

中医药防治非酒精性脂肪性肝病 抗氧化作用研究进展

刘益臻 杨钦河* 张玉佩 梁荫基
(暨南大学 医学院, 广东 广州 510632)

摘要: 以中药复方、中药提取物和单体、中医非药物疗法为主要研究对象,对近年来中医药从抗氧化角度防治非酒精性脂肪性肝病的研究进展做一综述,并对现阶段研究水平进行评价,同时提出进一步研究的靶点。

关键词: 中医药; 防治; 非酒精性脂肪性肝病; 抗氧化作用

中图分类号: R575.5 文献标识码: A 文章编号: 1673-2197(2014)01-0035-03

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 发病率呈逐年上升趋势,但发病机制不明,目前广泛接受的观点是 Day 和 James 提出的“二次打击”学说^[1]。第一次打击是指各种原因如肥胖、胰岛素抵抗引起的肝脏脂肪沉积和肝脂肪变性;第二次打击主要为氧化应激导致的脂质过氧化损伤及某些异常细胞因子直接损伤肝细胞,引起肝脏炎症坏死和纤维化。因此,抗氧化治疗 NAFLD 已成为当今研究的热点,近年来中医药在此领域显示出一定的治疗优势。

1 中药复方

1.1 滋补肝肾 益气活血方药

中成药软脉灵口服液^[2] (熟地、五味子、枸杞、怀牛膝、茯苓、制何首乌、白芍、柏子仁、远志、炙黄芪、陈皮、淫羊藿、当归、川芎、丹参、人参) 灌胃治疗高脂饮食导致的 SD 大鼠 NAFLD 模型,与模型组相比,中药组能降低肝组织 MDA (丙二醛) 水平,提高 SOD 活力。

1.2 益气活血化痰利湿方药

于洪波^[3] 用复方中药 (包括西洋参、黄芪、泽泻、山楂、白术、车前草、柴胡、丹参) 防治大鼠 NASH (非酒精性脂肪性肝炎),结果表明,与模型组比较,复方中药组肝组织 SOD 活性明显升高,MDA 含量显著下降。

1.3 清热活血健脾化痰祛湿方药

夏瑾瑜等^[4] 以不同剂量肝脂康胶囊 (泽泻、决明子、生山楂、五味子、郁金) 和东宝肝泰对高脂饮食制作脂肪肝病动物模型进行干预,对比研究发现,肝脂康胶囊大、中剂量组大鼠体重、肝指数及血清 TC (总胆固醇)、TG (甘油三酯)、

FFA (游离脂肪酸)、ALT (丙氨酸氨基转移酶)、AST (谷氨酸氨基转移酶) 显著降低, HDL 升高,肝组织 MDA、SOD、GSH、TG 恢复到接近正常,且肝脂康胶囊在降低肝指数、TC、AST,升高 HDL 方面,优于东宝肝泰。张成琰^[5] 使用降脂益肝冲剂 (丹参、泽泻、何首乌、茯苓、草决明、山楂等) 给予高脂饮食制作 Wistar 大鼠 NAFLD 模型进行干预,结果表明与模型组相比,其 SOD、GSH-PX 显著升高,MDA 显著降低 ($P < 0.01$)。王伟芹等^[6] 以清热活血、健脾利湿法拟清肝调脂饮 (田基黄、白术、赤芍、栀子、青皮、枸杞、决明子、熟大黄、生甘草) 灌胃治疗高脂饮食所致的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) wistar 大鼠模型,治疗后其中药组与模型组相比,肝匀浆 MDA 水平显著下降, SOD 活性明显提高,但是同西药对照组 (西利宾胺) 相比,差异无显著性。

1.4 清热祛痰疏肝方药

肝舒汤 (黄连 12g、半夏 10g、瓜蒌 30g、姜黄 10g、太白樗木 12g) 水煎液灌胃治疗高脂饮食复制大鼠的 NAFLD 模型,8 周后与模型组和东宝肝泰对照组相比,肝匀浆中 MDA 含量显著降低,肝细胞超微结构明显改善 ($P < 0.01$)^[7]。

