

柔肝消癥饮对肝硬化大鼠肝功能的影响※

● 杨牧祥* 张一昕 王少贤 于文涛 曹 刚

摘 要 目的:观察柔肝消癥饮对肝硬化大鼠肝脾指数和肝功能的影响。方法:采用复合因素造模法复制肝硬化大鼠模型,以复方鳖甲软肝片为对照,观察柔肝消癥饮对大鼠肝、脾湿重,肝、脾脏指数和肝功能变化的影响。结果:与正常组比较,模型组大鼠体重明显下降($P<0.01$),肝、脾湿重及肝、脾脏指数明显升高($P<0.01$),血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性明显升高,白蛋白(Alb)和总蛋白(TP)含量明显降低($P<0.01$)。与模型组比较,柔肝消癥饮治疗组大鼠肝脾脏、脾脏指数明显下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$),血清ALT、AST活性明显下降,Alb和TP含量明显升高($P<0.01$)。结论:柔肝消癥饮可显著增加肝硬化模型大鼠体重,降低肝、脾湿重和肝脾脏指数,并能明显减少肝硬化大鼠血清ALT、AST活性,提高TP、Alb含量,具有减轻肝细胞损伤、改善肝功能的作用。

关键词 柔肝消癥饮 肝硬化 肝功能

肝硬化为临床常见病、多发病,目前缺乏理想的治疗药物。柔肝消癥饮是根据中医理论及多年临床观察筛选的治疗肝硬化的有效方药,为了进一步阐明其作用机理,课题组以复方鳖甲软肝片为对照,观察了该药对肝硬化大鼠肝功能的影响,现报告如下。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级SD大鼠60只,雌雄各半,体重180~200g,由华中科技大学同济医学院实验动物学部提供,动物合格证号:SCXK(鄂)2004-007。

1.1.2 实验用药 柔肝消癥饮:由香附、青皮、炙黄芪、炒白术、白芍、三棱、莪术、地鳖虫、郁金、姜黄、丹

参等药物组成,水煎浓缩成所需含量的药液。复方鳖甲软肝片:由内蒙古福瑞中蒙药科技股份有限公司提供,0.5g/片,批准文号:国药准字Z19991011。

1.1.3 主要试剂 丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(批号:20021202)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(批号:20021202),均购自南京建成生物工程研究所;白蛋白(Alb)试剂盒(批号:20021202)、总蛋白(TP)试剂盒(批号:20021202),均购自北京中生物高技术公司。

1.1.4 主要仪器 722型光栅分光光度计,上海第三分析仪器厂;MSE-25型高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 模型制备 60只大鼠均适应性喂养1周,随机分为造模组48只和正常组12只。参照文献^[1,2]48只造模组大鼠首次予皮下注射40%四氯化碳(CCl₄)花生油溶液0.5ml/100g体重,以后每周2次皮下注射0.3ml/100g体重,共9周。造模开始前2周均以20%猪油、0.5%胆固醇、79.5%玉米面混合饲料(由河北医科大学动物实验中心加工)喂养,第3~9周以0.5%胆固醇和99.5%玉米面混合饲料(由河北医科

※基金项目 河北省科技攻关计划课题(No:03276196D-7)

*作者简介 杨牧祥,男,主任医师,教授,博士生导师。主要从事消化和肺系疾病研究,目前承担的科研课题共17项,其中国家级课题3项,省自然科学基金课题1项,省级课题5项,厅局级课题8项,已获省部级科技进步奖及教学成果奖11项,主编或参编出版医学著作50部,发表学术论文161篇。

•作者单位 河北医科大学中医学院(050091)

大学动物实验中心加工) 喂养。整个造模期间以 30% 乙醇作为饮料让大鼠自由饮用。正常组则以正常饲料和纯净水喂养。实验 9 周末确认造模成功后予以分组治疗。

1.2.2 分组与治疗 造模结束后, 正常组随机抽取大鼠 10 只, 将造模成功大鼠随机抽取 40 只, 并分为 4 组, 每组 10 只, 雌雄各半。即: ①正常对照组(简称正常组): 灌服生理盐水; ②模型组: 灌服生理盐水; ③柔肝消癥高剂量组(简称高剂量组): 每日用药剂量为 2.5g/100g 体重; ④柔肝消癥低剂量组(简称低剂量组): 每日用药剂量为 1.25g/100g 体重; ⑤复方鳖甲软肝片对照组(简称对照组): 每日用药剂量为 0.056g/100g 体重。各治疗组均将药物配制成所需浓度, 1 次/d 灌胃, 每次用药体积均按 1ml/100g 计算, 共 4 周。

1.2.3 血清样本的制备 治疗 4 周末, 于最后一次给药禁食 12h 后用 10% 水合氯醛(0.2ml/kg 体重) 麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 3500r/min 离心 5min, 分离血清待检。

