

·临床研究·

本文引用:李硕熙,袁星星,李丹丹,杨磊,王炳予.连萎护肝汤对非酒精性脂肪性肝炎氧化应激及炎症因子水平的影响[J].湖南中医药大学学报,2020,40(7):892-896.

连萎护肝汤对非酒精性脂肪性肝炎氧化应激及炎症因子水平的影响

李硕熙¹,袁星星²,李丹丹²,杨磊²,王炳予^{2*}

(1.黑龙江中医药大学佳木斯学院,黑龙江 佳木斯 154000;2.黑龙江省中医药科学院南岗分院,黑龙江 哈尔滨 150001)

[摘要] **目的** 观察连萎护肝汤对湿热蕴结型非酒精性脂肪性肝炎(Nonalcoholic steatohepatitis, NASH)患者的临床疗效及氧化应激、炎症因子的影响。**方法** 将100例NASH患者按照随机数字表法分为治疗组和对照组,每组50例。其中对照组予多烯磷脂酰胆碱胶囊口服治疗,治疗组在对照组的基础上给予连萎护肝汤口服治疗,两组患者疗程均为12周。分别于治疗前、后检测两组患者血清生化[天冬氨酸氨基转移酶(Aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(Alanine aminotransferase, ALT)、谷氨酰转氨酶(Glutamyl amino peptidase, GGT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、总胆固醇(Total Cholesterol, TC)和甘油三酯(Triglyceride, TG)]、氧化应激相关指标[血清丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)]和炎症因子[血清肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素-6(interleukin 6, IL-6)]的变化,并评价两组患者的临床疗效。**结果** 治疗组总有效率为96.0%,明显优于对照组的78.0%($P<0.01$);治疗组治疗后血清AST、ALT、GGT、TBiL、TG、TC、MDA、TNF- α 、IL-6水平与治疗前比较均显著降低($P<0.01$),SOD水平显著增高($P<0.01$),且治疗组均明显优于对照组($P<0.01$)。**结论** 连萎护肝汤能显著改善NASH患者肝功能和抗氧化机能,降低血脂水平及炎症水平,临床疗效显著。

[关键词] 非酒精性脂肪性肝炎;连萎护肝汤;氧化应激反应;炎症因子;临床疗效

[中图分类号]R256.4 **[文献标志码]**B **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.07.022

Effects of Lianlou Hugan Decoction on Oxidative Stress and Inflammatory Factors in Patients with Non-Alcoholic Steatohepatitis

LI Shuoxi¹, YUAN Xingxing², LI Dandan², YANG Lei², WANG Bingyu^{2*}

(1. Jiamusi College of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Jiamusi, Heilongjiang 154000, China; 2. Nangang Branch of Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 1500001, China)

[Abstract] **Objective** To observe the clinical effect of Lianlou Hugan Decoction on non-alcoholic steatohepatitis (NASH) patients with damp heat accumulation syndrome and the influence on oxidative stress and inflammatory factors. **Methods** A total of 100 patients with NASH were divided into a control group and a treatment group according to random number table, with 50 cases in each group. The control group was treated with oral administration of polyene phosphatidylcholine capsule, and the treatment group was treated with Lianlou Hugan Decoction on the basis of the control group. The course of treatment was 12 weeks. Serum biochemical index [aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), glutamyl amino peptidase (GGT), total bilirubin (TBIL), total cholesterol (TC), triglyceride (TG)], oxidative stress-related indexes [malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD)] and inflammatory factors [Tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6)] were measured

[收稿日期]2020-03-01

[基金项目]黑龙江省中医药科研项目(ZHY18-029,ZHY19-061,ZHY19-062);黑龙江省自然科学基金联合引导项目(LH2019h095);国家中医药管理局科研项目(2016ZX05)。

[作者简介]李硕熙,男,主治医师,讲师,博士,在站博士后,研究方向:胃肠道疾病的中西医结合治疗。

[通讯作者]*王炳予,女,硕士,副主任医师,E-mail:jackie198711@163.com

before and after treatment, and the clinical efficacy of the 2 groups was evaluated after treatment. **Results** The total effective rate of the treatment group was 96.0%, which was significantly better than 78.0% of the control group ($P<0.01$). Compared with before treatment, the levels of AST, ALT, GGT, TBIL, TG, TC, MDA, TNF- α , IL-6 of the treatment group were significantly decreased ($P<0.01$), and the levels of SOD were significantly increased after treatment ($P<0.01$). And the treatment group was better than the control group ($P<0.01$). **Conclusion** Lianlou Hupan Decoction can significantly improve the liver function and antioxidant function of NASH patients, reduce the level of blood lipid and inflammation, and has a significant clinical effect.

