

· 论 著 ·

中药蛤蚧治疗非酒精性脂肪肝小鼠的临床观察

潘磊¹, 崔荣岗¹, 赵保辉¹, 李华², 张忠勇¹, 王旭初¹

[摘要] 目的 研究蛤蚧治疗非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 模型小鼠的临床效果。方法 选取 95 只清洁剂雄性昆明小鼠建立 NAFLD 研究模型, 抽签随机分为正常组和模型组, 正常组 25 只给予普通饲料喂养, 模型组 70 只给予高脂饲料喂养, 持续喂养 6 周建立 NAFLD 模型。模型建立后将模型组中 60 只抽签随机分为对照组和观察组各 30 只, 两组均给予等渗盐水灌注治疗, 观察组加用蛤蚧进行喂养, 观察两组血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 活性以及血脂总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 变化。结果 实验小鼠模型成功建立, 血脂指标与组织切片与对照组比较, 差异具有统计学意义。治疗后观察组 ALT (33.54 ± 4.23) IU/L、AST (205.73 ± 20.84) IU/L 较对照组 (38.75 ± 5.81) IU/L、(221.68 ± 21.25) IU/L 明显较低, 具有统计学意义 ($P < 0.05$)。血脂指标 TC (2.82 ± 0.26) mmol/L、TG (1.87 ± 0.36) mmol/L、LDL-C (0.34 ± 0.08) mmol/L 较对照组 (3.23 ± 0.32) mmol/L、(2.24 ± 0.38) mmol/L、(0.48 ± 0.11) mmol/L 明显较低, HDL-C (1.06 ± 0.35) mmol/L 较对照组 (0.73 ± 0.42) mmol/L 明显较高, 均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 蛤蚧能有效降低 AST、ALT 活性。

[关键词] 非酒精性脂肪肝; NAFLD 小鼠模型; 蛤蚧

[中图分类号] R285.6 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.05.005

Clinical observation of medicine Tokay in nonalcoholic fatty liver therapy

PAN Lei¹, CUI Rong-gang¹, ZHAO Bao-hui¹, LI Hua², ZHANG Zhong-yong¹, WANG Xu-chu¹. 1. Hebei Province Cangzhou Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Cangzhou, Hebei 061001, China; 2. People's Hospital in Hebei Province Hejian City, Cangzhou, HeBei 061001, China

[Abstract] **Objective** To research the clinical effect of tokay on treating nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) of model mice. **Methods** 95 male cleaner kunming mice were selected to establish the study model of NAFLD, and were randomly divided into normal group and model group. 25 mice of normal group were given normal feed and 70 mice of model group were given a high-fat feed, then they were continuously fed for 6 weeks to build NAFLD model. After the model was established, 60 draw in the model group were randomly divided into control group (30 cases) and observation group (30 cases). The two groups were given isotonic saline infusion treatment, and observation group were added with tokay feeding. Serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) activity and lipid acyl of total cholesterol (TC), three glycerin (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) of the two groups were observed. **Results** The experimental mice model was successfully established. Compared with control group, lipid indexes and tissue biopsies of observation group had statistically significant difference. ALT and AST of observation group after treatment were significantly lower than the control group and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Blood lipid index of TC, TG and LDL -C were significantly lower than the control group, HDL-C was significantly higher than the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Tokay can effectively reduce the activity of AST and ALT.

[Key words] nonalcoholic fatty liver disease; NAFLD mouse model; tokay

非酒精性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是指除酒精以外其他因素所致的以弥漫性干细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征, 主要包括单纯脂肪变性、非酒精性脂

肪肝炎和肝硬化, 目前医学上多采用动物模型进行 NAFLD 的临床病理和药物研究^[1-3]。我们建立 NAFLD 小鼠模型, 选取中医药物蛤蚧分组开展药物研究, 报告如下。

1 资料与方法

1.1 小鼠模型建立 95 只实验小鼠由我院实验室喂养, 实验前行常规健康检查均为健康小鼠。其中雌性 45 只, 雄性 50 只; 体重 $25 \sim 31$ (27.2 ± 1.3) g。随机分为 2 组, 正常组 25 只, 普通饲料配方: 面粉

基金项目: 河北省中医药管理局计划项目 (2015290)

作者单位: 1. 061001 河北沧州, 河北省沧州中西医结合医院; 2. 061001 河北沧州, 河北省河间市人民医院

引用格式: 潘磊, 崔荣岗, 赵保辉, 等. 中药蛤蚧治疗非酒精性脂肪肝小鼠的临床观察 [J]. 东南国防医药, 2016, 18(4): 465-467.

