

· 药 理 学 ·

舒肝安乐宁浸膏对小鼠急性肝损伤的保护作用

夏爱军, 张 琪, 梁 园(解放军第 303医院药剂科, 广西南宁 530021)

[摘要] 目的 研究舒肝安乐宁浸膏对四氯化碳(CCl_4)诱导的小鼠急性化学性肝损伤的保护作用。方法 采用 CCl_4 制备小鼠急性化学性肝损伤模型,测定血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性,肝组织中谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)水平及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,分析舒肝安乐宁浸膏对上述指标的影响。结果 舒肝安乐宁浸膏各剂量组均能升高急性化学性肝损伤小鼠肝组织GSH、GSH-Px含量($P < 0.01$),降低血清ALT、AST活性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)与肝组织MDA含量($P < 0.05$)。结论 舒肝安乐宁浸膏对 CCl_4 所致小鼠急性化学性肝损伤具有明显的保护作用,这可能与增强谷胱甘肽系统抗氧化能力有关。

[关键词] 舒肝安乐宁浸膏;四氯化碳;肝损伤

[中图分类号] R965.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)05-0352-03

Hepatoprotective effect of Shuguananleng extract against acute hepatic injury in mice

XIA Aijun, ZHANG Qi, LIANG Yuan (Department of Pharmacy, 303th Hospital of PLA, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective** To study the hepatoprotective effect of shuguananleng extract against mouse liver damage which induced by carbon tetrachloride (CCl_4). **Methods** Acute chemical liver injury model was induced by CCl_4 in mice. The activities of ALT, AST in serum and the content of MDA, GSH, GSH-Px in liver were measured. **Results** Different dose of shuguananleng extract significantly increased the content of GSH, GSH-Px in liver ($P < 0.01$), decreased the activities of ALT, AST in serum and content of MDA in liver ($P < 0.05$). **Conclusion** Shuguananleng extract has a good protective effect on acute chemical liver injury in mice, which possibly due to the antioxidative capability of strengthening GSH system.

[Key words] shuguananleng extract; carbon tetrachloride (CCl_4); acute hepatic injury

舒肝安乐宁由叶下珠、鳖甲、郁金、茵陈、黄芪、绞股蓝、白花蛇舌草、栀子、甘草等中药组成,具疏肝解郁、软坚散结、清肝利湿、利水消肿、解毒等功效,为解放军第 303医院多年用于临床治疗肝炎的复方制剂,临床疗效确切。为探讨该方药的作用机制,本研究采用 CCl_4 制备小鼠急性化学性肝损伤模型,研究舒肝安乐宁浸膏对肝损伤的保护作用。

1 材料

1.1 药品与试剂 舒肝安乐宁浸膏[规格:3.55 g(生药)/ml,自制,批号:20080110];四氯化碳(CCl_4 ,分析纯,天津市博迪化工有限公司,批号:20080210),花生油(市售),配成40% (V/V) CCl_4 花生油溶液;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定试剂盒

(均为南京建成生物工程研究所产品);联苯双酯滴丸(北京协和药厂,批号07060107)。

1.2 仪器 Centrifuge 5415D 高速低温离心机(德国 Eppendorf); LG16-W 型离心机(北京医用离心机厂); 80-2离心机(上海手术器械厂); 722紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂); SynergyHT 多功能酶标仪(美国 BDTTEK 公司); FJ-200 型高速分散匀质机(上海标本模型厂); TG328A 型电子分析天平。

1.3 动物 雄性昆明(KM)小鼠,SPF级,体重(20 ± 2)g,由广西食品药品检验所动物中心提供(合格证号:SCXK桂2003-0001)。

2 方法

2.1 动物分组与给药 将60只小鼠随机分为正常组、模型组、阳性对照组(联苯双酯0.25 g/kg)、舒肝安乐宁低、中、高剂量组(5, 10, 20 g/kg,原生药材量分别相当于临床成人给药剂量的0.5、1、2倍),每组10只。正常组和模型组灌胃10 ml/kg的生理氯化钠溶液,其它各组灌胃同等容量的相应药物,每日

