

祛脂保肝颗粒对高脂饮食所致脂肪肝大鼠的药效观察 及机制初探

于永军^{1*}, 刘清新¹, 张秋雨¹, 祁秀玲¹, 王国明¹, 王俊峰²

(1. 沧州医学高等专科学校, 河北 沧州 061001; 2. 河北天成药业有限公司, 河北 沧州 061000)

[摘要] 目的: 研究祛脂保肝颗粒对高脂饮食所致脂肪肝大鼠的防治效果及机制。方法: 采用高脂饲料连续 12 周复制大鼠脂肪肝模型, 期间分别对不同组别大鼠进行相应药物干预, 观察祛脂保肝颗粒(24, 12, 6 g·kg⁻¹) 连续 ig 12 周对脂肪肝的防治作用, 并初步探讨其疗效机制。结果: 与空白对照组相比, 模型组肝组织胆固醇(CHO), 甘油三酯(TG) 水平有显著升高($P < 0.01$), 血清天门冬氨酸氨基转移酶(ASI)、丙氨酸氨基转移酶(ALT) 显著升高, 肝脏病理呈脂肪性肝病, 并伴有明显细胞损伤和组织坏死; 与模型组比较, 祛脂保肝颗粒各剂量组肝 TG, CHO 均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 血清 AST, ALT 显著降低, 肝脏病理损伤减轻。结论: 祛脂保肝颗粒对脂肪肝具有较好的防治作用, 可通过抗氧化机制减轻肝细胞损伤。

[关键词] 祛脂保肝颗粒; 高脂饲料; 脂肪肝; 抗氧化

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0166-03

Experimental Study of Quzhi Baogan Granules on Rat's Fatty Liver Induced by High Fat Diet

YU Yong-jun^{1*}, LIU Qing-xin¹, ZHANG Qiu-yu¹, QI Xiu-ling¹, WANG Guo-ming¹, WANG Jun-feng²

(1. Cangzhou Medical College Cangzhou Hebei, Cangzhou 061001, China;

2. Hebei Tiancheng Pharmaceutical Co. Ltd Cangzhou Hebei, Cangzhou 061000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Quzhi Baogan Granules on the rat's fatty liver. **Method:** The rat's fatty liver was induced by high fat diet. The different groups were given different drugs, to observe the efficacy of Quzhi Baogan Granules on the rat's fatty liver, meanwhile to investigate the mechanism of the granules on the rat's fatty liver. **Result:** Compared with blank control group, liver tissue CHO, TG levels in the models were increased significantly($P < 0.01$), serum AST, ALT were significantly increased($P < 0.01$). Pathological investigation showed that liver cell steatosis was took place associated with cell injury and necrosis. Compared with model group, the liver tissue CHO, TG levels in the Quzhi Baogan high-dose group, mid-dose group, low-dose group were decreased obviously($P < 0.01$ or $P < 0.05$), the serum AST, ALT were decreased obviously($P < 0.01$ or $P < 0.05$), meanwhile the liver injury were alleviated. **Conclusion:** Quzhi Baogan Granules can reduce liver cell injury through the antioxidant mechanism, it can prevent and treat the rat's fatty liver induced by high fat diet.

[Key words] Quzhi Baogan Granules; high lipid diet; fatty liver; antioxidation

[收稿日期] 2010-09-08

[基金项目] 河北省科学技术与发展指导性计划课题
(07276465)

[通讯作者] * 于永军, 医学硕士, 讲师, 主要从事药学专业教学及药物研发与质量控制, Tel: 0317-5308069, E-mail: yjzlx@163.com

近年来脂肪肝发病率呈逐年上升趋势。脂肪肝可发展为肝纤维化、肝硬化, 甚至诱发肝癌等^[1-2], 严重威胁人类健康。因此, 有效防治脂肪肝具有重要意义。由于脂肪肝发病机制复杂, 目前尚缺乏较为理想的治疗手段。有研究表明中药特别是复方, 在抗脂肪肝方面显示了一定的优势^[3]。祛脂保肝颗粒

是我校药学教研室以临床自拟常用效验方(汤剂)为基础自行研发制备的一种中药复方颗粒剂。本实验建立高脂饮食所致的大鼠脂肪肝模型,观察了祛脂保肝颗粒的防治作用,为祛脂保肝颗粒剂的开发提供药效学依据。