1.5 疏肝健脾方药

曾兰等^[8] 拟疏肝健脾、化痰活血方 (柴胡、白术、茯苓、海藻、泽泻、丹参等),以其含药血清体外干预 NAFLD 细胞模型,结果显示中药组和对照组 (水飞蓟素) 与模型组相比较均可明显升高 SOD、GSH、NO 水平,降低 MDA 水平,同时中药组在升高 NO 及 GSH 方面明显优于水飞蓟素组 ($P < 0.05$),还可明显提高 NAFLD 体外细胞模型细胞线粒体膜

收稿日期: 2013-11-15

基金项目: 国家自然科学基金 (81273617)

作者简介: 刘益臻 (1981 -), 女, 暨南大学医学院在站博士后, 研究方向为中西医结合临床。

通讯作者: 杨钦河 (1961 -), 男, 医学博士, 暨南大学教授、博士生导师, 研究方向为中西医结合防治慢性肝病。

流动性、膜电位水平,防护该体外模型线粒体损伤。杨钦河等^[9]使用疏肝健脾方药(柴胡疏肝散、参苓白术散等)治疗NAFLD模型大鼠,与正常组比较,模型组大鼠肝组织中UCP2 mRNA(解偶联蛋白 mRNA)表达水平显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,疏肝组、健脾组和综合组UCP2 mRNA表达水平显著下降($P < 0.05$)。模型组肝组织UCP2蛋白表达水平显著升高;与模型组比较,各用药组UCP2蛋白表达水平均显著下调($P < 0.01$)。结论:疏肝健脾方药可使NAFLD大鼠肝组织中UCP2基因和蛋白表达水平降低。

1.6 清热利湿方药

茵陈蒿汤灌胃治疗SD大鼠NASH模型,其低剂量组($3.31\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)可明显降低肝组织内MDA含量,增加GSH-PX含量,效果优于复方益肝灵组。而高剂量组($4.97\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)仅对血清MDA、GSH-PX有所改善^[10]。

综上所述,目前中药复方在从抗氧化角度防治NAFLD方面的研究正处于起步阶段,多以疏肝、滋补肝肾、化痰活血、清热利湿治法为思路,选用的复方多为经典方,如参苓白术散、柴胡疏肝散、茵陈蒿汤等,研究的着眼点多在脂质过氧化方面,从氧化应激的其它方面进行研究的较少。

2 中药提取物

2.1 白藜芦醇

白藜芦醇(resveratrol)广泛存在于虎杖等中药中,具有抗氧化、抗突变、抗肿瘤及抑制脂质过氧化等活性^[11]。白藜芦醇 $100\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 、 $50\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 灌胃治疗高脂膳食喂养导致的NAFLD模型SD大鼠可显著降低其肝组织中MDA含量^[11]。白藜芦醇 $80\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 、 $40\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃治疗高脂饮食同时皮下注射小剂量四氯化碳所致小鼠NAFLD模型,可明显降低肝组织中TG、TC、FFA、MDA的含量,增加SOD、GSH,对抗脂质过氧化反应,减少自由基的损伤^[12]。

2.2 银杏叶提取物

刘兴等^[13]研究发现,银杏叶提取物可使NASH大鼠肝组织中MDA含量下降、SOD含量上升,减轻肝细胞损害,明显改善肝功能。槲皮素是银杏叶提取物总黄酮的主要成分,具有降糖降脂、抗纤维化以及抗氧化应激作用,其 $300\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 和 $75\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 灌胃治疗高脂饮食所致NAFLD模型SD大鼠,可显著降低MDA水平^[14]。

2.3 大黄提取物

杨以琳等^[15]以大黄提取物($2.0\text{g}/\text{kg}$ 、 $1.0\text{g}/\text{kg}$)灌胃治疗高糖-高脂诱导NAFLD大鼠模型,8周后,治疗组与水飞蓟宾对照组相比,二者均能降低MDA水平,升高SOD水平,同模型组比较差异有显著性意义。

2.4 其它

藏药柳茶为蔷薇科草药,以柳茶提取物 1.05 、 2.1 、 $4.2\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃治疗高脂饮食所致NAFLD模型SD大鼠,结果显示,柳茶提取物可不同程度上调大鼠肝脏中对清

