

调脂合剂对大鼠高脂血症性脂肪肝的保护作用

徐芳¹, 刘颖², 王斌胜³, 刘孟安^{3*}

(1. 滨州医学院病理生理学教研室, 山东烟台 264003; 2. 滨州医学院附属医院, 山东滨州 256603;
3. 滨州医学院中西医结合学院, 山东烟台 264003)

[摘要] **目的:**观察调脂合剂对大鼠高脂性脂肪肝的保护作用。**方法:**Wistar大鼠随机分为正常对照组、模型组、调脂合剂高、中、低剂量组(37.6, 18.8, 9.4 g·kg⁻¹)和甲硫氨酸组(0.625 g·kg⁻¹)。除正常对照组外,其余4组均以高脂饮食喂养10周,建立高脂血症性脂肪肝模型后,模型组用生理盐水灌胃,各给药组ig给予相应药物,每日1次,连续4周。于用药4周后麻醉取材送检,观察血脂、肝脂及肝组织病理改变。**结果:**调脂合剂高剂量组与模型组比较能明显降低高脂性脂肪肝模型大鼠血清总胆固醇(TC)[(1.53±0.09), (3.30±0.49) mmol·L⁻¹, *P*<0.01],甘油三酯(TG)[(1.73±0.09), (2.33±0.13) mmol·L⁻¹, *P*<0.01],低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)[(0.50±0.16), (0.81±0.09) mmol·L⁻¹, *P*<0.01]水平,减轻肝脂肪性变。**结论:**调脂合剂对高脂性脂肪肝模型大鼠的肝脏具有确切的保护作用。

[关键词] 调脂合剂;高脂血症;脂肪肝

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0267-04

Effect of Tiaozhi Mixture on Hyperlipidemic Fatty Liver in Rats

XU Fang¹, LIU Ying², WANG Bin-sheng³, LIU Meng-an^{3*}

(1. Department of Pathophysiology, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China;
2. Affiliated Hospital, Binzhou Medical University, Binzhou 256603, China; 3. Colledge of Combination of
Traditional Chinese Medicine With Western Medicine, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Tiaozhi mixture on hyperlipidemic fatty liver in rats. **Method:** Wistar rats were divided into normal group, model group, Tiaozhi mixture therapy groups of high, middle and low doses (37.6, 18.8, 9.4 g·kg⁻¹), Methionine group (0.625 g·kg⁻¹). In addition to the normal group, the other four groups were established to be hyperlipidemic fatty liver model by feeding with high fat diet for 10 weeks. Then the model group was given normal saline. The treatment groups were given corresponding drugs by ig administration daily for 4 weeks. Four weeks later, blood and hepatic lipid level and pathological changes of the liver were examined. **Result:** High dose of Tiaozhi mixture could lower the level of TC [(1.53±0.09) vs (3.30±0.49) mmol·L⁻¹, *P*<0.01], TG [(1.73±0.09) vs (2.33±0.13) mmol·L⁻¹, *P*<0.01], LDL-C [(0.50±0.16) vs (0.81±0.09) mmol·L⁻¹, *P*<0.01] and reduce fat accumulation in hepatic cell of Wistar rats. **Conclusion:** Tiaozhi mixture has exact effect on the hyperlipidemia fatty liver in rats.

[Key words] Tiaozhi mixture; hyperlipidemia; fatty liver

脂肪肝是指由多种原因引起肝细胞内脂肪超越

正常分布界限的脂肪堆积,而肥胖、高血脂等与脂肪肝的发病密切相关^[1]。近年来,随着生活条件的改善,脂肪肝发生率逐渐上升,其预防和治疗已成为中、西医临床和基础研究的重要课题,但目前仍缺乏治疗脂肪肝的理想药物。本研究组研制的调脂合剂对降血脂和改善血液流变学均具有较好疗效^[2]。本实验进一步观察了其在大鼠高脂血症性脂肪肝的

[收稿日期] 20111022(007)

