

茵陈蒿汤防治大鼠非酒精性脂肪性肝炎的实验研究

梁惠卿^{1,2} 陈少东³ 张其清¹ 黄洁锋⁴

1. 厦门大学生物医学工程研究中心/材料学院(361005) 2. 厦门中医院(361001)

3. 厦门大学医学院(361005) 4. 厦门中药厂(361009)

摘要:目的:探索茵陈蒿汤对模型大鼠非酒精性脂肪肝的干预作用。方法:30 只雄性 Wistar 大鼠随机分成正常组、模型组和茵陈蒿汤防治组,模型组和中药防治组给予高胆固醇高脂肪饮食喂养共 12 周以复制非酒精性脂肪性肝炎模型,中药防治组同时给予茵陈蒿汤灌胃 12 周。12 周后处死大鼠收集标本,检测血清 ALT、AST 活性、TC 含量,肝组织 TG 含量,对肝脏组织进行 HE 染色。结果:茵陈蒿汤能有效地减轻大鼠体重和肝重,明显减轻模型大鼠血清炎症损伤的病理状态,改善肝组织脂肪变性的病理状态。结论:茵陈蒿汤能够有效防治非酒精性脂肪性肝炎的病理损伤。

关键词:茵陈蒿汤;非酒精性脂肪性肝炎;中医实验医学

doi:10.3969/j.issn.1003-8914.2009.02.008 文章编号:1003-8914(2009)-02-0212-03

Study Intervening Effect of Yinchenhao Decoction on Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Model in Rats

Liang Huiqing Chen Shaodong Zhang Qiqing Huang Jiefeng

Abstract: Objective: To study the intervening effect of Yinchenhao decoction on the nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) model in rats. **Methods:** Total 30 male Wistar rats were divided into control group, model group and treatment group randomly. Rats in model and treatment group were fed with high cholesterol and high fat forage for 12 weeks to reproduce NAFLD model, in the meantime, rats in treatment group were given with Yinchenhao decoction. All rats were sacrificed at the 12 week and samples were collected. Serum ALT, AST activities and TC level were determined. Hepatic tissue TG contents were detected. Hepatic tissues were detected by HE staining. **Results:** Yinchenhao decoction effectively reduced the body and liverweight in NAFLD rats, significantly reduced the fatty deposition and reduced the fatty degeneration in hepatocytes. **Conclusion:** Yinchenhao decoction has good preventive and therapeutic effects on the nonalcoholic fatty liver disease in rats.

Key words: nonalcoholic fatty liver disease; Yinchenhao decoction; prevention and treatment

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是除外酒精和其他明确的损肝因素所致的一种多病因导致的以肝细胞脂肪变性和脂质贮积为特征临床病理综合征^[1,2]。根据病理改变,NAFLD分为(非酒精性)单纯性脂肪肝及其演变的脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和脂肪性肝硬化三个阶段^[3,4]。近年来,全球脂肪肝发病率呈上升趋势,但目前临床上尚无治疗 NAFLD 的针对性药物,常用的降脂药、胰岛素增敏剂等效果不佳,且有不同程度的肝损害副作用;而中医药在脂肪肝的防治方面已显示出较明显的优势,中药复方制剂已成为 NAFLD 治疗的重要药物手段^[5,6]。由于本病临床以湿热瘀阻证型多见,故茵陈蒿汤作为古典经方,源于汉代医圣张仲景《伤寒杂病论》,具有清热利湿、活血化瘀功效而可能具有抗脂肪肝作用;本文通过观察研究茵陈蒿汤对大鼠 NAFLD 模型的防治作用以明确该方是否有抗脂肪肝作用,更好指导临床治疗。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 Wistar 雄性大鼠,30 只,清洁级,200g 左右,购自中国科学院上海实验动物中心。

1.1.2 药物 茵陈蒿汤(茵陈、大黄、栀子)中药饮片购自厦门中药厂。由厦门中药厂协助制备。

1.1.3 高脂饲料 高脂饲料由普通饲料添加 2%胆固醇和 10%猪油组成,胆固醇购自广州天马精细化工厂,猪油自行提炼。

1.1.4 主要试剂 甘油三酯(TG)购自浙江东瓯生物工程公司。丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)和总胆固醇(TC)生化试剂盒,购自南京建成生物工程研究所,其余常用试剂为分析纯。苏木素染料,购自南京建成生物制品研究所。中性树胶,购自上海标本模型厂。

