

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110321. 1134. 010

乙肝转阴颗粒对 *D*-半乳糖胺诱导小鼠 急性肝损伤的保护作用

杨欣, 王丽惠, 罗旭艳, 付书婕, 黄仁彬*
(广西医科大学药理学教研室, 南宁 530021)

[摘要] 目的:研究乙肝转阴颗粒(YGZYDG)对 *D*-半乳糖胺(*D*-GalN)所致小鼠急性肝损伤的保护作用,并探讨其作用机制。方法:观测 YGZYDG(1.68, 0.84, 0.42 g·kg⁻¹)连续 ig 7 d,对 ip *D*-GalN(0.8 g·kg⁻¹)致急性肝损伤模型小鼠血清门冬氨酸氨基转移酶(AST),丙氨酸氨基转移酶(ALT),碱性磷酸酶(AKP)活性,血清白蛋白(Alb)含量,总抗氧化能力(T-AOC)以及肝组织丙二醛(MDA)含量,超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。结果:与模型组比较,YGZYDG 能降低血清 AST,ALT 和 AKP 的活性及肝组织 MDA 含量;提高血清 Alb 含量,T-AOC 能力和肝组织 SOD 活性($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);能够减轻肝细胞损伤程度。结论:YGZYDG 对 *D*-半乳糖胺所致的急性肝损伤具有保护作用,其机制可能与其抗氧自由基、抑制脂质过氧化作用有关。

[关键词] 乙肝转阴颗粒;*D*-半乳糖胺,急性肝损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0152-03

Protection of Yigan Zhuanyin Granules on Acute Liver Injuries Induced by *D*-galactosamine in Mice

YANG Xin, WANG Li-hui, LUO Xu-yan, FU Shu-jie, HUANG Ren-bin*
(Department of Pharmacology, Medical University, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Yigan Zhuanyin granules (YGZYG) on acute liver injuries induced by *D*-galactosamine (*D*-GalN) in mice and its mechanism. **Method:** After oral administration of YGZYG (1.68, 0.84, 0.42 g·kg⁻¹) for seven days, the mice were abdominally administrated *D*-GalN (0.8 g·kg⁻¹) to induce liver injury. The activities of AST, ALT and ALP, the content of Alb, the ability of T-AOC in serum, the content of MDA, and the activity of SOD in liver tissue were investigated. **Result:** Compared with model group, the activities of AST, ALT and AKP, and the content of MDA in the treatment groups were decreased; while the content of Alb, the ability of T-AOC, and the activity of SOD were increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The degree of hepatic injury was lessened. **Conclusion:** YGZYG has protective effect on acute liver injury induced chemically. The mechanism may be related to attenuating free radical and inhibiting the effect on lipid peroxidation.

[Key words] Yigan Zhuanyin granules; *D*-galactosamine; acute liver injury

[收稿日期] 20101126(005)

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻0992003A-2)

[第一作者] 杨欣, 硕士研究生, 主要从事抗乙肝药研究, Tel: 0771-5358014, E-mail: maria1255@163.com

[通讯作者] * 黄仁彬, 博士生导师, 从事生化药理学研究, Tel: 0771-5339805, E-mail: huangrenbin518@163.com

[网络出版时间] 2011-03-21 11:34

乙肝转阴颗粒剂系根据壮族民间治疗肝炎经验研制的复方制剂,由白花蛇舌草、半枝莲、海金沙、夏枯草、蒲公英、土茵陈、马鞭草、三枝枪等多种中草药配伍组成,主要用于治疗乙型病毒性肝炎、肝硬化等。实验研究表明乙肝转阴颗粒剂对四氯化碳所致小鼠急性化学性肝损伤有明显的保护作用^[1]。本研究旨在对乙肝转阴颗粒剂进行临床前药效学研究,

观察其对D-半乳糖胺(D-GalN)所致小鼠急性化学性肝损伤的保护作用及其可能机制。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠:SPF级,雌雄各半,体重(20±2)g,由广西医科大学实验动物中心提供。试验动物生产许可证SCXKG(桂)2003-0003,试验动物使用许可证SYKG(桂)2003-0005。常规鼠饲料喂养,自由饮水。