[第一作者] 徐芳,研究生,副教授,从事动脉粥样硬化发病机制研究, Tel: 0535-6913214, E-mail: xufang1979@163.com

[通讯作者] *刘孟安,教授,从事中药药理与临床研究, Tel: 0535-6913214, E-mail: byliumengan@126.com

治疗作用,从而为临床治疗提供安全有效的药物。

1 材料

1.1 动物与饲料 6 周龄清洁级雄性 Wistar 大白鼠 70 只,体重(180 ± 20)g,购于山东大学医学院实验动物中心,动物合格证号 SCXK(鲁)20090001。基础饲料,高脂饲料^[1](基础饲料:猪油:胆固醇:胆酸钠 88.5:10:1:0.5)购于山东大学医学院实验动物中心。

1.2 药物与试剂 调脂合剂由柴胡、决明子、丹参、山楂、大黄组成;制备方法:取柴胡、决明子、丹参、山楂、大黄处方药物,水煎 3 次,煮沸时间分别为 40, 30, 20 min,合并煎液,静置 12 h 沉淀,滤取上清液浓缩为分别含生药 3.76, 1.88, 0.94 g·mL⁻¹ 3 种药液备用(滨州医学院中药研究所提供)。甲硫氨酸片(成都利尔药业有限公司,批号 091221);胆固醇(广州南方化玻公司,批号 090301),胆酸钠(北京奥博星生物技术责任有限公司,批号 20100521),甘油三酯(TG,批号 20050608)、总胆固醇(TC,批号 20050725)、低密度脂蛋白(LDL-C,批号 20050603)和高密度脂蛋白(HDL-C,批号 20050120)试剂盒均购于上海荣盛生物技术有限公司。

1.3 仪器 TBA-120FR 型全自动生化分析仪(东芝,日本),Olympus BX51 型光学显微(奥林巴斯,日本),KD-BM III 组织包埋机(上海京工实业有限公司),YD-12G 全自动组织脱水机和 RM2255 石蜡切片机(德国莱卡);IMAGE-PRO PLUS 病理图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)。

2 方法

2.1 动物分组与用药 将大鼠适应性饲养 1 周后随机分为 6 组:正常对照组和模型组每组 15 只,调脂合剂高、中、低剂量组(37.6, 18.8, 9.4 g·kg⁻¹)、甲硫氨酸组(0.625 g·kg⁻¹),每组 10 只。除正常对照组给予基础饲料外,其余 5 组均给予高脂饲料。连续喂养 10 周后,正常对照组、模型组各随机取 5 只大鼠取肝脏经组织病理学证实造模成功。从第 10 周末起,正常对照组、模型组用生理盐水 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ ig。中药高、中、低剂量组用调脂合剂(3.76, 1.88, 0.94 g·mL⁻¹)10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ ig;甲硫氨酸组用甲硫氨酸片混悬液(0.0625 g·mL⁻¹)10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ ig。治疗 4 周后,禁食 12 h(不禁水),各组大鼠经麻醉后从门静脉采血 6 mL,并迅速取出肝脏备检。

2.2 检测指标

2.2.1 一般情况 观察大鼠精神、活动、饮食、皮

毛、体重变化。

2.2.2 生化检测 门静脉采血分离血清,采用全自动生化分析仪测定 TG, TC, LDL-C, HDL-C;另取肝组织 3 g,加入预冷的生理盐水,冰水中制成 10% 肝组织匀浆,高速离心后取上清液,全自动生化分析仪测定肝细胞内脂质(TC, TG)。

2.2.3 光镜观察 取肝组织 5 mm × 5 mm,浸泡于 10% 甲醛液中固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察肝组织形态变化。

2.3 统计学处理 数据分析用 SPSS 15.0 统计软件包进行,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

