

贞茯菌胶囊对酒精性肝损伤模型小鼠的保护作用^Δ

薛承斌^{1*}, 晏琼¹, 韩定献²(1.华中科技大学医院, 武汉 430074; 2.华中科技大学化学系药物研究所, 武汉 430074)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)43-4043-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.43.04

摘要 目的: 研究贞茯菌胶囊对酒精性肝损伤模型小鼠的保护作用。方法: 60只KM雌性小鼠随机均分为正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组与贞茯菌胶囊高、中、低剂量(0.45、0.30、0.15 g/kg)组, 灌胃给药, 每天1次, 连续30 d。末次给药后一次性灌胃50%乙醇(14 ml/kg)以复制小鼠酒精性肝损伤模型。称定小鼠体质量, 测定小鼠肝匀浆中丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、甘油三酯(TG)水平, 观察小鼠肝脏形态学变化并进行评分。结果: 与正常对照组比较, 模型组小鼠体质量无明显变化, 差异无统计学意义($P>0.05$); 小鼠肝匀浆MDA、TG含量增加, GSH含量减少, 差异有统计学意义($P<0.01$); 小鼠肝细胞脂肪变性明显, 病理学评分升高。与模型组比较, 贞茯菌胶囊高、中、低剂量组小鼠体质量无明显变化, 差异无统计学意义($P>0.05$); 小鼠肝匀浆TG含量减少, 差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 贞茯菌胶囊高、中剂量组小鼠肝匀浆MDA含量减少, GSH含量增加, 差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 小鼠肝细胞脂肪变性情况有所改善, 病理学评分降低。结论: 贞茯菌胶囊对酒精性肝损伤模型小鼠有辅助性保护作用。

关键词 贞茯菌胶囊; 小鼠; 酒精性肝损伤; 保护作用

Protective Effect of Zhenfujun Capsule on Alcoholic Liver Injury Model Mice

XUE Cheng-bin¹, YAN Qiong¹, HAN Ding-xian²(1.School Hospital of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China; 2.Institute of Materia Medica, Department of Chemistry, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effect of Zhenfujun capsule on alcoholic liver injury model mice. METHODS: 60 KM female mice were randomly divided into normal control group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), Zhenfujun capsule high-dose, medium-dose and low-dose groups (0.45, 0.30, 0.15 g/kg). They were given relevant medicines intragastrically once a day for consecutive 30 d. After last medication, they were fed 50% ethanol (14 ml/kg) once to induce alcoholic liver injury model. The body weight of mice was weighed, and the levels of MDA, GSH and TG were determined in liver homogenate of mice. The morphologic variations of liver were also observed and scored. RESULTS: Compared with normal control group, the body weight of mice had no significant change in model group; there was no statistical significance ($P>0.05$). The concentrations of MDA and TG in liver homogenate were increased, while the content of GSH was decreased; there was statistical significance ($P<0.01$). The fatty degeneration of liver cells was significant, and pathological score increased. Compared with model group, the body weight of mice had no significant change in Zhenfujun capsule high-dose, medium-dose and low-dose groups; there was no statistical significance ($P>0.05$). The concentrations of TG in liver homogenate were decreased, there was statistical significance ($P<0.01$ or $P<0.05$). The concentrations of MDA in liver homogenate were decreased, while the content of GSH was increased; there was statistical significance ($P<0.01$ or $P<0.05$). The fatty degeneration of liver cells had been improved, and pathological score decreased. CONCLUSIONS: Zhenfujun capsule had auxiliary protective effect on alcoholic liver injury model mice.

KEYWORDS Zhenfujun capsule; Mice; Alcoholic liver injury; Protective effect

由于酗酒而产生的酒精性肝损伤现已成为一种常见、多发病,严重影响人们的健康^[1]。又因很多肝脏疾病的病因或发病机制迄今尚未完全明了,临床尚无特效药物治疗酒精性肝损伤,其损伤又呈不可逆性^[2],因此早期预防显得尤为重要,而中医药对本病的治疗有着明显的优势。本课题组从具有护肝作用的原料女贞子、茯苓以及香菇多糖入手,对近年来国内相

