

鸡骨草胶囊对大鼠肝纤维化的保护作用研究

赵平^{1*}, 叶志文¹, 何丹璇¹, 潘兰¹, 林军²

(1. 广西玉林制药有限责任公司, 广西玉林 537001; 2. 广西医科大学, 广西南宁 530021)

[摘要] 目的: 探讨鸡骨草胶囊对肝纤维化大鼠的影响, 为临床适应症提供实验依据。方法: 采用 40% CCl₄ (v/v) 皮下注射法建立大鼠肝纤维化模型, 用不同浓度的鸡骨草胶囊混悬液灌胃干预。结果: 鸡骨草胶囊可改善造模大鼠的肝功能, 使肝纤维化大鼠降低的血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)值升高; 可改善肝纤维化大鼠的血清抗氧化指标, 血清中超氧化物歧化酶(SOD)含量增加, 丙二醛(MDA)含量降低; 并可减轻肝脏组织病理损伤程度, 使肝纤维化大鼠病理学评分值降低。结论: 鸡骨草胶囊对大鼠实验性肝纤维化具有明显保护作用, 能明显减轻肝纤维化程度。

[关键词] 鸡骨草胶囊; 大鼠; 肝纤维化; 四氯化碳

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)10-099-03

Study on the Protective Effects of Jigucuo Capsule in Rat Liver Fibrosis

ZHAO Ping^{1*}, YE Zhi-wen¹, HE Dan-xuan¹, PAN Lan¹, LIN Jun²

(1. Guangxi Yulin Pharmaceutical Co., Ltd, Yulin 537001, China;

2. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective:** To research the influence of Jigucuo Capsule to rat liver fibrosis, to provide a experimental basis for the expansion of clinical indications. **Methods:** Rat liver fibrosis model by 40% CCl₄ (v/v) subcutaneous injection was built up, and intervened with different concentrations of Jigucuo Capsule suspensionorally. **Results:** Jigucuo Capsule could improve the liver function of model rat, and increase serum TP, ALB. It could improve the rat serum antioxidant indicators, increase serum SOD content, and reduce the MDA content. It could reduce the pathological changes of the liver damage to show a lower value of liver fibrosis. **Conclusion:** Jigucuo Capsule showed apparent protective effect to rat with liver fibrosis. It could significantly reduce the degree of liver fibrosis.

[Key words] Jigucuo Capsule; rat; liver fibrosis; CCl₄

肝纤维化是一切慢性肝病的病理学基础, 是形成肝硬化的必经阶段。阻止肝纤维化的发生和发展, 是防止慢性肝脏疾病向肝硬化和肝功能衰竭过渡的关键环节^[1]。鸡骨草胶囊是广西玉林制药有限责任公司根据民间验方, 经多年试制改进而成的中药制剂, 是治疗肝炎、胆囊炎的良药。根据其功能主治, 本研究拟观察其对四氯化碳致肝纤维化大鼠的影响, 以探讨其抗肝纤维化作用, 为临床应用提供实

验依据。

1 材料

1.1 动物及分组 健康清洁级 Wistar 大鼠 80 只, 雄性, 体重(160~200)g, 由广西医科大学医学实验动物中心提供。饲以广西医科大学医学实验动物中心提供的饲料。动物饲养条件为室温(25±5)℃, 湿度(60±20)%, 实验期间自由摄食、饮水。遵从随机、均衡原则, 采用查阅随机数字表法将其分为空白对照组 15 只, 模型对照组 18 只, 秋水仙碱组 11 只, 鸡骨草胶囊高、中、低剂量组各 12 只, 共 6 组。

1.2 药物 鸡骨草胶囊(由鸡骨草、茵陈、栀子、三七等药组成), 成人日服剂量 6 g, 实验采用其干粉,

[收稿日期] 2008-12-01

[通讯作者] * 赵平, Tel: (0775) 3892950; E-mail: zhaoping7010@tom.com

由广西玉林制药有限责任公司生产,批号: 625110;秋水仙碱,西双版纳股份药业有限责任公司提供,批号: 060717。

1.3 主要试剂及仪器 四氯化碳由中国医药(集团)上海化学试剂公司提供;谷丙转氨酶(ALT)检测试剂盒购于四川迈克科技有限公司;谷草转氨酶(AST)检测试剂盒由长春汇力生物技术有限公司生产;血清总蛋白和白蛋白测定试剂为四川迈克科技有限责任公司生产;丙二醛(MDA) 超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供;苏木素、伊红购自美国 Sigma 公司。

