

· 动物模型 ·

2种不同配方饲料构建高脂血症合并脂肪肝模型的实验研究

郑立新^{1,2}, 董鹏², 吴玉平³, 蔡祥焜², 孟庆金¹, 田世民^{1,2}

[1. 中国检验检疫科学研究院综合检测中心, 北京 100123; 2. 中检科(北京)测试技术有限公司, 北京 100176; 3. 检科测试集团有限公司, 北京 100176]

摘要:【目的】比较2种不同配方高脂饲料构建高脂血症合并脂肪肝大鼠模型的差异。【方法】将36只雄性SD大鼠随机分为对照组、模型I组和模型II组,分别给予维持饲料、配方I高脂饲料和配方II高脂饲料,在0、1、5、7周时测定血生化指标,终期取肝脏称质量,采用苏木素-伊红(HE)染色法观察肝组织病理学表现。【结果】模型I组大鼠体质量持续增加,实验结束时,血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平均显著升高,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平显著降低,谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平升高,肝脏指数明显增加,肝脏脂肪变达到重度水平。模型II组大鼠体质量无明显升高,血清中TC、LDL-C水平均升高,HDL-C水平明显降低,ALT、AST水平升高,肝脏指数明显增加,肝脏脂肪变达到中度水平。【结论】配方I高脂饲料可建立混合型高脂血症合并脂肪肝大鼠模型,配方II高脂饲料可用于建立高胆固醇血症合并脂肪肝大鼠模型的研究。

关键词: 高脂血症; 非酒精性脂肪性肝病; 配方饲料; 动物模型; 大鼠

中图分类号: R-332

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2022)03-0657-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2022.03.031

Experimental Study on the Model Construction of Hyperlipidemia Complicated with Fatty Liver by 2 Kinds of Different Feed Formulations

ZHENG Li-Xin^{1,2}, DONG Peng², WU Yu-Ping³, CAI Xiang-Kun²,
MENG Qing-Jin¹, TIAN Shi-Min^{1,2}

[1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine Comprehensive Test Center, Beijing 100123, China; 2. CAIQTEST(Beijing) Co., Ltd, Beijing 100176, China; 3. CAIQTEST Co., Ltd, Beijing 100176, China]

Abstract: Objective To compare the difference of two formulations of high-fat diets in constructing hyperlipidemia (HLP) combined with fatty liver rat model. **Methods** Thirty-six male SD rats were randomly divided into the control group, model group I and model group II, by feeding maintenance diet, Formula I high-fat diet and Formula II high-fat diet, respectively. The serum biochemical indices were determined at 0, 1, 5 and 7 weeks. At the final stage, the liver was weighed and the histopathological findings were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. **Results** The body mass of rats in the model group I was increased continuously, and at the end of the experiment, the serum levels of total cholesterol(TC), triglycerides(TG) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were significantly increased, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) level was significantly decreased, alanine aminotransferase (ALT) and aspartate transaminase (AST) levels were increased, liver index was significantly increased, and liver steatosis reached a severe level. In the model group II, there was no significant increase in body mass, while the serum TC and LDL-C levels were increased, HDL-C level was significantly decreased, ALT and AST levels were increased, liver index was significantly increased, and liver steatosis changes arrived to the moderate level. **Conclusion** The formula I high-

收稿日期: 2021-08-01

作者简介: 郑立新(1980-),女,硕士,高级工程师; E-mail: 594782086@qq.com

通讯作者: 田世民,男,博士后,研究员; E-mail: tianshimin@caiqtest.com

基金项目: 国家重点研发计划项目(编号: 2018YFC1706803)

fat diet can be used to establish the model of mixed HLP complicated with fatty liver, and formula II high-fat diet can be used to establish the model of high cholesterol complicated with fatty liver.

Keywords: hyperlipidemia(HLP); non-alcoholic fatty liver disease; feed formulations; animal model; rats