1次,连续 15 d 末次给药后 8 h 除正常组腹腔注射等量花生油 10 ml/kg外,其余各组均腹腔注射 0.1%的 CCl₄花生油溶液 10 ml/kg

2.2 指标检测 CCl₄给药后,禁食不禁水 24 h,将小鼠摘眼球取血,分离血清,按照试剂盒说明测定血清中 ALT、AST的活性。取血后脱颈处死小鼠,取适量肝组织放入置有生理盐水的匀浆器中,在冰浴中制备成 100 g/L肝匀浆^[1]。按照试剂盒说明测定肝组织匀浆 MDA、GSH、GSH-Px含量。

2.3 统计学方法 采用 SPSS13.0 统计软件对实验数据进行单因素方差分析,两组间比较采用 Dunnett-t 检验,各项数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对急性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 的影响 与空白组比较,模型组小鼠血清 ALT、AST 含量明显升高 ($P < 0.01$),说明肝细胞受损,本次实验小鼠急性肝损伤模型制作成功。与模型组比较,舒肝安乐宁低、中、高剂量组能明显降低小鼠血清中 ALT、

AST 水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且呈剂量依赖性。结果见表 1。

表 1 舒肝安乐宁浸膏对 CCl₄所致急性肝损伤小鼠血清 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	—	44.10 ± 9.53 ¹⁾	86.19 ± 11.76 ¹⁾
模型组	—	182.60 ± 24.75 ²⁾	205.30 ± 23.41 ²⁾
阳性对照组	0.25	65.71 ± 16.21 ⁴⁾	141.24 ± 1.59 ¹⁾⁴⁾
低剂量组	5	104.41 ± 9.22 ¹⁾³⁾	184.22 ± 4.20 ¹⁾³⁾
中剂量组	10	87.00 ± 14.44 ⁴⁾	176.10 ± 5.18 ¹⁾⁴⁾
高剂量组	20	69.10 ± 15.11 ⁴⁾	144.23 ± 6.94 ¹⁾⁴⁾

¹⁾ $P < 0.05$ ²⁾ $P < 0.01$, 与空白组比较; ³⁾ $P < 0.05$ ⁴⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较。

3.2 对急性肝损伤小鼠肝组织 MDA、GSH、GSH-Px 的影响 MDA 含量在注射 CCl₄ 24 h 后水平明显升高,但给药组明显低于 CCl₄ 模型组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。同时,舒肝安乐宁浸膏明显提高肝组织内 GSH 含量 ($P < 0.05$),增强 GSH-Px 活性 ($P < 0.01$)。结果见表 2。

表 2 舒肝安乐宁浸膏对 CCl₄所致急性肝损伤小鼠肝组织 MDA、GSH、GSH-Px 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	MDA (nmol/mg pro)	GSH (U/mg pro)	GSH-Px (U/mg pro)
空白组	—	6.80 ± 2.24 ⁴⁾	23.52 ± 0.45 ¹⁾	201.70 ± 31.95 ¹⁾
模型组	—	20.70 ± 5.62 ²⁾	13.65 ± 2.67 ²⁾	104.37 ± 22.52 ²⁾
阳性对照组	0.25	14.11 ± 4.32 ¹⁾⁴⁾	21.43 ± 1.08 ³⁾	180.80 ± 20.92 ⁴⁾
低剂量组	5	15.42 ± 8.28 ¹⁾³⁾	17.02 ± 2.09 ³⁾	117.81 ± 23.51 ¹⁾⁴⁾
中剂量组	10	14.71 ± 5.41 ¹⁾⁴⁾	19.28 ± 0.52 ³⁾	142.57 ± 21.11 ⁴⁾
高剂量组	20	14.27 ± 6.12 ¹⁾⁴⁾	20.40 ± 1.07 ³⁾	173.62 ± 21.75 ⁴⁾

¹⁾ $P < 0.05$ ²⁾ $P < 0.01$ 与空白组比较; ³⁾ $P < 0.05$ ⁴⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较。

