

胆胰宁对慢性胰腺炎大鼠血清及胰腺组织中超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的影响

赵铁华, 唐晓勇*, 盛丽, 刘国安
(甘肃省中医院, 兰州 730050)

[摘要] **目的:**通过观察中药胆胰宁(DYN)对慢性胰腺炎(CP)大鼠中超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量的影响,进而探讨该方药治疗慢性胰腺炎的机制。**方法:**用腹腔注射 L-精氨酸的方法制造慢性胰腺炎大鼠模型。将大鼠分为正常对照组,模型对照组,小柴胡汤丸组,胆胰宁低、高剂量组,观察胆胰宁治疗 4 周后大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性和 MDA 含量。**结果:**胆胰宁低剂量组和高剂量组对提高大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性有统计学意义 ($P < 0.01$)。胆胰宁低剂量组和高剂量组对降低大鼠血清及胰腺 MDA 含量有统计学意义 ($P < 0.01$)。**结论:**胆胰宁能够有效地提高慢性胰腺炎大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性,降低其血清及胰腺组织 MDA 的含量,能够有效地对抗慢性胰腺炎形成过程中的胰腺组织损伤,从而对慢性胰腺炎具有显著的防治作用。

[关键词] 慢性胰腺炎;胆胰宁;超氧化物歧化酶;丙二醛

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0230-04

Effect of Danyining on Activity of Superoxide Dismutase and Level of Malonyldialdehyde in Serum and Pancreatic Tissue of Rat with Chronic Pancreatitis

ZHAO Tie-hua, TANG Xiao-yong*, SHENG Li, LIU Guo-an
(Gansu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the influence of Danyining(DYN) on activity of superoxide dismutase (SOD) and the level of Malonyldialdehyde (MDA) in serum and pancreatic tissue to explore the mechanism of Danyining for treatment of chronic pancreatitis (CP). **Method:** The rat CP model was established by injection of L-Arg into abdomen. The model rats were randomly assigned into five groups; normal control group, model group, Xiao-chai-hu-tang pilular group, DYN low-dose group and high-dose group. After four weeks of treatment, all rats were executed to measure the activity of SOD and level of MDA in serum and pancreatic tissue. Statistics the experiment data. **Result:** DYN low-dose group and high-dose group could increase the activity of SOD ($P < 0.01$) and reduce the level of MDA ($P < 0.01$) in serum and pancreatic tissue. **Conclusion:** DYN has functions of increasing the activity of SOD and reducing the level of MDA in serum and pancreatic tissue, which indicates that DYN may prevent against injury of pancreatic tissue, and be beneficial to treatment of CP.

[Key words] chronic pancreatitis (CP); Danyining (DYN); superoxide dismutase (SOD); malonyldialdehyde (MDA)

[收稿日期] 20110224(002)

[第一作者] 赵铁华, Tel:0931-2687143, E-mail: zth0402@163.com

[通讯作者] *唐晓勇, Tel:0931-2337142, E-mail: 1351281436@qq.com

慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)是由于各种原因所致的胰实质和胰管的不可逆慢性炎症,其特征是反复发作的上腹部疼痛伴不同程度的胰腺内、外分泌功能减退或丧失^[1],属中医“脾心痛”、“腹痛”等病范畴^[2]。胆胰宁(danyikang, DYN)系甘肃省中医院刘国安主任医师多年的临床经验方,治疗慢性胰腺炎疗效显著、确切。本实验以胆胰宁高、低剂量治疗组、中药(小柴胡汤丸)组、模型组、空白组为对照,探讨的胆胰宁治疗慢性胰腺炎疗效及机制,为临床使用胆胰宁治疗慢性胰腺炎提供相应的理论依据。

1 材料

1.1 药物 DYN制剂:甘肃省中医院制剂室提供,中药免煎剂(批号20061016),用蒸馏水配置成所需浓度。小柴胡汤丸(规格0.375 g/粒,批号150112,甘肃众友药业制药有限公司)制成蒸馏水悬浊液。生理盐水(500 mL/瓶,批号A060303-2,安徽环球药业股份有限公司)。

1.2 动物 健康3月龄的SD大鼠70只(SPF级),雌雄各半,体重180~220 g。甘肃中医学院科研试验中心提供,许可证号SCXK(甘)2004-0006-0000367。

