

水蓼衣提取物对 CCl₄ 诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用

冯大明, 王双, 唐雅玲, 杨永宗, 朱刚直, 颜迪忠

冯大明, 王双, 唐雅玲, 杨永宗, 朱刚直, 颜迪忠, 南华大学病理生理学教研室、分子生物学研究中心 湖南省衡阳市 421001
冯大明, 女, 1951-01-25 生, 湖南省湘潭市人, 汉族, 1975 年毕业于衡阳医学院, 病理生理学副教授。
通讯作者: 颜迪忠, 421001, 湖南省衡阳市, 南华大学病理生理学教研室、分子生物学研究中心. yzyanghy@163.com
电话: 0734-8281288 传真: 0734-8281288
收稿日期: 2005-01-17 接受日期: 2005-02-02

Protective effect of extraction from *Hygrophila salicifolia* on mice acute hepatic injury

Da-Ming Feng, Shuang Wang, Ya-Lin Tang, Yong-Zong Yang, Gang-Zhi Zhu, Di-Zhong Yan

Da-Ming Feng, Shuang Wang, Ya-Lin Tang, Yong-Zong Yang, Gang-Zhi Zhu, Di-Zhong Yan, Department of Pathophysiology and Center of Molecular Biology Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Correspondence to: Di-Zhong Yan, Center of Molecular Biology Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China. yzyanghy@163.com
Received: 2005-01-17 Accepted: 2005-02-02

Abstract

AIM: To investigate the hepatoprotective effect of the extraction from *Hygrophila salicifolia*.

METHODS: Forty male Kunming mice were divided equally into the normal control group, the CCl₄ injury group, the low-dose (45 g/kg) *Hygrophila salicifolia* group, the high-dose (90 g/kg) *Hygrophila salicifolia* group, and the Bifendate (150 mg/kg) group. All the mice except for those in the normal control group had acute hepatic injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄) 10 mL/kg injected intraperitoneally. The animals were killed 16 h after CCl₄ administration. The activities of serum ALT and AST, as well as the pathological changes of the liver were determined in all groups.

RESULTS: In comparison to the normal control group, the activities of serum ALT and AST in mice with CCl₄ injury were increased significantly ($P < 0.01$). The liver histology showed mild to serious necrosis and degeneration. Serum ALT and AST in both *Hygrophila salicifolia* groups were significantly lower than those in CCl₄ injury group (ALT: 1 485 ± 755, 1 211 ± 528, 3 179 ± 106; AST: 2 045 ± 293, 2 052 ± 386, 2 583 ± 116, in low-dose, high-dose *Hygrophila*

salicifolia, and CCl₄ injury group, respectively, all $P < 0.01$). The liver necrosis and degeneration induced by CCl₄ were also improved significantly after *Hygrophila salicifolia* administration. The effect of high-dose *Hygrophila salicifolia* was superior to that of Bifendate.

CONCLUSION: The extraction from *Hygrophila salicifolia* can protect the liver from damage induced by CCl₄ in a dose-dependent manner. The effect of high-dose *Hygrophila salicifolia* is better than that of Bifendate.

Key Words: CCl₄; Acute hepatic injury; *Hygrophila salicifolia*; Extraction; Mice

Feng DM, Wang S, Tang YL, Yang YZ, Zhu GZ, Yan DZ. Protective effect of extraction from *Hygrophila salicifolia* on mice acute hepatic injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(9):1098-1101

摘要

目的: 探讨水蓼衣提取物对肝脏的保护作用。

方法: 40 只雄性昆明种小鼠, 随机分为对照组、CCl₄ 损伤对照组、低剂量水蓼衣(45 g/kg)组、高剂量水蓼衣(90 g/kg)组和联苯双酯(150 mg/kg)组。除正常对照组外, 其余动物均采用 ip CCl₄ 复制急性肝损伤小鼠模型, CCl₄ 注射后 16 h 处死动物, 测定各组小鼠血清 ALT、AST 的活性以及检查肝组织的病理改变, 观察不同剂量水蓼衣对肝脏的保护作用。

结果: 与正常对照组相比, CCl₄ 损伤对照组动物血清 ALT 和 AST 活性显著升高 ($P < 0.01$)。肝脏出现轻度、中度和重度坏死及变性, 低剂量水蓼衣组、高剂量水蓼衣组血清 ALT 和 AST 明显低于 CCl₄ 损伤对照组 (ALT: 1 485 ± 755, 1 211 ± 528 vs 3 179 ± 106; AST: 2 045 ± 293, 2 052 ± 386 vs 2 583 ± 116, $P < 0.01$), 与联苯双酯组相比无显著差异。水蓼衣能明显减轻 CCl₄ 引起的肝脏结构损害, 高剂量水蓼衣的作用尤为突出, 其作用优于联苯双酯。