3 结果

3.1 一般情况观察 高脂饲料喂养大鼠前期食量大于正常对照组,体重增加较快,后期食量减小,活动量减少。调脂合剂及甲硫氨酸片治疗组食量、活动量明显优于模型组。

3.2 血脂及肝脂水平 调脂合剂能够降低高脂血症性脂肪肝大鼠血清 TC, TG, LDL-C 水平,升高 HDL-C 的水平。其降低血清 TC 作用,升高血清 HDL-C 的作用优于临床常用药甲硫氨酸片($P < 0.05$),高剂量及中剂量调脂合剂降低肝脏脂质 TC 的作用优于甲硫氨酸片($P < 0.05$),高剂量调脂合剂降低肝脏脂质 TG 的作用则与甲硫氨酸片相当,见表 1。

3.3 肝组织形态学观察 HE 染色结果显示正常对照组大鼠肝组织结构完整清晰,肝小叶结构清晰,肝细胞索排列整齐;模型组肝脏呈重度脂肪肝样改变,肝小叶结构欠清,肝细胞索及肝窦结构难以辨认,肝细胞胞浆中可见弥漫性大小不等的脂肪空泡,部分细胞脂肪空泡融合,挤压细胞核呈印戒状;低剂量组肝脏肝小叶结构少部分恢复,肝细胞胞浆中仍可见大小不等的脂肪空泡,少部分脂肪空泡融合,挤压细胞核呈印戒状;中剂量组肝脏肝小叶结构部分恢复,肝细胞水肿,部分胞浆中可见少量小的脂肪空泡;高剂量组肝脏肝小叶结构恢复,肝细胞索及肝窦结构清晰,肝细胞内脂肪空泡显著减少。甲硫氨酸组肝脏脂肪变性程度及细胞肿胀程度也明显减轻,见图 1。

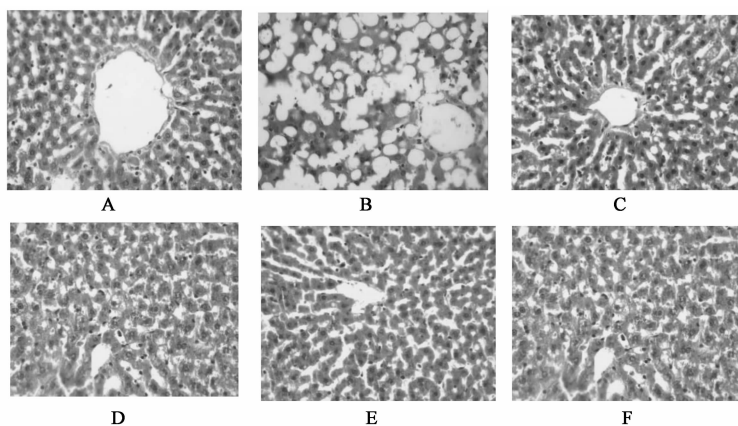
4 讨论

脂肪肝是以肝细胞脂肪变性为主的临床病理综合征。高脂血症已成为目前公认的导致脂肪肝的主要病因之一,但是目前临床上的多数降血脂药主要

表1 各组大鼠血清及肝组织匀浆脂质的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)mmol·L⁻¹

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	血清脂质				肝组织匀浆脂质	
		TC	TG	LDL-C	HDL-C	TC	TG
正常对照	-	1.48 ± 0.21	1.51 ± 0.25	0.42 ± 0.12	1.27 ± 0.25	2.54 ± 0.37	11.69 ± 2.09
模型	-	3.30 ± 0.49	2.33 ± 0.13	0.81 ± 0.09	0.93 ± 0.14	5.59 ± 0.33	22.94 ± 0.86
调脂合剂	37.6	1.53 ± 0.09 ^{1,3)}	1.73 ± 0.09 ¹⁾	0.50 ± 0.16 ¹⁾	1.22 ± 0.11 ^{1,3)}	2.67 ± 0.21 ^{1,3)}	16.06 ± 1.52 ¹⁾
	18.8	1.75 ± 0.19 ^{1,3)}	1.75 ± 0.10 ¹⁾	0.55 ± 0.19 ¹⁾	1.09 ± 0.26 ^{1,3)}	3.25 ± 0.15 ^{1,3)}	16.51 ± 1.37 ^{1,3)}
	9.4	1.92 ± 0.13 ^{1,3)}	1.87 ± 0.18 ¹⁾	0.65 ± 0.10 ²⁾	1.06 ± 0.32 ^{1,3)}	3.73 ± 0.16 ¹⁾	17.08 ± 0.51 ^{1,3)}
甲硫氨酸	0.625	2.33 ± 0.16 ¹⁾	1.82 ± 0.11 ¹⁾	0.63 ± 0.09 ²⁾	0.96 ± 0.18 ²⁾	3.69 ± 0.18 ¹⁾	15.08 ± 0.86 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$;与甲硫氨酸组比较³⁾ $P < 0.05$ 。



