

疏肝利胆中药防止胆固醇结石形成的实验研究

方邦江, 朱培庭, 张静喆, 裴新军, 杨英昕, 梁晓强

(上海中医药大学龙华医院中医外科研究所, 上海 200032)

[摘要] 目的: 探讨疏肝利胆中药胆石净防治胆石形成的作用机制, 以为临床应用提供理论与实验依据。方法: 80 只豚鼠随机分为正常对照组、模型组、熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)组、疏肝利胆中药(胆石净)组。以高胆固醇致石食饵诱发法建立豚鼠胆石模型。其中疏肝利胆中药组、UDCA 组分别给予胆石净、UDCA 治疗 7 周。观察各组豚鼠一般情况、胆囊成石率、胆囊组织形态学变化。结果: 疏肝利胆中药组豚鼠一般情况及行为学特征较模型组有明显改善, 其胆囊成石率较模型组和 UDCA 组低, 差异有统计学意义。疏肝利胆中药能明显改善胆囊组织的病理结构, 主要表现为胆囊黏膜炎症反应明显减轻或消失, 胆囊组织结构基本接近于正常。结论: 疏肝利胆中药能有效降低胆石的形成。其作用机制可能与改善胆石症胆囊组织病理结构, 减少胆固醇对胆囊平滑肌的进一步侵害, 从而增强胆囊收缩功能有关。

[关键词] 胆石; 胆固醇; 疏肝利胆

[中图分类号] R575 .62 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-1977(2006)01-0056-04

Inhibiting effects of recipe for dispersing stagnated liver qi to promote bile flow on cholesterol gallstone formation in guinea pigs

Bang-Jiang FANG, Pei-Ting ZHU, Jing-Zhe ZHANG, Xin-Jun PEI, Ying-Xin YANG, Xiao-Qiang LIANG

(Institute of Chinese Traditional Surgery, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032)

ABSTRACT Objective: To explore the mechanism of the inhibiting effects of recipe for dispersing stagnated liver qi to promote bile flow (Danshijing Tablets) on cholesterol gallstone formation and provide experimental evidence for its clinical application. Methods: Eighty guinea pigs were randomly divided into 4 groups, which were normal control group, untreated group, ursodeoxycholic acid (UDCA)-treated group and Danshijing Tablets-treated group. The gallstones in guinea pigs were induced by high-cholesterol diet. UDCA and Danshijing Tablets were given orally to guinea pigs in the corresponding group respectively for seven weeks. Then the physical signs of the guinea pigs, the rates of gallstone formation and the histomorphological changes of the gallbladder were examined. Results: The behavior of guinea pigs in the Danshijing Tablets-treated group was obviously improved and the rate of gallstone formation was significantly decreased as compared with those in both untreated and UDCA-treated groups ($P < 0.05$). The inflammation reaction of mucous membrane in gallbladder was evidently reduced in the Danshijing Tablets-treated group and its morphological appearance turned to be approximately normal. Conclusion: Recipe for dispersing stagnated liver qi to promote bile flow may decrease gallstone formation. Its mechanism may be related to reducing pathologic changes in gallbladder tissues, which will reduce the damages of cholesterol to the smooth muscle in gallbladder and enhance the contractility of gallbladder.

KEY WORDS gallstones; cholesterol; dispersing stagnated liver qi to promote bile flow

Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao J Chin Integr Med, 2006, 4(1):56-59 www.jcimjournal.com

[基金项目] 上海市重点学科建设资助项目(No.T0304); 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项中医(基础)研究课题(No.04-05jp24)

Correspondence to: Bang-Jiang FANG, MD, Associate Professor. E-mail: fangbj@163.com

