

胆宁片对实验性急慢性肝损伤的保护作用

柳润辉¹, 陈忠梁², 李铁军³, 刘晓华¹, 徐瑞林², 徐希科¹, 张川¹, 张卫东^{1*} (1. 第二军医大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200433; 2 上海和黄药业有限公司研发部, 上海 200331; 3 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433)

摘要 目的: 研究胆宁片对实验性小鼠急性肝损伤预防作用, 及对大鼠慢性肝损伤的预防和治疗作用。方法: 分别用 D-氨基半乳糖和四氯化碳复制小鼠急性肝损伤和大鼠慢性肝损伤模型, 检测小鼠和大鼠血清谷草转氨酶 (AST) 和谷丙转氨酶 (ALT) 的改变, 观察胆宁片对大鼠血清总蛋白、白蛋白、A/G 的影响, 同时观察肝脏病理学改变。结果: 胆宁片可明显抑制 D-氨基半乳糖和四氯化碳引起的 ALT、AST 升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 可显著升高四氯化碳引起的血清总蛋白和白蛋白含量降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 肝脏病理组织学检查显示胆宁片可减轻肝细胞脂肪变性程度和纤维化程度。结论: 胆宁片对小鼠 D-氨基半乳糖急性肝损伤有较好的保护作用, 对四氯化碳所致大鼠慢性肝损伤有一定的预防及治疗作用。

关键词 胆宁片; 肝损伤; 谷草转氨酶; 谷丙转氨酶; 保护作用

中图分类号: R282.7; R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2007)03-0147-03

The protective effects of Danning tablet on experimental liver injury in mice and rats

LIU Run-hui¹, CHEN Zhong-liang², LI Tiejun³, LIU Xiaohua¹, XU Ruilin², XU Xike¹, ZHANG Chuan¹, ZHANG Weidong^{1*} (1. Department of Phytochemistry, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2 Shanghai Heliang Pharmaceutical Company Limited, Shanghai 200331, China; 3 Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective To study the protective effects of Danning tablet on CCl_4 and D-galactosamine induced liver injury in mice and rats. **Methods** Mice and rats were induced acute and chronic liver injury by administered with D-galactosamine and CCl_4 respectively, and the activities of glutamic oxaloacetic transaminase (AST) and glutamate pyruvate transaminase (ALT) in plasma were detected, influence on contents of the serum total protein, albumin and A/G were observed, histopathologic examination was employed to observe the liver injury. **Results** Danning tablet can significantly inhibited the activities of ALT and AST which were raised by CCl_4 and D-galactosamine ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), can significantly increased the contents of the total protein, albumin which were decreased by CCl_4 ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), Histopathologic examination show degree of fatty degeneration and fibrosis of liver cell were improved by Danning tablet. **Conclusion** Danning tablet are effective in liver injuries induced by CCl_4 and D-galactosamine.

KEY WORDS Danning tablet; liver injury; glutamic oxaloacetic transaminase (AST); glutamate pyruvate transaminase (ALT); protective effects

胆宁片是由大黄、虎杖、青皮、陈皮等中药配伍组成的中成药, 具有疏肝利胆、清热通下的功能, 主要用于肝郁气滞型的慢性胆道感染、胆石病等的治疗。临床应用发现胆宁片对脂肪肝具有一定的治疗作用^[1]。为了对胆宁片的临床新用途提供理论依据, 本试验对其 D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤的预防保护作用、对四氯化碳所致大鼠慢性肝损伤

的预防保护和治疗作用进行了深入研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药品和试剂 胆宁片由和黄药业有限公司提供, 批号 041003; 总蛋白、白蛋白 (批号: L050205, L050214)、ALT、AST (批号: D050308, D050120) 均为上海复星长征医学科学有限公司产品; D-氨基半乳糖盐酸盐由重庆医科大学生物医学工程研究室提供, 批号 041221; 四氯化碳为上海国药集团化学试剂公司, 产品批号 20040409。

1.1.2 仪器

日立 7060 型全自动生化分析仪

1.1.3 动物

ICR 小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22g

基金项目: 上海市科技发展基金 (胆宁片物质基础和作用

机理研究 04DZ19857) 资助项目。

作者简介: 柳润辉, 副教授。Tel (021) 25070387, E-mail: lyliuh@126.com.