1 材料和方法

1.1 药物 祛脂保肝颗粒(生泽泻 21 g,生荷叶 15 g,酒丹参 15 g,生白芍 15 g,炙黄精 12 g,郁金 9 g,炒莱菔子 9 g,炒决明子 9 g,生山楂 9 g,柴胡 6 g)由本校药学系药剂学实验室制备提供;东宝肝泰片(批号 070309),通化东宝药业股份有限公司。

1.2 动物 SD 大鼠,体重 140 ~160 g,雄性,由河北医科大学实验动物中心提供,合格证号 803037。大鼠标准饲料由河北医科大学动物实验中心提供;高脂饲料:含猪油 10%,蔗糖 5%,胆固醇 2%,胆盐 0.5%,丙基硫氧 0.2%。自购牛胆盐、胆固醇、丙基硫氧、蔗糖、猪油等(石家庄新华区振华检验试剂经销部提供)原料后,委托河北医科大学动物实验中心加工成颗粒状高脂饲料。

1.3 仪器 722 可见分光光度计(上海精密仪器有限公司);TG328A 电子分析天平(上海天平仪器厂);TDL-5-A 型离心机(上海安亭科学仪器厂);LEICA DFC420 彩色数码照相系统(莱卡公司)。

1.4 试剂 门冬氨酸氨基转移酶(AST,批号 20080814)、丙氨酸氨基转移酶(ALT,批号 20080822)、总胆固醇(CHO,批号 20080730)、甘油三脂(TG)试剂盒(批号 20080110)均购自北京北化康泰临床试剂有限公司;超氧化物歧化酶(SOD,20080919)、丙二醛(MDA,批号 20080919)、还原型谷胱甘肽(GSH)试剂盒(批号 20080919)、考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒(批号 20080722)均购自南京建成科技有限公司。

1.5 方法 取体重为 140 g ~160 g 的 SD 雄性大鼠 60 只,随机分成 6 组,每组 10 只,分别为空白对照组、模型组、祛脂保肝颗粒高、中、低剂量组及阳性对照组。空白对照组以标准饲料饲养,其余各组每日摄食高脂饲料,连续 12 周,复制脂肪肝大鼠模型。期间,各组动物每日 ig 相应干预药物。祛脂保肝颗粒临用时用蒸馏水溶解,低、中、高剂量组(分别含生药 6, 12, 24 g·kg⁻¹);阳性对照组(东宝肝泰,0.6 g·kg⁻¹),临用时加蒸馏水研磨均匀;空白对照组、模型组予同量蒸馏水,连续 12 周。末次给药后,禁食

24 h,股动脉取血,测定血清 AST,ALT。同时取肝组织,置于 10% 中性甲醛固定液中,常规方法制片,HE 染色,观察病理学改变。另取部分肝大叶组织,剪碎,置于匀浆器中,用冰生理盐水制成 10% 肝匀浆,3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清,按试剂盒说明书测定肝组织 CHO, TG; 上述肝组织匀浆加生理盐水稀释为 1% 后测定 SOD, MDA, GSH 等。

1.6 数据处理 应用 SPSS12.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各计量资料进行方差齐性检验后,采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 脂保肝颗粒对大鼠肝脏形态学的影响 镜下观察显示:空白对照组肝小叶结构清楚,肝细胞索排列整齐,细胞结构清晰;模型组肝小叶结构不清楚,肝索排列紊乱,肝细胞出现肿胀,胞浆中脂肪空泡多见,有的肝细胞膜发生溶解,部分区域呈小灶状坏死。与模型组比较,祛脂保肝颗粒高、中、低剂量组及东宝肝泰组形态学改变较模型组有一定程度改善,如肝细胞索轻度紊乱,胞浆中脂肪空泡减少,肝细胞肿胀程度较轻,少量肝细胞膜出现溶解,未见明显的组织坏死。见图 1。

2.2 祛脂保肝颗粒对大鼠血清 AST, ALT 的影响 与空白对照组比较,模型组血清 AST, ALT 水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性对照组及祛脂保肝颗粒剂各剂量组血清 AST, ALT 均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),各剂量组间未见明显差异。见表 1。

表 1 祛脂保肝颗粒对大鼠血清 ALT,AST 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量/g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹
空白对照	-	27.28 ±9.67 ²⁾	171.61 ±29.64 ²⁾
模型	-	75.99 ±16.97	258.04 ±24.76
东宝肝泰	0.6	63.12 ±7.87 ²⁾	207.41 ±17.25 ¹⁾
祛脂保肝	24	63.90 ±14.18 ¹⁾	232.51 ±23.58 ¹⁾
	12	63.68 ±12.32 ¹⁾	229.43 ±25.21 ¹⁾
	6	63.22 ±14.99 ²⁾	227.03 ±25.50 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~3 同)。

