

保肝口服液对急性肝损伤小鼠的影响

许红心(杭州 310009 华东医药股份有限公司)

保肝口服液系由平地木、绵茵陈、垂盆草、凤尾草、麦冬等中药组成,为临床上治疗急性肝炎的有效验方。现将其制成口服液,体积减小、质量稳定,便于调剂和病人服用。本文对其保肝作用进行了研究。

1 实验材料

1.1 药品

保肝口服液:平地木、绵茵陈、垂盆草、凤尾草、麦冬等中药经水提醇沉精制而成,每瓶 10 毫升,为棕褐色澄清液体。小剂量组直接以口服液灌胃,大剂量组先将口服液浓缩至原体积的 1/2 再灌胃。

联苯双酯滴丸:浙江新昌制药股份有限公司生产,批号 980219-3,用蒸馏水配成 2667 mg/L 的溶液。

1.2 主要试剂

四氯化碳(CCl_4):AR 浙江兰溪市二轻试剂厂,批号 990209

蒽酮:AR 上海五联化工厂,批号 981116

氢氧化钾(KOH):AR 浙江临海化学试剂厂,批号 980123

1.3 主要仪器

721 分光光度计:上海光学仪器厂生产

SYNCHRON CX4 全自动生化分析仪:美国贝克曼公司生产

AEL-2000 电子分析天平:湘西衡器厂生产

NIKON104 高级生物显微镜:日本尼康公司生产

1.4 实验动物

昆明种小白鼠

2 实验方法

2.1 分组及给药

18~22 g,昆明种小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,♀♂各半。

- ①正常对照组:不作任何处理
- ②模型对照组:灌胃 15 ml/kg 蒸馏水
- ③保肝口服液小剂量组:灌胃 15 ml/kg 口服液
- ④保肝口服液大剂量组:灌胃 15 ml/kg 浓缩口服液(折合原体积为 30 ml/kg)
- ⑤联苯双酯组:灌胃 15 ml/kg 溶液(折合联苯双酯含量为 40 mg/kg)

于实验第一天开始灌胃给药,至第 7 天下午腹腔注射 0.1% CCl₄ 植物油溶液 0.1 ml/10 g,禁食,不禁水,于第 8 天下午取血,处死动物^[1]。

2.2 观察指标

- ①一般情况:观察试验期间动物的活动、毛色、精神、饮食、大小便和死亡情况。
- ②血清 ALT、AST、TBIL 测定:小鼠摘眼球取血,分离血清,用全自动生化分析仪测定 ALT、AST、TBIL 值。
- ③肝糖原测定:动物处死后,取小块肝组织(约 0.5 g)用生理盐水冲洗,滤纸吸干,准确称量并记录,然后放入内置 30% KOH 溶液 1.5 ml 的试管中,沸水浴 15 min,取出冷却

表 1 保肝口服液对急性肝病小鼠 ALT、AST 和 TBIL 值的影响($\bar{X} \pm S$)

组 别	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL(μ mol/L)
正常对照组	47.6 $\pm$ 18.3	143.5 $\pm$ 52.1	6.58 $\pm$ 1.73
模型组	589.4 $\pm$ 163.7 $\Delta\Delta\Delta$	628.3 $\pm$ 193.6 $\Delta\Delta\Delta$	8.96 $\pm$ 1.41 $\Delta\Delta$
保肝口服液小剂量组	411.5 $\pm$ 143.9*	408.6 $\pm$ 133.5**	7.61 $\pm$ 1.53
保肝口服液大剂量组	312.8 $\pm$ 152.1**	433.7 $\pm$ 116.2***	7.12 $\pm$ 1.04**
联苯双酯对照组	203.6 $\pm$ 63.2***	328.8 $\pm$ 67.2***	7.31 $\pm$ 1.21*

n=10,与模型组比较,* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$,与正常对照组比较 $\Delta\Delta\Delta P<0.01$ $\Delta\Delta\Delta P<0.001$

表 2 保肝口服液对急性肝病小鼠肝糖原的影响($\bar{X} \pm S$)

