

高脂高铁对大鼠脂代谢及肝功能的影响

何宏星¹, 陈洁², 王成艳¹, 黄芳², 江进荣², 郑和平³

(1. 福建医科大学动物中心, 福州 350122;

2. 福建医科大学公共卫生学院, 福州 350122;

3. 南京军区福州总医院比较医学科, 福州 350025)

[摘要] 目的 验证高脂高铁对大鼠脂代谢及肝功能指标的影响。方法 大鼠分为正常组、高脂组、高铁组、高脂高铁组、高脂去铁组, 每组 24 只。分别自由摄取普通饲料和高脂饲料的同时, 高铁组、高脂高铁组大鼠隔日肌肉注射右旋糖酐铁 50 mg/kg; 高脂去铁组大鼠处死前一个月尾静脉注射甲磺酸去铁铵 30 mg/kg, 3 次/周; 分别于干预后 4 个月、5 个月、6 个月选取 8 只大鼠, 检测血清血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)含量。结果 与对照组比较, 干预后 4 个月、5 个月、6 个月, 高脂组、高脂高铁组、高脂去铁组的血清 TC、TG、LDL-C 水平均显著升高, HDL-C 水平降低(P 均 <0.05); 而高脂高铁组的 TC、TG、LDL-C、ALT(4 个月)、AST(5 个月)水平明显高于高脂饲料组; 与对照组比较高铁组 ALT、AST 水平显著升高; 与高脂组比较, 高脂高铁组 ALT(4 个月)、AST(5 个月)水平升高。结论 高铁负荷可加剧高脂摄食所致的脂代谢异常。

[关键词] 肝纤维化; 大鼠; 脂代谢; 肝功能

[中图分类号] Q95-33 [文献标识码] C [文章编号] 1674-5817(2018)05-0377-05

肝脏作为人体最主要的铁元素储存器官, 易受到铁过载的影响。肝脏铁过载(liver iron overload)会损伤肝细胞, 并最终导致肝纤维化、肝硬化, 甚至引发肝癌^[1-3]。而过量的脂肪摄入则可引起脂肪变性, 继而引发炎症和/或纤维化^[4,5]。高脂是否加速铁造成的肝脏损害, 而铁对脂代谢是否有影响。本研究希望通过给予高铁高脂饮食探讨其对大鼠脂代谢及肝功能的影响。

1 材料与方 法

1.1 主要实验试剂和设备

右旋糖酐铁注射液(iron dextran), 购自广西化

工研究院; 甲磺酸去铁铵(Deferoxamine Mesylate), 购自瑞士诺华制药公司; 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)检测试剂盒、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。电子天平(BS224s), 购自德国赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.2 实验动物及饲料

清洁级雄性 SD 大鼠 120 只, 体质量 200 ± 20 g, 福建医科大学实验动物中心提供[SCXK(闽)2012-0001], 饲养于 SPF 级屏障系统[SYXK(闽)2012-0001], 明暗 12 h/12 h。高脂饲料添加 20.0%蔗糖、15%猪油、1.2%胆固醇、0.2%胆酸钠(以上均为质量分数), 其余成分均符合饲料的国家标准。高脂饲料及正常饲料均委托江苏协同医药生物工程有限责任公司制作。

1.3 实验步骤

适应性喂养 3 d 后, 将大鼠按照体质量区组随机分为以下 5 组: 对照组、高脂组、高铁组、高

[收稿日期] 2018-05-31

[基金项目] 福建省科技厅计划重点项目资助基金(2013Y0087), 福建省科技平台建设(2014Y2010)

[作者简介] 何宏星(1976-), 男, 实验师, 研究方向: 实验动物和动物实验管理。E-mail: hhx761115@sina.com

[通讯作者] 陈洁(1979-), 女, 讲师, 研究方向: 营养学。

E-mail: 147767579@qq.com

脂高铁组、高脂去铁组, 每组 24 只。对照组、高铁组大鼠自由摄食正常饲料; 高脂组、高脂高铁组、高脂去铁组大鼠自由摄食高脂饲料; 高铁组、高脂高铁组大鼠隔日选择大鼠后腿肌肉注射右旋糖酐铁 50 mg/kg, 左右侧后腿替换; 高脂去铁组大鼠处死前一个月尾静脉注射甲磺酸去铁铵, 每次 30 mg/kg, 3 次/周。

