

黄精多糖对顺铂致肝损害大鼠肝功能的 保护及抗氧化指标的影响

李超彦*, 周媛媛, 王福青, 郭芙莲

(漯河医学高等专科学校基础医学部, 河南 漯河 462002)

[摘要] 目的:观察黄精多糖(*Polygonatum sibiricum* polysaccharide, PSP)对顺铂(cisplatin, CP)致大鼠肝损害的保护作用及抗氧化指标的影响。方法:采用 ip 顺铂 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的方法制备肝损害模型,将 40 只大鼠随机分为 5 组:空白组、模型组、PSP 低、中、高剂量组($10, 20, 40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$);分别 ig 处理 10 d,采血检测血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)水平;处死后剪取肝测定肝脏系数,肝组织匀浆后检测超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)含量;同时观察肝脏组织学结构变化。结果:与空白组比较,模型组大鼠血清 ALT, AST 含量均显著升高($P < 0.01$),肝组织匀浆中 SOD, GSH-Px 均下降($P < 0.01$),而 MDA 含量升高($P < 0.01$)。与模型组比较, PSP 作用后大鼠血清 ALT, AST 含量均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),肝组织匀浆中 SOD, GSH-Px 均明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),MDA 含量明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:黄精多糖可明显降低顺铂致大鼠肝功能损伤,其机制可能与其抗氧化作用有关。

[关键词] 黄精多糖; 顺铂; 肝损害; 丙氨酸转氨酶; 天冬氨酸转氨酶; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 谷胱甘肽过氧化物酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0229-03

[doi] 10.11653/syfy2013160229

Protection Effect and Antioxidation of *Polygonatum sibiricum* Polysaccharide on Liver Function in Cisplatin-induced Hepatotoxicity Rats

LI Chao-yan*, ZHOU Yuan-yuan, WANG Fu-qing, GUO Fu-lian

(School of Basic Medical Sciences, Luohe Medical College, Luohe 462002, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protection effect of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide (PSP) on cisplatin-induced hepatotoxicity. **Method:** Forty Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control group, model group, the low dosage group, the middle dosage group and the high dosage group of PSP, with eight rats in each group. The model rats with hepatotoxicity were duplicated with injection of cisplatin ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). The rats were injected with cisplatin ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) after fifth days rats in the low, middle and high dosage group of PSP were treated by PSP 10, 20, 40 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ once a day. After 10 days of administration with PSP, the changes of liver coefficient were examined and the blood alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino transferase (AST), the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and the content of malondialdehyde (MDA) was measured. **Result:** Compared with the normal control group, contents of ALT, AST in serum were significantly increased in each treatment group ($P < 0.01$), the content of MDA was significantly increased ($P < 0.01$) and the activity of SOD and GSH-Px was significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, contents of ALT, AST in serum were significantly decreased in each treatment group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), the content of MDA was significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) and the activity of SOD and GSH-Px was significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** PSP may improve the

[收稿日期] 20130224(006)

[基金项目] 河南省教育厅自然科学研究资助项目(2009C310008)

[通讯作者] *李超彦,讲师,从事生理学教学及科研, Tel:13633957896, E-mail:lichaoyan2010@126.com

function in liver injury rats induced by cisplatin and inhibite the oxidative damage of liver.

[Key words] polygonati polysaccharide; cisplatin; hepatotoxicity; ALT; AST; SOD; MDA; GSH-Px

顺铂(cisplatin, CP)是一种周期非特异性重金属类抗癌药,在临床治疗中对各类实体瘤均具有较强的抑制和杀伤作用,但 CP 的细胞毒作用限制了其广泛和大剂量应用^[1-2];目前研究主要侧重于降低 CP 的肾毒性,而对其引起的肝功能损伤报道不多^[3-4]。黄精多糖(Polygonatum sibiricum polysaccharides, PSP)是黄精水提物的主要有效成分和生物学活性成分之一,研究发现其具有一定的增强免疫力、降脂、降血糖、抗氧化作用^[5-6]等多种药理作用;但其对 CP 导致的肝功能损害是否具有保护作用却未见报道。本实验主要观察 PSP 是否对顺铂致大鼠肝功能损害具有保护作用及抗氧化指标的影响,并探讨其可能机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级 Sprague-Dawley 大鼠 40 只,雌雄各半,体重 160 ~ 180 g,由河南医学实验动物中心提供(合格证号医动字第 20100109 号)。

1.2 药品与试剂 50% 黄精多糖,由陕西杨凌东科麦迪森制药有限公司提供。丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(均购自南京建成生物工程研究所,批号 20110331)。顺铂冻干粉(批号 09010201,20 mg,齐鲁制药有限公司生产,临用前 0.9% 氯化钠溶液配制)。

