

藏药松石丸对大鼠实验性肝纤维化的影响

高玉萍¹, 王宁萍²

(1 青海省红十字医院, 青海 西宁 810000; 2 青海省药品检验所, 青海 西宁 810000)

摘要:目的: 研究藏药松石丸对实验性肝纤维化大鼠的影响。方法: 用 40% CCl₄ 皮下注射, 每周 2 次, 3~5 mL/kg, 连续 6 周, 引起大鼠肝纤维化模型。藏药松石丸自造模次日起灌胃给药, 连续 42 天, 测肝脏羟脯氨酸、肝胶原蛋白和血清中血脂。结果: 松石丸能降低肝纤维化动物的肝脏羟脯氨酸、肝胶原蛋白含量, 并且降低血清中 TCH、TG 含量(与模型组比 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 松石丸对大鼠实验性肝纤维化有显著疗效。

关键词: 藏药; 松石丸; 四氯化碳; 肝纤维化

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)05-0047-02

藏药松石丸系藏族验方, 由绿松石、珍珠、牛黄、西红花、佐太等二十五味药加工制成的丸剂。此药是在藏医药学治疗肝脏疾病的理论指导下, 根据《四部医典之秘决医典》中所述的松石散配伍基础上开发研制的新复方制剂。通过考察松石丸对 CCl₄ 引起的肝纤维化动物的生化指标的影响, 研究松石丸对实验性肝纤维化的影响, 为临床提供治疗依据。

1 实验材料

1.1 药品 松石丸, 处方组成来自《常用藏成药诠释》一书^[1], 药品由藏医门诊部制剂室提供, 批号: 20003004 规格: 1g/丸。

联苯双酯滴丸, 北京协和药厂, 批号: 20020324, 规格: 1.5mg/丸

1.2 仪器 UV-260 分光光度计

1.3 动物 SD 大鼠, ♀ ♂各半, 体重 100~120g, 动物级别: 一级, 由西安医科大学实验动物中心提供。合格证: 医动字第 08-005 号。

1.4 高脂饲料配方 20% 猪油、0.5% 胆固醇, 混合到基础饲料中。

1.5 试剂 30% 乙醇, 西安化学试剂厂, 20020802, 95% 乙醇, 分析纯; CCl₄, 上海长江化工厂, 980830, 分析纯。

1.6 TCH、TG、HDL-C 测定试剂盒, 南京生物工程研究所, 20020620。

2 方法

2.1 将大鼠按体重随机分为 6 组, 正常对照组、模

型组、阳性药(联苯双酯滴丸)对照组、实验药物高、中、低剂量组, 给药剂量见表 1。每日口服给药 1 次, 连续 42d, 除正常对照组外, 各组动物均饲以高脂饲料(前两周饲料中加 20% 猪油、0.5% 胆固醇, 以 30% 酒精为饮料)。试验第一天皮下注射 CCl₄ 0.5mL/100g(40% 植物油溶液), 以后每隔 3d 注射 CCl₄ 0.3mL/100g 一次, 试验第二天开始给药。于实验第 6 周, 末次给药 24h, 空腹 12h, 眼底静脉丛取血, 分离血清, 测定总胆固醇(TCH)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)。取肝组织测定羟脯氨酸^[2,3]。方法如下:

解剖大鼠, 称取肝组织约 2g, 无水乙醇脱脂、离心、挥发待干, 研成细末, 最后测定肝羟脯氨酸含量。

精密称定肝粉 20mg, 放入磨口试管中, 加 6mol·L⁻¹ HCl 3mL, 沸水浴 5h。冷却后将水解液用 6mol·L⁻¹ NaOH 调 pH 为 5.90~6.10, 然后稀释至 10mL。3500r·min⁻¹, 离心 10min。取 2mL, 加 1mL 氯胺 T 溶液, 混匀, 室温放置 20min, 加入 1mL 15mol·L⁻¹ 过氯酸, 5min 后加入 1mL 10% 对二甲氨基苯甲醛溶液, 在 60±1℃ 水浴中保温 20min, 显色, 冷却后于 550nm 波长处比色, 空白调零, 同时作标准对照管(5μg·mL⁻¹)。以下列公式计算肝羟脯氨酸含量, 并换算成肝胶原蛋白的含量。