胆石症是一种世界范围内的多发性、难治性疾病。在我国,胆石症的发病率呈较快的上升趋势,部分地区患病率已达 10%^[1],接近世界发达国家 10%~15% 的发病水平^[2]。目前胆石症的治疗仍以手术为主,其近期疗效虽令人满意,但远期疗效较差。术后结石残留、复发以及胆管狭窄和手术对肝脏造成损害等因素制约了外科手术的开展,难以从根本上解决胆石症的防治问题。胆石症仍是我国良性胆道疾患中致死、致残的重要原因。我们在前期的研究工作中证实,疏肝利胆中药治疗胆石症疗效确切^[3,4]。本实验通过观察胆固醇结石动物的一般情况、胆石生成情况,胆囊组织形态学变化以及疏肝利胆中药对其的干预作用,以期进一步探讨胆固醇结石形成与疏肝利胆中药防止胆石形成的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 80 只清洁级白色红目豚鼠,雌雄各半,体质量(220±20)g,由上海中医药大学实验动物中心提供。

1.2 主要实验药物与仪器 疏肝利胆中药胆石净(由大黄、虎杖、陈皮组成),0.3g/片,由上海中医药大学龙华医院制剂室提供;熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA),10mg/片,由上海三维长江生化制药厂生产,批号 200304005;FTIR-750 红外光谱仪,美国 Nicolet 公司产品;光学显微镜,日本 Olympus 公司产品。

1.3 动物分组、造模及药物处理 动物饲养于上海中医药大学实验动物中心动物室,室温(23±10),适应性喂养 1 周,均无怀孕及不良反应,且饮食、饮水正常。将 80 只豚鼠随机分为正常对照组、模型组、UDCA 组和疏肝利胆中药组,每组 20 只。采用高胆固醇致石食饵诱发法建立豚鼠胆囊胆固醇结石动物模型^[5]。正常对照组喂以正常饲料及适量青菜,模型组喂以致石饲料及少量青菜,疏肝利胆中药组和 UDCA 组在喂以与模型组相当的致石饲料及青菜的同时给予相应的药物灌胃。用药剂量按成人用药量通过实验动物体型系数换算法进行计算^[6],胆石净按 0.271g·kg⁻¹·d⁻¹给药、UDCA 按 40mg·kg⁻¹·d⁻¹给药,正常对照组和模型组均以等量生理盐水灌胃。每日分 2 次灌胃,连续 7 周。

1.4 标本采集 用药第 7 周末,以 15% 乌拉坦豚鼠腹腔麻醉,肉眼观察胆汁成石情况,完整切除胆囊后观察胆囊内成石情况并收集胆石。

1.5 胆石红外光谱定性 采用溴化钾压片法测定胆石样品^[7]。

1.6 胆囊组织形态学观察 将胆囊组织置于 10%

中性甲醛溶液中固定,经梯度酒精序列脱水、浸蜡、石蜡包埋、切片、苏木素-伊红染色,置于光学显微镜下观察组织形态学变化。

1.7 统计学处理 所有实验数据采用 SPSS 11.0 软件进行统计学分析。计量资料均数用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用方差分析,计数资料用率或构成比表示,采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 豚鼠一般情况 正常对照组豚鼠体质量增加,反应灵活,活动敏捷,被毛密集而有光泽、紧贴皮肤,鼻、唇湿润清洁,眼睛明亮,大便正常,实验过程中无死亡,解剖时发现 1 只豚鼠无胆囊。模型组豚鼠饮食减少,生长缓慢,被毛干枯、蓬松且易脱落,活动迟缓,反应迟钝,眼、鼻、唇、耳、尾部色淡少泽,造模 30 d 后有 3 只豚鼠死亡,解剖发现胆囊内有肉眼结石。疏肝利胆中药组和 UDCA 组豚鼠行为学表现、体质量和营养状况等方面与模型组比较有明显改善,但不能恢复至正常对照组水平,实验过程中各有 2 只豚鼠死亡,解剖未发现胆囊明显结石。死亡豚鼠由于其死时未达造模时间要求,所以未纳入统计分析,无胆囊豚鼠亦未纳入。用药第 7 周末各组动物体质量情况见表 1。

2.2 胆石定性 肉眼所见胆囊结石呈泥砂或絮状沉淀。经红外光谱仪检测分析,胆石主要谱带表现为胆固醇振动,在 1466、1377 和 1050 cm⁻¹ 处有较强的胆固醇吸收峰,与文献报道一致^[7],可确定为胆固醇结石。豚鼠胆石定性红外光谱分析见图 1。

