

舒肝降脂胶囊对饲高脂饲料所致大鼠 脂肪肝的治疗作用

王永新¹, 沈 鸿^{2*}, 李 惠², 吴子伦²

(1. 空军航空医学研究所, 北京 100036; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究舒肝降脂胶囊对大鼠脂肪肝的治疗作用。方法: 实验采用高脂饮食加甲基硫氧嘧啶复制大鼠脂肪肝动物模型, 测定大鼠血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)含量, 同时称体重、肝脏重、脾重和胸腺重, 计算脏器系数, 取肝组织测 TC、TG、丙二醛(MDA)含量并作病理组织学观察。结果: 舒肝降脂胶囊组大、中剂量组能显著降低大鼠肝脏指数, 降低肝组织内 TC、TG、MDA 含量, 以及降低血清中 TC、TG、LDL-C、ALT、AST 含量, 升高血清中 HDL-C 含量, 能改善肝细胞损伤及脂肪变性程度。结论: 舒肝降脂胶囊对高脂饲料加甲基硫氧嘧啶所致大鼠脂肪肝具有明显的治疗作用。

[关键词] 舒肝降脂胶囊; 高脂饲料; 甲基硫氧嘧啶; 脂肪肝

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)04-0077-03

舒肝降脂胶囊是临床上应用多年的中药复方制剂, 具有活血祛瘀, 除湿化浊之功效, 主治脂肪肝之瘀血湿浊阻滞证。本实验研究舒肝降脂胶囊对高脂饲料加甲基硫氧嘧啶所致大鼠脂肪肝的治疗作用。

1 实验材料

1.1 动物 Wistar 系大鼠, 体重 170~200 g, 雄性, 动物合格证号: SCXK(京)2002-0003; 由北京维通利华实验动物有限公司提供。

1.2 药物及试剂 舒肝降脂胶囊, 由丹参、泽泻、决明子等药物组成的中药复方制剂。含生药量 5.0 生药 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 药粉, 由北京岐黄制药有限公司提供, 批号 031208。将上述药材经水煮醇提后, 进行喷雾干燥, 加敷料, 混匀, 制成颗粒, 装入胶囊即得。用高效液相法和薄层层析法对方中有效成分进行含量测定和鉴别; 复方蛋氨酸胆碱片(曾用名东宝肝泰片), 通化东宝药业股份有限公司, 批号 030324。生化试剂盒谷丙转氨酶(ALT), 批号 040117; 谷草转氨酶(AST), 批号 040113; 总胆固醇(TC), 批号 031011; 甘油三酯(TG), 批号 031211; 低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C), 批号 031011; 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C), 批号

040106, 均由北京北化康泰临床试剂有限公司生产; Sudan III, Sigma, 上海试剂公司进口分装; 油红 O, Sigma, 北京试剂公司进口分装; 异丙醇, 分析纯, 北京化工试剂厂产品。

1.3 仪器 ZS-3 型半自动生化分析仪, 北京中生生物工程高科技公司产品; TDL-5 低速大容量离心机, 上海安亭科学仪器厂。

2 方法

2.1 分组及给药^[1-3] 取 170~200 g 雄性大鼠 60 只, 其中 50 只造模, 饲高脂饲料(含 10% 猪油、1% 胆固醇、0.2% 甲基硫氧嘧啶、88.8% 基础饲料), 4 周后随机分 5 组, 分别为模型对照组、阳性药复方蛋氨酸胆碱片(2 片/kg)组、舒肝降脂胶囊大、中、小(6.0, 3.0, 1.5 生药 g·kg⁻¹, 简称舒肝大、中、小)3 个剂量组, 每组 10 只, 未造模动物作为正常对照组。给药组分别灌胃相应药物, 正常及模型对照组给予等量蒸馏水, 给药两周后取材。

2.2 检测项目

2.2.1 血脂及酶含量测定 用半自动生化分析仪测定大鼠血清中 TC, TG, HDL-C, LDL-C 以及 ALT, AST 的含量。同时称体重和肝脏、脾及胸腺重, 计算各脏器指数。

2.2.2 肝组织脂肪含量测定 在相对固定部位取 100 mg 肝组织, 于预冷的氯仿: 甲醇(1:1)液中匀浆后加至终体积 5 mL, 振荡器中抽提 24 h, 3 000 r·min⁻¹, 离心 15 min, 取上清液测定 TC 和 TG。

