疗糖尿病性肝损伤的研究进展[J]. 中医药临床杂志, 2011, 23(8):741.
- [3] 吴勇军,成细华,喻嵘,等. 左归降糖清脂方对2型糖尿病转基因MKR鼠脂肪肝发生的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):140.
- [4] 张莹,张代民,许会彬. 糖尿病患者肝功能的变化及其意义[J]. 临床军医杂志, 2005, 33(2):151.
- [5] 邢莎莎,陈超. 香椿子多酚对糖尿病大鼠早期肝损伤保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12):182.
- [6] 陈红,孙明杰,彭娟,等. 黄连解毒汤对糖尿病大鼠肝脏核因子- κ B、肿瘤坏死因子- α 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18):153.
- [7] 阴健. 中药现代研究与临床应用[M]. 北京:中医古籍出版社, 1997, 28(1):14.
- [8] 高莉. 小茴香化学成分的初步研究[D]. 乌鲁木齐:新疆大学, 2005:3.
- [9] 黄怡文,梅彩霞,金若敏,等. 小茴香、广木香抗川楝子急性肝毒性的实验研究[J]. 上海中医药杂志, 2012, 46(6):98.
- [10] 范强,佐合拉古丽·木塔力甫,阿地力江·伊明,等. 小茴香对大鼠肝纤维化及脂质过氧化的影响[J]. 新疆医科大学学报, 2011, 34(9):958.
- [11] 王彩冰,黄彦峰,黄丽娟,等. 茴香提取液对地塞米松诱导大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(3):224.
- [12] Cunard Robyn, Sharma Kumar. The endoplasmic reticulum stress response and diabetic kidney disease[J]. Am J Physiol Renal, 2011, 300(5):F1054.
- [13] Tokio Matsunami, Yukita Sato, Satomi Ariga, et al. Regulation of oxidative stress and inflammation by hepatic adiponectin receptor 2 in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2010, 3(5):472.
- [14] 柳占彪,李玉红,张少卓,等. 糖脂清对高脂血症家兔糖脂代谢及肝组织的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15):135.

[责任编辑 聂淑琴]