

当归对四氯化碳肝损伤保护作用的电镜观察

宁康健^{1*}, 张子明², 司阳洋¹, 代守志³, 丁建华¹, 吕锦芳¹

(1. 安徽科技学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 黄山市徽州区人民政府, 安徽 黄山 245061;
3. 上海禾丰饲料有限公司, 上海 201807)

[摘要] 目的: 探索当归对四氯化碳(CCl₄)肝损伤的保护作用。方法: 50只小鼠随机分成5组: 对照组(I)、模型组(II)、当归低剂量组(III)、中剂量组(IV)和高剂量组(V)。III~V组分别按5, 10, 20 g·kg⁻¹剂量sc当归水提醇沉液, I、II组注射等容量的生理盐水, 每天1次, 连续6d。末次给药后2h, II~V组ip 0.1% CCl₄四氯化碳石蜡油溶液(0.1 mL·10g⁻¹体重), 24h后处死小鼠, 电镜观察肝组织结构线粒体和内质网变化。结果: 当归各组肝细胞内线粒体及内质网结构受损伤程度较模型组明显减轻。结论: 当归水提醇沉液对CCl₄致小鼠急性肝损伤具有一定的保护作用。

[关键词] 当归; 四氯化碳; 肝损伤; 小鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)12-0068-03

Electron Microscope Observation of Radix Angelicae Sinensis on Protection with the Liver Injury Caused by Carbon Tetrachloride in Mice

NING Kang-jian^{1*}, ZHANG Zi-ming², SI Yang-yang¹, DAI Shou-zhi³, DING Jian-hua¹, LV Jin-fang¹

(1. Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China; 2. Huangshan Huizhou District People's Government, Huangshan 245061, China; 3. Shanghai Hefengfeed Limited Company, Shanghai 201807, China)

[Abstract] **Objective:** Study the protection of Radix Angelicae Sinensis on liver injury caused by the carbon tetrachloride. **Methods:** 50 mice were randomly divided into five groups, with were contrast group (I), model group (II), low dose of Radix Angelicae Sinensis group(III), moderate dose (IV) and high dose (V). Group III~V were given water extracting-alcohol precipitating solution of Radix Angelicae Sinensis according to the dose of 5, 10, 20 g·kg⁻¹ by subcutaneous injection respectively, and other two groups were given normal saline at the same volume dose for 6 days. At two hours after the last administration, group II~V were given the 0.1% paraffin oil solution of carbon tetrachloride by intraperitoneal injection, all the mice were sacrificed after 24 hours and to observe the change of liver tissue (especially mitochondria and endoplasmic reticulum) with electron microscope. **Results:** Injury degree of mitochondria and endoplasmic reticulum of liver intracellular in Radix Angelicae Sinensis groups were obviously alleviated than that of the model group. **Conclusion:** Water extracting-alcohol precipitating solution of Radix Angelicae Sinensis has the function of protecting the mice's acute liver injury caused by carbon tetrachloride.

[Key words] Radix Angelicae Sinensis; carbon tetrachloride; liver injury; mice

当归为我国传统中药, 具有补血活血、调经止

痛、润燥滑肠、生肌健骨的功效^[1]。对其有效成分的研究主要集中于阿魏酸和当归多糖 (angelica polysaccharide); 有实验证明阿魏酸对多种因素致肝损伤有保护作用, 其机制与抗脂质过氧化、缓解自由基损伤反应及膜稳定功能有关^[2]; 当归水提物能显

[收稿日期] 2009-03-23

[基金项目] 安徽省科技厅年度重点项目(06023087C)

[通讯作者] * 宁康健, Tel (0550) 6733113; E-mail: nkj2101@sohu.com

著抑制 CCl_4 及乙醇所致小鼠血清转氨酶的活性上升^[3]。当归对 CCl_4 所致的急性肝损伤均有显著保护作用,能减轻肝细胞变性坏死,促进肝细胞再生,抑制肝纤维化^[4]。本研究通过对肝组织的电镜观察,旨在进一步探讨当归的肝保护作用,为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 选择昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,清洁级(许可证号 SCXK[皖])。