除氧自由基有关键作用的GSH-PX(谷胱甘肽过氧化物酶)和分解氧自由基的CAT mRNA(过氧化氢酶)的表达,提高了GSH-PX和CAT的活性,防止脂质过氧化产物对细胞器膜的损害和对DNA的损伤,增强肝脏的抗氧化能力效应,调节和改善自由基代谢平衡^[16]。醋柳黄酮是中药沙棘主要成分黄酮类化合物的总称,醋柳黄酮($10\text{mg}/\text{kg}$)灌胃治疗高脂饮食所致NAFLD模型SD大鼠7周,大鼠血清脂质过氧化产物MDA含量较模型组明显下降($P < 0.05$),血清SOD活性较模型组的差异无统计学意义^[17]。

综上所述,目前中药单体和提取物在从抗氧化角度防治NAFLD方面的研究较少,药物种类有待进一步发掘。

3 中医非药物治疗法

给予高脂饮食导致的SD大鼠NAFLD模型电针治疗肝俞、足三里、丰隆及太冲穴,治疗16周后,电针组大鼠与服用熊去氧胆酸和超氧化物歧化酶的对照组相比,电针组的肝组织中的MDA含量明显下降($P < 0.05$),SOD的活性差异无统计学意义^[18]。

综上所述,目前从抗氧化角度治疗NAFLD的中医非药物治疗法研究很少,以上研究表明非药物治疗法同样能起到抗氧化治疗的作用。

4 结论

以上研究表明,中医药在抗氧化治疗NAFLD方面具有不容忽视的潜力,不论中药复方、中药提取物或非药物治疗法均能起到对抗脂质过氧化反应,减少自由基损伤的效果,但存在如下问题:①绝大多数的研究仅停留在脂质过氧化层面,检测指标普遍为SOD和MDA,深入到线粒体、微粒体、解偶联蛋白等分子层面的研究较少;②体内研究为主,体外研究甚少,导致说服力不足。

因此中医药从抗氧化角度治疗NAFLD的研究有必要深入到分子层面,阐明其作用机制。更为重要的是,众所周知,药物治疗法在治疗的同时也可能会有损伤肝功能的副作用,因此中医非药物治疗法具有极大的研究和开发应用前景。

5 展望

氧化应激涉及多个信号通路、细胞器、基因蛋白等,除脂质过氧化方面,在抗氧化方面可选择的深层次研究靶点有:

5.1 线粒体

线粒体是一双层膜性器官,其功能的完成主要依靠线粒体膜流动性的维持。线粒体膜对细胞内环境稳定的维持以及能量代谢和信息传递的重要生理功能顺利进行有着重要的意义^[19]。线粒体膜流动性与膜电位水平的下降参与了NAFLD的发生发展,导致呼吸链功能下降,ATP生成减少,ROS生成增多,通过氧化应激及脂质过氧化等损伤肝细胞,而氧化应激及脂质过氧化同时也损伤线粒体膜本身,导致线粒体膜流动性和膜电位水平进一步下降,形成恶性循环,最终导致NAFLD^[20]。

5.2 微粒体

CYP2E1 是细胞色素 P450 的 2E1 亚型,为微粒体混合功能氧化酶系中最重要的氧化酶,参与肝脏的代谢与解毒,高表达后可使肝细胞中氧化反应增强,造成肝细胞膜脂质过氧化,降低抗氧化系统的保护作用,损伤肝细胞。NAFLD 肝细胞中 CYP2E1 表达增多,参与 NAFLD 的形成^[21]。

5.3 解偶联蛋白

解偶联蛋白(UCP)可通过氧化磷酸化解偶联影响 ATP 合成和氧化应激产生。UCP2 表达在脂肪肝中显著提高,更因其通过氧化磷酸化解偶联减少氧化应激的作用,而成为 NAFLD 发病机制研究中的热点^[22]。

5.4 转录因子

Nrf2 属于亮氨酸拉链家族的调节抗氧化应激反应的重要转录因子,Nrf2 的缺失明显加重了非酒精性脂肪肝的进程^[23]。在非酒精性脂肪肝后期,Nrf2 的激活,Nqo1 活性的增加可能起着保护醌诱导的氧化原损伤,GST 活性的降低可能是中和了亲电子剂。

综上所述,中医药在抗氧化方面防治 NAFLD 的作用需要进一步深入研究,不可仅仅停留在脂质过氧化水平,尤其是中医非药物治疗法应得到高度重视。

参考文献:

[1] DAY CP, JAMES OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits" [J]. *Gastroenterology*, 1998, 11(4): 842.

