

· 药理 ·

刺五加酸对酒精性肝损伤的影响

郝乘仪¹, 白婷², 南极星², 廉丽花^{2*}

(1. 吉林医药学院药学院, 吉林 吉林 132013; 2. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133002)

[摘要] 目的:探讨刺五加酸(AA)对小鼠急性肝损伤的保护作用。方法:将 60 只小鼠随机分成 6 组,即正常组,乙醇模型组,水飞蓟素组(100 mg·kg⁻¹),刺五加酸高、中、低剂量组(30,10,5 mg·kg⁻¹)。小鼠每隔 12 h 给药 1 次,连续给药 3 次。每次给药后 1 h,除正常组外均灌胃 60% 乙醇(5 g·kg⁻¹)。观察大鼠血清的生化指标和病理组织变化。结果:在 AA 的高、中剂量组 ALT(25±6),(31±8)U·L⁻¹,AST(157±23),(187±18)U·L⁻¹,TNF-α(32±4.62),(41±5.3)μg·L⁻¹以及 TG(190±23),(257±23)mmol·L⁻¹明显下降,与模型组比较有显著性差异(P<0.001),减少了肝损伤程度。结论:刺五加酸对乙醇引起的小鼠急性肝损伤具有良好的保护作用。

[关键词] 刺五加酸; 乙醇; 急性肝损伤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)24-0198-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121012.0909.006.html>

[网络出版时间] 2012-10-12 9:09

The Protective Effect of Acanthoic Acid on Liver Injury in Mice

HAO Cheng-yi¹, BAI Ting², NAN Ji-xing², LIAN Li-hua^{2*}

(1. College of Pharmacy, Jilin Medical College, Jilin 132013, China;

2. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China)

[Abstract] Objective: To study the protective effects of acanthoic acid (AA) against acute liver injury. Method: Sixty mice were andomly divided into six groups: the normal group, the ethanol model group, silymarin group (100 mg·kg⁻¹), high-dose AA group (30 mg·kg⁻¹), middle-dose AA group (10 mg·kg⁻¹) and low-dose AA group (5 mg·kg⁻¹). Each group received medicine by gavage every 12 hrs for a total of 3 doses. Except for normal group, the other mice were received 60% ethanol (5 g·kg⁻¹) 1 h. After administrayion. The thehepatic pathological and biochemical index changes in rats were observed. Result: The high-dose AA group and the middle-dose AA group can reduce the level of ALT (25±6), (31±8)U·L⁻¹, AST (157±23), (187±18)U·L⁻¹, TNF-α (32±4.62), (41±5.3)μg·L⁻¹ and TG (190±23), (257±23)mmol·L⁻¹, which was compared with the model group, and showed a significant difference (P<0.001). Conclusion: The AA could protect mice from ethanol induced acute liver injury efficiently.

[Key words] acanthoic acid; ethanol; acute liver injury

刺五加酸(acanthoic acid,AA)是由刺五加的根

皮部提取的一种海松二烯二萜类物质。常用于滋补剂和镇静剂,还可以用于治疗风湿病和糖尿病^[1]。肝脏是药物和毒物代谢过程中的重要器官,日常生活中过量饮酒或饮用中药都会引发肝脏的损伤^[2-4]。关于刺五加酸对乙醇所造成的肝细胞损伤保护作用,较少见于报道,本文对此进行了研究。

1 材料

1.1 动物 取体重在 20~22 g 雄性昆明种小鼠,

[收稿日期] 20120716(004)
[基金项目] 国家自然科学基金(81160528)
[第一作者] 郝乘仪,硕士,助理实验师,从事肝保护及抗肝纤维化药物研究, Tel: 13624324385, E-mail: yuleilei120@163.com
[通讯作者] * 廉丽花,博士,讲师,从事中药肝保护及其机制研究, Tel: 0433-2435072, E-mail: lihualian @ ymail.com

SDF 级由延边大学医学部动物科提供,恒温饲养。

1.2 药品与试剂 无水乙醇(北京化学试剂公司,批号 010793),刺五加酸(由韩国生命工学研究院李晶俊博士提供,纯度 98%,用 HPLC 测定),水飞蓟素胶囊(德国马博士大药厂),丙氨酸转氨酶试剂盒(ALT)、天冬氨酸转氨酶试剂盒(AST)、甘油三酯(TG)试剂盒(均购自南京建成生物研究所);肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 试剂盒(BD Biosciences. San Diego, CA, USA)。

