

茵陈蒿汤对高脂饮食诱导大鼠 非酒精性脂肪性肝炎的药效学观察

刘莹¹, 张会存¹, 段娜², 李健³, 李军祥^{1*}

(1. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078; 2. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700;
3. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] **目的:**探讨经方茵陈蒿汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的药效作用。**方法:**以高脂饲料喂养SD雄性大鼠8周建立NASH大鼠模型,随机分为模型组、茵陈蒿汤高剂量组、茵陈蒿汤低剂量组、复方益肝灵组及自愈组。茵陈蒿汤高、低剂量组、复方益肝灵组于第9周起分别给予茵陈蒿汤高剂量 $4.97\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、低剂量 $3.31\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、复方益肝灵 $1.265\times 10^{-2}\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 治疗4周,自愈组恢复正常饮食。4周后观察药物对大鼠血清脂质、肝脏脂质、血清胰岛素含量及抗氧化指标的影响,对肝组织进行常规HE、油红O染色。**结果:**茵陈蒿汤低剂量能明显降低模型大鼠血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C),血清和肝内丙二醛(MDA)、肝脏游离脂肪酸(FFA)含量,增加血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性、降低血清胰岛素(Ins)含量($P<0.05, P<0.01$),改善高胰岛素血症和肝组织脂质沉积的病理状态。茵陈蒿汤高剂量对血清TG,MDA,GSH-Px,Ins,肝内FFA部分指标有所改善($P<0.05, P<0.01$)。**结论:**茵陈蒿汤低剂量对改善大鼠NASH的作用优于高剂量。茵陈蒿汤低剂量能够有效针对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病的“二次打击”机制调节高脂饮食诱导的大鼠脂质代谢紊乱和高胰岛素血症状态,增强抗氧化能力、清除自由基代谢产物,抑制脂质过氧化反应,从而达到治疗NASH的作用。

[关键词] 茵陈蒿汤; 高胰岛素血症; 非酒精性脂肪性肝炎; 脂质代谢紊乱

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0217-06

Effects of Yinchenhao Decoction on Non-alcoholic Steatohepatitis Rats Induced by High Fat Diet

LIU Ying¹, ZHANG Hui-cun¹, DUAN Na², LI Jian³, LI Jun-xiang^{1*}

(1. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China;
2. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;
3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Yinchenhao Decoction (YCHD) on non-alcoholic steatohepatitis (NASH) rats induced by high fat diet. **Method:** NASH model in SD rats was established by feeding high fat diet for 8 weeks, and then the rats were randomized into model group, YCHD high dose group, YCHD low dose group, composite prescription Yiganling group, natural recovery group. Rats in medication groups were administrated ig with corresponding herbs from the 9th week, YCHD groups ($4.97, 3.31\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), prescription Yiganling group ($1.265\times 10^{-2}\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and natural recovery group was given normal diet. After treatment for 4 weeks, the influence of the treatments on blood lipids, liver lipids, antioxidant indexes and serum insulin contents were investigated. Hepatic tissues were detected by HE and oil red staining. **Result:** The level of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low density lipoprotein (LDL-C), malondialdehyde (MDA), insulin (INS), free

[收稿日期] 20120106(010)

[第一作者] 刘莹,在读博士生,从事中医药防治肝病的研究,Tel:010-67689766,E-mail:at00@sina.com

[通讯作者] *李军祥,教授,主任医师,医学博士,从事中医药防治萎缩性胃炎和胃癌前期病变研究,中医药防治脂肪肝和肝纤维化的研究,Tel:010-67689766,E-mail:lijx970508@sohu.com

fatty acids (FFA), MDA in liver of YCHD low dose group were significantly lower than those of model group. The activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) was significantly higher than that of model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). It can improve the steatosis of liver in rats with NASH. Meanwhile, the level of TG, Ins, MDA in serum and FFA in liver of YCHD high dose group were also significantly lower than those of model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** YCHD low dose is better than high dose on rats NASH model. YCHD low dose has good effects on NASH rats feeding by high fat diet with disorders of lipid metabolism and hyperinsulinemia for the pathogenesis of NAFLD 'two-hit' mechanism by enhancing antioxidant ability and clearing free radical metabolites as well as inhibiting lipid peroxidation.