1.2.4 观测指标

1.2.4.1 称重 称量大鼠体重及肝湿重、脾湿重, 并计算肝脏指数和脾脏指数。肝脏指数 = 肝湿重/体

重, 脾脏指数 = 脾湿重/体重。

1.2.4.2 肝功能 依据试剂盒要求采用比色法测定 ALT、AST 活性和 Alb、TP 的含量。

1.2.5 统计学处理 数据采用均数 + 标准差($\bar{x} \pm s$) 表示, 运用 SPSS for windows 11.5 统计软件, 用方差分析、Student - Newman - Keul 检验。显著性差异水平以 0.05、0.01 为标准。

2 结果

2.1 各组大鼠体重和肝、脾湿重及肝脏指数、脾脏指数的变化 见表 1。

与正常组比较, 模型组大鼠体重明显下降($P < 0.01$), 肝、脾湿重及肝脏指数、脾脏指数明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 高剂量组大鼠体重明显上升($P < 0.05$); 高、低剂量组和对照组大鼠肝湿重明显下降($P < 0.01$); 高剂量组大鼠脾湿重明显下降($P < 0.01$); 高、低剂量组和对照组肝脏、脾脏指数明显下降($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 其中高剂量组肝脏、脾脏指数与低剂量组比较有显著性差异($P < 0.05$), 存在明显量效关系, 高剂量组肝脏指数明显低于对照组($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠体重和肝、脾湿重及肝脏指数、脾脏指数的变化

组别	n	体重(g)	肝湿重(g)	脾湿重(g)	肝脏指数(mg/g)	脾脏指数(mg/g)
正常组	10	366.06 ± 68.95*	9.86 ± 2.07*	0.63 ± 0.20*	26.99 ± 3.09*	1.98 ± 0.58*
低剂量组	10	290.00 ± 38.16	10.13 ± 1.29*	0.88 ± 0.35	35.09 ± 3.59*	3.15 ± 1.58*
高剂量组	10	330.79 ± 48.73*	9.50 ± 1.88*	0.72 ± 0.39*	28.58 ± 1.88*△	2.11 ± 0.79*△
对照组	10	297.56 ± 63.17	10.33 ± 2.34*	0.87 ± 0.30	34.68 ± 2.29*	2.88 ± 0.55*
模型组	10	279.94 ± 55.20	14.40 ± 2.68	1.20 ± 0.49	51.75 ± 5.26	4.33 ± 1.67

注: 与模型组比较, * $P < 0.01$, * $P < 0.05$; 与低剂量组比较, △ $P < 0.05$; 与对照组比较, ▲ $P < 0.01$ 。

2.2 各组大鼠血清 ALT、AST 活性和 Alb、TP 含量的变化 见表 2。

与正常组比较, 模型组大鼠血清 ALT、AST 活性明显升高, Alb 和 TP 含量明显降低($P < 0.01$)。与模

型组比较, 高、低剂量组和对照组血清 ALT、AST 活性明显下降, Alb 和 TP 含量明显升高($P < 0.01$)。其中高剂量组 ALT 活性和对照组 ALT、AST 活性与低剂量组比较有显著性差异($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠血清 ALT、AST 活性和 Alb、TP 含量变化

组别	n	ALT(U)	AST(U)	Alb(g/L)	TP(g/L)
正常组	10	23.25 ± 8.12*	61.44 ± 10.68*	37.05 ± 3.07*	68.36 ± 6.25*
低剂量组	10	24.10 ± 5.80*	62.49 ± 10.26*	32.43 ± 2.54*	68.29 ± 3.65*
高剂量组	10	12.50 ± 2.54*△	53.86 ± 9.52*	34.34 ± 3.50*	67.54 ± 5.65*
对照组	10	10.14 ± 4.91*△	48.43 ± 7.31*△	34.61 ± 1.26*	69.30 ± 4.05*
模型组	10	112.12 ± 5.89	123.03 ± 11.54	28.42 ± 2.07	59.58 ± 4.10

注: 与模型组比较, * $P < 0.01$; 与低剂量组比较, △ $P < 0.01$;

