

化浊颗粒治疗大鼠非酒精性脂肪肝的研究

康学东¹, 余臣祖^{2*}, 朱瑾¹, 杨维杰¹, 王苑铭¹, 安小平¹

(1. 甘肃中医学院附属医院内分泌科, 兰州 730020; 2. 甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 目的:探讨化浊颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠模型血脂及肝脏病理切片的影响。方法:以高脂饲料喂养 8 周建立非酒精性脂肪肝大鼠模型,随机分为 5 组,以罗格列酮 0.36 mg·kg⁻¹ ig 作对照,观察化浊颗粒 0.675, 2.025 g·kg⁻¹ 课题 ig 4 周对大鼠体重、肝指数、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、肝细胞脂肪变性的影响。结果:化浊颗粒组及罗格列酮组与模型组相比 TG, TC 均降低,且有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),化浊颗粒高剂量组和罗格列酮组治疗效果相似,明显优于化浊颗粒低剂量组。结论:化浊颗粒可降低非酒精性脂肪肝大鼠 TG, TC, 从而改善了非酒精性脂肪肝大鼠的血脂代谢异常和病理改变。

[关键词] 化浊颗粒;非酒精性脂肪肝;肝脏细胞脂肪变性;总胆固醇;甘油三酯

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0200-03

Experimental Study about Effect of Huazhuo Granules on Rats with Non-alcoholic Hepatosteatosis

KANG Xue-dong¹, YU Chen-zu^{2*}, ZHU Jin¹, YANG Wei-jie¹, WANG Yuan-ming¹, AN Xiao-ping¹

(1. Endocrinology Department, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine College, Lanzhou 730020, China; 2. Traditional Chinese Medicine College, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Huazhuo granules on non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance in rat model of hepatosteatosis high. **Method:** Rat model of non-alcoholic fatty liver disease was induced by feeding high fat diet for 8 weeks, and then the rats were randomized into 4 groups ($n = 10$ each): model group, Huazhuo granules groups (2.025, 0.675 g·kg⁻¹) and positive control group (rosiglitazone 0.35 mg·kg⁻¹). Another 10 normal rats were used as the normal control. The influence of the treatments on TC, TG, insulin resistance index was investigated. **Result:** Compared with the model group, Huazhuo granules group and rosiglitazone group showed reduced TG, TC significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Huazhuo granules high-dose group had similar therapeutic effect as that in rosiglitazone group, appeared to be superior to the low-dose. **Conclusion:** Huazhuo granules can decrease TG, TC in rats with non-alcoholic fatty liver disease, thus alleviate pathological changes and lipid metabolism in the rats.

[Key words] Huazhuo granules; non-alcoholic fatty liver disease; fatty degeneration of liver cells; total cholesterol; triglyceride

[收稿日期] 20110321(012)

[基金项目] 甘肃省中医药科研项目(GZK-2008-25)

[第一作者] 康学东, 主任医师, 从事内分泌代谢病的中医药防治临床, E-mail: kangxdys@126.com

[通讯作者] * 余臣祖, 讲师, 主治医师, 从事内分泌代谢病的中医药防治临床, Tel: 13919288584, E-mail: 442940743@qq.com

随着人们生活水平的提高、生活方式的改变,肥胖的人群逐渐增多,高脂饮食性非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)呈升高的趋势,大量研究显示 NAFLD 患者具有肥胖、脂代谢紊乱、高血压和糖代谢异常等胰岛素抵抗(IR)的特征^[1-2]。由于对 NAFLD 缺乏可靠的特异性治疗方法,长期的临床经验表明中药清热燥湿,泻火解毒方

治疗有一定疗效。为进一步验证此法的疗效,特设计本实验研究。

1 材料

1.1 动物及饲料 选 SPF 级 Wistar 大鼠 50 只,雌雄各半,体重(200 ± 20)g,由甘肃中医学院 SPF 级动物实验中心提供,合格证号 SYXK(甘)2004-0006-0000305。高脂饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供,实验动物质量合格证编号 SLXK(京)2005-0007。造模前基础饲料适应性饲养 1 周。

1.2 药物和试剂 化浊颗粒(黄连、黄柏、鸡内金、山楂、丹参、枳壳):甘肃中医学院附属医院制剂中心提供(院内制剂号 081006);罗格列酮片:成都恒瑞制药有限公司(批号 20090422);游离脂肪酸测试盒(批号 20090831),总胆固醇(TC)试剂盒(批号 20091523);甘油三酯(TG)试剂盒(批号 20090756)均由南京建成科技有限公司提供。