[**Key words**] Yinchenhao decoction; hyperinsulinemia; non-alcoholic steatohepatitis; lipid metabolism disorders

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。其包括非酒精性单纯性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 及其相关的非酒精性脂肪性肝硬化和肝细胞癌。其中, NASH 为 NAFL 向肝硬化转化过程中的限速步骤, 是隐源性肝硬化的重要原因之一, 其发病与 IR、脂质代谢紊乱、氧应激及脂质过氧化等多种因素相关^[1]。现代研究证实, 茵陈蒿汤具有良好的保肝利胆、改善肝功能等作用, 对急性肝损伤、酒精性肝病等多种肝胆疾病具有显著疗效^[2-5], 并且已有研究表明^[6], 茵陈蒿汤能改善 NASH 模型大鼠的肝功能, 下调血清转氨酶水平, 调节肝脏脂质代谢, 减少肝组织 TG、血清 TC 含量, 减轻肝细胞脂肪性变及炎症细胞浸润。

本研究在已建立的高脂饮食诱导的大鼠 NASH 模型的基础上, 初步观察茵陈蒿汤对 NASH 的疗效, 为后续茵陈蒿汤拆方治疗 NASH 配伍规律及作用机制研究奠定基础。

1 材料

1.1 动物及饲料 据文献报道^[7], 本实验选用 SD 雄性大鼠, 体重 (120 ± 20) g。北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物许可证号 SCXK (京) 2006-0009。基础饲料和高脂饲料 (88% 基础饲料 + 10% 猪油 + 2% 胆固醇) 由北京科澳协力饲料有限公司加工制作, 合格证编号 SLXK (京) 2005-0007。

1.2 药物 茵陈蒿汤颗粒, 购自北京东方医院配方颗粒制剂室。依《伤寒论》236 条原文^[8], 折合现代剂量: 茵陈 18 g, 栀子 9 g, 大黄 6 g, 比例为 3: 1.5: 1。用药剂量按实验动物与人体体表面积比等效量计算

动物等效剂量, 得出大鼠茵陈蒿汤生药给药量为: 3.31 g·kg⁻¹, 以该剂量 + 50% 为高剂量 4.97 g·kg⁻¹。阳性药物复方益肝灵片 (水飞蓟素、五仁醇浸膏等), 北京双鹤现代医药技术有限责任公司批号 Z11020330, 给药量为 1.265 × 10⁻² g·kg⁻¹。

1.3 试剂 总胆固醇 (TC) 试剂盒, 批号 20110920; 甘油三酯 (TG) 试剂盒, 批号 20110922; 高密度脂蛋白 (HDL-C) 试剂盒, 批号 20111005; LDL-C 试剂盒, 批号 20111006, 均为中生北控生物科技股份有限公司生产。超氧化物歧化酶 (SOD) 测试盒, 批号 20110930; MDA 测试盒, 批号 20110928; 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 测试盒, 批号 20110925; 胰岛素 (Ins) 试剂盒, 批号 20110926; 游离脂肪酸 (FFA) 测试盒, 批号 20110925, 均由南京建成科技有限公司提供。

1.4 仪器 7160 全自动生化仪 (日本日立公司), STAT FAX 2100 全自动酶标仪 (Awareness Technology Inc. USA), UCT 型超薄切片机 (德国莱卡公司), YDS-50 型液氮罐 (北京信康亿达科技发展有限公司), MR23i 台式高速低温离心机 (美国 Thermo 公司), BT224S 电子天平 (德国 Sartorius 公司), -80 °C 冰箱 (美国 Thermo 公司), HB-202 恒温水浴箱 (北京中西远大), 摄像系统 B60-32FB3-F01 型显微镜 (Olympus) 等。

