

加味楂曲饮防治实验性非酒精性脂肪肝的药效学研究^{*}

张传涛¹, 周显华², 周道杰², 范昕建^{2△}, 郑政隆², 周威龙²

(1. 成都中医药大学附属医院, 四川成都 610075; 2. 成都中医药大学, 四川成都 610072)

摘要: **目的** 研究加味楂曲饮(JiaWeiZhaQuYin, JWZQY)防治非酒精性脂肪肝病(Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD)的药效学。**方法** SDF 级大鼠随机分为 6 组:空白组、模型组、对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组。空白组给予基础饲料,其余各组给予高脂饲料造模,自造模第 1 天起,空白组、模型组大鼠灌服等体积生理盐水,对照组灌服等体积复方蛋氨酸胆碱混悬液(0.038g/mL),低、中、高剂量组分别灌服等体积 JWZQY 混悬液(JWZQY 浓度相应为 1g/mL、2g/mL、4g/mL),8 周后,常规油红 O 法(改良 Lillie)观察肝脏组织形态学改变,全自动生化仪测定血清丙氨酸转氨酶(Alanine Transaminase, ALT)、谷氨酸转氨酶(Aspartate Amino Transferase, AST)、甘油三酯(Triglycerides, TG)、总胆固醇(Total Cholesterol, TC)水平,比色法检测血清游离脂肪酸(Free Fatty Acid, FFA)水平。**结果** 高、中剂量 JWZQY 治疗后肝脏脂肪变程度明显减轻($P<0.05$);与模型组相比,对照组及高、中剂量组 ALT、AST、TC、TG 水平降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。与对照组比较,高剂量 ALT、AST、TC、TG 水平降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,中剂量组血清中 FFA 减少,差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** JWZQY 可有效防治实验性非酒精性脂肪肝,减少 FFA 生成,具有良好研究前景。

关键词: 加味楂曲饮; 非酒精性脂肪肝; 药效

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2013)03-0012-04

近年来 NAFLD 发病率越来越高,我国的上海、广州和香港等发达地区成人 NAFLD 患病率在 15% 左右^[1],而日本成人患病率为 21.8%^[2],约 15%~50% 的肝纤维化和肝硬化与脂肪肝有关,进一步可导致肝癌^[3]。我们临床中用 JWZQY 治疗 NAFLD 具有较好疗效^[4],本研究旨在借动物实验进一步证实 JWZQY 治疗 NAFLD 的疗效。

1 材料与方法

1.1 实验材料及设备

同批次健康 SDF 级大鼠 60 只(生产许可证 SCXK(川)2008-24),雌雄各半,购自成都达硕生物科技。复方蛋氨酸胆碱片:通化东宝药业,生产批号:111114。JWZQY 由焦山楂 30g,生山楂 30g,神曲 20g,荷叶 20g,丹参 15g,姜黄 12g,绞股蓝 15g,枸杞子 15g,泽泻 10g,柴胡 9g 等组成,免煎剂,购自四川新绿色药业。FFA 试剂盒(南京建成,批号:20121225)。KRYOSTAT 1720 型冰冻切片机:德国 Leitz 公司。日立 7170a 全自动生化分析仪:日立公司。

1.2 造模、分组及给药

大鼠随机分为 6 组:空白组、模型组、对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 10 只。空白组大鼠饲以基础饲料,其余 5 组均饲以高脂饲料诱导实验模型^[5]。

据徐叔云教授《药理实验方法学》公式计算^[6]大鼠与人等效剂量。自造模第 1d 起,高剂量组以 40g/(kg·d)剂量 JWZQY 灌胃,中剂量组以 20g/(kg·d)剂量 JWZQY 灌胃,低剂量组以 10g/(kg·d)剂量 JWZQY 灌胃,对照组灌服 0.38g/(kg·d)剂量的复方蛋氨酸胆碱片混悬液,空白组与模型组灌服等体积生理盐水,每天 1 次,共 8 周。

1.3 检测指标

1.3.1 体重、肝湿重及肝指数

分别对大鼠体重及摘取的全肝脏称重,并计算肝指数,肝指数(%)=肝湿重/大鼠体重。

1.3.2 肝脏组织病理学

常规冰冻,5μm 厚连续切片,常规油红 O 法(改

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金(NO:81202624,81102720,81072902)。

