

基于动物实验探究葛根灵芝胶囊对小鼠酒精性肝损伤的保护作用

侯爱芳¹, 朱华², 郭伟³, 魏贺敏⁴

¹临汾市第三人民医院 山西临汾

²唐山市健康管理师协会 河北唐山

³中国营养学会 北京

⁴广东药科大学 广东广州

【摘要】本研究探讨了葛根、灵芝、枳椇子、五味子、姜黄和女贞子的组合对小鼠酒精性肝损伤的保护作用。研究表明,该药物组合通过显著增强抗氧化能力,有效抵抗氧自由基对肝脏细胞的损伤,加速受损肝细胞的修复与再生的进程。此外,该组合通过提升肝脏的解毒功能,有助于防止酒精引起的进一步肝损伤,从而恢复肝细胞的正常生理功能。动物实验结果显示,该组合具有明显的辅助保护作用,能显著改善肝脏实质的病损。此外,随着中医药提取和制剂技术的不断进步,预期这些药物的纯度和生物可用性将得到进一步提高,增强其对酒精性肝损伤的治疗效果。

【关键词】酒精性肝损伤;作用机制;动物实验

【收稿日期】2024年10月22日

【出刊日期】2024年12月27日

【DOI】10.12208/j.ircm.20240060

Based on animal experiments to explore the protective effect of Pueraria lucidum capsules on alcoholic liver injury in mice

Aifang Hou¹, Hua Zhu², Wei Guo³, Hemin Wei⁴

¹Linfen Third People's Hospital Linfen, Shanxi

²Tangshan Health Managers Association Tangshan, Hebei

³Chinese Nutrition Society Beijing

⁴Guangdong Pharmaceutical University Guangzhou, Guangdong

【Abstract】 This study explores the protective effect of a combination of kudzu root, ganoderma lucidum, mandarin orange, schisandra chinensis, turmeric and ligustrum lucidum on alcohol-induced liver injury in mice. Studies have shown that this drug combination can effectively resist damage to liver cells caused by oxygen free radicals by significantly enhancing antioxidant capacity and accelerating the repair and regeneration process of damaged liver cells. In addition, this combination helps prevent further liver damage caused by alcohol by improving the liver's detoxification function, thus restoring the normal physiological functions of liver cells. Animal experiment results show that this combination has obvious auxiliary protective effects and can significantly improve liver parenchymal lesions. In addition, with the continuous advancement of traditional Chinese medicine extraction and preparation technology, it is expected that the purity and bioavailability of these drugs will be further improved, enhancing their therapeutic effect on alcoholic liver injury.

【Keywords】 Alcoholic liver injury; Mechanism of action; Animal experiments

引言

随着饮酒人群的增加和饮酒量的上升,酒精性肝损伤的发病率有逐渐升高的趋势。一些经济较为发达、社交活动频繁、饮酒文化相对浓厚的地区,以及长期大量饮酒的成年人,酒精性肝损伤的发生相

对较多,人们对酒精性肝损伤的认识不足,很多患者在早期没有意识到问题的严重性,未能及时就医和采取有效的干预措施。

1 原料作用机制

1.1 葛根

1).加速酒精在肝脏中的代谢速度;减少毒害代谢中间产物的生成及发生酒精性肝损伤的风险;降低血液中乙醇的含量。

2).防止患者肝脏里堆积多余脂肪,提高人体肝脏细胞的再生功能,可以帮助受损的肝脏细胞正常工作。

3).具有保护肝细胞、维持肝细胞正常生理功能的作用。

4).改善肝脏代谢:人体摄取酒精或脂肪后,需要肝脏代谢,葛根含有大豆苷成分,具有分解酒精毒性、分解血液中酒精含量的效果。还具有降低肝脂含量、改善肝脂代谢能力的作用。