2 方法

2.1 模型的建立 以高脂饲料连续饲喂 8 周, 自由饮水、摄食, 建立 NASH 大鼠模型。

2.2 分组及处置 适应性喂养 1 周后, 随机抽取 7 只为正常组, 以基础饲料喂养, 其余大鼠以高脂饲料喂养 8 周建立 NASH 模型, 随机分为 5 组 ($n = 7$): 模型组、茵陈蒿汤高剂量组、茵陈蒿汤低剂量组、复方益肝灵组及自愈组。自愈组恢复基础饲料喂养, 以观察自愈情况, 其余各组以相应药物或生理盐水

灌胃干预4周,每日1次。4周后全部大鼠取材,取大鼠腹主动脉血及肝组织用于血清学、肝组织相关指标以及组织病理学检测。

2.3 血清及肝组织指标检测 肝脏 SOD 活性、MDA 及 FFA 含量测定:精确称取肝组织 0.5 g,采用超声匀浆机制成匀浆(冰水中进行),取 1% 肝匀浆,离心后取上清,按试剂盒说明进行检测。

2.4 肝组织病理学检测 肝组织冰冻切片,行常规油红 O 染色;肝组织石蜡切片,行常规 HE 染色。光镜下观察肝脂肪变性程度、炎症活动度。病理诊断标准采用“亚太地区非酒精性脂肪性肝病诊断与治疗共识”推荐的美国国立卫生研究院 NASH 临床研究网络病理委员会 2005 年所定指南^[9],根据其制定 NAFLD 活动度积分(NAFLD activity score, NAS)进行评估。NAS 组织学评分系统对 14 项病理改变,3 项指标进行了半定量评估计分:肝脂肪变(按发生脂肪变性实质细胞/总细胞数, < 5%, 5% ~ 33%, 33% ~ 66%, > 66%, 分别计 0 ~ 3 分)、小叶内炎症(按无病灶, < 2, 2 ~ 4, > 4, 分别计 0 ~ 3 分)、肝细胞气球样变(按无、少量气球样细胞、较多/显著气球样变,分别计 0 ~ 2 分),其中 NAS ≥ 5 分者可明确 NASH 的诊断, NAS < 3 分则可排除 NASH, 两者之间者为 NASH 可能。油红 O 及 HE 切片使用 Olympus 摄像系统进行观察和摄片。

2.5 数据统计 应用 SPSS 17.0 软件进行资料的统计分析,计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 茵陈蒿汤对脂肪代谢的影响 与正常组相比,模型组 TC, TG, LDL-C 明显升高, HDL-C 明显降低,具显著性差异($P < 0.01, P < 0.05$),表明模型制备成功;与模型组相比,复方益肝灵组、茵陈蒿汤低剂量组 TC, TG, LDL-C 明显降低($P < 0.05$),两组间无显著差异;茵陈蒿汤高剂量组 TG 明显降低,与模型组相比有显著性差异($P < 0.05$);自愈组 TG, LDL-C 明显降低($P < 0.01, P < 0.05$), HDL-C 明显升高($P < 0.01$);除自愈组外,其余各治疗组 HDL-C 含量未见明显变化,见表 1。

3.2 茵陈蒿汤抗氧化损伤作用 与正常组相比,模型组 MDA 明显升高, GSH-Px 明显降低,具显著性差异($P < 0.05$),表明模型制备成功;与模型组相比,复方益肝灵组、茵陈蒿汤低剂量组 MDA 明显降低($P < 0.05$),两组间无显著差异;茵陈蒿汤高剂量组 MDA 明显降低($P < 0.01$),茵陈蒿汤高、低剂量组 GSH-Px 活性均显著增强,与模型组相比有显著性差异($P < 0.01, P < 0.05$);自愈组 MDA 明显降低, GSH-Px 明显升高(均 $P < 0.01$);各组 SOD 含量有所升高,但与模型组相比不具显著差异,见表 2。