1.3 试剂 L-Arg(批号20060890-A),SOD试剂盒(批号20061020,20061107),MDA试剂盒(批号20061019,20061108)均为南京建成生物工程研究所生产。

1.4 仪器与设备 Primo型电动离心机(德国Heraeus公司),051105型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),HH-601型数显恒温水浴箱(金坛市恒丰仪器厂),UV-2401-PC型紫外分光光度计(日本岛津),KDC-2044型低速冷冻离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

度计(日本岛津),KDC-2044型低速冷冻离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

2 方法

2.1 动物分组及处理 将健康SD大鼠70只(雌雄各半)应用随机数据表进行分组,抽出20只(雌雄各半)做为正常大鼠,其余大鼠用腹腔注射L-Arg方法复制CP动物模型。连续造模3周后,抽取正常大鼠10只(雌雄各半)、模型大鼠10只(雌雄各半)取血清测SOD活性及MDA含量,验证造模是否成功。证明造模成功后,剩余的10只(雌雄各半)正常大鼠作为正常对照组,其余40只(雌雄各半)模型组大鼠随机分为4组:模型对照组;小柴胡汤丸组;胆胰宁低剂量组;胆胰宁高剂量组,每组10只(雌雄各半)。从第4周起:正常对照组和模型对照组灌服生理盐水;小柴胡汤丸组给以0.1 g·mL⁻¹的小柴胡汤丸溶液灌胃;胆胰宁低剂量组和胆胰宁高剂量组分别给予0.17,0.34 g·mL⁻¹的胆胰宁溶液灌胃,以上每组大鼠均按10 mL·kg⁻¹体重的液体量灌胃,每日1次。治疗4周后测定试验指标。

2.2 试验指标的测定 观察一般状况(包括每日大鼠进食量、饮水量、大便量及性状、活动情况、皮毛光泽度等,治疗前每周测体重2次,治疗后每周测体重1次),SOD及MDA测定按照是结合说明书要求执行。采用黄嘌呤氧化酶法测定SOD活性,硫代巴比妥法测定MDA含量。

2.3 统计学处理 所有实验数据均采用SPSS 13.0统计软件处理,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间显著性比较采用方差分析,两组间显著性比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 治疗后各组大鼠一般情况的比较

表1 治疗后各组大鼠一般情况比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·mL ⁻¹	体重增量/g	饮食	活动	反应	大便性状	皮毛
正常对照	-	19.5 ± 6.71	正常	正常	灵敏	正常	光泽
模型对照	-	-6.88 ± 1.73 ¹⁾	减少	减少	迟钝	稀溏	疏松、无光泽
小柴胡汤丸	0.1	9.75 ± 2.05 ²⁾	正常	增加	灵敏	正常	光泽
胆胰宁	0.17	7.00 ± 2.56 ²⁾	正常	增加	灵敏	正常	光泽
	0.34	12.38 ± 4.40 ²⁾	正常	正常	灵敏	正常	光泽

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

从表1可知:治疗后模型对照组体重增加量明显低于正常对照组($P < 0.01$),一般情况明显较正常大鼠差,表明模型复制成功。小柴胡汤丸组,胆胰

宁低、高剂量组治疗后体重增加量明显高于模型对照组($P < 0.01$),说明小柴胡汤丸、胆胰宁低高剂量均可改善慢性胰腺炎大鼠一般情况。

3.2 治疗后各组大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性比较

表 2 治疗后各组大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·mL ⁻¹	血清 SOD 活性	胰腺 SOD 活性
		/U·mL ⁻¹	/U·mg ⁻¹
正常对照	-	201.95 ± 42.70	5.61 ± 1.19
模型对照	-	77.30 ± 29.92 ¹⁾	1.87 ± 0.83 ¹⁾
小柴胡汤丸	0.1	132.92 ± 30.09 ²⁾	3.69 ± 0.84 ²⁾
胆胰宁	0.17	167.09 ± 35.00 ^{2,3)}	4.70 ± 0.94 ^{2,3,4)}
	0.34	169.28 ± 34.67 ^{2,3)}	4.70 ± 0.96 ^{2,3,4)}

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较²⁾ $P < 0.01$;与小柴胡汤丸组比较³⁾ $P < 0.05$;胆胰宁低剂量组与胆胰宁高剂量组比较⁴⁾ $P > 0.05$ 。

