

电针穴位对非酒精性脂肪肝大鼠脂质代谢的影响

朱丽丽, 魏文茂, 曾志华, 卓廉士[△]

重庆医科大学 中医药学院 (重庆 400050)

【摘要】 目的 通过建立非酒精性脂肪肝(NAFLD)大鼠模型探讨针刺对 NAFLD 脂质代谢的影响。**方法** 将大鼠分为空白组和 NAFLD 组, NAFLD 组大鼠模型建立成功后, 再随机分为对照组、电针穴位组和电针非穴组, 电针穴位组取“丰隆”、“足三里”、“太冲”、“三阴交”穴, 电针非穴组取大鼠尾部中三分之一随机四处, 避开尾静脉, “治疗”4 周后处死所有动物取材, 检测大鼠的血清脂联素(ADP)、瘦素(LEP)、游离脂肪酸(FFA)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)。**结果** 电针“治疗”4 周后, 电针穴位组与对照组相比较 ADP、HDL 升高, LEP、LDL、FFA、TC、TG 下降($P<0.05$), 肝组织脂肪性变减轻, 电针非穴组与对照组比较变化不明显($P>0.05$), 肝组织脂肪性变无明显改变。**结论** 电针“丰隆”、“足三里”、“太冲”、“三阴交”等穴位, 能升高血清 ADP、HDL, 降低 LEP、LDL、FFA、TC、TG, 从而调节脂质代谢, 减少脂肪生成, 增加脂肪氧化, 减轻肝脏脂肪沉积, 治疗 NAFLD。

【关键词】 电针 非酒精性脂肪肝 游离脂肪酸 脂联素 瘦素

Impact of Electro-acupuncture on Lipid Metabolism in Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease ZHU Li-li, WEI Wen-mao, ZENG Zhi-hua, ZHUO Lian-shi[△]. School of Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400050, China

[△] Corresponding author, E-mail: zhuo1828@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of electroacupuncture on lipid metabolism in rats with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** 44 rats were divided into blank group and NAFLD group. The rats in the NAFLD group were randomly selected to be given blank treatment (control) or electroacupuncture stimulation on acupoints (EA), non-acupoints (ENA). The EA pointed to “Feng long”, “Zu sanli”, “Tai chong” and “San yinjiao”. The ENA pointed to four points in the middle one third of the rat tails without touching the veins. Four weeks after the treatment, serum levels of adiponectin (ADP), leptin (LEP), free fatty acids (FFA), high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), total cholesterol (TC), triglycerides (TG) of the rats were tested with immunoreagent. **Results** Compared with controls, the rats with EA treatment had significantly lower levels of serum LEP, LDL, FFA, TC and TG, and higher levels of serum ADP and HDL ($P<0.05$). The rats with EA treatment also experienced less fatty degeneration in hepatic tissues. Such changes were not observed in the rats with ENA treatment ($P>0.05$). **Conclusion** EA (Feng long, Zu sanli, Tai chong, San yinjiao) increases serum ADP and HDL, lowers LEP, LDL, FFA, TC and TG, and thereby reduces lipogenesis and liver fat deposition.

【Key words】 Electroacupuncture Nonalcoholic fatty liver disease Free fatty acids Adiponectin Leptin

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指患者无过量饮酒史, 而肝细胞脂肪性变发展到炎症、纤维化的一组疾病谱^[1]。目前认为脂代谢异常与胰岛素抵抗(IR)所引起的高游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)、高胰岛素血症是 NAFLD 发病机制的中心环节^[2]。随着脂联素(adiponectin, ADP)、瘦素(leptin, LEP)等多种脂肪因子的出现, 脂质代谢对于 NAFLD 的重要性被重新认识。而针灸作为中国传统医学中重要的组成部

分, 在对 NAFLD 的防治上面, 学者们做了很多临床研究, 发现针灸对 NAFLD 确有其效^[3-5]。同时众多实验研究证明电针可改善大鼠 NAFLD 状况, 减少其肝细胞脂肪性变, 恢复其肝脏功能^[6,7]。本实验通过建立 NAFLD 大鼠模型, 观察电针对 NAFLD 治疗的作用, 并从肝脏脂肪代谢的角度对其作用机制作初步探讨。

