

化瘀通络解毒法对肝纤维化大鼠血清超氧化物歧化酶、丙二醛和转化生长因子 β_1 的影响

江海艳¹, 王春妍², 杨世忠^{1*}

(1. 长春中医药大学第一附属医院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学第一附属医院, 吉林 长春 130000)

[摘要] 目的: 观察化瘀通络解毒颗粒对肝纤维化大鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 的影响, 探讨其抗肝纤维化的作用机制。方法: 采用四氯化碳诱导大鼠肝纤维化模型, 同时以化瘀通络解毒颗粒进行干预, 造模 8 周后, 检测大鼠血清中 SOD, MDA 和 TGF- β_1 的变化。结果: 经治疗后, 用药组 SOD 活性明显上升, MDA 和 TGF- β_1 含量明显降低, 与模型组相比均 $P < 0.01$ 。结论: 化瘀通络解毒颗粒具有抗肝纤维化的作用, 其作用机制可能与抗脂质过氧化及拮抗 TGF- β_1 的产生有关。

[关键词] 化瘀通络解毒法; 肝纤维化; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)06-0059-02

肝纤维化是大多数慢性肝病所共有的病理特征, 是进一步向肝硬化发展的重要中间环节。它的形成与氧自由基介导的肝损伤及多种细胞因子有关, 其中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 的异常与发病关系尤为密切。本研究通过观察化瘀通络解毒颗粒对肝纤维化大鼠血清 SOD, MDA 和 TGF- β_1 的影响, 进一步探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 正常雄性 Wistar 大鼠 40 只(清洁级), 8 周龄, 体重(220 ± 20) g, 由吉林大学实验动物中心提供。

1.2 药品及试剂 化瘀通络解毒颗粒由丹参、三七、地龙、黄芪、海马、虎杖、大黄等组成, 参照国家药典(1990年版)中药制剂颗粒剂制作方法, 由长春中医药大学附属医院制剂室制备, 用蒸馏水溶解为 0.3 g/mL 的溶液, 冰箱保存备用。复方鳖甲软肝片: 福瑞制药内蒙古集宁制药厂生产, 批号: 20030904, 用蒸馏水溶解为 0.3 g/mL 的溶液, 冷藏备用。四氯化碳(CCl₄ 分析纯): 北京北化精细化学品有限责任公司, 批号: 20050106; 超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒购自南京建成生物公司; TGF- β_1 试剂

盒购自上海森雄科技有限公司。

1.3 动物模型的建立 应用 40% CCl₄ 豆油溶液, 皮下注射给药, 首次按 0.5 mL/100 g 体重, 以后按 0.3 mL/100 g 体重, 每周注射 2 次, 连续 8 周^[1]。

1.4 动物分组 将 40 只大鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 正常对照组, 从实验第 1 d 开始, 灌胃生理盐水 1.5 mL/100 g 体重, 日 1 次; 模型组造模, 同时每天灌服等量生理盐水; 复方鳖甲软肝片组造模同时开始灌服复方鳖甲软肝片溶液 1.5 mL/100 g 体重, 日 1 次; 化瘀通络解毒颗粒造模同时开始每天以 1.5 mL/100 g 体重灌服化瘀通络解毒颗粒溶液, 直至实验结束。大鼠给药量按等效量公式算出。末次给药 48 h 后, 所有动物麻醉后取血, 离心取血清待用。

1.5 SOD, MDA 和 TGF- β_1 的检测 SOD 采用黄嘌呤氧化酶法, MDA 采用硫代巴比妥法, TGF- β_1 采用 ELISA 方法。

1.6 统计学方法 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用两样本均数的 t 检验。数据采用 SAS6.04 版本统计软件进行分析。

2 结果

模型组大鼠血清 SOD 活性下降, MDA 含量增高, TGF- β_1 水平明显增高, 与正常组比较 $P < 0.05$, 各用药组 SOD 活性较模型组均有上升, MDA 含量较模型组降低, TGF- β_1 水平明显低于模型组, 见表 1。

