

保肝益胃合剂对四氯化碳致大鼠急性肝损伤的保护作用

姜树民, 单静喜, 任江, 刘冰, 王宝柱, 孙科峰, 付勇强, 王晖, 王英, 尤春来

(辽宁中医药大学附属医院, 辽宁 沈阳 110032)

【摘要】 目的 观察保肝益胃合剂对四氯化碳(CCl_4)所致大鼠急性肝损伤的保护作用。方法 腹腔注射 CCl_4 2 ml/kg 建立大鼠急性肝损伤模型。分别用保肝益胃合剂($30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、多烯磷脂酰胆碱胶囊(易善复, $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、甘草酸二铵胶囊(甘利欣, $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)灌胃, 联合治疗组则用保肝益胃合剂($30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) + 易善复($180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)灌胃。检测各组大鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活性, 同时观察肝脏组织病理学变化以及肝细胞坏死评分和大鼠死亡率。结果 保肝益胃合剂组 ALT、AST 活性和肝细胞坏死评分[(1.168 ± 1.066)kU/L, (1.845 ± 2.212)kU/L, (0.56 ± 0.53)分]均显著低于模型组[(4.982 ± 3.502)kU/L, (7.030 ± 3.616)kU/L, (1.38 ± 0.92)分], P 均 < 0.01 。正常对照组大鼠无死亡; 保肝益胃合剂组和保肝益胃合剂 + 易善复组大鼠死亡率(分别为 37.5%、25.0%)均较模型组(60.0%)明显降低, 以联用组为最低($P < 0.05$)。结论 保肝益胃合剂对 CCl_4 所致大鼠急性肝损伤有明显的保护作用。

【关键词】 保肝益胃合剂; 四氯化碳; 肝损伤, 急性; 细胞坏死评分; 大鼠

中图分类号: R285.5; R256.4 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2008)04-0219-03

Protective effects of mixture for protecting liver and supplementing stomach (保肝益胃合剂) on rat acute liver damage induced by carbon tetrachloride JIANG Shu-min, SHAN Jing-xi, REN Jiang, LIU Bing, WANG Bao-zhu, SUN Ke-feng, FU Yong-qiang, WANG Hui, WANG Ying, YOU Chun-lai. Liaoning Chinese Medicine University Affiliated Hospital, Shenyang 110032, Liaoning, China

【Abstract】 Objective To observe the protective effects of a mixture for protecting liver and supplementing stomach (保肝益胃合剂) on rat acute liver damage induced by carbon tetrachloride (CCl_4). Methods The model of rat acute liver damage was established by injection of CCl_4 2 ml/kg into the abdominal cavity. The rat models were treated respectively by the mixture for protecting liver and supplementing stomach $30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, the polyene phosphatide acid radical choline capsule [Yi Shanfu (易善复), $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$], the glycyrrhizic acid diaminogen capsule [Gan Lixin (甘利欣), $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$] infused into the stomach. The activities of serum alanine transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST) were detected. In the mean time, the liver pathological changes were observed, the degree of liver cell necrosis was evaluated, and the rat mortality was noted in various groups of treatment. Results The values of ALT, AST and the score of liver cell necrosis in the group treated with the mixture for protecting liver and supplementing stomach [(1.168 ± 1.066) kU/L, (1.845 ± 2.212) kU/L, (0.56 ± 0.53) score] were significantly lower than those in the model group [(4.982 ± 3.502) kU/L, (7.030 ± 3.616) kU/L, (1.38 ± 0.92) scores], and all the differences being statistically significant (all $P < 0.01$). In the normal control group, there was no death of rat. The mortality rates in the group of the mixture for protecting liver and supplementing stomach and the group of the mixture for protecting liver and supplementing stomach plus Yi Shanfu (37.5%, 25.0%) were significantly lower than the mortality in the model group (60.0%, both $P < 0.05$). Conclusion The mixture for protecting liver and supplementing stomach has marked protective effects on acute liver damage induced by CCl_4 in rats.

