

肝康颗粒对四氯化碳致动物肝损伤的影响

宗桂珍, 李德凤, 高英杰, 金亚宏, 张毅, 原桂东, 赵晔, 崔晓兰

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 观察肝康颗粒对化学药物诱发肝损伤的保护作用。方法: 采用四氯化碳(CCl₄)造成急慢性肝损伤的动物模型, 观测给予肝康颗粒后不同时间动物血清门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)等生化指标及病理学的变化, 评价药物的保肝作用。结果: 肝康颗粒可明显抑制小鼠 CCl₄ 急性肝损伤血清中的 ALT 含量, 其中高剂量组与模型对照组比较有显著差异($P < 0.05$)。肝康颗粒还可明显降低 CCl₄ 大鼠慢性肝损伤血清中 ALT 和 AST 的含量, 提高血清中白蛋白(ALB)的含量, 降低血清中总胆红素(TBIL)的含量, 与模型组比较均有显著差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 肝康颗粒对 CCl₄ 所致急、慢性肝损伤有保护作用。

[关键词] 肝康颗粒; 四氯化碳; 肝损伤; 保肝

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)08-0041-03

肝康颗粒, 是根据临床治疗经验而研制的颗粒制剂, 具有扶正祛邪、益气养肝、清热解毒等功效, 临床应用效果确定。本文就肝康颗粒对 CCl₄ 致动物肝损伤的作用, 进行以下实验观察。

1 材料

1.1 受试药物 肝康颗粒是由虎杖、升麻、山茱萸中药组成(2:1.5:1)。由北京中医药大学药学院制剂室提供, 水提物为棕色粉末, 批号: 030706。含 5.7g 生药/g。联苯双酯滴丸, 北京协和药厂产品, 批号: 030205。

1.2 动物 雄性 ICR 小鼠, SPF 级, 体重 $19 \pm 3g$, 由中国医学科学院试验动物研究所提供, 许可证号: SCXK 11-00-0006。雄性 Wister 大鼠, SPF 级, 体重 $140 \pm 10g$, 由北京维通利华试验动物技术研究所提供, 许可证号: SCXK(京)2002-0003。

1.3 试剂 四氯化碳, 分析纯, 批号: 000925; ALT、AST、碱性磷酸酶(ALP)、ALB、总蛋白(TP)、TBIL 检测试剂盒, 北京试剂公司生产, 批号: 030525。

1.4 仪器 ZS-3 型半自动生化分析仪为北京中生生物工程高技术公司产品; 索福 ST21 型台式高速低温离心机。

2 方法

2.1 对小鼠急性肝损伤的影响 取小鼠 80 只, 按

体重均匀分为对照组、模型对照组、联苯双酯组 16mg/kg(相当于人临床用药量的 20 倍)、肝康颗粒 16.0 8.0 4.0g 生药/kg 组(分别相当于人临床用药量的 20 倍、10 倍、5 倍)。各给药组灌胃给药, 每日一次, 连续 5d。给药第 4d 下午除正常对照组外其余动物按 0.2mL/10g, 腹腔注射 0.2% 的 CCl₄ 一次, 致肝细胞急性损伤^[1], 于造模后 24h, 即末次给药后 1h, 眼眶后取血, 测定血清中 ALT 含量。

2.2 对大鼠慢性肝损伤的影响 取大鼠 80 只, 除正常对照组 10 只外其余动物按 0.5mL/100g, 腹腔注射 10% 的 CCl₄, 每周 2 次^[2]。2 周后眼眶后采血测定血清中 ALT, 去除 ALT 含量低于 100 卡门单位的动物, 其余动物根据 ALT 含量均匀分为 5 组: 模型对照组、联苯双酯组 8mg/kg(相当于人临床用药量的 10 倍)、肝康颗粒 8.0 4.0 2.0g/kg 组(分别相当于人临床用药量的 10 倍、5 倍、2.5 倍), 每组 12 只。分组后仍继续腹腔注射 10% 的 CCl₄ 造模, 每周 2 次, 连续 8 周, 正常对照组则以生理盐水代之。同时给药组开始灌胃给药, 每日 1 次, 连续 8 周, 模型组和正常对照组每天灌胃蒸馏水。实验过程中每周称体重; 观测给药 6 周、8 周后血清 ALT、AST、ALP、ALB、TP、TBIL 的含量; 给药 8 周后, 股动脉放血处死各组动物, 解剖取肝左叶同部位约 2cm × 2cm × 2cm 组织块做病理学检查^[3]。