随着生活水平的提高和生活节奏的加快,高脂饮食结构和缺乏运动的生活方式,导致高脂血症(hyperlipidemia)、非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)等代谢性疾病的发病率呈逐年上升的趋势^[1]。在我国人群中高脂血症患者高达40%^[2],高脂血症可引发动脉粥样硬化、冠心病、脑卒中等心脑血管疾病^[3]。NAFLD已成为最常见的肝病(占总人口的30%)^[4],可能会发展为非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)及肝硬化、肝癌等,其中近40%的NAFLD患者可发展为更严重的NASH^[5]。流行病学调查研究^[6]显示,在高甘油三酯、高胆固醇、混合型高血脂中脂肪肝的检出率分别达82.93%、17.48%、73.25%。因此,建立符合高脂血症合并NAFLD临床证型的动物模型,并在此基础上阐明发病机制、病理特点,预防和治疗的方法,具有重要的研究意义。目前,动物模型建立方法通常是喂饲8~12周高脂饮食诱发大鼠高血脂和脂肪肝,此方法符合人类脂代谢疾病的临床病因病机、发病过程,具有简便、重复性好、要求低、实验条件易于控制、采血量等优点^[7-8]。但由于饲料配方、造模周期和实验动物种属的差异,制作动物模型的临床证型有很大差异,且关注点多在血脂、肝病理学方面,而对体质量、摄食量及血清肝损伤指标的动态研究报道相比较少^[9]。本研究以SD大鼠为研究对象,采用2种不同配方高脂饲料模拟人类高脂饮食而引起的高脂血症合并脂肪肝,观察大鼠体质量、摄食量、血清中血脂和转氨酶的动态变化,终期对肝脏湿量、脏器指数及病理学变化进行比较,旨在为高脂血症和NAFLD的发病机制、药效评价和中医方证相应研究提供参考和借鉴。现将研究结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 36只SPF级健康成年雄性SD大鼠,体质量180~220g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0006],动物饲养

于中国检验检疫科学研究院综合检测中心SPF级动物房[SYXK(京)2016-0011],自由摄入食水,动物房温度20~26℃,相对湿度40%~70%,明暗交替12h:12h,适应性喂养7d。本实验经中国检验检疫科学研究院综合检测中心实验动物伦理委员会审批,并按实验动物使用的3R原则给予人道主义关怀。

1.2 主要试剂与仪器 血脂质控、定标液和多项复合质控试剂由RANDOX提供;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),谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)检测试剂盒均由中生北控生物科技股份有限公司提供。TBA-120FR全自动生化分析仪(日本东芝公司);4-5R离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司);ES-MV小动物麻醉机(北京众实科技有限公司);BSA2202S-CW动物天平(德国赛多利斯公司);CX31显微镜(德国奥林巴斯公司);包埋、脱水、切片和染色机(日本樱花精机株式会社);WF-PRO-005病理切片扫描仪(宁波江丰生物信息技术有限公司)。

1.3 2组高脂饲料的配方 ①模型I配方:参考保健食品混合型高血脂造模饲料配方^[9],在维持饲料中添加质量分数20%蔗糖、15%猪油、1.2%胆固醇、0.2%胆酸钠,12%酪蛋白、1.8%磷酸氢钙、0.6%石粉、0.2%食盐,实测饲料中粗脂肪含量为18.07%,粗蛋白含量为19.46%。②模型II配方自行设计:在维持饲料中添加质量分数5%蔗糖、10%猪油、蛋黄粉5%、1.2%胆固醇、0.2%胆酸钠、5%酪蛋白、1.1%磷酸氢钙、0.3%石粉,实测饲料中的粗脂肪为18.39%,粗蛋白为19.79%。高脂饲料制作方法:将原料混合均匀后,将之再经搅拌,压成圆条状颗粒,真空包装后,经Co-60辐照消毒,除粗脂肪外,其他营养成分指标均满足GB 14924.3-2010的要求。维持饲料中粗脂肪为5.3%,粗蛋白含量为20%。以上饲料均由北京华阜康生物科技股份有限公司[SCXK(京)2014-0008]提供。

1.4 动物分组与模型制备 适应期结束后, 按体质量随机分为3组, 每组12只, 对照组给予SPF级标准维持饲料, 模型I组给予配方I高脂饲料, 模型II组给予配方II高脂饲料, 喂养7周, 自由饮水。

1.5 体质量与摄食测定 每周称量1次体质量和2次饲料的剩余量和撒食量, 直到实验结束。计算体质量增加值、摄食量、总食物利用率(%)。总食物利用率(%)=总增质量(g)/总摄食量(g)×100%。

1.6 血清学指标检测 在喂养1周后, 不禁食水, 异氟烷麻醉后, 用毛细吸管从眼眶静脉丛采血约1.2 mL, 离心分离血清, 全自动生化仪测定血清中的TC、TG、LDL-C、HDL-C水平。处死前用1%戊巴比妥钠麻醉, 经腹主动脉采血, 全自动生化仪测定血清中TC、TG、LDL-C、HDL-C、AST、ALT的水平。检测相关的血生化指标。