2.3 豚鼠胆石生成情况 正常对照组中 1 只豚鼠无胆囊,其余 19 只中有 1 只发生胆石,成石率为 5.26%;模型组中除 3 只死亡外,17 只中有 14 只发生胆石,成石率为 83.35%,高于正常对照组($P < 0.01$)。疏肝利胆中药组和 UDCA 组成石率分别为 27.78% 和 38.89%,均低于模型组($P < 0.05$)。见表 1。

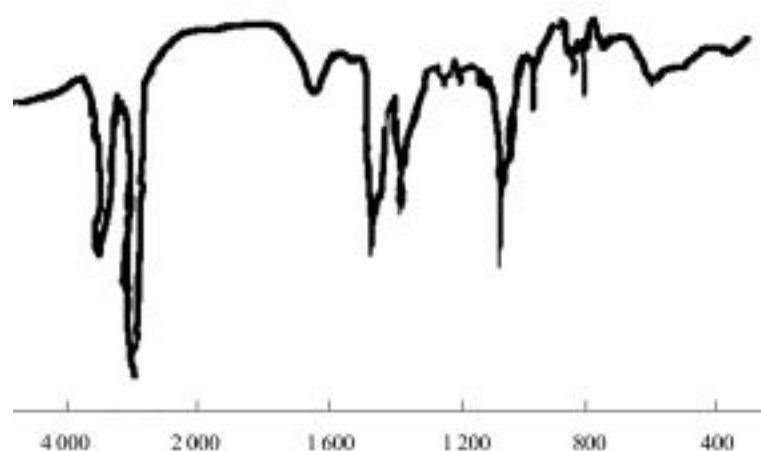


图 1 豚鼠胆囊结石红外光谱图

Fig 1 Infrared absorption spectrogram of gallstone in guinea pigs

表 1 各组豚鼠用药第 7 周末体质量和成石率的比较

Tab 1 Body weight and rate of gallstone formation of guinea pigs after 7-week treatment in 4 groups

Group	n	Body weight (g)	Number of guinea pigs with gallstone	Rate of stone formation (%)
Normal control	19	389.42 ± 39.59	1	5.26
Untreated	17	276.35 ± 26.67**	14	82.35**
UDCA-treated	18	316.22 ± 29.77**	7	38.89
Danshijing Tablets-treated	18	356.51 ± 30.42**	5	27.78

($\bar{x} \pm s$)** $P < 0.01$, vs normal control group; * $P < 0.05$, $P < 0.01$, vs untreated group; $P < 0.01$, vs UDCA-treated group.

