

余甘子抗免疫性肝纤维化大鼠的作用()

李萍¹, 彭百承^{2*}, 杨政腾², 甄丹丹³, 黄健¹

(1. 广西中医学院, 南宁 530001; 2. 南宁市中医院, 南宁 530012;

3. 广西中医学院第一附属医院, 南宁 530012)

[摘要] 目的: 观察余甘子对猪血清所致免疫性肝纤维化大鼠的影响。方法: 采用大鼠 ip 猪血清, 造成大鼠肝纤维化, 给余甘子提取物, 检测丙氨酸转移酶(ALT)、门冬氨酸转移酶(AST)、白蛋白(Alb)、球蛋白(GLO)、总蛋白(TP)的含量, 计算肝脏系数, 并观察肝组织病理形态学变化。结果: 余甘子提取物能够减少 ALT, AST, GLO, TP 的含量, 升高 Alb 含量, 纠正蛋白倒置, 降低肝脏系数; 改善肝组织病理损伤。结论: 余甘子对猪血清致大鼠肝纤维化模型具有较好的保护作用。

[关键词] 余甘子; 猪血清; 免疫性肝纤维化

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)08-0139-03

Effect of *Phyllanthus emblica* on Immune Hepatic Fibrosis in Liver Fibrosis Rats Caused by Porcine Serum()

LI Pin¹, PENG Bai-cheng^{2*}, YANG Zheng-teng², ZHEN Dan-dan³, HUANG Jian¹

(1. Guangxi College of TCM, Nanning 530001, China; 2. Nanning Hospital of TCM, Nanning 530012, China;

3. The Affiliated Hospital, Guangxi College of TCM, Nanning 530012, China)

[Abstract] **Objective:** To explore effect of *Phyllanthus emblica* on immune hepatic fibrosis in liver fibrosis rats caused by porcine serum. **Method:** The rats were injected with porcine serum, so the rats were got the illness of liver fibrosis, and the rats were given the medicine *P. emblica*, then the content of ALT, AST, Alb, GLO and TP were tested. **Result:** *P. emblica* was able to decrease the content of ALT, AST, GLO, TP, HA, P NP and LN, *P. emblica* could increase the ALB content also. It was able to improve the inverted protein, reduce the hepatic weight coefficient and improve the pathological injury of hepatic tissue. **Conclusion:** *P. emblica* has protective role in liver fibrosis rats.

[Key words] *Phyllanthus emblica*; porcine serum; immune fibrosis of liver

余甘子, 又名庵摩勒, 油甘子、橄榄、牛甘果, 是大戟科叶下珠属植物余甘子 *Phyllanthus emblicah* 的成熟果实, 为民间药食两用佳品, 具有清热凉血, 消食健胃, 生津止咳之功效, 在民间常用来治疗消化不良, 腹泻, 咳嗽, 肝炎, 腹水, 便秘, 肿瘤, 发热, 皮肤病, 高血压, 胆囊炎及癌症等疾病^[1-2]。国内外现代药理学研究已从抗炎、抗菌、抗病毒、抗衰老、抗癌、

抗肿瘤、抗突变、抗高血压、降低血脂、解毒^[3]方面验证了余甘子的治疗功效, 笔者以往实验证实了余甘子对 CCl₄, AAP, TAA, D-Gal-N 等所致小鼠急性肝损伤有保护作用, 对 CCl₄ 所致慢性肝损伤小鼠也有一定的抗肝纤维化作用^[3-6]。本研究观察余甘子对猪血清致大鼠肝纤维化肝功能和肝组织形态学变化的影响。

1 材料与方

1.1 动物 SD 大鼠 82 只, 体重 180 ~ 220 g, 雌雄各半, 由广西医科大学实验动物中心提供, 动物许可证号 SCXK(桂) 2003-0003 号。

1.2 药品和试剂 新鲜余甘子, 清水洗净, 去核取

[收稿日期] 2010-01-13

[基金项目] 广西科技厅自然科学基金课题(桂科自: 0640140)

[通讯作者] 彭百承, Tel: 13005923060; Email: lizli92@163.com

肉,晒干,粉碎过 30 目筛,以 10 倍和 8 倍 70% 乙醇常温浸泡 2 次各 72 h,滤取并合并醇提液,低温回收乙醇,挥发至无醇味,制成 $2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 流浸膏,分装备用,用时以蒸馏水稀释至所需浓度;秋水仙碱:云南省昆明制药股份有限公司,批号 20070225-1; ALT, AST 测试盒,南京建成生物工程研究所,批号 20080614。