关文献进行检索和分析,再根据中医药有关理论进行产品组方,采取科学的生产工艺加工得到贞茯菌胶囊。本研究旨在探讨贞茯菌胶囊对酒精性肝损伤模型小鼠的辅助保护功能。

1 材料

1.1 仪器

7020型全自动生化分析仪检测(日本日立公司);XDS-200D型光学显微镜(上海蔡康光学仪器厂)。

1.2 药品与试剂

贞茯菌胶囊(华中科技大学药物研究所,批号:

^Δ基金项目:武汉市科技计划项目(No.2014070404010203)

* 副主任药师,博士。研究方向:药物毒理学。E-mail: xcb-2000@163.com

20111201);丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)测试盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 动物

SPF级KM小鼠60只,♀,体质量(20±2)g,由湖北省实验动物研究中心提供[实验动物使用许可证号:SYXK(鄂)2008-0014]。实验室温度20~26℃,湿度40%~70%。

2 方法

2.1 复制模型与分组、给药

60只KM小鼠随机均分为5组,即正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组与贞茯菌胶囊高、中、低剂量(0.45、0.30、0.15 g/kg)组,ig给药,每天1次,连续30 d。末次给药后一次性ig 50%乙醇14 ml/kg以复制小鼠酒精性肝损伤模型^[3]。

2.2 贞茯菌胶囊对模型小鼠体质量的影响

分别于ig贞茯菌胶囊0、1、2、3、4周后称定小鼠体质量。

2.3 贞茯菌胶囊对模型小鼠肝匀浆MDA、GSH、甘油三酯(TG)水平的影响

模型复制成功后禁食16 h,颈椎脱臼处死小鼠,取0.5 g小鼠肝脏,制备肝匀浆后按试剂盒方法测定MDA、GSH水平,自动生化分析仪测定TG水平。

2.4 贞茯菌胶囊对模型小鼠肝脏形态学的影响

将小鼠肝脏从肝左叶中部作横切面取材,固定、脱水、浸蜡、包埋、切片、油红O染色,观察脂滴在肝脏的分布、范围和面积,分别记录每个视野中的各种病变所占视野的面积,累计所观察视野的病变总分:肝细胞内脂滴散在、稀少,0分;含脂滴的肝细胞不超过1/4,1分;含脂滴的肝细胞不超过1/2,且超过1/4,2分;含脂滴的肝细胞不超过3/4,且超过1/2,3分;肝组织几乎被脂滴替代,4分。

2.5 统计学方法

采用SPSS11.5软件处理分析实验数据。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以LSD法进行统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 贞茯菌胶囊对模型小鼠体质量的影响

各组小鼠体质量无明显改变,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。贞茯菌胶囊对模型小鼠体质量的影响见表1。

表1 贞茯菌胶囊对模型小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of Zhenfujun capsule on body weight of model mice($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体质量,g				
		0周	1周	2周	3周	4周
正常对照组	12	19.9±1.4	25.2±1.2	28.7±1.2	30.3±1.3	32.2±1.5
模型组	12	20.1±0.8	25.2±1.0	28.6±0.7	30.1±0.7	31.9±0.9
贞茯菌胶囊低剂量组	12	20.5±1.1	25.5±0.8	29.0±2.1	30.4±1.8	32.1±2.1
贞茯菌胶囊中剂量组	12	20.3±1.4	25.2±1.4	29.5±2.4	31.3±2.3	33.1±2.2
贞茯菌胶囊高剂量组	12	19.9±1.4	25.0±1.2	29.7±2.8	31.3±2.4	33.0±2.3

3.2 贞茯菌胶囊对模型小鼠肝匀浆MDA、GSH与TG含量的影响

影响

与正常对照组比较,模型组小鼠肝匀浆MDA、TG含量增加,GSH含量减少,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,贞茯菌胶囊高、中剂量组小鼠肝匀浆MDA水平降低,GSH水平升高;贞茯菌胶囊高、中、低剂量组小鼠肝匀浆TG水平降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。贞茯菌胶囊对模型小鼠肝匀浆MDA、GSH和TG含量的影响见表2。

