

肝脂清对酒精性脂肪肝大鼠血清胰岛素 及胰岛素抵抗的干预作用[※]

● 刘冬梅* 李 勇 孙欢娜

摘 要 目的:观察肝脂清对实验性酒精性脂肪肝大鼠空腹血清胰岛素(FINS)、空腹血糖(FPG)含量及胰岛素抵抗(IR)的干预作用,探讨肝脂清调控糖代谢的作用机制。方法:实验分设正常对照组、模型组、防治组、自然恢复组、肝脂清高剂量组、肝脂清低剂量组、东宝肝泰组。除正常对照组外,其余各组均采用酒精灌胃法复制大鼠酒精性脂肪肝模型,防治组造模同时给予肝脂清。灌胃法给药,实验结束后采用放射免疫法分别检测各组 FINS 含量,同时检测各组 FPG。结果:模型组大鼠 FINS、FPG 高于正常组,存在着明显的 IR($P < 0.01$);防治组与各治疗组大鼠 FINS、FPG 分别低于模型组与模型自然恢复组,IR 明显改善($P < 0.05 \sim 0.01$),且肝脂清高、低剂量组均显著优于东宝肝泰组($P < 0.01$)。结论:肝脂清可提高胰岛素的敏感性,消除胰岛素抵抗,增强机体对脂肪、糖、乙醇等物质的代谢与利用能力。

关键词 肝脂清颗粒 脂肪肝 酒精性 大鼠 FINS FPG IR

近年来,国内外对脂肪肝的研究十分活跃。其最常见的病因是酗酒、肥胖、糖尿病,发病机理相当复杂,包括糖与脂肪代谢紊乱。以中医理论为指导,针对脂肪肝形成的基本病机,结合我们多年临床经验,以健脾行气、化痰散结为治法,组方肝脂清,临床用于防治脂肪肝,取得了令人满意的疗效^[1]。本研究通过观察其对实验性酒精性脂肪肝大鼠空腹血清胰岛素(FINS)、空腹血糖(FPG)含量及胰岛素抵抗(IR)的影响,旨在探讨其调控糖代谢的作用机理,以揭示其治疗脂肪肝的机制。

1 材料与方法

1.1 材料 健康雄性 Wistar 大鼠 80 只,体重 130 ± 5 g,由山东大学实验动物中心提供,鲁动质字 D20021024 号,SPF 级。肝脂清颗粒:由山东中医药大学附院制剂室提供。东宝肝泰片:通化东宝药业股份有限公司生产,国药准字: H22024764,批号: 040302。

[※]基金项目 山东省中医药科技发展计划项目(No:2003-42)

* 作者简介 刘冬梅,女,医学博士,副主任医师,硕士研究生导师。主要从事消化系统疾病的临床研究。

• 作者单位 山东中医药大学附属医院(250011)

胰岛素放射免疫分析试剂盒:由潍坊三维生物工程集团有限公司提供。TG328B 电子分析天平:上海天平仪器厂。GMJ 型全自动放射免疫 γ 计数器:江苏省电子医疗研究所。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 80 只健康雄性 Wistar 大鼠随机分为 8 组,即正常对照 I 组;模型组;肝脂清防治组;肝脂清高剂量组;肝脂清低剂量组;东宝肝泰组;模型自然恢复组;正常对照 II 组。每组各 10 只大鼠。动物购回后,常规饲养 7 天,以适应实验室环境。分组采用随机方法:将大鼠分别按体重标号(1~80 只),查随机排列表,将动物编号与表中的随机数字相对应。造模方法参照范建高酒精灌胃模型^[2]方法,喂以普通饲料,并以 60% 酒精 15 ml/Kg 灌胃每日一次,以 10% 酒精为唯一饮料,造模 12 周。正常组喂以普通饲料,自由饮水。实验期间,模型组、肝脂清高剂量组各死亡 1 只,肝脂清低剂量组及东宝肝泰组各死亡 2 只。

1.2.2 给药方法 均采用灌胃法给药,每日一次。药物及剂量如下:防治组,造模同时按 0.75 g / 100 g · 日给予肝脂清(相当于成人临床用药量的 2 倍),共 12 周;肝脂清高剂量组,按 3.75 g / 100 g · 日给予肝

