

栀子与茵陈蒿汤对非酒精性脂肪性肝病大鼠脂质代谢及血清酶学影响的比较

李晶, 刘益华, 林曼婷, 陈少东, 周海虹

(厦门大学医学院中医系, 厦门 361005)

摘要:目的: 观察比较栀子与茵陈蒿汤对非酒精性脂肪性肝病大鼠脂质代谢及血清酶学的影响。方法: 用高脂饮食建立大鼠非酒精性脂肪肝模型, 自造模第6周起, 28只大鼠被随机分为模型组、栀子组、茵陈蒿汤组和易善复组, 每组7只, 灌胃饮用水或给药5周。通过肝脏组织HE染色观察肝组织病理学; 肝功酶试剂盒及血脂试剂盒检测大鼠血清生化指标及肝组织甘油三酯(TG)含量。结果: 模型组大鼠肝脏存在明显脂肪变性, 并可见炎症细胞浸润, 肝组织TG、血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量、血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性均显著升高($P < 0.01$), 血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量显著降低($P < 0.01$); 栀子组、茵陈蒿汤组大鼠肝脂肪变性及炎症反应较模型组明显减轻, 肝组织TG、血清TG、TC含量、血清ALT、AST活性均较模型组显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$), 血清HDL-C则显著升高($P < 0.01$); 栀子组在降低血清ALT及血清TC含量方面优于茵陈蒿汤组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论: 栀子与茵陈蒿汤均能明显改善脂肪性肝病大鼠肝组织病理学变化, 对非酒精性脂肪性肝病有较好的干预作用, 而栀子改善胆固醇代谢及抗炎症损伤方面, 效果优于茵陈蒿汤。

关键词: 茵陈蒿汤; 栀子; 非酒精性脂肪性肝病; 脂质代谢; 肝功能

基金资助: 厦门市重大科技计划项目 (No.3502Z20100006)

Comparison of the effects of Yinchenhao Decoction and gardenia on the lipid metabolism and serum enzymology in rats with non-alcohol fatty liver

LI Jing, LIU Yi-hua, LIN Man-ting, CHEN Shao-dong, ZHOU Hai-hong

(Department of Traditional Chinese Medicine, Medical College, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Objective: To observe and compare the effects of Yinchenhao Decoction (Decoction for lipid-lowering and recovery of hepatic function) and gardenia on the lipid metabolism and serum enzymology in rats with non-alcohol fatty liver. Methods: Rat models with non-alcohol fatty liver established by feeding with high fat food. Since the sixth week, 28 rats were randomly divided into 4 groups. They were the Model group, gardenia group, Yinchenhao Decoction group and the polyene phosphatidylcholine capsules group. Each of them had 7 rats. They were incubated with drinking water or the medicine for 5 weeks. Then, the pathological examination of liver tissues was performed under a microscope by HE staining, the Hepatic tissue TG and biochemical indices of liver function and blood lipid were measured. Results: The livers of the model group existed obvious fatty denaturation, and they also have inflammatory cell infiltration. The hepatic tissue TG, serum total cholesterol (TC), tralcyeride (TG), serum levels of alanine transaminase (ALT), aspartic transaminase (AST) increased in model group ($P < 0.01$), the high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) decreased remarkable ($P < 0.01$). The liver fatty denaturation in Yinchenhao Decoction group and gardenia group reduced than that in model group, and the hepatic tissue TG, TC, TG, serum levels of ALT, AST decreased in Yinchenhao Decoction group and Gardenia group ($P < 0.05$, $P < 0.01$) as compared with those of the model group, and HDL-C increased remarkable ($P < 0.01$). Conclusion: Yinchenhao Decoction and gardenia are effective in improving the pathological changes and the pathological changes in hepatic tissues. And they all have the intervening effect on the nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) model in rat, moreover, gardenia is better than Yinchenhao Decoction in cholesterol metabolism and the resistance in inflammation lesions.