收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-05-06

作者简介: 张传涛(1981~),男,河南濮阳人,主治医师,从事中医药防治肝病研究。

△通信作者: 范昕建, E-mail: zct801012@126.com

良 Lillie)染色,光学显微镜下观察肝脏组织形态学改变。每张切片观察 8 个视野,对肝脂肪变性程度进行分级^[7]、分析。

1.3.3 血清生化

采用全自动分析仪测定,由成都中医药大学检验科协助检测血清 TC、TG、ALT、AST。

1.3.4 血清 FFA

末次给药后禁食 12h,戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,股动脉取血,低温离心分离血清,比色法检测 FFA。

1.4 统计方法

应 SPSS19.0 统计软件包处理数据,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠体重、肝湿重及肝指数

由表 1 可见,与空白组相比,模型组大鼠体重、肝湿重及肝指数均明显升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性组、中剂量组、高剂量组大鼠体重、肝湿重及肝指数不同程度下降($P<0.01$ 、 $P<0.05$);与阳性组比较,高剂量组大鼠体重、肝湿重及肝指数明显降低($P<0.05$)。

表 1 对大鼠体重、肝湿重、肝指数影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	体重/g	肝湿重/g	肝指数/%
空白组	10	310.56±55.97	9.54±2.33	3.08±0.59
模型组	8	410.08±47.46 ^a	16.65±1.42 ^a	4.09±0.49 ^a
对照组	9	328.93±61.72 ^c	14.72±1.36 ^c	3.72±0.13 ^c
低剂量组	10	376.70±15.00	15.40±2.94	3.80±0.40
中剂量组	9	337.78±18.30 nd	12.00±3.10 nd	3.48±0.46 nd
高剂量组	10	322.42±62.22 ^{bd}	9.72±1.47 ^{bd}	3.24±0.34 ^{bd}

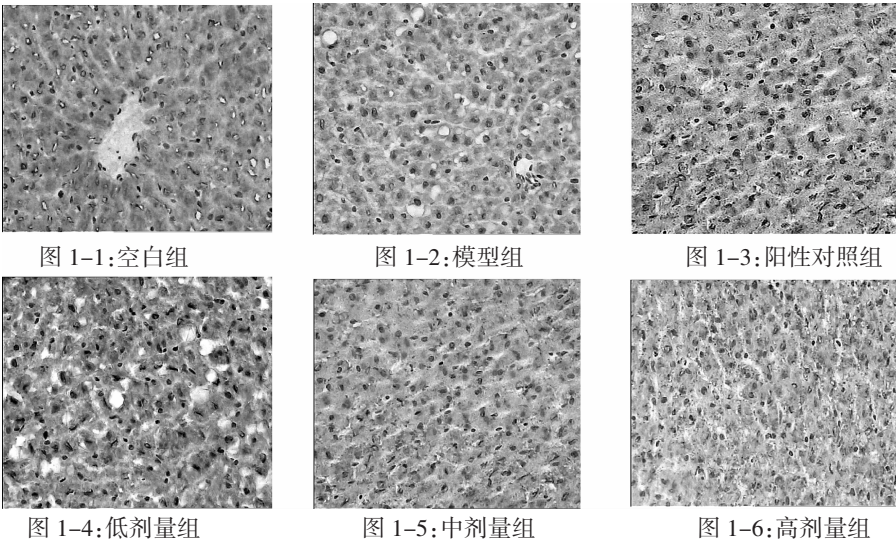
注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$;与对照组比较,^d $P<0.05$ 。

2.2 大鼠肝组织病理

模型组大鼠肝小叶肝细胞弥漫性肿大变圆、肝窦变小甚至不可见,胞浆内含有大量大小不等的红染脂肪滴,部分脂肪滴体积大,相应细胞细胞核位于细胞边缘,肝细胞内红染的脂肪滴更密集、体积

更大,部分大鼠还可见小叶内灶性肝细胞变性、坏死及炎症细胞浸润。JWZQY 各治疗组和对照组大鼠肝细胞脂肪变性不同程度减轻,上述改变以高、中剂量组为明显(图 1)。

