

山芝麻对 CCl₄ 诱导小鼠肝损伤的 脂质过氧化反应的影响

林兴¹, 黄权芳², 张士军¹, 廖明¹, 黄仁彬^{1*}

(1. 广西医科大学, 南宁 530021; 2. 广西中医学院第一附属医院, 南宁 530023)

[摘要] 目的: 研究山芝麻水提物(*Helicteres angustifolia*)对四氯化碳(CCl₄)诱导肝损伤小鼠脂质过氧化反应的影响。方法: 以 CCl₄ 造成小鼠急性肝损伤模型, 山芝麻 ig, 测定血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、总抗氧化能力(T-AOC), 以及检测肝组织 MDA, SOD, NO 和 T-AOC 含量。结果: 山芝麻能保护 CCl₄ 所致小鼠肝损伤, 使血清 ALT, AST 活力和 MDA 含量下降, SOD 活性和 T-AOC 水平提高。山芝麻还能提高肝组织 SOD, T-AOC 含量, 降低 MDA, NO 水平。结论: 山芝麻具有抗脂质过氧化作用。

[关键词] 山芝麻; 四氯化碳; 脂质过氧化

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0147-03

Influence of Water Extract from *Helicteres angustifolia* on Lipid Peroxidation Induced by Carbon Tetrachloride in Mice

LIN Xing¹, HUANG Quan-fang², ZHANG Shi-jun¹, LIAO Ming¹, HUANG Ren-bin^{1*}

(1. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530023, China)

[Abstract] Objective: To study anti-lipid peroxidation effects of the water extract from *H. angustifolia* (HA) on liver damage induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in mice. **Method:** After acute liver injury model was induced by CCl₄, mice were administrated intragastrically with water extract of *H. angustifolia*, the content of alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), malondialdehyde (MDA) and activity of superoxide dismutase (SOD), ability of total antioxidation capacity (T-AOC) were measured respectively in serum. The levels of MDA, SOD, NO, T-AOC were evaluated respectively in liver. **Result:** *H. angustifolia* could markedly decrease ALT, AST, MDA content, increase SOD activity and ability of T-AOC respectively in serum, also could increase the content of SOD and T-AOC, decrease the levels of MDA and NO respectively in liver. **Conclusion:** *H. angustifolia* has the effect of anti-lipid peroxidation.

[Key words] *Helicteres angustifolia*, CCl₄; lipid peroxidation

[收稿日期] 20100411(003)

[基金项目] 广西教育厅自然科学基金面上项目 (200911MS28)

[第一作者] 林兴, 讲师, 硕士学位, 主要从事生化药理学、心血管药理学研究, Tel: 0771-5358342, E-mail: gxLx60@163.com

[通讯作者] * 黄仁彬, 教授, 博士生导师, 研究方向: 心血管药理学、生化药理学, Tel: 0771-5358272, E-mail: huangrenbin518@163.com

山芝麻系梧桐科植物山芝麻 *Helicteres angustifolia* L. 的根, 能清热解毒, 主要用于感冒发热、肺热咳嗽、咽喉肿痛、麻疹等。至今, 对山芝麻公开报道的研究主要集中在其化学成分的分、鉴定方面, 其药效学研究很少。本研究以 CCl₄ 诱发小鼠肝损伤的氧化应激模型, 探讨山芝麻对氧化应激小鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性、总抗氧化能力(T-AOC)等

的影响,首次评价山芝麻对 CCl₄ 诱发的小鼠肝脏氧化应激性肝损伤的保护作用。

1 材料与方

1.1 药物 山芝麻,经广西中医学院第一附属医院药学部黄权芳中药师鉴定为梧桐科植物山芝麻 *H. angustifolia* L. 的根,其水提物由广西医科大学药理学教研室和广西医学科学实验中心自行提取。

1.2 动物 昆明种小鼠,雌雄兼用,体重(25 ±2) g,由广西医科大学实验动物中心提供,动物使用许可证号 SYKG(桂) 2003—0005,实验动物生产许可证号 SCXKG(桂) 2003—0003。

1.3 试剂 丙二醛(MDA) 一氧化氮(NO) 总抗氧化能力(T-AOC), SOD, ALT, AST 试剂盒,南京建成生物工程研究所提供。

1.4 山芝麻提取 山芝麻饮片 1 000 g,加 10 倍量水提取 2 次,每次 1.5 h,合并提取液,浓缩至 500 mL(即相当于生药 2 g · mL⁻¹)。