1.7 肝指数测定和肝病理学检查 采血后, 摘取肝脏, 检查其形状、大小、颜色, 用4℃ 0.9%氯化钠溶液冲洗肝脏组织, 擦干后, 称定肝脏质量, 计算肝指数(%)。肝指数(%)=肝脏质量(g)/终体质量(g)×100%。

肝脏病理学检查: 以福尔马林固定, 制成石蜡切片, 采用苏木素-伊红(HE)染色, 分别在低倍镜(×10)、高倍镜(×40)下观察肝组织的病理学改变。并按肝脏脂肪变分级标准分级^[10], 重度(3级): 脂肪变肝细胞超过肝小叶2/3; 中度(2级): 脂肪变细胞占肝小叶1/3~2/3; 轻度(1级): 脂肪变肝细胞呈散在小灶分布; 无(0级): 肝小叶结构完好, 基本无脂肪变。

1.8 统计方法 实验数据录入计算机, 以Excel软件建立数据库, 采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析, 数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用方差检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

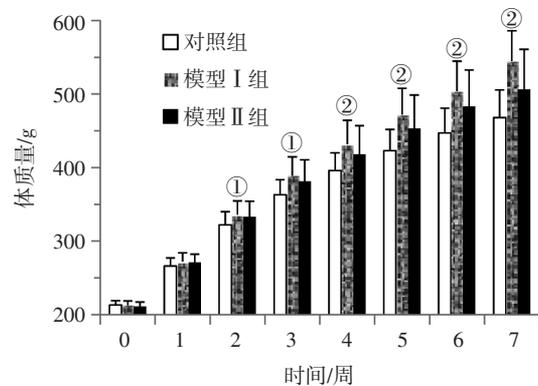
2 结果

2.1 不同配方高脂饲料对大鼠外观及行为的影响 在整个实验过程中, 对照组大鼠精神状态良好, 活动自如, 皮毛正常、无明显脱落。2个造模组在实验后期(5~7周), 大鼠精神状态一般, 不喜运动, 皮毛粗糙无光泽, 毛发易脱落, 而模型I组较模型II组的症状更为明显。

2.2 不同配方高脂饲料对大鼠体质量、摄食量影响的时序性变化 整个实验周期内, 大鼠体质量增长速度排序: 模型I组 > 模型II组 > 对照组。其中, 在2~7周模型I组大鼠体质量较对照组升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而模型II组各周大鼠体质量较对照组有升高趋势, 但差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结果见图1。

大鼠每周摄食量: 对照组 > 模型II组 > 模型I组。模型I组大鼠1~7周摄食量均低于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 模型II组大鼠第3、4、5、7周摄食量和总摄食量低于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结果见图2。

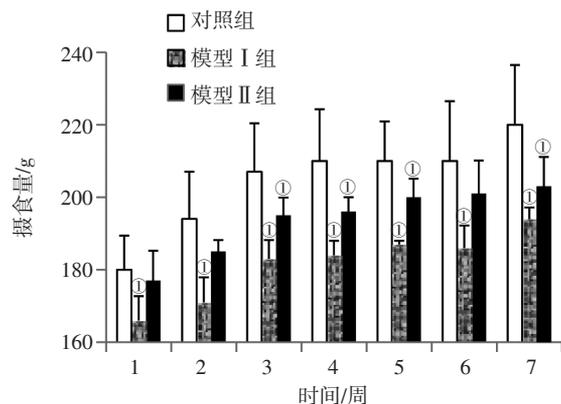
总食物利用率(%)排序: 模型I组[(26.16±3.36)%] > 模型II组[(21.77±3.74)%] > 对照组[(17.81±1.50)%]。与对照组比较, 模型I组和模



① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, 与对照组比较

图1 2种配方高脂饲料对大鼠体质量的影响

Figure 1 Effects of two formulations of high-fat feed on body mass in rats



① $P < 0.01$, 与对照组比较

图2 2种配方高脂饲料对大鼠食物摄入量的影响

Figure 2 Effects of two formulations of high-fat feed on food intake in rats

型Ⅱ组的总食物利用率升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。表明模型Ⅰ、Ⅱ组大鼠无拒食现象,体质量一直保持上升,提示SD大鼠对2种高脂饲料配方均有很好的适应性。