[**Keywords**] non-alcoholic steatohepatitis; Lianlou Hupan Decoction; oxidative stress response; inflammatory factors; clinical efficacy

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 属于常见的代谢应激性疾病, 是指除病毒、酒精及其他明确的肝损伤因素之外引起肝内细胞脂肪过度沉积的一类肝脏疾病^[1]。根据病程的发展及肝脏组织学类型, NAFLD 可分为非单纯性肝脂肪变、非酒精性脂肪性肝炎 (non alcoholic steato hepatitis, NASH) 及肝硬化等终末期肝病^[2]。近年来, 随着我国 2 型糖尿病和肥胖人群的剧增, NAFLD 发病率呈现逐年增高的趋势, 该病已逐渐成为仅次于慢性病毒性肝病的主要肝病^[3]。尽管目前对于本病的治疗主要包括生活方式的改变和药物治疗两个方面, 然而药物治疗存在诸多的局限性, 导致 NAFLD 尚无特效的治疗药物^[4]。氧化应激反应是指过氧化物和抗氧化物之间的动态失衡。正常情况下, 人体肝细胞中生成极少量的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 在氧化还原过程中介导病原微生物的吞噬和有毒化合物的清除。当肝组织中出现过度的脂肪沉积, 引起线粒体 β 氧化代偿性增加和 ROS 的大量蓄积, 促进细胞因子大量释放和脂质过氧化物的产生, 最终导致 NASH 的发生和发展^[5-6]。连萎护肝汤为我科治疗急、慢性肝损伤的经验方, 该方具有清热祛湿、化痰理气的功效。在本研究中, 课题组通过检测血清生化指标及氧化应激相关指标, 以期进一步明确连萎护肝汤对 NASH 的临床疗效。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 2 月至 2019 年 10 月于本院门诊就诊的 NASH 患者 100 例, 根据患者就诊顺序以随机数字表法分为对照组和治疗组。其中对照组 50 例, 男性 34 例, 女性 16 例, 年龄 25~59 (39.53 \pm 9.17) 岁, 病程 (5.02 \pm 1.32) 年; 治疗组 50 例, 男性 32 例,

女性 18 例, 年龄 26~58 (40.17 \pm 8.54) 岁, 病程 (4.41 \pm 1.16) 年。两组患者性别、年龄、病程等一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 病例选择标准

1.2.1 西医诊断标准 参照 2018 年中华医学会肝病学会分会脂肪肝和酒精性肝病学组和中国医师协会脂肪性肝病专家委员会联合颁布的《非酒精性脂肪性肝病防治指南 (2018 更新版)》^[7] 中 NASH 诊断标准: (1) 无饮酒史, 或者每周饮酒量 (折合乙醇) <140 g/周, 女性则 <70 g/周; (2) 除外药物性肝损伤、病毒性肝炎、自身免疫性肝病、全胃肠外营养及肝豆状核变性等可引起肝损伤的特定性疾病; (3) 临床表现为乏力、腹胀、肝区不适等症状; (4) 肝脏酶学指标高于正常值 2 倍以上并持续升高 1 个月以上; (5) 影像学检查符合脂肪性肝病标准; (6) 肝脏组织学表现出脂肪变性、气球样变性和肝脏炎症。

1.2.2 中医诊断标准 参照中华中医药学会脾胃病分会颁布的《非酒精性脂肪性肝病中医诊疗专家共识意见 (2017)》^[8] 中湿热蕴结证相关诊断标准, 其中主症: (1) 右胁胀痛; (2) 脘腹疼痛或胀满; (3) 周身困重; (4) 大便黏腻不爽。次症: (1) 口中黏滞; (2) 身目发黄; (3) 口干口苦; 舌红苔黄腻, 脉濡数或弦滑。具备 2 项主症和 1~2 项次症, 即可诊断。

1.2.3 纳入标准 (1) 符合 NASH 西医诊断标准; (2) 符合湿热蕴结证中医诊断标准; (3) 年龄 18~65 岁; (4) 同意参加本研究, 并签署知情同意书。

1.2.4 排除标准 (1) 酒精性肝病、病毒性肝炎、药物性肝炎和自身免疫性肝病患者; (2) 合并严重心脑血管疾病、造血系统疾病; (3) 对研究中所用药物过敏者; (4) 妊娠、哺乳期女性。