2.3 祛脂保肝颗粒对大鼠肝脂的作用 与空白对照组比较,模型组肝组织 CHO, TG 水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性对照组、祛脂保肝颗粒各剂量组肝 TG 显著降低 ($P < 0.01$);阳性对照组、祛脂保肝颗粒剂高、中剂量组肝 CHO 均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2。

2.4 祛脂保肝颗粒对大鼠肝组织 SOD, MDA, GSH 的影响 与空白对照组比较,模型组肝组织 SOD,

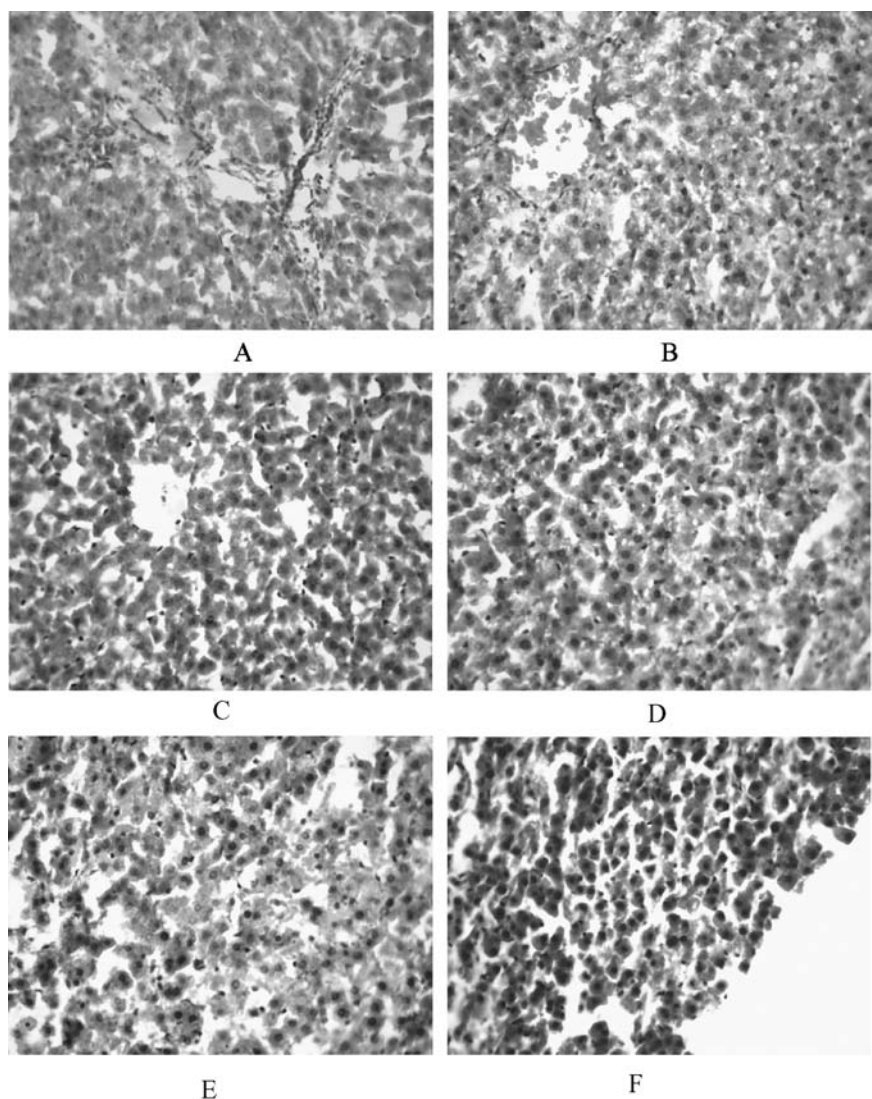


图 1 各组大鼠肝组织切片(HE, ×400)

A. 正常组; B. 模型组; C. 祛脂保肝 24 g·kg⁻¹组;
D. 祛脂保肝 12 g·kg⁻¹组; E. 祛脂保肝 6 g·kg⁻¹组;
F. 东宝肝泰 0.6 g·kg⁻¹组

表 2 祛脂保肝颗粒对大鼠肝组织 CHO, TG 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	CHO/mmol·g ⁻¹	TG/mmol·g ⁻¹
空白对照	-	0.30 ±0.10 ²⁾	0.31 ±0.05
模型	-	0.44 ±0.12	0.63 ±0.14
东宝肝泰	0.6	0.33 ±0.07 ¹⁾	0.41 ±0.10 ²⁾
祛脂保肝	24	0.28 ±0.09 ²⁾	0.42 ±0.11 ²⁾
	12	0.27 ±0.09 ²⁾	0.43 ±0.09 ²⁾
	6	0.38 ±0.11	0.49 ±0.10 ²⁾