表 1 茵陈蒿汤对 NASH 大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

mmol·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常	-	1.39 ± 0.15	0.76 ± 0.10	0.92 ± 0.11	0.34 ± 0.07
模型	-	2.35 ± 0.19 ²⁾	1.24 ± 0.09 ¹⁾	0.55 ± 0.05 ²⁾	1.42 ± 0.27 ²⁾
自愈	-	2.10 ± 0.36	0.65 ± 0.08 ⁴⁾	0.77 ± 0.18 ⁴⁾	0.97 ± 0.21 ³⁾
茵陈蒿汤	4.97	2.05 ± 0.46	0.72 ± 0.08 ³⁾	0.59 ± 0.06	1.18 ± 0.52
	3.31	1.88 ± 0.24 ³⁾	0.70 ± 0.06 ³⁾	0.59 ± 0.06	0.92 ± 0.11 ³⁾
复方益肝灵	1.265 × 10 ⁻²	1.83 ± 0.40 ³⁾	0.69 ± 0.02 ³⁾	0.55 ± 0.05	0.97 ± 0.33 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 5 同)。

表 2 茵陈蒿汤对 NASH 大鼠血清中 MDA, SOD 及 GSH-Px 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MDA/nmol·mL ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	GSH-Px/mg·L ⁻¹
正常	-	4.14 ± 0.41	57.88 ± 2.70	933.50 ± 24.90
模型	-	4.61 ± 0.35 ¹⁾	43.19 ± 5.52 ¹⁾	801.70 ± 56.42 ¹⁾
自愈	-	3.89 ± 0.12 ⁴⁾	63.06 ± 3.51	1042.35 ± 20.92 ⁴⁾
茵陈蒿汤	4.97	3.93 ± 0.32 ⁴⁾	62.50 ± 6.15	973.25 ± 57.19 ⁴⁾
	3.31	3.95 ± 0.38 ³⁾	66.18 ± 6.16	995.13 ± 13.40 ⁴⁾
复方益肝灵	1.265 × 10 ⁻²	4.02 ± 0.22 ³⁾	63.04 ± 3.48	946.45 ± 47.36

与正常组相比,模型组大鼠肝组织中 MDA, FFA 含量明显升高, SOD 明显降低,有显著性差异($P < 0.01, P < 0.05$);与模型组相比,复方益肝灵组、茵陈蒿汤低剂量组、自愈组大鼠肝组织中 MDA,

FFA 含量显著降低($P < 0.05, P < 0.01$),各组间差异不具统计学意义;茵陈蒿汤高剂量组 MDA 的降低及各组 SOD 的升高均不具统计学意义,见表 3。

表 3 茵陈蒿汤对 NASH 大鼠肝组织 MDA, SOD 及 FFA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	MDA/ $nmol \cdot mL^{-1}$	SOD/ $U \cdot mL^{-1}$	FFA/ $nmol \cdot mL^{-1}$
正常	-	1.56 ± 0.02	19.72 ± 1.95	0.09 ± 0.01
模型	-	$1.78 \pm 0.09^{2)}$	$15.94 \pm 0.40^{2)}$	$0.11 \pm 0.00^{1)}$
自愈	-	$1.40 \pm 0.11^{4)}$	16.10 ± 0.22	$0.09 \pm 0.01^{4)}$
茵陈蒿汤	4.97	1.60 ± 0.01	17.55 ± 0.74	$0.09 \pm 0.01^{3)}$
	3.31	$1.44 \pm 0.03^{3)}$	17.28 ± 0.82	$0.09 \pm 0.01^{4)}$
复方益肝灵	1.265×10^{-2}	$1.44 \pm 0.06^{3)}$	17.52 ± 3.49	$0.08 \pm 0.01^{4)}$

