

酒肝清胶囊对实验性大鼠酒精性脂肪肝的治疗作用

邸琳¹, 刘新宇¹, 金向群^{2*}, 李海燕², 常福红²

(1. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学药学院, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的: 探讨酒肝清胶囊治疗酒精性脂肪肝的药理作用。方法: Wistar 大鼠每次 ig 56 度白酒 5 mL·kg⁻¹; 每日 2 次。连续 4 周, 造成脂肪肝模型, 大鼠肝脏经病理组织学检查, 证明模型成立后, 开始分组给药。模型组每日 ig 56 度白酒 5 mL·kg⁻¹; 阳性药组每日 ig 25 mg·kg⁻¹ 绞股蓝总甙和 56 度白酒 5 mL·kg⁻¹; 酒肝清胶囊高, 中, 低剂量组每日 ig 0.6, 0.3, 0.15 g·kg⁻¹ 酒肝清胶囊, 同时 ig 56 度白酒 5 mL·kg⁻¹, 每日 1 次, 连续 4 周。取血清, 测定谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、总蛋白(TP)、白蛋白(Alb)和肿瘤坏死因子(TNF-α)含量。取肝脏称重, 计算肝脏系数(g·100 g⁻¹ 体重)。取肝左叶, 测定 TG, TC, MDA, ALT, AST, SOD 活性。取肝右叶, 做病理检查。结果: 酒肝清胶囊灌胃给药, 可以显著降低酒精性脂肪肝大鼠 TG, TC, ALT, AST, MDA 和 TNF-α 含量, 增加 Alb 含量和 SOD 活性。结论: 酒肝清胶囊对大鼠实验性酒精肝有明显的治疗作用。

[关键词] 酒肝清胶囊; 大鼠; 酒精性脂肪肝

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)03-0053-03

Therapeutic Effect of JiuGanQing Capsule on Experimental Alcoholic Fatty Liver in Rats

DI Lin¹, LIU Xin-yu¹, JIN Xiang-qun^{2*}, LI Han-yan, CHANG Fu-hong

(1. Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jinlin Province, Changchun 130021, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Jiuganqing capsule on alcoholic fatty liver. **Methods:** Alcoholic fatty liver of Wistar rat was induced by ig 56° alcohol liquid 5 mL·kg⁻¹ twice a day for 4 week. The model is determined by histopathologic examination. The model group was given alcohol liquid as mentioned above. The masculine drug group was given Gypenosides ig 25 mg·kg⁻¹ daily and alcohol as the model. Jiuganqing capsule high, middle and low dose-group was separately give ig 0.6, 0.3, 0.15 g·kg⁻¹ and alcohol as the modes for 4 week. The content of ALT, AST, TG, T-CHO, SOD, MDA, TP, Alb and TNF-α in serum were detected. The hepatic index was calculated by weighing liver. The activity of TG, TC, MDA, ALT, AST and SOD in hepatic hemogenate were detected. **Results:** Jiuganqing capsule can obviously reduce activity of ALT, AST and the content of T-CHO, TG, MDA, TNF-α but increase the content of Alb and activity of SOD. **Conclusion:** Jiuganqing capsule has obviously therapeutic effect on alcoholic fatty liver in rat.

[Key words] Jiuganqing Capsule; rat; alcoholic fatty liver

酒精性肝病的发病率在我国呈上升趋势, 越来

越引起人们的高度重视。酒精性脂肪肝是酒精性肝病中最先出现、最为常见的病变。如果长期过度饮酒, 可使肝细胞反复发生脂肪变性、坏死, 最终发展为酒精性肝炎和酒精性肝硬化, 严重危及人的生命健康。我们在张仲景“黄芩汤”基础上, 通过组方筛选^[1]组成了酒肝清胶囊。本文研究了酒肝清胶囊对

[收稿日期] 2007-06-11

[基金项目] 吉林省科委课题(20050910)

[通讯作者] * 金向群, Tel: 13844090377; E-mail: jinxq@jlu.edu.cn

实验性大鼠酒精性脂肪肝的治疗作用, 并对其作用机理进行了初步探讨。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠, 体重(180~200)g 雌性, 动物等级: II 级。购自吉林大学基础医学院动物室, 合格证号为 2004-0001。实验室温度(21~23)℃, 相对湿度 50%~60%。