1 材料和方法

1.1 动物分组与造模

雄性 SD 大鼠 44 只, 清洁级, 购于重庆医科大

[△] 通讯作者, E-mail: zhuo1828@sina.com

学动物中心,体质量(170 ± 20) g,适应性饲养 3 d,标记后随机分为空白组(11 只)和 NAFLD 组(33 只),后者以高糖高脂饲料饲养 5 周造成 NAFLD 模型^[8]。高糖高脂饲料由 10%猪油、2%胆固醇、10%蔗糖、72.8%普通饲料、5%蛋黄粉、0.2%丙基硫氧嘧啶混合而成。5 周末,随机抽取空白组大鼠 1 只和 NAFLD 组大鼠 3 只麻醉过量处死,病理切片证实脂肪肝已形成。然后将余下的 NAFLD 大鼠 30 只及正常大鼠 10 只再予标记,并将所有 NAFLD 大鼠随机分为:对照组 10 只、电针穴位组 10 只和电针非穴组 10 只。

1.2 主要试剂及仪器

胆固醇购自重庆医科大学设备科;猪油和蛋黄粉为市售;丙基硫氧嘧啶(湖南迪诺制药有限公司,批号 100306),ADP 试剂盒、LEP 试剂盒、总胆固醇(TC)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、游离脂肪酸(FFA)试剂盒、高密度脂蛋白(HDL)试剂盒和低密度脂蛋白(LDL)试剂盒均购自南京建成生物有限公司。80-2 型低速离心机(上海手术器械厂)、UNICO7200 分光光度计〔龙尼柯(上海)仪器有限公司〕、图像采集系统等设备由重庆医科大学基础医学院提供,电针综合治疗仪(华佗牌 SDZ-II 型),毫针(32 号 1 寸,华佗牌)。

1.3 电针方法

电针穴位组以健脾调肝、化痰利湿和活血化瘀为治则,根据白春艳等^[7]实验结果,取“丰隆”、“足三里”、“太冲”、“三阴交”穴。电针非穴组随机针刺大鼠尾巴中三分之一段的 4 个部位(避开尾静脉)。针刺时置大鼠于固定器(中医药学院针灸实验室提供)中,大鼠膻穴根据《实验针灸学》^[9]定位,取一侧之上述诸穴,用 32 号 30 mm 长毫针,分别刺入 0.15~1 cm,行针 1 min,然后接通电针综合治疗仪,电针参数为:疏密波,频率 2 Hz,强度 1.5 mV,下肢肌肉轻微抖动为宜,保持大鼠清醒状态。每天“治疗”1 次,每次 15 min,连续治疗 4 周,左右侧穴位间日轮换。空白组和对照组亦放入大鼠固定器中 15 min/d,不作其它处理,共 4 周。

1.4 血、肝标本的收集和处理

实验 9 周末,大鼠禁食 24 h,称体质量,水合氯醛麻醉,经心脏穿刺采血,然后迅速取出肝脏,称肝质量,计算肝/体质量比值,并取肝左叶 3 块,用于病理切片。采集血液于清洁塑料离心管中静置后,在低温离心机上 3000 r/min 离心 20 min,常规收集血清待测。

1.5 检测项目和方法

肝指数检测:称重肝质量和体质量,计算肝质量/体质量的比值,即为肝指数。血清 LEP 含量的测定:用放射免疫法。血清 FFA、TC、TG、HDL、LDL 含量测定:采用比色法,操作严格按照试剂说明书进行。血清 ADP 含量测定:酶联免疫法,操作严格按照试剂说明书进行。病理学检测:取肝脏左叶相同部位大小两块肝组织放入 10%甲醛中固定,常规石蜡包埋、切片,HE 染色,光镜下观察。

1.6 统计学方法

数据结果用 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 空白组与 NAFLD 组大鼠肝脏病理变化对比

实验 5 周末肉眼可见空白组大鼠肝色鲜红,边缘锐利;NAFLD 组大鼠肝脏体积变大,边缘钝,颜色变黄,有油腻感,并可见颗粒状脂肪粒。显微镜下可见:空白组大鼠肝细胞排列紧密成索状,仅个别细胞内有少量脂滴;NAFLD 组大鼠肝脏中出现中重度弥漫性脂肪变性,脂变肝细胞增大,肝窦受压变窄甚至消失,肝索排列紊乱,尚可见肝细胞水肿等现象,证实脂肪肝已形成,见图 1。