1.5 主要仪器 轮转切片机(RM2035)、HII210 恒温水浴、HII220 烤片机、LEICA ASP300 自动脱水机、LEICA EGI160 石蜡包埋机均购自德国 Leica 公司。M5 多功能酶标仪,美国 Molecular Devices 公司产品。

2 方法

2.1 造模与分组用药 大鼠自造模之日起,按计算机

随机数字表,将大鼠分为正常组、模型组与茵陈蒿汤中药防治组各 10 只,模型组与中药防治组给予高脂饲料造模,正常组给予正常饲料。药物组按 1ml/100g 鼠重分别灌服药液,正常组、模型组给予相应量的饮用水灌胃。连续 12 周。

2.2 检测项目与方法

2.2.1 肝组织 TG 含量测定 肝组织匀浆制备:取 200mg 湿肝,加入乙醇-丙酮(1:1)3ml,匀浆 3000rpm,10s ×3 次,在有塞的试管中充分摇匀,放置过夜。翌日 4 离心(3000rpm,15min)后取上清液分装于 1.5ml 离心管中,取 10μl 上清液用于 TG 含量测定。

2.2.2 血 ALT、AST、TC 活性检测 赖氏法

2.2.3 肝组织 HE 染色

2.3 统计处理 所有数据均使用 SPSS12.0 软件包进行统计学分析。计量资料均写成平均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)形式。组间比较采用单因素方差分析 Q 检验。

3 结果

3.1 一般观察 模型组大鼠体重较正常组明显增加($P < 0.01$),而中药防治组体重较模型组大鼠明显减轻,差异有显著性意义($P < 0.05$)。模型组大鼠的肝脏重量有增加的趋势,肝指数(肝脏湿质量/体质量)明显高于正常组($P < 0.01$),中药防治组肝湿重、肝指数均较模型组有降低趋势($P < 0.05$) (见表 1)。肉眼观察正常组大鼠肝脏无异常,模型组大鼠肝脏体积增大,颜色浅黄,质地变软,包膜紧张,边缘圆钝,切面油腻。中药防治组肝脏体积不大,深黄色,质地中等,边缘稍钝,切面稍油腻。

表 1 各组大鼠一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重(g)	肝重(g)	肝体比(%)
正常组	10	463 ±18	11.2 ±0.3	2.43 ±0.4
模型组	10	533 ±32	25.1 ±0.7	4.5 ±0.6
中药防治组	10	486 ±26*	18.2 ±0.5*	3.5 ±0.4*

注: $P < 0.01$, vs 正常组; * $P < 0.05$, vs 模型组。

3.2 各组大鼠肝组织 TG 含量的变化 较之正常组肝组织 TG 含量(20 ±2) mg/g,模型组 TG 含量升高为(88 ±12) mg/g,二者比较具有显著性统计学差异($P <$

0.01),而药物组给予茵陈蒿汤治疗后肝组织 TG 含量下降为(55 ±8) mg/g,与模型组比较,具有显著统计学差异($P < 0.05$),其抑制率达 37.5% (见表 2)。

3.3 各组大鼠血清生化检测结果 模型组大鼠血清 ALT、AST 活性与正常组相比较,均有显著升高($P < 0.01$),表明模型组存在炎症损伤的病理状态,而中药防治组的血清 ALT、AST 活性则较模型组显著降低($P < 0.05$);模型组大鼠血清 TC 含量与正常组相比较,有显著升高($P < 0.01$),表明模型组存在脂质紊乱的病理状态,而中药防治组的血清 TC 含量则较模型组显著降低($P < 0.05$) (见表 2)。

表 2 各组大鼠肝组织 TG 含量及血清生化指标的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TG(mg/g)	ALT(U/L)	AST(U/L)	TC(mmol/L)
正常组	10	20 ±2	30 ±3	33 ±3	53.1 ±6
模型组	10	88 ±12	78 ±11	52 ±9	72.2 ±10
中药防治组	10	55 ±8*	46 ±7*	38 ±5*	63.3 ±6*