Key words: Yinchenhao Decoction; Gardenia; Non-alcohol fatty liver; Lipid metabolism; Hepatic function

Fund assistance: Major Technical Plan of Xiamen (No.3502Z20100006)

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一种与胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 和遗传易感密切相关的代谢应激性脂肪性肝脏损伤, 其病理学改变与酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 相似, 但患者无过

量饮酒史, 疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝 (non-alcoholic simple fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 及其相关肝硬化和肝细胞癌。近年来, 随着人们生活方式及饮食结构改变等多种因素的影响, NAFLD

发病率逐年增加,已成为严重威胁人们健康的常见病和多发病^[1]。因此,积极防治本病具有重要的社会和经济意义。由于NAFLD发病机制复杂,尽管目前中西医治疗本病均取得一定进展,但仍缺乏特效治疗方法。

本课题组既往临床实践与基础研究表明,经典名方“茵陈蒿汤”通过调节脂质代谢、抗炎症损伤、抗脂质过氧化损伤、抗肝脂毒性损伤等多途径、多靶点、多环节实现抗脂肪肝的药理效应^[2-3];并运用数学模型“均匀设计法”剖析茵陈蒿汤改善脂质代谢,抗炎症损伤的主要效应中药是栀子,其发挥效应最优剂量为0.15g(换算成人量为9g)^[4]。为此,本研究模拟当前人类生活状况,采用高脂饲料喂养建立大鼠NAFLD模型,观察栀子对大鼠脂质代谢、血清酶学及肝组织病理学变化的影响,并与茵陈蒿汤药理效应进行比较。

材料与方

1. 动物 清洁级SD雄性大鼠35只,体质量(180±10)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物许可证号:SCXK(沪)2007-0005。于厦门大学医学院实验动物中心适应性饲养2周后造模。

2. 药物与试剂 茵陈蒿汤组成:茵陈18g,栀子9g,大黄9g。中药饮片均购自同仁堂股份有限公司厦门分公司。采用传统水煎提取工艺,茵陈蒿汤按处方比例浓缩成0.6g生药/mL,栀子浓缩为0.15g生药/mL,易善复(多烯磷脂酰胆碱, Polyene Phosphatidylcholine)加水制备成0.015g/mL的混悬液,冷藏备用。甘油三酯(TG)试剂盒(F001-1),血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒(F003-1),肝素溶液(A051-1),肝功酶试剂盒,均购自南京建成生物制品研究所。

3. 造模与分组给药 将35只大鼠随机分为高脂饮食造模组28只,每天予以高脂饲料(83.25%基础饲料、10%猪油、1.5%胆固醇、0.2%脱氧胆酸钠、5%糖、0.05%丙硫氧嘧啶)喂养,正常组7只,每天予以大鼠正常饲料喂养,期间均自由饮水。

造模6周后,再按随机数字表将造模组大鼠随机分为模型组、茵陈蒿汤组、栀子组和易善复组,每组7只。药物组按1mL/100g体质量每天灌胃给药1次(茵陈蒿汤组含生药量0.6g/mL,栀子组含生药量0.15g/mL,易善复组含0.015g/mL),模型组和正常组给予饮用水1mL/100g体质量。期间模型组与药物组始终维持高脂饲料喂养,正常组维持普通饲料喂养。用药至第5周末,末次给药后,禁食不禁水12h,麻醉处死全部大鼠。

4. 样本获取 大鼠全麻后称重,然后心脏采血获取血清样本,最后处死大鼠,迅速取出肝脏称肝湿重,同时获得肝脏样本。

5. 观测指标及方法

5.1 肝组织病理学变化 肝脏组织病理学切片,HE染色,光镜下观察肝细胞脂肪变性程度。

5.2 肝组织TG测定 取200mg湿肝,加入乙醇-丙酮(1:1)液3mL,制备肝组织匀浆液4,3 000r/min离心10min,提取上

清液,用TG试剂盒检测。

5.3 生化指标检测 按肝功酶试剂盒及血清试剂盒操作说明测定门冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、血清TG、血清总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)。

6. 统计学方法 所有数据均使用SPSS 13.0软件包进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。组间比较用单因素方差分析,Q检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 各组大鼠肝组织病理学变化 见图1。正常组大鼠肝小叶结构完整,肝细胞排列成肝索,在中央静脉周围放射状分布,肝细胞呈不规则多角形或卵圆形,细胞质丰富,小叶内无炎症细胞浸润;模型组大鼠肝组织肉眼可见肿大而软,外观呈黄红和灰红相间,表面及切面油腻。光镜下存在明显脂肪变性,小叶内的细胞布满脂肪空泡,小叶中央区受累明显,并可见炎症细胞浸润,肝细胞肿大变圆,胞浆疏松,内含大的脂肪滴,细胞核被推挤到细胞一侧,呈现不同程度的水肿变性,表明模型理想。栀子组外观色泽接近于正常组,茵陈蒿汤组肝脏颜色偏灰,易善复组外观颜色偏红。茵陈蒿汤组和栀子组大鼠肝脂肪变性及炎症反应较模型组明显减轻,肝细胞体积变小,肝小叶轮廓清晰,脂肪滴数量减少。

