

双参柔肝颗粒剂对实验性肝硬化大鼠的治疗作用

彭天吉 蒋永培¹

(广东东莞市中医院临床药理室, 东莞 523000; ¹ 第四军医大学临床药理基地, 西安 710032)

摘要 双参柔肝颗粒剂(SS)能有效地阻止复合病因所致的实验性大鼠肝硬变形成。结果表明, SS 3.0 g/kg 与 6.0 g/kg 两个剂量组均能使血清 GPT、GOT 酶活性恢复正常; γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)由 345 ± 95 nmol/s 降至 200 ± 21 nmol/s, 可以抑制肝纤维增生; 可使尿中羟脯氨酸(HYP)排泄增加, 肝匀浆和血清中 HYP 均降低; 使血清脂质过氧化物丙二醛(MDA)降低; 可提高超氧化物歧化酶(SOD)的活力; 清除甘油三酯(TG)在体内的积蓄。实验证明, 该药对肝损伤的修复、阻止肝脂肪变性、防止慢性肝炎向肝硬化发展有效。

关键词 双参柔肝颗粒剂; 肝硬化; GPT; GOT; SOD

双参柔肝颗粒剂(SS)是东莞市中医院治疗慢性活动性肝炎及迁延性肝炎的经验方, 临床有较好疗效。该药具有活血化瘀、益气敛阴、疏肝软坚功能。为进一步研究该药对肝硬变的防治作用, 我们对实验性大鼠肝硬变的防治作用进行了观察, 以期为临床治疗提供实验依据。

1 材料及方法

1.1 药物

双参柔肝颗粒剂由紫参、丹参、生地、柴胡、五味子、穿山甲、鳖甲等药物组成, 由东莞市中医院药剂科制备, 批号 980915。主要制备方法为: 柴胡收集挥发油, 蒸馏后的水溶液另器收集, 药渣与其他药物加水煎煮 2 次, 第 1 次 2 h, 第 2 次 1 h, 合并滤液, 滤过, 滤液静置 24 h。取上清液与上述溶液合并, 浓缩至定量, 加乙醇沉淀, 取上清液浓缩成稠膏, 加蔗糖适量, 制成颗粒, 干燥, 放冷, 喷上柴胡挥发油, 混匀, 分装, 每袋 6 g(每克相当于生药 10 g)。

1.2 动物

SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 250 ± 20 g, 购于第四军医大学实验动物中心。

1.3 方法

将大鼠 32 只随机分为四组, 组 1 为正常对照组, 组 2 为模型组, 组 3、4 为不同剂量治疗组(治疗 I 组、治疗 II 组)。模型组按文献^[1]制备肝硬变模

型, 第 1 天按 3 ml/kg 体重腹腔注射 CCl_4 溶液(以 40% 麻油为溶剂), 后每隔 3 d 按 2.5 ml/kg 剂量重复注射, 处理 30 d。模型组大鼠喂高脂饲料(30% 猪油、0.8% 胆固醇与定量甲基硫氧嘧啶), 饮用 40% 白酒(用 40% 葡萄糖溶液稀释), 1 月后饲以正常饲料, 饮正常水。治疗组在上述造模基础上, 1 月后开始用药, 治疗 I 组以 3.0 g/kg 灌胃给药, 治疗 II 组以 6.0 g/kg 灌胃, 连续给药 12 d; 模型组灌以等容量蒸馏水。正常组腹腔注射生理盐水, 用药时间、方法、用量同模型组, 饲以常规饲料, 饮正常水, 1 月后与模型组同样灌以等容量蒸馏水, 连续 12 d。6 周后处死动物, 各组分别测定 SGPT、SGOT(酶测定法)、HYP、 γ -GT、MDA、SOD(比色法)、TG(酶测定法), 并取肝脏固定切片, 进行组织学电镜观察。

2 结果

2.1 对肝硬变大鼠血清 SGPT、SGOT 酶活性的影响

SS 能阻止肝硬变大鼠 SGPT、SGOT 酶活性的升高, 两个治疗组的酶活力与模型组比较均有显著差异($P < 0.05$), 与正常组比较无差异($P > 0.05$)。

结果见表 1。

Tab 1. Effect of Shuangshen on SGPT, SGOT in hepatic cirrhosis induced by CCl₄(nmol/ s)

