

蒲公英对酒精性肝损伤的影响

任丽平^{1,2}, 杜钢军^{2*}, 崔新萍³

(1. 漯河医学高等专科学校, 河南 漯河 462002; 2. 河南大学药学院, 河南 开封 475001;
3. 漯河市郾城区人民医院, 河南 漯河 462300)

[摘要] 目的: 探讨蒲公英对小鼠肝损伤保护作用。方法: 采用小鼠白酒 ig 制备酒精性肝损伤动物模型, 成型小鼠随机分为蒲公英低、中、高治疗组(5, 10, 20 g·kg⁻¹), 联苯双酯治疗组(0.6 g·kg⁻¹), 模型组, 各组分别给与药物治疗 6 周。观察用药前后各组小鼠血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)和组织匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)及一氧化氮(NO)、肿瘤坏死因子(TNF- α)水平的变化。结果: 蒲公英 5~20 g·kg⁻¹可明显降低酒精性肝损伤小鼠血清中 ALT, AST 水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 减少肝组织匀浆的 MDA, NO, TNF- α 含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 升高肝匀浆 SOD, GSH-Px 的水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 与模型组比较, 差异有统计学意义。结论: 蒲公英提取物能通过改变某些炎症介质和细胞因子, 从而减轻或防治相关损伤, 达到抗炎的目的。

[关键词] 小鼠; 蒲公英; 酒精性肝损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0179-03

Study on Protective Effect of Taraxact Herba on Alcohol-induced Liver Injury

REN Li-ping^{1,2}, DU Gang-jun^{1*}, CUI Xin-ping³

(1. Luohe Medical College, Luohe 462002, China; 2. Pharmacy College of Henan University, Kaifeng 475001, China; 3. Yancheng People's Hospital, Luohe 462300, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of Taraxaci Herba on alcohol-induced liver injury. **Method:** The paper studied alcohol-induced liver injury model in mice. The model mice were randomly divided into five groups, including Taraxaci Herba low dose group, Taraxaci Herba medium dose group, Taraxaci Herba high dose group, bifendate group and model group. Every group was respectively treated for 6 weeks with Taraxaci Herba, bifendate or normal saline accordingly. The activities of aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT) in serum, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px); and the content of malondialdehyde (MDA), nitrogen monoxide (NO), TNF- α in liver were investigated. **Result:** Taraxaci Herba could remarkably resist the increase of ALT, AST in serum ($P < 0.05$ - $P < 0.01$), and decrease MDA, NO, TNF- α level ($P < 0.05$ - $P < 0.01$), and improve SOD activity and GSH-Px level ($P < 0.05$ - $P < 0.01$), and the differences were statically significant. **Conclusion:** Taraxact Herba could change inflammatory mediators and cytokines significantly, thereby reducing or preventing related injury for the anti-inflammatory purpose.

[Key words] mice; Taraxaci Herba; alcohol-induced liver injury

[收稿日期] 20100528(004)

[第一作者] 任丽平, 在读研究生, 助教, 主要从事药理研究工作

[通讯作者] * 杜钢军, 博士, 副教授, 主要从事药理研究工作, Tel: 0378-3880680, E-mail: dugangjun@henu.edu.cn

蒲公英具有较强的清除自由基、抗氧化、抗炎、抗动脉粥样硬化、细胞保护作用, 以及具有抗菌、消炎、抗肿瘤等多种药理作用^[1], 本文通过酒精性肝损伤小鼠来证实蒲公英的抗炎作用。

1 材料

1.1 药品与试剂 蒲公英, 购自张仲景大药房; 联

苯双酯(批号 20090209)购自济南金达药化有限公司(批号);丙氨酸转氨酶(ALT,批号 20090322)、天冬氨酸转氨酶(AST,批号 20090327)、超氧化物歧化酶(SOD,批号 20090317)、丙二醛(MDA,批号 20090127)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px,批号 2009221)、肿瘤坏死因子(TNF- α ,批号 2009213)试剂盒购自南京建成工程研究所。

1.2 动物 昆明种小鼠,雌雄兼用,18~22 g;均由河南郑州大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(豫)2009-0001。

1.3 仪器 BSS224 型电子天平(赛多利斯仪器系统有限公司);倒置显微镜(Nikon Eclipse TS100);MK3 型酶标仪(上海雷勃分析仪器有限公司);CL8000 全自动生化分析仪(日本岛津公司)。