2.2.3 肝组织过氧化脂质含量测定 在相对固定部位取出肝组织, 以 4 ℃生理盐水洗去表面残血, 制成 10% 肝匀浆, 取出 1.5 mL, 加入 20% 三氯醋酸 1.5 mL 沉淀蛋白, 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清, 加 0.67% 硫代巴比妥酸钠 1.0 mL, 95 ℃水浴 10 min, 取

出后冷水中冷却 10 min, 546 nm 测定吸光度。以四乙氧基丙烷为标准, 计算每 g 肝组织丙二醛(MDA)含量。

2.3 病理学检查^[4] 动物处死后迅速取肝, 每组随机取 6 只大鼠肝脏, 10% 中性福尔马林固定, 冰冻切片厚 10~15 μm, 放于 50% 异丙醇溶液 3 min, 70% 油红 O 异丙醇饱和溶液, 浸染 10~15 min, 70% 异丙醇溶液浸洗 5~10 min, 蒸馏水浸洗, 苏木精染液 4~6 min, 流水冲洗, 甘油明胶封固。脂肪滴染成红色, 胞核染成淡紫色, 背景不着色或淡粉色。每张切片采集 20 个 40 倍视野的图象进行分析。用手动方式对出现脂肪变性的肝区逐个进行目标跟踪, 标定出该切片内发生脂肪变性肝区, 测出发生脂肪变性区的面积, 以图象采集视野的总面积做分母, 求出该样本出现脂肪变性面积的百分比, 按规定的评分标准给出该样本的分值, 脂肪肝病理学变化评分标准: 肝细胞内脂滴散在, 稀少记 0 分; 含脂滴的肝细胞不超过 1/4 记 1 分; 含脂滴的肝细胞不超过 1/2 记 2 分; 含脂滴的肝细胞不超过 3/4 记 3 分; 肝组织几乎被脂滴代替记 4 分。

2.4 统计学处理 数据均以($\bar{x} \pm s$)表示, 以 *t* 检验进行组间比较。

3 结果

3.1 对脂肪肝大鼠脏器指数及肝脂含量的影响 舒肝降脂胶囊大、中剂量组以及东宝肝泰组均能降低大鼠肝脏指数, 明显降低肝组织内 TC, TG, MDA 含量, 与模型对照组相比有显著差异, 见表 1。

3.2 对脂肪肝大鼠血脂及酶含量的影响 舒肝降脂胶囊及东宝肝泰片均能降低大鼠血清中 TC, TG, ALT, AST, LDL-C 含量, 升高 HDL-C 含量, 与模型对照组相比有显著差异。见表 2。

表 1 对饲高脂饲料致脂肪肝大鼠脏器指数及肝脂含量的影响($\bar{x} \pm s$, *n* = 10)

组别	剂量 (生药 g·kg ⁻¹)	脏器指数(g·100 g ⁻¹)			肝脂含量(mmol·L ⁻¹)		
		肝指数	脾指数	胸腺指数	T-C	TG	MDA
正常对照	—	2.98 ± 0.13 ²⁾	0.24 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.44 ± 0.07 ²⁾	0.62 ± 0.15 ²⁾	0.96 ± 0.22 ²⁾
模型对照	—	3.89 ± 0.62	0.22 ± 0.04	0.13 ± 0.03	2.02 ± 0.39	2.28 ± 0.76	4.03 ± 0.73
东宝肝泰	2 片	2.91 ± 0.41 ²⁾	0.19 ± 0.03	0.11 ± 0.02	1.93 ± 0.43	0.85 ± 0.16 ²⁾	2.57 ± 0.42 ²⁾
舒肝降脂胶囊	6.0	3.09 ± 0.39 ²⁾	0.19 ± 0.03	0.12 ± 0.02	1.44 ± 0.38 ²⁾	1.05 ± 0.30 ²⁾	2.01 ± 0.29 ²⁾
—	3.0	3.10 ± 0.40 ²⁾	0.18 ± 0.03	0.12 ± 0.02	1.48 ± 0.44 ²⁾	1.10 ± 0.23 ²⁾	1.74 ± 0.57 ²⁾
—	1.5	3.27 ± 0.45 ¹⁾	0.18 ± 0.03	0.12 ± 0.01	2.02 ± 0.44	1.19 ± 0.30 ²⁾	1.44 ± 0.57 ²⁾

注: 与模型对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01(下同)