通讯作者: 张卫东。Tel (021) 25070386, E-mail: WDZhangY@hotmail.com.

由上海斯莱克实验动物有限公司提供, 动物合格证号: SCXK(沪)2003-0003 Sprague-Dawley大鼠, 雌雄各半, 体重 120~140g 由上海斯莱克实验动物有限公司提供, 动物合格证号 SCXK(沪)2003-0003。

1.2 方法

1.2.1 胆宁片对 D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤的预防保护作用 取 CR 小鼠 60 只, 按体重随机分为空白对照组、模型对照组、阳性对照护肝片组 (2.6 g/kg)、胆宁片低剂量组 (1 g/kg)、中剂量组 (3 g/kg) 和高剂量组 (6 g/kg)。各给药组灌胃给药, 空白对照组及模型对照组给予等体积蒸馏水 1 次/d 连续 7 d。第 8 天, 给药后 2 h 除正常对照组腹腔注射生理盐水外, 其它各组均腹腔注射 100 g/L 的 D-氨基半乳糖 1 g/kg。

1.2.2 胆宁片对四氯化碳所致大鼠慢性肝功能损伤的预保护作用 参照相关文献^[2-4], 取 SD 大鼠 60 只, 根据体重随机分为正常对照、模型对照、阳性对照护肝片组 (1.3 g/kg)、胆宁片低剂量组 (0.5 g/kg)、中剂量组 (1.5 g/kg) 和高剂量组 (3 g/kg)。各给药组灌胃给药, 给药体积为 10 mL/kg 正常对照及模型对照组给予等体积蒸馏水, 每日 1 次。预先灌胃给药 7 d 后造模, 即除正常对照组皮下注射花生油溶液外, 其余各组均皮下注射 25% CCl_4 花生油溶液 5 mL/kg 每周 2 次, 共 4 周, 造成慢性肝损伤模型, 期间继续给药。

1.2.3 胆宁片对四氯化碳所致大鼠慢性肝功能损伤的治疗作用 取 SD 大鼠 60 只, 按体重分出 10 只为正常对照组。其余均皮下注射 25% CCl_4 花生油溶液 2 mL/kg 每周两次, 连续 6 周, 造成慢性肝损伤模型。造模 2 周后, 随机分为 5 组: 模型对照组、阳性对照护肝片组 (1.3 g/kg)、胆宁片低剂量组 (0.5 g/kg)、中剂量组 (1.5 g/kg) 和高剂量组 (3 g/kg)。各给药组灌胃给药, 给药体积为 10 mL/kg 模型对照组及正常对照组给予等体积蒸馏水, 每天 1 次, 连续 4 周。

1.2.4 指标测定 末次给药后 2h 取血, 按照试剂盒方法测定血清总蛋白、白蛋白、A/G、转氨酶 ALT、AST; 处死动物, 解剖取肝脏用甲醛固定, 石蜡包埋, HE 染色, 进行病理组织学检查。

1.2.5 数据及统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 用 SPSS 10.0 软件 ANOVA 方差分析进行差异显著性检验。

2 结果

2.1 胆宁片对 D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤血液生化结果的影响 与空白对照组比较, 模型组的 ALT、AST 显著升高 ($P < 0.01$); 胆宁片低、中、高 3 个剂量组均可明显抑制 D-氨基半乳糖引起的 ALT、AST 升高, 与模型对照组比较, 经统计学处理有显著性差异或非常显著性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 阳性对照护肝片组 ALT、AST 亦明显降低 ($P < 0.01$)。表明胆宁片对小鼠 D-氨基半乳糖急性肝损伤有较好的保护作用。结果见表 1。

表 1 胆宁片对 D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤的影响 ($\bar{x} \pm SD$, $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)
空白对照组		46.1 ± 18.3	147.5 ± 21.4
模型组		80.7 ± 33.3 ¹⁾	193.3 ± 46.7 ¹⁾
阳性对照组	2.6	48.1 ± 16.1 ³⁾	148.4 ± 27.8 ³⁾
低剂量组	1	55.8 ± 24.0 ²⁾	172.4 ± 37.2
中剂量组	3	38.2 ± 7.9 ³⁾	155.9 ± 35.5 ²⁾
高剂量组	6	37.0 ± 12.1 ³⁾	150.9 ± 33.1 ²⁾