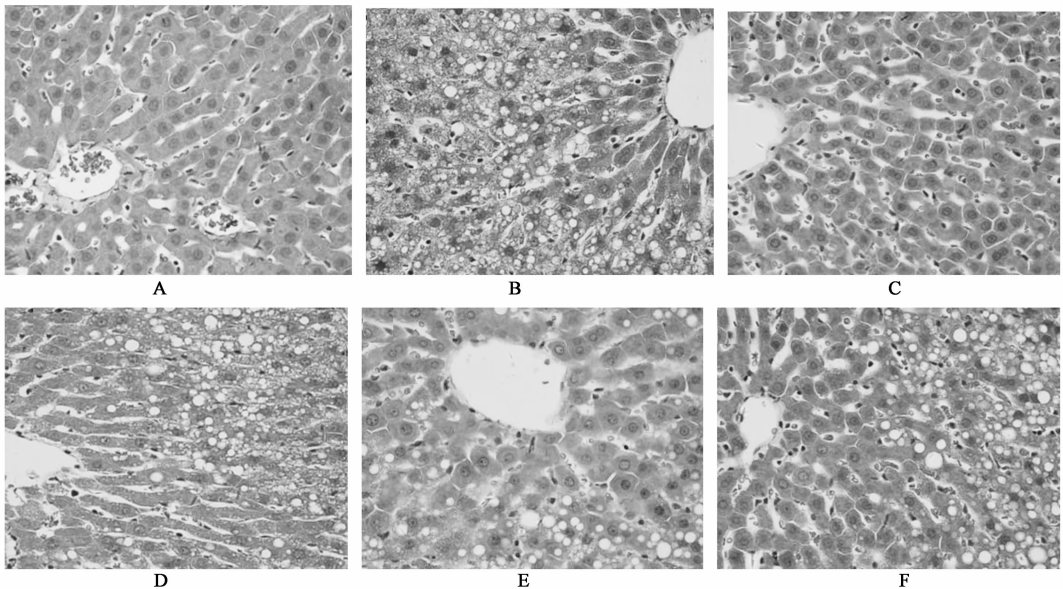
3.3 茵陈蒿汤对血清 Ins 的影响 与正常组相比, 模型组 Ins 明显升高, 具显著性差异 ($P < 0.05$), 表明模型制备成功; 与模型组相比, 复方益肝灵组、茵陈蒿汤低剂量组 Ins 明显降低, 两组间无显著差异; 茵陈蒿汤高剂量组 Ins 明显降低, 有显著性差异 ($P < 0.01$); 自愈组 Ins 亦有所下调, 但与模型组相比不具显著差异, 见表 4。

表 4 茵陈蒿汤对 NASH 大鼠血清胰岛素含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	Ins/ $U \cdot mL^{-1}$
正常	-	15.58 ± 2.29
模型	-	$18.75 \pm 1.69^{1)}$
自愈	-	15.97 ± 3.66
茵陈蒿汤	4.97	$13.83 \pm 1.25^{4)}$
	3.31	$14.69 \pm 2.30^{3)}$
复方益肝灵	1.265×10^{-2}	$15.08 \pm 2.95^{3)}$

3.4 肝组织病理学 光镜下 HE 染色显示: 正常组大鼠肝细胞形态、肝小叶结构正常, 肝索排列整齐, 呈放射状; 模型组中重度脂肪变, 肝组织可见弥漫性混合性肝细胞脂肪变, 偶见脂滴融合, 肝细胞明显肿胀变圆, 胞核被挤到周边, 胞质疏松呈毛玻璃样, 肝窦变窄, 肝小叶界限不清, 肝索结构紊乱, 脂变细胞以腺泡 1 区明显, 汇管区和小叶内可见大量炎性细胞浸润, 呈灶状分布, 炎性细胞以中性粒细胞为主; 与模型组相比, 茵陈蒿汤高、低剂量组肝组织病变有不同程度减轻, 损伤面积明显减小, 胞内脂滴减少, 炎性细胞浸润减少 (图 1)。

油红 O 染色显示: 正常组大鼠肝组织未见红色脂滴; 模型组大鼠可见脂滴弥漫浸润入肝细胞中, 肝小叶内脂滴融合成片, 肝小叶内含脂滴细胞数/总细胞数为 43% ~ 54%; 茵陈蒿汤高剂量组