2 方法

2.1 造模及给药 动物适应饲养 1 周后,除了正常对照组外,其余各组大鼠 sc 40% CCL₄ 植物油溶液 3 mL·kg⁻¹,每周 2 次,首剂为 5 mL·kg⁻¹,共 8 周,正常对照组 sc 相同体积植物油。造模第 4 周末在正常对照组和模型对照组中随机取 5 只大鼠作肝病理学检测,判断肝纤维化模型是否成立。如模型成立则开始 ig 治疗。秋水仙碱组 ig 秋水仙碱混悬液 0.4 mg·kg⁻¹;鸡骨草胶囊治疗组 ig 鸡骨草混悬液 2, 1, 0.5 g·kg⁻¹;模型对照组和正常对照组 ig 相同体积生理盐水。灌胃体积均为 10 mL·kg⁻¹,1 次/d,连续 4 周。给药期间继续同样给予 CCL₄ 造模。

2.2 观测指标

2.2.1 大鼠一般情况及死亡数 每天观察大鼠的一般症状,饮食变化,行为(自主活动、精神状态)及毛发变化。

2.2.2 血清学检测 第 8 周给药结束后,禁食不禁水 12 h,眼球取血,分离血清,-20℃保存待检。用赖氏法测定 ALT,AST 的活性,用 BCG 法测定血清 ALB,用双缩脲法测定 TP 含量,TBA 法和黄嘌呤氧

化法分别测定血清中 MDA, SOD 含量。各血清学指标检测均照试剂盒说明书进行。

2.2.3 肝脏病理组织学检测 采血后处死大鼠,分离肝组织,剪取同部位肝左叶肝组织 1 块(约 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 大小),按常规固定,HE 染色,光镜下观察肝脏的病理改变。按照以下标准对肝纤维化程度评分:肝细胞正常,肝小叶结构清楚为 1 分;肝细胞水变性为 2 分;中度脂肪变性为 3 分;早期肝纤维化为 4 分;晚期肝纤维化为 5 分;肝硬化为 6 分。

2.3 统计方法 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 SPSS for Windows 13.0 软件进行统计学处理,多组数据间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)。

3 结果

3.1 大鼠一般情况、死亡数 除空白对照组外,其余各组大鼠在造模过程中出现精神萎靡、活动减少、皮毛皱而不洁、进食量减少、尿黄、体重增长缓慢等,尤以模型对照组最明显。实验进行至第 4 周末时,处死空白组和模型对照组大鼠各 5 只,取肝脏制作病理切片镜下观察,结果显示空白对照组大鼠肝脏正常,模型组大鼠已有肝纤维化改变。在造模过程中除正常对照组外均有死亡,其中模型对照组死亡 3 只、秋水仙碱组、鸡骨草胶囊高剂量组大鼠分别各死亡 1 只,中低剂量组各死亡 2 只,死亡时间多在造模第 6~8 周。

3.2 对肝纤维化大鼠肝功能及血清 TP, ALB 的影响 表 1 可见,与正常对照组比较,模型组大鼠血清 ALT, AST 活性明显升高,TP, ALB 含量明显降低;鸡骨草胶囊各组对升高的 ALT, AST 和降低的 TP, ALB 均有不同程度的改善。

表 1 各组大鼠肝功能及血清 TP, ALB 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	AST(U·L ⁻¹)	ALT(U·L ⁻¹)	TP(g·L ⁻¹)	ALB(g·L ⁻¹)
正常对照组	-	68.40 ± 9.46	22.19 ± 13.11	76.79 ± 5.41	49.05 ± 4.35
模型对照组	-	305.63 ± 51.98 ²⁾	136.19 ± 59.67 ²⁾	70.24 ± 6.04 ¹⁾	34.89 ± 1.94 ²⁾
秋水仙碱组	4 × 10 ⁻⁴	212.73 ± 48.43 ²⁾	81.23 ± 39.28 ¹⁾	76.96 ± 4.28 ¹⁾	44.84 ± 5.93 ²⁾
鸡骨草胶囊组	2.0	198.48 ± 42.21 ²⁾	84.09 ± 41.94 ¹⁾	74.56 ± 4.87 ¹⁾	43.88 ± 5.24 ²⁾
	1.0	228.49 ± 58.93 ²⁾	90.44 ± 28.48 ¹⁾	77.17 ± 5.77 ¹⁾	46.57 ± 4.88 ²⁾
	0.5	253.02 ± 48.87 ¹⁾	100.71 ± 41.54	76.85 ± 7.05 ¹⁾	45.46 ± 3.95 ²⁾