A. 正常对照组; B. 模型组; C. 调脂合剂 9.4 g·kg⁻¹组; D. 调脂合剂 18.8 g·kg⁻¹组;
E. 调脂合剂 37.6 g·kg⁻¹组; F. 甲硫氨酸 0.625 g·kg⁻¹组

图1 调脂合剂对肝组织病变的影响(HE染色, ×400)

是促进血液中的脂质运输至肝脏进行代谢排泄,若长期服用则会伴有肝功能低下和肝脂质代谢障碍,容易导致肝脏病变与脂肪沉积加剧^[3]。因此,迫切需要研究既具有良好的降血脂疗效,又不妨碍肝脏正常功能的理想药物。祖国医学中有很多中药毒副作用小、调脂疗效肯定,因此有很好的开发前景。

脂肪肝属“胁痛”、“痰浊”、“肥气”等范畴,多因肝脾肾功能失调,致使清阳不升,浊阴不降,痰湿内生,郁而化热;痰湿热阻遏脉道则气机不畅,瘀血阻络,是其主要病理基础^[4]。治宜调畅气机、活血化瘀、清除湿热、疏通经脉。调脂合剂采用柴胡配决明子疏肝清热,伍丹参、山楂行气活血,散瘀通脉,大黄清泻湿热,荡涤祛瘀,诸药合用可使气机调畅,活血化痰,疏通经脉,清除湿热而达到治疗目的。从现代医学观点看,调脂合剂中柴胡、丹参、决明子均具有降低 LDL-C 的作用^[5-6]。其中决明子、柴胡又均具有升高 HDL-C 的作用,在脂质代谢方面,柴胡、大黄、决明子能抑制外源性脂质吸收,丹参、山楂能促进血脂的转运与清除^[6-8]。方中柴胡能增强机体抗

氧化防御能力及提高膜结构稳定性,促进肝细胞增殖^[9]。山楂的降血脂有效成分为熊果酸和金丝桃苷,能明显降低小鼠血清 TG,调节血脂,另外还能提高血清超氧化物歧化酶(SOD)的水平,具有抗脂质过氧化的作用^[10-11]。这些研究提示调脂合剂所用药物能降血脂,肝脂,提高肝抗氧化能力,改善肝细胞脂肪变性,促进肝脏功能恢复,从而达到降脂护肝之作用。

本实验结果表明,调脂合剂能降低高脂血症性脂肪肝大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平,升高 HDL-C 的水平,清除肝细胞内脂质,明显改善肝组织病理形态学变化。其降低血清 TC 作用,升高血清 HDL-C 的作用优于临床常用药甲硫氨酸片($P < 0.05$),高剂量及中剂量调脂合剂降低肝脏脂质 TC 的作用优于甲硫氨酸片($P < 0.05$),高剂量调脂合剂降低肝脏脂质 TG 的作用则与甲硫氨酸片相当。实验结果说明调脂合剂具有确切的降脂保肝作用,为临床推广应用提供了可靠的实验依据,其作用机制尚待进一步研究。