A. 正常组; B. 模型组; C. 自愈组; D. 茵陈蒿汤高剂量组; E. 茵陈蒿汤低剂量组; F. 复方益肝灵组 (图 2 同)

图 1 各组大鼠肝组织病理改变 (HE 染色, $\times 400$)

为 40% ~ 50%; 茵陈蒿汤低剂量组为 35% ~ 45%; (图 2)。自愈组为 2% ~ 13%; 复方益肝灵组为 38% ~ 51%

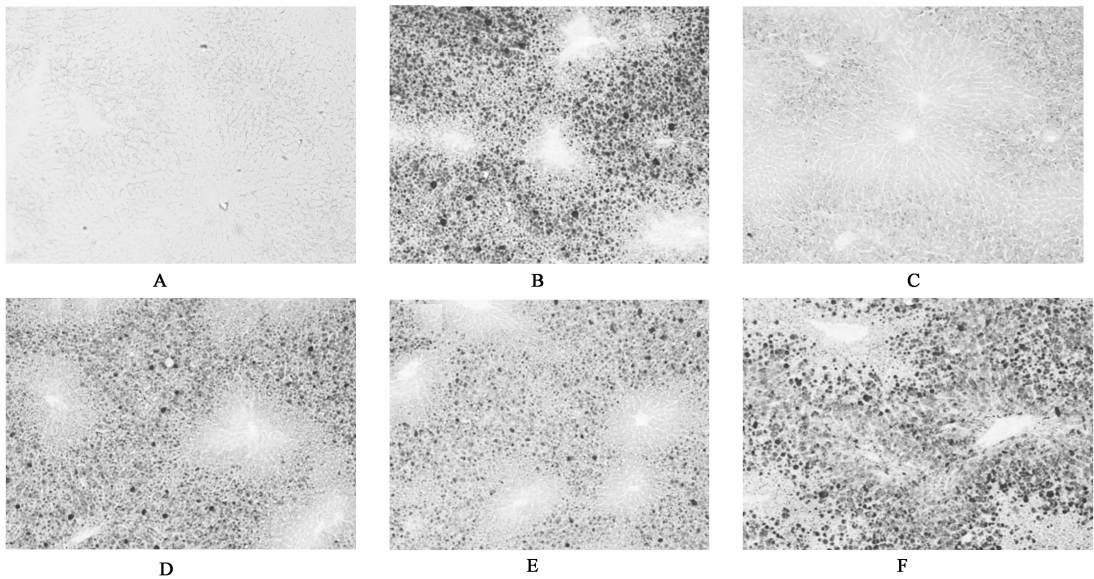


图2 各组大鼠肝组织的病理改变(油红O染色, ×100)

NASH 组织学病理评分结果显示:模型组总分 (6.60 ± 0.41), 与正常组相比有显著性差异 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 自愈组及低剂量组脂肪变、小叶内炎症、气球样变均比模型组显著下降 ($P <$

$0.001, P < 0.05$); 茵陈蒿汤高剂量组、复方益肝灵组炎症评分比模型组显著下降 ($P < 0.01$), 脂变、气球样变与模型组相比无显著差异; 茵陈蒿汤低剂量组明显优于复方益肝灵组。见表5。

表5 茵陈蒿汤对 NASH 大鼠肝细胞脂肪变性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	脂肪变	炎症	气球样变	总分
正常	-	0	0	0	0
模型	-	$2.00 \pm 0.00^{2)}$	$2.60 \pm 0.55^{2)}$	$2.00 \pm 0.00^{2)}$	$6.60 \pm 0.41^{2)}$
自愈	-	$1.00 \pm 0.00^{4)}$	$0.80 \pm 0.55^{4)}$	$1.00 \pm 0.00^{4)}$	$2.80 \pm 0.41^{4)}$
茵陈蒿汤	4.97	1.80 ± 0.45	$0.20 \pm 0.45^{4)}$	1.60 ± 0.55	$3.60 \pm 0.86^{4)}$
	3.31	$1.60 \pm 0.55^{3)}$	$0.40 \pm 0.55^{4)}$	$1.40 \pm 0.55^{3)}$	$3.40 \pm 0.77^{4)}$
复方益肝灵	1.265×10^{-2}	2.00 ± 0.00	$1.00 \pm 0.71^{4)}$	1.60 ± 0.55	$4.60 \pm 0.64^{4)}$

