

清肝浸膏对 D-氨基半乳糖所致大鼠 肝损伤模型的保护作用

杨龙飞¹, 金家兴², 赵 晖¹, 孙建宁^{1*}

(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(D-GalN)诱导的大鼠肝损伤模型的保护作用。方法: 采用 D-GalN 引发大鼠的急性肝损伤模型, 观察转氨酶及谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)含量的变化。结果: 清肝浸膏能明显降低血清中 AST 的含量及肝组织中 MDA 的含量, 并能升高 GSH 和 SOD 的含量。结论: 清肝浸膏对 D-GalN 所致的大鼠肝损伤模型有一定的保护作用, 其作用机制可能与抗氧化有关, 具体机制还须进一步的实验研究。

[关键词] 清肝浸膏; 氨基半乳糖; 肝损伤; 超氧化物歧化酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)05-0035-02

小花清风藤(*Sabia. parviflora* Wall. ex Roxb)为清风藤科清风藤属藤本植物, 主要分布于云南, 广西, 贵州等地^[1]。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^[2]。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, 对乙肝病人的治疗效果也较显著, 其降黄疸和转氨酶的效果极佳, 乙肝病人用药后约有 30% 患者的表面抗原转阴^[3]。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(D-GalN)所致的急性肝损伤模型的保护作用并对相关的过氧化指标进行了检测, 探讨了其可能的作用机制, 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(AST, 赖氏法), 批号: 040114; 均购自北京化学试剂公司; 谷胱甘肽测试盒、超氧化物歧化酶测试盒、丙二醛测试盒均购自南京建成生物工程研究所。

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。取血后取肝脏, 用生理盐水将肝组织制备成 10% 的肝匀浆, 分装, 冻存, 进行相关指标测定。

统计方法采用 SPSS11.0 ONE WAY ANOVA 中的 LSD 统计法。

2.3 实验结果 实验结果见表 1~ 表 3。

实验结果显示清肝浸膏各剂量组都能不同程度的降低 D-GalN 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。

[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)45

[通讯作者] 孙建宁, Tel: (010) 64711199-6084

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	剂量 g/kg	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白对照	-	40.12 ± 12.10	151.00 ± 11.99
模型	-	91.02 ± 55.36 ¹⁾	230.23 ± 22.69 ¹⁾
联苯双酯	0.1	45.22 ± 13.40 ²⁾	211.65 ± 15.22
清肝浸膏	9.0	77.44 ± 41.88	210.17 ± 31.19 ²⁾
清肝浸膏	4.5	85.32 ± 23.56	177.10 ± 22.08 ³⁾
清肝浸膏	2.3	71.95 ± 35.14	168.09 ± 20.58 ³⁾

注:与空白对照组比较,¹⁾ $P < 0.01$;与模型组相比,²⁾ $P < 0.05$; ³⁾ $P < 0.01$ 。下同。

表 2 清肝浸膏对 D-GalN 致大鼠肝损伤模型中肝 SOD 及 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量 g/kg	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)
空白对照	-	415.45 ± 55.31	5.58 ± 1.75
模型	-	70.68 ± 83.98 ²⁾	10.12 ± 5.95 ¹⁾
联苯双酯	0.1	157.50 ± 82.54 ³⁾	7.07 ± 4.65
清肝浸膏	9	149.35 ± 74.15 ³⁾	5.53 ± 1.44 ³⁾
清肝浸膏	4.5	159.34 ± 75.31 ³⁾	7.48 ± 1.46
清肝浸膏	2.3	117.06 ± 76.79	6.49 ± 1.66

表 3 清肝浸膏对 D-GalN 致大鼠肝损伤模型中血清 SOD 及 GSH 含量的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量 g/kg	SOD(U/mL)	GSH(mg/L)
空白对照	-	282.00 ± 14.72	287.37 ± 31.14
模型	-	243.46 ± 32.07 ¹⁾	271.02 ± 15.61
联苯双酯	0.1	267.38 ± 22.12	287.12 ± 14.82
清肝浸膏	9	284.71 ± 21.94 ³⁾	303.22 ± 21.76 ²⁾
清肝浸膏	4.5	286.71 ± 27.32 ³⁾	325.50 ± 16.22 ³⁾
清肝浸膏	2.3	272.94 ± 22.80 ²⁾	347.79 ± 40.00 ³⁾

大鼠给予 D-GalN 后,血清转氨酶升高,并能够产生较为显著的过氧化损伤表现,肝和血清中的 SOD 含量下降,肝中的 MDA 含量增多。

清肝浸膏给药组对 D-GalN 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,并能增强 SOD 的活性,减少 MDA,升高 GSH 的含量。

3 讨论

20 世纪 50 年代首次发现 D-GalN 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^[4-6]。以后随着研究手段和方法的发展,发现它还与肝细胞膜的完整性、过氧化损伤、谷胱甘肽耗竭^[7]及肿瘤坏死因子^[8]有关。D-GalN 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^[9]。而且其肝毒性的专一性较强,且安全无毒。因此, D-GalN 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,以小花清风藤提取物为主要成分的清肝浸膏能明显降低 D-GalN 致肝损伤模型大鼠血清中的转氨酶含量,并能增加 GSH 的含量和 SOD 的活性,减少 MDA 的含量,有一定的抗氧化损伤作用。此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,邓翀,唐天君,等. 小花清风藤三萜成分的研究[J]. 中草药,2004,35(1):16-7.

[4] D Keppler, R Lesch, W Reutter, K Decker. 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, JFrohlich, W Reutter, et al. Changes in uridine nucleotides during liver perfusion with D-galactosamine[J]. FEBS Lett, 1969,4(4):278-280.

[7] 阎宁,许瑞龄. 马来酸二乙酯对半乳糖胺/脂多糖致小鼠急性肝损伤发生中核转录因子表达的影响[J]. 山西医药杂志,2003,32(6):538.

[8] Stachlewitz R F, Seabra V, Bradford B, et al. Glycine and uridine prevent D-galactosamine hepatotoxicity in the rat: role of Kupffer cells[J]. Hepatology, 1999,29:737.

[9] Decker K, Keppler D. Galactosamine induced liver injury[J]. Prog Liver Dis. 1972,4:183-199.