4 讨论

CCl₄ 肝损伤是经典的化学性肝损伤动物模型,具有操作简便、病理模拟性及重复性好等优点。CCl₄ 在细胞色素 P450 还原酶系统的还原激活下生成自由基,过量自由基可使生物膜脂质双分子层中的不饱和脂肪酸过氧化,从而使膜结构和功能发生障碍。过氧化脂质的代谢产物 MDA,进一步与磷脂酰乙醇胺和蛋白质交联,生成无活性脂褐质,沉积于组织细胞,破坏细胞膜结构,最后导致细胞无法维持正常代谢而死亡^[2]。在正常条件下,AST、ALT 等转氨酶存在于细胞质中,当细胞膜受到损伤时就会释放出来,在体液中流通,故血清中 AST 和 ALT 酶活性的升高。AST、ALT 是肝损伤的标志酶,其活性在一定范围内可反映肝细胞的损伤程度^[3]。脂质过氧化程度可以通过脂质过氧化产物 MDA 的含量来间接评价^[4]。

GSH 在 CCl₄ 的活性中间代谢产物的解毒过程中具有重要作用,GSH (尤其是肝细胞内的 GSH)能与某些药物 (如扑热息痛)、毒素 (如自由基、重金属)等结合,参与生物转化作用,从而把机体内有害的毒物转化为无害的物质,排出体外。谷胱甘肽过氧化酶是重要的催化过氧化氢分解的酶,它特异性的催化还原性 GSH 对过氧化氢的还原反应,从而起到保护细胞膜结构功能的完整作用。研究表明,肝损伤可引起肝组织中谷胱甘肽过氧化酶活性以及 GSH 含量的降低^[5]。GSH-Px 是机体内广泛存在的一种含硒抗氧化酶,可通过特异性催化 GSH 对过氧化物的还原反应,而消除细胞内有害的过氧化代谢产物,以阻断脂质过氧化连锁反应,从而对保护细胞代谢的正常进行起到重要作用。

舒肝安乐宁是依据祖国医学理论,由叶下珠、鳖甲、郁金、茵陈等多味中药组成,虚实兼顾,具有活血

(下转第 380 页)

动杆菌对头孢哌酮 舒巴坦、亚胺培南耐药上升较快,头孢哌酮 舒巴坦分别由 2007年的 0%上升到 2009年的 27.9%,亚胺培南由 2007年的 2.9%上升到 2009年的 64.2%,与国内其他报道相似^[4]。

细菌对某一种抗菌药物的耐药不仅可以是这种抗菌药物的直接选择结果,而且可以由其他抗菌药物所致。有研究显示,不动杆菌中,头孢菌素选择出了对碳青霉烯类的耐药;在肺炎克雷伯杆菌中, β -内酰胺类或头孢菌素类选择出了碳青霉烯酶;而在铜绿假单胞菌中,氟喹诺酮类的使用选择出了对美罗培南的耐药。虽然氟喹诺酮类和头孢菌素类经常选择产生耐药性,但这并不意味着不能继续选用这类药物进行治疗,而是应该了解使用这些药物可能带来的附加损害。选择诱导性较低的抗菌药物可以延缓抗菌药物附加损害发生的时间,延迟耐药菌株产生的时间。对于普通感染患者要严格控制广谱抗菌药物的使用;对于严重感染患者要了解当地细菌的耐药情况和既往抗菌药物使用情况;要早期、迅速、足量正确地使用抗菌药,一旦明确细菌学检查结果,立即调整进行降阶梯治疗^[5]。同时要严格执行抗菌药物合理使用的有关规定,采取限用措施,根据本院耐药情况轮换使用抗菌药物。

(上接第 353页)

化痰,保肝护肝,清除自由基,增强机体免疫力的功效^[6-10]。本院多年临床实践证实,舒肝安乐宁治疗肝炎效果明显。前期药理研究发现,本方对 CCl_4 造成的实验性肝纤维化大鼠具有一定的抗过氧化脂质、抗肝纤维化作用^[11],能抑制肝组织中 COLI 和 COLIII 的含量和 $TGF-\beta_1$ mRNA 的表达^[12]。