【Key words】 mixture for protecting liver and supplementing stomach; carbon tetrachloride; acute liver damage; degree of liver cell necrosis; rat

基金项目: 国家中医药管理局中医、中西医结合急诊临床基地建设

作者简介: 姜树民(1957-), 男(汉族), 辽宁省人, 教授, 硕士生导师, 辽宁省名中医, 从事中医消化、急诊, 发表论文 30 余篇, 获联合国科技促进系统科技创新发明之星奖、全国百名杰出青年中医奖、辽宁省科技进步一等奖等。

保肝益胃合剂由茵陈、虎杖、白芍、枸杞子等中药组成, 其依据解毒保肝、泻浊和胃的治则, 在临床上对急性肝损伤有良好的防治作用。本实验中以四氯化碳(CCl_4)所致大鼠急性肝损伤为模型^[1], 观察保肝益胃合剂对肝损伤大鼠血清丙氨酸转氨酶

(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活性以及肝脏组织病理学变化的影响,以评价药物对肝脏的保护作用,为其临床应用提供实验药理学基础。

1 材料与方法

1.1 实验药物:①保肝益胃合剂的制备:生药饮片由辽宁中医药大学实验中心制剂实验室提供,10 付量共 1 700 g。放入不锈钢煎药桶中,加水 17 000 ml 浸泡 0.5 h,用 1 800 W 电炉加热至沸腾,然后下调至 800 W 保持沸腾,2 h 后滤出药液至另一不锈钢容器。再向饮片中加水至 1 700 ml,800 W 加热沸腾后继续加热,2 h 后滤出药液,混入上次滤出药液中一起加热(800 W)浓缩至 680 ml(使生药浓度为 2.5 g/ml,密度为 1.294 g/cm³)。②CCl₄ 分析纯:批号:20070225,国药集团化学试剂有限公司生产。③甘草酸二铵胶囊(甘利欣):江苏正大天晴药业股份公司生产。④多烯磷脂酰胆碱胶囊(易善复):北京安万特制药有限公司分装。

1.2 急性肝损伤大鼠模型制作、分组及给药方法:选择清洁级 Wistar 大鼠 105 只,其中雌性 52 只,雄性 53 只;体重 160~305 g。按照随机数字表法分为 6 组:①正常对照组($n=20$)给生理盐水(NS)20 ml/kg。②模型组($n=20$)给 NS 20 ml/kg。③甘利欣组($n=17$)给甘利欣 30 mg·kg⁻¹·d⁻¹治疗。④易善复组($n=16$)给易善复 180 mg·kg⁻¹·d⁻¹治疗。⑤保肝益胃合剂组($n=16$)给保肝益胃合剂 30 g·kg⁻¹·d⁻¹治疗。⑥保肝益胃合剂+易善复组($n=16$)给保肝益胃合剂 30 g·kg⁻¹·d⁻¹+易善复 180 mg·kg⁻¹·d⁻¹。大鼠喂养 3 d,于 4~7 d 按上述分组及剂量连续灌胃给药,每日 2 次;②~⑥组于 7 d 腹腔注射 CCl₄ 2 ml/kg 建立模型;①组腹腔注射花生油 2 ml/kg。

1.3 检测指标及方法:各组于 8 d(给 CCl₄ 24 h 时)腹腔注射乌拉坦 1 g/kg(25%,4 ml/kg)麻醉大鼠。经腹主动脉采血 4 ml,用速率法检测血中 ALT、AST 活性。摘取肝脏,用体积分数为 10%的甲醛水溶液固定,观察肝脏组织病理学变化及肝细胞坏死病理评分。标准:未见坏死细胞为 0 分;散在个别细胞占整个视野的 1/4 为 1 分;坏死细胞占整个视野的 1/2 为 2 分;坏死细胞占整个视野的 3/4 为 3 分;坏死细胞弥漫存在,占整个视野为 4 分。观察 4~8 d(麻醉前)各组大鼠的死亡率。

1.4 统计学处理:计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 11.0 统计软件分析,组间比较用单因素方差分析和 t 检验、连续性校正 χ^2 检验, $P <$

