

• 方药研究 •

滋阴泻火、清热燥湿中药对雌性大鼠肥胖和性发育相关指标的影响

崔红¹ 杨爱君¹ 叶卉初¹ 崔雁¹ 李贵¹ 李宇航²

(1. 首都医科大学附属北京友谊医院, 北京市宣武区永安路 95 号, 100050; 2. 首都医科大学)

[摘要] **目的** 观察滋阴泻火、清热燥湿中药对营养性肥胖大鼠的减重效果及性发育相关指标的影响。**方法** 建立营养性肥胖动物模型, 灌喂中药, 观察其体重、耐疲劳能力、血清性激素水平及卵巢发育情况。**结果** 灌喂中药后, 可以使大鼠体重明显减轻, 但不影响其身长和负重游泳时间, 并可以使其血脂、肝脏脂肪变发生率降低; 中药还可以使血中雌二醇水平、同期黄体出现率降低, 下丘脑促性腺激素释放激素表达下降。**结论** 滋阴泻火、清热燥湿中药对雌性大鼠有明显的减重作用, 使肝脂肪变的发生率降低, 未见副作用, 可能与该类中药调整其性腺轴、抑制肥胖时性成熟提前倾向有关。

[关键词] 肥胖; 滋阴泻火; 清热燥湿; 性发育

Effect of Yin-Enriching Fire-Draining and Heat-Clearing Damp-Drying Chinese Herbs on Obesity and Sexual Development Index in Female Rats

CUI Hong, YANG Ai-jun, YE Hui-chu, et al.

(Beijing Friendship Hospital, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100050)

ABSTRACT **Objective** To study the effect of yin-enriching fire-draining and heat-clearing damp-drying Chinese herbs on weight reduction and sexual development index (SDI) in rats with alimentary obesity. **Methods** Chinese herbs were fed to alimentary obesity model rats and their body weight, fatigued endurance, serum sexual hormone and ovarian development condition were tested. **Results** After model rats were drenched, body weight, blood lipid, incidence of fatty liver, level of E₂, frequency of corpus luteum, expression of hypothalamic GnRH decreased obviously. But there was no change in body length and time of weighted swimming. **Conclusion** Yin-enriching fire-draining and heat-clearing damp-drying Chinese herbs can reduce female rats' body weight and incidence of fatty liver obviously without adverse effect. Its effect may be relevant to regulating gonadal axis and inhibiting sexual precocity.

Key Words Obesity; Enrich yin and drain fire; Clear heat and dry damp; Sex development

单纯性肥胖症是与生活方式密切相关, 以摄入过多、运动不足、行为偏差为特征, 全身脂肪组织过度增生、堆积的慢性病^[1]。本病与遗传因素相关, 常常会影响心、肺等多脏器的功能。虽然饮食调整、运动处方、行为矫正等肥胖干预方法取得了一定疗效, 但实施时仍有很多难点和困惑。目前减肥的西药也不适用于儿童^[2], 而口服中药易被家长和患儿接受。我们试图从肥胖与性发育的关系和中药调整体内代谢与内分泌这一新的视角, 探讨中药干预肥胖的新思路和新方法, 现将结果报告如下。

1 材料

1.1 动物

28 日龄 SPF 级雌性 SD 大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.2 饲料

普通饲料: 面粉 20%、玉米粉 22.45%、麸皮

16%、豆粕 10%、鱼粉 5%、骨粉 3%、苜蓿粉 20%、复合维生素 0.05%、混合矿物盐 1.5%、食盐 2%; 高脂饲料: 基础饲料 55%、奶粉 10%、熟黄豆 5%、鸡蛋 10%、猪油 12%、蔗糖 5%、麻油 1%、食盐 2%。由中国预防医学科学院动物室配制。