1.2 药物 酒肝清胶囊是由吉林大学研制开发的原中药二类新药(临床批号: 2005L02218), 该药是从黄芩、赤芍、甘草 3 味中药中提取的有效部位黄芩总黄酮、赤芍苷、甘草素组成的复方中药制剂, 配伍比例为 115: 80: 95。酒肝清胶囊内容物为黄棕色, 每克粉含生药 14.04 g, 批号: 20020802, 由吉林大学药学院提供。为了确保该药的质量, 对制剂中甘草酸、黄芩苷及芍药苷均进行了含量测定和溶出度测定, 较好地保证了该药的质量。北京二锅头酒(国家许可证号 Xk-16-030 360, 执行标准 QH22-20002 二级), 北京双庆和酒业有限责任公司产品, 酒精度 56% (v/v), 出厂日期 20040810。绞股蓝总甙片为广州白云山中药厂生产, 每片含绞股蓝总甙 20mg, 批号 0310016。

1.3 试剂盒 总胆固醇(T-CHO)、甘油三酯(TG)、总蛋白(TP)、白蛋白(Alb)试剂盒为中生北控生物科技股份有限公司, 批号: 180441、220391、261091、251581。谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒为南京建成生物工程研究所提供, 批号 20041013、20041013、20041015 和 20041014。TNF- α 放免试剂盒购自北京福瑞生物工程公司, 批号: 20050124。

1.4 数据处理 试验数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较用 *t* 检验, 用 SPSS10.0 软件统计。

2 方法

取大鼠 75 只, 随机分 2 组, 空白对照组(10 只), 每日灌胃 10 mL·kg⁻¹ 蒸馏水; 模型组(65 只), 每日灌胃 56 度白酒 5 mL·kg⁻¹; 每日 2 次。连续 4 周。取模型组 2 只大鼠肝脏, 做病理检查。结果可见肝脏汇管区大量炎细胞浸润, 肝细胞变性坏死。

将酒精肝模型 64 只大鼠随机分 5 组。模型组(14 只)每日灌胃 56 度白酒 5 mL·kg⁻¹; 阳性药组(12 只)每日灌胃 25 mg·kg⁻¹ 绞股蓝总甙和 56 度白酒 5 mL·kg⁻¹; 酒肝清胶囊高、中、低剂量组(各 12 只)日灌胃 0.6, 0.3, 0.15 g·kg⁻¹ 酒肝清胶囊, 同时灌胃 56

度白酒 5 mL·kg⁻¹, 每日 1 次, 连续 4 周。末次给药后, 禁食 12 h, 由眼眶后采血, 离心, 取血清, 测定 ALT, AST, TG, T-CHO, SOD, MDA, TP, TLB 和 TNF- α 含量, 取肝脏称重, 计算肝脏系数(g·100 g⁻¹ 体重), 取肝脏左叶, 用生理盐水制成 10% 匀浆, 研磨条件: 1 000 r·min⁻¹, 40 s, 冰水中进行。取匀浆 1 mL, 加 2 mL 氯仿和无水乙醇(2:1)混合液提取 1 min, 2 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。取氯仿层, 用于测定 TG, T-CHO。剩余肝匀浆 2 000 r·min⁻¹, 离心 10 min, 用于测定 MDA 含量。ALT, AST, SOD 活性(均按试剂盒方法进行)。取肝右叶, 福尔马林固定, 常规包埋切片, HE 染色, 光镜下观察大鼠肝脏组织病理变化。用 SPSS10.0 非参数检验中等级资料秩和检验, 半定量统计病理结果。

3 结果

服用白酒后, 模型组大鼠体重变化与正常对照组大鼠比较不明显, 肝脏系数、血清和肝脏中 TG, T-CHO, ALT, AST, MDA 含量显著增加; SOD 活性明显降低, 对血清中 TP 含量无明显影响, 降低血清中 Alb 含量。酒肝清胶囊组大鼠体重与模型组比较无明显差异; 显著降低酒精肝大鼠肝脏系数、血清和肝脏中 TG, T-CHO, ALT, AST, MDA 和血清中 TNF- α 含量; 增加 SOD 活性; 增加血清中 Alb 含量。结果见表 1~2。病理检验结果: 正常对照组肝小叶结构正常, 肝细胞索排列整齐, 核结构清晰。模型组肝小叶正常结构消失, 小叶界限不清, 细胞索排列紊乱, 大部分肝窦扩张, 肝细胞广泛脂肪变性。阳性药组和给药 3 个剂量组肝小叶结构基本清晰, 有不同程度浊肿和脂肪变性, 见表 3。