5).抗急性肝损伤:葛根具有去氧自由基和抗脂质过氧化的作用,可保护肝脏,改善肝细胞能量代谢,防止肝细胞损伤。

1.2 灵芝

1).保护肝细胞:灵芝中的成分可以减轻肝细胞的损伤,提高肝细胞的抗损伤能力。

2).改善肝功能:维持肝脏正常的代谢、解毒等功能,促进肝脏功能的恢复和稳定。

3).抗氧化:能清除自由基,减少自由基对肝脏细胞的氧化应激损伤。

4).调节免疫:对肝脏的免疫系统有调节作用,使肝脏的免疫功能保持在较为平衡的状态,有利于抵御外界侵害和促进肝脏自身的修复。

5).抗纤维化:可以抑制肝脏纤维化的进程,对于预防和延缓肝硬化有积极意义。

1.3 枳椇子

1).保护肝脏:防止有害毒素在肝脏中沉积,防止肝病复发和维持肝脏器官的正常运行,其次有解酒解渴的作用,具有清热的作用,可以排出体内的水分和毒素用以消除炎症。

2).有助于增强肝细胞的再生能力,恢复肝功能,并促进胆汁的分泌,从而减少肝脏内脂肪的积累。此外,它也能激活新陈代谢过程,提升肝脏的解毒能力,有效防护肝脏免受酒精的侵害。

1.4 五味子

1).五味子具备多种肝脏保护作用,它能够维护肝细胞膜稳定性、抗氧化以及促进蛋白质及糖原的生物合成。此外,它还有助于修复受损的肝细胞,防止肝细胞病变,特别是对酒精和药物引起的肝损伤

具有显著的恢复效果,并能有效降低肝脏中谷丙转氨酶和谷草转氨酶的水平,加强肝脏的解毒功能。

2).五味子促进肝细胞中蛋白质和糖原的合成,加快肝细胞的修复与再生。它也促进肝药酶的生成并增强其活性,提升肝脏的解毒能力。同时,五味子增强肝脏内 SOD 和过氧化氢酶的活性,强化肝脏的抗氧化系统,减轻自由基对肝细胞的损伤,确保细胞膜的结构和功能保持正常。

1.5 姜黄

1).姜黄素具有显著的抗炎特性,这使其成为抑制肝炎和修复受损肝细胞的有效成分。通过改善肝脏组织的损伤,姜黄素有助于维护肝脏健康,提供保护作用。

2).姜黄素中的姜黄酮挥发有降息等,有利肝、利胆作用,能够降低血浆中的胆固醇,降低肝囊肿减少肝中的各类和脂类的含量,抑制肝脏中的脂肪酸的合成,有效缓解肝脏的负担,延缓肝炎的恶化,对肝炎病毒有抑制作用,有改善肝脏实质病损的作用。

1.6 女贞子

1).女贞子中的齐墩果酸具备多种肝脏保护作用,增加白细胞计数,对抗四氯化碳引起的急慢性肝损伤,预防肝硬化,以及促进肝细胞的再生。

2).女贞子还具有抗氧化应激、抗炎作用,能抑制肝星状细胞的增殖和活化,推动其凋亡,并进一步促进肝细胞的更新和修复。

2 材料和方法

2.1 实验动物

SPF 级昆明种雄性小鼠,18-22g,60 只。由湖北省实验动物研究中心提供,实验动物生产许可证号为 SCXK(鄂)2008-0005,实验动物使用许可证号为 SYXK(鄂)2012-0065。动物饲养室温度为 20~25℃,湿度为 40~70%。

2.2 样品及配制方法

葛根灵芝胶囊由山西振东五和医养堂股份有限公司提供,人群推荐日摄入量为 2.7g/60kg BW (0.045g/kg BW)。

样品配制:准确称取受试物的内容物 4.5g、9.0g、13.5g 用蒸馏水定容至 200ml 分别供低、中、高剂量组小鼠灌胃用;另取 200ml 蒸馏水作阴性对照组,200ml 蒸馏水作模型对照组。

2.3 实验分组及剂量设计

按送检的样品计算的人群日推荐用量为 2.7g/60kg BW(0.045g/kg BW), 作为剂量设计依据, 设计 0.45g/kg BW、0.90g/kg BW、1.35g/kg BW(分别相当人群推荐量的 10、20、30 倍)作为三个剂量组, 同时设阴性对照组和模型对照组。共设 5 个实验组, 每组 12 只。灌胃容量为 20ml/kg BW。30 天后开始测试。