Group	n	Dosage (g/ kg·d)	SGPT	SGOT
Normal	8	—	633±145	1317±217
Model	8	—	875±204	1728±540
Shuangshen I	8	3.0 g×12	637±113 ^{***}	1234±250 ^{***}
Shuangshen II	8	6.0 g×12	630±107 ^{***}	1325±158 ^{***}

^{***} $P<0.05$ vs model; $\bar{P}>0.05$ vs normal

Tab 2. Effect of Shuangshen on hydropoline in rats with hepatic cirrhosis induced by CCl₄ (mmol/ 24 h, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	Dosage (g/ kg·d)	Urine	Serum	Liver
Normal	8	—	0.25±0.05	0.23±0.02	0.31±0.05
Model	8	—	0.36±0.05	0.31±0.02	0.67±0.07
Shuangshen I	8	3.0 g×12	0.60±0.06 ^{***}	0.22±0.05 ^{***}	0.38±0.04 ^{***}
Shuangshen II	8	6.0 g×12	0.63±0.07 ^{***}	0.24±0.02 ^{***}	0.38±0.02 ^{***}

^{***} $P<0.01$ vs model

2.3 对肝硬变大鼠 r-GT 的影响

治疗 I 组、II 组均可使升高的血清 r-GT 显著降低, 模型组 r-GT 为 351±101 nmol/s, 治疗 I 组为 215±30 nmol/s, 治疗 II 组为 206±33 nmol/s, 正常组为 211±15 nmol/s, 治疗组与模型组比较有显著差异($n=8$, $P<0.01$), 与正常组比较无显著差异($P>0.05$)。

Tab 3. Effect of Shuangshen at MDA, SOD in rats with hepatic cirrhosis induced by CCl₄($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Dosage (g/ kg·d)	MDA (μ mol/ L)		SOD (nmol/ s)
			Serum	Liver	Liver cell
Normal	8	—		12.60±0.80	31660±4900
Model	8	—	10.80±2.40	38.0±16.0	21870±1750
Shuangshen I	8	3.0 g×12	8.20±1.40 ^{**}	12.8±2.0 ^{***}	32600±6500 ^{**}
Shuangshen II	8	6.0 g×12	7.80±2.40 ^{**}	12.4±1.8 ^{***}	28800±5050 ^{**}

^{**} $P<0.05$, ^{***} $P<0.01$ vs model

2.5 对肝硬变大鼠 TG 的影响

模型组 TG 显著高于治疗组。治疗组均能使肝硬变大鼠血清 TG 与肝脏 TG 降低, 尤其对肝脏 TG 作用显著。结果见表 4。

Tab 4. Effect of Shuangshen of triglyceride in rats with hepatic cirrhosis induced by CCl₄($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Dosage (g/ kg·d)	TG (mmol/ L)	
			Serum	Liver
Normal	8	—	0.36±0.06	0.48±0.28
Mordel	8	—	0.78±0.25	1.62±0.26
Shuangshen I	8	3.0 g×12	0.41±0.14 ^{***}	0.42±0.14 ^{***}
Shuangshen II	8	6.0 g×12	0.38±0.10 ^{***}	0.58±0.26 ^{***}

^{***} $P<0.01$ vs model

2.2 对肝硬化大鼠 HYP 的影响

收集大鼠 16 h 尿液, 按文献[2] 方法测定 HYP 的含量。肝组织经粉碎后离心 1 h, 取上清液测定 HYP 含量, 结果模型组肝内胶原含量显著增高, 治疗组胶原含量亦显著高于正常组。结果见表 2。

2.4 对肝硬变大鼠 MDA、SOD 活性的影响

SS 可降低肝硬变大鼠血清 MDA 和肝组织内 MDA 的含量。与模型组比较, 血清中差异显著($P<0.05$), 肝匀浆中差异非常显著($P<0.01$)。在升高肝细胞内 SOD 活力中, 两个治疗组与模型组分别比较均有显著差异。结果见表 3。

2.6 对肝组织的影响

肝硬变大鼠肝内增生的肝纤维逐渐成熟, 在肝小叶周围形成椭圆形, 形成假小叶, 假小叶内肝细胞疏松, 有炎症细胞浸润(图 1-1)。电镜显示窦腔增大, 粗面内质网扭曲、肿胀、脱粒严重, 滑面内质网线粒体普遍肿胀, 边缘不齐(图 1-2); 部分浆胞内可见脂肪液滴, 窦腔明显扩张, 在内皮细胞两侧可见线状纤维排列成排(图 1-3)