3 讨论

3.1 组方依据 肝硬化属于中医学“胁痛”、“积聚”、“臌胀”等病证范畴。中医学认为本病多由酒食不节,损伤脾胃,脾虚失运,壅阻气机,肝失条达,气血郁滞,或情志抑郁,肝失疏泄,气郁日久,血流不畅,瘀血停积,胁络痹阻所致。其病位在肝脾两脏,主要病机为肝郁脾虚、气滞血瘀。故当以疏肝健脾,行气活血,逐瘀消癥为主要治法。课题组经多年临床观察,反复筛选香附、青皮、炙黄芪、炒白术、白芍、三棱、莪术、地鳖虫、郁金、姜黄、丹参等药物组成“柔肝消癥饮”。方中香附、青皮疏肝理气,炙黄芪、炒白术健脾益气,四药相合,共达抑肝扶脾之效;现代药理学研究表明,香附和青皮可减轻四氯化碳导致的大鼠肝损伤,保护肝细胞^[3,4];炙黄芪能促进肝细胞合成白蛋白,抑制间质细胞胶原合成,增强网状内皮系统和巨噬细胞吞噬功能,提高机体免疫力^[5,6];炒白术可减少四氯化碳引起的小鼠肝细胞变性坏死,改善肝功能^[7]。三棱、莪术、地鳖虫、逐瘀消癥;丹参、郁金、姜黄活血化瘀,可增强逐瘀消癥,软坚散结作用;白芍养血柔肝,既可助香附、青皮疏肝解郁之力,又可防止破血太过之弊;现代药理研究表明,丹参能降低急、慢性肝损伤大鼠血清转氨酶活性,抑制胶原纤维增生及假小叶生成,减轻间质炎症反应,防治实验性肝硬化的发生^[8];白芍可减轻肝细胞的坏死,对肝脏有保护作用^[7]。诸药合用,共奏疏肝健脾,行气活血,逐瘀消癥之功效。

3.2 柔肝消癥饮能降低转氨酶水平,提高蛋白含量,改善肝功能 肝损伤的一个重要标志就是生化指标的变化,尤其转氨酶是反映肝损伤出现最早、最敏感的指标,对肝病诊断具有重要意义。其中AST变化反映肝细胞线粒体损伤程度,ALT变化反映肝细胞膜损伤程度;总蛋白和白蛋白的变化反映肝细胞合成蛋白能力。研究表明,肝硬化患者常伴随着肝功能的异常变化,出现血清转氨酶水平的升高,总蛋白和白蛋白含量下降^[9]。实验研究表明,随着肝硬化的加重,大鼠体重明显减轻^[10],肝脏指数和脾脏指数均升高^[11],反映肝硬化存在门静脉高压,全身营养不良的同时,伴有肝脾瘀血水肿情况。

本研究表明,模型组大鼠体重明显低于正常组,肝、脾湿重及肝脏指数、脾脏指数明显高于正常组。说明随着肝硬化的形成、体质机能的减退,大鼠体重明显下降,肝、脾湿重及肝脏、脾脏指数亦出现相应的变化。经给药治疗后,柔肝消癥饮可促使肝硬化大鼠体重增加,降低肝、脾湿重及肝、脾脏指数,且在降低肝脏、脾脏指数方面具有明显的量效关系。模型组大鼠血清ALT、AST活性较正常组明显升高,TP、Alb含量较正常组明显降低。说明伴随着肝硬化的形成,大鼠出现肝脏损害,蛋白代谢紊乱。给药治疗后,各治疗组血清ALT、AST活性均低于模型组,TP、Alb含量均高于模型组。提示柔肝消癥饮可明显降低肝硬化大鼠血清转氨酶水平,升高蛋白含量,具有促使肝功能恢复正常,调节蛋白代谢的作用。

综上所述,柔肝消癥饮可显著增加肝硬化模型大鼠体重,降低肝、脾湿重和肝脏、脾脏指数,并能明显降低肝硬化大鼠血清ALT、AST活性,提高TP、Alb含量,具有减轻肝细胞损伤、改善肝功能的作用。

参考文献

- [1]李仪奎,王钦茂,周金黄.中药药理实验方法学.上海:上海科学技术出版社,1991:463-464
- [2]陈奇.中药药理研究方法学.北京:人民卫生出版社,1991:458
- [3]黄险峰,彭国平.香附的化学成分及药理研究进展.中药材,2003,26(1):66-68
- [4]姜静岩,苗桂玲.青皮的药理及临床应用.时珍国医国药,2003,14(6):374-375
- [5]马红,王宝恩,陈翌明,等.黄芪对免疫性肝纤维化大鼠的治疗作用.中西医结合肝病杂志,1997,7(1):32
- [6]王本祥.现代中药药理学.天津:天津科学技术出版社,1997:571,588
- [7]马清钧,王淑玲.常用中药现代研究与临床.天津:天津科技翻译出版公司,1995:401
- [8]刘尔瑜,王宝恩,朱家璇.丹参对实验性肝纤维化的治疗作用.肝病杂志,1993,15(1):93
- [9]陈丽霞,汪玉锷,维明,等.肝脾舒合剂治疗肝硬化的临床研究.山东中医杂志,2003,22(5):268-270
- [10]钦丹萍,蒋挺英,韩建新,等.下瘀血汤防治肝硬化的实验研究.中国实验方剂学杂志,1999,5(6):19-21
- [11]于海玲.中药益肝元颗粒抗肝硬化的实验研究.成都医药,2002,28(1):3-5