干预后 4 个月、5 个月、6 个月各组分别选取 8 只大鼠, 称量体质量, 以 30 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 血液静置 1 h 后, 3 000 r/min, 离心 10 min, 制备血清, 测定血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C、ALT 和 AST; 颈椎脱臼处死大鼠。

1.4 统计学处理

实验结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。应用 SPSS18.0 软件进行统计处理, 多组间均数差异性比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)、LSD 检验(方差齐性)和 Tamhane's 检验(方差不齐)。 $P < 0.05$ 为差异

有统计学意义。干预时间与组别间的协同关系检验采用重复测量检验, Mauchly 球形度检验显著性 $P < 0.05$ 时, 干预时间的效应及干预时间组别的协同效应采用多变量检验; Mauchly 球形度检验显著性 $P \geq 0.05$ 时, 干预时间的效应及干预时间组别的协同效应采用主体内效应的球形度检验。

2 结果

2.1 大鼠脂代谢相关指标检测

2.1.1 大鼠血清 TC 的变化 根据重复测量结果显示, 干预时间对 TC 水平有影响($F=19.297, P < 0.001$); 干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F=5.534, P < 0.001$)。

干预后 4 个月、5 个月和 6 个月, 各组间的 TC 值组间的差异均具有统计学意义, 详见表 1。高脂高铁组上升更为显著。

表 1 不同干预时间各组大鼠血清 TC 值的变化

mmol/L

组别	干预后 4 个月	干预后 5 个月	干预后 6 个月
对照组	1.564 ± 0.264	1.829 ± 0.200	1.806 ± 0.251
高脂组	2.855 ± 0.234**	2.816 ± 0.227**	3.115 ± 0.224**
高铁组	2.524 ± 0.303**	2.666 ± 0.206**	2.525 ± 0.297**##
高脂高铁组	5.205 ± 0.514***## ΔΔ	5.169 ± 0.493***## ΔΔ	6.314 ± 0.482***## ΔΔ
高脂去铁组	2.634 ± 0.497** **	2.560 ± 0.191** **	3.161 ± 0.401** ΔΔ**

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与高脂组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与高铁组比较, Δ $P < 0.05$, ΔΔ $P < 0.01$; 与高脂高铁组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $n=8$

2.1.2 大鼠血清 TG 的变化 根据重复测量结果显示, 干预时间对 TG 的水平有影响($F=52.189, P < 0.001$); 干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F=6.303, P < 0.001$)。

干预后 4 个月、5 个月和 6 个月, 各组间的 TG 值组间的差异均具有统计学意义, 详见表 2。高脂高铁组上升更明显。

2.1.3 大鼠血清 LDL-C 的变化 根据重复测量结果显示, 干预时间对 LDL-C 的水平有影响($F=3.21, P=0.047$); 干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F=3.99, P < 0.001$)。

干预后 4 个月、5 个月和 6 个月, 各组间 LDL-C 值的差异均具有统计学意义, 详见表 3。高脂高铁组 LDL-C 值上升更为明显。

表 2 不同干预时间各组大鼠血清 TG 值的变化

mmol/L

组别	干预后 4 个月	干预后 5 个月	干预后 6 个月
对照组	0.894 ± 0.250	0.773 ± 0.136	1.200 ± 0.268
高脂组	1.945 ± 0.513*	1.475 ± 0.302**	2.165 ± 0.281**
高铁组	1.239 ± 0.295#	1.374 ± 0.296**	1.880 ± 0.376**
高脂高铁组	2.329 ± 0.567* Δ	1.685 ± 0.333** ΔΔ	3.339 ± 0.424***## ΔΔ
高脂去铁组	1.350 ± 0.389** **	0.996 ± 0.181## ΔΔ**	1.425 ± 0.300## ΔΔ**

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与高脂组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与高铁组比较, Δ $P < 0.05$, ΔΔ $P < 0.01$; 与高脂高铁组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $n=8$; 下同

表3 不同干预时间各组大鼠血清LDL-C值的变化

组别	mmol/L		
	干预后4个月	干预后5个月	干预后6个月
对照组	0.660 ± 0.082	0.736 ± 0.141	0.591 ± 0.103
高脂组	1.683 ± 0.224**	1.684 ± 0.180**	1.775 ± 0.256**
高铁组	0.580 ± 0.074#	0.732 ± 0.057##	0.818 ± 0.075***##
高脂高铁组	3.531 ± 1.022***△	4.045 ± 0.508***##△	3.429 ± 0.623***##△
高脂去铁组	0.894 ± 0.090***△※	1.003 ± 0.148***##△※	1.865 ± 0.463***△※