1.5 动物分组给药及指标测定 60 只小鼠随机分 6 组,分别为正常对照组、CCl₄ 模型组、阳性对照组、山芝麻低、中、高剂量组。对照组和模型组分别 ig 给予生理盐水 10 mL · kg⁻¹;阳性对照组 ig 维生素 E(VitE) 2.5 g · kg⁻¹;山芝麻低、中、高剂量组分别 ig 给予山芝麻水提物按生药量计为 5, 10, 20 g · kg⁻¹;每天给药 1 次,连续 15 d。末次给药后 2 h,正常组 ip 等容量花生油,其余各组均 ip 0.1% CCl₄ 花生油溶液 10 mL · kg⁻¹ 1 次。禁食,自由饮水,16 h 后各组小鼠断头取血。以 16 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,取血清,采用 OLYMPUS AU600 型全自动生化分析仪测定 ALT, AST 活性;采用分光光度法测定吸光度 A 后计算出 MDA 含量。同时取适量肝组织用冰冷生理盐水冲洗,置冰浴中匀化制得 10% 肝匀

浆,以 4 000 r · min⁻¹ 离心 10min,取上清液测定 MDA,蛋白定量采用考马斯亮兰法,以牛血清白蛋白为标准,具体步骤均按各试剂盒说明书操作;T-AOC 和 SOD 活性用黄嘌呤氧化酶法测定,NO 含量用硝酸还原酶法测定。

1.6 统计学处理 数据以 ̄x±s 表示,统计学采用 SPSS 软件,配对 t 检验, P < 0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 山芝麻对 CCl₄ 损伤小鼠血清 ALT, AST 活性的影响 与 CCl₄ 模型组比较,山芝麻高、中剂量组小鼠血清 ALT, AST 活性明显降低(P < 0.05 或 P < 0.01),其抑制作用呈现剂量依赖关系。见表 1。

表 1 山芝麻对 CCl₄ 所致肝损伤小鼠血清 ALT, AST 活性的影响(̄x±s, n = 10)

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	ALT /U · L ⁻¹	AST /U · L ⁻¹
对照	-	53.82 ±12.29	91.31 ±30.94
CCl ₄	-	191.11 ±55.46	175.59 ±47.66
Vit E	2.5	120.97 ±61.84 ¹⁾	104.96 ±52.43 ¹⁾
山芝麻	5	156.49 ±63.78	151.99 ±44.46
	10	135.33 ±35.68 ¹⁾	138.19 ±51.75 ¹⁾
	20	129.21 ±30.12 ²⁾	111.73 ±46.97 ¹⁾

注:与 CCl₄ 模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(表 2, 3 同)。

2.2 山芝麻对 CCl₄ 肝损伤小鼠肝血清中 MDA, SOD, T-AOC 含量的影响 与肝损伤模型组比较,山芝麻高、中剂量可显著降低 CCl₄ 肝损伤小鼠血清 MDA 含量、明显提高 SOD 活性(P < 0.05 或 P < 0.01),且呈剂量相关性;山芝麻高剂量组则呈显著性地增加肝组织中总抗氧化能力(P < 0.05)。结果见表 2。

表 2 山芝麻对 CCl₄ 肝损伤小鼠血清中 MDA, SOD, T-AOC 含量的影响(̄x±s, n = 10)

组别	剂量/mg · kg ⁻¹	MDA/nmol · mL ⁻¹	SOD/nU · mL ⁻¹	T-AOC/U · mL ⁻¹
对照	-	9.66 ±3.05	356.99 ±91.75	31.22 ±9.98
CCl ₄	-	31.89 ±8.17	166.53 ±88.12	13.75 ±4.13
VitE	2.5	11.37 ±4.26 ¹⁾	323.45 ±78.29 ²⁾	26.91 ±8.64 ¹⁾
山芝麻	5	26.35 ±8.72	177.58 ±69.43	19.52 ±6.69
	10	19.92 ±7.64 ¹⁾	246.77 ±72.67 ¹⁾	21.47 ±7.93
	20	13.11 ±4.62 ²⁾	295.18 ±83.96 ²⁾	24.76 ±5.96 ¹⁾

2.3 对 CCl₄ 肝损伤小鼠肝组织 MDA, SOD, NO, T-AOC 含量的影响 与 CCl₄ 肝损伤模型组比较,山芝麻各剂量组小鼠肝组织 SOD 活性、T-AOC 含

量有不同程度地升高,而 MDA 含量、NO 水平则有明显下降,上述作用呈现剂量依赖性。结果见表 3。

表 3 山芝麻对 CCl₄ 肝损伤小鼠肝组织中 MDA, SOD, NO, T-AOC 含量的影响 (柳±s, n=10)