从表 2 可以看出,模型对照组大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性明显低于正常对照组 ($P < 0.01$),表明模型复制成功。小柴胡汤丸组、胆胰宁低剂量组、胆胰宁高剂量组大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性明显高于模型对照组 ($P < 0.01$)。胆胰宁低剂量组和胆胰宁高剂量组大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性高于小柴胡汤丸组 ($P < 0.05$);胆胰宁低剂量组和胆胰宁高剂量组相比血清及胰腺组织中 SOD 活性无显著性差异。说明小柴胡汤丸、胆胰宁均可增加慢性胰腺炎大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性,对抗胰腺的氧化损伤,且胆胰宁的作用优于小柴胡汤丸作用。

3.3 治疗后各组大鼠血清及胰腺组织 MDA 含量比较

表 3 治疗后各组大鼠血清及胰腺组织中 MDA 含量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·mL ⁻¹	MDA 含量	
		血清	胰腺
		/nmol·mL ⁻¹	/nmol·mg ⁻¹
正常对照	-	32.67 ± 16.76	7.21 ± 3.45
模型对照	-	56.50 ± 23.84 ¹⁾	12.98 ± 2.91 ¹⁾
小柴胡汤丸	0.1	41.14 ± 15.36 ^{2,4)}	10.48 ± 2.33 ^{2,3,4)}
胆胰宁	0.17	38.83 ± 10.94 ^{2,4)}	10.36 ± 1.60 ^{2,3,4)}
	0.34	39.42 ± 15.25 ^{2,4)}	7.96 ± 2.34 ²⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较²⁾ $P < 0.01$;与胆胰宁高剂量组比较³⁾ $P < 0.05$;治疗组间比较⁴⁾ $P > 0.05$ 。

从表 3 可以看出,模型对照组大鼠血清及胰腺组织中 MDA 含量明显高于正常对照组 ($P < 0.01$),表明模型复制成功。小柴胡汤丸组、胆胰宁低、高剂量组大鼠血清及胰腺 MDA 含量明显低于模型对照组 ($P < 0.01$);小柴胡汤丸组和胆胰宁低剂量组大

鼠胰腺 MDA 含量高于胆胰宁高剂量组 ($P < 0.05$);小柴胡汤丸组和胆胰宁低剂量组大鼠胰腺 MDA 含量组间比较不具有显著性差异;小柴胡汤丸组、胆胰宁低、高剂量组大鼠血清 MDA 含量组间比较不具有显著性差异。说明小柴胡汤丸、胆胰宁均可对抗慢性胰腺炎大鼠胰腺的氧应激损伤,降低血清及胰腺组织中 MDA 含量,但胆胰宁高剂量组的作用优于小柴胡汤丸组和胆胰宁低剂量组。

4 讨论

4.1 胆胰宁方解 胆胰宁由柴胡、赤芍、郁金、木香、黄芩、枳壳、甘草等药物组成。针对慢性胰腺炎发病以肝脾不调为本,湿热、食积、气滞、血瘀、痰浊为标的基本病机,从肝脾入手,以疏肝理脾、行气活血、清热化湿为基本治疗原则。方中柴胡、枳壳疏肝理气,木香、赤芍、郁金行气活血,黄芩清热化湿,甘草甘缓和中,全方合用有调理肝脾、行气活血化瘀、清热化湿之功,标本同治。本方应用《伤寒论》中的药对芍药配甘草,和里缓急止痛效果明显,配伍精当^[3]。现代药理表明,柴胡含有柴胡皂苷和柴胡酸性多糖,前者具有显著的抗炎和抑制胰蛋白酶的作用^[4],后者可抑制自由基活性。黄芩具有较明显的抗氧化活性^[5]。甘草的主要成分为甘草酸,可以抑制胰腺星状细胞活化以及肥大细胞脱颗粒,有显著抑制胰腺纤维化的作用^[6]。郁金则具有促进生长抑素释放的作用^[7]。枳壳用于胆结石患者^[8]越来越受到人们的关注。