2 方法

2.1 蒲公英的煎煮 蒲公英加 8 倍量水,煎煮 1 h,共 2 次,合并 2 次滤液,浓缩至每 1 mL 相当于 1 g 原药材,并稀释成所需要浓度,备用。

2.2 酒精性肝损伤动物模型的建立和给药方法 60 只昆明种小鼠按体重、性别相近原则随机分为 6 组($n=10$):正常对照组,模型组,联苯双酯组($0.6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),蒲公英低、中、高剂量组(5, 10, $20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。喂养适应 1 周后,除正常对照组以等量生理盐水 ig 外,其余各组进行造模,以 56% 体积分数白酒 $15 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重每日清晨 ig 1 次。造模 6 周后,蒲公英治疗组和联苯双酯组在乙醇 ig 之后,各组按体重分别以 $0.02 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 给药,1 次/d,各组小鼠在实验期间均予以饮用水及全价营养颗粒喂养,每周称重 2 次,造模周期共 12 周。

2.3 血清制备 造模末次给药 24 h 后(禁食 12 h),称重,以 3% 戊巴比妥麻醉,眼静脉取血并处死。冰箱静置 2 h 以上, $3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上清分装于塑料试管中,置冰箱($-20\text{ }^\circ\text{C}$)中冷冻保存。

2.4 肝组织匀浆制备 取出肝脏,先用 PBS 冲洗 2 遍,然后用双蒸馏水 1:5 研磨成组织匀浆, $3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,10 min 离心后取上清液检测。

2.5 生化检测 按照试剂盒说明书检测血清中 ALT,AST,SOD,MDA,NO,GSH-Px,TNF- α 含量。

2.6 数据处理 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 12.0 统计软件进行统计分析,多组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 蒲公英对小鼠血清中 ALT,AST 水平的影响 模型组 ALT,AST 较空白对照组明显升高,具有显著性差异($P < 0.05$,或 $P < 0.01$),蒲公英治疗组与正常对照组相比,实验各组大鼠血清 ALT,AST 水平均有不同程度的升高;各剂量蒲公英组与模型组相比,均有明显下降并呈剂量-效应关系($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 各组小鼠血清中 ALT,AST 含量的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	AST/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$
正常对照	-	$39.70 \pm 11.2^{2)}$	$121.70 \pm 11.7^{1)}$
模型	-	110.20 ± 13.7	197.80 ± 23.9
联苯双酯	0.6	$59.17 \pm 13.29^{1)}$	$139.80 \pm 11.3^{1)}$
蒲公英	5	$67.30 \pm 22.31^{1)}$	167.90 ± 18.7
	10	$60.21 \pm 17.29^{1)}$	$140.70 \pm 11.2^{1)}$
	20	$55.10 \pm 11.23^{2)}$	$138.70 \pm 8.9^{1)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.2 蒲公英对各组小鼠肝组织脂质过氧化损伤的影响

3.2.1 蒲公英对各组小鼠肝组织 MDA,NO 的影响 与正常对照组相比,模型组肝组织匀浆中 MDA 和 NO 明显增加($P < 0.01$),说明酒精性肝损伤与氧化应激有明显的关系;与模型组相比,各蒲公英治疗组均可不同程度地降低肝组织中 MDA 和 NO($P < 0.05, P < 0.01$),并呈剂量-效应关系,说明蒲公英具有一定的抗氧化作用。见表 2。

表 2 各组小鼠肝组织 MDA,NO 含量的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$	NO/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$
正常对照	-	$1.47 \pm 0.17^{2)}$	$2.37 \pm 0.21^{2)}$
模型	-	3.41 ± 0.39	4.58 ± 0.38
联苯双酯	0.6	$1.67 \pm 0.23^{2)}$	$3.61 \pm 0.31^{1)}$
蒲公英	5	3.12 ± 0.19	4.21 ± 0.18
	10	$1.87 \pm 0.37^{1)}$	$3.97 \pm 0.24^{1)}$
	20	$1.57 \pm 0.29^{2)}$	$3.17 \pm 0.37^{2)}$

3.2.2 蒲公英对各组大鼠肝组织 GSH-Px, SOD 的影响 模型组 GSH-Px, SOD 较空白对照组明显下降($P < 0.01$),说明酒精性肝损伤与氧化应激有明显的关系,蒲公英治疗组与模型组相比,实验各组大鼠肝组织 GSH-Px, SOD 水平均有不同程度的升高,与阳性对照有类似的治疗效果($P < 0.05, P < 0.01$),各剂量蒲公英组与模型组相比,均有明显治疗效果并呈剂量-效应关系。见表 3。