2.3 不同配方高脂饲料对大鼠血清生物化学指标的影响 造模前,与对照组比较,模型Ⅰ组和模型Ⅱ组血清生化指标差异无统计学意义($P > 0.05$),表明动物随机分组均匀。模型Ⅰ组:与对照组比较,造模第1、5、7周,大鼠血清TC、TG、LDL-C水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),造模第1周,HDL-C水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明本饲料配方升高血清TC、TG、LDL-C水平,随着饲养时间延长至7周时,效果可以维持。模型Ⅱ组:与对照组比较,造模第1周,大鼠血清TC、TG、LDL-C水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),随着饲养时间延长,在造模第5、7周的大鼠血清中TC、LDL-C水平升高,HDL-C水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但是血清TG水平在5、7周差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果见表1。结果表明,模型Ⅰ组大鼠血清TG、TC、LDC-C维持在较高水平,提示混合型高脂模型成立;模型Ⅱ组大鼠血清TC、LDC-C维持在较高水平,提示高胆固醇模型成立。

TG水平升高是NAFLD的主要特征^[1-2,5],相似的结论在许多动物试验中也被证实^[7-8,10]。当大鼠高脂饮食后,进入肝内的脂肪酸过多,肝内脂肪酸β

氧化障碍,TG的合成超过其转运出肝脏的能力,过多的脂肪酸在肝细胞内沉积,造成肝细胞脂肪变性,还会引起线粒体的肿胀和通透性的增加,线粒体为脂肪酸分解代谢β-氧化的主要场所,导致氧化应激和脂质过氧化^[11-13]。迄今为止,AST和ALT是国内外应用最广泛的反映肝细胞损害的指标,当肝细胞膜通透性增加时,会导致肝细胞浆中存在的ALT大量释放入血液,而肝细胞中的线粒体受损害会导致大量AST释放到血液中,当血液中AST和ALT水平升高,提示肝脏受损或损坏,ALT在反映急性肝细胞损伤时最为敏感,而AST反映其损伤程度时最为敏感^[14-17]。本研究结果显示,与对照组比较,模型Ⅰ组大鼠在造模第5、7周AST升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),ALT在造模第7周升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。模型Ⅱ组大鼠在造模第7周AST水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),在造模第5、7周ALT水平升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。结果提示,2个模型组均随着食用高脂饲料时间的延长,出现肝损伤,模型Ⅰ组先出现肝细胞内线粒体损伤,后出现肝细胞膜损伤,模型Ⅱ组先出现肝细胞膜损伤,后出现线粒体的损伤。

2.4 大鼠肝脏湿质量、指数及病理组织学检查

2.4.1 肝脏湿质量和肉眼观察 脏器指数是动物实验中常用的生物学指标,其大小可反映器官的功能强弱和损伤情况,脏器指数增加表示脏器有充血、水肿、增生及肥大等变化,下降表示脏器

表1 2种配方高脂饲料对大鼠转氨酶和血脂的影响

Table 1 Effects of two formulations of high-fat feed on transaminase and blood lipids in rats ($\bar{x} \pm s$, mmol·L⁻¹; $n = 12$)

组别	采血时间/周	TC	TG	LDL-C	HDL-C	AST	ALT
对照组	0	2.35 ± 0.32	1.25 ± 0.34	0.65 ± 0.12	1.14 ± 0.18	121.30 ± 5.71	59.78 ± 6.52
	1	2.05 ± 0.40	1.43 ± 0.49	0.49 ± 0.12	1.01 ± 0.24	125.93 ± 11.26	60.41 ± 7.88
	5	2.05 ± 0.40	1.57 ± 0.46	0.45 ± 0.10	1.10 ± 0.24	124.17 ± 11.64	59.87 ± 8.44
	7	1.91 ± 0.35	1.42 ± 0.47	0.38 ± 0.11	1.02 ± 0.22	133.03 ± 11.02	59.44 ± 8.51
模型Ⅰ组	0	2.38 ± 0.28	1.20 ± 0.33	0.64 ± 0.11	1.19 ± 0.14	125.38 ± 9.76	57.50 ± 8.63
	1	3.05 ± 0.75 ^②	3.44 ± 1.49 ^②	1.08 ± 0.33 ^②	0.82 ± 0.11 ^①	128.78 ± 11.21	57.98 ± 7.36
	5	3.04 ± 0.77 ^①	3.35 ± 2.05 ^②	0.96 ± 0.38 ^②	0.82 ± 0.12 ^②	145.36 ± 23.21 ^①	58.92 ± 7.14
	7	3.15 ± 0.82 ^①	2.16 ± 0.80 ^①	1.29 ± 0.48 ^②	0.84 ± 0.13 ^①	160.66 ± 16.59 ^②	70.13 ± 14.02 ^①
模型Ⅱ组	0	2.34 ± 0.37	1.43 ± 0.41	0.60 ± 0.15	1.18 ± 0.20	127.63 ± 17.27	58.40 ± 6.00
	1	2.64 ± 0.47 ^①	2.26 ± 0.67 ^②	0.89 ± 0.20 ^②	0.87 ± 0.16	121.05 ± 19.87	65.16 ± 6.89
	5	2.63 ± 0.56 ^①	2.54 ± 1.16	0.74 ± 0.20 ^②	0.85 ± 0.19 ^②	135.79 ± 20.22	74.80 ± 9.53 ^②
	7	2.57 ± 0.68 ^①	1.90 ± 0.69	0.95 ± 0.37 ^②	0.82 ± 0.21 ^①	153.79 ± 28.34 ^①	80.17 ± 14.36 ^②

① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, 与对照组比较

萎缩、生长受阻或退行性变化, 采用肝湿质量和肝脏指数等一般性指标表观评价饲料对大鼠肝脏内脂肪蓄积^[18]。本研究解剖结果可见: 对照组大鼠肝脏呈暗红色、边缘锐利、质韧; 2个模型组大鼠肝脏体积增大, 外观呈淡黄色, 边缘较钝, 质地较脆, 切面带油腻感, 2个模型组大鼠肝脏外观上无差异。由表2可见, 2个模型组肝脏湿质量和指数均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 其中, 模型 I 组大鼠的肝脏湿质量是对照组的1.8倍, 模型 II 组大鼠的肝脏湿质量是对照组的1.6倍, 大鼠肝指数排序: 模型 I 组 > 模型 II 组 > 对照组。结果表明, 随着饲料中脂肪、蔗糖含量提高, 导致大鼠肝脏内脂肪蓄积量升高。

表2 2种配方高脂饲料对大鼠肝脏湿质量及指数的影响

Table 2 Effects of two formulations of high-fat feed on liver wet mass and index in rats ($\bar{x} \pm s$; $n = 12$)

组别	肝脏湿质量/g	终体质量/g	肝脏指数/%
对照组	16.22 ± 1.60	468 ± 37	3.46 ± 0.18
模型 I 组	29.03 ± 3.72 ^②	545 ± 41 ^①	5.35 ± 0.50 ^②
模型 II 组	26.22 ± 5.90 ^②	506 ± 55	5.08 ± 0.66 ^②

① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, 与对照组比较

2.4.2 显微镜观察 对照组: 肝小叶结构完整, 肝窦清晰可见, 肝索放射状排列规则, 肝细胞大小均匀一致, 胞核呈圆形, 位于细胞中央, 形态规则(见图3-a1~a2)。模型 I 组: 在低倍镜下可见, 肝小叶中央区域肝索尚清晰, 肝细胞胞浆中空泡较小, 小叶边缘区肝细胞呈大空泡状, 肝索排列不清。高倍镜下可见, 肝小叶边缘肝细胞肿大呈空泡状, 部分细胞的细胞核受挤压偏于一侧或细胞核消失, 形成戒指状细胞。中央区域肝细胞胞浆疏松呈泡沫状, 核位于细胞中央, 肝小叶脂肪变细胞均超过90%, 达到重度(3级)脂肪肝水平, 偶见小叶内、汇管区有炎性细胞浸润灶和少量的坏死肝细胞, 无纤维化(见图3-b1~b2)。模型 II 组: 低倍镜下可见, 肝小叶结构可辨认, 肝索放射状排列规则, 中央区域胞浆致密, 边缘区域胞浆疏松呈泡沫状, 核位于细胞中央。高倍镜下可见, 肝小叶边缘细胞质内可见弥漫分布的小空泡, 肝细胞略有肿胀, 大小不一, 细胞核位于中央, 中央区域接近正常, 肝小叶脂肪变细胞占60%~70%, 达到中度(2级)脂肪肝水平, 汇管区有少量的炎性细胞浸润, 无纤维化(见图3-c1~c2)。与

模型 I 组比较, 模型 II 组肝细胞肿胀度低, 细胞质内呈弥散状微小空泡, 且含大空泡的肝细胞数目少, 脂肪肝程度降低。结果表明, 随着饲料中脂肪、蔗糖含量减少, 模型大鼠脂肪肝程度降低。2种高脂饲料的脂肪肝模型复制成功率均能达到100%。