3 结果

3.1 肝康颗粒对小鼠急性肝损伤的影响 肝康颗

[收稿日期] 2006-03-03

[通讯作者] 崔晓兰, Tel: (010) 64014411-2948

粒高、中剂量组具有明显的抗 CCl₄ 致小鼠急性肝损伤作用,降低血清 ALT 含量,其中高剂量组与模型对照组比较有显著差异($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 肝康颗粒对小鼠 CCl₄ 急性肝损伤的预防作用($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物 (只)	ALT (U/L)	抑制率 (%)
对照	—	10	40.52 ± 4.28 ²⁾	—
模型	—	13	93.39 ± 71.99	0
联苯双酯	0.016	11	51.90 ± 17.58	44.40
肝康颗粒	16	11	44.71 ± 8.04 ¹⁾	52.08
肝康颗粒	8	11	53.65 ± 23.24	42.58
肝康颗粒	4	11	87.37 ± 78.87	6.44

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)。

3.2 肝康颗粒对大鼠慢性肝损伤的影响

3.2.1 对生化指标的影响 结果见表 2、3。在给药 6 周后肝康颗粒高、中剂量组可明显降低大鼠血清 ALT、AST 含量;中剂量组可降低血清 TBIL 的含量。

表 2 肝康颗粒给药六周对大鼠 CCl₄ 慢性肝损伤生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	TBIL (μ mol/L)
对照	—	10	28.78 ± 4.97 ²⁾	234.70 ± 13.81 ²⁾	31.6 ± 2.2 ²⁾	83.9 ± 4.2 ²⁾	39.86 ± 0.88 ²⁾	4.39 ± 1.84 ²⁾
模型	—	12	70.52 ± 13.36	302.60 ± 28.10	40.8 ± 0.5	79.5 ± 4.7	36.64 ± 3.03	12.62 ± 4.58
联苯双酯	0.008	10	75.75 ± 26.16	330.40 ± 46.85	40.4 ± 0.3	76.1 ± 7.6	33.51 ± 4.34	23.37 ± 14.65
肝康颗粒	8.0	11	57.88 ± 14.52 ¹⁾	275.10 ± 26.87 ²⁾	39.4 ± 1.2	75.5 ± 8.2	35.68 ± 4.43	9.90 ± 5.73
肝康颗粒	4.0	12	56.03 ± 12.54 ¹⁾	261.20 ± 38.58 ²⁾	39.4 ± 1.1	77.0 ± 5.5	37.07 ± 2.84	8.32 ± 3.81 ¹⁾
肝康颗粒	2.0	12	75.68 ± 28.27	280.40 ± 55.18	39.3 ± 1.1	70.0 ± 5.1	38.80 ± 2.70	11.73 ± 6.77

表 3 肝康颗粒给药八周对大鼠 CCl₄ 慢性肝损伤生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	TBIL (μ mol/L)
对照	—	10	23.63 ± 9.45 ²⁾	227.25 ± 26.05 ²⁾	17.47 ± 3.34 ²⁾	78.69 ± 9.08 ²⁾	42.62 ± 4.52 ²⁾	5.75 ± 1.78 ²⁾
模型	—	11	167.00 ± 17.46	376.73 ± 11.46	39.20 ± 0.84	69.31 ± 8.63	36.86 ± 2.54	12.92 ± 3.51
联苯双酯	0.008	9	98.08 ± 45.82 ²⁾	340.40 ± 31.44 ²⁾	39.57 ± 1.07	69.90 ± 6.97	35.81 ± 4.57	13.21 ± 4.61
肝康颗粒	8.0	11	135.30 ± 25.81 ²⁾	351.72 ± 25.05 ²⁾	38.52 ± 1.42	68.78 ± 10.14	40.49 ± 4.03 ¹⁾	9.55 ± 3.45 ¹⁾
肝康颗粒	4.0	11	114.80 ± 50.87 ²⁾	337.78 ± 46.47 ²⁾	38.83 ± 1.11	70.69 ± 7.17	39.36 ± 2.71 ¹⁾	10.03 ± 1.63 ¹⁾
肝康颗粒	2.0	11	161.80 ± 31.64	353.28 ± 15.58 ²⁾	38.48 ± 1.86	69.75 ± 7.06	37.50 ± 4.16	11.20 ± 2.91