1.2 仪器 Opton-E10C 型透射电镜;YP6000 电子天平(上海精科天平);TDL80-ZB 飞鸽牌离心机(上海安亭科学仪器厂);SENCOR 系列 R201 旋转蒸发器;W201 恒温水浴锅(上海申生科技有限公司);循环水式多用真空泵(型号 SHB-3,郑州长城科工贸有限公司)等。

1.3 试剂与药品 四氯化碳(分析纯,上海化学仪器公司);液体石蜡(蚌埠化学试剂厂,批号 20070904);当归浓缩物干粉(6 倍浓缩,安徽省宣城市百草植物工贸有限公司提供,批号 20070106)。

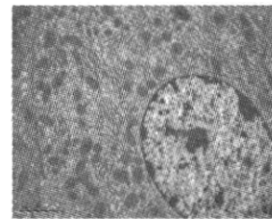
当归水提醇沉液 取当归浓缩物干粉 33.4 g,蒸馏水加至 200 mL 溶解,煎煮 10 min,离心 10 min ($3\ 800\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),取上清液加蒸馏水至 200 mL,加入无水乙醇 300 mL,使乙醇含量达 60%, $4\ ^\circ\text{C}$ 下静置 12 h,离心($3\ 800\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),用旋转蒸发器回收乙醇,再加入无水乙醇,使含乙醇量达 80%,同样处理回收乙醇,最终加蒸馏水定容至 200 mL,即得含生药 $1\ \text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的当归水煎醇沉液,装瓶,煮沸消毒(30 min)备用。

2 方法

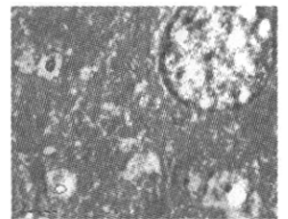
小鼠随机均分 5 组,每组 10 只,雌雄各半。分别为空白对照组(I)、模型组(II)、当归低剂量(III)、当归中剂量组(IV)、当归高剂量组(V)。造模前,III~V 组小鼠分别按 $5, 10, 20\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量 sc 当归水提醇沉液, I, II 组注射等量生理盐水,每天 1 次,连续 6 d,末次给药后 2 h, II~V 组小鼠 ip 0.1% CCl_4 石蜡油($0.1\ \text{mL}\cdot 10\ \text{g}^{-1}$),禁食不禁水, I 组注射等量石蜡油,24 h 后摘眼球取血处死小鼠,取肝左叶相同部位组织用戊二醛固定,制备电镜片,在电子显微镜下观察肝组织中超微结构的变化(重点观察线粒体和内质网)。

3 结果

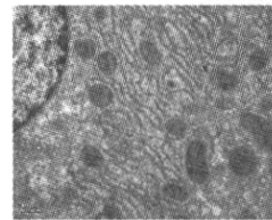
各组肝组织电镜观察结果见图 1~图 5。



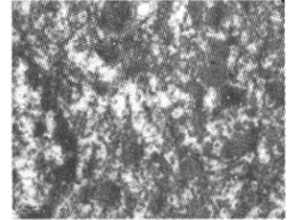
($\times 8000$)



($\times 8000$)



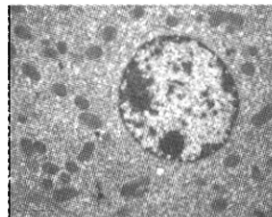
($\times 20000$)



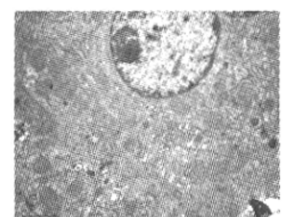
($\times 20000$)

图 1 空白对照组

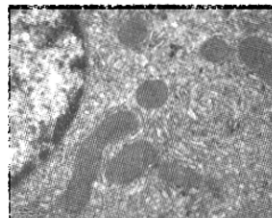
图 2 模型组



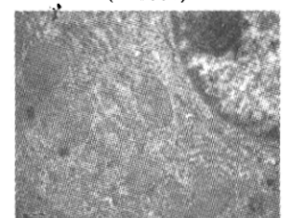
($\times 8000$)



($\times 8000$)



($\times 20000$)

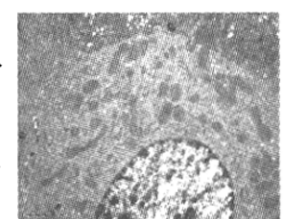


($\times 20000$)

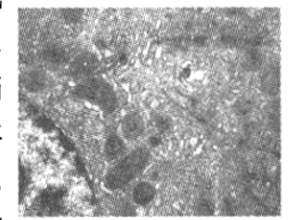
图 3 当归低剂量

图 4 当归中剂量

对照组:肝细胞器正常,线粒体呈粒状,嵴突清楚,分布均匀。粗面内质网多为扁平囊状结构,排列极为整齐;模型组可见线粒体嵴突不清,部分消失,粗面内质网数量减少,断裂,部分区域排列紊乱,核膜结构模糊,边缘不整;当归低剂量组:线粒体结构基本正常,部分线粒体嵴较模糊;粗面内质网轻度扩张,较发达;当归中剂量组:线粒体结构基本正常,少数嵴突消失,结构不清,粗面内质网正常;当归高剂量组:线粒体结构基本正常,部分嵴突扩张;内质网数量减少,有的轻度扩张或断裂。



($\times 8000$)



($\times 20000$)

图 5 当归高剂量

从切片中可以看出; CCl_4 有致肝损伤作用,当归

各剂量组肝组织损伤程度均明显减轻。

4 讨论

CCl_4 引发机体产生的自由基代谢紊乱会引起脂质过氧化产物的积累, 其对肝毒作用机制为直接作用于肝细胞膜、细胞器膜或生物大分子, 导致膜脂质过氧化, 膜蛋白变性, 使结构破坏, 促进肝细胞的直接死亡或者凋亡。其中, 羟基自由基是促使肝细胞凋亡的重要体内物质。因此, 用 CCl_4 建立小鼠急性试验性损伤模型, 以线粒体和粗面内质网组织结构的变化为指标判断肝功能的损伤程度是可行的。

当归具有养血活血的功效, 它能够通过直接消除自由基, 抑制超氧自由基引起的膜脂质过氧化反应和自由基反应以及与生物膜磷脂结合而保护膜脂质等多种机理拮抗自由基对组织的损害^[5], 其水溶性成分含阿魏酸, 有增加血流量、改善肝脏微环境的功能^[6]。

实验结果表明: 皮下注射适当剂量的当归水提醇沉液, 能减轻 CCl_4 致急性肝损伤小鼠肝细胞内线

粒体及内质网结构受损伤程度, 具有一定的保肝效果。

[参考文献]

- [1] 钟小明, 陈旭东, 余 鸿. 当归药理作用的研究进展[J]. 四川解剖学杂志, 2007, 15(1): 44.
- [2] 汪 晖, 彭 仁. 当归素对四氯化碳肝损伤的影响[J]. 湖北医学院学报, 1992, 13(2): 147.
- [3] 张善玉, 金在久, 申英爱, 等. 东当归对四氯化碳及乙醇性肝损伤的保护作用[J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(1): 42-43.
- [4] 林迎辉, 张家俊, 陈方为. 当归对 CCl_4 致大鼠肝纤维化胶原蛋白含量的影响[J]. 黑龙江医药科学, 2003, 26(3): 25.
- [5] 马清均, 王淑玲. 常用中药现代研究与临床[M]. 天津: 天津科技翻译出版公司, 1995: 622.
- [6] 魏 蕾, 欧阳静萍, 王 雄, 等. 当归对高分子右旋糖酐诱导人红细胞聚集性的影响[J]. 微循环学杂志, 2001, 11: 30.