1.3 仪器 721-分光光度计(上海第三分析仪器厂),超低温冰箱(美国 ThermoForma702),AU2700 全自动生化分析仪(日本奥林巴斯公司),MSE-25 型高速冷冻离心机(上海科学仪器厂)。

2 方法

2.1 分组及给药 将 40 只 SD 大鼠随机分为 5 组,每组 8 只,雌雄各半。①空白组:ig 生理盐水 3 mL·d⁻¹,连续 10 d;②模型组:ig 生理盐水 3 mL·d⁻¹,连续 10 d,于第 6 天开始 ip 顺铂 5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续 5 d;③PSP 低剂量组:ig 黄精多糖 10 g·kg⁻¹·d⁻¹,连续 10 d,于第 6 天开始 ip 顺铂 5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续 5 d;④PSP 中剂量组:ig 黄精多糖 20 g·kg⁻¹·d⁻¹,连续 10 d,于第 6 天开始 ip 顺铂 5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续 5 d;⑤PSP 高剂量组:ig 黄精多糖 40 g·kg⁻¹·d⁻¹,连续 10 d,于第 6 天开始 ip 顺铂 5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续 5 d。

2.2 肝脏指数测定 末次给药 24 h 后,大鼠禁食,不禁水 12 h 后,10% 水合氯醛 ip 麻醉,摘眼球取血并剪取肝脏称重计算肝脏指数(肝质量/体重 × 100)。

2.3 血液生化测定 分离血清后采用全自动生化分析仪测定血清 ALT 及 AST。

2.4 组织匀浆制备 剖腹后迅速取出大鼠肝脏,制成 10% 肝组织匀浆,3 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液置 4 ℃ 冰箱备用。SOD, GSH-Px, MDA 测定均严格按试剂盒说明书检测。

2.5 组织病理学观察 实验大鼠注射顺铂后第 5 天处死,取肝脏用磷酸缓冲液(PBS)冲洗,10% 甲醛固定,石蜡包埋切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜观察肝组织形态。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠肝脏系数及血清 ALT, AST 的影响 与空白组比较,模型组大鼠肝脏系数明显减小,血清 ALT, AST 明显升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, PSP 中、高剂量组均可使肝脏系数增高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),同时血清 ALT, AST 明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), PSP 低剂量组也可降低血清 AST ($P < 0.05$);且 PSP 降酶作用呈量-效关系。见表 1。

表 1 PSP 对 CP 致肝损害大鼠肝脏系数及血清 ALT, AST 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肝脏系数 /%	ALT /U·L ⁻¹	AST /U·L ⁻¹
空白	-	4.13 ± 0.45	32.8 ± 6.3	132.8 ± 11.3
模型	-	3.34 ± 0.66 ¹⁾	51.2 ± 7.3 ¹⁾	210.2 ± 8.9 ¹⁾
PSP	10	3.41 ± 0.50	45.4 ± 5.9	171.8 ± 16.4 ²⁾
	20	3.58 ± 0.36 ²⁾	39.0 ± 8.5 ²⁾	168.5 ± 21.3 ²⁾
	40	4.11 ± 0.40 ³⁾	34.5 ± 6.3 ^{2,4)}	142.8 ± 17.7 ^{3,4)}

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$;与 PSP 低剂量组比较⁴⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.2 对肝组织匀浆生化指标的影响 与空白组比较,模型组大鼠肝组织匀浆上清液中 SOD, GSH-Px 均明显下降 ($P < 0.01$), MDA 含量明显升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,各 PSP 剂量组大鼠肝组织匀浆上清液中 SOD, GSH-Px 均明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而 MDA 含量明显下降 ($P < 0.05$ 或 $P <$

0.01),且 PSP 高剂量组增加 SOD, GSH-Px 及降低 MDA 水平的能力优于 PSP 低剂量组($P < 0.05$),见表 2。

表 2 PSP 对 CP 致肝损害大鼠肝组织匀浆 SOD, MDA, GSH-Px 的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	SOD / $U \cdot mg^{-1}$	MDA / $nmol \cdot mg^{-1}$	GSH-Px / $\mu g \cdot mg^{-1}$
空白	-	309.4 ± 9.6	3.86 ± 0.47	1.69 ± 0.18
模型	-	197.6 ± 10.3 ¹⁾	6.12 ± 0.29 ¹⁾	1.22 ± 0.10 ¹⁾
PSP	10	217.1 ± 14.6 ²⁾	5.31 ± 0.31 ²⁾	1.29 ± 0.14 ²⁾
	20	231.5 ± 11.4 ²⁾	4.54 ± 0.53 ²⁾	1.44 ± 0.11 ²⁾
	40	258.6 ± 11.9 ^{3,4)}	4.16 ± 0.64 ^{3,4)}	1.61 ± 0.16 ^{3,4)}