注: ¹⁾ $P < 0.01$, 与空白对照组比较; ²⁾ $P < 0.05$ ³⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较

2.2 胆宁片对 CCl_4 所致大鼠肝损伤血液生化指标的影响 大鼠皮下注射 CCl_4 造成慢性肝损伤, 与空白对照组比较, 血清总蛋白和白蛋白含量显著降低, ALT、AST 显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。胆宁片中、高剂量组可显著升高 CCl_4 引起的血清总蛋白和白蛋白含量降低, 与模型组相比具有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 胆宁片低、中、高 3 个剂量组均可降低 CCl_4 引起的血清 AST、ALT 升高, 与模型组比较, 有显著性或极显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 说明胆宁片有显著抑制血清转氨酶升高及总蛋白和白蛋白降低的作用; 阳性对照组与模型组相比, 血清总蛋白和白蛋白含量也均有显著升高 ($P < 0.05$), 血清 AST、ALT 均有显著性降低 ($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 2 胆宁片对 CCl_4 所致大鼠肝损伤血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm SD$, $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	总蛋白 (g/L)	白蛋白 (g/L)	A/G	ALT (U/L)	AST (U/L)
空白对照组		44.42 ± 5.01	27.58 ± 2.11	1.65 ± 0.16	34.9 ± 8.3	75.8 ± 21.7
模型组		39.49 ± 5.04 ¹⁾	23.85 ± 2.92 ²⁾	1.53 ± 0.18	63.8 ± 19.8 ²⁾	157.0 ± 33.5 ²⁾
阳性药组	1.3	43.54 ± 3.58 ³⁾	26.84 ± 1.72 ⁴⁾	1.63 ± 0.21	45.6 ± 10.1 ³⁾	120.0 ± 32.0 ³⁾
低剂量组	0.5	41.45 ± 3.85	25.79 ± 2.55	1.66 ± 0.19	49.9 ± 15.2 ³⁾	129.9 ± 24.4 ³⁾
中剂量组	1.5	44.01 ± 4.18 ³⁾	26.93 ± 2.02 ⁴⁾	1.60 ± 0.18	48.4 ± 10.9 ³⁾	127.1 ± 27.4 ³⁾
高剂量组	3	43.62 ± 4.88 ³⁾	26.92 ± 3.07 ³⁾	1.65 ± 0.21	46.9 ± 23.3 ³⁾	115.9 ± 31.4 ⁴⁾

注: ¹⁾ $P < 0.05$ ²⁾ $P < 0.01$ 与正常组比较, ³⁾ $P < 0.05$ ⁴⁾ $P < 0.01$ 与模型组比较

2.3 胆宁片对CCl₄所致大鼠慢性肝损伤血液生化指标的影响 由表3可见:皮下注射25% CCl₄花生油溶液2 ml/kg 6周后,造成大鼠慢性肝损伤模型,其血液生化指标显示:模型组的总蛋白和白蛋白较空白对照组显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),血清转氨酶(ALT、AST)较空白对照组非常显著升高($P < 0.01$)。胆宁片各剂量组具有提高血清白蛋白和

总蛋白含量,降低血清ALT、AST含量的作用;与模型组比较,胆宁片中剂量能显著提高白蛋白含量($P < 0.05$),中、高剂量组能显著或极显著降低CCl₄致大鼠慢性肝损伤血清转氨酶(ALT、AST)的水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。阳性对照护肝片也有显著或极显著降低血清转氨酶的作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表3。

表3 胆宁片对CCl₄所致大鼠慢性肝损伤血液生化指标的影响($\bar{x} \pm sD$, $n=10$)