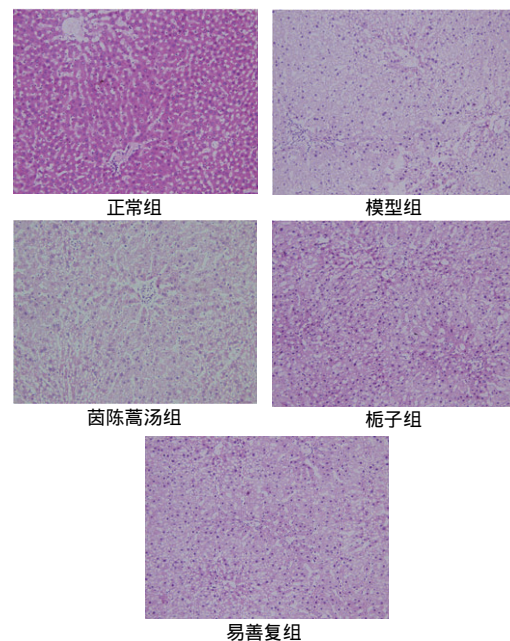


图1 大鼠肝组织(HE×200)

2. 各组大鼠肝组织TG含量变化 见表1。与正常组比较,模型组大鼠肝组织TG含量大幅度升高($P < 0.01$);与模型组比较,栀子组和茵陈蒿汤组均能显著降低大鼠肝脏TG含量($P < 0.01$),易善复组对降低肝脏TG也有统计学意义($P < 0.05$)。

3. 各组大鼠生化指标检测结果的比较

3.1 各组大鼠AST和ALT比较 见表1。与正常组比较,模型

表1 药物组对非酒精性脂肪性肝病大鼠的影响($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	肝TG (mmol/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	血清TG (mmol/L)	血清TC (mmol/L)	HLD-C (mmol/L)
正常组	0.41±0.11	4.67±1.64	18.85±3.90	0.23±0.05	1.84±0.45	1.02±0.19
模型组	0.87±0.25**	32.60±9.53**	42.66±11.78**	0.79±0.17**	15.91±3.59**	0.46±0.07**
栀子组	0.46±0.08	13.93±3.56	30.61±6.51	0.51±0.15	7.85±2.46	0.61±0.12
茵陈蒿汤组	0.48±0.17	19.49±6.94	27.45±14.29	0.48±0.14	11.88±2.28	0.66±0.22
易善复组	0.56±0.24	24.18±3.28	37.95±12.56	0.77±0.18	12.71±2.08	0.55±0.12

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$, $P<0.01$;与栀子组比较,* $P<0.05$, $P<0.01$;与易善复组比较,* $P<0.05$, $P<0.01$ 。

组大鼠血清ALT、AST活性显著升高($P<0.01$);与模型组比较,栀子组大鼠ALT显著降低($P<0.01$),茵陈蒿汤组和易善复组也能明显降低ALT($P<0.05$)。此外,栀子组的ALT活性与茵陈蒿汤组及易善复组相比,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$),提示栀子抗炎损伤作用较优;栀子组、茵陈蒿汤组均能明显降低大鼠AST($P<0.05$),易善复组对AST降低无统计学意义。

3.2 各组大鼠血脂比较 见表1。与正常组比较,模型组大鼠血清TG、TC含量显著升高($P<0.01$),HDL-C含量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,栀子组、茵陈蒿汤组均能显著降低血清TG($P<0.05$),显著升高HDL-C水平($P<0.01$);易善复组无明显差异,且栀子组、茵陈蒿汤组降低血清TG含量明显优于易善复组($P<0.05$, $P<0.01$);3个药物组均能明显降低血清TC($P<0.05$, $P<0.01$),栀子组在降低TC含量方面显著优于茵陈蒿汤组和易善复组($P<0.01$)。