[2] 卢明芳, 赖国祥, 王育斌, 等. 软脉灵对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织抗氧化能力的影响 [J]. *实用临床医药杂志*, 2008, 12(7): 16-18.

[3] 于洪渡, 戴林, 彭海英, 等. 复方中药干预大鼠非酒精性脂肪性肝炎的实验研究 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2007, 16(6): 576-579.

[4] 夏瑾瑜, 贾学平, 程良斌, 等. 肝脂康胶囊对非酒精性脂肪肝的防治作用 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2004, 12(1): 15-17.

[5] 张成琰, 赵和平. 降脂益肝冲剂对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝脏抗氧化能力的影响 [J]. *山西医药杂志*, 2009, 38(5): 398-400.

[6] 王伟芹, 尹常健, 孙建光, 等. 清肝调脂饮抗非酒精性脂肪性肝炎大鼠脂质过氧化反应的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(12): 229-231.

[7] 杨成志, 狄灵, 聂丹丽, 等. 肝舒汤对非酒精性脂肪肝大鼠脂质过氧化的影响 [J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2008, 29(3): 336-338.

[8] 曾兰, 盛国光, 王平, 等. 疏肝健脾、化痰活血方对非酒精性脂肪性肝病体外细胞模型线粒体脂质过氧化的影响 [J]. *湖北*

中医杂志, 2011, 33(4): 7-9.

[9] 杨钦河, 陈同炎, 李娜, 等. 疏肝健脾方药对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝组织 UCP2 mRNA 及蛋白表达的影响 [J]. *安徽中医学院学报*, 2010, 29(2): 56-58.

[10] 刘莹, 张会存, 段娜, 等. 茵陈蒿汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝炎的药效学观察 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(13): 217-219.

[11] 段胜红. 白藜芦醇对大鼠非酒精性脂肪肝的保护作用 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2009, 7(5): 127-128.

[12] 任平, 王文斌, 欧阳昌汉, 等. 白藜芦醇对非酒精性脂肪肝小鼠肝组织脂质过氧化的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(9): 2149-2151.

[13] 刘兴, 张利凤, 高峰, 银杏叶提取物对非酒精性脂肪性肝炎肝损伤的保护作用 [J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(22): 3770-3772.

[14] 张茂华, 梁志清, 秦青, 等. 槲皮素对非酒精性脂肪性肝病大鼠抵抗素和白细胞介素 18 及胰岛素抵抗影响的研究 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2013, 21(1): 666-668.

[15] 杨以琳, 潘竞铿, 吕俊华, 等. 大黄提取物治疗高糖-高脂诱导大鼠非酒精性脂肪性肝病作用及机制 [J]. *广州医药*, 2012, 43(4): 37-40.

[16] 王晶宇, 马晓燕, 夏苗, 等. 藏药柳茶提取物对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏保护作用及其机制研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2011, 27(3): 191-194.

[17] 潘浩, 窦爱霞, 宗蕾, 等. 醋柳黄酮治疗大鼠非酒精性脂肪性肝病的研究 [J]. *肝脏*, 2008, 13(1): 30-32.

[18] 程井军, 彭锐, 吴其恺, 等. 电针对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝组织氧化及抗氧化状态的影响 [J]. *中国康复*, 2008, 23(3): 158-160.

[19] SERVIDDIO G, SASTRE J, BELLANTI F, et al. Mitochondrial involvement in non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Mol Aspects Med*, 2008, 29(1-2): 22-35.

[20] 曾兰, 盛国光. 疏肝健脾化痰活血方对非酒精性脂肪性肝病大鼠体外细胞模型线粒体膜流动性及膜电位水平的影响 [J]. *中西医结合肝病杂志*, 2012, 22(6): 360-363.

[21] 于红艳, 张松筠, 周晓映, 等. 阿卡波糖、二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝组织肿瘤坏死因子- α 及细胞色素 P4502E1 的影响 [J]. *中国药业*, 2013, 22(7): 11-13.

[22] 金希, 厉有名. 解偶联蛋白与非酒精性脂肪性肝病 [J]. *国际消化病杂志*, 2013, 33(2): 86-87.

[23] CHOWDHRY S, NAZMY MH, MEAKIN PJ, et al. Loss of Nrf2 markedly exacerbates nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Free Radic Biol*, 2010, 4(8): 357-371.

(责任编辑: 姜付平)