2.1.4 大鼠血清HDL-C的变化 根据重复测量结果显示, 干预时间对HDL-C的水平有影响($F=18.326$, $P<0.001$); 干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F=3.85$, $P=0.001$)。

干预后4个月、5个月和6个月, 各组间HDL-C值的差异均具有统计学意义, 详见表4。与高脂组比较, 高脂去铁组HDL-C值上升更为明显($P=0.001$)。

2.2 大鼠血清肝损害相关指标

2.2.1 ALT 根据重复测量结果显示, 干预时间对ALT水平有影响($F=34.000$, $P<0.001$); 干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F=70.000$,

$P<0.001$)。

干预后4个月、5个月和6个月, 各组ALT值与对照组差异绝大多数具有统计学意义, 详见表5。高铁组的ALT水平上升更为明显。

2.2.2 AST 根据重复测量结果显示, 干预时间对AST的水平有影响($F=24.045$, $P<0.001$); 干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F=11.830$, $P<0.001$)。

干预后4个月、5个月和6个月, 高脂组、高铁组、高脂高铁组、高脂去铁组ALT的水平较对照组大多显著升高, 高铁组上升最为明显, 高脂高铁组次之, 详见表6。

表4 不同干预时间各组大鼠血清HDL-C值的变化

组别	mmol/L		
	干预后4个月	干预后5个月	干预后6个月
对照组	1.418 ± 0.148	1.736 ± 0.232	1.738 ± 0.241
高脂组	0.625 ± 0.060**	0.711 ± 0.079*	0.745 ± 0.063**
高铁组	0.939 ± 0.225***##	1.095 ± 0.121*#	0.853 ± 0.112**
高脂高铁组	0.541 ± 0.109**△△	0.693 ± 0.068*△	0.825 ± 0.137**
高脂去铁组	0.934 ± 0.250***##※	1.186 ± 0.087*#※	0.985 ± 0.093***##

表5 不同干预时间各组大鼠血清ALT值的变化

组别	IU/L		
	干预后4个月	干预后5个月	干预后6个月
对照组	20.825 ± 5.576	26.238 ± 8.756	32.375 ± 8.477
高脂组	36.400 ± 7.733**	45.038 ± 16.339*	55.400 ± 11.515*
高铁组	65.975 ± 13.646***##	199.050 ± 44.464***##	194.525 ± 35.872***##
高脂高铁组	56.050 ± 6.883***##△	56.413 ± 19.704***##△	64.300 ± 18.105***##△△
高脂去铁组	43.875 ± 7.323***##△△※	40.313 ± 10.571△△	41.288 ± 9.543△△※

表6 不同干预时间各组大鼠血清AST值的变化

组别	IU/L		
	干预后4个月	干预后5个月	干预后6个月
对照组	49.775 ± 5.666	57.100 ± 14.628	69.163 ± 12.554
高脂组	86.900 ± 24.524**	79.050 ± 14.407	80.638 ± 7.353
高铁组	114.000 ± 28.175***##	204.875 ± 59.688***##	246.125 ± 49.223***##
高脂高铁组	99.475 ± 10.478**	166.100 ± 36.840***##△	136.700 ± 57.489***##△△
高脂去铁组	71.825 ± 6.936*△△※	63.188 ± 9.045△△※	77.850 ± 14.955△△※