4 讨论

人摄入的乙醇约 90% 进入肝脏代谢。由于肝脏代谢异常, 导致蛋白合成受阻, 减少肝脏三酰甘油的清除, 影响肝脏脂肪代谢, 进而形成酒精性脂肪肝。酒肝清胶囊能明显降低酒精肝大鼠 T-CHO 和 TG 含量, 表明其对肝脏的脂质代谢异常有调节作用。

当肝细胞损害时, 大量 ALT 和 AST 释放入血, 导致血清中 ALT 和 AST 升高。本试验结果酒肝清胶囊能明显降低血和肝脏中 ALT, AST 活性, 表明酒肝清胶囊对酒精性脂肪肝大鼠肝细胞有明显的保护作用。

SOD 活力的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力, 而 MDA 的水平又间接反映了机体细胞受自

由基攻击的严重程度。酒肝清胶囊能明显增加血清的抗自由基作用。和肝脏中 SOD 活性, 减少 MDA 含量。表明其有明显

表 1 酒肝清胶囊对酒精性脂肪肝大鼠体重、肝脏系数和血清生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	n		体重(g)		肝脏系数 (g·100 g ⁻¹)
		药前	药后	药前	药后	
空白对照	—	10	10	240.1 ± 16.7	274.3 ± 18.5	2.89 ± 0.38 ²⁾
模型	—	14	10	235.0 ± 17.6	264.4 ± 23.1	3.37 ± 0.17
绞股蓝总甙	0.025	12	11	236.4 ± 16.7	269.7 ± 32.7	2.95 ± 0.22 ²⁾
酒肝清胶囊	0.6	12	11	235.8 ± 20.2	267.6 ± 28.7	2.99 ± 0.21 ²⁾
	0.3	12	11	233.5 ± 23.0	267.6 ± 29.1	2.97 ± 0.33 ²⁾
	0.15	12	11	236.4 ± 12.9	260.0 ± 13.8	3.04 ± 0.29 ²⁾

续表 1

TG (mmol·L ⁻¹)	T-CHO (mmol·L ⁻¹)	TP (g·L ⁻¹)	TLb (g·L ⁻¹)	ALT (U·L ⁻¹)	AST (U·L ⁻¹)	MDA (mmol·L ⁻¹)	SOD (U·L ⁻¹)	TNF-α (ng·mL ⁻¹)
0.89 ± 0.15 ¹⁾	1.62 ± 0.33 ²⁾	65.9 ± 7.1	33.4 ± 3.9 ¹⁾	18.1 ± 2.8 ²⁾	54.9 ± 9.6 ¹⁾	4.40 ± 0.73 ¹⁾	140.6 ± 9.5 ¹⁾	1.91 ± 0.31 ²⁾
1.10 ± 0.17	2.35 ± 0.38	62.8 ± 7.0	29.8 ± 3.2	28.4 ± 7.6	72.2 ± 10.7	6.26 ± 1.33	126.9 ± 11.0	2.35 ± 0.36
1.02 ± 0.21	1.88 ± 0.28 ¹⁾	70.4 ± 13.1	33.3 ± 1.6 ¹⁾	22.6 ± 3.2 ¹⁾	62.0 ± 13.3	5.43 ± 0.72	136.9 ± 4.8 ¹⁾	2.05 ± 0.41
0.65 ± 0.24 ²⁾	1.81 ± 0.55 ¹⁾	64.3 ± 4.4	35.4 ± 2.9 ²⁾	19.7 ± 3.3 ¹⁾	56.6 ± 11.8 ²⁾	3.50 ± 0.84 ²⁾	141.3 ± 5.4 ¹⁾	1.77 ± 0.26 ²⁾
0.89 ± 0.23 ¹⁾	1.93 ± 0.15 ¹⁾	72.6 ± 14.8	33.7 ± 2.5 ¹⁾	20.7 ± 3.0 ¹⁾	59.7 ± 13.6 ¹⁾	3.41 ± 0.78 ²⁾	142.6 ± 12.1 ¹⁾	1.23 ± 0.80 ²⁾
1.01 ± 0.17	2.08 ± 0.36	66.9 ± 5.6	33.0 ± 2.3 ¹⁾	20.5 ± 6.2 ¹⁾	61.9 ± 15.5	3.49 ± 0.53 ²⁾	148.1 ± 6.3 ²⁾	1.26 ± 0.70 ²⁾

