

加味温胆汤抗大鼠营养性肥胖的机制探讨

姚凤云, 刘春花, 刘成, 王小芳, 王炳志*
(江西中医学院基础医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:从血清总超氧化物歧化酶(T-SOD)、一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)含量和肝、脂肪组织病理学改变角度探讨加味温胆汤抗大鼠营养性肥胖的机制。方法:采用“高脂乳剂+普通饲料”双重喂养法复制大鼠营养性肥胖模型。雄性断乳SD大鼠30只,按体重均匀分为空白对照组、模型对照组和加味温胆汤组,每组10只。各组动物每天均喂饲普通饲料,除空白对照组外,其余组动物每天上午灌胃给予自制高脂乳剂 $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 造模,连续4周。从第5周开始,于每天下午灌胃给予实验组加味温胆汤($7.74\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),空白对照组与模型对照组给同体积水,连续4周。末次给药后,禁食不禁水12 h,取血清检测T-SOD,NO,MDA水平;分离肝、脂肪组织,10%甲醛溶液固定,常规制片,HE染色,光镜下观察肝、脂肪细胞的病变。结果:加味温胆汤组大鼠血清NO含量明显低于模型组($P<0.01$);大鼠肝细胞界限清楚,排列整齐,脂变肝细胞散在;脂肪细胞数量增多,体积减小。结论:加味温胆汤抗大鼠营养性肥胖的机制可能与降低血清NO水平、对抗肝细胞脂肪变性、缩小脂肪细胞体积等有关。

[关键词] 加味温胆汤; 营养性肥胖; 一氧化氮; 机制研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0280-03

[doi] 10.11653/syjf2013190280

On the Mechanism of Jiawei Wendan Decoction Fighting Nutritional Obesity of Rats

YAO Feng-yun, LIU Chun-hua, LIU Cheng, WANG Xiao-fang, WANG Bing-zhi*

(Basic Medical Sciences School, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the mechanism of Jiawei Wendan decoction fighting the nutritional obesity of rats by the contents of serum levels of total superoxides, such as dismutase (T-SOD), nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), and the aspect of the pathological changes of liver and adipose tissue. **Method:** Adopting the double feeding method of high fat emulsion and general feed to copy the model of rats with nutritional obesity. Thirty male SD rats of ab lactation were equally divided into the blank control group, model control group and the Jiawei Wendan decoction group. Animals in each group were fed with normal diet every day. Except the control group, animals in the other two groups were treated with intragastric administration of self-made high fat emulsion ($20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$) every morning for 4 weeks. From the fifth week to the eighth week, Jiawei Wendan decoction $7.74\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ was given every afternoon orally, and animals in the control group and model control group were given with the same volume of water. After the last administration, there was a fasting of 12 h, but water was available. The serum level of T-SOD, NO, MDA were tested; separating liver and adipose tissue, hematoxylin and eosin (HE) staining, and the structure and pathological change of liver, adipose cells were observed under optical microscope. **Result:** The serum NO content in the experimental scattered Jiawei Wendan decoction group was significantly lower than those in the model group ($P<0.01$); the rats' liver cell boundaries

[收稿日期] 20130311(027)

[基金项目] 江西省科技支撑计划(20132BBG70040);江西省自然科学基金项目(20132BAB205084);江西省教育厅科技项目(GJJ13613, GJJ09549);江西中医学院重点学科青年基金项目(2012jzdxk018)

[第一作者] 姚凤云, 博士, 副教授, 从事方剂配伍规律与现代研究, Tel:0791-87118923, E-mail: hrbyaoyao2000@163.com

[通讯作者] * 王炳志, 高级实验师, 从事复方药理研究, Tel:0791-87118626, E-mail: wzbz1123@163.com

are clear and neat; with scattered fatty degeneration of liver cells; the number of fat cells increased and the volume of these cells decreased. **Conclusion:** The mechanism of Jiawei Wendan decoction for anti-nutritional obesity in rat may be related to the decrease in the level of serum NO, fighting against the fatty degeneration of liver cells, and reducing the volume of fat cell.

[**Key words**] Jiawei Wendan decoction; nutritional obesity; nitric oxide; mechanism study

目前,我国肥胖人口已突破 7 000 万。肥胖已与艾滋病、吸毒、酗酒并列为世界性四大医学社会问题^[1-3]。科学地防治肥胖已经成为全世界人民共同关注的社会问题^[4]。前期课题组以“祛痰”为核心,对加味温胆汤抗大鼠营养性肥胖的药效学进行了拆方研究,结果表明该方具有较好的减肥作用,且其作用是通过理气、健脾、益气、活血、祛痰药之间综合配伍实现的^[5]。本文着重从血清 T-SOD 活性、NO、MDA 含量和肝、脂肪组织病理学角度进行探讨,以初步阐明加味温胆汤抗营养性肥胖的机制。