脂清(相当于成人临床用药量的 10 倍);肝脂清低剂量组,按 1.88g / 100g · 日给予肝脂清(相当于成人临床用药量的 5 倍);东宝肝泰组:按 0.1g / 100g · 日给予东宝肝泰;正常对照组,给予生理盐水。灌胃量均为 1ml/100g 体重,以上药物临用时用蒸馏水配成所需浓度及药量。各治疗组及阳性对照组均灌胃给药 10 周。正常保留组:处理方法同正常组,连续 22 周后处死;模型自然恢复组:前 12 周同模型组,后 10 周普通饲料饲养,自由饮水。

1.2.3 标本制备与测定方法 模型组大鼠模型建立后,与正常对照Ⅰ组,同时禁食禁水 24 小时,之后用 3% 戊巴比妥钠 1ml/kg 行腹腔注射麻醉,剖腹,自大鼠腹主

动脉取血 3 ~ 5ml,注入试管中,凝固后分离血清, - 20℃ 保存。测定前置冰水中复融,混匀后,4℃ 3000rpm 离心 5min,取上清液体待测。其余各组大鼠在实验进展到预定日期,其后处理过程与方法同模型组。严格按照胰岛素放免分析试剂盒说明书测定程序测定样品中 FINS 含量,同时检测各组大鼠 FPG 水平。

1.2.4 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较用 t 检验法进行分析,采用 SPSS 统计软件包进行统计。

2 结果 见表 1。

表 1 肝脂清对酒精性脂肪肝大鼠血清胰岛素含量及胰岛素抵抗指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物(只)	FINS	FPG	HOMA-IR	FIRI
正常Ⅰ组	10	18.26 ± 5.09	4.38 ± 0.99	3.56 ± 1.23	1.21 ± 0.39
模型组	9	27.19 ± 8.3 *	8.13 ± 1.04 **	10.76 ± 1.67 **	2.24 ± 0.32 **
防治组	10	19.7 ± 6.7 ♦	4.68 ± 0.89 ♦♦	3.67 ± 1.66 ♦♦	1.34 ± 0.38 ♦♦
正常Ⅱ组	10	17.14 ± 2.12	4.3 ± 0.86	3.25 ± 0.62	1.16 ± 0.2
模型恢复组	10	25.65 ± 1.49 **	6.69 ± 0.98 **	7.63 ± 1.23 **	2.02 ± 0.16
治高组	9	17.16 ± 2.02 ▲▲▲	4.06 ± 1.03 ▲▲▲	3.04 ± 0.61 ▲▲▲	1.09 ± 0.23 ▲▲▲
治低组	8	17.79 ± 1.96 ▲▲	3.03 ± 1.09 ▲▲	2.48 ± 0.95 ▲▲	0.4 ± 0.38 ▲▲
东宝组	8	22.96 ± 2.17 **	5.96 ± 0.99 **	6.08 ± 1.22 **▲	1.79 ± 0.19 **▲

注: * 与正常Ⅰ组比较; * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$; ♦ 与模型组比较: ♦ $P < 0.05$, ♦ ♦ $P < 0.01$; ☆ 与正常Ⅱ组比较: ☆ $P < 0.05$, ☆ ☆ $P < 0.01$; ▲ 与自然恢复组比较: ▲ $P < 0.05$, ▲ ▲ $P < 0.01$; △ 与东宝肝泰组比较 △ $P < 0.05$, △ △ $P < 0.01$ 。

由表 1 可知:模型组存在着明显的 IR,与正常组相比具有非常显著的差异($P < 0.01$);防治组具有良好的预防 IR 的作用,与模型组相比差异具有非常显著性($P < 0.01$)。各治疗组均对 IR 有良好的治疗作用。肝脂清用药各组、东宝肝泰组与模型自然恢复组比较,均存在显著性差异($P < 0.05 \sim 0.01$),肝脂清高、低剂量组疗效均显著优于东宝肝泰组($P < 0.01$),肝脂清用药各组与正常组比较差异无显著性($P > 0.05$),东宝肝泰组与正常组比较差异具有非常显著意义($P < 0.01$)。

3 讨 论

脂肪肝是指由于各种原因使肝脏脂肪代谢功能发生障碍,导致脂类物质的动态平衡失调,过量脂肪在肝细胞内堆积,若其贮存量超过肝湿重的 5% 以上或在组织学上有 1/3 以上的肝细胞脂肪化,即为脂肪

肝^[3]。其最常见的病因是酗酒、肥胖、糖尿病,属于多因素引起的代谢紊乱综合征。发病机理相当复杂,其中 IR 在脂肪肝的形成中起着至关重要的作用。IR 使胰岛素介导的糖氧化、贮存、异生受损,以致糖代谢异常。同时 IR,体内脂肪分解速度加快,脂蛋白酶活性下降等生成过量内脏脂肪沉积。因此,打破 IR,提高机体对胰岛素的敏感性是恢复正常糖脂代谢的关键,消除 IR 是防治脂肪肝的重要环节之一。