25%,玉米面 30%,麸皮 15%,鱼粉 8%,骨粉 3%,奶粉 2%,豆粕 11%,食盐 0.5%,鱼肝油 0.5%,鸡蛋 4%;模型组 70 只,高脂饲料配方:普通饲料 80%,猪油 16%,胆固醇 2%,猪胆盐 2%。均持续灌胃喂养 8 周后两组各随机抽取 10 只禁食 12h 后处死,取眼眶血 1~2 mL 和肝脏切片。

1.2 研究方法 模型组 60 只抽签随机分为对照组和观察组,两组各 30 只。两组均给予等渗盐水灌注治疗,观察组加用蛤蚧喂养。蛤蚧购自药材市场,通过煮熟切碎加入饲料喂养,10 mg/d,分 2 次喂养。均持续灌胃喂养 2 周后处死。

1.3 观察指标 ① 观察两组血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)指标活性。② 观察两组总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)变化。检测方法:取眼眶血 2 mL 离心分离血清后冷存,采用 ELISA 法和自动生化检测仪严格按照说明书操作测定。

1.4 统计学处理 选用统计学软件 SPSS 19.0 对研究数据进行分析 and 处理,计量资料($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 t 检验进行,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 模型建立成功标准 模型组实验室血脂指标检测结果明显高于正常组,且光镜下观察肝脏切片可见肝细胞肿胀,细胞中可见大量脂滴和脂质堆积等明显脂肪肝样病变症状,见表 1、图 1。

表 1 对照组和模型组小鼠实验前后血脂指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
对照组	25	0.58±0.43	1.36±0.41	0.87±0.51	2.83±0.34
模型组	70	2.67±0.78	6.87±1.79	0.39±0.44	4.64±1.32
<i>t</i> 值		6.31	7.60	5.39	4.47
<i>P</i> 值		0.011	0.007	0.031	0.037

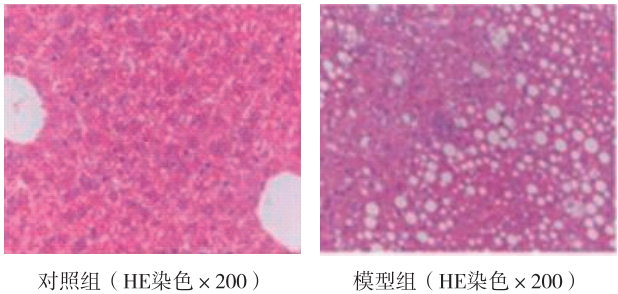


图 1 模型组肝细胞肿胀,细胞中可见大量脂滴和脂质堆积等明显脂肪肝样病变

2.2 两组 AST、ALT 活性比较 观察组治疗后 AST、ALT 指标较对照组明显较低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组 AST、ALT 指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

指标	时段	对照组 (<i>n</i> = 30)	观察组 (<i>n</i> = 30)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
ALT(IU/L)	治疗前	44.12±4.31	43.84±4.45	0.25	>0.05
	治疗后	38.75±5.81	33.54±4.23	3.97	<0.05
AST(IU/L)	治疗前	239.43±25.12	241.84±23.46	0.38	>0.05
	治疗后	221.68±21.25	205.73±20.84	2.94	<0.05

2.3 两组血脂指标比较 观察组治疗后 TC、TG、LDL-C 较对照组下降更为明显,HDL-C 较对照组显著较高,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 两组血脂相关指标结果比较($\bar{x} \pm s$)

指标	时段	对照组 (<i>n</i> = 30)	观察组 (<i>n</i> = 30)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
TC(mmol/L)	治疗前	3.54±0.36	3.48±0.35	0.65	>0.05
	治疗后	3.23±0.32	2.82±0.26	5.45	<0.05
TG(mmol/L)	治疗前	2.36±0.41	2.34±0.46	0.18	>0.05
	治疗后	2.24±0.38	1.87±0.36	3.87	<0.05
HDL-C(mmol/L)	治疗前	0.72±0.41	0.69±0.43	0.28	>0.05
	治疗后	0.73±0.42	1.06±0.35	3.31	<0.05
LDL-C(mmol/L)	治疗前	0.54±0.14	0.53±0.12	0.15	>0.05
	治疗后	0.48±0.11	0.34±0.08	5.64	<0.05

3 讨论

随着生活水平的提高、饮食结构的变化以及体力活动的减少,肥胖、高脂血症、糖尿病等代谢性疾病患者日趋增多^[4],非酒精性脂肪肝发病率也随之增加,且有向年轻群体蔓延的趋势^[5-8]。AST、ALT 是反映肝细胞病变的重要生化指标,当机体代谢失衡、肝脏细胞沉积时引起的肝脏炎症反应会刺激 AST、ALT 分泌,同时干细胞摄取过多的游离脂肪酸超过了线粒体的氧化能力,进而促进脂质物合成提高血脂水平^[9]。