表 4 肝康颗粒对大鼠 CCl₄ 慢性肝损伤肝组织病变的影响(HE 染色)

组别	剂量 (g/kg)	动物 (只)	肝组织病变程度				P 值
			-	+	++	+++	
对照	—	10	10	0	0	0	< 0.01
模型	—	11	0	0	3	8	
联苯双酯	0.008	9	0	3	5	1	< 0.05
肝康颗粒	8.0	11	0	4	5	2	< 0.05
肝康颗粒	4.0	11	1	4	4	2	< 0.05
肝康颗粒	2.0	11	1	4	4	2	< 0.05

注:病变分级标准:- 正常组织结构;+ 肝间质纤维组织增生及炎细胞浸润较局限;++ 肝间质纤维组织增生及炎细胞浸润呈大片状;+++ 肝间质纤维组织增生及炎细胞浸润较弥漫。

在给药 8 周后肝康颗粒高、中剂量组可明显降低血清 ALT、AST、TBIL 的含量;低剂量组可明显降低 AST 含量;高、中剂量组可明显提高血清 ALB 的含量,与模型组比较均有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。肝康颗粒对大鼠血清 ALP、TP 含量无明显影响。

3.2.2 对体重的影响 肝康颗粒对 CCl₄ 慢性肝损伤模型大鼠的体重增长无明显影响。结果从略。

3.2.3 对肝脏病理的影响 肝康颗粒给药 8 周后肝组织经 HE 染色后,与模型组比较,给药不同剂量组肝组织纤维增生、汇管区的炎性细胞浸润、结节的形成均有明显减轻;经 VG 染色后,与模型组比较,给药不同剂量组肝组织间质纤维增生明显减轻。肝脏病变程度分级采用秩和检验进行统计学处理,与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$)。病变分级标准及结果见表 4~5。

表 5 肝康颗粒对大鼠 CCl₄ 慢性肝损伤肝组织病变的影响(VG 染色)

组别	剂量 (g/kg)	动物 (只)	肝组织病变程度				P 值
			-	+	++	+++	
对照	—	10	10	0	0	0	< 0.01
模型	—	11	0	1	8	2	
联苯双酯	0.008	9	1	8	0	0	< 0.05
肝康颗粒	8.0	11	0	8	3	0	< 0.05
肝康颗粒	4.0	11	1	9	1	0	< 0.05
肝康颗粒	2.0	11	1	9	1	0	< 0.05

注:病变分级标准:- 肝组织中未见纤维组织增生;+ 肝间质纤维组织轻度增生,VG 染色呈弱阳性;++ 肝间质纤维组织中度增生,VG 染色呈阳性;+++ 肝间质纤维组织明显增生,VG 染色呈强阳性。

4 讨论

CCl_4 是经典肝脏毒性物质, 一般认为在肝细胞内经微粒体酶活化生成自由基, 启动脂质过氧化, 造成肝损伤^[4]。本实验注射 CCl_4 后, 引起血清中 ALT、AST、TBIL 含量升高, ALB 降低, 肝脏组织损伤明显, 肝组织纤维增生, 汇管区的炎性细胞浸润等改变, 与文献报道一致, 说明造模稳定可靠。

实验结果表明, 肝康颗粒对 CCl_4 所致急性肝损伤、慢性肝损伤具有明显的防治作用, 为肝康颗粒临床应用提供了药效学依据。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 724, 837, 846.
- [2] 中华人民共和国卫生部药政管理局, 中药新药研究指南[S]. 1982.
- [3] 赵文霞. 化痰方、疏肝方对大鼠脂肪肝模型病理形态的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(6): 61.
- [4] 吴庆光, 刘明平, 赵珍东. 虎金丸对肝纤维化大鼠型 IV 胶原表述的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(4): 43.