1.3 仪器 FT-630G 微机多探头 γ 计数器,北京核仪器厂;KDC-2044 低速冷冻离心机,科大创新股份有限公司中佳分公司;721 分光光度仪,北京第二光学仪器厂;B60-32FB3-F01 型显微镜,日本奥林巴斯公司(Olympus Corporation);LXJ-64-01 型低速离心机,北京医疗仪器修理厂生产;TG328B 型光学读数分析天平,湘仪天平仪器厂生产;ALCYON300 型全自动生化分析仪,法国奥斯龙公司。

2 方法

2.1 喂养、造模及分组 适应性喂养 1 周后,将 50 只大鼠按体重、性别编号,以随机数字表法抽取 10 只为空白组,用基础饲料喂养(总热量 $15.335 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$,碳水化合物热卡占 53%,脂肪热卡占 9%,蛋白质热卡占 20%);其余 40 只均喂以高脂饲料^[3](胆固醇 2%,猪油 10%,基础饲料 88%)。两组均在 SPF 实验室喂养,自由饮水。至第 8 周末,40 只高脂饲料组大鼠按随机数字表分为模型组 10 只;罗格列酮组($0.36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)10 只;化浊颗粒高、低剂量组($2.025, 0.675 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)各 10 只。各组动物分别 ig 药物或生理盐水,每日 1 次。各组均继续喂以高脂饲料 4 周,实验期间观察体重、饮食及尿量。

2.2 样本采集和制作 第 12 周末,称重,隔夜禁食 12 h,脱臼处死所有大鼠,股动脉采血,以 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分离血清,于 $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内保存以检测 TC, TG。并迅速取出肝脏,称其湿质量,用来计算其肝脏指数,肝脏指数 = 肝脏质量/体重 \times

100%,然后从每只大鼠肝脏左叶切取两部分,一部分放置 $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ 低温冰箱保存备用,一部分用 4% 甲醛固定,石蜡包埋,制成 $4 \text{ }\mu\text{m}$ 切片,HE 染色,光镜下观察肝组织形态学变化。

2.3 肝组织脂变程度分级 肝组织脂变程度分级参照文献^[4]。轻度:肝小叶结构清晰,浊肿与气球样变肝细胞不超过肝小叶 1/3。无明显肝细胞脂肪变性;中度:肝小叶结构欠清晰,浊肿与气球样变肝细胞占肝小叶的 1/3 ~ 2/3,无明显脂肪变性、点状坏死;重度:未见清晰肝小叶结构,浊肿及气球样变严重,伴有脂肪变性,病变呈弥漫性,变性肝细胞超过 2/3,胞浆内脂滴明显,并见点状坏死。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件处理。计量资料所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间均数比较采用单因素方差分析及配对 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对 NAFLD 大鼠体重和肝脏指数的影响 经化浊颗粒高剂量组治疗后大鼠体重降低,与治疗前有显著性差异($P < 0.01$),其余各组治疗后体重均增高。罗格列酮组与模型组比较,肝指数均降低($P < 0.01$)。化浊颗粒组与模型组比较,肝指数均降低($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 化浊颗粒对非酒精性脂肪肝病大鼠体重和肝指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g		肝指数 /%
		治疗前	治疗后	
空白	-	324.21 ± 77.64	340.54 ± 85.47	3.03 ± 0.11
模型	-	343.28 ± 96.23	358.80 ± 100.74	$4.78 \pm 0.17^{(2)}$
罗格列酮	3.6×10^{-4}	336.30 ± 76.83	354.21 ± 76.94	$3.80 \pm 0.12^{(3)}$
化浊颗粒	2.025	333.70 ± 68.61	$329.88 \pm 67.46^{(1)}$	$3.81 \pm 0.13^{(3)}$
	0.675	324.79 ± 73.52	350.63 ± 88.64	$4.21 \pm 0.16^{(3)}$

注:与治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$;与空白组比较²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对 NAFLD 大鼠血脂的影响 对于大鼠血清 TG,治疗后化浊颗粒高、低剂量组罗格列酮组与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),对于大鼠血清 TC,治疗后化浊颗粒高剂量组罗格列酮组与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2。

3.3 对 NAFLD 大鼠肝细胞脂肪变性的影响 空白组大鼠肝脏呈暗红色,肝脏基本无异常病变,肝小叶

表 2 化浊颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠血清 TG, TC 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

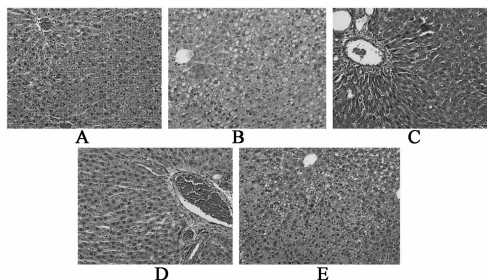
组别	剂量/g·kg ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹
空白	-	1.34 ± 0.22	3.13 ± 0.32
模型	-	4.86 ± 0.80 ¹⁾	7.58 ± 1.05 ¹⁾
罗格列酮	3.6 × 10 ⁻⁴	2.93 ± 0.42 ³⁾	5.98 ± 0.85 ³⁾
化浊颗粒	2.025	3.34 ± 0.42 ³⁾	6.68 ± 0.97 ²⁾
	0.675	3.99 ± 0.51 ¹⁾	6.81 ± 0.92