2.4 检测试剂盒

使用的检测试剂盒包括: 批号为 20130708 的丙二醛测定试剂盒, 批号为 20130825 的谷胱甘肽测定试剂盒。这些试剂盒均有南京建成生物工程研究所提供。

2.5 实验方法

在本实验中, 各处理组小鼠每日通过口服方式接受相应浓度的试验物质, 每 10 克体重的小鼠接受 0.2ml 的剂量。阴性对照组和肝损伤模型对照组则接受相同体积的蒸馏水。在实验过程中, 动物每星期接受两次称重, 并根据体重变化调整剂量。在实验的第 30 天, 除阴性对照组外, 其余组注射含有 50% 乙醇 (14ml/kg 体重), 而阴性对照组接受等量的蒸馏水。在禁食状态持续 16 小时之后, 进行最后一次称重并通过颈椎脱臼方法处死。收集并称重肝脏, 计算脏/体比值, 取 0.5 克的肝脏组织制备成肝匀浆用于 MDA、GSH、TG 等指标的测定及肝组织病理学检查。MDA 和 GSH 的测定依照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明进行, 使用日立 7020 型全自动生化分析仪来测量 TG。

2.6 统计方法

实验数据采用 Microsoft Excel 软件进行整理, 并使用 SPSS 11.5 版本进行统计分析。首先对数据方差的一致性进行检验, 若方差一致则采用成对比较法分析实验组与对照组之间的均值差异。对于不符合正态分布或方差不齐的数据, 则进行适当的变量转换以满足统计要求。若数据转换后仍不符合正态分布或方差齐性要求, 将采用非参数的秩和检验方法进行分析。

3 检测指标

3.1 肝匀浆中的生化标志物

测量丙二醛 (MDA)、甘油三酯 (TG) 和还原型谷胱甘肽 (GSH)

3.2 肝脏病理组织学检查

3.2.1 样本制备和观察: 从动物肝脏左叶中部截取横切面, 进行冷冻切片后用苏丹 I 染色。使用光学显微镜观察肝细胞损伤的程度。

3.2.2 病理诊断标准

1) 评价方法

从肝脏一端开始, 使用 40 倍物镜连续观察并记录细胞的病理变化, 关注肝脏中脂肪滴的分布及其所占面积。

2) 评分标准

在不同的观察视野中对出现的各类病变面积进行统计, 并对各视野的病变面积进行累计评分:

脂滴散在、稀少评为 0 分

含脂滴的肝细胞不超过 1/4 评为 1 分

含脂滴的肝细胞不超过 1/2 评为 2 分

含脂滴的肝细胞不超过 3/4 评为 3 分

肝组织几乎被脂滴替代评为 4 分

3) 结果判定

若样品满足以下条件之一, 则可认为其具有保护作用, 能辅助预防酒精引起的肝脏损伤:

A. 三项生化检测 (MDA、还原型 GSH 和 TG) 均为阳性

B. 三项指标中至少两项与病理组织学检查结果均为阳性

3.3 试验结果

3.3.1 葛根灵芝胶囊匀浆中 MDA、还原型 GSH、TG 的影响

在进行 50% 酒精剂量为 14ml/kg BW 的实验 16 小时后, 与阴性对照组相比, 肝损伤模型组中的肝匀浆显著显示出丙二醛 (MDA) 和甘油三酯 (TG) 水平升高, 还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平下降, 差异显著 ($P < 0.01$), 这一结果验证了实验模型的成功建立。

在对比实验组与模型对照组时, 发现高剂量实验组的肝匀浆中 MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$), 中剂量和高剂量实验组的还原型 GSH 水平也显著提高 ($P < 0.05$), 并且在高剂量组中, 甘油三酯 (TG) 含量亦有显著下降 ($P < 0.05$)。(见表 1)。模型对照组与阴性对照组比较, $###P < 0.05$, $**P < 0.01$ 。