1.3 药物

每 100ml 药物相当于生药玄参 4g、黄柏 2g、大黄 1g、黄芪 8g、三棱 4g、知母 4g、山楂 6g。

1.4 试剂

雌二醇 (E₂) 测定试剂盒购自美国 DRG 公司; 兔抗鼠促性腺激素释放激素 (GnRH) 多克隆抗体购自博士德公司。

2 方法

2.1 动物分组及模型建立

175 只大鼠按体重排序, 取 41~60 百分位点的 35 只为对照组, 喂以普通饲料; 61~100 百分位点的 70 只, 随机剔除 14 只 (以平衡各组各时间点动物数), 余 56 只为肥胖组, 喂以高脂饲料。其余大鼠全部剔除。实

验 6 周后开始分组,Ⅰ组为对照组,始终饲喂普通饲料;Ⅱ组为肥胖组,始终饲喂高脂饲料;Ⅲ组为中药组,实验 6 周后开始灌喂中药。所有大鼠自由进食、进水,每周测量体重、身长、尾长,测量前 6 小时撤食、撤水。每组、每 3 周随机选取 7 只大鼠,乙醚麻醉下摘除右侧眼球眼眶动脉、静脉取血,分离血清后-20℃保存。同时,留取卵巢组织,甲醛浸泡,石蜡包埋,HE 染色。

2.2 灌喂中药

于实验第 6 周肥胖模型建立后开始,每只每次 1ml(用量按每千克体重计,为人体 5~7 倍量),每日 1 次,每周 5 次。

2.3 负重游泳实验

实验第 15 周时,每组随机选取 3 只大鼠,负重为体重的 10%,放入直径 45cm、水深 40cm 的桶中游泳,水温 35℃,以大鼠死亡下沉为实验结束,记录时间,观察其耐疲劳能力^[3]。

2.4 血脂和 E₂ 的测定

均采用酶联免疫法。

2.5 下丘脑 GnRH 的表达

新鲜下丘脑组织,中性甲醛固定,常规病理制片,采用免疫组化 S-P 法,一抗采用兔抗鼠 GnRH 多克隆抗体,工作浓度 1:150,4℃过夜,其余步骤按试剂盒说明书操作。3,3'-二氨基联苯二胺盐酸盐(DAB)显色,用 0.01mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。

2.6 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用 SPSS 软件包,两组之间比较采用 *t* 检验,多组之间比较采用方差分析。两组数据的相关分析采用两变量相关分析。

3 结果

3.1 一般情况

表 1 示,实验中,高脂饲料喂养大鼠较对照组大鼠体重增长迅速,尤其是后期,腹腔内脂肪明显较对照组丰富。15 周实验结束时,肥胖组大鼠较对照组超重 21.4%。灌喂中药可以使体重逐渐接近对照组,但不影响身长的发育。食欲和活动度正常,大便正常,无腹泻情况。

表 1 各组大鼠体重、身长和尾长的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	体重(g)	身长(cm)	尾长(cm)
对照组	初始	7	86.1±1.4	15.1±0.4	11.1±0.5
	终末	7	282.6±13.7	23.6±0.3	17.9±0.8
肥胖组	初始	7	93.8±3.7**	15.2±0.4	11.7±0.3*
	终末	6	343.0±24.4**△	24.1±0.6	18.5±0.8
中药组	初始	7	93.8±3.7**	15.2±0.4	11.7±0.3*
	终末	6	310.0±26.5*	23.4±0.8	18.4±0.4

与对照组同时时间点比较,**P*<0.05,***P*<0.01;与中药组同时
间点比较,△*P*<0.05

3.2 各组大鼠耐疲劳能力比较

肥胖组大鼠负重游泳时间短于对照组,中药组大鼠负重游泳时间短于对照组,高于肥胖组,但差异均无显著性意义。

3.3 各组大鼠肝脏脂肪变比较

参照《非酒精性脂肪肝诊断标准(草案)》^[4],将肝脏脂肪变定义为 100 倍光学显微镜下,5 个视野中 3 个以上肝小叶出现肝细胞的脂肪变。结果显示,对照组不同时间点总计 42 只大鼠,无一例发生肝脏脂肪变;肥胖组总计 35 只大鼠,15 只出现肝脏脂肪变(42.9%),其中与中药组相同的 3 个时间点 21 只大鼠中,10 只发生肝脏脂肪变(47.6%);中药组 21 只大鼠中,3 只发生肝脏脂肪变(14.3%)。