1.2 药物及试剂 乙肝转阴颗粒剂(YGZYDG):主要药味有白花蛇舌草、半枝莲、海金沙、夏枯草、蒲公英、土茵陈、马鞭草、三枝枪等;由广西医科大学药厂协助制成颗粒,得率15.8%,批号20090601。临用前加入蒸馏水配制成YGZYDG高剂量(1.68g·kg⁻¹,相当于生药33.4g·kg⁻¹),YGZYDG中剂量(0.84g·kg⁻¹,相当于生药16.7g·kg⁻¹),YGZYDG低剂量(0.42g·kg⁻¹,相当于生药8.35g·kg⁻¹),4℃保存备用。D-半乳糖胺盐酸盐D-GalN:A Johnson Matthey Company,批号10146157;联苯双酯滴丸:广州星群(药业)股份有限公司,批号20090317;门冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(AKP)、血清白蛋白(Alb)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒:均购自南京建成生物工程研究所,批号均为090630;其余试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 动物分组及模型制备 取健康合格,体重(20±2)g的昆明种小鼠60只,随机分成6组,每组10只,即:正常对照组、CCl₄模型组、联苯双酯(0.15g·kg⁻¹,BPDC)阳性对照组。YGZYDG低、中、高剂量分别为颗粒剂0.42,0.84,1.68g·kg⁻¹。正常对照组和D-GalN模型组用20mL·kg⁻¹的等容量生理盐

水ig,给药组小鼠ig相应药物,按20mL·kg⁻¹ig给药,每日1次,共7d。末次给药后1h,正常对照组动物按20mL·kg⁻¹ig的给药容量ipNS,其余各组动物按相同的给药容量ipD-GalN溶液(0.8g·kg⁻¹),禁食不禁水约20h,取血及脏器进行测定。

2.2 血清生化指标测定 ipD-GalN20h摘除小鼠眼球取血,将凝固的血液于3000r·min⁻¹离心10min,分离血清,按各试剂盒说明书测定血清中的AST(赖氏法),ALT(赖氏法),Alb(溴甲酚绿比色法),AKP(铁氰化钾比色法),T-AOC(铁离子比色法)。

2.3 肝组织生化指标的测定

2.3.1 肝组织匀浆制备 选肝脏右叶用冷生理盐水漂洗去除积血,拭净后称重,加适量冰生理盐水,制备10%肝匀浆,4℃离心3500r·min⁻¹,15min,取上清。蛋白含量测定按考马斯亮蓝法。

2.3.2 肝组织MDA和SOD的测定 按试剂盒说明书的要求测定肝组织匀浆中SOD(黄嘌呤氧化酶法)、MDA(硫代巴比妥酸比色法)、组织中蛋白含量用考马斯亮蓝法测定。

2.4 统计学分析 统计学采用SPSS13.0软件,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用配对t检验。P<0.05有统计学意义。

3 结果

3.1 对D-GalN所致急性肝损伤小鼠血清酶,Alb,T-AOC的影响 对于D-GalN所致急性肝损伤小鼠,YGZYDG各剂量均能显著降低血清ALT,AST和AKP活性,提高Alb含量和T-AOC能力(P<0.01或P<0.05);其中YGZYDG高剂量作用最明显(P<0.01),见表1~2。

表1 YGZYDG对D-GalN所致小鼠急性肝损伤血清中ALT,AST,AKP的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

U·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ALT	AST	AKP
空白对照	-	49.94 ± 15.42	83.39 ± 22.02	32.73 ± 6.35
模型对照	-	157.92 ± 14.20	217.23 ± 38.86	51.60 ± 12.86
联苯双酯	0.15	59.39 ± 14.02 ²⁾	128.70 ± 39.19 ²⁾	36.95 ± 5.86 ²⁾
YGZYDG	1.68	80.63 ± 27.54 ²⁾	131.09 ± 35.47 ²⁾	37.76 ± 6.25 ²⁾
	0.84	98.65 ± 35.67 ²⁾	150.57 ± 48.99 ²⁾	42.03 ± 5.76 ¹⁾
	0.42	124.94 ± 19.63 ²⁾	180.44 ± 31.61 ¹⁾	44.07 ± 7.25

注:与模型组比较¹⁾ P<0.05,²⁾ P<0.01(表2~3同)。

3.2 YGZYDG对D-GalN所致急性肝损伤小鼠肝组织中SOD,MDA的影响 实验结果表明,D-GalN诱

导肝损伤后,使肝组织中的MDA含量升高,SOD活性降低。对于D-GalN所致急性肝损伤小鼠,

表 2 YGZYDG 对 D-GalN 所致小鼠急性肝损伤血清中 T-AOC 和 Alb 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	T-AOC /U·mL ⁻¹	Alb /g·L ⁻¹
空白对照	-	3.31 ± 1.21	6.18 ± 0.56
模型对照	-	1.28 ± 0.85	2.21 ± 0.47
联苯双酯	0.15	2.75 ± 1.30 ²⁾	3.58 ± 0.56 ²⁾
YGZYDG	1.68	2.41 ± 0.89 ²⁾	4.72 ± 0.51 ²⁾
	0.84	1.76 ± 0.99	2.97 ± 0.90 ¹⁾
	0.42	1.47 ± 0.72	2.81 ± 0.74 ¹⁾

