

复方黄根对小鼠免疫性肝损伤的保护作用

邓家刚^{*}, 郑作文, 王 勤, 秦华珍, 王 硕, 周小雷
(广西中医学院, 广西 南宁 530001)

[摘要] 目的: 研究复方黄根对小鼠免疫性肝损伤的保护作用。方法: 采用卡介苗 (BCG) + 脂多糖 (LPS) 造成免疫性肝损伤动物模型, 观察复方黄根对小鼠血清各 (ALT) \downarrow (AST) 活性及肝组织匀浆超氧化酶歧化酶 (SOD) \downarrow (MDA) \downarrow 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 水平的影响, 并观察肝组织病理学改变。结果: 复方黄根可明显降低小鼠血清中 ALT、AST 活性; 减少肝匀浆 MDA 含量, 并能使肝匀浆降低的 SOD、GSH-PX 活性升高。结论: 复方黄根有明显的保肝作用, 其抗氧化保肝作用可能与抗脂质过氧化有关。

[关键词] 复方黄根; 免疫性肝损伤; 保肝; 抗氧化

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)05-0037-03

Protective Effects of Compound Huanggen on Immunological Liver Injury

DENG Jia-gang^{}, ZHENG Zuo-wen, WANG Qin, Qin Hua-zhen, WANG Shuo, ZHOU Xiao-lei*
(*Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China*)

[收稿日期] 2006-10-31

[基金项目] 广西科技厅科技攻关资助项目桂科攻(0235023-1); 桂科能(0630006-5A)

[通讯作者] * 邓家刚, Tel: (0771) 3943296; E-mail: dengjg@163.net

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the protective effect of Compound Huanggen on immunological liver injury in mice. **Method:** The model of hepatic damage was induced by BCG+ LPS. The ALT and AST level in serum and MDA, SOD, GSH-PX activities in liver homogenate were assayed and dimensions of hepatic damage in the histopathology were observed. **Results:** Compound Huanggen was found to significantly decrease the serum transaminase activities, Meanwhile decreased MDA content and inhibited SOD, GSH-PX activities in liver homogenate. **Conclusion:** Compound Huanggen show significant protective action on immunological liver injury in mice.

[**Key words**] Compound Huanggen; immunological liver injury; hepatoprotection; antioxidant activity

复方黄根是由黄根等药物组成的复方,具有清热解毒、益气护肝等作用。实验研究已表明复方黄根对 2215 细胞分泌的乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)有抑制作用^[1]。本研究采用卡介苗+脂多糖造成免疫性肝损伤动物模型,观察复方黄根对小鼠免疫性肝损伤的影响,为其临床应用提供实验依据。现将实验结果报告如下。

1 材料

1.1 动物 清洁级昆明小鼠,体重(24±2)g,雌雄各半,购于广西医科大学实验动物中心,许可证号:SCXK 桂 2003-0003

1.2 药品与试剂 复方黄根由黄根、黄芪等药物组成。制备工艺为药材经水提(分两次提,第 1 次 10 倍量水,第 2 次 8 倍量水,合并提液,浓缩至比重约 1.05),醇沉(水提液:95%乙醇=1:2,醇沉 24 h,弃沉淀,回收乙醇),残液浓缩成浸膏(每 mL 相当生药 7.3 g,低温储藏,用时用水稀释);卡介苗(BCG),中国生物技术集团公司上海生物制品研究所生产,批号:2004060501;大肠杆菌脂多糖(LPS),Sigma 公司产品;联苯双酯,广州星群(药业)股份有限公司生产,批号 CF40033;谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(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。

1.3 仪器 CHEM300 半自动生化分析仪(德国豪迈克公司),LG16-W 离心机(北京医用离心机厂),JY92-2D 超声波细胞粉碎机(宁波新芝科器研究院),Agilent 8453 紫外可见分光光度计;高速低温离心机,德国 Biofuge Stouctos 产。

2 方法

2.1 动物分组与造模^[2] 取昆明种小鼠 60 只,雌雄各半,按体重随机分组,设空白组(A)、模型组(B)、阳性对照组即联苯双酯组(C)、复方黄根高剂

量(D)、复方黄根中剂量(E)、复方黄根低剂量组(F)共 6 个组,每组 10 只。除空白对照组外,其余 5 组小鼠均尾静脉注射 0.2 mL/只 BCG 溶液(生理盐水配制,约含 10⁸ 个活菌/mL),从尾静脉注射 BCG 开始,每天用联苯双酯 0.6 g/kg,复方黄根 26.0 g/kg,13.0 g/kg 和 6.5 g/kg(剂量依据临床量折算)分别给 C, D, E, F 组灌胃 1 次,20 mL/kg,正常组与模型组每天灌服等体积的纯净水,连续 12 d。末次给药 1 h 后,经尾静脉注射 7.5 μg/只 LPS 生理盐水溶液,空白对照组同法尾静脉注射等量的生理盐水,禁食(自由饮水),10 h 后经眼球后静脉丛取血,处死小鼠后,取肝脏作有关检测。

2.2 检测指标及方法 常规分离血清,按试剂盒所述方法测定血清中 ALT, AST(赖氏法)。取肝脏约 0.5 g,用冰冷生理盐水漂洗,除去血液,滤纸拭干,称重,在冰浴的平皿上剪碎,用生理盐水配成 10% 肝组织,用超声波细胞粉碎机匀浆,低温离心,按试剂盒说明书所述方法用 Agilent 8453 紫外可见分光光度计测定肝匀浆中 SOD, MDA, GSH-PX 活性。另取肝左叶同一部位组织,10% 甲醛固定,按常规方法制备切片,在光镜下进行病理学检查。

2.3 统计学处理 各项数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对免疫性肝损伤小鼠血清转氨酶的影响 模型组血清 ALT, AST 水平升高,与空白组相比较, *P* < 0.01,说明模型建立成功;阳性组和复方黄根各剂量组均能显著降低小鼠血清中升高的 ALT, AST 活性,与模型组比较有显著性差异(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),见表 1。

3.2 对免疫性肝损伤小鼠肝匀浆 SOD, MDA, GSH-PX 水平的影响 模型组肝匀浆 MDA 水平升高,同时 SOD, GSH-PX 水平降低,与空白组比较 *P* < 0.01。复方黄根各剂量组能显著降低小鼠肝匀浆 MDA 的

水平, 明显升高小鼠肝匀浆 SOD, GSH-PX 水平, 与模型组比较差异显著 ($P < 0.05, P < 0.01$), 见表 2。

3.3 小鼠肝脏病理组织学检查结果 病理形态学观察结果显示, 空白组肝小叶结构正常, 无肿胀, 无明显水肿、脂肪变性, 肝小叶内及汇管区无炎细胞浸润、无纤维结缔组织增生; 模型组肝小叶结构紊乱不清, 肝细胞明显肿胀, 体积增大, 广泛水肿变性, 气球样变性, 小区出现肝细胞片状坏死伴多量炎细胞浸润, 汇管区大量炎细胞浸润及明显纤维结缔组织增生, 说明模型建立成功; 联苯双酯组和复方黄根高、中剂量组均无明显坏死, 高剂量组肝细胞稍有轻微水肿外, 大部分肝细胞结构正常, 低剂量组肝细胞仍见肿胀, 大片水肿变性、胞浆疏松, 偶见气球样变性, 灶性坏死及炎细胞浸润。提示: 复方黄根对免疫性肝损伤有保护作用。

表 1 复方黄根对免疫性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)
空白组	—	39.1 ± 6.0 ²⁾	45.3 ± 8.8 ²⁾
模型组	—	66.6 ± 7.5	88.9 ± 18.1
联苯双酯组	0.6	45.1 ± 8.6 ²⁾	58.8 ± 9.8 ²⁾
复方黄根	26.0	50.9 ± 4.8 ²⁾	60.7 ± 9.2 ²⁾
复方黄根	13.0	51.5 ± 3.2 ²⁾	67.3 ± 8.4 ²⁾
复方黄根	6.5	58.3 ± 5.5 ¹⁾	71.3 ± 11.1 ¹⁾

注: 与模型组比较: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。(下同)

表 2 复方黄根对免疫性肝损伤小鼠肝匀浆 SOD、MDA、GSH-PX 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	SOD (U/mg·prot)	MDA (nmol/mg·prot)	GSH-PX (U/mg·prot)
空白组	—	168.7 ± 13.0 ²⁾	8.2 ± 2.3 ²⁾	227.7 ± 27.1 ²⁾
模型组	—	69.5 ± 9.8	21.7 ± 4.9	160.0 ± 20.6 ²⁾
联苯双酯组	0.6	133.6 ± 12.6 ²⁾	12.1 ± 2.8 ²⁾	214.4 ± 14.5 ²⁾
复方黄根	26.0	105.6 ± 10.9 ²⁾	14.9 ± 4.6 ²⁾	188.3 ± 16.9 ²⁾
复方黄根	13.0	96.1 ± 10.0 ²⁾	14.9 ± 2.6 ²⁾	187.0 ± 19.0 ²⁾
复方黄根	6.5	80.7 ± 11.5 ¹⁾	16.2 ± 4.9 ¹⁾	178.6 ± 15.8 ¹⁾

4 讨论

中医学认为, 病毒性乙型肝炎是在人体正气不足基础上湿热疫毒侵入血分所致。湿热疫毒内侵是首要因素, 正气不足是慢性乙型肝炎发生发展的内在基础, 复方黄根是由具有广西特色的道地药材组成的抗慢性乙型病毒性肝炎复方, 由黄根、黄芪等药物组成的小处方, 其中黄根为君药, 味微苦, 性平, 功

能祛瘀生新, 可缓解慢性乙型肝炎之经络瘀阻, 现代研究表明黄根具有护肝作用^[3], 黄芪味甘, 性温, 能扶正固本, 健脾化湿, 鼓舞正气托毒外出, 研究表明其对 HBsAg, HBeAg 的分泌有不同程度的抑制作用^[4]。

免疫性肝损伤动物模型, 接近人肝炎发生的病理过程, 是筛选和研究保肝药物较为理想的模型之一, 预先给小鼠注射卡介苗可使多核中性粒细胞或巨噬细胞聚集于肝, 继而用低剂量大肠杆菌脂多糖攻击注射, 可激发这些细胞释放对肝细胞有毒性作用的多种免疫效应分子(如自由基等), 自由基的过度释放, 可导致肝细胞内脂质过氧化反应的发生, 造成脂质过氧化物的积累而损伤肝细胞, 造成免疫性肝损伤^[2,5,6]。

本实验结果显示: 卡介苗与脂多糖联用可以引起小鼠血清中 ALT, AST 明显升高, 肝组织可见散在细胞变性坏死, 造成免疫性肝损伤; 该模型肝细胞浆脂质过氧化产物 MDA 明显升高, 提示肝细胞内脂质过氧化是本模型的重要终末肝损伤机制之一; 复方黄根各剂量组能减轻模型鼠肝脏的病理损伤; 高、中剂量能使血清中 ALT, AST 活性向正常水平恢复, 其作用效果与联苯双酯组相近; 能降低肝细胞浆 MDA, 升高肝损伤小鼠肝细胞浆内 SOD, GSH-PX 的活性, 抗肝细胞内脂质过氧化可能是其抗免疫性肝损伤的重要机制之一。

[参考文献]

[1] 邓家刚, 郑作文, 王勤, 等. 八个中药复方对 2215 细胞 HBsAg 和 HBeAg 分泌的影响[J]. 广西中医药, 2004, 27(4): 43.

[2] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 1348.

[3] 甘荔, 韦玉忠, 刘敬东, 等. 黄根抑制肝纤维化的病理形态学观察[J]. 中草药, 1986, 17(11): 23-25.

[4] 邹宇宏, 杨雁, 吴强, 等. 黄芪提取物的体外抗乙肝病毒作用[J]. 安徽医科大学学报, 2003, 38(4): 267-269.

[5] Zhang GL, Wang YH, Ni W, et al. Hepatoprotective role of ganoderma lucidum polysaccharide against BCG-induced immune liver injury in mice[J]. World Gastroenterol, 2002, 8(4): 728-733.

[6] Wang GS, Liu GT. Role of nitric oxide in immunological liver damage in mice[J]. Biochem Pharmacol, 1995, 49: 1271.