治疗组大鼠肝细胞基本恢复正常, 未见假小叶生成, 窦腔基本正常(图 1-4), 仍见有炎症分布, 内质网恢复正常, 排列整齐, 核蛋白基本恢复, 肝糖原增加成片状分布(图 1-5), 整片未见明显的胶原纤

维增生区, 在肝间质区可见极少量胶原纤维(图 1-6)。

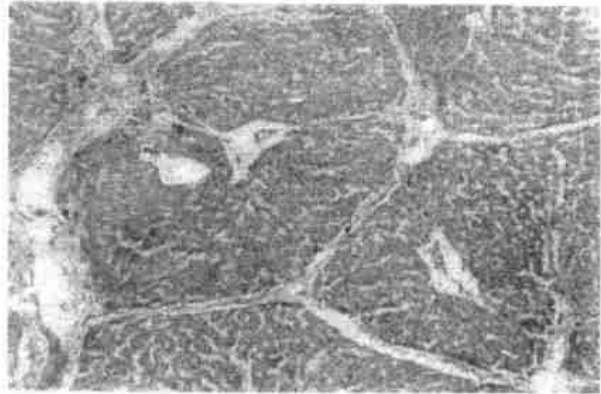


Fig 1-1. Hepatic cirrhosis, the normal architecture of the rat liver was destroyed. The fibrous proliferation separates the hepatic cells to form islands with the liver cells degenerated. HE stain $\times 20$.

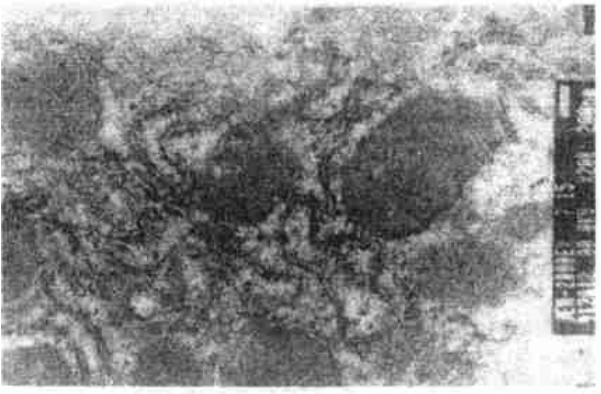


Fig 1-2 The rough endoplasmic reticulum twisting, swelling and degranulating. The mitochondria swells and its membrane breaks down $\times 20k$.

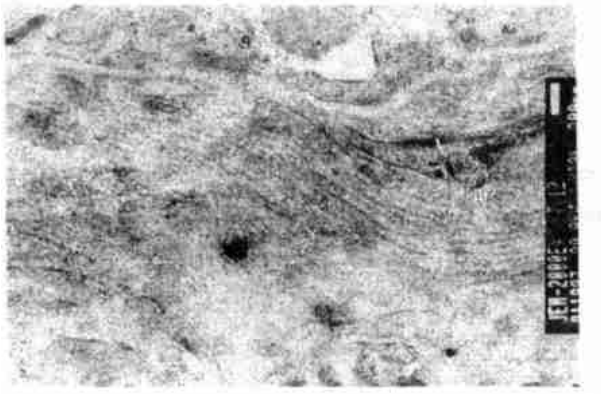


Fig 1-3. The stringy collagen increases in both sizes of the endothelium. The fibres present rows $\times 20$.

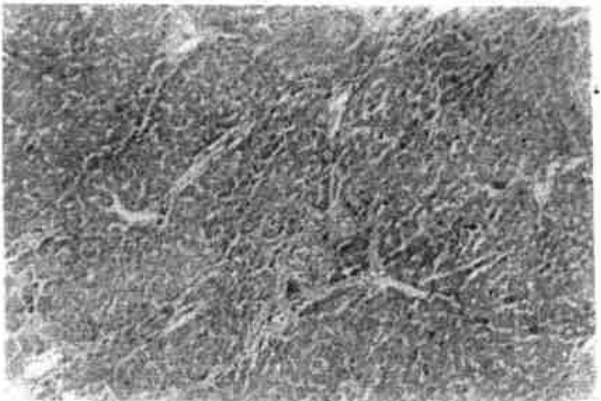


Fig 1-4. There is no pseudolobules in the treatment group, the hepatic cells recovered, and some inflammatory cells infiltrated in the tissue. HE stain $\times 20$.