[收稿日期] 2007-03-23

[通讯作者] * 杨世忠, Tel: 0431-86177001

表 1 各组肝纤维化大鼠血清 SOD、MDA 和 TGF- β_1 含量变化 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	SOD (U/mL)	MDA (nmol/mL)	TGF- β_1 (ng/mL)
正常对照组	—	128.03 \pm 25.18 ¹⁾	2.46 \pm 0.27 ¹⁾	216.10 \pm 32.56 ¹⁾
模型组	—	73.12 \pm 28.01	2.98 \pm 0.31	287.47 \pm 40.72
复方鳖甲软肝片组	4.5	99.35 \pm 27.82 ¹⁾	2.87 \pm 0.28	238.52 \pm 31.17 ²⁾
化癥通络解毒颗粒组	4.5	108.05 \pm 26.93 ²⁾	2.59 \pm 0.23 ²⁾	241.30 \pm 28.71 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$

3 讨论

肝纤维化多因正气内虚,外感“湿热毒邪”、“疫毒”等侵袭肝脏,留而不去,阻滞肝络,肝脾不和,气血不畅,终致气滞血瘀,脉络失养,酿成癥积之症。笔者在长期临床实践中认识到:肝纤维化病机具有湿、热、毒、瘀、虚的病理特点。其中正气虚弱是内因和转归,瘀血阻络是病理基础。从病情发展来看,多经历由实而虚、由表及里、由气及血入络的动态变化。病性多属本虚标实,以正气亏虚、脏腑失和为本,瘀毒阻络为标,毒、虚并存。针对其病机治疗上拟化癥通络解毒法,筛选有效药物,合理组方,方中丹参、三七、地龙活血化癥、益气养血通络;虎杖清热利湿、解毒活血;大黄活血化癥、通腑泄热,配以黄芪益气升阳、鼓舞气机,生地滋阴补肾,二药合用扶正补虚。诸药合用共奏化癥通络解毒之功,全方攻补兼施、扶正祛邪、协调脏腑、气血平衡,使瘀毒去,正气复,肝络通,肝血旺。

SOD 是体内存在的一种抗氧化酶,它对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用。它能将氧自由基歧化为 H_2O_2 , H_2O_2 进一步在 CAT(过氧化氢酶)、GST-Px 的催化下被清除,从而保护细胞免受损

伤。MDA 是脂质过氧化最终代谢产物,是反应体内脂质过氧化水平的敏感指标。测量 MDA,可间接反映细胞损伤的程度。TGF- β_1 是目前已知的致肝纤维化最重要的细胞因子^[2],它与肝脏细胞外基质(ECM)的合成和降解密切相关。它能促进各种 ECM 如胶原蛋白、层粘连蛋白和蛋白多糖的表达,并抑制这些蛋白的降解^[3],加剧了肝纤维化过程。因此,寻找一种抗脂质过氧化及干预某些细胞因子表达的药物,为防治肝纤维化的进展起重要作用。本研究结果表明,化癥通络解毒颗粒可升高 SOD 水平,降低 MDA 生成,并可减少 TGF- β_1 在血液中的表达,从而减少 ECM 积聚,对纤维化的形成具有明显抑制作用。复方鳖甲软肝片也具有升高 SOD 水平及减少 TGF- β_1 表达的作用,但对 MDA 的生成无明显抑制作用。脂质过氧化可导致细胞膜流动性降低,线粒体、微粒体功能下降,诱发肝细胞坏死、纤维化形成等多种病理效应发生。化癥通络解毒颗粒的抗脂质过氧化作用及干预 TGF- β_1 表达可能是其抗肝纤维化的重要机制。

[参考文献]

- [1] 程明亮,刘三都.肝硬化细胞模型的研究及诊疗评价[M].北京:人民卫生出版社,1996.291.
- [2] Stopa M, Benes U, Ansonge W, et al. Genomic locus and promoter region of rat Smad 7 an important[J]. Antagonist of TGF Beta Signaling Mamm Genome, 2000, 11(2): 169.
- [3] 李清华,李辉,秦成勇,等.慢乙肝病人尿中转化生长因子 β_1 水平测定的意义[J].临床肝胆病杂志, 2001, 17(3): 161.