1 材料

1.1 药材 所用药材黄芪、清半夏、竹茹、白芥子、枳实、陈皮、茯苓、丹参、甘草,均购自江西黄庆仁棧华氏大药房有限公司。

1.2 试剂 胆固醇(国药集团化学试剂有限公司,批号 F20071129),猪胆盐(北京奥博星生物科技技术有限责任公司,批号 20081011),蔗糖(西陇化工股份有限公司,批号 1106132),戊巴比妥钠(上海化学试剂采购供应站分装厂,批号 86-01-22),一氧化氮(NO)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒:均由南京建成生物工程研究所生产,批号分别为 20111115,20111114,20111115。

1.3 动物 SD 雄性大鼠,体重(110 ± 20)g,清洁级,由江西中医学院实验动物中心繁殖提供,许可证号为 JXDWN02011-0449。

1.4 高脂乳剂 每 100 mL 乳剂内含煮鸡蛋黄 20 g,花生酱 10 g,全脂奶粉 15 g,纯芝麻油 10 g,胆固醇 2 g,猪胆盐 1 g,蔗糖 5 g,用料理机充分研磨均匀,现用现配。鲜鸡蛋(江西洪客隆有限责任公司),全脂奶粉(雀巢集团),花生酱[联合利华(中国)有限公司,批号 201108266AH4],纯芝麻油(湘阴县浏阳河油业有限公司,批号 201109010)。

1.5 仪器 UV-1800 型紫外-可见分光光度计(岛津公司),CT14RD 型低温冷冻离心机(上海天美生化仪器设备工程有限公司),BT25S 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器公司),RM2245 型切片器(德国徕卡),CKX-41 型荧光倒置显微镜(日本奥林巴斯),JYL-A100 型料理机(九阳股份有限公司)。

2 方法

2.1 分组 大鼠按体重均匀分为空白对照组、模型对照组、加味温胆汤组,每组 10 只。

2.2 药物及制备 处方组成:黄芪 15 g,清半夏 8 g,竹茹 10 g,白芥子 10 g,枳实 10 g,陈皮 8 g,茯苓 10 g,丹参 12 g,甘草 3 g,生姜 10 g,大枣 1 枚,加 10 倍量水,浸泡 30 min,煎煮 2 次,每次 40 min,滤过,合并 2 次滤液,浓缩为含生药 1 g·mL⁻¹,放置 4 ℃ 冰箱备用。

2.3 实验方法 各组动物均喂饲普通饲料,正常饮水,除空白组外,其余各组动物每天上午 ig 给予高脂乳剂,20 mL·kg⁻¹,连续 4 周。从第 5 周开始,于每天下午 ig 给予加味温胆汤 7.74 g·kg⁻¹,空白对照组与模型组给同体积的水,连续 4 周。在给药时依然给予高脂乳剂。每周称 1 次体重,每 4 天计算 1 次日均摄食量,连续 8 周。各组动物末次给药后,禁食不禁水 12 h,称重,戊巴比妥钠麻醉(30 mg·kg⁻¹),开腹,自腹主动脉采血 6 mL,室温静置 10 min,3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,分离血清,分别在 550,532 nm 处测定 NO,T-SOD 和 MDA;分离大鼠肝脏和肾、生殖器周围脂肪,精细称重后,分别取相同部位组织 1 cm × 1 cm,10% 甲醛溶液固定,常规制片,切片厚度 5 ~ 7 μm,HE 染色,光镜下观察肝、脂肪细胞的结构与病理改变。

2.4 统计方法 采用 SPSS 17.0 软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较用 *t* 检验,*P* < 0.05 为有统计意义。

3 结果

3.1 对大鼠摄食量和体重的影响 模型组和加味温胆汤组大鼠日均摄食量均明显少于空白组(*P* < 0.01);给药 4 周,加味温胆汤组和空白组的大鼠体重明显低于模型组(*P* < 0.01)。见表 1。

3.2 对大鼠血清 T-SOD 活性,NO 和 MDA 含量的影响 加味温胆汤组大鼠血清 NO 含量明显低于模型组(*P* < 0.05)。T-SOD 及 MDA 未见明显改变。见表 2。

