维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)01－0057－03

虫草菌丝对实验性肝纤维化大鼠肝糖原影响的动态观察

张 霞，吴小翎，刘玉侃，沈 薇，沈鼎明

(重庆医科大学第二临床学院消化内科，重庆 400010)

【摘 要】目的：探讨虫草菌丝对实验性肝纤维化大鼠肝糖原的动态影响及其可能机制。方法：以 CCl_4 诱导大鼠肝纤维化模型，设立正常组、模型组和虫草组。于造模 3 周、6 周、9 周分批处死大鼠，取血及肝组织标本。HE 染色法观察肝组织形态学变化，生化法测定血清 ALT、ALB 浓度，放射免疫法测定血清 HA 浓度，蒽酮试剂法测定肝糖原浓度，观察上述指标的动态变化。结果：①3、6 周虫草组大鼠血清 ALT、ALB 及 HA 浓度与对应模型组无显著差异($P>0.05$)，9 周虫草组大鼠血清 ALT、HA 浓度显著低于 9 周模型组大鼠($P<0.05$)，而其血清 ALB 浓度则显著高于 9 周模型组大鼠($P<0.05$)；②所有虫草组及模型组大鼠肝糖原浓度均低于正常大鼠($P<0.01$)，且 3、6、9 周虫草组大鼠肝糖原浓度与对应模型组无差异($P>0.05$)；③3、6、9 周大鼠间肝糖原浓度均无差异($P>0.05$)，即其肝糖原浓度无时间动态改变。结论：虫草菌丝在抗肝纤维化的同时不能改善肝糖原的合成。

【关键词】虫草菌丝；肝纤维化；肝糖原

【中国图书分类法分类号】R333.4；R282 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－03－22

The dynamical influence of Cordyceps sinensis on the hepatic glycogen level of experimental hepatic fibrosis in rats

ZHANG Xia, et al

(*Department of Gastroenterology, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the dynamical effects and mechanisms of Cordyceps sinensis(CS) on hepatic glycogen level in CCl_4 induced hepatic fibrosis in rats. *Methods*: Rats were randomly allocated into a normal group, a model group and a CS group. The latter two groups were administered with CCl_4 solution to induce hepatic fibrosis. The CS group was also treated with CS 10 days after the beginning of CCl_4 administration. Rats in the normal group were sacrificed at the beginning of the experiment, while the other two groups were sacrificed randomly at the end of the third, the sixth and the ninth week. Blood and tissue specimens were taken. Biochemical assays were used to determine the change of the serum ALT, ALB level, and radioimmunological assays were used to determine the change of the serum HA level. The hepatic glycogen levels were detected by anthrone. *Results*: There were no significant differences of the serum level of ALT, ALB, HA between the CS group and the model group at the third and the sixth week($P>0.05$). The serum level of ALT, HA in the CS group was lower than that in the model group at the ninth week($P<0.05$), but the serum level of ALB in the CS group was higher than that in the model group at the ninth week($P<0.05$). The hepatic glycogen levels in the CS group and the model group were lower than that of the normal group($P<0.01$). There were no differences in the hepatic glycogen level between the CS group and the model group($P>0.05$). There were no time－dynamical change in the hepatic glycogen levels among all the rats at the third, the sixth and the ninth week($P>0.05$). *Conclusion*: Cordyceps sinensis can inhibit the hepatic fibrosis, and at the same time, doesn't improve the hepatic glycogen synthesis.

【Key Words】Cordyceps sinensis; Hepatic fibrosis; Hepatic glycogen

虫草菌丝是近年来受到广泛关注的并已被证实有抗肝纤维化的中草药，但其在抗肝纤维化的同时对肝糖原有何影响尚缺乏研究。本研究复制了慢性肝炎→肝纤维化→肝硬化的动物模型，并予虫草菌丝干预，以动态观察其抗肝纤维化和影响肝糖原的作用，并探讨其可能机制，以深入阐明虫草菌丝的药理作用，为延缓或预防慢性肝病向肝纤维化、肝硬化及肝源性糖尿病发展的临床防治提供理论依据。

作者介绍：张 霞(1972－)，女，主治医师，博士，主要研究方向：肝源性糖尿病的发病机制。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 对象和方法

1.1 对象

Wistar 大鼠,体重 250～300g,雌雄兼用,由本校实验动物中心提供。随机分为模型组、虫草组、正常组。将 CCl_4 及色拉油混合制成 40% 溶液,予模型组及虫草组大鼠皮下注射,首剂 0.5ml/100g 体重,以后 0.3ml/100g 体重,每周 2 次。实验开始 10 天后,虫草组予 33% 虫草菌丝生理盐水悬浊液 1.5ml/100g 体重每日灌胃,模型组予生理盐水 1.5ml/100g 体重每日灌胃。分别于 3、6、9 周末将模型组及虫草组大鼠随机处死 5～8 只,正常组于实验开始时处死。