1.3 仪器 全自动生化分析仪, BT3000, BIOTEMCNICA(意大利); 酶标仪 DMN-9602G, 成都贝斯达仪器公司; YB-6 型生物组织包埋机, 湖北省孝感市亚光医用电子技术有限公司; ZT-12P 生物组织自动脱水机, 湖北省孝感市亚光医用电子技术有限公司; DNP-9062 型电热恒温培养箱, 上海精密实验设备有限公司; LEICA RM 2135 切片机, LEICA RM 公司; BH-2 Olympus 显微镜, 日本 Olympus 公司。

1.4 分组及给药方法 取大鼠 82 只, 适应性喂养 1 周后随机分成 6 组: 余甘子高、中、低剂量组 ($5.0, 2.5, 1.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、秋水仙碱阳性对照组 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、模型对照组、正常对照组。正常对照组以 NaCl 注射液 0.5 mL/只 ip ; 其余各组均以猪血清

0.5 mL/只 ip , 均 2 次/周, 连续 9 周。6 组均于分组后第 2 d 起连续 ig 生理盐水或治疗药物, 1 次/d, 连续给药 9 周。末次给药后禁食 12 h, 麻醉大鼠, 股主动脉采血, 25 放置 4 h, 立即以 $4 \times 4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 分离血清, 3 ~5 放置待检。

1.5 检测项目

1.5.1 大鼠血清 ALT, AST, Alb, GLO, TP 的含量。

1.5.2 肝组织学观察 光镜下观察大鼠肝组织病理形态学变化。

1.6 数据处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 对免疫性肝纤维化大鼠血清 AST, ALT, 肝脏系数的影响 结果显示: 余甘子各剂量组能明显降低血清 AST, ALT 水平, 与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.01$), 但对肝脏系数无明显影响(表 1)。

2.2 对免疫性肝纤维化大鼠血清 TP, Alb, GLO 的影响 结果显示: 余甘子各剂量组均能明显降低大鼠血清 GLO, Alb 水平 ($P < 0.05 \sim 0.01$) 见表 2。

表 1 对免疫性肝纤维化大鼠血清 AST, ALT, 肝脏系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	ALT / $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	AST / $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	肝脏系数 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$
正常对照	10	—	$62.20 \pm 6.62^{2)}$	$126.39 \pm 6.94^{2)}$	$14.29 \pm 1.53^{2)}$
模型对照	16	—	86.88 ± 8.08	179.79 ± 11.29	16.25 ± 1.39
余甘子	14	5.00	$67.86 \pm 6.83^{2)}$	$122.11 \pm 11.33^{2)}$	15.16 ± 2.44
	14	2.50	$79.67 \pm 4.51^{2)}$	$143.92 \pm 8.72^{2)}$	15.39 ± 1.37
	14	1.25	$79.65 \pm 4.92^{2)}$	$155.80 \pm 12.52^{2)}$	15.89 ± 2.25
秋水仙碱	14	1×10^{-4}	$75.52 \pm 4.91^{2)}$	$146.76 \pm 6.84^{2)}$	15.01 ± 1.19

注: 与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

表 2 对免疫性肝纤维化大鼠血清 TP, Alb, GLO 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TP / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	ALB / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	GLO / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
正常对照	10	—	$67.69 \pm 3.23^{2)}$	$39.68 \pm 3.52^{2)}$	$28.01 \pm 1.80^{2)}$
模型对照	16	—	76.32 ± 3.67	29.19 ± 3.88	47.13 ± 3.77
余甘子	14	5.00	$69.36 \pm 8.71^{1)}$	$33.54 \pm 2.84^{2)}$	$35.82 \pm 3.24^{2)}$
	14	2.50	$75.48 \pm 7.62^{1)}$	32.05 ± 4.23	$43.43 \pm 3.53^{1)}$
	14	1.25	$74.16 \pm 6.39^{1)}$	31.19 ± 4.31	$42.97 \pm 3.40^{1)}$
秋水仙碱	14	1×10^{-4}	$75.22 \pm 7.61^{1)}$	$34.40 \pm 2.86^{2)}$	$40.82 \pm 4.09^{2)}$

2.3 对肝纤维化大鼠肝脏组织学观察 正常对照组肝结构正常; 模型对照组: 镜下见肝脏内有明显纤维组织增生, 间隔增宽, 沿间隔区周围有大量肝细胞呈空泡状坏死区, 且有一些淋巴细胞浸润, 肝细胞增生活跃, 正常的肝小叶结构被破坏, 假小叶形成, 说