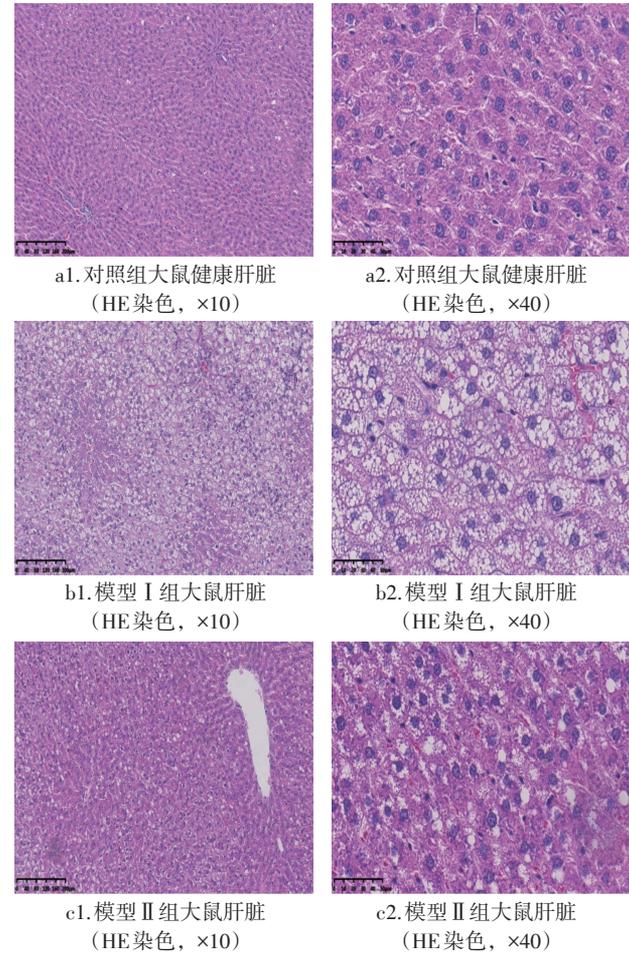


图3 各组大鼠肝脏病理学形态比较

Figure 3 Comparison of the pathological morphology of the liver in various groups of rats

3 讨论

高脂饲料由于蔗糖和猪油的含量太高, 具有饱腹感, 不易被消化, 鼠料变软, 有异味, 不利于采食等缺点^[19]。本研究采用的配方 I 高脂饲料含有质量分数20%蔗糖、15%猪油、1.2%胆固醇、0.2%胆酸钠, 是用于保健食品辅助降血脂功能评价中的混合型高脂血症造模饲料, 结果显示, 模型 I 组大鼠体质量增长速度过快, 出现了精神差、毛发粗糙、易脱落等高脂带来的副作用。在高脂饲料中加入2%~15%蛋黄粉主要是提供充足

的脂肪和蛋白质,而且适口性好,摄入量增加,提高模型成功率^[20-22]。为了研究不同类型高血脂和不同程度脂肪肝的大鼠模型,改良高脂饲料配方时,在降低蔗糖比例至5%,猪油比例降至10%的基础上,胆固醇和胆酸钠比例不变,蛋黄粉比例为5%。本研究结果显示,饲料配方改良后,模型Ⅱ组大鼠体质量增长速度降低,同时期的摄食量升高,精神状态以及毛发粗糙、易脱落的现象有改善,模型Ⅰ组大鼠喂饲7周的平均体质量超过对照组的16.5%。若采用体质量超过对照组平均体质量10%为肥胖标准^[23],模型Ⅰ组大鼠已形成肥胖,模型Ⅱ组平均体质量超过对照组8.1%,未达到肥胖标准,配方Ⅱ饲料适用于非肥胖高脂血症合并NAFLD的防治研究。

