

铁甲草抗大鼠酒精性和四氯化碳慢性肝损伤的作用研究

李翎¹, 符运舜², 林柳青¹

1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

[摘要] 目的: 通过谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 水平的变化, 观察铁甲草抗大鼠酒精性和四氯化碳 (CCl₄) 慢性肝损伤的保护作用。方法: 100 只 SD 大鼠, 雌雄各半, 随机分为铁甲草高、低剂量组, 联苯双酯组, 模型组和正常对照组, 除了正常对照组, 各组大鼠分别灌服酒精 (6.5 g/kg) 或皮下注射给予 50% CCl₄ 花生油 (5 mL/kg), 连续 8 周, 第 5 周开始给予相应药物干预, 末次给药后, 各组大鼠取血清, 测定 ALT 和 AST 水平。结果: 慢性酒精性肝损伤模型中正常对照组与模型组比较, AST、ALT 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明造模成功。与模型组比较, 铁甲草高剂量组 ALT 和 AST 的水平降低 ($P < 0.05$)。CCl₄ 慢性肝损伤模型中正常对照组与模型组比较, AST、ALT 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明造模成功。与模型组比较, 铁甲草高剂量组 ALT 和 AST 的水平降低 ($P < 0.05$), 铁甲草低剂量组 AST 水平也降低 ($P < 0.05$)。结论: 铁甲草有抗慢性酒精性肝损伤和 CCl₄ 慢性肝损伤作用, 高剂量组作用明显优于低剂量组, 说明了保护作用与剂量呈正相关。

[关键词] 铁甲草; 酒精性肝损伤; 四氯化碳肝损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 10-0207-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.10.097

慢性肝病包括慢性肝炎和肝硬化、慢性肝内胆汁淤积、肝血管病变、肝良性肿瘤和恶性肿瘤^[1], 其中临床中由不当用药、病毒感染、误服有毒食物、食物添加剂、酒精摄入过量等原因造成的肝损伤较为常见。谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 是衡量肝实质损害的主要酶类。笔者利用酒精和四氯化碳 (CCl₄) 制备慢性肝损伤模型, 研究铁甲草对模型动物血清 ALT、AST 水平的影响。

1 材料与方法

1.1 动物分组及处理 SD 大鼠和 SPF 级鼠料, 购自广州中医药大学 (大学城) 实验动物中心, 许可证号 SCXK (粤) 2008-0020。本室常规饲养一周。动物实验在广州中医药大学第一附属医院 SPF 级动物室完成, 许可证号 SYXK (粤) 2008-0092。慢性酒精性肝损伤大鼠的影响实验^[2]: 50 只 SD 大鼠, 雌雄各半, 随机分组: 铁甲草高、低剂量组, 联苯双酯组, 模型组, 正常对照组。除正常对照组外, 动物每天灌服 65% 乙醇 (6.5 g/kg) 8 周, 灌服乙醇第 5 周开始, 各组分别灌胃给药对应药物, 每天 1 次, 至第 8 周末, 各组动物取血, 分离血清, 测定 ALT 和 AST 水平。CCl₄ 慢性肝损伤大鼠的影响实验^[3]: 50 只 SD 大鼠, 雌雄各半, 随机分组: 铁甲草高、低剂量组, 联苯双酯组, 模型组, 正常对照组。除正常对照组外, 各组皮下注射给予 50% CCl₄ 花生油注射液 (5 mL/kg), 每周注射 2 次, 连续 8 周。给予 CCl₄ 第 5 周开始, 各组分别灌

胃给药相应药物, 每天 1 次, 至第 8 周末, 各组动物取血, 分离血清, 测定 ALT 和 AST 水平。

1.2 药物及试剂 铁甲草购自广东梅州市蕉岭县。铁甲草水煎液, 过滤浓缩至 2 g/mL, 实验前配制成高剂量水煎液 (1.2 g/mL) 和低剂量水煎液 (0.6 g/mL)。阳性对照药: 联苯双酯 (10 mg/mL, 广州市齐云生物技术有限公司, 批号: kbt201212); 无水乙醇 (天津科密欧化学试剂有限公司, 批号: 20120206); CCl₄ (分析纯级, 江苏强盛功能化学股份有限公司, 批号: 20121012); 氯化钠注射液 (四川科伦药业股份有限公司, 批号: T100802); ALT 试剂盒 (上海科华生物工程股份有限公司, 批号: 20120442); AST 试剂盒 (上海科华生物工程股份有限公司, 批号: 20120425)。

1.3 仪器 Beckman-Olympus 全自动生化分析仪 (美国 Beckman Coulter 公司型号 AU5421); 离心机 (上海安亭科学仪器厂, 型号 LDL-5-A); 电子天平 (上海越平科学仪器有限公司, 型号 YE20002)。

1.4 统计学方法 用 SPSS 软件对数据进行统计分析, 组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 慢性酒精性肝损伤各组 ALT、AST 变化比较 见表 1。正常对照组与模型组比较, AST、ALT 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明造模成功。与模型组比较, 铁甲草高剂量组 ALT

[收稿日期] 2015-03-08

[基金项目] 广东省科技计划项目 (2011B031700050)