结论: 水蓼衣呈剂量依赖性地减轻 CCl₄ 引起的肝损害, 其作用优于联苯双酯。

关键词: 四氯化碳; 急性肝损伤; 水蓼衣; 提取物; 小鼠

冯大明, 王双, 唐雅玲, 杨永宗, 朱刚直, 颜迪忠. 水蓼衣提取物对 CCl₄ 诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用. *世界华人消化杂志* 2005;13(9):1098-1101
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1098.asp>

0 引言

水蓼衣 (*hygrophila salicifolia*) 为爵床科水蓼衣属植物, 性甘、微苦, 凉, 常用于咽喉炎, 乳腺炎, 吐血, 衄血和百日咳的治疗^[1]. 我们在临床实践中观察到水蓼衣提取物治疗病毒性肝炎有较好疗效, 为进一步证实水蓼衣对肝脏的保护作用, 探讨水蓼衣防治病毒性肝炎的作用机制, 为临床治疗提供实验依据, 我们从肝功能和病理形态学两个方面观察水蓼衣对 CCl₄ 所致小鼠急性肝损伤的防治作用.

1 材料和方法

1.1 材料 水蓼衣提取物由南华大学附属南华医院药剂科制备. 流程如下: 晾干草药水蓼衣 1 600 g 切片, 浸泡于 700 mL/L 乙醇 10 L 中, 在 60-70℃ 条件下循环蒸馏 2 h, 反复 2 次后收集蒸馏液, 离心 30 min (2 000 r/min), 过滤, 最后收集药液 2 000 mL. 实验前将 175 mL 药液再次浓缩成 15 mL, 即每毫升药液中含生药 9 g, 4℃ 保存备用. 联苯双酯, 浙江万邦药业有限公司生产, 蒸馏水溶解配制成 15 g/L 的溶液, 供灌胃用. 四氯化碳 (CCl₄), 分析纯, 上海长江化工厂生产, 稀释成 1.5 mL/L 的橄榄油乳剂, 供 ip 用. 血清 ALT 及 AST 测定试剂盒 (赖氏法) 均购自上海荣盛生物技术有限公司.

1.2 方法 雄性昆明种小鼠 40 只, 体质量 18-30 g, 由南岳制药厂提供. 随机分为 5 组, 每组 8 只; 在 ip CCl₄ 前 24, 12, 1 h, 正常对照组及 CCl₄ 损伤对照组均每次以 10 mL/kg 蒸馏水灌胃; 低剂量水蓼衣组和高剂量水蓼衣组分别按 5 mL/kg、10 mL/kg 水蓼衣提取物灌胃; 联苯双酯组按 10 mL/kg 联苯双酯灌胃. 除正常对照组外, 其余 4 组末次灌胃后 1 h 用 1.5 mL/L CCl₄ 橄榄油乳剂 10 mL/kg 给小鼠腹腔注射. 禁食过夜, 16 h 后摘眼球取血, 分离血清, 用诊断试剂盒测定血清 ALT, AST 活性 (均严格按照试剂盒说明书操作), 并剖腹切取肝脏右叶, 用 40 g/L 的甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜观察肝

脏组织病理学变化.

统计学处理 运用 SPSS8.0 统计软件, 计量资料用均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示, 两组比较用 *t* 检验, *P* < 0.05 表示差异有统计学显著性.

2 结果

2.1 水蓼衣对 CCl₄ 诱导的急性肝损伤小鼠血清 ALT 及 AST 活性的影响 给小鼠 ip 1.5 mL/L CCl₄ 橄榄油乳剂后, 小鼠血清 ALT 活性由 1 041 ± 97 nkat/L 上升至 3 179 ± 106 nkat/L (*P* < 0.01), 血清 AST 活性由 1 923 ± 300 nkat/L 上升至 2 583 ± 116 nkat/L (*P* < 0.01), 显示 CCl₄ 引起小鼠急性肝损伤. 与 CCl₄ 对照组比, 低剂量水蓼衣组与高剂量水蓼衣组的血清 ALT 和 AST 活性均显著降低 (ALT: 1 485 ± 755, 1 211 ± 528 vs 3 179 ± 106; AST: 2 045 ± 293, 2 052 ± 386 vs 2 583 ± 116, *P* < 0.01), 与联苯双酯组无明显差异. 说明水蓼衣对 CCl₄ 所致小鼠急性肝损伤具有明显的保护作用 (表 1).