4 讨论

中医学认为 NAFLD 多为过食肥甘, 又多逸少劳, 伤及脾胃; 或情志郁结, 肝失疏泄, 致气滞血瘀, 或木克脾土, 脾失健运, 精微不归正化反为痰湿瘀浊之糟粕所致, 诸邪郁久化热, 壅塞肝络, 结于胁下, 缠绵蕴结。茵陈蒿汤作为治疗肝胆疾病的经典名方, 在临床上被广泛使用, 原为湿热黄疸而设, 具清热利湿退黄之功。方中重用茵陈为君以清热利湿, 疏利肝胆; 臣以栀子, 清三焦之热, 通利小便, 驱湿下行; 佐以大黄, 泻热导滞, 破结行瘀, 清泄肠胃湿热。三药相伍, 宣通三焦, 使湿热得行, 瘀热得下, 瘀热湿浊从二便排出。

本研究结合人类常见的发病因素, 采用高脂饮食复制大鼠 NASH 模型^[10-11], 该模型与人类 NASH 的发病机制相似。以该饮食诱导的大鼠 NAFLD 模型, 于 4 周时可形成 NAFL, 此阶段因浊脂之邪初

结, 故多可归属为痰湿型 NAFLD。随着时间延长, 模型体内脂质蓄积进一步加重, 氧化应激和脂质过氧化反应不断增强而由 NAFL 向炎症进展, 至 8 周时可形成 NASH, 此阶段痰湿浊脂之邪郁久化热, 湿与热合, 缠绵蕴结, 故多可归属为湿热型 NAFLD。因此, 基于此模型, 可以评价茵陈蒿汤对湿热型 NASH 的药物疗效。

“二次打击”学说为目前解释该病发病机制的主要理论^[12]。初次打击为 IR 和脂质代谢紊乱。IR 主要是通过肝内脂质沉积, 和高胰岛素血症引起的。IR 通过增加脂质分解及 FFA 入肝增多导致肝细胞脂肪变性的发生, 使肝脏对炎症反应和各种损伤因素的易感性增高。FFA 从脂肪组织向肝脏汇集是肝内脂肪的主要来源, 占肝内 TG 含量的 62% ~ 82%^[13]。病理状态下的 FFA 具有很强的细胞毒

性,极低浓度的 FFA 即可直接损伤肝细胞的生物膜^[14]。FFA 通过降低靶组织细胞的胰岛素受体数量,抑制其活性,从而抑制胰岛素与受体结合^[13],造成高胰岛素血症及 IR;在此基础上,许多通常“微不足道”的损肝因素通过氧化应激及脂质过氧化反应,对脂肪变的肝脏实施二次打击,导致肝细胞发生炎症反应、变性坏死,肝纤维化甚至肝硬化^[15]。

本研究发现,喂养 8 周时模型组大鼠血脂、肝脂、血清胰岛素、脂质过氧化产物水平明显高于正常组,抗氧化能力降低,出现肝组织脂肪变性病理变化,表明存在显著的脂代谢紊乱、氧化应激及脂质过氧化反应,和高胰岛素血症。而茵陈蒿汤高、低剂量组不同程度减轻肝脏脂肪变性。茵陈蒿汤低剂量组明显下调 NASH 动物的血清胰岛素含量,改善高胰岛素血症状态,增强脂质代谢,降低肝内脂肪酸含量及血脂水平,提高抗氧化能力,抑制肝脏脂肪变性的病理改变。茵陈蒿汤高剂量组只对血脂、肝脂、抗氧化、胰岛素含量的部分指标有所改善,茵陈蒿汤低剂量对改善大鼠 NASH 的作用优于高剂量。

