

柴蔻冲剂对慢性酒精性肝损伤大鼠抗脂质过氧化作用的实验研究*

李东良 王玉玫(黑龙江中医药大学 哈尔滨 150040)

郭晓萍(大同医专 037000)

摘要 观察中药复方柴蔻冲剂(CKI)对慢性酒精性肝损伤大鼠的防护作用。CKI可显著提高红细胞和肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性,血与肝组织中过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的活性。显著降低血浆与肝组织中脂质过氧化终产物丙二醛(MDA)含量,抑制氧自由基的产生,提高组织抗氧化能力。并探讨了柴蔻冲剂的量效关系。

关键词 柴蔻冲剂 酒精性肝损伤 抗脂质过氧化

Experimental Study on Inhibitory Effect of Chaikou Granule on Lipid Peroxidation in Rats with Chronic Alcoholic Liver Injury

Li Dongliang, Wang Yumei, Guo Xiaoping

(Heilongliang University of TCM, Haerbin, 150040)

Abstract: The liver-protective effect of a Chinese medical prescription, Chaikou granule was observed in rats with alcoholic liver injury. The result showed that Chaikou granule could obviously enhance activities of SOD, CAT and GSH-PX in the liver or in the blood, and reduce the MDA and free radicals in the plasma and liver, indicating the increase of anti-oxidation potency in tissue.

Key words: Chaikou granule, alcoholic liver injury, lipid per-oxidation

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是最常见的酒精中毒性疾病。我们研制的中药复方柴蔻冲剂,经多年临床应用,取得较好效果。为探讨该方治疗ALD的作用机理,我们采用慢性酒精性肝损伤大鼠模型,观察了柴蔻冲剂(CKI)抗脂质过氧化,保护肝细胞的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 同批 wistar ♀ 性大鼠 72

只,体重 150 ± 10 g,由黑龙江中医药大学实验动物中心提供。

1.2 药物及其调制 (1)柴蔻冲剂,由柴胡、草豆蔻、三七、茯苓、山楂5味中药组成,购于哈尔滨中央大药房。每剂加去离子水350ml浸泡60min后以文火煎煮30min,滤出药液,药渣加3倍量水继续煎煮20min,合并2次滤液,于水浴上浓缩,冷冻干燥系统处理至浸膏粉剂,含生药5g/g干粉,置4℃条件备用。(2)对比药物 vitaminum E (VitE),用前以花生油稀释至0.36mg/ml浓度。

* 国家中医药管理局资助项目 95B137

1.3 实验方法 将大鼠随机分6组,每组12只,柴蔻冲剂分为低(CKI_I)、中(CKI_{II})、高(CKI_{III})3个剂量组,按成人等效剂量(生药50g/d)直接折算的量为低剂量,其2倍量、4倍量为中、高剂量,分别为0.9g/kg·d、1.8g/kg·d、3.6g/kg·d 配制不同浓度,以1ml/100g·d 经口灌胃;VitE组,参照成人剂量(100mg/d)按体表面积折合为人的2倍量3.6mg/kg·d 稀释为1ml/100g·d 灌胃;正常对照组,酒精损伤组(alc)给同体积去离子水灌胃。2h后各组灌服50%酒精1ml/100g(正常组给同体积去离子水),每日2次,除正常组饮自来水外,其余各组均饮10%的酒精饮料。固体饲料饲养,连续12周,末次给药24h后,股动脉取血,处死大鼠取出肝脏备检。

1.4 检测方法 (1)红细胞和肝组织SOD活性测定:①动脉取血离心分离RBC,用冷盐水漂洗3次取0.2ml加0.8ml去离子水使其溶血。②取肝组织约0.5g,在4℃下制成10%匀浆,经4000rpm 15min,上清即为SOD粗提液。③取0.5ml溶血液(余溶血液用于测定Hb)或肝组织粗提液10μl以pyrogallol-NBT法^[1]测定其中的SOD活性。(2)血清和肝组织匀浆CAT测定,采用钼酸铵显色法^[2]。(3)全血和肝组织GSH-PX测定采用DTNB直接法^[3]。(4)血浆和肝组织MDA含量测定,采用硫化巴比妥酸法^[4],肝组织匀浆蛋白测定采用酚试剂法,RBC血红蛋白测定采用氰高铁血红蛋白定量法。