1.3 仪器 HJ-2 双头磁力加热搅拌器(金坛市科析仪器有限公司),SUNRISE 酶标仪(上海麦莎生物科技有限公司),MDF-U4186S 超低温冰箱(三洋电机国际贸易有限公司),BS224 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统在限公司),SP-4430 型生化分析仪(日本 ARKRAY 公司),1-13 型离心机(Sigma 公司)。

2 方法

2.1 分组及肝组织损伤模型制作 将 60 只小鼠随机分成 6 组,即正常组,乙醇模型组,水飞蓟素阳性对照组(silymarin)100 mg·kg⁻¹ ig,刺五加酸高、中、低剂量组 30,10,5 mg·kg⁻¹ ig,每组 10 只,正常组和模型组灌胃给予同等热量的麦芽糖溶液。每隔 12 h 给药 1 次,连续给药 3 次,每次给药后 1 h,除正常组外均 ig 60%乙醇 5 g·kg⁻¹,末次给药 4 h 后颈动脉取血,分离肝脏,脱颈椎处死,收集血清,肝脏存放于-80℃,备用。

2.2 血清的制备 取小鼠颈动脉血,静置 15 min 后,以 2 000 r·min⁻¹离心 15 min 后,取出血清,放置于-20℃下冷冻保存,以备用。

2.3 血清 ALT,AST,TNF- α ,TG 测定 以 SP-4430 型生化分析仪按试剂说明书进行测定。

2.4 病理组织学检查 取肝脏左叶距边缘 0.5 cm 处小块组织,用 10% 甲醛固定,按常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片后显微镜下观察组织形态学,拍摄片。肝细胞脂肪变性程度和坏死及炎症活动度判断标准分为 6 个得分^[5]:0 分,无变性、坏死;1 分,肝细胞内脂滴极稀少,一个或者几个坏死细胞;2 分,轻微病变,10%~25% 的坏死细胞或炎细胞浸润;3 分,中度病变,25%~40% 的坏死细胞或炎细胞浸润;4 分,明显病变,40%~50% 的坏死细胞或炎细胞浸润;5 分,严重病变,超过 50% 的坏死细胞或炎细胞浸润。

2.5 统计学处理 实验数据采用 Graphpad prism program 5.0 (Graphpad software, Inc, san Diego, USA),测定值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用单因素方差分析

(One-way ANOVA)和 Turkey's 多因素 *t* 检验进行数据比较。*P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对乙醇所致急性肝损伤小鼠 AST,ALT 的影响 各给药组给予乙醇后,血清中转氨酶 AST,ALT 活性明显升高,与正常组比较有显著性差异(*P* < 0.001),说明乙醇造成了严重的肝损伤,提示造模成功;在 AA 的不同剂量组和水飞蓟素组 ALT,AST 活性明显下降,与模型组比较有显著性差异(*P* < 0.001)。见表 1。

表 1 AA 对急性肝损伤的小鼠血清中 AST ALT 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹
正常对照	-	104 ± 6	12 ± 4
模型对照	-	296 ± 23	79 ± 8
水飞蓟素	100	179 ± 21 ¹⁾	30 ± 7 ²⁾
刺五加酸	5	234 ± 39	52 ± 12
	10	187 ± 18 ¹⁾	31 ± 8 ²⁾
	30	157 ± 23 ²⁾	25 ± 6 ³⁾

注:与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001(表 2~3 同)。

3.2 对乙醇所致急性肝损伤小鼠 TNF- α , TG 的影响 乙醇造模组小鼠肝组织中的 TNF- α 以及 TG 明显升高,与正常组比较有显著性差异(*P* < 0.001);给予 AA 后,各给药组 TNF- α 以及 TG 含量下降,与模型组比较有显著性差异(*P* < 0.001)。见表 2。