分级评价各组大鼠肝脂肪变性程度:由表 2 可



以上图 1-1 至 1-6 均为油红 O 染色,×200 倍镜下观察。

图 1 大鼠肝脏组织学图

见,与模型组比较,阳性对照组组、中、高剂量组的 Ridit 平均值明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 大鼠血清生化

由表 3 可见,与空白组比较,模型组 TC、TG、ALT、AST 水平明显升高;与模型组比较,对照组及中、高剂量组 TC、TG、ALT、AST 明显降低;与阳性组比较,高剂量组 TC、TG、AST 明显降低。上述差异均有统计学意义($P<0.01$)。

2.4 大鼠血清 FFA

由表 4 可见,与空白组比较,模型组、低剂量组 FFA 明显升高;与模型组比较,中剂量组 FFA 明显

表 2 大鼠肝脂肪变性程度分级评价情况

组别	n	肝脏脂肪变程度				Ridit 平均值
		-	+	++	+++	
空白组	10	10	0	0	0	0.16
模型组	8	0	0	8	2	0.62
对照组	9	0	3	5	2	0.50 ^a
低剂量组	10	0	2	7	1	0.61
中剂量组	9	0	5	5	0	0.57 ^a
高剂量组	10	0	7	3	0	0.50 ^a

注:与模型组比较,^a $P<0.05$

表 3 对大鼠血清生化指标影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)
空白组	10	32.83±18.86	38.83±10.17	1.24±0.15	0.18±0.06
模型组	8	80.67±18.01 ^a	112.33±17.69 ^a	2.35±0.32 ^a	0.49±0.12 ^a
阳性对照组	9	47.67±18.00 ^b	90.33±19.76 ^{ac}	1.91±0.13 ^{ab}	0.39±0.07 ^{ac}
低剂量组	10	65.50±14.39 ^a	97.17±18.15 ^a	2.21±0.34 ^a	0.46±0.09 ^a
中剂量组	9	43.17±4.67 ^{bc}	70.83±15.46 ^{abc}	1.60±0.23 ^{abc}	0.33±0.06 ^{abc}
高剂量组	10	39.50±7.06 ^{bd}	61.33±10.27 ^{bd}	1.47±0.20 ^{bd}	0.22±0.06 ^{bd}

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$;与对照组比较,^d $P<0.01$,^e $P<0.05$

表 4 对大鼠血清 FFA 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	FFA/(μ mol/L)
空白组	10	1179.75±154.42
模型组	8	3779.07±476.52 ^a
低剂量组	10	3655.04±170.82 ^a
中剂量组	9	1029.55±122.72 ^b

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$ 。

降低。上述差异均有统计学意义($P<0.01$)。

3 讨论

NAFLD 是一种遗传-环境-代谢应激相关性疾病,胰岛素抵抗、脂肪酸代谢紊乱、氧化应激、细胞因子等因素均可能参与 NAFLD 的发病。NAFLD 多发生在 30~59 岁及以上的人群,《素问·上古天真论》指出:女子“五七阳明脉衰”,男子“五八肾气衰”,所以我们认为脾肾亏虚是该病发生的内在原因,加上饮食不节、久坐少动、情志失和等因素,常致气机不畅,脾胃运化失常,津液停滞为湿浊,饮食不化为积,酿脂为膏,积于肝内,阻滞肝络,膏脂湿

浊阻滞气机,气不行血,则湿浊、食积、瘀血互结,而成脂肪肝。我们认为:脾肾亏虚是本,且脾虚为主,湿浊、积、瘀是病理产物及直接致病因素,治疗以健脾消积化浊,活血利湿,兼顾补肾为本病大法。JWZQY 中焦山楂、生山楂、神曲、荷叶、泽泻健脾消积化浊、升清泄浊,丹参、姜黄活血,决明子润肠通脂,枸杞子、泽泻补肾泄浊,以照顾先天之本,柴胡引药入肝,全方健脾消积化浊、活血,兼以补肾。