2.2 肝组织的病理学变化

实验 9 周末,电针穴位组经过“治疗”后肝组织脂肪变性和炎性损伤得以很大改善,肝细胞结构趋于正常,有少数肝细胞内可见有小泡型脂滴,汇管区炎细胞浸润明显减轻,电针非穴组和对照组无明显差异,见图 2。

2.3 各组大鼠体质量、肝质量及肝指数变化

由表 1 可见,实验 9 周末,对照组、电针非穴组大鼠体质量、肝质量及肝指数均较空白组大鼠高(P 均 <0.05),而电针穴位组大鼠上述指标均低于对照组和电针非穴组(P 均 <0.05)。

表 1 实验 9 周末各组大鼠体质量、肝质量、肝指数的变化 ($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Changes in body mass, liver mass and liver index 9 weeks after treatments ($\bar{x}\pm s$)

Group	<i>n</i>	Body mass (g)	Liver mass (g)	Liver index ($\times 10^{-3}$)
Blank	10	259.8 $\pm$ 27.6	7.01 $\pm$ 0.28	27.64 $\pm$ 1.04
Control	10	367.6 $\pm$ 45.6*	12.95 $\pm$ 1.08*	35.25 $\pm$ 2.37*
EA	10	286.4 $\pm$ 36.2 Δ	8.05 $\pm$ 0.54 Δ	28.13 $\pm$ 1.51 Δ
ENA	10	343.7 $\pm$ 37.1*	11.80 $\pm$ 1.03*	34.34 $\pm$ 2.77*

* $P<0.01$, vs. blank group; $\Delta P<0.05$, vs. control and ENA group

2.4 各组血清 LDL、HDL、TC、TG、FFA、AOP 和 LEP 水平

由表 2 可见,实验 9 周末,对照组、电针非穴位大鼠血清 ADP、HDL 低于空白组大鼠(P 均<

0.05),LDL、TG、TC、FFA 和 LEP 均高于空白组大鼠,而电针穴位组 ADP、HDL 高于及 LDL、TG、TC、FFA、LEP 低于对照组和电针非穴位组(P 均<0.05)。

图 1 实验 5 周末空白组与 NAFLD 组大鼠肝组织病理变化。HE ×100
的肝组织病理变化。HE ×100

Fig 1 Pathological changes in liver tissues of rats on 5 weeks. HE ×100
(after 4 weeks treatments). HE ×100

图 2 实验 9 周末(电针治疗 4 周末)电针穴位组与电针非穴位

Fig 2 Pathological changes in liver tissues of rats on 9 weeks

1A: Blank group; 1B: NAFLD modern group; 2A: ENA group; 2B: EA group

表 2 实验 9 周末各组大鼠血清 LDL、HDL、TG、TC、FFA、ADP 及 LEP 的变化 ($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Changes in serum LDL、HDL、TG、TC、FFA、ADP and LEP on 9 weeks (after 4 weeks treatments) ($\bar{x}\pm s$)

Group	<i>n</i>	LDL (mmol/L)	HDL (mmol/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	FFA (μ mol/L)	ADP (mg/mL)	LEP (ng/mL)
Blank	10	0.176±0.019	1.563±0.186	0.75±0.11	1.54±0.12	589.52±35.56	3.15±0.31	1.84±0.15
Control	10	0.767±0.120*	0.921±0.125*	1.51±0.22*	2.62±0.25*	811.93±142.27*	2.29±0.55*	3.09±0.49*
EA	10	0.407±0.137△	1.182±0.202△	1.06±0.29△	2.14±0.29△	647.66±92.13△	3.32±0.69△	2.45±0.17△
ENA	10	0.861±0.067*	0.893±0.098*	1.44±0.16*	2.55±0.20*	872.41±151.67*	2.01±0.90*	3.17±0.20*