注: $P < 0.01$, vs 正常组; * $P < 0.05$, vs 模型组。

3.4 各组大鼠肝组织 HE 染色的病理变化 依据非酒精性脂肪肝诊疗指南^[7],正常组大鼠肝细胞索排列正常,肝细胞形态正常,核圆、大、居中,胞浆内无脂滴蓄积,小叶内无炎症细胞浸润。模型组大鼠肝脏脂肪变性明显,肝细胞肿大变圆,胞浆疏松,内含大的脂肪滴,部分细胞可见细胞核挤向胞膜,呈以大泡性为主的脂肪变性,并可见炎症细胞浸润。中药防治组大鼠脂肪变性及炎症细胞浸润均较模型组明显减轻(图 1)。

4 讨论

目前国内外已建立的实验性非酒精性脂肪肝体内模型主要有营养失调性脂肪肝模型、药物或化合物中毒性脂肪肝模型以及特殊种系动物的先天性遗传性脂肪肝模型等^[8]。其中在普通饲料中添加 2% 胆固醇和 10% 猪油饲养大鼠诱发的脂肪肝模型是目前国内最常用的模型之一,模型周期为 12~24 周,可形成非酒精性脂肪性肝炎^[9]。本实验采用单纯高脂饮食造模 12 周,利用干扰因素少,饮食结构接近人类日常饮食的特点,造成了典型的非酒精性脂肪性肝炎的病理状态,

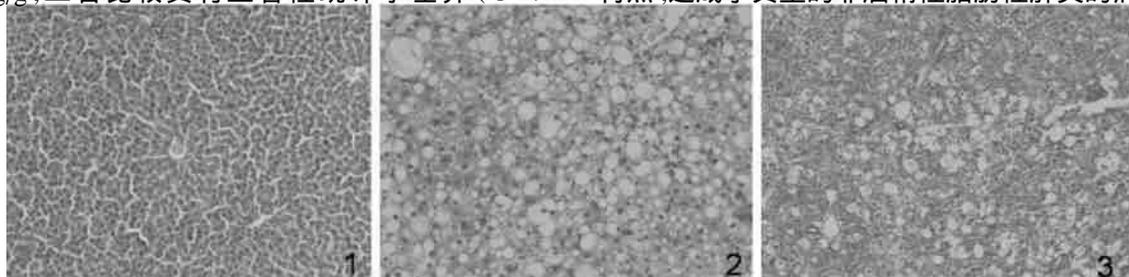


图 1 各组大鼠肝组织脂肪变性,HE 染色,×200

注:1~3 分别为正常组、模型组、中药防治组。

病理组织显示模型组大鼠肝组织的小叶结构紊乱,肝细胞变性,细胞体积增大;模型组肝组织 TG 含量和血清 TC 含量、ALT、AST 活性均比正常组明显增高。

传统医学并无“脂肪肝”这一名称,根据临床改变多将本病归属于中医痰浊、肥胖、积聚、胁痛、瘀血等范畴^[10-12],起因多为过食肥甘厚味、嗜酒过度,或七情内伤、湿热之邪壅滞肝脾,以致肝失疏泄、肝血瘀滞、脾失健运、聚湿成痰、痰阻气机、痰瘀互结而发病^[13]。而茵陈蒿汤方中重用茵陈为君药,以其善能利湿清热退黄;臣以栀子清热降火,通利三焦,引湿热从小便而出;佐以大黄泻热逐瘀,通利大便,导瘀热由大便而下。三药合用以利湿与泄热相伍,使二便通利,前后分消,湿热得行,瘀热得下^[14,15]。现在药理研究表明:茵陈蒿内含有蒿属香豆素、绿原酸、黄酮等提取物,可明显提高脂肪肝动物的抗氧化能力,恢复胰岛素敏感性,降低血糖血脂,降低 ALT、AST 活性和 TGF-β1 水平,明显抑制肝脏脂肪变性程度,保护肝细胞膜,减少肝脏胶原纤维增生^[16];栀子内含藏红花素,具有降血脂、抑制氧自由基活性、促进胆汁分泌及保护肝细胞膜等作用^[17];大黄的活性成分对脂质过氧化引起的炎症反应有保护作用^[18],增加小叶间胆汁分泌,促进胆汁排泄,减少胆固醇在血管内的沉积,还具有抑制胰脂肪酶活性,减少机体对脂肪的吸收,降低胆固醇水平^[19];而本实验进一步验证茵陈蒿汤可有效地抑制模型大鼠的体重和肝重的增加、降低血清 ALT、AST 活性及 TC 含量的作用,且可显著抑制肝脏 TG 含量及有效减轻大鼠肝组织的脂肪变性及炎症细胞浸润,证实该方能有效防治大鼠非酒精性脂肪性肝炎。