表3 各组小鼠肝组织 GSH-Px, SOD 的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	GSH-Px/ $U \cdot mg^{-1}$	SOD/ $U \cdot mg^{-1}$
正常对照	-	73.9 \pm 3.1 ²⁾	178.67 \pm 21.17 ²⁾
模型	-	31.21 \pm 9.1	81.12 \pm 11.34
联苯双酯	0.6	62.7 \pm 4.3 ¹⁾	143.74 \pm 23.21 ¹⁾
蒲公英	5	61.7 \pm 5.9 ¹⁾	90.21 \pm 9.23
	10	60.3 \pm 3.7 ¹⁾	121.91 \pm 17.17 ¹⁾
	20	64.7 \pm 2.3 ¹⁾	150.63 \pm 21.14 ²⁾

3.2.3 蒲公英对各组小鼠肝组织 TNF- α 的影响
模型组 TNF- α 较正常对照组明显升高 ($P < 0.01$), 说明酒精性肝损伤与氧化应激有明显的关系, 引起细胞凋亡加大, 蒲公英治疗组与模型组相比, 实验各组小鼠肝组织 TNF- α 水平均有不同程度的下降 ($P < 0.05$, 或 $P < 0.01$), 各剂量蒲公英组与模型组相比, 均有明显治疗效果并呈剂量-效应关系, 说明蒲公英具有一定的抗氧化作用。见表4。

表4 各组小鼠肝组织 TNF- α 含量的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TNF- α / $mg \cdot g^{-1}$
正常对照	-	1.31 \pm 0.17 ²⁾
模型	-	2.74 \pm 0.27
联苯双酯	0.6	1.51 \pm 0.26 ¹⁾
蒲公英	5	1.71 \pm 0.29 ¹⁾
	10	1.57 \pm 0.19 ¹⁾
	20	1.43 \pm 0.31 ²⁾

4 讨论

在肝组织中 ALT 主要分布于胞浆内, AST 主要分布于细胞浆和线粒体中^[2]。正常情况下, AST 和 ALT 只存在于细胞内, 血清中甚少, 当肝细胞变性坏死, 肝细胞内 ALT, AST 大量释放, 导致血清中 ALT, AST 水平升高。通过乙醇对小鼠 ig 造模, 末次采血测定, 显示小鼠血清中 ALT, AST 活性较正常对照组明显升高, 通过中、高、低剂量蒲公英治疗, 血清中 ALT, AST 水平较模型组明显下降, 说明蒲公英能显著降低乙醇引起急性肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 水平, 且存在剂量效应。

有关研究证明, 乙醇在肝细胞内会产生过多的 OH⁻, O₂⁻, H₂O₂ 等自由基, 这些自由基可激活磷脂酶及脂质过氧化反应, 导致过氧化的终产物 MDA, NO 进一步增加^[3], 而肝脏抗氧化剂, 如 SOD, 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px) 等含量下降^[4], 因此通过 SOD, MDA, NO 和 GSH 四者联合检测可以反映机体细胞受自由基攻击的严重度。其中 SOD, GSH-Px 活力的高低间接反应了机体清除氧自由基的能力, 而 MDA, NO 的高低又是肝的损伤效应起放大作用^[5]。TNF- α 主要是由巨噬细胞和单核细胞产生, 是组织损害。本次实验研究表明, 蒲公英能明显降低肝组织的 MDA, NO, TNF- α 水平诱发细胞凋亡的重要因素。机体细胞因子失调, 细胞因子 TNF- α 水平发生改变, 并随着浓度增高, 可引起局部炎症反应, 导致组, 提高 SOD, GSH-Px 的含量, 提示药物能通过抑制脂质过氧化反应对肝脏产生保护作用, 减轻乙醇对肝脏的损伤。

本次实验从 ALT, AST 活性和 SOD, MDA, NO, GSH-Px, TNF- α 的水平入手, 研究蒲公英的保肝护肝作用, 经实验提示蒲公英具有保肝护肝的作用。

[参考文献]

- [1] 陈景耀, 龚祝南, 宰学明, 等. 蒲公英提取物黄酮类物质成分及其抗氧化活性的初步研究[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(3): 22.
- [2] 孙艳, 孟祥伟, 迟宝荣. 酒精性肝病发病机制的研究进展[J]. 吉林医学, 2006, 27(3): 230.
- [3] 吴鑫荪. 自由基与临床医学[J]. 微循环学杂志, 1998, 8(3): 34.
- [4] Lieber C S. New concepts of the pathogenesis of alcoholic liver disease lead to novel treatments [J]. Current Gastroenterol Rep, 2004, 6(1): 60.
- [5] 汪涛, 姜华, 陆国才. 四氯化碳肝脏毒性研究新进展[J]. 毒理学杂志, 2008, 22(4): 324.

[责任编辑 聂淑琴]