表2 贞茯菌胶囊对模型小鼠MDA、GSH、TG含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of Zhenfujun capsule on the content of MDA, GSH and TG of model mice($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MDA, nmol/mg	GSH, mg/g	TG, mmol/L
正常对照组	12	1.05±0.19	1.91±0.41	5.46±0.78
模型组	12	1.36±0.13*	1.13±0.38*	6.83±0.74*
贞茯菌胶囊低剂量组	12	1.17±0.19#	1.55±0.16#	5.80±0.75##
贞茯菌胶囊中剂量组	12	1.16±0.21#	1.53±0.40#	5.94±0.85#
贞茯菌胶囊高剂量组	12	1.21±0.18	1.45±0.51	5.99±0.87#

与正常对照组比较: * $P < 0.01$;与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs. normal control group: * $P < 0.01$; vs. model group: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3.3 贞茯菌胶囊对小鼠肝脏形态学的影响

正常对照组病变总分为(0.23±0.44)分,模型组病变总分为(3.60±0.45)分,贞茯菌胶囊高、中、低剂量组病变总分分别为(3.22±0.42)、(3.08±0.67)、(3.33±0.72)分。与正常对照组比较,模型组小鼠肝组织细胞内被染为红色大脂滴,且分布范围广,肝细胞脂肪变性明显,证明小鼠酒精性肝损伤模型复制成功;与模型组比较,贞茯菌胶囊高、中、低剂量组小鼠肝组织细胞红色脂滴分布范围变小,说明脂肪变性情况有所改善,其中以中剂量组效果最好,红色脂滴分布范围明显减小,表明贞茯菌胶囊具有逆转肝细胞脂肪变性和修复肝脏细胞的作用。小鼠肝脏形态学见图1。

4 讨论

过量酗酒导致的酒精性肝损伤已逐渐成为全球性公共卫生问题。自由基和脂质过氧化损伤是酒精性肝损伤的一个重要发病机制^[9]。乙醇进入人体循环后在肝脏中代谢会产生自由基与活性氧,引发氧化应激反应,氧自由基使脂质过氧化,导致肝中还原型谷胱甘肽减少和过氧化脂质增多,诱发肝脏组织损伤^[4-5]。

贞茯菌胶囊的主要成分女贞子具有护肝、降血糖、降血脂、抗炎、抗衰老抗癌等药理作用^[6]。齐墩果酸是女贞子提取物的主要成分,它对肝脏的保护作用主要归因于其抗氧化、抗炎作用以及对药物代谢酶的影响^[7];其化学结构存在活性基团,可阻止或减少MDA的生成,活泼的双键易与自由基发生加成反应^[3],减轻自由基对肝脏的损害。

茯苓是药食两用真菌,为中药“四君八珍”之一,现代医学研究证实,茯苓具有抗肿瘤、增强免疫功能、保肝等多种药理作用^[8]。有研究表明,茯苓提取物可促进实验性肝硬变动物肝

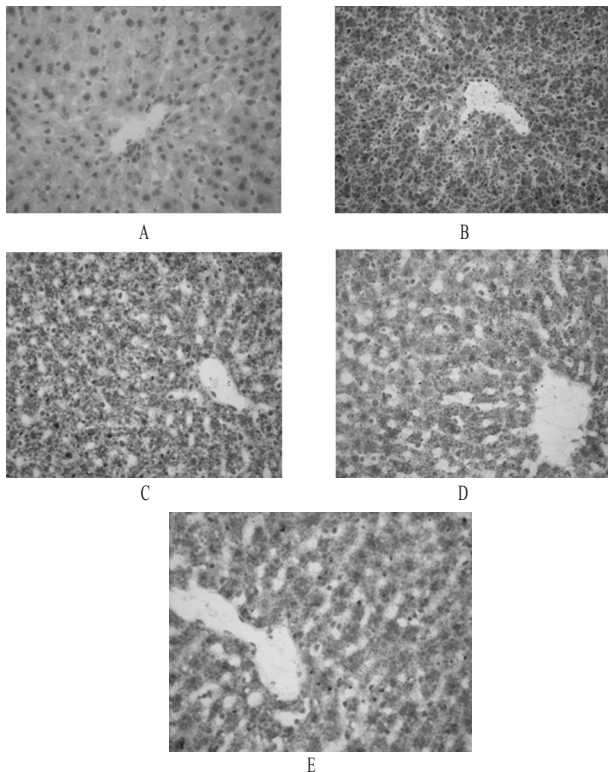


图1 小鼠肝脏形态学(油红O染色, 400×)