组别	剂量 / mg · kg ⁻¹	MDA / nmol · mg ⁻¹	SOD / nU · mg ⁻¹	T-AOC / U · mg ⁻¹	NO / μmol · g ⁻¹
对照	-	3.11 ±0.57	179.86 ±65.33	4.06 ±0.61	2.27 ±0.53
CCl ₄	-	6.69 ±0.38	73.92 ±31.88	1.18 ±0.43	3.57 ±0.48
VitE	2.5	3.41 ±0.64 ²⁾	121.57 ±42.66 ²⁾	3.57 ±0.89 ¹⁾	1.26 ±0.52 ¹⁾
山芝麻	5	4.56 ±0.68	103.46 ±41.59 ¹⁾	1.75 ±0.83	2.69 ±0.95
	10	3.96 ±0.41 ¹⁾	129.97 ±28.68 ²⁾	2.36 ±0.73	2.37 ±0.66
	20	3.82 ±0.32 ²⁾	138.39 ±33.17 ²⁾	3.18 ±0.77 ¹⁾	1.50 ±0.51 ¹⁾

3 讨论

用 CCl₄ 诱导小鼠肝损伤, 其致毒机制是 CCl₄ 经肝微粒体细胞色素 P450 代谢生成自由基(·CCl₃) 攻击肝细胞膜上磷脂分子引起脂质过氧化, 或与肝微粒体脂质和蛋白质发生共价结合, 破坏肝细胞膜结构和功能的完整。当肝细胞被破坏、细胞通透性增高及线粒体损伤时, ALT, AST 活性增高, 并且 ALT, AST 活性的高低变化与肝细胞受损的程度相一致, 因此, 血清中的 ALT, AST 是用于诊断肝实质肝损害的主要酶类。除此之外, 用于评价肝脏脂质过氧化损伤程度的指标还: MDA, SOD, T-AOC 和 NO 等, 其中, MDA 是不饱和脂肪酸过氧化作用的终产物, 可严重破坏细胞膜结构, 导致细胞肿胀、坏死, 它在血清及组织中的含量高低, 间接反映了机体细胞受自由基攻击时组织的破坏程度; SOD 是动物体内重要的抗氧化酶系, 其作用是清除自由基和过氧化物, 从而降低脂质过氧化物的生成并加速其清除, 减少其对细胞和组织的损伤, 有利于抗衰老和疾病的防治^[1]; T-AOC, 即机体抗氧化防御体系的整体状态, 包括酶促和非酶促两个部分, 前者主要包括超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽转移酶等, 后者如维生素 E、维生素 C、胡萝卜素等, 体内 T-AOC, SOD 活性越高, 自由基清除速度越快^[2]; NO 对肝细胞既有保护功能又有促进炎症的双重作用, 生理浓度时有免疫防御作用, 在肝损伤时由于有毒物质诱导 Kupffer 细胞、肝窦内皮细胞内的 iNOS 活性显著增高, 由其诱导肝内巨噬细胞及一

些杀伤细胞产生的 NO 明显增多, 增多的 NO 作为一种重要细胞因子引起肝损伤, 一方面通过抑制线粒体的呼吸, 使肝细胞因能量缺乏或产生大量的自由基而死亡, 另一方面还原型 NO 能与超氧阴离子作用形成过氧亚硝酸阴离子(ONOO⁻), ONOO⁻ 与其分解产物羟自由基(OH⁻) 能引起组织细胞酯质过氧化和细胞毒性, 从而对肝细胞造成损伤。

本实验研究显示, 山芝麻可明显下调 CCl₄ 肝损伤小鼠血清 ALT, AST 活性, 显著降低血清和肝组织中 MDA 的含量以及增加 SOD, T-AOC 的活性, 且呈剂量相关性, 同时能明显改善肝脏组织结构的病理损害, 提示山芝麻对化学性肝损害具有一定的保护作用, 其机制可能是通过增加 SOD, T-AOC 的活性, 加快体内自由基的清除, 从而抑制 MDA 的生成, 保护细胞免受过氧化损伤。而对 NO 含量检测则表明, 模型组小鼠肝组织中 NO 含量明显增加, 而山芝麻组肝组织中的 NO 含量呈剂量相关性下降, 表明山芝麻干预 CCl₄ 肝损伤还可能通过抑制 NO 生成而起到保护肝组织的作用。

[参考文献]

- [1] 周青, 周俐, 许庆林, 等. 佛甲草抗佛质过氧化作用的实验研究[J]. 中国医药发展论坛, 2002, 1(1): 2.
- [2] 李龙, 雷泽林, 赵晋, 等. 结核性胸膜炎患者 DNA 氧化损伤和脂质氧化的研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2003, 26(12): 781.

[责任编辑 聂淑琴]