1.3 治疗方法

对照组给予多烯磷脂酰胆碱胶囊 (易善复, 赛诺

菲万安特制药有限公司,国药准字:H20059010, 228 mg/粒),456 mg/次,3次/d,口服;治疗组在对照组的基础上给予连萎护肝汤口服治疗(由本院中草药局提供,组成:黄连 15 g,全瓜蒌 20 g,清半夏 15 g,陈皮 15 g,佛手 10 g),日 1 剂,由本院煎药室统一煎煮,200 mL/袋,2袋/d,日 2 次,口服。两组患者疗程均为 12 周。

1.4 观察指标及疗效标准

1.4.1 疗效评价标准 参照《中药新药临床研究指导原则》^[9]中相关疗效评定标准。痊愈:患者临床症状消失,肝功酶学、血脂及影像结果恢复正常,中医症状积分减少 $\geq 80\%$;显效:患者临床症状基本消失,肝功能指标下降 $\geq 50\%$,影像结果明显好转,中医症状积分减少 $\geq 50\%$;有效:患者临床症状有所改善,肝功能指标下降 $\geq 20\%$,影像学显示有所好转,中医症状积分减少 $\geq 50\%$;无效:患者临床症状无改善甚至加重,肝功能指标无改善甚至加重。中医症状评分参照文献中方法^[10],其中以无症状、症状轻微(不影响生活)、症状中等(影响部分日常生活)和症状严重(严重影响日常生活)分别记以 0、1、2、3 分,次症以无、有分别记以 0、1 分。

1.4.2 生化相关指标检测 分别采集两组治疗前、后空腹晨起静脉血,3 000 r/min 离心 15 min 收集上清液,采用 HITACHI7170S 全自动生化仪检测血清天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷氨酰氨基转移酶(glutamyl amino peptidase, GGT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、总胆固醇(total Cholesterol, TC)和甘油三酯(triglyceride, TG)的水平。

1.4.3 氧化应激指标检测 分别采集两组治疗前、后空腹静脉血,采用黄嘌呤氧化酶法测定血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力,采用

硫代巴比妥法测定血清丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。

1.4.4 炎症因子的检测 分别采集两组治疗前、后空腹静脉血,采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素-6(interleukin 6, IL-6)的水平。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,计数资料以“ $n(\%)$ ”表示,其中等级资料的比较采用 Mann-Whitney U 非参数检验;计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,组内比较采用配对样本 t 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较

两组疗效比较,差异具有统计学意义($Z=-3.174$, $P=0.002$)。见表 1。

表 1 两组临床疗效比较[例(%)]

组别	n	痊愈	显效	有效	无效	总有效
对照组	50	9(18.0)	17(34.0)	13(26.0)	11(22.0)	39(78.0)
治疗组	50	22(44.0)	15(30.0)	11(22.0)	2(4.0)	48(96.0) ^{△△}

注:与对照组比较,△ $P<0.01$

2.2 两组患者肝功能及血脂指标的比较

两组治疗后血清 AST、ALT、GGT、TBIL、TG 及 TC 水平与治疗前比较均显著降低($P<0.01$),且治疗组明显低于对照组($P<0.01$)。见表 2。

2.3 两组患者氧化应激及炎症因子的比较

两组治疗后血清 MDA、TNF- α 和 IL-6 水平较治疗前均显著降低($P<0.01$),SOD 水平均显著增高($P<0.01$),且治疗组各指标改善均明显优于对照组($P<0.01$)。见表 3。

表 2 两组患者肝功能及血脂指标的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	时间	AST/(U·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	GGT/(U·L ⁻¹)	TBIL/(μ mol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)
对照组	50	治疗前	248.98 \pm 20.79	202.43 \pm 30.69	259.93 \pm 30.44	31.84 \pm 4.88	5.27 \pm 1.39	7.01 \pm 1.39
		治疗后	103.18 \pm 11.20**	141.93 \pm 16.36**	138.90 \pm 15.25**	25.98 \pm 3.56**	3.23 \pm 1.21**	5.82 \pm 1.01**
治疗组	50	治疗前	253.15 \pm 21.14	207.68 \pm 27.05	263.53 \pm 28.27	30.19 \pm 4.02	5.34 \pm 1.26	7.04 \pm 1.50
		治疗后	68.18 \pm 5.53** ^{△△}	70.88 \pm 10.63** ^{△△}	69.10 \pm 8.02** ^{△△}	13.45 \pm 2.38** ^{△△}	1.65 \pm 0.42** ^{△△}	5.13 \pm 0.82** ^{△△}