表 1 水蓼衣对 CCl₄ 诱导的急性肝损伤小鼠血清 ALT 及 AST 活性的影响 (mean ± SD, *n* = 8)

分组	血清 ALT (nkat/L)	血清 AST (nkat/L)
正常对照	1 041 ± 97 ^b	1 923 ± 300 ^b
CCl ₄ 损伤对照	3 179 ± 106	2 583 ± 116
低剂量水蓼衣	1 485 ± 755 ^b	2 045 ± 293 ^b
高剂量水蓼衣	1 211 ± 528 ^b	2 052 ± 386 ^b
联苯双酯	1 182 ± 567 ^b	2 087 ± 462 ^b

^b*P* < 0.01 vs CCl₄ 对照组.

2.2 肝组织学检查 肉眼可见 CCl₄ 对照组小鼠的肝脏肿大, 淤血明显, 肝脏表面有点状出血, 低剂量水蓼衣组与高剂量水蓼衣组小鼠的肝脏均为轻度肿大、淤血, 无点状出血. CCl₄ 引起的肝组织损伤主要表现为肝细胞坏死和肝细胞变性. 肝细胞坏死表现为碎片状坏死、灶性坏死并伴有中性粒细胞和单核/巨噬细

表 2 水蓼衣对 CCl₄ 诱导的小鼠肝病理变化的影响 (*n* = 8)

分组	肝细胞坏死				肝细胞变性			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
正常对照	8	0	0	0	8	0	0	0
CCl ₄ 损伤对照	0	1	2	5	0	1	2	5
水蓼衣低剂量	0	2	4	2	0	2	4	2
水蓼衣高剂量	1	3	4	0 ^a	0	3	5	0 ^a
联苯双酯	0	2	3	3	0	2	3	3

+: 坏死 < 1/4 或轻度肝细胞变性, ++: + 与 +++ 之间, +++ 坏死 > 1/3 或重度肝细胞变性. ^a*P* < 0.05 vs CCl₄ 组.