参考文献

[1] Portincasa P, Grattagliano I, Palmieri VO, et al. Current pharmacological treatment of nonalcoholic fatty liver[J]. CurrMed Chem, 2006, 13(24): 2889—2900.

[2] Neuschwander-Tetri B, Caldwell S. H. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. Hepatology, 2003, 37: 1202—1219.

[3] 范建高, 曾民德. 非酒精性脂肪性肝病的分类及其诊断策略[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11(2): 127—128.

[4] Day C, James O. Steatohepatitis: a tale of two “ hits ”? [J]. Gastroenterology, 1998, 114: 842—845.

[5] 冯琴, 张慧, 胡义扬, 等. 祛湿化痰方对单纯高脂饮食诱导的大鼠脂肪肝的防治作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2006(1): 26—29.

[6] 胡义扬. 脂肪肝的中医药治疗——一个值得深入研究的课题[J]. 中西医结合肝病杂志, 2001, 11(3): 129—130.

[7] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[S]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(3): 161—163.

[8] 范建高, 曾民德. 脂肪肝[M]. 复旦大学出版社, 2001: 58—72.

[9] 范建高, 曾民德. 脂肪性肝病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 205—206.

[10] 王利军, 扬学峰. 中医对脂肪肝的认识及辨证施治[J]. 中医研究, 2002, 15(1): 54—55.

[11] 叶味设. 中医对脂肪肝的认识及防治[J]. 中国热带医学, 2004, 4(6): 1023—1024.

[12] 徐列明, 胡义扬. 脂肪肝的中药治疗[M]. 中西医结合学报, 2003, 1(2): 138—140.

[13] 陈少东, 李红山, 冯琴, 等. 脂肪肝中医证型分类的文献分析[J]. 中西医结合肝病杂志, 2006, 16(4): 255—257.

[14] 贾孟辉, 和晓春, 贺晓慧. 茵陈蒿汤加味治疗脂肪肝 58 例[J]. 陕西中医, 2006, 12(12): 312—313.

[15] 吴其恺. 中西医结合治疗病毒性黄疸型肝炎 135 例[J]. 湖北中医杂志, 2000, (8): 15—16.

[16] 董岩, 王新芳, 崔长军, 等. 茵陈蒿的化学成分和药理作用的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4): 874—876.

[17] 倪慧艳, 张朝晖, 傅海珍. 中药栀子的研究和开发概述[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(7): 538—541.

[18] Arosio B, Cigliano N, Fasaro LM, et al. Aloe Emodin quinine pretreatment reduces acute liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Pharmacol Toxicol, 2000, 87(5): 229—233.

[19] 穆兆英, 时德芬, 尹少芬, 等. 大黄的临床应用与研究进展[J]. 中医药动态, 1996, 45(1): 16—17.

(本文校对:毛乾国 收稿日期:2008-10-21)

HPLC 法测定复方雪莲胶囊中芦丁的含量

张慧 沈阳市苏家屯区中医医院(110101) 赵翔 本溪市药品检验所(117000)

摘要:目的:应用高效液相色谱法测定复方雪莲胶囊中芦丁的含量。方法:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;流动相:乙腈-水-磷酸(5 95 0.2);检测波长为 356nm;流速:1.2ml/min。结果:芦丁的线性范围为 0.05928~0.53352μg (r=0.9999),回收率为 95.56~99.26%,RSD=1.56%。结论:本方法稳定,结果准确。

关键词:高效液相色谱法;复方雪莲胶囊;芦丁

doi:10.3969/j.issn.1003-8914.2009.02.009 文章编号:1003-8914(2009)-02-0214-02

复方雪莲胶囊是中国卫生部药品标准中药成方制剂第 19 册所载品种,用于类风湿关节炎,风湿性关节炎