0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 死亡率:模型组大鼠死亡率 60.0%(12/20),甘利欣组 52.9%(9/17),易善复组 56.2%(9/16),保肝益胃合剂组 37.5%(6/16),保肝益胃合剂+易善复组 25.0%(4/16),且两个保肝益胃合剂组死亡率均显著低于模型组(P 均 <0.05)。说明保肝益胃合剂联合易善复治疗能明显降低 CCl₄ 所致肝损伤大鼠的死亡率。

2.2 肝功能变化(表 1):①模型组 ALT、AST 活性显著高于正常对照组(P 均 <0.01),证明模型建立成功。②保肝益胃合剂组 ALT、AST 活性显著低于模型组(P 均 <0.01),说明保肝益胃合剂对 CCl₄ 致大鼠急性肝损伤有明显的保护作用。③其他各药物组 ALT、AST 活性与模型组比较差异均无统计学意义。④各药物组 ALT、AST 活性显著高于正常对照组,差异均有统计学意义(P 均 <0.01),说明在一定时间内各药物并不能彻底防治 CCl₄ 致大鼠急性肝损伤。

表 1 保肝益胃合剂对 CCl₄ 所致急性肝损伤大鼠血中 ALT、AST 活性的影响($\bar{x} \pm s$) kU/L

组别	动物数	ALT	AST
正常对照组	20	0.066±0.033	0.180±0.096
模型组	8	4.982±3.502*	7.030±3.616*
甘利欣组	8	2.651±2.029*	5.025±3.869*
易善复组	7	4.607±3.369*	5.447±3.403*
保肝益胃合剂组	10	1.168±1.066 ^{ab}	1.845±2.212 ^{ab}
保肝益胃合剂+易善复组	12	3.297±2.304*	5.831±3.925*

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,^a $P < 0.01$

2.3 肝脏组织病理学改变及肝细胞坏死评分:①正常对照组大鼠肝细胞未见病理改变。②模型组肝细胞呈胞质嗜伊红变,凝固性坏死,表明 CCl₄ 对大鼠肝脏造成明显损伤。③保肝益胃合剂组肝脏颜色无明显变化,质地柔软,光镜下观察组织细胞变性较轻,接近正常肝组织;保肝益胃合剂组大鼠肝细胞坏死评分显著低于模型组[(0.56±0.53)分比(1.38±0.92)分, $P < 0.01$],说明保肝益胃合剂对大鼠肝细胞坏死有显著的保护作用。

3 讨论

肝脏在各类物质的代谢中起重要作用,亦是容易生成自由基及过氧化脂质的场所。研究显示:肝损伤是多因素参与的一个复杂病理过程,肝组织细胞的损伤与自由基毒性反应关系极为密切^[2];在肝损伤的病变过程中,多种酶、自由基以及脂质过氧化反

应均发生着较大的变化^[3]。本实验采用 CCl_4 成功建立了急性肝损伤模型。 CCl_4 是一种选择性的肝毒性物质,是目前诱导肝细胞损伤的常用化学药物。 CCl_4 进入大鼠体内,通过细胞色素 P450 的作用分解为三氯甲烷自由基($\text{CCl}_3 \cdot$), $\text{CCl}_3 \cdot$ 既能选择性地损伤小叶中央区的肝细胞,又能迅速与 O_2 结合转化为过氧化三氯甲烷自由基($\text{CCl}_3\text{O}_2 \cdot$),引起脂质过氧化反应,破坏细胞膜结构,使肝细胞变性、坏死,细胞内转氨酶、自由基渗入血液而使活性升高^[4]。ALT、AST 为氨基酸代谢中的重要酶,存在于肝细胞内,肝细胞受损时,细胞膜结构破坏,通透性改变,即可从细胞内逸出细胞外而进入血循环中,此时血清 ALT、AST 较正常增高,血清 ALT、AST 升高是肝实质严重损害的必然结果,尤其是肝细胞变性、死亡,线粒体肿胀、退变及内质网扩张,无疑将直接影响肝细胞的正常功能^[5],故血清 ALT、AST 测定是反映肝损伤的灵敏指标^[6]。