本研究结果显示,模型Ⅰ组大鼠造模第1周大鼠血清TC、TG和LDL-C水平均显著增加,HDL-C水平显著降低,符合混合型高脂血症模型成立的条件,到第5、7周时仍成立,表明配方Ⅰ高脂饲料可成功复制混合型高脂血症模型,且造模效果稳定,适合应用于保健食品降血脂功能的评价。此外,模型饲料喂养期间,模型组TC水平比较稳定,TG水平逐渐降低,故模型饲料给予时间不能超过7周。通过与本实验室前期研究结果^[24]对比发现,提高饲料中蛋白质的含量可以促进大鼠体质量增长,各阶段的大鼠体质量明显高于维持饲料组,造模1周时血清TG水平由 (2.34 ± 0.81) mmol/L升高到 (3.44 ± 1.49) mmol/L,提高了1.1 mmol/L。模型Ⅱ组造模时间延长至5周,大鼠血清TG水平恢复正常,TC、LDL-C维持在较高水平,表明配方Ⅱ高脂饲料可用于建立高胆固醇模型。因饲料配方不同,结果与文献报道有差异,如:陈剑峰等^[25]采用12%猪油、10%蛋黄粉、2%胆固醇、0.5%胆盐的高脂饲料喂养大鼠8周时,TG、TC、LDL-C水平升高,HDL-C差异无统计学意义;孙林林等^[26]报道采用82.5%普通饲料、2%胆固醇、10%猪油、5%蛋黄粉、0.5%胆酸钠构建模型喂养大鼠8周时,TG、CHO水平升高,LDL-C、HDL-C差异无统计学意义;楼琦等^[11]采用配方为普通饲料80.5%、蛋黄粉10%、猪油7%、胆固醇2%、胆盐0.5%的高脂饲料喂养大鼠4周时,TG、TC、LDL-C水平升高,HDL-C水平降低。

本研究结果显示,模型Ⅰ组大鼠造模5周时血

清AST升高,在造模7周时ALT、AST均升高,提示先出现大鼠肝脏线粒体损伤,随着脂质在肝细胞内累积导致细胞膜损伤。模型Ⅱ组到造模5周时血清ALT升高,第7周时ALT、AST均升高,提示先出现大鼠肝脏细胞膜损伤,后出现线粒体损伤。孙林林^[26]、尹抗抗^[18]等报道采用脂肪10%、胆固醇2%、胆盐0.5%、蛋黄粉5%、标准大鼠饲料82.5%的高脂饲料造模8周时ALT、AST水平升高,与本研究结果相似。模型Ⅰ组大鼠肝脏体积、湿质量和肝系数均增大,肝脏组织HE染色结果可见肝脏脂肪变达到重度(3级)水平,小叶内、汇管区有炎性细胞浸润和少量的坏死肝细胞,未见纤维化,与孙秀娥、蔡拓、于兰兰等^[27-29]的文献报道均相似。模型Ⅱ组大鼠肝脏体积、湿质量和肝系数均增加,肝脏脂肪变达到中度水平,有少量的炎性细胞浸润,未见肝纤维化,与孙林林^[26]、尹抗抗等^[18]报道的肝脏脂肪变等级一致。孙林林等^[26]在研究中发现大鼠肝纤维化,原因可能是饲料配方和造模周期有差异。

综上所述,本研究采用的2种高脂鼠料均成功建立了高脂血症合并NAFLD模型,配方Ⅰ高脂饲料构建了混合型高脂血症合并重度脂肪肝模型,配方Ⅱ高脂饲料构建了高胆固醇血症合并中度脂肪肝模型,并且2个模型在体质量、生化指标、肝脏病理上有各自特点,可以为建立高脂血症及脂肪肝的动物模型提供参考。另外,本研究不足之处是大鼠模型出现类似于人类脂肪肝的生化改变,在肝脏病理学上也出现了轻微炎症,但肝病变程度并不严重,缺乏肝脏炎症和纤维化进行性过程,并且其造模时间也相对较长。后期研究上可以优化饲料成分,在不严重影响营养平衡的前提下,适当增加其他饮食因素,以放大NASH病症的严重程度以及触发纤维化效应。

参考文献:

- [1] 顾伟根,冯静亚.超重和肥胖人群非酒精性脂肪肝的流行现状及相关危险因素分析[J].甘肃医药,2015,34(2):109-112.
- [2] 李文毅,周春阳.高脂血症与动脉粥样硬化和脂代谢研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2019,33(10):811.
- [3] FRANÇOIS M, COLIN B, CATAPANO A L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk [J]. *Europ Heart J*, 2019, 41(3).
- [4] LIU A, GALOOSIAN A, KASWALA D, et al. Nonalcoholic fatty