本实验的结果表明,舒肝安乐宁能明显降低血清中 AST、ALT 活性及肝组织中 MDA 含量,增加肝组织中 GSH 含量,增强 GSH-PX 活性,进一步提高了组织的抗氧化能力和解毒能力,降低了生物膜脂质过氧化物的发生,增强生物膜的稳定性,降低 CCl_4 对小鼠肝组织的损伤作用。提示舒肝安乐宁对 CCl_4 所致小鼠急性肝损伤具有一定的防治作用。本实验为舒肝安乐宁临床治疗肝炎等疾病提供了一定的理论基础,其保肝作用的机制还有待于进一步研究。

【参考文献】

- [1] 徐淑云,卞如瀛,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:1346
- [2] Reiter R. Biomarkers of free radical damage: applications in experimental animals and in human[J]. J Pineal Res, 1995, 18: 1
- [3] Yang Y, Wanshun L, Baoqin H, et al. Protective effects of di-

总之,预防抗菌药物耐药性产生的方法有多种,合理使用抗菌药物,了解抗菌药物的耐药机制,联合使用多种具有不同作用机制的抗菌药物,能更好的防止细菌耐药性的产生。临床上出现的医院感染多重耐药菌的暴发流行,往往先由抗菌药物选择出耐药菌,然后在医院感染控制措施不得力时,耐药菌发生医院内传播所致。因此,医院对抗菌药物使用的有效管理在降低细菌耐药率的同时,还为有效控制医院感染提供保障。

【参考文献】

- [1] 孙昀,罗晓明,纪宗淑,等. 重症医学科医院感染病原菌分布及耐药分析[J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(3): 223.
- [2] 曾春芳,韩幸平. 临床分离病原菌变迁及耐药状况分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(2): 265.
- [3] 高美英. 抗生素耐药性的起源、传播和对策[J]. 抗感染药学, 2005, 2(1): 1.
- [4] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2008年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5): 231.
- [5] 胡红兵,王维鹏,夏维,等. 湖北地区三级医院儿童感染克雷伯菌的耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(2): 262.

【收稿日期】 2010-08-02

【修回日期】 2010-09-14

- [1] tosan oligosaccharide and its derivatives against carbon tetrachloride induced liver damage in mice[J]. Hepatol Res, 2006, 35(3): 178.
- [4] Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover and effector action in biological systems[J]. J Lipid Res, 1998, 39(8): 1529.
- [5] 金香子,金政,蔡英兰. 决明子水提物对 D-半乳糖中毒大鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(3): 582.
- [6] 裴凌鹏,金宗濂. 葛根黄酮改善小鼠抗氧化功能的研究[J]. 营养学报, 2005, 26(6): 505.
- [7] 于淑娥. 鳖甲软肝片抗肝纤维化的疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 19(16): 2685.
- [8] 秦华珍,郑作文,邓家刚,等. 广西桂郁金对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 广西中医学院学报, 2008, 11(1): 1.
- [9] 孙玉凤,冯志杰,孙泽明,等. 黄芪抗肝纤维化的实验研究[J]. 河北中医药学报, 2008, 23(1): 9.
- [10] 陈纯馨,陈忻,刘爱文,等. 绞股蓝抗自由基成分的提取和性能测定[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 239.
- [11] 夏爱军,韦少宣,蔡文娥,等. 舒肝安乐宁浸膏对肝纤维化大鼠肝脏组织的影响[J]. 解放军药科学学报, 2009, 25(3): 196.
- [12] 夏爱军,韦少宣,蔡文娥,等. 舒肝安乐宁浸膏对肝纤维化大鼠肝组织 $TGF-\beta_1$ 表达和细胞外胶原沉积的影响[J]. 解放军药科学学报, 2009, 25(4): 286.

【收稿日期】 2010-04-22

【修回日期】 2010-05-24