

肝加欣片对酒精性肝损伤大鼠肝组织病理学改变的影响

姚凤云¹, 杨伟鹏², 肖洪彬^{1*}, 段富津¹, 穆欣¹, 王彦礼², 王怡薇²

(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 探讨肝加欣片对酒精性肝病(ALD)大鼠肝组织病理学改变的影响。方法: 采用长期大剂量灌酒的方法复制大鼠 ALD 动物模型, 取肝左叶相同部位组织一小块, 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋, 切片厚度 8 微米 HE 染色, 在光镜下观察肝细胞的结构与病理改变。结果: 肝加欣片可使 ALD 大鼠脂变肝细胞数量明显减少, 脂变面积明显减小, 脂变程度明显减轻。结论: 肝加欣片能够对抗大鼠长期饮酒引起的肝组织病理改变。

[关键词] 肝加欣片; 酒精性肝病; 组织病理学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)12-0054-03

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD) 是因为酗酒而导致的肝脏损害性疾病, 根据其病程发展和临床症状可表现为酒精性脂肪肝、酒精性肝炎、酒精性肝纤维化、酒精性肝硬化等^[1]。随着生活水平的提高及饮酒量的增加, ALD 正呈逐渐增加的趋势, 已成为我国乃至世界关注的健康问题, 正威胁着人类的健康和生活。前期实验已经证明, 该药可降低 ALD 大鼠转氨酶, 增加蛋白含量, 清除自由基及脂质过氧化物等。本文着重从肝组织病理学角度进行探讨, 以阐明其治疗 ALD 的确切机理。

1 实验材料

1.1 药物 肝加欣片: 由中国吉林通化方大药业股份有限公司生产, 批号: 020910; 规格: 每盒 12×4 片, 基片重为 0.35 g; 成人口服一次 4 片, 一日 3 次。本药由胆汁粉、茵陈、板蓝根、柴胡、五味子等药物组成, 具有舒肝理气的功能, 能降低转氨酶, 用于慢性肝炎、迁延性肝炎和肝硬化等症。东宝肝泰片: 由通化东宝药业股份有限公司生产, 批号: 020907; 规格: 每盒 12×4 片, 基片重为 0.4 g。成人口服一次 3 片, 一日 3 次。本药由蛋氨酸、重酒石酸胆碱及维生素 B₁₂ 等九种药物组成, 用于治疗脂肪肝、急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化等症。50% 纯粮食酒: 由五常酿酒厂生产, 批号: 20020122。

1.2 试剂 谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)测定试剂盒: 均由中生北控生物科技股份有限公司生产, 批号分别为 180101、220271。其它试剂均为化学纯或分析纯。

1.3 动物 Wistar 大白鼠, ♂, 体重 150~250 g, 由黑龙江中医药大学实验动物中心繁殖提供, 合格证号为黑动字第 P00102004。发证单位为黑龙江省实验动物管理委员会。

1.4 主要仪器 RM2245 型半自动切片机, 德国制造; XDS-1B 型倒置显微镜, 重庆光学仪器厂制造; DHG-9140N 型电热鼓风干燥箱, 上海一恒科技有限公司制造。

2 方法

将 Wistar 大白鼠按体重随机分为 4 组(分组及给药剂量见表 1), 除空白对照组外, 其余各组大鼠均于第 1 周灌胃给 50% 的纯粮食酒, 8 mL/kg, 每周称体重一次, 持续给酒 7 周, 其中第 14、28、42 d 分别加大给酒剂量 1 次(16 mL/kg), 给酒 7 周后, 动物抽样眼球采血检测血清 ALT、AST, 给酒组动物血清转氨酶明显升高(见表 1), 说明模型成功。将动物重新分组后, 均灌胃给相应的药物, 肝加欣片组给药剂量为 0.39 g/kg, 东宝肝泰组给药剂量为 0.33 g/kg, 给药体积为 20 mL/kg, 空白对照组和模型对照组给等体积的生理盐水, 连续 6 周。各组动物末次给药后 4 h, 禁食不禁水 10 h, 脱颈椎处死动物, 剖腹, 肉眼观察: 空白对照组大鼠肝脏呈暗红色, 表面光滑, 质地

[收稿日期] 2006-05-19

[通讯作者] * 肖洪彬, Tel: (0451) 82193409

柔软;模型对照组大鼠肝脏颜色变浅,近于脂肪色,表面粗糙,质脆;给药组大鼠肝脏呈暗红色,伴有小块的脂肪变色,表面较光滑,质地柔软。取大鼠肝脏,称重,计算肝脏系数:肝脏系数= $\frac{\text{大鼠肝脏重量}}{\text{大鼠体重}} \times 100\%$ 。最后取肝左叶相同部位组织一小块,10%福尔马林固定,石蜡包埋,切片厚度 8 微米,HE 染色,在光镜下观察肝细胞的结构与病理改变。根据病理结果进行病理分析,在光镜下,选定相同部位,固定视野(面积 0.785 mm²),精细数出各组的正常肝细胞数,计算出发生脂变的肝细胞百分率;在 0.785 mm² 视野内计算出各组脂变肝细胞的脂变面积,进而折算出其脂变百分率;根据各例肝组织的脂变率将脂变划分为 6 个等级,即: I (≤1%); II (1% ~ 2%), III (2% ~ 5%), IV (5% ~ 10%), V (10% ~ 20%), VI (> 20%), 并将以上处理所得数据进行相应的统计学分析。统计学处理:计量资料用 *t* 检验或秩和检验,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,等级资料用 Ridit 检验。