1.2 方法

1.2.1 血清标本 以 0.5% 异戊巴比妥纳 0.4ml/100g 体重腹腔注射,待动物麻醉后,体外心脏采血 5ml,待凝血后取血清 1～2ml,4℃ 冰箱保存待检。

1.2.2 肝组织病理切片制备 打开腹腔,取肝右叶,切取肝组织 10mm×10mm×3mm,置于含 0.1% DEPC 的 4% 多聚甲醛/0.1 mol/L PBS 固定液中固定。24h 内石蜡包埋、切片。

1.2.3 肝组织匀浆制备 取肝右叶少许,称重(g),用 10× PBS(pH7.4)缓冲液冲掉血液,按重量:体积(lg:50ml)加入 10× PBS(pH7.4)缓冲液,以 15000r/min 离心 10s,连续 5 次,制成 2% 的匀浆。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 肝功能测定 采用全自动生化分析仪酶法测定血清 ALT 及 ALB 浓度。

1.3.2 血清 HA 浓度的测定 试剂盒由上海海军医学研究所提供,采用放免分析法,第二抗体作为分离剂测定血清 HA 浓度。

1.3.3 肝糖原浓度的测定 采用蒽酮试剂法,蒽酮试剂必须测定当天现配现用,配制方法:将 50mg 蒽酮及 1000mg 硫脲溶于 72%(V:V)的硫酸 100ml 中。然后取制备好的肝组织匀浆 0.5ml 于 1.5ml 的 Ep 管中,然后加入 4% 磺基水杨酸 0.5ml,混匀并 6000r/min 离心 20min,取 0.2ml 上清液与蒽酮试剂反应后测定 OD_{620nm}。计算结果:肝糖原(mg/g 肝重)=(OD 样品÷OD 标准)×50

1.4 统计学方法

多组间的两两比较使用完全随机设计的方差分析,两组间比较使用 t 检验。

2 结 果

2.1 肝脏纤维组织增生情况

HE 染色显示,正常对照组肝小叶结构完整,无变性、坏死、炎性细胞浸润及纤维组织增生。模型组 3 周末时病变以炎性损害为主,肝细胞广泛脂肪变性,炎细胞浸润,并可见少量纤维组织由中央静脉及汇管区向外延伸,虫草组 3 周末时病变与模型组相似。模型组 6 周末在原有病变基础上可见纤维组织增生明显,但未形成假小叶,虫草组亦可见纤维组织增生。模型组 9 周末有大量纤维组织增生,并形成假小叶,虫草组纤维组织增生较模型组少,且无假小叶形成。见图 1、2。

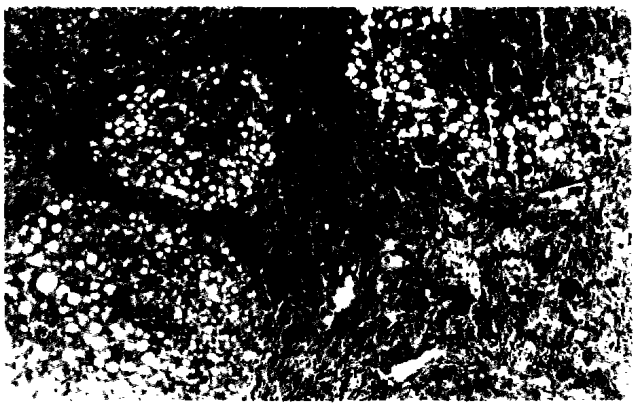


图 1 模型组大鼠肝组织形态 ×100

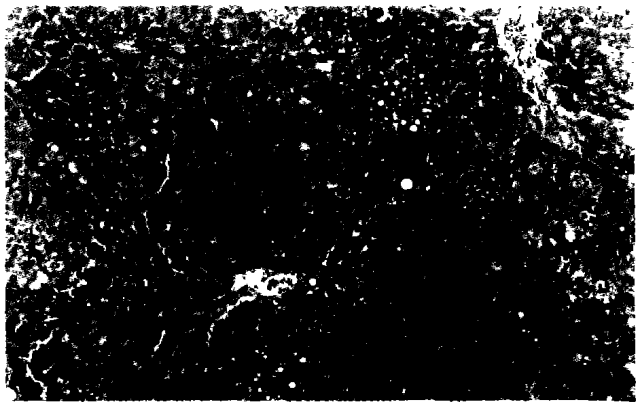


图 2 虫草组大鼠肝组织形态 ×100

2.2 虫草菌丝对血清ALT、ALB浓度的影响,见表1

表 1 各组大鼠血清 ALT、ALB 浓度的测定结果($\bar{x} \pm s$)