注:与本组治疗前比较,** $P<0.01$;与对照组比较,△ $P<0.01$

表 3 两组患者氧化应激及炎症因子的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	时间	MDA/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	SOD/($\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)	TNF- α /($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	IL-6/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
对照组	50	治疗前	6.43 \pm 1.69	35.48 \pm 4.20	32.93 \pm 7.44	25.15 \pm 4.71
		治疗后	5.93 \pm 1.36**	51.98 \pm 5.79**	26.10 \pm 6.95**	20.37 \pm 4.58**
治疗组	50	治疗前	6.68 \pm 1.75	38.38 \pm 3.53	33.03 \pm 6.67	27.24 \pm 4.09
		治疗后	3.88 \pm 1.03** $\Delta\Delta$	78.55 \pm 7.65** $\Delta\Delta$	11.12 \pm 4.82** $\Delta\Delta$	14.69 \pm 3.18** $\Delta\Delta$

注:与本组治疗前比较,** $P<0.01$;与对照组比较, $\Delta\Delta P<0.01$

3 讨论

随着生活水平的提高,NAFLD 发病率呈现逐年增高的趋势,流行病学调查结果显示成年人 NAFLD 发病率约为 10%~30%,其中 NASH 占 10%~20%,而 NASH 10 年内发展至肝硬化的比率更是高达 25%^[11]。NASH 病理学表现为肝脏中脂肪沉积、炎症细胞浸润、肝细胞损伤、坏死和纤维化为主要特征,然而其发病机制复杂,至今尚不完全清楚。目前对于本病的发病,“二次打击”学说占据主导地位,该学说认为有胰岛素抵抗引起的高胰岛素血症及周围组织的脂肪分解,加重 TG 的积累,从而对肝细胞形成第一次打击,而由此产生的脂质过氧化、氧化应激及大量自由基使机体受到“二次打击”^[12]。因此,控制外源性脂质摄入、促进内源性脂质代谢和沉积、调控氧化应激和抑制炎症因子的产生,对于 NASH 的治疗具有重要的意义。作为体内重要的清除超氧阴离子和抗氧化自由基的蛋白酶,SOD 对体内氧化和抗氧化的平衡起着重要的作用^[13]。MDA 是脂质过氧化物反应中的重要产物,可以改变细胞骨架蛋白的结构和功能,从而引起肝细胞膜通透性的改变,引起肝细胞损伤。因此,MDA 的水平还可以间接地反应出在自由基的攻击下引起的细胞损伤的程度^[14]。

NASH 属于中医学“胁痛”“痰证”“湿阻”的范畴,《难经》云:“肝之积,名曰肥气”,故也称“肥气病”。本病多因长期过食肥甘厚味所致。饮食不节导致食滞不运、痰湿内生,痰湿蕴久化热形成痰浊,阻滞经络形成气滞,最终导致木郁土壅,以痰浊和气滞为主要病机。连萎护肝汤为我科治疗急、慢性肝损伤的经验方,本方以小陷胸汤加陈皮、佛手化裁而来,方中以苦、寒之黄连为君药,归心、脾、胃、肝、胆、大肠经,具有清热燥湿、泻火解毒的功效。现代研究发现,黄连中的主要活性成分黄连素具有抗菌、降糖、降压、调节血脂和改善心功能等功效^[15]。同时,黄

连素对由自由基引起的 DNA 断裂、脂质过氧化及蛋白质氧化降解均有保护作用,具有很好的抗氧化活性^[16]。瓜蒌性寒,味甘、微苦,清热涤痰,宽胸散结,润燥滑肠;半夏性温,味辛,燥湿,化痰,止咳,两药共为臣药。实验研究发现,瓜蒌能够显著降低大鼠血清总胆固醇,通过减少缺血再灌注局部 MDA 的含量和增加 SOD 的活性,从而保护垂体后叶素所致的大鼠急性缺血心肌损伤^[17]。陈皮、佛手疏肝理气、燥湿健脾,在本方中为佐药。全方共奏清热燥湿、疏肝理气之功。