注: 与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(下同)

表 2 酒肝清胶囊对酒精性脂肪肝大鼠肝脏生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	TG (mmol·L ⁻¹)	T-CHO (mmol·L ⁻¹)	ALT (U·L ⁻¹)	AST (U·L ⁻¹)	SOD (U·mgpot ⁻¹)	MDA (mmol·mgprot ⁻¹)
空白对照	—	4.49 ± 0.80 ¹⁾	0.11 ± 0.04 ¹⁾	92.6 ± 48.2 ²⁾	92.5 ± 44.0 ²⁾	136.2 ± 7.3 ¹⁾	20.3 ± 2.1 ²⁾
模型	—	5.80 ± 1.28	0.15 ± 0.02	160.3 ± 23.3	144.4 ± 34.8	120.1 ± 16.1	27.3 ± 3.5
绞股蓝总甙	0.025	4.19 ± 0.56 ²⁾	0.14 ± 0.08	129.8 ± 33.2 ¹⁾	111.1 ± 35.3 ¹⁾	131.7 ± 6.3 ¹⁾	25.1 ± 4.7
酒肝清胶囊	0.6	4.52 ± 1.17 ¹⁾	0.11 ± 0.03 ²⁾	124.1 ± 34.0 ¹⁾	106.5 ± 38.7 ¹⁾	136.4 ± 13.8 ¹⁾	22.7 ± 4.7 ¹⁾
	0.3	5.04 ± 0.93	0.12 ± 0.03 ¹⁾	127.5 ± 44.0	114.3 ± 32.0	127.7 ± 20.4	22.6 ± 4.6 ¹⁾
	0.15	5.29 ± 0.80	0.12 ± 0.04	137.8 ± 43.6	115.4 ± 44.3	126.0 ± 10.1	23.9 ± 6.2

表 3 酒肝清胶囊对模型大鼠肝脏脂肪变性的影响

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	n	肝细胞脂肪变性分级				P
			I 级	II 级	III 级	IV 级	
空白对照	—	10	10	0	0	0	
模型	—	12	0	8	4	0	
绞股蓝总甙	0.025	11	7	2	2	0	0.019
酒肝清胶囊	0.6	11	8	2	1	0	0.002
	0.3	11	7	2	2	0	0.019
	0.15	11	5	3	3	0	0.151

注: I 级: 一个视野下肝脏脂肪变性 < 1/10。II 级: 一个视野下肝脏脂肪变性 < 1/3, III 级: 一个视野下肝脏脂肪变性 < 1/2。IV 级: 一个视野下肝脏脂肪变性 > 1/2。

TNF-α 主要由肝实质细胞和肝内 kupffer 细胞分泌, 它具有双重性, 低浓度的 TNF-α 是肝细胞生长分化与再生所必需的调节因子, 但高浓度的 TNF-α 既

可以诱导肝细胞凋亡, 也可以导致肝细胞坏死, 是造成肝细胞损伤的主要因子。酒肝清胶囊能够降低酒精肝大鼠 TNF-α 含量, 表明这也是其治疗酒精性脂肪肝作用的机理之一。

本实验结果表明酒肝清胶囊 0.6, 0.3, 0.15 g·kg⁻¹ 灌胃给药, 对大鼠酒精性脂肪肝有明显的治疗作用, 其机理可能是与减少过量自由基的产生, 抑制脂质过氧化, 抑制肿瘤坏死因子的增加有关。

[参考文献]

- [1] 金向群, 邸琳, 刘新宇, 等. 酒肝清胶囊中各有效部位组方的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(6): 3.
- [2] 俞利平, 陈小因, 方志明. 丹参注射液对大鼠酒精性肝损伤的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(7): 62.