3.3 对 CP 致大鼠肝脏组织形态学改变影响 HE 染色切片显示对照组大鼠肝组织结构未见异常,肝细胞核圆形,胞质嗜酸性强,肝血窦间隔肝索排列,肝索排列整齐。与对照组比较,模型组肝组织切片显示细胞排列紊乱,部分呈现坏死,胞质内呈现大量空泡,肝门管区出现淋巴细胞浸润及纤维组织增生。PSP 中、高剂量组减轻了肝组织损伤,且高剂量组减轻作用明显,细胞排列整齐,可见正常肝血窦及肝索结构,肝组织纤维化较模型组减轻。

4 讨论

CP 对多种恶性肿瘤包括消化系统肿瘤、生殖系统及泌尿系统等均有明显剂量依赖性的杀伤作用^[2];但其也具有严重的剂量依赖性细胞毒作用^[7],主要表现为对肝脏、肾脏等脏器功能的损害^[3,8]。CP 致肝脏毒性作用机制目前尚不明确,研究发现可能与其所致脂质过氧化反应增强有关,引发肝细胞变性、灶性坏死、凋亡、肝血窦狭窄,导致急性肝功能障碍等一系列肝脏毒性反应^[9-10]。因此抑制氧自由基生成,增强抗氧化功能、提高 SOD 活性及 GSH-Px 等抗氧化酶类含量可能是降低 CP 致肝脏毒性作用的研究方向之一。近年来研究发现 PSP 具有一定的抗氧化作用,可降低大鼠心、脑及肾脏组织中脂质过氧化产物的含量^[5],但其对 CP 所致肝损害是否具有保护作用尚未见报道。

本研究以大鼠血清 ALT, AST 水平作为检测肝功能的指标,以肝组织匀浆上清液中 SOD, GSH-Px, MDA 水平作为抗氧化指标及同时测定肝脏系数。结果显示 PSP 各组均可减轻 CP 所致的肝细胞的破坏作用,且其降低血清 ALT, AST 能力随 ig PSP 量增大而增强;大鼠肝组织匀浆中 SOD, GSH-Px 活性升

高及 MDA 含量降低的能力也与 ig PSP 量相关;随着 ig PSP 量增大大鼠肝脏系数逐步恢复。提示 PSP 对 CP 致大鼠肝功能损伤的保护存在剂量依赖性,但具体的剂量依赖关系有待于进一步实验证实。PSP 改善大鼠肝功能损伤的机制可能与其抗氧化作用有关,通过降低 CP 所致的肝细胞脂质过氧化增强,减轻 CP 对肝细胞的毒性。PSP 作为外源性抗氧化剂并未改变 CP 的细胞毒靶位及降低其细胞毒性,因此推测 PSP 降低 CP 细胞毒性的同时并未影响其对癌细胞增殖抑制作用和诱导凋亡的影响^[11]。PSP 作为外源性抗氧化物质增强机体内源性抗氧化能力的机制尚不明确,但其提高肝脏组织中 SOD 活性及 GSH-Px 水平、降低 MDA 含量,可能是其保护肝功能的机制之一。

[参考文献]

- [1] Robson H, Meyer S, Shalet S M, et al. Platinum agents in the treatment of osteosarcoma: efficacy of cisplatin vs. carboplatin in human osteosarcoma cell lines [J]. *Med Pediatr Oncol*, 2002, 39(6):573.
- [2] Gonzalez V M, Fuertes M A, Alonso C. Is cisplatin cell death always produced by apoptosis [J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 59(4):657.
- [3] Stewart J D, Bolt H M. Cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Arch Toxicol*, 2012, 86(8):1155.
- [4] Zicca A, Cafaggi S, Mariggio M A, et al. Reduction of cisplatin hepatotoxicity by procainamide hydrochloride in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 442(3):265.
- [5] 张庭廷,夏晓凯,陈传平,等. 黄精多糖的生物活性研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2006, 12(7):42.
- [6] 张涛,金英,魏晓东,等. 黄精多糖对衰老小鼠肝线粒体呼吸链酶及 DNA 聚合酶 γ 表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(16):2076.
- [7] 刘秀均,刘婷. 苦参碱联合顺铂抗肝癌的实验研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2007, 13(6):37.
- [8] 罗景慧,杨迎暴. N-乙酰半胱氨酸对顺铂诱导急性肾损伤后肾脏组织氧化应激水平的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(19):170.
- [9] 冉志华. 顺铂对表达 Hsp27 基因细胞株的细胞毒影响的实验观察 [J]. *肿瘤学杂志*, 2001, 7(2):76.
- [10] 曾健,劳山. 顺铂肾毒性机制及其防护的研究进展 [J]. *中国实用医药*, 2008, 3(10):194.
- [11] 韩咏梅. 减轻顺铂毒性的研究进展 [J]. *国外医学:肿瘤学分册*, 1999, 26(2):86.

[责任编辑 聂淑琴]