本次研究未能观察到对模型大鼠血清 HDL-C, SOD 的影响,但有研究^[16]发现,茵陈蒿汤增加了同样模型大鼠的 HDL-C 含量,其茵陈、栀子、大黄三药配比为 2:1:1,与本研究结果有差异,除了药物配比的原因,是否还可能是与茵陈蒿汤的组方及功效特点有关。中医学的治则包括祛邪与扶正,茵陈蒿汤是以“清”、“利”为法,以祛邪为主的方剂,临床中 NASH 的发病也以实证居多,虚证较少,证候以邪实为主,TC, TG, LDL-C, MDA 等增多即是痰湿浊瘀之邪堆积及脂质过氧化反应的结果,因此,茵陈蒿汤对这些指标体现了较好的改善,而对抗氧化等扶正的因素影响不明显,这还有待进一步的研究证实。

综上所述,茵陈蒿汤能针对 NAFLD 发病机制第一次打击中高胰岛素血症和脂质代谢紊乱,尤其是肝内脂肪酸积聚的环节,降低高脂饮食诱导的大鼠血脂,清除肝内脂肪酸,减少脂肪在肝内的沉积,改善脂质代谢紊乱;并有效减少血清胰岛素含量,改善大鼠高胰岛素血症状态。针对第二次打击中氧化应激和脂质过氧化反应的环节,增强抗氧化能力、清除自由基代谢产物,抑制脂质过氧化反应,减轻肝细胞损伤,从而达到治疗 NASH 的作用,其相关的作用机制值得今后进一步研究。

[参考文献]

- [1] 翁小刚,朱晓新,杨庆,等.非酒精性脂肪肝的实验研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(11):104.
- [2] 刘莲,孙晖,王喜军,等.茵陈蒿汤对乙醇诱导的大鼠急性肝损伤的保护作用研究[J].世界科学技术——中医药现代化,2007,9(4):35.
- [3] 洪敏,董自波,孙小玉,等.茵陈蒿汤对大鼠酒精性肝损伤的保护作用[J].南京中医药大学学报,2004,20(5):303.
- [4] 古颖娴,吴谦,潘竞镛,等.茵陈蒿汤防治大鼠酒精性脂肪肝作用及机制[J].中国新医药,2004,3(9):20.
- [5] 王喜军,王萍,孙晖,等.茵陈蒿汤对 ANIT 诱导的急性肝损伤的保护作用[J].中医药学报,2007,35(4):17.
- [6] 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[J].光明中医,2009,24(2):212.
- [7] Kirsch R, Clarkson V, Shephard E G, et al. Rodent nutritional model of non-alcoholic steatohepatitis: species, strain and sex difference studies [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2003,18(11):1272.
- [8] 李培生.伤寒论讲义[M].上海:上海科学技术出版社,1985:123.
- [9] Kleiner D E, Brunt E M, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2005, 41(6): 1313.
- [10] 范建高,方继伟,陆元善,等. U230 芯片动态观察非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏基因表达[J].中华肝脏病杂志,2005,13(8):597.
- [11] 顾小红,张云东,冯爱娟.解偶联蛋白-2 在大鼠非酒精性脂肪肝中的表达[J].世界华人消化杂志,2005, 13(19):2310.
- [12] Day C P, Janes O F. Steatohepatitis a tale of two hits [J]. Gastroenterology, 1998, 114: 842.
- [13] Feldstein A E, Werneburg N W, Canbay A, et al. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF-alpha expression via lysosomal pathway [J]. Hepatology, 2004, 40(1):185.
- [14] Fraenkel E, Lazurova I, Feher J. Role of lipid peroxidation in non-alcoholic steatohepatitis [J]. Orv Hetil, 2004, 145(12):611.
- [15] Paul-Anguld M D. Nonalcoholic fatty liver disease[J]. N Engl Med, 2002, 346(16):1221.
- [16] 林曼婷,范应,陈少东,等.茵陈蒿汤调节高脂饮食诱导大鼠脂质代谢紊乱的作用机制[J].中华中医药杂志,2011,26(10):2428.

[责任编辑 何伟]