* $P<0.01$, vs. blank group; △ $P<0.01$, vs. control and ENA groups

3 讨论

中医学没有“脂肪肝”这个病名,根据程华焱的文献研究^[10],古代医籍主要将其命名为“胁痛”、“积聚”、“痰浊”,1997 年中国中医药学会诊断专业委员会主编的中医诊断学杂志中将本病命名为“肝癖(痞)”。就中医基础理论而言,中医认为其病多因饮食不节、起居无常、情志失调、久病体虚,引起肝失疏泄,脾失健运,湿邪内生,痰浊内蕴,后期肾精亏损,痰浊不化等导致肝、脾、肾三脏功能失调,湿热痰瘀互结于肝而致;与痰、湿、瘀、积有关,病位主要在肝,与胆、脾、肾关系密切。近年医家对脂肪肝做了更系统的研究,乔娜丽等^[11]认为肝郁脾虚是本病的基本发病机制,在脂肪肝由肝郁脾虚、痰浊湿阻、痰瘀互结甚则肝肾阴虚的病理演变过程中,每一病理阶段中都以肝脾失调为基本病机。缪伟峰等^[12]认为饮食不节、劳逸失当是主要病因;肝脾功

能失调、湿热内蕴、痰瘀互结是主要病机。李卫民等^[13]指出水谷精微不正常化生和代谢紊乱,是脂肪肝发病的主要病机。脂肪肝与脾胃运化腐熟水谷功能、肝疏泄及藏血功能和肾主封藏功能有关。肝脾不调始终是本病的关键所在,有识于此,针刺治疗则以调理肝脾、活血化瘀、化痰利湿为基本法则。

足三里乃足阳明胃经之合穴,太冲乃足厥阴肝经之原穴,二穴合用能调理肝脾气机;丰隆为祛痰要穴,用以化湿、除痰、和胃醒脾;三阴交为肝脾肾三经交汇穴,可以增强调理肝脾之功,并能补肾益脾。诸穴合用,能奏行气活血,化瘀除痰之功。有研究表明足三里是治疗肝病的有效穴,实验证明电针“足三里”穴具有促进肝细胞功能恢复、调整脂质代谢的作用^[14]。也有实验证明,电针“丰隆穴”可以降低 TG、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)含量^[15]。研究^[16]证实针刺太冲能促进沉积脂质的吸收。黄乃好等^[17]发现电针三阴交可以降低肥胖模型大鼠血清中

TC、TG、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)、LDL-C的含量,临床上也常选用上述诸穴治疗 NAFLD。

虽然 NAFLD 确切的发病机制尚不完全清楚,但“二次打击”理论在目前仍然是解释其发病机制的基础,该学说认为:IR、脂代谢异常和肝脏负荷过重是初次打击,而在肝脏脂肪沉积基础上细胞、炎症因子产生过多构成了第二次打击的主要原因。NAFLD 的脂代谢紊乱中 FFA 被认为是重要的起始因子,FFA 大量增加时,会导致肝脏摄取的 FFA 增多,早期代偿尚能使大量转换为三酰甘油,当载脂蛋白耗竭后,三酰甘油无法运出而在肝细胞中储存,随着病情的进化,过多的 FFA 便在线粒体中参与了 β 氧化,导致 β 细胞的分泌功能障碍和凋亡增加,多余的 FFA 在肝细胞内贮积,而加重肝细胞的脂肪变性^[18]。ADP 是由脂肪细胞分泌的脂肪因子之一。ADP 作为一种胰岛素超敏化激素,通过对胰岛素的敏感性,可以增加脂肪酸 β 氧化,降低循环中的游离脂肪酸,阻止脂质在巨噬细胞中的积聚,可以减少肝脏葡萄糖的输出^[19]。LEP 是机体脂肪组织的主要调节因子,生理浓度水平时可调控糖异生的效率,刺激糖原分解及脂肪酸的 β 氧化,增加肝脏葡萄糖的输出,但高浓度 LEP 在肝脏可抑制肝脏磷酸烯醇丙酮羧激酶(PEPCK),FFA 被不断的运送到肝脏内,当肝脏合成脂质超过了脂质分解,超过了肝线粒体氧化及胆固醇合成需要时,便发生了甘油三脂在肝脏的积聚,进而形成脂肪肝^[20]。