4.2 胆胰宁对慢性胰腺炎大鼠血清及胰腺组织中 SOD 活性和 MDA 含量的作用 SOD 是一种生物活性蛋白质,能有效地清除氧自由基,是人体不可缺少的氧自由基清除剂,也是目前为止发现的唯一的以自由基为底物的酶,所以在维护生物体内自由基产生与清除的动态平衡中起着重要的作用^[9]。慢性胰腺炎是一种渐进性的、不可逆的炎症性疾病。炎症过程易发生氧化应激,产生氧自由基,其能引起细胞膜上过氧化,破坏膜的结构和功能,还会引起蛋白质变性和交联,使体内多种酶及激素失去生物活性,降低机体机能,从而加重胰腺组织的损伤。氧自由基产生增多,消耗 SOD,使体内 SOD 活性减低;过多的氧自由基在组织中堆积,就会生成活性氧与细胞膜上不饱和脂肪酸反应生成 MDA 等引起炎症反应、组织损伤等疾病^[10]。因此,MDA 是反应胰腺损伤的一个指标,它反应着胰腺受损伤的程度。由于

SOD 能够抑制炎症的进展和抗氧化的作用,从而减少胰腺腺泡的破坏,减少 MDA 的生成,减轻胰腺纤维化程度,检测胰腺组织内 MDA 含量可以反映机体细胞受自由基攻击的程度^[11-12]。胰腺组织中的 MDA 可以顺浓度梯度通过血管壁进入血中,胰腺组织内 MDA 含量变化与血清中 MDA 含量变化呈平行关系,测量血清中 MDA 含量可间接反映胰腺损伤程度。因而检测血清中 SOD 活性及 MDA 含量可以了解机体的抗损伤能力及胰腺损伤程度,对慢性胰腺炎的诊断和治疗效果观察有一定的客观价值。本实验所采用的中药验方胆胰宁即可增加机体 SOD 的活性,减少 MDA 的生成,从而减少胰腺自由基的含量,以减轻胰腺损伤。

因此,根据我们的研究,胆胰宁具有增加慢性胰腺炎大鼠 SOD 活性的作用,以增强慢性胰腺炎大鼠体内的抗氧化能力,减少体内生成氧自由基的数量,从而达到对抗慢性胰腺炎大鼠的胰腺损伤;胆胰宁还能降低慢性胰腺炎大鼠体内的 MDA 的含量,即降低胰腺损伤程度;同时,胆胰宁可改善慢性胰腺炎大鼠的一般状况,使慢性胰腺炎大鼠的食量增加、体重增加,以起到防治慢性胰腺炎的作用。可见,胆胰宁能够有效地对抗慢性胰腺炎形成过程中的胰腺组织损伤,从而对慢性胰腺炎具有显著的防治作用。

[参考文献]

[1] 吴在德. 外科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008:581.
[2] 周仲瑛,蔡淦. 中医内科学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003:238.

[3] 朱爱江,方步武,吴咸中,等. 芍药甘草汤的抗炎作用研究[J]. 天津医药,2009,37(2):120.
[4] 张永文,巢志茂. 柴胡果胶多糖的结构与药理活性研究进展[J]. 国外医学·中医中药分册,1996,18(4):20.
[5] GAO Z H, HUANG K X, YANG X L, et al. Free radical scavenging and antioxidant activations of flavonoidis extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Bbchimcaet Biophysica Acta*, 1999,1472:643.
[6] 吴恺,张汝玲,王兴鹏. 甘草酸对大鼠胰腺纤维化的干预作用及其机制[J]. 中国药理学通报,2003,19(12):1424.
[7] 李森林,林国奎,陈少夫. 郁金对血浆生长抑素水平的影响[J]. 中医药研究,1997,13(1):54.
[8] 宿树兰. 积壳的研究进展[J], 中药材,2001,24(3):222.
[9] 张英锋,裴中会,阮栋梁. SOD——一种超氧化物歧化酶[J]. 化学世界,2004,45(2):112.
[10] 陈昱,郑吉顺,龙友明,等. 核因子- κ B 在 L-精氨酸所致小鼠急性水肿性慢性胰腺炎模型早期发病中的作用探讨[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2004,13(4):371.
[11] Zeki S, Miura S, Suzuki H, et al. Xanthine oxidase-derived oxygen radicals play significant roles in the development of chronic pancreatitis in WBN/Kob rats [J]. *Jastroenterol Hepatol*,2002,17:606.
[12] Su S B, Motoo Y, Xie M J, et al. Superoxid dismutase is induced during rat pancreatic acinar cell injury[J]. *Pancreas*,2002,24:146.

[责任编辑 邹晓翠]