多烯磷脂酰胆碱作为大豆提取物,能够通过增加脂蛋白的合成和改善脂质代谢来减少肝脏细胞的脂质堆积,降低脂肪浸润,从而起到保肝的作用,已被 NAFLD 指南推荐使用^[18]。本研究在多烯磷脂酰胆碱的基础上加用连萎护肝汤,结果显示连萎护肝汤能够显著改善 NASH 患者肝功能、血脂和氧化应激指标,且总有效率为 96.0%,明显优于对照组。TNF- α 和 IL-6 是重要的炎症因子,主要由巨噬细胞、肝细胞和脂肪细胞分泌。炎症因子可以通过激活 JNK 或 NF- κ B 等信号通路转导诱导胰岛素抵抗从而导致 NASH 的发生^[19]。本研究结果表明连萎护肝汤能够显著降低 NASH 患者血清 TNF- α 和 IL-6 水平,且明显优于对照组。

综上,连萎护肝汤能够显著改善 NASH 患者肝功能水平,降低血脂,临床疗效显著,其作用机制可能是通过改善肝脏脂质氧化应激反应和抑制炎症反应实现的。

参考文献

- [1] FRIEDMAN S L, NEUSCHWANDER-TETRI B A, RINELLA M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies[J]. Nature Medicine, 2018, 24(7): 908-922.
- [2] CHALASANI N, YOUNOSSI Z, LAVINE J E, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: prac-

- tic guidance from the american association for the study of liver diseases[J]. *Hepatology*, 2018, 67(1): 328-357.
- [3] 李生鹏,王全楚.非酒精性脂肪性肝病的流行病学进展[J].*胃肠病学和肝病学杂志*,2017,26(10):1085-1087.
- [4] 冯 巩,牛春燕.非酒精性脂肪性肝病的治疗进展[J].*临床肝胆病杂志*,2017,33(12):2433-2438.
- [5] 费 靓,徐可树.脂肪性肝病研究新进展[J].*临床消化病杂志*, 2014,26(6):330-332.
- [6] 万 霞,万 涛.加减苍附导痰汤对痰湿阻滞型非酒精性脂肪性肝病氧化应激水平及脂质代谢的影响[J].*湖南中医药大学学报*, 2019,39(7):918-921.
- [7] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组,中国医师协会脂肪肝性肝病专业委员会.非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 更新版)[J].*中华肝脏病杂志*,2018,26(3):195-203.
- [8] 中华中医药学会脾胃病分会.非酒精性脂肪性肝病中医诊疗专家共识意见(2017)[J].*中医杂志*,2017,58(19):1706-1710.
- [9] 郑筱萸.中药新药临床研究指导原则:试行[M].北京:中国医药科技出版社,2002:85.
- [10] 唐金模,梁惠卿,王宏国,等.皂苷茵陈方治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床疗效及对游离脂肪酸和 TNF- α 的影响[J].*中国中西医结合杂志*,2016,36(5):544-548.
- [11] 李 丽,杨晓庆.盐酸二甲双胍联合左卡尼汀治疗 56 例非酒精性脂肪性肝病的临床疗效[J].*陕西医学杂志*,2013,42(8):1070-1071.
- [12] 王素琴,黄 缘.非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J].*世界华人消化杂志*,2014,22(23):3410-3415.
- [13] 苑荣爽,李 贺,孙靖辉,等.北五味子多糖对高脂诱导非酒精性脂肪性肝病大鼠的降血脂作用及其抗氧化活性[J].*吉林大学学报(医学版)*,2017,43(6):1103-1108.
- [14] ZHU X P, BIAN H, GAO X. The potential mechanisms of berberine in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Molecules*, 2016, 21(10): 1336-1347.
- [15] 任贻军,高逢喜.黄连素的研究进展[J].*辽宁中医药大学学报*, 2009,11(1):50-51.
- [16] 刘国安,杨玉玲,张亚楠,等.黄连素抗氧化活性的研究[J].*西北师范大学学报(自然科学版)*,2009,45(6):87-91.
- [17] 刘金娜,温春秀,刘 铭,等.瓜蒌的化学成分和药理活性研究进展[J].*中药材*,2013,36(5):843-848.
- [18] HUNG C K, BODENHEIMER H C. Current treatment of nonalcoholic fatty liver disease / nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Clinics in Liver Disease*, 2018, 22(1):175-187.
- [19] 方文军,陆 帅,陈寒蓓,等.非酒精性脂肪性肝病患者的炎症细胞因子水平与氧化应激参数的变化[J].*同济大学学报(医学版)*, 2014,35(4):71-75.

(本文编辑 马 薇)