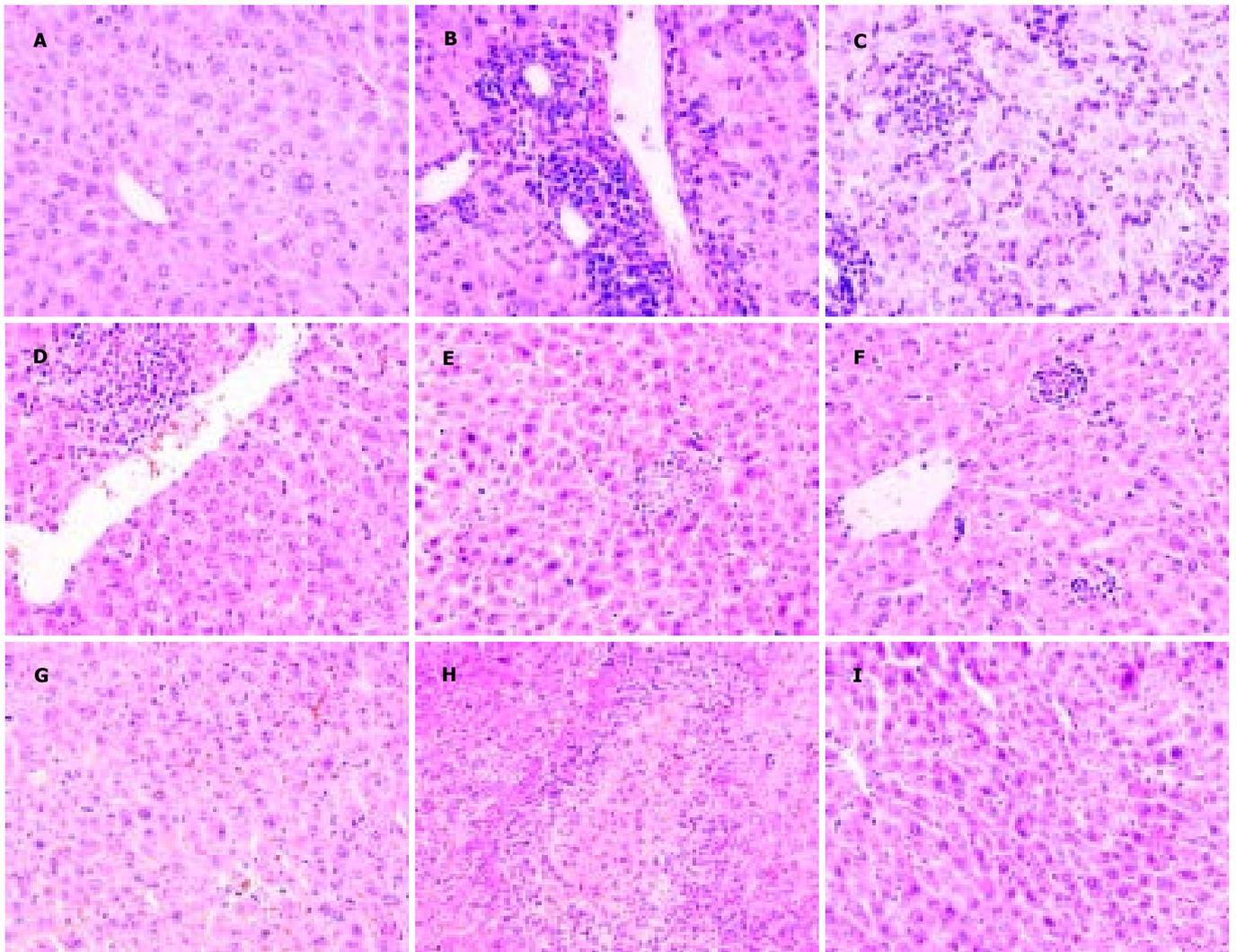


图1 肝组织学HE × 40. A: 正常; B, C: CCl₄ 损伤; D, E: 低剂量水蓼衣; F, G: 高剂量水蓼衣; H, I: 联苯双酯.

胞浸润, 碎片状坏死主要分布在门管区; 肝细胞变性主要表现为不同程度的水变性和嗜酸性变(图 1A-C). 动物给予联苯双酯后再给予 CCl₄, 其肝脏仍有亚大块坏死, 较多灶性坏死和嗜酸性变, 但较 CCl₄ 组为轻(图 1H-I). 预先给予水蓼衣能明显减轻 CCl₄ 引起的肝细胞变性及坏死, 突出表现为肝细胞重度坏死和变性的例数明显减少, 其中高剂量水蓼衣的作用尤为显著 ($P < 0.05$), 且其作用明显优于阳性对照的联苯双酯(表 2, 图 1D-G). 说明水蓼衣对 CCl₄ 引起的急性肝损伤有较好的保护作用.

3 讨论

CCl₄ 肝损伤动物模型是研究护肝药物最常用的病理模型之一. CCl₄ 引起肝损伤的机制为 CCl₄ 在肝微粒体细胞色素 P-450 激活下生成三氯甲基自由基, 这些自由基可与肝细胞内大分子发生共价结合, 也可攻击膜不饱和脂质, 引起脂质过氧化, 使肝细胞损伤, 转氨酶从受损的肝细胞内溢出, 使血清中转氨酶活性升高^[2-5]. 小鼠 ipCCl₄ 后 ALT, AST 值明显高于正常对

照组, 病理学检查证实有肝细胞碎片状坏死、亚大块坏死、灶性坏死伴有中性粒细胞和单核/巨噬细胞浸润, 并出现不同程度的肝细胞变性, 这些与文献[4, 7]报道的大致相同. 已知联苯双酯对多种肝损伤动物模型及乙肝患者的肝脏有保护作用^[5-6], 我们以联苯双酯作为 CCl₄ 中毒护肝的阳性对照. 研究表明, 联苯双酯组血清 ALT 和 AST 活性显著低于 CCl₄ 组, 但防护肝脏结构受损的作用不如水蓼衣显著, 肝脏仍有亚大块坏死, 较多灶性坏死及嗜酸性变. 给予水蓼衣后, 各剂量组 ALT、AST 值较 CCl₄ 对照组有明显降低, 差异有显著性, 并且明显减轻小鼠肝脏的病理损伤, 其中高剂量水蓼衣较低剂量水蓼衣的作用更为显著, 显示出一定的剂量依赖性, 表明水蓼衣能够减轻 CCl₄ 对肝细胞的急性损害, 对肝脏具有保护作用. 而且其减轻 CCl₄ 所致肝脏结构损害方面优于联苯双酯. 水蓼衣抗肝损伤的作用是否与抗脂质过氧化有联系, 药物是促进毒性代谢产物的解毒, 还是直接保护肝细胞免受损伤, 有待于进一步研究.