本研究证实中、高剂量 JWZQY 可有效干预实验性 NAFLD,可以明显降低大鼠血清 TC、TG、ALT、AST 水平,减少 FFA 生成,其中高剂量 JWZQY 疗效优于复方蛋氨酸胆碱片,JWZQY 还能不同程度改善 NAFLD 大鼠肝组织学。由于 NAFLD 发病机制复杂,其是否存在其他作用环节尚不能确定,而 JWZQY 有效活性物质基础也有待以进一步研究。

参考文献

- [1] Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China[J]. J Hepatol, 2009, 50(1): 204-210.
- [2] Omagari K, Kadokawa Y, Masuda J, et al. Fatty liver in non-alcoholic non-overweight Japanese adults: incidence and

- clinical characteristics [J]. GastroenterolHepatol,2002,17(10):1098-1105.
- [3] Caldwell SH,Crespo DM. The spectrum expanded:crypto-genic cirrhosis and the natural history of nonalcoholicfatty liver disease[J]. J Hepatol,2004,40(4):578-584.
- [4] 周显华,张传涛,郑政隆,等. JWZQY 治疗 NAFLD 的临床疗效及部分机制研究 [J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(5):333-336.
- [5] 王倩,管小琴. 大鼠非酒精性脂肪肝造模方法的改进[J]. 世界华人消化杂志. 2007,15(11):1219-1224.
- [6] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:1351.
- [7] 钟岚,范建高. 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(2):16.
- (编辑:迟越)

Study about the Pharmacodynamics of JWZQY Interventing Non-Alcoholic Fatty Liver

ZHANG Chuan-¹tao¹, ZHOU Xian-hua², ZHOU Dao-jie²,
FAN Xin- Jian², ZHENG Zheng-long², ZHOU Wei-long²

(1. Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu Sichuan 610075;
2. Chengdu University of TCM, Chengdu Sichuan 610072)

ABSTRACT: **Objective** To study the pharmacodynamics of Jiawei ZhaQuYin (JWZQY)interventing non-alcoholic fatty liver. **Methods** SDF level rats were randomly divided into six groups:blank group,model group,positive control group,low-dose group,middle dose group and high dose group. The blank group was given basic feed,the rest of the group was given a high fat diet model, Since the Modeling day,the blank and model rats fed with an equal volume of saline,the positive control group was given the same volume of compound methionine choline solution(0.038g/ml)orally. Low,medium and high dose group was given the same volume of a solution containing 1g/ml,2g/ml,4g/ml concentration JWZQY accordingly. After 8 weeks,the conventional oil red O method (modified Lillie)was used to observe the morphological changes of the liver tissue,The automatic biochemical analyzer used to measure the level of serum Alanine transaminase,Aspartate Amino Transferase,Triglyceride,Total Cholesterol,Elisa was used to detect the levels of Free Fatty Acid. **Results** Through light microscope,we can see that the high-fat diet led to liver cells diffuse enlargement and round in rat the hepatic lobule,the sinusoidal smaller even not visible,the cytoplasm contains a large number of red dye fat droplets of varying sizes,showing steatosis. High-dose and medium-dose JWZQY can significantly reduce hepatic steatosis ($P<0.05$). Compared with the model group,The of level serum ALT,AST,TC,TG of the positive control rat was reduced,the difference was statistically significant ($P<0.01$),difference of serum ALT,AST,TC,TG level in low-dose group not statistically significant($P>0.05$),Low,medium and high dose group,the serum ALT,AST,TC,TG level was significantly lower,The difference was statistically significant ($P<0.01$). Compared with the positive control group,serum ALT,AST,TC,TG level is reduced in high dose group,the difference was statistically significant($P<0.01$),but in the medium dose group and high dose group,serum ALT,AST,TC,TG no statistically significant difference ($P>0.05$). Compared with model group,the difference of serum FFA in medium dose group was statistically significant ($P<0.01$),low-dose serum FFA was no significant difference ($P>0.05$). **Conclusion** JWZQY can effectively intervene in the experimental non-alcoholic fatty liver,reduce FFA generation,having good market prospects.

KEY WORDS: NAFLD;Jiawei ZhaQuYin(JWZQY);free fatty acid

欢迎订阅, 欢迎投稿!