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

结构完整;组织切片表现肝索排列整齐,肝细胞胞浆红染。模型组大鼠肝脏体积增大,薄膜紧张,边缘圆钝,呈奶黄色,有油腻感;组织切片表现脂肪变性的肝细胞肿胀呈圆形,胞浆内出现大小不等的脂肪空泡,肝索排列不整齐,在靠近小叶边缘较明显,与空白组相比差异有统计学意义(P < 0.05)。罗格列酮组和化浊颗粒高剂量组大鼠肝脏呈淡红色,体积增大;组织切片表现肝索排列整齐,肝小叶周围有散在脂肪空泡,与模型组相比差异具有统计学意义(P < 0.05,表 3)。化浊颗粒低剂量组肝细胞中重度脂肪变性,细胞内见中等大小空泡,并伴有轻度细胞水肿,基本与模型组相同。见表 3,图 1。

表 3 化浊颗粒对 NAFLD 大鼠肝细胞脂肪变性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	脂肪变性的影响				例
		正常	轻度	中度	重度	
空白	-	10	-	-	-	
模型 ¹⁾	-	-	-	1	9	
罗格列酮 ²⁾	3.6 × 10 ⁻⁴	-	8	1	1	
化浊颗粒 ²⁾	2.025	-	7	2	1	
	0.675	-	-	4	6	



A. 空白组;B. 模型组;C. 罗格列酮 3.6 × 10⁻⁴ g·kg⁻¹ 组;
D. 化浊颗粒 2.025 g·kg⁻¹ 组;E. 化浊颗粒 0.675 g·kg⁻¹ 组

图 1 肝组织形态学的变化(HE, × 200)

4 讨论

为了充分模拟人类非酒精性脂肪肝病,本实验大鼠选用雌雄各半大鼠造模,以高脂饲料喂养,表现脂肪变性的肝细胞肿胀呈圆形,胞浆内出现大小不等的脂肪空泡,肝索排列不整齐,在靠近小叶边缘较明显。并且出现肥胖、高血脂等表现,与非酒精性脂肪肝的特征基本一致。

笔者认为,非酒精性脂肪肝系特异性体质的人群长期饮食失常(如过食肥甘)与体力活动减少等共同作用使人体气化失常、浊毒积聚,进而阻碍气血运行,影响脏腑功能所致。宜从浊毒论治,解毒化浊、调气活血。所以选用具有清热燥湿,泻火解毒的黄连、黄柏,消积化浊,健运脾胃的鸡内金、山楂,活血化瘀的丹参和健脾疏肝的枳壳组方。

从实验结果可以看出化浊颗粒对非酒精性脂肪肝病大鼠的体重有减轻作用,对非酒精性脂肪肝病大鼠肝指数有降低作用,提示化浊颗粒对已经发生脂肪变的肝脏有减少脂肪沉积的作用,化浊颗粒能有效降低 TG, TC 水平,可能为减轻肝脏细胞脂肪变性,改善肝脏功能,提高肝脏分解 TG, TC 的能力。

实验结果表明,化浊颗粒在改善非酒精性脂肪肝病大鼠体重、肝细胞变性及脂质代谢紊乱方面有一定的疗效,对非酒精性脂肪性肝病有较好的预防和治疗作用,可在一定程度上防止肥胖、防止肝脏脂肪过度沉积,改善肝细胞脂肪变性。

[参考文献]

- [1] Marchesini G, Bugiansi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver steatohepatitis, and the metabolic syndrome[J]. Hepatology, 2003, 23(9):17.
- [2] Hanley A J, Williams K, Festa A, et al. Liver markers and development of 24 the metabolic syndrome: the insulin resistance atherosclerosis study [J]. Diabetes, 2005, 54(11): 3140.
- [3] 徐正捷,范建高,王国良,等.高脂饮食致大鼠非酒精性脂肪性肝炎肝纤维化模型[J].世界华人消化杂志, 2002, 10(4):392.
- [4] Kalkman C J, Boezemam E H, Ribberink A A, et al. Influence of changes in arterial carbon dioxide tension on the electroencephalogram and posterior tibial nerve somatosensory cortical evoked potentials during alfentanil/nitrous oxide anesthesia [J]. Anesthesiology, 1991, 75(1): 68.

[责任编辑 聂淑琴]