Fig 1-5. The organelles become normal, the rough endoplasmic reticulum lies no degranulation and the mitochondria is enlarged $\times 20k$.



Fig 1-6. No proliferation of the collagen beside the endothelium $\times 20k$.

3 讨 论

肝硬变形成后, 如能加强肝间质细胞, kupffer 细胞合成胶原酶的活性, 使胶原纤维重吸收加强,

可逐步扭转病变,使病情不再向前发展^[3,4]。

双参柔肝颗粒剂治疗一周后,大鼠尿中 HYP 排出量显著增加,治疗 2 周后,血清与肝内 HYP 较模型组明显降低。说明药物通过刺激胶原酶的产生或增强胶原的活性而促进了胶原的降解。

组织学也证实,经双参柔肝颗粒剂治疗后的大鼠肝脏纤维化明显减轻,未见有假小叶的生成。除大剂量组 2 只大鼠肝脏局灶性病为未恢复外,余者细胞结构均恢复正常。

急性肝炎的 r-GT 一般是正常的,若 r-GT、GOT 持续升高,提示已转为慢性肝炎。双参柔肝颗粒剂治疗组血清 r-GT、GOT 均显著低于模型组,与组织学观察一致,说明药物对肝损伤的修复,能阻止坏死与脂肪变性发展,能延缓慢性肝炎向肝硬化转变。

由于各型肝炎及肝硬化患者脂肪代谢紊乱,载脂蛋白合成显著降低^[5,6],双参柔肝颗粒剂能清除肝内、血浆内的甘油三酯,减轻丙二醛对肝细胞的

毒害,提高 SOD 的活性,这些作用都能使肝硬变的症状减轻。

参 考 文 献

1 朝德伍,马学慧,赵元昌.肝硬化动物模型的研究.山西医学杂志,1979,4(1):1
2 李五林,李十月,伍琼.血清总羟脯氨酸的碱水解法测定.临床检验杂志,1988,6(2):69
3 邱德贵,王运萍,孙维纲,等.慢性乙型肝炎患者肝纤维化原因的探讨.临床肝胆病杂志,1990,6(1):20
4 殷蔚英.肝纤维化血清检测方法的评价.临床肝胆病杂志,1987,3(4):191
5 师丽,叶维法.肝病病人血清脂蛋白变化及其机制探讨.临床肝胆病杂志,1990,6(1):21
6 刘晓宁,颜大尉.各型肝炎及肝硬化患者血清载脂蛋白 B100 及 A 水平的观察.临床肝病杂志,1990,6(3):135
7 陈可冀,府强主编.实用中西药临床治疗手册.北京:中国医药科技出版社,1993.263
8 张玮,孔立主编.肝炎肝硬化单验方大全.北京:中国中医药出版社,1998.10

Pharmacological Effects of Shuangshen Rougan Keli on Experimental Hepatic Cirrhosis in Rats

PENG Tian-Ji, JIANG Yong-Pei¹

Dongguan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Dongguan 523000; ¹No. 4 Military Medical University, Xian 710032

Abstract Shuangshen Rougan Keli (SS) could effectively blocked the formation of hepatic cirrhosis in rats induced by complex pathogenic causes. Both the two treating groups could restore enzyme activity level. The content of r-GT, SGPT and SGOT in serum decreased from 345±95 nmol/s to 200±21 nmol/s. It could enhance collagen excretion and inhibit fibrin proliferation. Hydroxyproline excretion increased in urine, and decreased in hepatic and decreased in serum. In addition, SS could also clear the storage of triglyceride in the liver. Lower MDA and elevate the activity of SOD. It is suggested that SS has marked effects on enhancing the restoration of damaged hepatic histocytes, on retarding hepatic adipogenesis and necrosis, and on interrupting the development of chronic hepatic cirrhosis.

Key words Shuangshen Rougan Keli; Hepatic cirrhosis; SGPT; SGOT; SOD