本实验结果显示,正常对照组无死亡大鼠;甘利欣、易善复组、保肝益胃合剂、保肝益胃合剂+易善复治疗各组大鼠死亡率均较模型组降低,其中以保肝益胃合剂+易善复组下降最为显著,而且保肝益胃合剂组 ALT、AST 活性和肝细胞坏死评分值均显著低于模型组,说明保肝益胃合剂对 CCl_4 致大鼠急性肝损伤有显著的保护作用。

本实验选用的保肝益胃合剂是由茵陈、虎杖、白芍、枸杞子等制成的煎剂。白芍养血柔肝;枸杞子滋补肝肾;砂仁化湿行气、温中止呕。因现代病因学的改变,疾病由湿热之邪而致者颇多,用茵陈、虎杖利湿退黄解毒等,诸药共奏解毒保肝、泻浊和胃之功效,保护肝细胞防止变性、坏死。由此可以看出,本方在继承传统中医理论的基础上,结合临床实际,师古而不泥古,提高了疗效^[7]。可以说保肝益胃合剂有继续进一步深入研究其作用及其作用机制的必要。

参考文献

- [1] 李艳辉,肖恩华. 实验性肝损伤模型的建立和评价[J]. 放射学实践, 2006, 21(10): 1075-1077.
- [2] 杨牧祥,王志波,于文涛,等. 中药酒速愈对急性酒精中毒小鼠肝脏氧化酶的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(3): 162-164.
- [3] 陈梁,朱锦善,任建平. 柴胡疏肝散对四氯化碳所致大鼠急性肝损伤的防治作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2004, 14(1): 42-43.
- [4] 王小鹭,胡国良,张彩英,等. 保肝护脾液对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中兽医学杂志, 2006(2): 10-11.
- [5] 李荣祥,任成山,赵晓宴. 水飞蓟宾对急性肝损伤中肝细胞肿胀的影响及其机制[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(4): 202-205.
- [6] 陈卫华,郭松超. 肝损伤动物模型及观察指标研究现状[J]. 广西医科大学学报, 2007, 24(1): 156-158.
- [7] 吴百灵,卢秉久,刘彤. 中药复方对四氯化碳所致大鼠急性肝损伤保护作用的研究[J]. 实用中医内科杂志, 2003, 17(1): 22-23.

(收稿日期: 2007-12-28 修回日期: 2008-07-01)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

欢迎订阅《中国危重病急救医学》杂志

《中国危重病急救医学》杂志系中华医学会和天津市天和医院主办的中华医学会系列杂志,是我国急救医学界权威性学术期刊,为中文核心期刊和中国科技核心期刊。本刊为月刊,每月 10 日出版,国际通用 16 开大版本,内文用 80 克铜版纸印刷,内容丰富,且适合各种病理图片印刷。欢迎广大读者到当地邮局办理 2007 年的订阅手续。邮发代号: 6-58; 定价: 8.6 元/期,全年 103.2 元。

订阅本刊的读者如果遇有本刊装订错误,请将刊物寄回编辑部调换,我们将负责免费邮寄新刊。

《中国危重病急救医学》杂志已进入美国《医学索引》(MEDLINE)、美国《化学文摘》(CA)、荷兰《医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、CMCC 数据库、“万方数据网络系统(China Info)”、“中文科技期刊数据库”、CNKI“中国期刊全文数据库”、“中国期刊网”、“中国学术期刊(光盘版)”和“em120.com 危重病急救在线”。投本刊论文作者需对本刊以上述方式使用论文无异议,并由全部作者或由第一作者全权代表其他作者在版权转让协议和校稿上签字同意。稿酬已在本刊付酬时一次付清,不同意者论文可不投本刊。本刊设有各种栏目,欢迎广大作者踊跃投稿。杂志每年在杂志上刊登 1 次稿约,投稿时请严格按照稿约的要求。同时交付文稿 1 份、单位介绍信或文稿加盖公章、软盘(Word 和纯文本形式排版)、审稿费(每篇 40 元)、课题批件复印件,以利于稿件审稿过程,提高稿件刊出速度。

本刊对所有来稿均采用同行审稿的方式进行公平、公正地审定。

2008 年以前的合订本和单行本请在杂志社发行部电话订购: 022-23042150。

地址: 天津市和平区睦南道 122 号天和医院内; 邮编: 300050。

(期刊编辑部)