组别	剂量(g/kg)	总蛋白(g/L)	白蛋白(g/L)	ALG	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白对照组		44.42±5.01	27.58±2.11	1.65±0.16	34.9±8.3	75.8±21.7
模型组		39.11±8.03 ¹⁾	23.41±3.97 ²⁾	1.52±0.21	90.2±41.8 ²⁾	161.8±65.1 ²⁾
阳性药组	1.3	43.55±11.04	26.81±5.24	1.73±0.38	47.7±17.6 ⁴⁾	102.0±33.6 ³⁾
低剂量组	0.5	42.18±11.65	25.78±5.72	1.67±0.35	64.6±24.0	130.4±53.9
中剂量组	1.5	43.65±9.70	27.13±4.47 ³⁾	1.71±0.28	55.6±22.4 ³⁾	117.6±43.3 ³⁾
高剂量组	3	42.29±11.72	26.22±6.59	1.68±0.21	48.8±15.8 ⁴⁾	101.7±26.9 ⁴⁾

注: ¹⁾ $P < 0.05$ ²⁾ $P < 0.01$ 与空白对照组比较; ³⁾ $P < 0.05$ ⁴⁾ $P < 0.01$ 与模型组比较

2.4 胆宁片肝损伤组织形态学的影响 正常对照组鼠肝小叶结构正常,中央静脉位于肝小叶,周边肝细胞呈条索放射状排列,模型组大、小鼠肝细胞均有点、灶状坏死,重度的脂肪变性,有些大鼠肝脏出现纤维化形成的病理改变。胆宁片低、中、高剂量组及阳性对照护肝片组肝细胞有脂肪变性,但病变程度与模型组比较有所减轻。

慢性肝损伤的病理改变。提示胆宁片是具有较好肝保护作用的中药,但其作用机制还有待我们进一步的研究。

3 讨论

参考文献:

本试验通过复制D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤、四氯化碳所致大鼠慢性肝损伤模型,观察胆宁片对实验性急慢性肝损伤的预防及治疗的保护作用,结果表明胆宁片的高、中、低剂量组对D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤具有较好的保护作用,能明显降低D-氨基半乳糖引起的ALT、AST升高。胆宁片对由四氯化碳所致大鼠慢性肝损伤模型亦有较好的保护作用,组织病理学结果也说明胆宁片能明显改善急

[1] 施俊. 胆宁片临床新用[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(5): 309.
 [2] 季光, 范建高, 陈建杰, 等. 胆宁片治疗非酒精性脂肪性肝病(湿热型)的临床研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(6): 485.
 [3] 郭青龙, 郭殿武, 陈真. 茵栀黄注射液保肝作用的实验研究[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(6): 440.
 [4] 李瑞芬, 范玉明, 王希海. 茵栀黄注射液对大鼠实验性肝损伤的治疗作用[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(2): 23.
 [5] 卢春风, 陈廷玉, 王淑香, 等. 丹参与三七配伍对大鼠慢性肝损伤的作用[J]. 黑龙江医药科学, 2003, 26(5): 32.

收稿日期: 2006-10-23

(上接第 144 页)

参考文献:

[1] Jialil I, Devara JS. The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis[J]. J Nutr 1996; 126: 1053.
 [2] 江红, 吴永健. 阿托伐他汀治疗新进展[J]. 心血管病学进展, 2004, 25(5): 335
 [3] 倪鸿昌, 李俊, 金涌, 等. 大鼠试验性高脂血症和高脂血症性脂肪肝模型研究[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(6): 703
 [4] 赵水平, 王钟林, 陆宗良. 临床血脂学[J]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1997: 1~283
 [5] Ross R. Atherosclerosis An inflammatory disease[J]. N Engl J

Med 1999; 340(2): 115
 [6] Libby P. Inflammation in atherosclerosis[J]. Nature, 2002, 12(420): 868
 [7] Shimada K, Mokuno H, Matsunaga E, et al. Circulating oxidized low-density lipoprotein is an independent predictor for cardiac event in patients with coronary artery disease[J]. Atherosclerosis 2004; 174(2): 343.
 [8] Koiani K, Kondo A, Manabe M, et al. Determination of malondialdehyde-modified LDL (MDA-LDL) and its potential usefulness[J]. Rinsho Byori 1997; 45(1): 47.
 [9] 宁夏, 刘森. 超氧化物歧化酶与动脉粥样硬化性疾病[J]. 中国航天医药杂志, 2004(6): 74.

收稿日期: 2006-04-17