注:与模型对照组比较: ¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(下同)

3.3 对肝纤维化大鼠血清 MDA, SOD 的影响 表 2 可见,与正常对照组比较,模型对照组血清 MDA 含

量明显升高(P < 0.01), SOD 活性明显下降(P < 0.05);鸡骨草胶囊不同剂量可使降低的 SOD 活性不

同程度地升高;使升高的 MDA 均显著性降低。

表 2 各组大鼠肝纤维化指标及血清中丙二醛、SOD 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量($g \cdot kg^{-1}$)	SOD($U \cdot mL^{-1}$)	MDA($U \cdot mL^{-1}$)
正常对照组	-	157.25 \pm 25.04	5.74 \pm 1.15
模型对照组	-	124.44 \pm 39.88 ¹⁾	9.50 \pm 1.48 ²⁾
秋水仙碱组	4×10^{-4}	171.55 \pm 18.52 ²⁾	7.89 \pm 1.67 ¹⁾
鸡骨草胶囊组	2.0	168.41 \pm 14.59 ²⁾	7.34 \pm 1.58 ²⁾
	1.0	161.74 \pm 12.53 ¹⁾	7.57 \pm 1.31 ²⁾
	0.5	126.15 \pm 13.52	7.66 \pm 1.25 ²⁾

3.4 对肝纤维化大鼠肝脏组织病理学的影响 分别于 100 倍及 400 倍光镜下观察肝脏切片,见正常

表 3 各组大鼠病理组织学评分的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量($g \cdot kg^{-1}$)	动物数	1 分	2 分	3 分	4 分	5 分	6 分	肝脏病理学评分
正常对照组	-	10	10	0	0	0	0	0	1.00 \pm 0.00
模型对照组	-	10	0	0	1	3	2	4	4.90 \pm 1.10 ²⁾
秋水仙碱组	4×10^{-4}	10	2	3	2	1	2	0	2.80 \pm 1.48 ²⁾
鸡骨草胶囊组	2.0	11	2	3	2	3	0	1	2.91 \pm 1.51 ²⁾
	1.0	10	1	3	2	2	1	1	3.20 \pm 1.55 ¹⁾
	0.5	10	0	0	2	3	2	3	4.60 \pm 1.17

4 讨论

肝纤维化是中医积聚证的早期,属气滞血瘀型。肝纤维化的病因是湿邪侵入以及五脏功能失调,尤其是肝脏功能的失调。气滞是由于湿滞于肝脏而壅塞经络,因此祛除湿邪是关键。本方以鸡骨草之甘凉,清热解毒,舒肝散瘀为主药,辅以茵陈清热利湿、退黄,栀子清三焦实热,泻火除烦,清热利湿,凉血解毒;三七活血止痛;牛黄开窍,既除病邪,又能消肿止痛。白芍柔肝止痛,养血敛阴,平抑肝阳。以红枣益气健脾,缓和药性;枸杞子养肝阴,猪胆汁苦寒,有清

对照组肝小叶结构完整,肝索排列整齐,无炎症细胞浸润;模型对照组及鸡骨草胶囊低剂量组肝小叶结构被破坏,肝索排列紊乱,有炎症细胞浸润,肝细胞水肿,脂肪变性明显,部分可见假小叶形成;鸡骨草胶囊高、中剂量组及秋水仙碱对照组可见汇管区有少量的纤维组织增生,少见假小叶形成,可见少量炎症细胞浸润,肝细胞水肿、脂肪变性明显减轻。按照评分标准,由同一病理医生单盲读片并予以评分。各组得分结果见表 3。结果显示:与正常对照组相比较,模型对照组纤维化评分明显升高($P < 0.01$),鸡骨草胶囊高、中剂量组,秋水仙碱组得分呈不同程度降低,与模型对照组比较,差异均有统计学意义。

热解毒润燥之功效。全方相辅相成,共奏疏肝利胆,清热解毒,消炎止痛之功。本研究按照中药新药研制的要求,从药效学角度探索鸡骨草胶囊抗肝纤维化之功效,认为本品能改善四氯化碳致大鼠肝纤维化肝功能及血清学指标,亦能减轻四氯化碳所致大鼠肝脏的病理损伤,为其临床提供实验依据。

[参考文献]

- [1] 贺松其,吕志平. 中药抗肝纤维化作用机理研究[J]. 时珍国药杂志, 2006, 17(1): 111-112.