2.4 胆囊组织形态学观察 模型组豚鼠胆囊黏膜上皮细胞大部分脱落,黏膜下血管显著扩张、充血,炎性细胞浸润,胆囊壁肌纤维相互分离;UDCA 组豚鼠

胆囊组织上皮细胞基本完整,黏膜下血管呈轻度扩张、充血、水肿;疏肝利胆中药组豚鼠胆囊组织上皮细胞完整,仅见黏膜下轻度充血、水肿。见图 2。

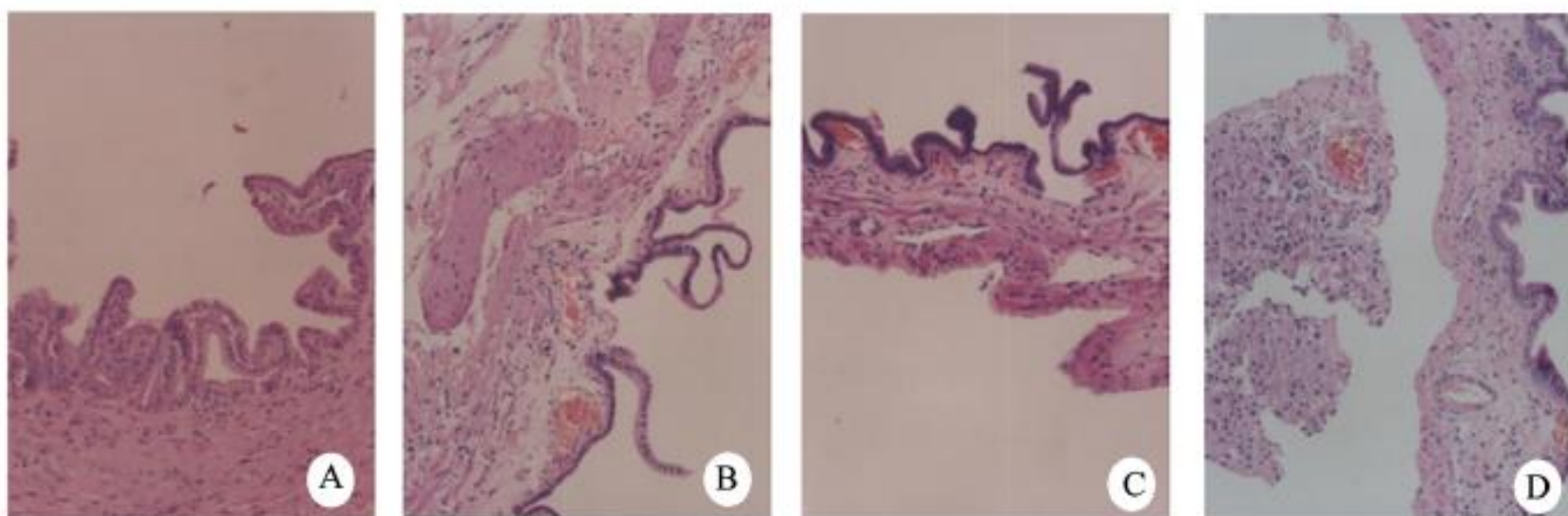


图 2 各组豚鼠胆囊组织形态学变化(苏木素-伊红染色, × 200)

Fig 2 Morphological changes of gallbladder tissue in guinea pigs in 4 groups (hematoxylin-eosin staining, × 200)

A: Normal control group; B: Untreated group; C: UDCA-treated group; D: Danshijing Tablets-treated group.

3 讨论

随着人口老龄化与饮食结构的改变,我国胆石症的发病类型发生了很大变化。近 20 年来,胆囊结石约占胆石症的 80%^[8],以胆固醇为主要成分的胆囊结石已成为我国胆石症的主要发病类型^[1,9]。因此,本实验采用高胆固醇致石食饵诱发法建立豚鼠胆固醇结石模型。

胆石症一般可归属于中医“胁痛”、“肝胀”、“胆瘕”、“癖黄”、“胆胀”、“黄疸”、“胃脘痛”、“结胸”等范畴。自 20 世纪 50 年代开始,我们在国内较早开展了对胆石症临床与机制的研究。在总结顾伯华教授、徐长生教授治疗胆石症经验的基础上,对 274 例慢性胆道感染、胆石症患者进行辨证分析后发现,胆石症中肝胆气郁者占 44.53%,采用疏肝利胆法治疗,其有效率可达 86.82%^[3]。在此基础上,我们成功研制了用于治疗肝胆气郁型胆石症的小复方中成药胆石净。胆石净由大黄、虎杖、陈皮三味中药组

成。大黄性味苦、寒,归脾、胃、大肠、肝、心经,攻下通瘀、利胆退黄。药理研究表明,大黄能增加胆汁流量,促进胆汁分泌和胆囊收缩,降低奥狄括约肌张力以调节胆道的运动功能,且具有抗胆道感染的作用^[10,11]。虎杖性味苦、寒,归肝、胆、肺、大肠经,通瘀攻下、利胆退黄。现代药理研究表明,虎杖能明显增加肝胆汁的分泌,促进胆道的收缩功能,对自由基系统引发的脂质过氧化反应具有很强的抑制作用,并具有良好的抗菌作用^[12,13]。陈皮性味辛、苦、温,归脾、肺经,具有祛湿健脾、疏肝理气的功效,其水溶液具有抗氧化、促进胆道和胃肠道运动等作用,其有效成分甲基橘皮苷能增加胆汁和胆汁内固体物的排出量,其挥发性橘皮油可以溶解胆石^[14,15]。综观胆石净组方:大黄配虎杖,攻下通瘀、利胆退黄,伍陈皮疏肝理气,切合疏肝利胆的治则,体现了“六腑以通为用”的治疗思想。