2 结果

2.1 RBC及肝组织SOD变化 酒精组RBC及肝组织中SOD水平明显下降,柴蔻冲剂组回升,中、高剂量组与VitE及正常对照组相近,且高剂量组SOD回升优于VitE组。见表1。

2.2 血及肝组织CAT、GSH-PX活力变化 酒精组血及肝组织CAT、GSH-PX活力较正常对照组分别下降了66%、73%。柴蔻冲剂组回升,中、高剂量组CAT、GSH-PX活力

表1 柴蔻冲剂对RBC及肝组织SOD的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD(U/mg. Hb)	SOD(U/mg. pro)
空白组	12	0.296±0.022	4.97±0.51
酒精组	9	0.099±0.019**	1.84±0.26**
CKI _I	11	0.176±0.018**Δ	2.41±0.27**Δ
CKI _{II}	10	0.237±0.014*Δ	3.89±0.42*Δ
CKI _{III}	11	0.245±0.025*Δ	4.79±0.50Δ
VitE	12	0.247±0.021*Δ	4.36±0.48Δ

与空白组比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与酒精组比Δ $P < 0.01$

接近VitE及正常组。见表2。

表2 柴蔻冲剂对血、肝组织CAT、GSH-PX的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CAT		GSH-PX	
		Serum (U/ml)	Liver (U/mg. pro)	blood (U/ml. min)	Liver (U/mg. pro. min)
空白组	12	93±18	11.1±1.8	203.0±3.5	6.10±0.32
酒精组	9	54±9**	2.5±0.5**	186.2±4.6**	2.07±0.46**
CKI _I	12	66±12*	3.9±0.8**	189.1±4.5**	3.12±0.23**
CKI _{II}	10	83±15Δ	7.2±1.6**Δ	196.4±5.0Δ	4.71±0.41**Δ
CKI _{III}	11	87±15Δ	8.7±1.4Δ	199.9±3.2Δ	4.44±0.43**Δ
VitE	12	92±17Δ	9.8±1.8Δ	201.4±2.8Δ	5.81±0.26Δ

与空白组比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与酒精组比Δ $P < 0.05$, Δ $P < 0.01$

2.3 血浆及肝组织MDA含量的变化 酒精组MDA水平明显升高,柴蔻冲剂各剂量组均明显低于酒精组,且与剂量呈负相关。见表3。

表3 柴蔻冲剂对血浆、肝组织MDA的含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Plasma(nmol/ml)	Liver(nmol/mg. pro)
空白组	12	0.296±0.029	0.76±0.13
酒精组	9	0.599±0.041*	3.10±0.53*
CKI _I	12	0.400±0.042*Δ	2.43±0.39*Δ
CKI _{II}	10	0.328±0.040Δ	1.28±0.28*Δ
CKI _{III}	11	0.320±0.025Δ	0.99±0.21Δ
VitE	12	0.302±0.039Δ	0.80±0.12Δ

与空白组比* $P < 0.01$;与酒精组比Δ $P < 0.01$

3 讨论

给大鼠长期服用过量酒精会导致肝损伤,其损伤机制之一是通过激活氧分子,导致肝组织的脂质过氧化所致。酒精的脂质过氧化作用的主要毒性是直接损伤肝细胞膜,导致一系列功能紊乱^[5]。SOD是主要抗氧化酶,CAT、GSH-PX也是体内两个重要的抗氧化酶。柴蔻冲剂能有效地阻止慢性酒精中毒所致肝损伤大鼠RBC,肝组织SOD及血与肝组织CAT、GSH-PX的耗竭和脂质过氧化物(LPO)的终产物MDA的升高,故具

有抗脂质过氧化,保护肝细胞、防治 ALD 的作用,且呈剂量效应关系。其作用机制,可能是复方中各药综合作用的结果。

参考文献

- 1 陈淑英,朱汉民,谢辉,等. 人红细胞内超氧化物歧化酶比色测定法. 中华老年医学杂志,1986, 2:117
- 2 程鲁京,孟泽. 钼酸铵显色法测定血清过氧化氢酶. 临床检验杂志,1994,1:6
- 3 荣征星,刘慧中,鲍景奇,等. 小鼠全血中谷胱甘

肽过氧化物酶活力微量测定法. 生物化学与生物物理进展,1994,4:362

- 4 李建武,吴立中. 硫化巴比妥酸荧光法测定血清及组织脂质过氧化物. 第二军医大学学报, 1987,8:371
- 5 竹岛瑞子,上村精一郎,早口哲郎,他. アルユール性肝障害ラットモデルにすける肝新维化と脂质过酸化との关联性について. 肝脏,1994,35 (1):230

(收稿:1996-11-12)