明本次实验造模成功。秋水仙碱组: 镜下肝小叶结构正常, 小叶内肝细胞轻度水肿, 汇管区轻度炎症, 少许纤维组织增生; 余甘子高剂量组: 大鼠肝内仅见少量纤维间隔及炎细胞浸润, 肝小叶结构基本正常; 余甘子中剂量组: 肝内可见纤维组织增生, 肝细胞索

排列紊乱,有假小叶形成;余甘子低剂量组:肝内可见纤维组织增生,肝细胞索排列紊乱,有假小叶形成(图 1)。

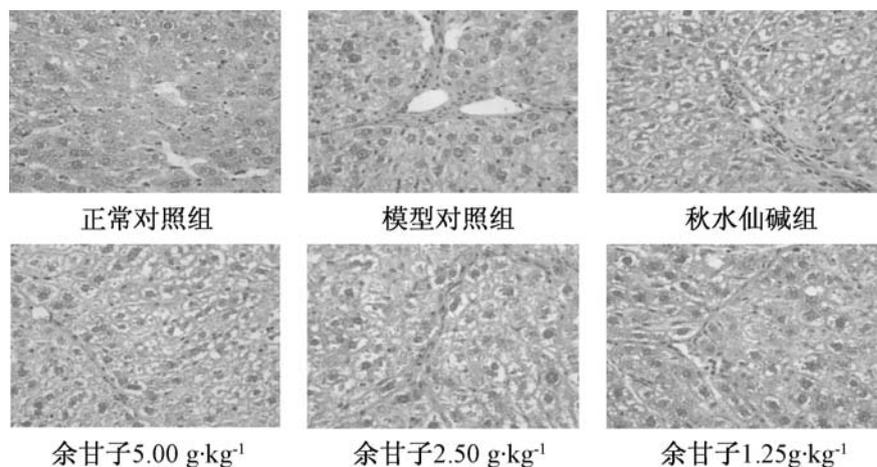


图 1 各组大鼠的肝脏病理切片(HE, ×400)

3 讨论

以猪血清为抗原,反复注射实验动物,在肝脏门脉汇管区有免疫复合物沉积,引起血管炎和血管周围炎,形成广泛的慢性炎症病变,激发肝门内静脉的肝星状细胞(HSC)向肌成纤维细胞转化,分泌胶原导致纤维化。此类模型与人类肝纤维化形成过程较相近,具有形成周期短、死亡率低、造模后稳定、费用低廉,是研究肝纤维化发病机制、相关并发症的较好模型^[7]。

血清 ALT 和 AST 的升高在一定程度上反映了肝细胞损害和坏死的程度。本实验结果提示余甘子提取物可降低免疫性肝纤维化大鼠 ALT 和 AST 水平,说明余甘子具有较好的保肝降酶作用。

当肝脏受损时,肝脏功能受到损害,导致蛋白质的合成、细胞内运输和释放发生障碍,可导致血清蛋

白(特别是 TP, ALB)的减少,而 GLO 可能升高,血清 ALB 的水平可反映肝脏合成蛋白质的功能^[8]。本次实验结果提示余甘子提取物对免疫性肝纤维化模型大鼠能促进 ALB 的合成,提高血清 ALB 的含量,同时降低 GLO 水平。表明余甘子具有改善肝脏对蛋白质的合成功能,纠正蛋白倒置的作用。

肝组织的病理学观察表明余甘子具有减少大鼠肝组织内纤维组织增生及炎性细胞浸润,改善肝脏组织病理损伤的作用。

[参考文献]

- [1] 李萍,杨政腾,彭百承.余甘子抗大鼠免疫性肝纤维化作用() [J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):173.
- [2] 夏泉,孔杰.传统药物余甘子的民族药学研究[J].中国中药杂志.1997,22(9):515.
- [3] 成翠兰.余甘子的营养与医疗保健作用[J].天然产物研究与开发.1999,4(2):31.
- [4] 李萍,谢金鲜,林启云,等.民族药余甘子的急性毒理与药效学研究[J].中医药学刊,2002;20(6):852.
- [5] 李萍,谢金鲜,林启云,等.余甘子对 D-半乳糖胺致小鼠急性肝损伤的影响[J].云南中医中药杂志,2003,24(1):30.
- [6] 李萍,谢金鲜,林启云,等.余甘子抗慢性肝损伤性肝纤维化的实验研究[J].中西医结合肝病杂志,2002,12(6):355.
- [7] 王宝恩,王志富,殷蔚萸,等.实验性免疫性肝纤维化模型的研究[J].中华医学杂志,1989,69(9):503.
- [8] 徐章,杜亚军,胡阳黔,等.血清纤维化指标与慢性肝病的关系[J].临床消化杂志,2003,15(1):62.

[责任编辑 何伟]