胆囊壁的破坏可直接影响胆囊的运动功能,导致胆囊平滑肌收缩能力下降。已有研究表明,胆固

醇沉积在平滑肌肌膜上所导致的胆囊肌层硬化是胆囊收缩功能减弱的重要原因,并且胆囊收缩素等胃肠激素对胆道运动的调节是通过作用于胆囊平滑肌上相应的受体而发挥生理效应的,因此胆囊组织的破坏可导致位于胆囊平滑肌上的胃肠激素受体减少,引起胆囊运动功能的减低^[16,17]。本实验结果表明,疏肝利胆中药不仅能明显改善豚鼠的行为学体征,还可降低成石率,且疗效优于 UDCA 组($P < 0.05$)。疏肝利胆中药组豚鼠的胆囊黏膜炎症反应较模型组明显减轻或消失,胆囊组织基本接近正常。由此可见,疏肝利胆中药胆石净通过改善胆石症胆囊组织的病理结构,减少胆固醇对胆囊平滑肌的进一步侵害,使胆囊平滑肌上的胃肠激素受体免受破坏,直接或间接地加强胆囊收缩功能、减轻胆汁淤滞,从而达到防治胆石症的目的。这可能是疏肝利胆中药治疗胆石症的作用机制之一。

[参考文献]

- 1 陈希纲,刘家奇,彭民浩,等.胆石病临床流行病学调查——附 8585 例分析.中华普通外科杂志, 2002, 17(2): 99-101.
- 2 Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead. Cell, 2001, 104(4): 503-516
- 3 朱培庭,张静哲,曹中平,等.治疗慢性胆道感染、胆石病 274 例的总结.上海中医药杂志, 1986, 20(9): 15-17.
- 4 方邦江,周爽,顾宏刚,等.朱培庭从肝论治胆石病经验.中医杂志, 2004, 45(5): 334.
- 5 朱培庭,朱世敏.实用中医胆病学.北京:人民卫生出版社, 1999. 272.
- 6 陈奇.中药药理实验方法学.北京:人民卫生出版社, 1994. 206.
- 7 曾繁清,牛菲,李宗山,等.磁疗排出人体珍珠形胆结石的红外光谱分析.中国医学物理学杂志, 2000, 4(17): 245-246.
- 8 黄志强.胆道外科的现状与未来.中国实用外科杂志, 1999, 19(1): 17-18.
- 9 石景森,任予.我国胆道外科实验研究的进展.中华实验外科杂志, 2004, 21(12): 1418-1419.
- 10 沈彬,吴雪,王新宇.大黄合剂对急性重症胆管炎大鼠血氧自由基、磷脂酶 A₂ 和血浆 PGF₁ / TXB₂ 的影响.中草药, 1999, 30(10): 769-771.
- 11 吕慧怡,王选深.利胆消石胶囊的制备和临床观察.中国药业, 2001, 10(2): 30-31.
- 12 唐望先,虞涤霞,但自力,等.肝炎平对急性肝损害时脂质过氧化作用的实验研究.同济医科大学学报, 1998, 27(1): 56-57.
- 13 樊小容.虎杖对致病菌株药敏试验.时珍国医国药, 2000, 11(2): 108.
- 14 沈映君.中药药理学.上海:上海科学技术出版社, 1997. 128.
- 15 徐彭.陈皮水提物和陈皮挥发油的药理作用比较.江西中医学院学报, 1998, 10(4): 172-173.
- 16 宋婷婷,杨德治.胆囊收缩素对消化功能的影响及其相关机制.东南大学学报(医学版), 2002, 21(2): 190-192.
- 17 章琳,董蕾.高胆固醇饮食对胆囊结石形成和胆囊运动的影响.西安交通大学学报(医学版), 2005, 26(3): 260-262, 299.

[收稿日期] 2005-11-19