- liver disease: epidemiology, liver transplantation trends and outcomes, and risk of recurrent disease in the graft [J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2018, 6(4): 420-424.
- [5] ATHYROS V G, BOUTARI C, STAVROPOULOS K, et al. Statins: an under-appreciated asset for the prevention and the treatment of nafld or nash and the related cardiovascular risk [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2018, 16(3): 246-253.
- [6] 黄倚文. 脂肪肝与高血脂、高血糖、BMI之间的关系研究[J]. *黑龙江医药*, 2019, 32(4): 897-899.
- [7] 刁婷婷, 闵清. 高脂血症动物模型研究进展[J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2018, 32(6): 541-545.
- [8] 蔡江帆, 陈民利. 非酒精性脂肪肝炎动物模型的研究概况[J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(1): 128-136.
- [9] 朱潇旭, 段小花, 王春霞, 等. 高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪肝病模型简介及技术要点探讨[J]. *实验动物科学*, 2019, 36(1): 73-76.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 关于印发抗氧化功能评价方法等9个保健功能评价方法的通知[EB/OL]. 2012-04-23. <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0847/71257.html>.
- [11] 楼琦, 石巧娟, 郭红刚, 等. 非酒精性脂肪肝病大鼠脂质代谢及病理变化的动态观察[J]. *中国比较医学杂志*, 2012, 22(3): 5-11.
- [12] 张艺文, 黄夏伶, 李玉桑. 脂肪肝及其恶变的过食高脂诱发[J]. *武汉工程大学学报*, 2020, 42(3): 243-257.
- [13] DEVARIE, CREMONINIE, MASTALOUDIS A, et al. Cyanidin and delphinidin modulate inflammation and altered redox signaling improving insulin resistance in high fat-fed mice [J]. *Redox Biology*, 2018, 18: 16-24.
- [14] DEMINICE R, DA SILVA R P, LAMARRS S G, et al. Betaine supplementation prevents fatty liver induced by a high-fat diet: effects on one-carbon metabolism [J]. *Amino Acids*, 2015, 47(4): 839-846.
- [15] 于纯淼, 付佳琪, 张良, 等. 食源复方解酒口服液对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(5): 300-304, 310.
- [16] EL-NEWARY S A, SHAFFIE N M, OMER E A. The protection of *Thymus vulgaris* leaves alcoholic extract against hepatotoxicity of alcohol in rats [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2017, 10(4): 361-371.
- [17] 邓燕. 血清转氨酶及血脂检测诊断脂肪肝的意义[J]. *中国继续医学教育*, 2021, 13(1): 100-102.
- [18] 尹抗抗, 聂娟, 唐标. 降脂理肝汤抑制NLRP3炎症小体活化减轻高脂饮食诱导的大鼠非酒精性脂肪肝病[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(22): 2716-2720.
- [19] 刘嵩, 卢笑丛, 葛建, 等. 高脂所致脂肪肝动物模型建立的动态研究[J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(11): 1399-1403.
- [20] 王点, 郭媛媛, 邓亚萍, 等. 从高脂配方和动物特点探讨高脂血症模型的进展[J]. *医学综述*, 2015, 21(18): 3271-3273.
- [21] 胡慧明, 朱彦陈, 朱巧巧, 等. 实验性高脂血症动物模型比较分析[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(20): 3709-3714.
- [22] 王燕萍, 彭丹虹, 刘晓琪, 等. 高脂饮食喂养建立高脂血症模型的验证及规律探讨[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(1): 5-10.
- [23] 朱磊, 路瑛丽, 冯连世, 等. 不同配方高脂饲料构建SD大鼠肥胖模型的实验研究[J]. *中国运动医学杂志*, 2016, 35(7): 642-647.
- [24] 郑立新, 杨光, 蔡祥焜, 等. SPF级SD大鼠高脂模型建立的实验报告[J]. *中国卫生检验杂志*, 2018, 28(7): 795-797.
- [25] 陈剑峰, 万勇. 不同配方高脂饲料构建高脂血症大鼠模型比较及评价[J]. *实验动物科学*, 2018, 35(1): 30-34.
- [26] 孙林林, 石军, 郝菁华. 高脂饮食致大鼠非酒精性脂肪性肝炎肝纤维化模型的建立[J]. *临床肝胆病杂志*, 2011, 27(3): 254-272.
- [27] 孙秀娥, 秦梦, 李藤藤, 等. 一种配伍组方的降血脂功效及相关机制研究[J]. *营养学报*, 2020, 42(4): 398-402.
- [28] 蔡拓, 张慈, 易吉平, 等. 一种SD大鼠高脂模型建立方法的验证以及造模时长对相关指标的影响探讨[J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(2): 74-79.
- [29] 于兰兰, 陈宇涵, 刘伟, 等. 杏仁肽对高脂血症大鼠辅助降血脂的功能研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(21): 7849-7854.

【责任编辑：侯丽颖】