飞龙掌血乙醇提取物对白色念珠菌抑菌作用的研究

许颖¹, 郭婧玉^{1*}, 刘学², 西玉立³, 范淑霞¹

(1. 佳木斯大学附属第二医院 牙体牙髓病二科, 黑龙江 佳木斯 154004;

2. 佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007;

3. 牡丹江医学院附属红旗医院 一门诊口腔, 黑龙江 牡丹江 157000)

[摘要] 目的: 研究飞龙掌血乙醇提取物体外抑制白色念珠菌生长作用, 为进一步开发根管消毒新药提供理论依据。方法: 微量肉汤稀释法确定飞龙掌血乙醇提取物体外抑制白色念珠菌生长的最小抑菌浓度(MIC)及最小杀菌浓度(MBC); 常规扫描电镜制样, 观察细菌细胞形态的变化; 采用 RT-PCR 技术获得互补 DNA, PCR 技术扩增白色念珠菌毒力因子 SNF2 和 PDE2 基因片段, 产物进行电泳分析。结果: 飞龙掌血乙醇提取物对白色念珠菌的最小抑菌浓度为 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 最小杀菌浓度为 $15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 扫描电镜观察药物作用后菌体呈现不规则形态, 表面有明显的凹陷、裂痕; 随着药物浓度增加, 毒力因子 SNF2 和 PDE2 的表达量呈明显下降趋势。结论: 飞龙掌血乙醇提取物对白色念珠菌有较好的抑菌活性; 推断该药物是通过抑制或干扰毒力因子 SNF2 和 PDE2 转录过程的表达, 从而抑制致病性菌丝形态的形成及破坏细菌细胞壁的完整性, 达到抑菌作用。

[关键词] 飞龙掌血; 白色念珠菌; 扫描电镜; 基因表达

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0270-05

The Antibacterial Activity of the Ethanol Extract *Toddalia asiatica* against *Candida albicans*

XU Ying¹, GUO Jing-yu^{1*}, LIU Xue², XI Yu-li³, FAN Shu-xia¹

(1. The Second Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154004, China;

[收稿日期] 20111115(022)

[基金项目] 2011 年佳木斯大学研究生创新科研项目(YJSCX2011-022JD)

[第一作者] 许颖, 本科, 教授, 主任医师, Tel:13836642730, E-mail: xuyingjiayi@126.com

[通讯作者] * 郭婧玉, 硕士研究生, Tel:13803651636, E-mail: guojingyujiayi@163.com

[参考文献]

- [1] 翁小刚, 朱晓南, 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] 孙喜灵, 刘颖, 刘孟安. 调脂合剂治疗高脂血症的临床研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5):223.
- [3] Comar K M, Sterling R K. Review article: drug therapy for non-alcoholic fatty liver disease [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2006, 23:207.
- [4] 苏菁, 徐宗佩. 中医高脂血症治疗进展[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(7):1287.
- [5] 王凤荣, 杨关林, 刘彤. 大柴胡汤对家兔实验性动脉粥样硬化的形成及 PHGPX 的影响[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(3):454.
- [6] 陈良, 张梅, 李长江, 等. 复方丹参滴丸对动脉粥样硬化粘附因子的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(2):101.
- [7] 马路, 江梦溪, 刘剑刚, 等. 决明子和山楂组分配伍对兔肝细胞膜高密度脂蛋白受体活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1):24.
- [8] 何正显, 信玉琼, 陈明. 大黄的化学成分、药理作用及其在临床急症中的应用[J]. 中国中医急症, 2007, 16(2):227.
- [9] 牛向荣. 柴胡药理作用研究概述[J]. 中国药师, 2009, 12(9):1310.
- [10] 康文艺, 李晓梅, 郭曙光, 等. 山楂提取物不同部位体内降血脂作用[J]. 中草药, 2002, 33(1):50.
- [11] 杨艳, 梁日欣, 杨滨, 等. 黄芩等 5 种中药醇提物的抗脂质过氧化作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(9):46.

[责任编辑 聂淑琴]