表 2 对饲高脂饲料致脂肪肝大鼠血脂及酶含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (生药 $g \cdot kg^{-1}$)	TC ($mmol \cdot L^{-1}$)	TG ($mmol \cdot L^{-1}$)	HDL-C ($mmol \cdot L^{-1}$)	LDL-C ($mmol \cdot L^{-1}$)	ALT ($mmol \cdot L^{-1}$)	AST ($mmol \cdot L^{-1}$)
正常对照	—	$3.01 \pm 0.50^{2)}$	$0.28 \pm 0.07^{2)}$	$1.71 \pm 0.34^{2)}$	$1.17 \pm 0.46^{2)}$	$441.68 \pm 144.59^{2)}$	$1445.67 \pm 151.60^{2)}$
模型对照	—	5.76 ± 1.31	0.60 ± 0.23	1.02 ± 0.25	3.39 ± 1.32	1620.15 ± 564.46	2831.01 ± 356.58
东宝肝泰	2 片	$3.38 \pm 1.03^{2)}$	$0.37 \pm 0.12^{1)}$	$1.45 \pm 0.41^{1)}$	1.41 ± 1.03	$607.93 \pm 328.89^{2)}$	$1932.56 \pm 409.75^{2)}$
舒肝降脂胶囊	6.0	$4.10 \pm 1.48^{1)}$	$0.40 \pm 0.17^{1)}$	$1.52 \pm 0.60^{1)}$	$1.57 \pm 1.17^{2)}$	$669.45 \pm 310.96^{2)}$	$2249.28 \pm 230.89^{2)}$
—	3.0	$4.17 \pm 0.99^{2)}$	$0.31 \pm 0.07^{2)}$	$1.62 \pm 0.47^{2)}$	$1.58 \pm 1.28^{2)}$	$853.00 \pm 531.09^{1)}$	$2258.51 \pm 335.14^{1)}$
—	1.5	$4.38 \pm 1.36^{1)}$	$0.30 \pm 0.16^{2)}$	1.29 ± 0.34	$1.70 \pm 1.41^{1)}$	$939.19 \pm 543.13^{1)}$	$2425.20 \pm 249.72^{1)}$

表 3 对饲高脂饲料致脂肪肝大鼠肝脏病变分级
半定量观察结果($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量(生药 $g \cdot kg^{-1}$)	病变评分
正常对照	—	—
模型对照	—	3.74 ± 0.15
东宝肝泰	2 片	$2.93 \pm 0.23^{2)}$
舒肝降脂胶囊	6.0	$2.84 \pm 0.47^{2)}$
	3.0	$2.58 \pm 0.57^{2)}$
	1.5	$2.83 \pm 0.31^{2)}$

3.3 对脂肪肝大鼠病理组织学的影响 正常对照组肝细胞结构正常, 细胞内未见脂滴; 模型对照组多数肝细胞内有较多的脂肪滴, 在肝脏被膜下和汇管区周围脂肪数量更多, 估计评分级在 4 分左右; 舒肝降脂胶囊大, 中, 小 3 个剂量组及东宝肝泰组较模型对照组病变程度有所减轻, 估计评分级在 2~ 3 分左右, 见表 3。

4 小结

高胆固醇和高脂饮食, 可增加胆固醇的吸收, 加入少量甲状腺功能抑制药甲基硫氧嘧啶可进一步诱发脂肪肝。实验用含 2% 甲基硫氧嘧啶的高脂饲料

诱发大鼠脂肪肝 4 周造模后, 连续给药 2 周。结果显示舒肝降脂胶囊能显著降低大鼠肝脏指数, 降低血清中 TC, TG, ALT, AST, LDL-C 及肝组织内 TC, TG 及 MDA 含量, 升高血清中 HDL-C 的含量; 病理结果显示, 可改善肝细胞脂肪变性程度, 以上实验证明了舒肝降脂胶囊具有治疗脂肪肝的作用, 为其开发研究提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 李文彪, 王毅仁. 清源调脂胶囊治疗高脂血症性脂肪肝实验研究[J]. 中国中西医结合肝病杂志, 2001, 11(3): 158-161.
- [2] 汪晓军, 张晓刚, 张学文, 等. 清肝活血饮抗大鼠脂肪肝的实验研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2003, 11(2): 70-72.
- [3] 陈奇. 中药药理实验研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 596.
- [4] 聂明, 黄亦琦, 郑启忠, 等. 平脂冲剂治疗脂肪肝的实验病理学观察及病理图象检测分析[J]. 江苏中医, 2001, 22(9): 48-49.