GSH 水平显著下降 ($P < 0.01$), 同时 MDA 显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 阳性对照组、祛脂保肝颗粒各剂量组肝组织 SOD 显著升高 ($P < 0.01$), 同时 MDA 显著降低 ($P < 0.01$); 阳性对照组、祛脂保肝颗粒剂高、中剂量组肝组织 GSH 均显著升高 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

现代研究表明, 脂肪肝发病机制复杂, 其中饮酒、肥胖、高脂血症等是目前较为明确的危险因素, 高脂饮食已成为脂肪肝高发的重要原因之一。中医学亦认为饮食失节, 过食肥甘厚味, 可导致肝、脾等脏腑功能失调, 使体内“脂膏”化生失常, 则酿生痰

表 3 祛脂保肝颗粒对大鼠肝组织 SOD, GSH, MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	SOD /U·mg ⁻¹	GSH /mg·g ⁻¹	MDA /μmol·g ⁻¹
空白对照	-	71.07 ±9.91 ²⁾	0.97 ±0.15 ²⁾	0.75 ±0.20 ²⁾
模型	-	50.97 ±15.66	0.68 ±0.21	1.30 ±0.22
东宝肝泰	0.6	77.88 ±9.69 ²⁾	0.91 ±0.27 ¹⁾	0.89 ±0.17 ²⁾
祛脂保肝	24	75.31 ±9.95 ²⁾	0.97 ±0.28 ¹⁾	0.81 ±0.15 ²⁾
	12	79.19 ±8.91 ²⁾	0.94 ±0.33 ¹⁾	0.83 ±0.30 ²⁾
	6	70.49 ±12.59 ²⁾	0.88 ±0.19	0.99 ±0.18 ²⁾

瘀而发此病。本病主要涉及肝、脾二脏, 与气滞、痰结、血瘀密切相关。肝气郁而疏泄失常, 脾气虚则运化失健, 而致气滞、痰结, 进一步发展则痰瘀互结, 出现肝纤维化甚至肝硬化。

祛脂保肝颗粒剂中泽泻、荷叶相伍, 升清降浊, 化湿祛痰; 柴胡、郁金相配疏肝解郁、理气化痰; 莱菔子、山楂共用消脂食、化痰浊; 芍药健脾柔肝、黄精养阴护肝; 丹参理气血、化痰瘀、防肝变; 决明润肠通便, 清肝祛痰。诸药合用, 消导结合、通中寓补, 共奏祛痰化瘀、疏肝养肝之效。

研究表明, 脂质过氧化反应和氧自由基(OFR)损伤是脂肪肝重要的病理机制之一。SOD, GSH 是体内重要的氧自由基清除剂, 可有效清除病理过程中产生的 OFR, 保护肝脏细胞^[4]。

本试验通过高脂饲料复制实验性大鼠脂肪肝模型, 模拟临床由于高脂饮食造成脂肪肝的病理过程。结果显示模型组肝组织 CHO, TG 明显升高, 肝脏呈明显脂肪变, 血清转氨酶升高。祛脂保肝颗粒可降低高脂饮食大鼠肝脏中 CHO, TG 含量, 改善肝功能, 减轻肝脏病理改变, 可升高肝组织 SOD, GSH 含量, 提示可能通过抗氧化机制, 有效减轻脂质过氧化造成的肝细胞损伤, 从而发挥防治脂肪肝的作用。

[参考文献]

- [1] 周汝霞, 陈瑛, 李莉. 脂肪肝治疗研究进展 [J]. 医药导报. 2003, 22(9): 609.
- [2] 钟岚, 范建高, 王国良, 等. 肥胖、高脂血症性脂肪性肝炎模型的建立 [J]. 实验动物科学与管理, 2000, 17: 16.
- [3] 陆健, 李瀛均, 张登本. 中医药治疗脂肪肝的研究进展 [J]. 陕西中医学院学报, 2003, 26(3): 56.
- [4] 张卓, 李道本. 脂肪肝与脂质过氧化 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2003, 11: 251.

[责任编辑 何伟]