3.4 各组大鼠血脂水平比较

表 2 示,各时间点肥胖组大鼠甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白(LDL)均显著高于对照组(*P*<0.05 或 *P*<0.01)。灌喂中药后 3 周、6 周、9 周时,TG 和 LDL 明显降低,与肥胖组比较,TG 下降尤为明显,差异有显著性意义(*P*<0.05 或 *P*<0.01)。

3.5 各组大鼠血中 E₂ 水平比较

血中 E₂ 水平随鼠龄增加而增加,且同期肥胖组 E₂ 水平高于对照组,但差异无显著性意义(*P*>0.05)。服用中药后,血中 E₂ 水平明显降低,因鼠数较少,尚无统计学意义,肥胖组血中 E₂ 水平随年龄的增长曲线较对照组左移,而灌喂中药后曲线右移。

3.6 各组大鼠光镜下卵巢组织学变化比较

各组大鼠卵巢组织结构正常。实验初 4 周龄大鼠卵巢可见发育中的各级卵泡细胞,未见成熟卵泡和黄

表 2 各组大鼠不同时间血脂水平比较(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TG			LDL		
		实验 3 周	实验 6 周	实验 9 周	实验 3 周	实验 6 周	实验 9 周
对照组	7	0.46±0.10	0.53±0.11	0.53±0.27	1.21±0.14	1.22±0.22	1.51±0.19
肥胖组	7	0.73±0.09**	1.45±0.66*	1.36±0.32**	1.49±0.20**	1.63±0.30*	1.88±0.21**
中药组	7	0.56±0.13△	0.81±0.27△	0.91±0.16△	1.32±0.14	1.37±0.18	1.55±0.42

与对照组同时时间点比较,**P*<0.05,***P*<0.01;与肥胖组同时时间点比较,△*P*<0.05,△△*P*<0.01

体形成;实验初期随鼠龄增加,成熟卵泡和黄体形成呈增加趋势;至实验 12 周,仍有较多的黄体形成,但各级卵泡均有减少趋势,尤其是成熟卵泡。同期比较,肥胖组大鼠较对照组和中药组有更多的成熟卵泡和黄体形成,但成熟卵泡的形态明显劣于对照组和中药组。参照潘键等^[5]所述,将卵巢黄体出现率定义为:沿卵巢缔冠状切,显微镜下每只卵巢出现的黄体数。黄体出现率随鼠龄增加而增多;同期比较,肥胖组明显高于对照组和中药组,3、6、9 周时差异有显著性意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.7 各组大鼠下丘脑 GnRH 表达情况比较

随鼠龄增加,下丘脑 GnRH 的表达呈逐渐增加趋势,肥胖组高于对照组,实验 9~12 周(13~16 周龄)时达高峰,以后逐渐接近对照组。灌喂中药后 GnRH 的表达下降,低于肥胖组,但差异无显著性意义。

4 讨论

中医学认为,肥胖症多为虚实相间,本虚标实,本多为气虚,标多为痰湿和瘀血,以脾肾两虚为内因,饮食失调、运动过少为外因,肝失疏泄是其发生的重要环节,痰瘀互阻是其主要病机,虚损变证是其不良后果。本实验观察到,青春期前肥胖组大鼠卵巢较同期对照组趋于成熟,血中 E_2 水平随年龄的增长曲线较对照组左移,均提示雌性肥胖大鼠性成熟早于正常大鼠。田占庄等^[6]以滋阴泻火中药方剂(组成:生地黄、炙龟甲、黄柏、知母等)治疗儿童性早熟,研究发现,滋阴泻火中药能使患儿下丘脑-垂体-卵巢轴功能亢进的程度显著好转。我们在上述研究的基础上,重新组方,以滋阴益气、清热燥湿、活血化瘀为治,试图从调整内分泌和代谢的角度干预肥胖。结果显示,灌喂中药后,实验大鼠体重、血脂、脂肪肝的发生和耐疲劳能力均有不同程度