[作者简介] 李翎 (1963-), 女, 副研究员, 研究方向: 中药药理毒理研究。

和 AST 的水平降低($P<0.05$)。

表 1 慢性酒精性肝损伤各组 ALT、AST 变化比较($\bar{x}\pm s$) UL

组别	剂量(g/kg)	ALT	AST
铁甲草高剂量组	24	109.1±16.8 ^①	191.5±66.3 ^①
铁甲草低剂量组	12	127.3±28.6	206.3±21.7
联苯双酯组	0.2	108.0±31.2 ^①	113.2±63.2 ^①
模型组	-	146.6±22.3	289.5±25.1
正常对照组	-	46.5±13.1 ^①	65.4±15.5 ^①

与模型组比较, ① $P<0.05$

2.2 CCl₄ 慢性肝损伤各组 ALT、AST 变化比较 见表 2。正常对照组与模型组比较, AST、ALT 差异有统计学意义($P<0.05$), 表明造模成功。与模型组比较, 铁甲草高剂量组 ALT 和 AST 的水平降低($P<0.05$), 铁甲草低剂量组 AST 水平也降低($P<0.05$)。

表 2 CCl₄ 慢性肝损伤各组 ALT、AST 变化比较($\bar{x}\pm s$) UL

组别	剂量(g/kg)	ALT	AST
铁甲草高剂量组	24	81.2±23.9 ^①	171.6±21.8 ^①
铁甲草低剂量组	12	113.3±24.1	186.3±26.0 ^①
联苯双酯组	0.2	86.2±22.2 ^①	182.6±37.8 ^①
模型组	-	103.5±19.9	249.1±39.6
正常对照组	-	45.2±10.2 ^①	140.5±10.0 ^①

与模型组比较, ① $P<0.05$

3 讨论

有研究表明, 铁甲草的化学成分有大黄素、木犀草素、间苯二酚、齐墩果酸等^[4]。齐墩果酸为五环三萜类化合物, 对肝毒性药物 CCl₄ 引起的大鼠急性肝损伤有明显保护作用^[5], 其有明显的降低 ALT 效果, 可改善病毒性肝炎患者的症状, 体征和肝功能^[6], 能显著抑制 CCl₄ 引起的原代肝细胞上清液中 ALT、AST 的升高^[7]。另外, 铁甲草成分中, 大黄素^[8]和木犀草素^[9]也有抗肝纤维化的作用。

之前课题组的研究表明, 铁甲草对急性肝损伤具有一定的保护作用^[10], 对肝纤维化形成, 具有抑制作用, 能降低血清透明质酸(HA)、层黏蛋白(LN)和型前胶原氨基端肽(PC)、肝组织羟脯氨酸(Hyp)含量, 减轻肝脏组织病变程度^[11]。但其抗酒精和 CCl₄ 所致慢性肝损伤作用研究较少。

在酒精性肝损伤发生过程中, 氧化应激起了重要作用, 本研究显示铁甲草能降低慢性酒精性肝损伤大鼠血清的 ALT 和 AST 的水平, 能减轻慢性酒精性肝损伤程度, 高剂量组作用明显优于低剂量组, 抗损伤作用与剂量呈正相关。提示铁甲草

有抗慢性酒精性肝损伤作用, 但其抗损伤作用机理是否与氧化应激有关, 还是通过其它机制起作用尚不清楚。

CCl₄ 导致肝损伤的机制与其自由基代谢产物有关, 而血清转氨酶的升高幅度, 能反映肝细胞损害和坏死的程度。铁甲草能抑制 CCl₄ 所致慢性肝损伤大鼠的血清 ALT 和 AST 升高, 高剂量组作用明显优于低剂量组, 保护作用存在量效关系。提示铁甲草能减轻 CCl₄ 肝细胞损害和坏死的程度, 这种肝保护作用是否因对自由基代谢产物影响而发生作用, 将在后续的研究中进行。

[参考文献]

- [1] 厉有名. 药物性肝损伤的临床类型及诊断策略[J]. 中华肝病杂志, 2004, 12(7): 445-446.
- [2] 李舒丹, 厉有名, 虞朝辉. 大鼠慢性酒精性肝损伤模型的建立[J]. 浙江医学, 2002, 24(9): 524-525, 530.
- [3] 陈刚, 李宏波, 邱少敏. CCl₄ 皮下注射制备大鼠肝纤维化模型的研究[J]. 现代医学, 2010, 38(3): 225-229.
- [4] 张纪达, 胡英杰, 张文, 等. 铁甲草化学成分的初步研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(1): 80-82.
- [5] 宫新江, 丁虹, 邱银生, 等. 齐墩果酸抗环磷酰胺所致大鼠肝细胞损伤作用[J]. 医药导报, 2006, 25(11): 1114.
- [6] 区戎英. 齐墩果酸治疗病毒性肝炎[J]. 广州医药, 1981(3): 41.
- [7] Lahouel M, Boukour S, Segueni N. The flavonoids effect against vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid- peroxidation and increasing liver glutathione concentration[J]. Pathol Biol, 2004, 52(6): 314.
- [8] 展玉涛, 魏红山, 王志荣, 等. 大黄素抗肝纤维化作用的实验研究[J]. 中华肝病杂志, 2001, 9(4): 235-237.
- [9] 赵稳兴, 陈志明, 候辉, 等. 木犀草素降低 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化[J]. 世界华人消化杂志, 2002, 10(7): 779.
- [10] 符运舜, 李翎. 铁甲草急性毒性实验及 D- 氨基半乳糖性肝损伤小鼠的影响研究[J]. 国际医药卫生导报, 2014, 20(14): 2046-2048.
- [11] 张纪达, 温成平, 范永升. 铁甲草抑制二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2879-2881.

(责任编辑: 骆欢欢)