YGZYSDG 各剂量均能降低 MDA 含量,提高 SOD 活性($P < 0.01$)。结果见表 3。

表 3 YGZYDG 对 D-GalN 所致小鼠急性肝损伤组织中 SOD,MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	SOD /U·mg ⁻¹	MDA /nmol·mg ⁻¹
空白对照	-	35.26 ± 7.31	11.93 ± 2.60
模型对照	-	14.58 ± 7.04	32.69 ± 12.38
联苯双酯	0.15	31.41 ± 7.75 ²⁾	17.16 ± 5.85 ²⁾
YGZYDG	1.68	30.11 ± 5.62 ²⁾	17.96 ± 18.97 ²⁾
	0.84	27.87 ± 6.88 ²⁾	18.97 ± 6.38 ²⁾
	0.42	26.29 ± 9.19 ²⁾	19.38 ± 3.91 ²⁾

4 讨论

D-GalN 是肝细胞磷酸尿嘧啶核苷的干扰剂,可造成肝弥漫性坏死和炎症,这跟临床上病毒性肝炎的肝脏病理变化相似^[2]。因此 D-GalN 肝损伤模型可以用于抗病毒性肝炎药物的研究^[3]。

D-GalN 进入体内还可产生自由基,目前研究表明,自由基(包括超氧阴离子自由基和羟基自由基)是启动脂质过氧化的关键因素,其含量越高则肝损伤程度就越严重^[4]。过多的氧自由基加剧肝细胞和线粒体的损伤,肝细胞和线粒体破损后释放 ALT、AST 和 AKP^[5]。本实验结果表明,对于 D-GalN 所致急性肝损伤,YGZYDG 各给药组 AST,ALT,AKP 活性均有显著的降低作用。

T-AOC 指的是机体氧化防御体系的整体状态,该防御体系有酶促和非酶促两个体系。Alb 仅由肝细胞合成,其含量下降说明肝细胞受损。用 D-GalN 造模后,Alb 含量和 T-AOC 活性显著降低,说明肝脏

有病变产生,各剂量 YGZYDG 能不同程度地增加 Alb 含量和提高 T-AOC 活性。

SOD 是超氧阴离子自由基的清除剂,可抑制自由基启动的脂质过氧化^[6]。MDA 是脂质过氧化降解的主要产物^[7],MDA 能使膜蛋白、酶发生交联反应,使膜通透性增加,导致细胞膜结构、功能和代谢发生改变,对机体造成损害,其含量反映了组织脂质过氧化损伤程度^[8]。MDA 的测定常常与 SOD 的测定相互配合可反映肝细胞损伤的程度和药物对肝细胞的拮抗作用。D-GalN 诱导肝损伤后,肝组织中的 SOD 活性降低,MDA 含量增高,给予不同剂量的 YGZYDG 后,对 SOD 活性有不同程度的增强作用,并不同程度地降低肝组织中 MDA 的含量。说明 YGZYDG 能增强 SOD 活性。

乙肝转阴散由白花蛇舌草、半枝莲等多种中草药配伍组成,主要用于治疗乙型病毒性肝炎、肝硬化等。实验研究表明乙肝转阴颗粒剂对 D-半乳糖胺诱导小鼠急性化学性肝损伤有明显的保护作用。其机制可能与抗脂质过氧化有关。

[参考文献]

- [1] 何萍,黄仁彬,林军,等. 乙肝转阴颗粒剂对小鼠四氯化碳急性肝损伤的保护作用[J]. 广西医科大学学报, 2006,23(5):732.
- [2] 韩硬海,李树桐. 临床肝脏病学[M]. 济南:山东科学技术出版社,2004:977.
- [3] 王四旺,施新酋,黄传贵,等. 中药药效学研究与评价[M]. 西安:陕西科学技术出版社,2005:351.
- [4] 郑荣梁. 自由基生物学[M]. 北京:高等教育出版社,1992.
- [5] Long R M, Moore L. Cytosolic calcium after carbon tetrachloride, 1, 1-dichloro-ethylene, and phenylephrine exposure. Studies in rat hepatocytes with phosphor-lyase and quin2[J]. Biochem Pharmacol,1987,36(8):121.
- [6] 陈怡,张建中,达坤林,等. 中药抗纤胶囊抗纤维化的临床与试验研究[J]. 南通医学院学报,2000,20(2):135.
- [7] 郑百红,毓明涛,郑百波,等. 微量元素硒对急性病毒性心肌炎患儿脂质过氧化损伤的影响[J]. 吉林大学学报:医学版,2004,30(3):43.

[责任编辑 聂淑琴]