蛤蚧是中小型的蜥蜴,在动物性中药中较为珍贵,具有补肺益肾、纳气平喘、助阳益精等功效^[10]。现代医学发现蛤蚧含有较为丰富的胆碱、肌肽、肉碱等成分,而胆碱、肌肽、肉碱具有较强的抗氧化能力,可清除在氧化应激过程中使细胞膜的脂肪酸过度氧化而形成的活性氧自由基以及 α - β 不饱和醛,能有效抑制肝脏炎症细胞因子的释放、调节血压血脂进而达到保护肝肾功能、改善脂肪肝炎的作用^[11-12]。现代药理学研究证实,蛤蚧含多种游离氨基酸及 Fe、Zn、Cu、Se、Co、Mn 等微量元素^[13]。其中

Fe 为血红蛋白组成部分,缺乏易引起贫血。Cu 对超氧化物歧化酶、细胞色素氧化酶等多种酶的活性有重要影响。Se 本身为抗氧化剂,参与谷胱甘肽过氧化物酶的合成,且具有多方面活性,可清除自由基、抗脂质过氧化、保护心肌、肝脏及抗癌,维持细胞膜通透性与稳定性。Co 可促进红细胞再生、生血作用。蛤蚧具有抗炎、抗应激、抗氧化衰老、免疫调节等药理作用,应用于非酒精性脂肪肝小鼠模型可形成肝细胞内质网胁迫机制,减轻内质网应激并调节小鼠脂代谢,发挥保肝护肝作用,对 NAFLD 具有治疗作用^[14]。

本次研究结果表明,观察组治疗后 AST(33.54±4.23) IU/L、ALT(205.73±20.84) IU/L 与对照组相比明显较低,血脂 TC、TG、HDL-C、LDL-C 等指标也明显改善,差异均具有统计学意义($P<0.05$),这和李民等^[15]的研究结论基本相吻合,可见蛤蚧具有较好的治疗效果。

综上所述,通过 NAFLD 小鼠模型研究,发现蛤蚧治疗非酒精性脂肪肝效果较为显著,为 NAFLD 临床治疗的提供参考用药^[16]。

【参考文献】

- [1] 张忠勇,祁月英,苏秀海,等.非酒精性脂肪肝治疗研究进展[J].现代中西医结合杂志,2012,21(8):902-904.
- [2] 刘涛,徐秋玲,赵岩.非酒精性脂肪肝大鼠肠道黏膜屏障功能的实验研究[J].医学研究生学报,2015,28(11):1124-1127.
- [3] 游云鹏,郑大东,王颖,等.左卡尼汀对非酒精性脂肪肝的疗效观察[J].医学研究生学报,2015,28(8):847-849.
- [4] 矫树华;刘鹏亮;温艳惠.脂肪肝与血脂、血糖、血尿酸及血清铁蛋白的相关性分析[J].东南国防医药,2015,17(3):275-277.
- [5] 冷亮,蒋卓勤,纪桂元,等.抗氧化剂防治非酒精性脂肪肝的研究进展[J].现代预防医学,2012,39(3):564-565.
- [6] 李博萍,陈依雨,潘竞锵,等.决明子提取物对非酒精性脂肪肝大鼠的护肝、拮抗胰岛素抵抗和抗氧化糖基化作用[J].环球中医药,2015,35(10):1171-1175.
- [7] 王宇.非酒精性脂肪肝营养干预的研究进展[J].医学研究生学报,2014,27(1):99-101.
- [8] 张容亮,韦嘉,陆永萍,等.超声监测非酒精性脂肪肝兔模型的建立[J].医学研究生学报,2015,28(1):28-31.
- [9] 刘家奇,邵宛芳,黄业伟,等.普洱茶(熟茶)茶粉、黑茶茶粉、六堡茶对非酒精性脂肪肝大鼠肝细胞 CYP2E1 表达的影响[J].胃肠病学,2013,18(7):411-415.
- [10] 苏剑锋,江伟,杨静,等.活血降脂保肝汤对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织 Nrf2、PKB 表达的影响[J].中成药,2015,37(8):1828-1832.
- [11] 徐永莉,张月云,黄勇,等.黑点蛤蚧与红点蛤蚧治疗哮喘小鼠的疗效比较[J].四川大学学报(自然科学版),2014,25(2):419-422.
- [12] 张小兆.蛤蚧六参汤对稳定期慢性阻塞性肺疾病的影响[J].中成药,2014,36(9):1831-1834.
- [13] 万颖,房殿亮,沈薇,等.内质网应激诱导肝细胞脂肪沉积及可能机制[J].第二军医大学学报,2012,33(10):1055-1059.
- [14] 何宗全,章安庆,叶显道,等.牛磺熊去氧胆酸对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国普通外科杂志,2015,24(7):990-995.
- [15] 李民,达坤林,徐建中,等.清脂护肝方治疗非酒精性脂肪肝疗效观察[J].中国美容医学,2010,19(24):23.
- [16] 王宇,郑锦峰.非酒精性脂肪肝营养干预的研究进展[J].医学研究生学报,2014,27(1):99-101.

(收稿日期:2016-01-08;修回日期:2016-05-18)

(本文编辑:齐名;英文编辑:王建东)