组 别	肝 糖 原
正常对照组	0.528 $\pm$ 0.077
模型组	0.271 $\pm$ 0.052 $\Delta\Delta\Delta$
保肝口服液小剂量组	0.306 $\pm$ 0.054
保肝口服液大剂量组	0.346 $\pm$ 0.068*
联苯双酯对照组	0.351 $\pm$ 0.079*

n=10,与模型组比较,* $P<0.05$,与正常对照组比较 $\Delta\Delta\Delta P<0.001$

4.4 肝脏组织学观察

正常组动物肝脏切片光镜下可见肝小叶结构存在,肝细胞正常,索状排列清楚。
模型组动物肝脏大部分肝小叶结构不存在,肝细胞大小不一,浊肿,索状排列不清楚,少数肝细胞中有脂滴,小叶中央肝细胞呈气球样变,部分肝细胞坏死,肝组织中有小脓肿,可见炎症细胞浸润,少数汇管区有纤维增生。

保肝口服液大、小剂量组及联苯双酯组动物肝小叶结构

后移至 100 ml 容量瓶中,蒸馏水定容至 100 ml。然后以硫酸-萘酮法测定肝糖原含量^[2]。

④组织学观察:取小块肝脏,固定于 10% 甲醛溶液中,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察肝细胞形态,索状排列,肝小叶结构等的变化。

3 统计方法

- 3.1 统计描述
数据处理用均数 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm S$)表示
- 3.2 多组均数间的比较用 F 检验,组间两两对比用 t 检验。

4 试验结果

- 4.1 一般情况:整个试验过程动物未见死亡,摄食、饮水、精神、活动情况未见明显变化。
- 4.2 对血清 ALT、AST、TBIL 的影响
模型组的 ALT、AST、TBIL 的值明显高于正常组($P<0.01$, $P<0.001$)。保肝口服液小剂量组对降低 ALT、AST 值具有明显效果($P<0.05$, $P<0.01$)。保肝口服液大剂量组能明显降低 ALT、AST、TBIL 值($P<0.01$, $P<0.001$)。联苯双酯组能明显降低 ALT 和 AST($P<0.001$),对 TBIL 值也有一定的降低作用($P<0.05$)。(表 1)
- 4.3 对肝糖原的影响
模型组动物肝糖原明显低于正常对照组($P<0.001$),保肝口服液大剂量组和联苯双酯组动物肝糖原与模型组比较有明显的回升($P<0.05$)。(表 2)

基本存在,肝细胞浊肿程度低,绝大部分肝细胞索状排列清楚,偶见单个肝细胞有气球样变。

5 结果分析

- 5.1 保肝口服液能明显降低 CCl₄ 急性中毒小鼠的血清 ALT、AST、TBIL 含量提示其有保肝降酶作用,其效果与联苯双酯相似,且在降 TBIL 方面效果优于联苯双酯。
- 5.2 保肝口服液能明显减缓 CCl₄ 急性中毒小鼠肝脏的糖原消耗,其效果与联苯双酯相当,提示其有保护肝细胞,促进肝糖原合成的作用,使肝脏能量贮备增加,增强对有毒物质的抗御作用。
- 5.3 组织学观察保肝口服液能保护肝细胞和肝小叶的结构,减轻肝细胞浊肿程度。

6 讨论

肝细胞的毒性作用主要是通过脂质过氧化作用进行的。由于脂质过氧化作用,破坏了肝细胞膜,使大量的 ALT、AST、TBIL 从肝细胞释放入血液,导致血液中 ALT、AST、

TBIL 明显升高。保肝口服液可使 CCl₄ 急性肝损伤小鼠血清 ALT、AST、TBIL 明显降低,表明其可能通过对抗脂质过氧化,而保护肝细胞膜结构。另外,CCl₄ 的毒性大大加重了肝脏的负担,使肝糖原大量消耗,储存量减少。保肝口服液可保护 CCl₄ 急性肝损伤小鼠的肝糖原,提高了机体的能量储备,有利于抵御外来有害物质对肝脏的损害。本实验为保肝口服液的临床应用提供了实验依据。

参考文献

- 1 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海:上海科学技术出版社, 1991,6:458.
- 2 陈 奇. 中药药理研究方法学. 北京:人民卫生出版社,1996,8: 838.