中医学中无“脂肪肝”病名,然就临床表现和体征而言,当属“积聚”、“胁痛”、“酒疸”等病范畴,病因多为过食肥甘醇酒厚味等。我们依据中医学理论,通过总结脂肪肝形成的主要因素、病变发展的规律以及临床证候特点,提出素体脾虚、健运失职是脂肪肝发生的内在基础,过度饮酒、嗜食肥甘厚味等是脂肪肝形成的主要病因,肝郁脾虚、痰瘀互结是本病的基本病

(下转第 50 页)

情况,知情同意书签署情况,受试者对研究药物的反应。要对全部随机受试者进行确认。了解受试者不良反应和研究药物依从性,停止研究治疗的原因;查看严重事件报告表和相应证据材料;查看医疗记录的完整性,核查研究表格有关数据。监查员还要查看药物的储存、分发、回收和销毁记录;确认随机号码与患者分发的研究药品包装号码是否相符;查看研究药物的有效期,提前更换过期药品等等。由于监查工作是一项严肃认真的科学工作,所以要选派高年资深人员担任监查员。要督促监查员进行项目的监查,每月监查一次,对发现的质量问题进行探讨,并撰写监查报告。

2.5 辅助科室检测数据质量控制

为了保证药物临床试验检查结果的真实性、可靠性和可溯源

性,我们还要加强检验、影像、医技部门的质量控制。我们帮助他们进行 GCP 培训和专业知识培训,所有的仪器设备都制定了使用和维护的标准操作规程,每次的仪器使用都必须作专门的记录,由使用人签字认可,同时每个部门还成立了质控小组,定期对所有仪器设备的精准度进行调试,并实行二级审核制度,由专人对所有的数据进行审核。

3 总结

近年来,我们按照 GCP 的要求,对承接的临床试验项目进行严格管理,通过规范化的运行模式,在充分保护受试者的权益和安全基础上,切实加强临床试验建设和管理工作,将管理措施深入到临床试验的每一个环节,强化质量管

理,取得了良好的效果,保证了临床试验的规范性,提高了临床试验研究水平,也为我们目前正在开展的国际多中心药物临床试验奠定了基础。

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理局. 药物临床试验质量管理规范((2003 年 9 月起实施)[J]. 中药新药与临床杂志,2004,23(1):1-5.
- [2] 熊宁宁,刘芳,蒋萌,等. 临床试验机构伦理委员会标准操作规程[J]. 中国临床药理学与治疗学,2003,8(4):477-480.
- [3] 梁伟雄,王奇. 中药新药临床试验实施 GCP 规范的体会[J]. 中药新药与临床药理,2000,11(5):259-260.
- [4] 宋苹,唐雪春,梁伟雄,等. 建立“三级质控”体系,提高药物临床试验质量[J]. 中国新药杂志,2005,14(7):896-897.
- [5] 邹积宏,刘渝君. 监查员在药品临床研究中的作用[J]. 黑龙江医药,2003,16(5):461-462.

(上接第 62 页)

机。其发生发展是一个由虚至实、由脾及肝、由气及血的病理过程,健脾行气、化痰散结是其基本治疗方法,并由此组方肝脂清。方中云苓、半夏等健脾化痰,黄芩、海蛤粉等清热利湿、软坚散结,枳实、丹参等行气活血,甘草和诸药。

实验结果显示:正常组与肝脂清防治组 IR 无明显差异;模型组 IR 显著高于正常组,说明存在着胰岛素抵抗;肝脂清两治疗组 IR 明显下降,与正常组无明显差异;东宝肝泰对 IR 有治疗作用,但效果劣于肝脂清。本实验结果表明,肝脂清具有显著的提高组织对

胰岛素的敏感性,打破并有效消除 IR,恢复正常糖脂代谢,从而发挥防治脂肪肝的作用。

参考文献

- [1] 李勇,王杰,孙建光. 肝脂清治疗脂肪肝 100 例[J]. 山东中医杂志,2000,19(6):343-344.
- [2] 范建高,曾民德,李继强,等. 肝内脂肪和脂质过氧化与肝纤维化的实验研究[J]. 中华内科杂志,1997,36(12):808-811.
- [3] 范建高,曾民德. 脂肪性肝病[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:77.