3 结果

3.1 大鼠给酒 42 d 抽样检测大鼠血清 ALT、AST 含量 结果见表 1。

表 1 给酒 42 天对大鼠血清 ALT、AST 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白对照	41.4 ± 4.98 ²⁾	154.8 ± 27.44 ²⁾
模型对照	65.4 ± 9.30	229.8 ± 32.64

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

3.2 对大鼠肝脏系数的影响 结果见表 2。

表 2 肝加欣片给药 6 周对酒精性肝损伤大鼠肝脏系数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (<i>n</i>)	剂量 (g/kg)	肝系数 (肝湿重 g/100 g 体重)
空白对照	13	—	2.64 ± 0.22
模型对照	13	—	2.74 ± 0.18
肝加欣片	10	0.39	2.66 ± 0.19
东宝肝泰	10	0.33	2.61 ± 0.27

3.3 脂变肝细胞占正常肝细胞的百分率 结果见表 3 及图 1~ 4。

表 3 肝加欣片给药 6 周对大鼠脂变肝细胞百分比的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (<i>n</i>)	剂量 (g/kg)	正常肝细胞数 (个/0.785 mm ²)	脂变肝细胞百分率 (%)
空白对照	13	—	17.54 ± 3.02 ²⁾	—
模型对照	13	—	3.23 ± 2.35	81.58
肝加欣片	10	0.39	13.10 ± 3.48 ²⁾	25.31
东宝肝泰	10	0.33	6.80 ± 3.43 ¹⁾	61.23

3.4 脂变面积占正常面积的百分率 结果见表 4。

表 4 肝加欣片给药 6 周对大鼠肝细胞脂变面积及其所占百分比的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (<i>n</i>)	剂量 (g/kg)	肝细胞脂变面积 (mm ²)	脂变面积所占 百分率(%)
空白对照	13	—	—	—
模型对照	13	—	0.153 ± 0.155	19.52
肝加欣片	10	0.39	0.020 ± 0.026 ²⁾	2.54
东宝肝泰	10	0.33	0.183 ± 0.071	10.61

3.5 脂变程度分级 结果见表 5。

表 5 各组不同级别的脂变例数

组别	剂量 (g/kg)	不同级别例数(<i>n</i>)						<i>P</i> 值
		I	II	III	IV	V	VI	
空白对照	—	0	0	0	0	0	0	—
模型对照	—	1	3	1	1	2	5	—
肝加欣片	0.39	4	3	1	1	1	0	< 0.01
东宝肝泰	0.33	0	3	0	2	3	2	> 0.05

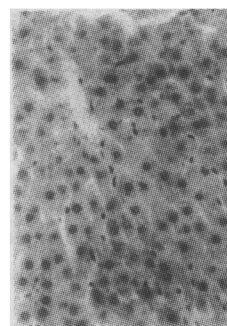


图 1 空白对照组
HE 染色 × 40

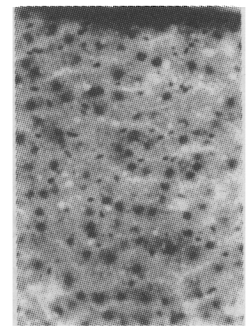


图 2 模型对照组
HE 染色 × 40

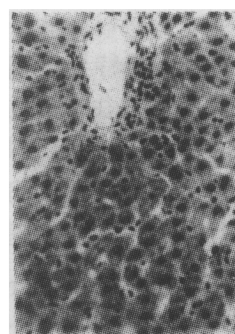


图 3 肝加欣片组
HE 染色 × 40

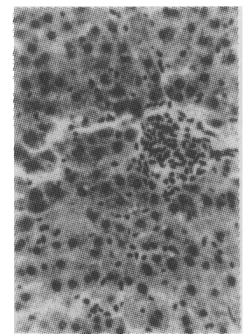


图 4 东宝肝泰组
HE 染色 × 40

4 讨论

肝活组织病理检测是诊断 ALD 的特异而确切的手段。在酒精性肝病的发病过程中往往会有临床表现和实验室改变与病理改变不一致的现象,即临床表现和实验室检查改变轻微且无特异性,而病理改变较重。因此,运用肝活组织病理检测,对病理改变的轻重程度具有判断意义,以更加明确其分型、分期。本实验结果显示,空白对照组各例肝组织中,肝细胞、组织结构完好;模型对照组脂变范围较大,并有 2 例出现了 Mallory 小体,1 例见有中性粒细胞浸

润,其中 3 例见有脂溶性坏死灶,伴有汇管区及小静脉周围结缔组织增生;肝加欣片组肝脏病理损伤程度明显减轻,脂变肝细胞数量明显减少,脂变面积明显减小,脂变程度明显减轻。表明该药能够对抗长期饮酒引起的大鼠肝组织病理改变。

[参考文献]

- [1] 江正辉,王泰玲.酒精性肝病[M].北京:中国医药科技出版社,2001.21.