A.正常对照组;B.模型组;C.贞茯菌胶囊低剂量组;D.贞茯菌胶囊中剂量组;E.贞茯菌胶囊高剂量组

Fig 1 Morphology of liver tissue in mice (oil red O stain, 400×)

A.normal control group; B.model group; C.Zhenfujun capsule low-dose group; D.Zhenfujun capsule medium-dose group; E.Zhenfujun capsule high-dose group

脏胶原蛋白降解,使肝内纤维组织重吸收^[9]。

香菇多糖是香菇的重要功效成分,具有一定清除羟基自由基、清除超氧阴离子自由基的能力,可以减少小鼠肝匀浆MDA生成^[10],增加小鼠肝匀浆细胞色素P₄₅₀^[11],有利于调节体内某些活性物质的代谢,从而对肝起到保护作用。

由本研究可知,与模型组比较,贞茯菌胶囊高、中剂量组

小鼠肝匀浆MDA水平降低,GSH水平升高,贞茯菌胶囊高、中、低剂量组小鼠肝匀浆TG水平降低。肝脏病理学检查结果显示,贞茯菌胶囊高、中剂量组小鼠肝脏损伤程度轻于模型组,肝细胞脂肪变性程度减轻。以上结果说明贞茯菌胶囊可能清除肝脏中产生的自由基、降低过氧化脂质,并能在一定程度上减轻肝细胞的脂肪变性程度,对酒精性肝损伤具有辅助保护作用。

参考文献

- [1] 叶丽红,赵冬耕,俞晶华,等.补精复方防治化学性肝损伤的中医理论基础和安全性实验[J].时珍国医国药,2011,22(2):424.
- [2] Mandayam S, Jamal MM, Morgan TR. Epidemiology of alcoholic liver disease[J]. *Semin Liver Dis*, 2004, 24(3): 2179.
- [3] 杜施霖,迟宝荣.龙牙葱木皂苷对大鼠酒精性肝病的防治作用[J].吉林大学学报:医学版,2005,31(1):64.
- [4] 陈湘宁,郭琳博,李宇华,等.酒精性肝病发病机制及防治机理研究[J].食品与机械,2011,27(6):265.
- [5] 李南珠.乙醇在肝脏中的代谢与乙醇性肝损伤[J].中国现代医药杂志,2008,10(3):128.
- [6] 黄婉,杨耀芳.女贞子及其有效成分的药理及临床研究进展[J].现代中西医结合杂志,2003,12(7):772.
- [7] 周志勇,袁丁.齐墩果酸药理作用研究进展[J].中国医院药学杂志,2008,28(23):2031.
- [8] 王海峰.茯苓的现代研究进展[J].社区医学杂志,2011,9(12):44.
- [9] 尹镭,赵元昌,许瑞龄,等.茯苓对实验性肝硬变的治疗作用[J].山西医学院学报,1992,23(2):101.
- [10] 孙设宗,唐微,张红梅,等.香菇多糖对CCl₄肝损伤小鼠的保护作用[J].湖北医药学院学报,2011,30(4):374.
- [11] 郑虹,叶秋焰.香菇多糖的药理及临床应用研究进展[J].海峡药学,2006,18(4):150.

(收稿日期:2014-06-29 修回日期:2014-08-22)

国家卫生计生委妇幼司在重庆举办“第7期计划生育技术骨干高级研修班”

本刊讯 为加快计划生育技术骨干培养,国家卫生计生委妇幼司于2014年10月15-19日在第三军医大学西南医院举办“第7期计划生育技术骨干高级研修班”。

2009年,原国家人口计生委与第三军医大学依托西南医院共建“计划生育高级技术人才培训基地”,充分发挥西南医院技术实力雄厚、教学资源丰富、业务能力精湛的优势。基地建立以来,已组织6期计划生育技术骨干高级研修班,并承担

计划生育技术骨干进修任务,为计划生育系统培养了一批计划生育高级技术人才,为全面提升计划生育技术服务水平发挥了重要作用。

本次研讨班从女性健康、生育调节、生殖健康、儿童早期发展和出生缺陷预防等领域开展专题讲解,并组织模拟操作、现场观摩、座谈交流等活动。来自全国各省(区、市)计划生育技术服务机构和妇幼保健机构技术骨干约70人参加研修。