4 参考文献

- 1 杨成梓, 凌伟坚, 陈建斌. 两种仙桃草的本草考证. *中药材* 2003; 26:818-819
- 2 张建平, 魏红山, 刘顺爱, 郭晶晶, 张黔英, 石小红, 张四平, 刘志英, 冯鑫, 吕洪波. 依那普利对 CCl₄ 急性肝损伤大鼠抗氧化功能的影响. *世界华人消化杂志* 2004;12:2638-2641
- 3 Liu SL, Degli Esposti S, Yao T, Diehl AM, Zern MA. Vitamin E therapy of acute CCl₄-induced hepatic injury in mice is associated with inhibition of nuclear factor kappa B binding. *Hepatology* 1995;22:1474-1481
- 4 Jose SL, Daniel MF, Pablo MDT. Protective effect of carnosol on CCl₄-induced acute liver damage in rats. *Europ J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:1001-1006
- 5 张学武, 赵蓬芳, 全吉叔, 沈明花. 珍珠梅水提取物对四氯化碳所致大鼠急性肝损伤的保护作用. *中南药学* 2003;1:207-209
- 6 崔速南, 汪明明, 范桂玲. 大剂量联苯双酯抗乙型肝炎病毒疗效的临床观察. *中华医学杂志* 2002;82:538-540
- 7 徐玉芳, 黄向春, 温子龙, 罗左阳, 黄常青, 雷元金. 克肝胶囊对小鼠实验性急性肝损伤的影响. *中西医结合肝病杂志* 2000;10: 23-25

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中国生物医学基金论文摘要网站免费开通

本刊讯 中国生物医学基金论文摘要是由世界胃肠病学杂志社研制的大型生物医学基金论文摘要数据库. 该库收录自 1995-2004 年, 国内生物医学期刊 1191 种发表各类基金资助论文摘要 155115 条, 其中国家基金资助的论文为 70167 条(45.23%), 其他基金资助的论文为 84948 条(54.76%).

1 本系统的功能

电子杂志: 关键词搜索, 高级搜索(期刊全名、ISSN、年度、单位、题名、摘要、作者、资助), 期刊搜索(A-Z 排序). 论文排序: 期刊论文数, 点击论文数.

2 网址

中国生物医学基金论文摘要(<http://www.wjgnet.com/cmfa/index.jsp>)

3 论文摘要格式

贺修胜, 陈主初, 田芳, 肖志强, 贺智敏, 关勇军, 李峰, 何春梅, 袁建辉. 鼻咽癌中染色体 3p21 区域一个表达下调的 EST 的鉴定. *癌症* 2003 年;22(1): 1-5

鼻咽癌中染色体 3p21 区域一个表达下调的 EST 的鉴定

贺修胜, 陈主初, 田芳, 肖志强, 贺智敏, 关勇军, 李峰, 何春梅, 袁建辉.

湖南 长沙中南大学肿瘤研究所 410078

国家自然科学基金项目 (39970287, 30000188)

背景与目的: 研究显示鼻咽癌细胞 3p14-25 存在高频率杂合性丢失位点. 本研究拟寻找与筛选染色体 3p21 区域与鼻咽癌相关的表达序列标签(expressed sequence tag, EST), 为定位候选克隆鼻咽癌相关新基因奠定基础. 方法: 充分利用网上的生物信息资源, 采用定位查找 ESTs, 对 ESTs 进行同源性比较分析、筛选; 运用逆转录 PCR(reverse transcription-PCR, RT-PCR) 方法, 检测 ESTs 在鼻咽癌和正常鼻咽组织中的表达; 并用 Northern blot 杂交方法, 检测 EST 在人其他正常组织及肿瘤细胞系的表达状况. 结果: 在 3p21 区域筛选到一个在鼻咽癌中表达下调的 EST(N31985), 在 60.00%(3/5) 的鼻咽癌细胞株及 47.06% (16/34) 的鼻咽癌活检组织检测到有 EST (N31985) 表达下调, 与正常鼻咽上皮组织相比较, 差异有统计学意义(P<0.05). 结论: 染色体 3p21 区域 EST(N31985) 在鼻咽癌中表达下调, 提示其可能参与鼻咽癌癌变过程. (*世界胃肠病学杂志* 2004-06-15)