3.3.2 葛根灵芝胶囊对小鼠肝脏病理组织学的影响

(1) 在本次动物实验中, 通过对比模型对照组和阴性对照组, 发现肝脏中脂肪细胞的变性程度在统计学上存在显著的差异, 这种病理改变相对较轻,

两组间的差异在统计学上表现显著, 从而表明实验小鼠在接受高剂量治疗后, 其肝脏损伤得到了有效的缓解, 确认了治疗的阳性效果。(见表 2)。

表 1 各组小鼠肝匀浆中 MDA、还原型 GSH、TG 测定值

组别	剂量 (g/kgBW)	动物数 (只)	MDA (nmol/mgprot)	还原性 GSH (nmol/mgprot)	TG (nmol/L)
阴性对照组	0.00	12	1.46±0.33	6.72±2.06	1.30±0.70
模型对照组	0.00	12	2.41±0.47###	2.34±1.38###	3.79±0.97###
低剂量组	0.45	12	2.12±0.53	3.54±0.85	3.32±0.70
中剂量组	0.90	12	1.94±0.6	4.26±1.10*	3.15±0.58
高剂量组	1.35	12	1.90±0.48*	4.2±1.84*	2.93±0.65*

注:各剂量组与模型对照组比较, *P<0.05

表 2 葛根灵芝胶囊对小鼠肝脏病理组织学的影响(均数±标准差)

组别	剂量 (g/kgBW)	动物数	X	P
阴性对照组	0.00	12	0.23±0.37	0.000
模型对照组	0.00	12	3.18±0.62	---
低剂量组	0.45	12	2.93±0.83	0.414
中剂量组	0.90	12	2.78±0.82	0.192
高剂量组	1.35	12	2.43±0.90	0.027

3.4 结论

从实验结果来看, 各治疗组小鼠在接受了 30 天的连续灌胃后, 与模型对照组相比, 在 P<0.05 的显著性水平下, 高剂量组表现出了显著的肝脏保护效果。通过肝脏病理组织学检查, 我们观察到高剂量组的肝损伤程度和肝细胞脂肪变性情况均有明显减轻。这一改善不仅体现在肝细胞的形态和结构上, 还在生化指标上得到了支持。肝匀浆中的丙二醛 (MDA) 和甘油三酯 (TG) 水平显著下降, 而还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平则显著提高, 这些生化变化进一步证实了高剂量组对抗氧化防御系统的潜在正面影响。此外, 实验还揭示了剂量响应关系, 即随着剂量的增加, 保护作用趋于明显。

4 总结

葛根、灵芝、枳椇子、五味子、姜黄和女贞子组成的复方中药制剂, 在本研究中显示了显著的抗氧化作用, 有效地恢复了因酒精摄入导致的肝细胞功能障碍, 并显著增强了肝脏的解毒能力。该复方制剂不仅对酒精引起的肝损伤提供了有效的辅助保护, 还有助于减轻肝脏的代谢负担, 并改善了肝组织的

结构和功能。

随着科技的进步, 中药的提取和制剂技术将持续得到优化, 预期这些中药材的肝脏保护作用将得到进一步增强。未来研究可以探索这些中药成分的协同效应, 以及它们在临床应用中的最佳组合和剂量, 从而为治疗酒精性肝损伤提供更有效的治疗方案。

参考文献

- [1] 曹盼, 葛根素药理作用研究新进展[J]中成药, 2021, 8, 43(8).
- [2] 史晨旭, 葛根化学成分及药理作用研究进展 [J] 中国现代中药, 2021, 12, 23(12).
- [3] 陈玉胜等, 灵芝多糖对 CCl₄ 诱导的急性肝损伤小鼠的抗炎和保肝活性[J]食品科学, 2017, 38(17):210-215.
- [4] 王文彤, 中药枳椇子药理作用研究[J]天津药学, 2011, 23(1): 51-53.
- [5] 王琅芸, 枳椇子及其复方解酒保肝作用研究进展[J]亚太传统医药, 2018, 3, 14(3):77-79.

- [6] 白文宇,五味子化学成分及其药理作用研究进展[J]中成药,2019.9,41(9):2177-2183.
- [7] 于纯淼,五味子药理作用研究进展及在保健食品中的应用[J]食品工业,2022,43(11):211-226.
- [8] 孙林林,姜黄化学成分及药理作用研究进展[J]山东中医药大学学报,2019.3,43(2):207-211.
- [9] 刘亭亭,女贞子化学成分与药理作用研究进展[J]中国实

验方剂学杂志,2014.7,20(14):228-234.

版权声明: ©2024 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS