

# 清肝浸膏对 D-氨基半乳糖致肝损伤模型大鼠 肝功能及病理改变的影响

杨龙飞<sup>1</sup>, 金家兴<sup>2</sup>, 赵 晖<sup>1</sup>, 孙建宁<sup>1\*</sup>

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 贵州省兴义市吉仁堂药业公司, 贵州 兴义 562400)

**[摘要]** 目的: 研究清肝浸膏对 D-氨基半乳糖致肝损伤模型大鼠肝功能及病理改变的影响。方法: 采用 D-氨基半乳糖引发大鼠的急性肝损伤模型, 观察转氨酶及总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、碱性磷酸酶(ALP)含量的变化, 并观察肝组织 HE 染色结果。结果: 清肝浸膏能明显降低大鼠血清中 AST 的含量及 ALP 的含量, 并能升高 TP、ALB 的含量, 并能明显减轻肝组织病理损伤。结论: 清肝浸膏对 D-氨基半乳糖所致的大鼠肝损伤模型有一定的保护作用, 具体机制还须进一步的实验研究。

**[关键词]** 清肝浸膏; D-氨基半乳糖; 肝损伤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)04-0040-03

小花清风藤为清风藤科小花清风藤植物(*Sabia parviflora* Wall. ex Roxb)的根, 由北京中医药大学中药鉴定室闫玉凝教授鉴定。主要分布于云南, 广西, 贵州等地<sup>[1]</sup>。贵州所产的小花清风藤为布依族, 苗族的民间药, 民间俗称为“小黄药”、“黄肿药”、“黄眼药”、“雅希强(布依语)”等<sup>[2]</sup>, 在贵州省西南至东南部生长最茂, 在民间用其茎入药治疗急性黄疸型肝炎, 效果较好, 部分地方亦取其根入药, 治疗风湿劳伤。据报道, 用该药制成的冲剂, 对甲肝患者治疗的有效率达 95% 以上, 其降黄疸和转氨酶的效果极佳。对乙肝病人的治疗效果也较显著, 乙肝病人用药后约有 30% 患者的表面抗原转阴<sup>[3]</sup>。但是目前对于该药的药理研究报道极少。本实验观察了以小花清风藤提取物为主要成分的清肝浸膏对 D-氨基半乳糖所致的急性肝损伤的保护作用, 为今后进一步研究小花清风藤的保肝作用奠定了基础。

## 1 材料

**1.1 动物** Wistar 雄性大鼠, 购自北京维通利华实验动物中心。

**1.2 药物与试剂** D-氨基半乳糖(D-GalN): 购自杭州市第六人民医院, 批号: 050107; 清肝浸膏: 主要由

小花清风藤、三七、石斛等药材提取而得; 联苯双酯: 北京协和药厂生产, 批号: 国药准字 H11020980; 丙氨酸氨基转移酶试剂盒(ALT, 赖氏法), 批号: 040309; 门冬氨酸氨基转移酶试剂盒(ASG, 赖氏法), 批号: 040114; 均购自北京化学试剂公司。白蛋白试剂盒, 批号: 150131; 碱性磷酸酶试剂盒, 批号: 020321; 总蛋白试剂盒, 批号: 140021, 均购自中生北控生物科技股份有限公司。

**1.3 仪器** 722 型可见/紫外分光光度计, 上海第三分析仪器厂生产。低温离心机(400R): 德国 Heraeus 公司产品, Osterode: D-37520。

## 2 方法和结果

**2.1 剂量设置** 大鼠灌胃给药: 清肝浸膏大剂量 9g(生药量)/kg, 中剂量 4.5g(生药量)/kg, 小剂量 2.3g(生药量)/kg, 联苯双酯: 0.1g/kg。

**2.2 方法** 采用体重 150~180g 成年 Wistar 大鼠, 清肝浸膏各剂量组及阳性药联苯双酯组各灌胃给药 5d, 第 5d 给药后禁食, 第 6d 上午 1 次性腹腔注射 D-GalN 600mg/kg(用无菌生理盐水配制成 10% 的溶液, 并用 NaOH 调 pH 值为中性), 24h 后颈总动脉取血, 3000g 离心 10min, 取血清分装冻存做指标检测。取血后取右叶肝脏, 放入 10% 的中性福尔马林液中, 石蜡切片做 HE 染色。

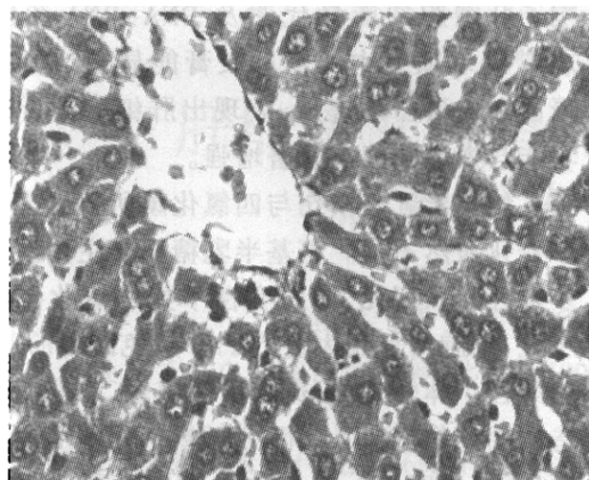
**2.3 实验结果** 实验结果见表 1, 2。统计方法采用 SPSS11.0 ONE WAY ANOVA 中的 LSD 统计法。

实验结果显示清肝浸膏各剂量组能不同程度的

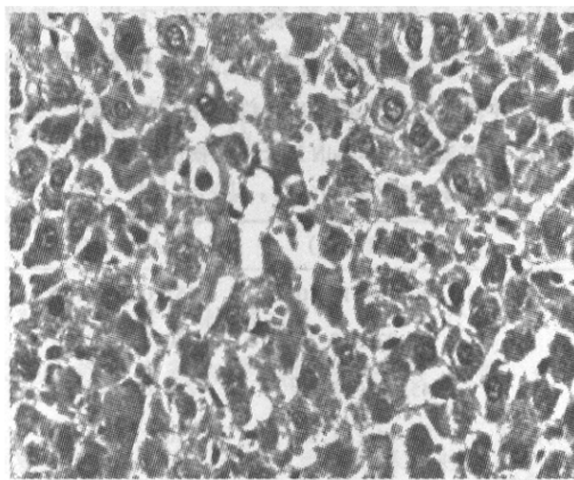
**[收稿日期]** 2005-09-28

**[基金项目]** 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项黔科通 2004(NO: 45)

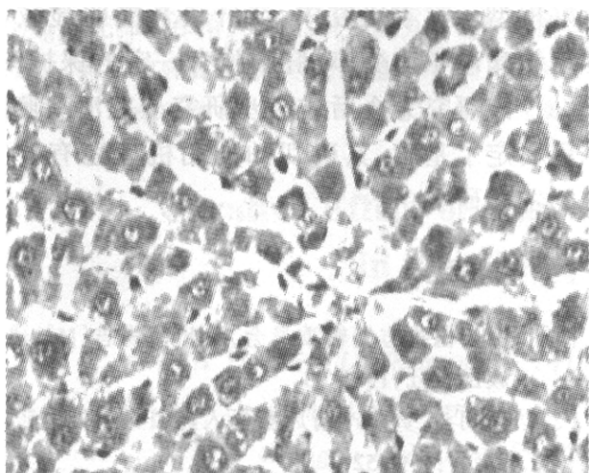
**[通讯作者]** 孙建宁, Tel: (010) 64711199-6084



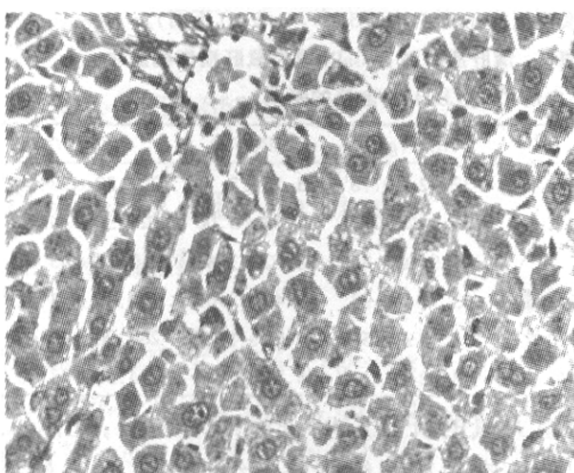
空白对照组



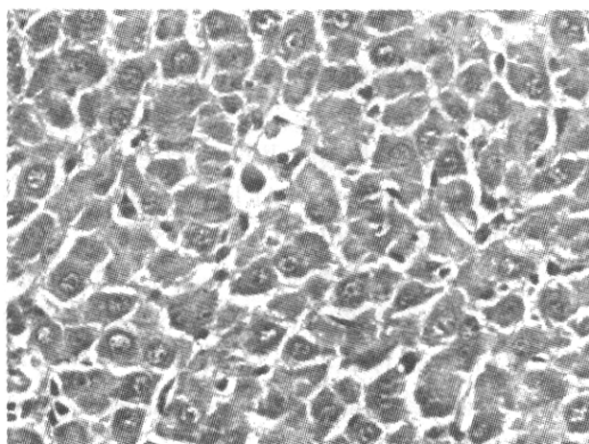
模型组



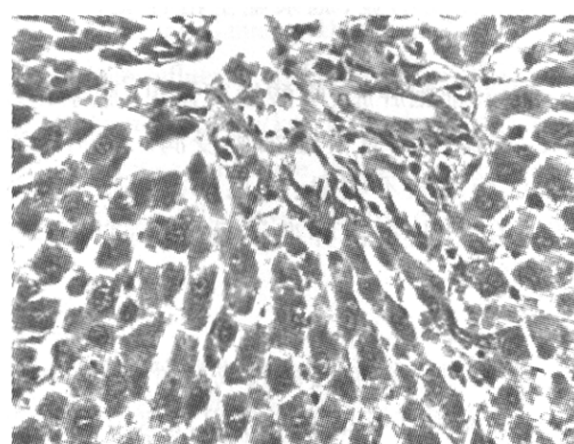
阳性药组 (联苯双酯)



清肝浸膏大剂量组



清肝浸膏中剂量组



清肝浸膏小剂量组

图1 清肝浸膏对D-氨基半乳糖致肝损伤模型大鼠病理改变的影响(HE染色,400×)

降低D-氨基半乳糖所致的肝损伤模型大鼠血清中的转氨酶含量,其中对AST含量的降低更为显著。

在肝内,ALT主要分布于细胞浆水溶性部分,AST则分布于细胞浆水溶部分和线粒体中。在肝脏

等脏器组织损伤或坏死时,细胞内酶释放入血,会引起血清酶活力升高。大鼠给予D-氨基半乳糖后,出现较为显著的肝功能障碍,表现为:血清转氨酶升高,白蛋白和总蛋白减少,血清碱性磷酸酶升高。清

肝浸膏给药组对 D-氨基半乳糖所致的大鼠肝损伤有一定的保护作用,与模型组相比,能降低转氨酶和碱性磷酸酶,并能增加白蛋白和总蛋白的含量。

表 1 清肝浸膏对 D-GalN 致大鼠肝损伤模型血清转氨酶的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组 别	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白对照	40.12 ± 12.10 <sup>2)</sup>	151.00 ± 11.99 <sup>2)</sup>
模型	91.02 ± 55.36	230.23 ± 22.69
联苯双酯	45.22 ± 13.40 <sup>2)</sup>	211.65 ± 15.22
清肝浸膏大剂量组	77.44 ± 41.88	210.17 ± 31.19
清肝浸膏中剂量组	85.32 ± 23.56	177.10 ± 22.08 <sup>2)</sup>
清肝浸膏小剂量组	71.95 ± 35.14	168.09 ± 20.58 <sup>2)</sup>

注:与模型组相比,<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (下同)。

表 2 清肝浸膏对 D-GalN 致大鼠肝损伤模型中血清 TP、ALB、ALP 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组 别	ALB(g/L)	TP(g/L)	ALP(U/L)
空白对照	32.42 ± 0.78 <sup>1)</sup>	53.15 ± 2.11 <sup>2)</sup>	207.80 ± 28.18 <sup>2)</sup>
模型	30.16 ± 3.26	45.68 ± 5.06	321.50 ± 70.41
联苯双酯	33.91 ± 0.85 <sup>2)</sup>	50.42 ± 1.80 <sup>1)</sup>	317.20 ± 53.31
清肝浸膏大剂量组	33.17 ± 1.93 <sup>1)</sup>	48.40 ± 3.05	270.80 ± 43.92 <sup>1)</sup>
清肝浸膏中剂量组	33.18 ± 1.53 <sup>1)</sup>	49.08 ± 1.32 <sup>1)</sup>	289.00 ± 38.66
清肝浸膏小剂量组	33.62 ± 1.11 <sup>2)</sup>	48.78 ± 1.84	284.58 ± 48.35

对各组大鼠的肝脏右叶进行病理观察,见图 1, HE 染色显示,空白对照组肝脏组织形态正常。模型组肝脏肝细胞肿胀、增生、核增大,肝窦扩张,枯否氏细胞增生,嗜酸性变明显,胞浆呈空泡样变,并出现点状坏死。

阳性药组肝细胞肿胀,嗜酸性变偶见,胞浆出现小空泡样变,静脉周围有淋巴细胞浸润。清肝浸膏各给药组肝细胞肿胀不明显,偶见双核及嗜酸性病变,有炎性细胞浸润,空泡样变不显著,病变较模型组轻微。

### 3 讨论

D-氨基半乳糖又称半乳糖胺或软骨糖胺,20 世纪 50 年代首次发现其有细胞毒作用,但对其特异性致肝损伤机制尚不清楚。最早 Keppler 认为其肝损伤机制与肝细胞内尿苷二磷酸(UDP)夺获有关,影

响了肝细胞的能量代谢及 DNA、RNA 和蛋白质合成<sup>[4,6]</sup>。本研究中的清肝浸膏能显著增加血清中白蛋白和总蛋白的含量,表现出肝细胞的蛋白质合成功能与模型组相比显著增强。

氨基半乳糖损伤与四氯化碳所致肝损伤的组织学变化显然不同。氨基半乳糖损伤主要呈弥漫性的多发性片状坏死,脂肪变性不如四氯化碳损伤那么明显,细胞内呈现大量的 PAS 染色阳性的毒性颗粒,嗜酸性小体较多见,炎性浸润明显,与病毒性肝炎所造成的损伤类似<sup>[7]</sup>。而且氨基半乳糖肝毒性的专一性较强,且安全无毒。因此,氨基半乳糖肝损伤模型是目前研究病毒性肝炎发病机制及其药物治疗的较好模型。在本研究中,清肝浸膏能明显减轻肝脏的组织病理学改变,对肝细胞有一定的保护作用。

该研究为今后进一步研究小花清风藤的保肝作用奠定了基础,其确切的作用机理还有待于进一步的实验研究。

### [参考文献]

- [1] 贵州植物志编辑委员会. 贵州植物志[M]. 成都: 四川民族出版社, 1988. 93.
- [2] 李朝斗. 贵州产清风藤科入药植物[J]. 中药通报, 1987, 12(8): 451-452.
- [3] 陈谨, 邓赞, 唐天君, 等. 小花清风藤三萜成分的研究[J]. 中草药, 2004, 35(1): 16-17.
- [4] D Keppler, R Lesch, W Reutter, et al. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine[J]. Exp Mol Pathol, 1968, 9(2): 279-290.
- [5] W Reutter, D Keppler, R Lesch, et al. Glycoprotein metabolism in galactosamine induced hepatitis[J]. Verh Dtsch Ges Inn Med, 1969, 75: 363-365.
- [6] D Keppler, J Frohlich, W Reutter, et al. Changes in uridine nucleotides during liver perfusion with D-galactosamine[J]. FEBS Lett, 1969, 4(4): 278-280.
- [7] Decker K, Keppler D. Galactosamine induced liver injury[J]. Prog Liver Dis, 1972, 4: 183-199.