3 讨论

本研究组曾以不同配方高脂饲料喂饲大鼠,并通过析因设计方差分析及多元逐步回归分析高脂饲料组成对于血清血脂水平的影响^[6,7],表明影响血清 TC 和 LDL-C 水平的最主要因素是胆固醇和胆盐的含量。本次研究采用了胆固醇含量 1%,胆盐含量 0.2%(质量分数)的高脂配方。干预 4~6 个月后,高脂组、高脂高铁组和高脂去铁组的 TC、TG、LDL-C 水平较对照组明显升高,尤其是高脂高铁组水平的升高尤为显著,干预 6 个月时,高脂高铁组的 TC、TG、LDL-C 值分别是对照组大鼠的 3.50 倍、2.78 倍和 5.80 倍,是高脂组大鼠的 2.03 倍、1.54 倍和 1.93 倍;而血清 HDL-C 的水平,高脂组、高脂高铁组、高脂去铁组与对照组相较亦有显著下降,说明高脂饲料可成功造成大鼠的高脂模型,且在高脂的同时辅以高铁则更易造成血脂代谢的紊乱。高脂去铁组与高脂组的血清脂代谢相关指标比较表明,尾静脉注射甲磺酸去铁胺,干预后 4 个月、5 个月和 6 个月组血清 TG 值分别下降 30.59%, 32.47% 和 34.18%; 4 个月、5 个月组 LDL-C 值分别下降 46.88%, 40.44%; 4 个月、5 个月和 6 个月组 HDL-C 的水平分别上升 49.44%, 66.81% 和 32.21%,进一步说明高铁可加剧血脂代谢的紊乱。这与蔡静明等^[8]的研究结果相一致。观

测大鼠血清的 ALT、AST 水平表明,高铁组的 ALT、AST 水平显著高于对照组,说明铁对肝脏造成了较大的损害。但本研究中干预 5 个月和 6 个月高铁组的 ALT、AST 上升水平较之高脂高铁组显著,高铁在长期高铁摄入时是否作为肝功能损害保护因素有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 江远,张玲,何金洋,等.二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化时铁超载和脂肪堆积的作用[J].中西医结合肝病杂志,2009,9(2):102-105.
- [2] Anderson CP, Shen M, Eisenstein RS, et al. Mammalian iron metabolism and its control by iron regulatory proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1823(9):1468-1483.
- [3] Anderson ER, Shah YM. Iron homeostasis in the liver[J]. *Comp Physiol*, 2013, 3(1):315-330.
- [4] 杨超群.生长期高脂高蛋白膳食对大鼠生长发育和肝脏脂肪变性的影响及低脂干预研究[D].合肥:安徽医科大学,2016.
- [5] 田月丽.白藜芦醇干预小鼠非酒精性脂肪性肝病炎症损伤的信号机制[D].长春:吉林大学,2017.
- [6] 何宏星,陈洁,黄芳,等.高脂高铁致大鼠肝纤维化模型的初探[J].中国实验动物学报,2016,24(06):648-653.
- [7] 林征,吴小南,汪家梨.雄性SD大鼠高脂血症模型饲料配方的实验研究[J].海峡预防医学杂志,2007,13(6):56-57.
- [8] 蔡静明,沈洁,曹玥,等.铁超载对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝病大鼠脂代谢的影响[J].癌变·畸变·突变,2017,29(3):179-183.

High Fat and High Iron-induced Effects on Lipid Metabolism and Liver Function in Rats

HE Hong-xing¹, CHEN Jie², WANG Cheng-yan¹, HUANG Fang¹, JIANG Jin-rong², ZHENG He-ping³

(1. Laboratory Animal Center, Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China;

2. School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China; 3. Department of Comparative Medicine, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command, PLA, Fuzhou 350025, China)

[Abstract] Objective To verify whether iron can effect the fat metabolism and liver function in rats. **Methods** The rats were divided into control group, high fat diet group, high iron group, high fat diet and high iron group, high fat diet and de-iron group, each with 24 rats. The rats were allowed to freely take normal diet and high fat diet, while high iron group rats, high-fat diet plus high iron group rats received intramuscular injection of 50 mg/kg iron dextran every other day, and high-fat diet plus de-iron group rats received tail intravenous injection of 30 mg/kg deferoxamine one month before sacrificed, 3 times per week. At 4th, 5th, 6th month of intervention, 8 rats were selected for detecting serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), alanine transaminase (ALT), and aspartate transaminase (AST). **Results** Compared with the control group, at 4th, 5th, 6th month of intervention, the serum TC, TG, LDL-C of high fat diet group, high fat diet group plus high iron group, and high fat diet plus de-iron group were significantly increased, HDL-C were decreased. TC, TG, LDL-C, ALT (4th month) and AST (5th month) of high fat diet plus high iron group were significantly higher than those of high fat diet group. Compared with control group, serum ALT, AST, of high iron group were significantly increased. Compared with the high fat diet group, serum ALT (4th month), AST (5th month) of high fat diet plus high iron group were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** The iron can affect the fat metabolism and liver function in rats.

[Key words] Hepatic Fibrosis; Rat; Lipid metabolism; Liver function