本研究通过高糖高脂饲料喂养大鼠诱导 NAFLD 模型,实验结果表明,对照组大鼠肝脏组织切片有较大脂肪颗粒形成,血清 TC、TG、FFA、LEP、LDL 都高于正常组($P < 0.01$),血清 HDL、ADP 低于正常组($P < 0.01$),提示大鼠非酒精性脂肪肝形成,老鼠体内脂质代谢紊乱。经过电针治疗后,电针穴位组血清 TC、TG、FFA、LEP、LDL 都低于对照组($P < 0.01$),血清 HDL、ADP 高于对照组($P < 0.01$),电针非穴组无明显改变($P > 0.05$),表明针刺穴位可以明显改善脂质代谢紊乱,降低 FFA 水平,提高血清 ADP 水平,减低血清 LEP 含量,减轻肝细胞脂质堆积,其机制可能是电针能抑制肝脏脂质合成,促进 FFA 氧化和调节脂肪因子有关。而电针非穴组大鼠 NAFLD 没有好转,说明穴位在治疗上面具有特殊性和不可替代性。

参 考 文 献

- Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. CMAJ, 2005;172(7):899-905.
- Choudhury J, Sanyal AJ. Insulin resistance and the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. Clin Liver Dis, 2004;8(3):575-594.
- 胡卫东, 杨浩明, 郑高坪等. 针灸治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察. 广州中医药大学学报, 2006;23(1):39-41.
- 王 骏, 张春燕, 程 玲等. 促脾法电针配合耳穴治疗肥胖性脂肪肝 30 例临床观察. 上海中医药杂志, 2006;40(7):41-42.
- 程井军, 吴其恺, 贺劲松等. 电针治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察. 湖北中医杂志, 2005;27(8):9-11.
- 冯雯琪, 曾志华, 卓廉士等. 电针对非酒精性脂肪肝大鼠血脂及肝功能的影响. 中华中医药杂志(原中国医药学报), 2010;25(6):853-856.
- 白春艳, 卓廉士, 朱 艺等. 电针对非酒精性脂肪肝大鼠下丘脑瘦素及瘦素受体表达的影响. 针刺研究, 2010;35(4):277-292.
- 杨 坤, 胡克章, 黄正明等. 高糖高脂肪饲料诱导大鼠非酒精性脂肪肝模型的动态研究. 解放军药科学学报, 2010;26(6):509-512.
- 李忠仁. 实验针灸学. 北京:中国中医药出版社, 2003:329-332.
- 程华焱, 曾斌芳. 脂肪肝中医病名的文献研究. 新疆中医药, 2007;26(6):12-14.
- 乔娜丽, 杨钦河, 纪桂元等. 论肝郁脾虚是脂肪肝的基本发病病机. 时珍国医国药, 2008;19(5):1238-1239.
- 缪伟峰, 金小晶. 脂肪肝中医发病机制的探讨. 江西中医学院学报, 2008;20(5):5-6.
- 李卫民, 李晋灵, 徐湘江. 从水谷精微化生、代谢探讨脂肪肝的病因病机. 河北中医, 2009;31(3):455-456.
- 王 威, 于 红, 朴顺福等. 电针“足三里”穴对酒精性脂肪肝大鼠模型的影响. 中国针灸, 2004;24(12):857-859.
- 解桔萍, 刘桂玲, 李 蔚等. 电针丰隆穴调节血脂优化参数的研究. 中国针灸, 2007;27(1):39-43.
- 田 虹, 金丽敏. 电针艾灸治疗单纯肥胖性脂肪肝 30 例临床观察. 针灸临床杂志, 2004;20(12):32-33.
- 黄乃好, 胡 玲, 蔡荣林等. 电针“三阴交”配“天枢”对不同性别肥胖模型大鼠治疗作用的比较. 成都中医药大学学报, 2007;30(3):48-49.
- 潘爱群. 胰岛素抵抗、素在非酒精性脂肪肝发展中的作用. 中国医药导刊, 2008;10(3):400-401.
- Chitturis S, Abeygtmasekera S, Farrell GC, et al. NASH and insulin resistance: insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. Hepatology, 2002;35(2):373-379.
- 池肇春. 脂质代谢与非酒精性脂肪肝病. 见:池肇春, 周长宏主编. 非酒精性脂肪性肝病. 第 1 版. 北京:军事医学科学出版, 2009:19-38.

(2012-04-23 收稿, 2012-07-26 修回)

编辑 汤 洁