羟脯氨酸(μg·mL⁻¹) = (样本管吸收度/标准管吸收度) × 标准管浓度 × 肝粉含量

肝胶原蛋白(μg·mg⁻¹) = 羟脯氨酸(μg·mg⁻¹)/13.4%

2.2 统计学方法 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用 t 检验。

3 结果

结果见表 1、表 2。由表 1 可见,模型组肝羟脯氨酸、肝胶原蛋白含量明显比正常对照组高($P < 0.01$)。各给药组肝羟脯氨酸、肝胶原蛋白含量与模型组比较均降低,且有显著性差异($P < 0.01$, $P < 0.001$)。

表 1 松石丸对肝组织羟脯氨酸、肝胶原蛋白含量的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	羟脯氨酸 ($\mu g \cdot mg^{-1}$)	胶原蛋白 ($\mu g \cdot mg^{-1}$)
正常对照组	—	0.929 ± 0.219 ²⁾	6.932 ± 0.636 ²⁾
模型对照组	—	1.733 ± 0.341	12.933 ± 0.545
联苯双酯滴丸	0.20	1.284 ± 0.068 ¹⁾	9.582 ± 0.507 ¹⁾
松石丸(高)	0.60	1.006 ± 0.208 ²⁾	7.507 ± 0.432 ²⁾
松石丸(中)	0.30	1.104 ± 0.103 ²⁾	8.239 ± 0.759 ²⁾
松石丸(低)	0.15	1.141 ± 0.163 ²⁾	8.515 ± 0.616 ²⁾

与模型组比较: ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.001$

表 2 松石丸对实验性肝纤维化大鼠血脂的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	TCH ($mmol \cdot L^{-1}$)	TG ($mmol \cdot L^{-1}$)	HDL-C ($mmol \cdot L^{-1}$)
正常对照组	—	2.36 ± 0.50 ³⁾	0.88 ± 0.23 ²⁾	2.86 ± 0.67
模型对照组	—	4.35 ± 0.29	1.22 ± 0.14	2.68 ± 1.14
联苯双酯滴丸	0.20	4.30 ± 0.70	0.98 ± 0.20 ¹⁾	2.70 ± 0.77
松石丸(高)	0.60	3.59 ± 0.56 ²⁾	0.92 ± 0.21 ²⁾	2.79 ± 1.09
松石丸(中)	0.30	3.61 ± 0.47 ²⁾	0.93 ± 0.13 ²⁾	2.74 ± 0.99
松石丸(低)	0.15	3.74 ± 0.66 ¹⁾	1.06 ± 0.21	2.70 ± 0.51

与模型组比较: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$

由表 2 可见,模型组 TCH 和 TG 均较正常对照组高($P < 0.01$, $P < 0.001$),而 HDL-C 较正常对照组低。各给药组 TCH 和 TG 与模型组比较均有所降低,与模型组比较松石丸高、中剂量组有显著性差异($P < 0.01$)。各给药组 HDL-C 与模型组比较差异无统计学意义。

4 讨论

CCl_4 进入动物体内后,可直接进入肝细胞,使线粒体膜的脂质溶解,从而影响线粒体的结构和功能,使蛋白合成减少,造成酶的破坏及释出的障碍,因而影响代谢及能量的生成,使肝细胞发生变性坏死。本实验结果表明:给动物饲以高脂饲料,同时饮 30% 乙醇饮料 2 周,注射 CCl_4 6 周可造成大鼠实验性肝纤维化,表现为肝羟脯氨酸、肝胶原蛋白含量明显增加($P < 0.01$)。经灌服松石丸的动物其肝组织中羟脯氨酸、肝胶原蛋白含量明显比模型组低。提示松石丸的作用机制可能是抑制胶原蛋白的合成,使已形成的胶原溶解和重吸收,从而有效的抑制肝纤维化。

测定血清脂类成分,特别是 TCH 及其脂的改变,是估计肝对脂类代谢功能的有效手段。肝功能异常时,体内脂类代谢紊乱。从实验结果可以看出, CCl_4 引起的模型动物组的 TCH 和 TG 均较正常对照组高($P < 0.01$),HDL-C 较正常对照组低,说明模型组动物体内脂类代谢紊乱。经灌服松石丸的动物其 TCH 和 TG 含量均较模型组有所降低($P < 0.01$)。表明松石丸具有促进肝细胞恢复的作用。结果提示:松石丸可能是通过抑制胶原合成,提高肝细胞功能,来发挥其抗肝纤维化的作用。

参考文献:

- [1] 吴焕才,卓马东珠,党合群,等.常用藏成药诠释[M].西宁:青海人民出版社,2002.152.
- [2] 张颖.生物化学[M].北京:人民卫生出版社,1985.267.
- [3] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1991.305.