恢复,说明该类中药对肥胖的及时干预非常有效。应用中药后,大鼠无食欲不振、腹泻、活动减少等不适表现,耐疲劳能力不但没有降低,反而有所提高,说明该类中药无明显副作用。同时,服用中药后,不仅大鼠的肥胖症状得到控制,性成熟提前的现象也趋于好转,说明一些能够调整下丘脑-垂体-性腺轴的中药可能对能量平衡、性发育有着双重的直接或间接调节作用,但其确切机制,有待进一步研究。

另外,已有报道提出肥胖男孩的性发育情况与女孩不同,有延迟的倾向^[7],我们的另一项研究也发现,雄性肥胖大鼠睾丸发育不良^[8]。针对这种倾向,应如何应用调整性发育和代谢的中药进行干预,亦有待进一步研究。

参考文献

- [1] 丁宗一. 儿童期单纯肥胖症防治常规. 中华儿科杂志, 2000, 38(9): 39~41.
- [2] 孙玉茹. 全国肥胖防治专题学术会议纪要. 中华医学杂志, 2003, 13: 1183~1184.
- [3] 张卫明, 吴国荣, 赵伯涛. 银杏种仁保健功能的研究. 南京师范大学学报(自然科学版), 1998, 21(3): 72~75.
- [4] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪肝诊断标准(草案). 中华肝脏病杂志, 2000, 9(6): 325.
- [5] 潘键, 李海浪, 郑意楠. 雌性大鼠真性性早熟发生模型的实验研究. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(1): 84~85.
- [6] 田占庄, 赵宏, 陈伯英. 滋阴泻火中药对性早熟模型大鼠促性腺激素释放激素及其受体 mRNA 表达的影响. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(9): 695~698.
- [7] 孟国柱, 李正秋, 曾志伟, 等. 男性单纯性肥胖患儿性发育的变化. 实用儿科临床杂志, 2003, 18(3): 209~210.
- [8] 杨爱君, 崔红, 崔雁, 等. 营养性肥胖对大鼠睾丸发育的影响. 卫生研究, 2005, 34(4): 477~478.

(收稿日期: 2006-01-23; 修回日期: 2006-03-30)

(上接第 350 页)

本组资料显示, PM 和 DM 重型患者阴虚证的发生率(74.2%)明显高于轻型患者的发生率(34.7%), 可能与重型患者湿热之邪较重, 热易伤阴有关。另外, 由于中医的阴虚证与患者肌肉病理损害的程度有一定的相关性, 重证患者病理损害较严重, 患者阴虚症状表现较为明显。重型患者气虚证、痰湿证、火热证和血瘀证的发生率与轻型患者比较没有显著差异, 表明气虚证、痰湿证、火热证和血瘀证的发生率与患者病情轻重没有明显关系。

参考文献

- [1] Bohan A, Peter JB. Polymyositis and Dermatomyositis. N Engl J Med, 1975, 292(7): 344~347.

- [2] Hudgson P, Peter JB. Inflammatory disorders of muscle classification. Clin Rheum Dis, 1984, 10(1): 3~8.
- [3] 徐继琴, 李德淳, 王丽萍, 等. 皮炎患者血清肌红蛋白检测的初步分析. 临床皮肤科杂志, 1996, 25(6): 377~378.
- [4] 俞宝田, 李洪迥, 姚富英. 皮炎患者血 CPK, LDH 同工酶的初步研究. 中华医学杂志, 1983, 63(1): 6~8.
- [5] Dalakas MC, Illa I, Dambrosia JM, et al. A controlled trial of high-dose intravenous immune globulin infusions as treatment for dermatomyositis. N Engl J Med, 1993, 329(27): 1993~2000.
- [6] 王永炎. 中医内科学. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 363~369.
- [7] 朱文峰. 中医诊断学. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 85~100.

(收稿日期: 2006-11-15; 修回日期: 2007-01-16)