	ALT(u/L)	ALB(g/L)
正常组 ($n=7$)	63.6±11.9	31.0±2.2
3 周模型组($n=5$)	78.8±17.7	26.4±1.4
6 周模型组($n=5$)	395.0±5.7	27.8±3.4
9 周模型组($n=6$)	224.3±179.8	24.4±1.3
3 周虫草组($n=5$)	80.8±41.2*	26.4±0.9☆
6 周虫草组($n=5$)	216.0±4.2△	27.4±3.0◇
9 周虫草组($n=8$)	98.0±34.3□	26.9±0.7○

注:vs 模型组,*、☆、△、◇均为 $P>0.05$;□、○ $P<0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.3 虫草菌丝对血清 HA 浓度的影响,见表 2

表 2 各组大鼠血清 HA 浓度的测定结果($\bar{x} \pm s$)

	HA(ng/ml)
正常组 ($n=7$)	155.4±56.1
3 周模型组($n=5$)	260.6±106.8
6 周模型组($n=5$)	180.4±100.0
9 周模型组($n=6$)	294.0±104.2
3 周虫草组($n=5$)	225.5±14.4[*]
6 周虫草组($n=5$)	275.3±199.8[△]
9 周虫草组($n=8$)	202.2±79.6[-]

注:vs 模型组,[*]、[△] $P>0.05$;[-] $P<0.05$

2.4 虫草菌丝对肝糖原浓度的影响,见表 3

表 3 各组大鼠肝糖原浓度的测定结果($\bar{x} \pm s$)

	肝糖原(mg/g 肝重)
正常组 ($n=7$)	14.5±4.2
3 周模型组($n=5$)	6.6±3.1[*]
6 周模型组($n=5$)	2.0±0.5[△]
9 周模型组($n=6$)	4.7±2.4[-]
3 周虫草组($n=5$)	8.9±2.0[☆]
6 周虫草组($n=5$)	5.3±2.9[◇]
9 周虫草组($n=8$)	5.7±3.2[○]

注:vs 正常组,[*]、[☆]、[△]、[◇]、[-]、[○]均为 $P<0.01$;vs 模型组,[☆]、[◇]、[○]均为 $P>0.05$

3 讨 论

虫草菌丝具有调节人体免疫功能及抗免疫损伤性肝硬化的作用,研究表明它不仅可减轻肝脏的炎性细胞浸润和肝细胞变性坏死,抑制Ⅰ、Ⅲ型胶原的沉积,而且能使已形成的胶原重新溶解和吸收,是治疗病毒性肝炎、肝硬变的一个值得推广的药物[1,2]。但其对肝糖原合成的影响尚缺乏研究,本课题旨在研究虫草菌丝除具抗肝纤维化作用外,是否对肝糖原合成产生影响并探讨其可能机制。

本研究结果显示:9 周虫草组大鼠血清 ALT 及 HA 浓度均低于模型组($P<0.05$),ALB 浓度高于模型组($P<0.05$),而 3 周及 6 周虫草组大鼠血清 ALT、ALB 及 HA 浓度与对应模型组无显著差异($P>0.05$),提示虫草菌丝在造模后期才具有减少肝细胞破坏、抑制肝纤维化及促进肝细胞再生的作用。

肝脏是葡萄糖代谢的重要器官,它主要通过以下几方面来调节葡萄糖代谢:①葡萄糖的摄取,②肝糖原的合成与分解,③糖异生。血中葡萄糖可自由通过肝细胞,口服葡萄糖后约 60% 被摄取,进入肝细胞后经葡萄糖激酶迅速被磷酸化为 6-磷酸-葡萄糖(G-6-P),并进一步经糖原合成酶合成为糖原贮存[3]。给大鼠注入四氯化碳后可使肝细胞产生化学性损伤,因此肝细胞对葡萄糖的摄取减少,肝糖原的合成亦相应减少。本研究结果提示造模后 3 周大鼠的肝糖原浓度即较正常鼠明显减少($P<0.01$),至造模 6 周、9 周其肝糖原浓度与 3 周时无差异($P>0.05$),提示实验性肝纤维化大鼠模型其肝糖原浓度不存在时间动态改变,在造模早期即出现肝糖原合成的障碍。且研究结果还提示虫草组大鼠肝糖原浓度与对应模型组无差异($P>0.05$),CCl_4 对肝细胞的损伤主要在造模早期,而在造模后期虫草菌丝才具有减少肝细胞破坏、抑制肝纤维化和促进肝细胞再生的作用,因此虫草菌丝不能显著改善实验性肝纤维化大鼠肝糖原的合成。

参 考 文 献

[1] 刘 成,薛惠明,徐列明,等. 人工虫草菌丝制剂治疗肝炎后肝硬化 22 例[J]. 上海中医药杂志,1986;6:30-32.

[2] 朱家璇,王宝恩,王泰玲. 冬虫夏草对实验性免疫性损伤性肝纤维化的预防和治疗作用研究[J]. 中华消化杂志,1994;14(6):333-335.

[3] 戚什铎,王友赤. 诊断学[M]. 第 4 版,北京:人民卫生出版社,1995;406.