讨论

中医学中并无“脂肪肝”病名,根据临床表现可以归属于“癥积”、“肥气病”、“痰浊”、“胁痛”等范畴。“十一五”国家中医药管理局中医肝病重点专科协作组将NAFLD的中医病名定为“肝癖”。目前普遍认为,本病起因多为过食肥甘厚味、饮食不节,或七情内伤,或感受湿邪,或久病体虚引起肝失疏泄,脾失健运,肾精亏损,湿邪、痰浊、瘀血等病理因素互结胁下所致^[5]。

茵陈蒿汤出自《伤寒论》,具有清热利湿、泻火解毒、活血化痰功效,方中重用茵陈为君药,以其善能清利肝胆湿热;臣以栀子清热降火,通利三焦,引湿热自小便而出;佐以大黄泻热逐瘀,通利大便,导瘀热由大便而下。三药合用,切合脂肪肝“湿热”、“痰积”的病机特点,故临床用茵陈蒿汤治疗脂肪肝取得较好疗效^[6]。

基于临床实践与既往研究表明,茵陈蒿汤对NAFLD有良好的干预作用,经运用均匀设计法剖析该方降低肝组织TG和抗炎症损伤的主要效应中药是栀子^[2-4]。本实验结果显示,3个药物组均能改善脂肪肝大鼠肝脏的病理学组织变化;茵陈蒿汤与栀子均能显著降低血清ALT、AST活性及TC、TG含量($P<0.05$, $P<0.01$),显著降低肝脏TG含量,作用优于易善复,再次证实了茵陈蒿汤抗脂肪肝的作用。而栀子在降低血清ALT及血清TC含量方面明显优于茵陈蒿汤,验证了均匀设计法“筛选”出的结果,也表明“均匀设计法”对剖析中药复方不同作用途径及靶

点的效应中药具有重要方法学意义。对于栀子药理效应的作用机制及确切物质基础有待进一步探索。

参考文献

- [1] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会.非酒精性脂肪性肝病的中西医结合诊疗共识意见.中国中西医结合杂志,2011,31(2):155-158
Association of Professional Committee of Digestive System Diseases in the Integration of Traditional and Western Medicine.Consensus of opinion about diagnosis and treatment of traditional Chinese and western medicine on non-alcoholic fatty liver disease.Chinese Journal of Integrative Medicine,2011,31(2):155-158
- [2] 梁惠卿,陈少东,张其清,等.茵陈蒿汤防治大鼠非酒精性脂肪性肝炎的实验研究.光明中医,2009,23(2):212-214
LIANG Hui-qing,CHEN Shao-dong,ZHANG Qi-qing,et al.Study Intervening effect of Yinchenhao Decoction on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) model in rats.Guangming Journal of Chinese Medicine,2009,23(2):212-214
- [3] 陈少东,周海虹,李雪梅,等.茵陈蒿汤抗游离脂肪酸对HepG2细胞脂毒性作用的效应中药的研究.中华中医药杂志.2010,25(9):1381-1384
CHEN Shao-dong,ZHOU Hai-hong,LI Xue-mei,et al.Inhibitory effects of Yinchenhao Decoction on fatty deposition and TNF- α secretion in HepG2 cells induced by free fatty acid.China Journal of TCM and Pharmacy,2010,25(9):1381-1384
- [4] 徐维佳,范应,陈少东,等.基于均匀设计法筛选茵陈蒿汤抗脂肪肝脂质代谢异常的效应组分.中国医院药学杂志,2011,31(4):274-277
XU Wei-jia,FAN Ying,CHEN Shao-dong,et al.Screening depending uniform design on the active ingredients of Yinchenhao decoction in regulating fatty liver's lipid metabolism.Chinese Journal of Hospital Pharmacy,2011,31(4):274-277
- [5] 谢晶日,齐妍.中医药治疗非酒精性脂肪性肝病的研究概况.中药杂志,2010,51(6):560-562
XIE Jing-ri,QI Yan.The general situation of researching the treatment to non alcoholic fatty liver by traditional Chinese medicine.Journal of TCM,2010,51(6):560-562
- [6] 贾孟辉,和晓春,贺晓慧.茵陈蒿汤加味治疗脂肪肝58例.陕西中医,2006,12(12):312-313
JIA Meng-hui,HE Xiao-chun,HE Xiao-hui.Treatment of fatty liver with modified Yinchenhao Decoction on 58 cases.Shanxi Journal of TCM,2006,12(12):312-313

(收稿日期:2011年6月18日)