3.3 对大鼠肝组织病理学的影响 与模型对照组相比,加味温胆汤组大鼠肝组织结构清楚,肝索排列清晰,偶见肝细胞脂肪变性。见图 1。

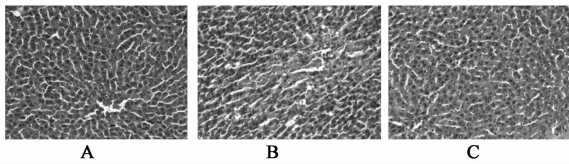
表 1 加味温胆汤对大鼠摄食量和体重的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	摄食量/ $\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$	体重/g	
			给药前	给药 4 周
空白	-	33.28 ± 3.73 ²⁾	290.73 ± 14.47	410.17 ± 21.60 ²⁾
模型	-	28.02 ± 3.58 ⁴⁾	299.97 ± 22.50	436.35 ± 29.34
加味温胆汤	7.74	26.17 ± 3.63 ⁴⁾	299.83 ± 18.79	400.31 ± 25.42 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与空白组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 加味温胆汤对大鼠血清 T-SOD, NO, MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	T-SOD/ $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$	NO/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$
空白	-	60.33 ± 10.99	21.33 ± 12.51	16.07 ± 7.49
模型	-	62.02 ± 10.39	30.15 ± 8.73	17.45 ± 8.70
加味温胆汤	7.74	65.21 ± 2.60	21.7 ± 7.43 ¹⁾	14.79 ± 7.39



A. 空白组; B. 模型组; C. 加味温胆汤 7.74 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 2 同)

图 1 加味温胆汤对大鼠肝组织病理学的影响(HE 染色, $\times 200$)

3.4 加味温胆汤对大鼠脂肪组织病理学的影响

与模型对照组相比,加味温胆汤组大鼠脂肪细胞体积减小明显。见图 2。

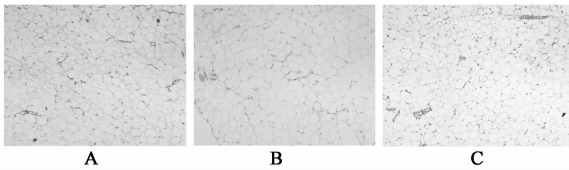


图 2 加味温胆汤对大鼠脂肪组织病理学的影响(HE 染色, $\times 100$)

4 讨论

祖国医学认为:肥胖与痰湿有关^[6-8]。朱丹溪在《丹溪治法心要》中首次提出“肥白人多痰湿”的观点。陈修园认为“大抵禀素之盛,从无所苦,惟是湿痰颇多”。清·张璐也指出:“膏粱过厚之人,每多痰。”现代名老中医蒲辅周认为:“能食肌丰而胖者,体强也;若食少而肥者,非强也,乃病痰也。”而汪昂则认为“肥人多痰,乃气虚也,虚则血不能运行,故痰生之。”虞抟也指出“肥人大概是气虚挟痰”。另外,中医学认为津血同源互生,血液的正常运行与津液代谢之间具有密切联系,肥胖与痰血具有相关性,正如张景岳所言:“津液者血之余,行乎脉外,流通全身,如天之清露,若血浊气涩,则凝聚不行。”综上所述,笔者认为肥胖的病机与痰、瘀、虚有关。

温胆汤是经过长期临床实践留传下来的祖国医学的宝贵遗产,具有历史悠久,临床应用广泛,治疗疾病众多的特点,是临床治疗“痰湿、痰热郁阻”证的方中佳选^[9-10]。笔者基于肥胖“气虚为本,痰瘀为

标”的假说,在《三因极一病症方论》之温胆汤基础上加入黄芪、白芥子、丹参 3 味药物,取名“加味温胆汤”,具有益气健脾、化痰逐瘀之功。本文从血清 T-SOD, NO 和 MDA 水平和肝、脂肪组织病理学改变角度探讨其抗大鼠营养性肥胖的机制。结果表明:加味温胆汤组大鼠血清 NO 含量明显低于模型对照组;大鼠肝组织结构清楚,肝索排列清晰,偶见肝细胞脂肪变;脂肪细胞体积减小明显。加味温胆汤抗大鼠营养性肥胖的机制可能与降低血清 NO 水平、对抗肝细胞脂肪变性、缩小脂肪细胞体积等有关。

【参考文献】

- [1] 姚风云,王炳志,杨伟鹏,等. 降脂减脂胶囊的主要药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(7):52.
- [2] 张质夫,王振华. 肥胖的危害[J]. 中国社区医师, 2012, 14(20):346.
- [3] 田坚. 二十一世纪人类健康的杀手——肥胖症[J]. 沈阳医学院学报, 2003, 5(1):1.
- [4] 章涵,赵玉霞. “辨证施食”治疗肥胖[J]. 职业与健康, 2008, 24(14):1460.
- [5] 姚风云,彭仁才,刘成,等. 加味温胆汤及其拆方配伍抗大鼠营养性肥胖的药效学研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(8):1923.
- [6] 柳义明. 中药从痰湿论治单纯性肥胖症研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2009:12.
- [7] 王毅. 中医论治肥胖症[J]. 中国民族民间医药, 2012, 21(18):13.
- [8] 段阳泉. 从痰论治肥胖症验案举例[J]. 浙江中医杂志, 2008, 43(10):596.
- [9] 王燕. 温胆汤对实验性高血脂症大鼠的药效学研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2007:3.
- [10] 李佳楠. 温胆汤降脂作用研究[D]. 成都:四川大学, 2003:6.

[责任编辑 李玉洁]