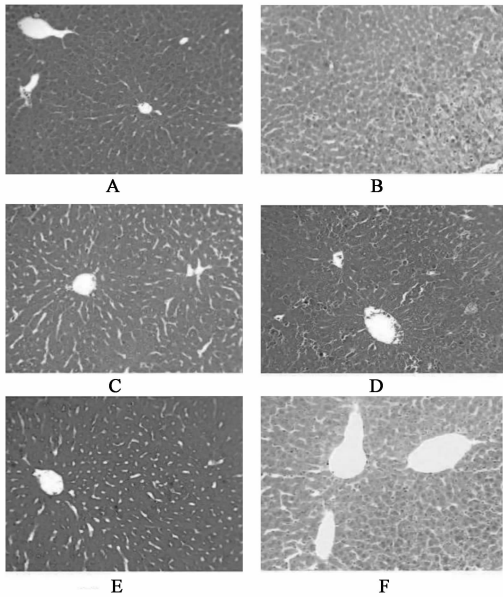
表 2 AA 对急性肝损伤的小鼠 TNF- α , TG 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	TNF- α /μg·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹
正常对照	-	20.59 ± 1.52	120 ± 14
模型对照	-	64.91 ± 5.18	298 ± 29
水飞蓟素	100	27.44 ± 2.37 ³⁾	226 ± 23
刺五加酸	5	63.69 ± 8.53	268 ± 25
	10	41.00 ± 5.30 ¹⁾	257 ± 23
	30	32.00 ± 4.62 ²⁾	190 ± 23 ¹⁾

3.3 病理组织学观察 通过 HE 染色结果观察,正常组的肝组织完好,肝细胞完整,细胞核正常;EtOH 组表现为肝小叶结构大部分破坏,肝细胞呈弥漫性坏死,细胞核固缩或消失,有大量炎性细胞浸润;EtOH + AA 低剂量组肝索排列接近正常,部分肝细胞体积增大,中央静脉及汇管区清晰可见,但与模型组比较有一定的效果;EtOH + AA 中剂量组细胞结构较完整,坏死性区域与 EtOH 组相比有所减少;EtOH + AA 高剂量组细胞结构较完整,排列较紧密;EtOH + 水飞蓟素组肝细胞完整,部分肝细胞增大,

与正常组接近。结果见表 3,图 1。

表 3 AA 对急性肝损伤的小鼠肝组织损伤的影响								
组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肝组织病变得分/只						平均值/分
		0	1	2	3	4	5	
正常	—	10	0	0	0	0	0	0.0 ³⁾
模型	—	0	0	0	3	4	3	4.0
刺五加酸	5	0	1	2	2	4	1	3.2
	10	0	2	3	2	2	0	2.6
	30	0	5	3	1	1	0	1.8 ¹⁾
水飞蓟素	100	0	3	2	4	1	0	2.4



A. 正常组;B. 模型组;C. AA 5 mg·kg⁻¹;D. AA 10 mg·kg⁻¹;
E. AA 30 mg·kg⁻¹; F. 水飞蓟素 100 mg·kg⁻¹组
图 1 各组大鼠肝脏病理组织切片(HE, ×100)

4 讨论

近年来我国酒精性肝损伤的发病率逐年增加,人群中检出率为 4.34%^[6]。本研究结果表明刺五加酸能有效地降低大剂量乙醇所致的小鼠的死亡率,提示刺五加具有保肝作用。肝损伤是由多种因素引起,自由基和脂质过氧化反应在肝脏损伤及肝脏疾病的发生过程中起着十分重要的作用^[7]。当肝细胞受到损伤的时候细胞质内的乳酸脱氢酶、AST 和 ALT 就会释放出来,其在血液中的活性就会升高。实验结果表明刺五加酸能够明显抑制乙醇肝毒性引起的小鼠血清中 AST,ALT 活性的升高,且成剂量依赖关系^[8]。在肝细胞损伤过程中 TNF-α 起着极其重要的作用。当外界刺激肝细胞时,不同种类的促进炎症反应因子会被巨嗜细胞释放出来,这其中就包括 TNF-α,IL-1 与 IL-6。其中 TNF-α 主要

由单核-巨噬细胞分泌,是一种促进肝细胞凋亡的重要因子,与免疫性和化学性肝损伤有着极其密切的关系^[9]。在急性肝损伤的疾病中,肝脏中的 TNF-α 起着重要的作用^[10]。本次实验中治疗组小鼠血清中 TNF-α 的含量明显低于模型组,而且成剂量依赖关系,说明刺五加对乙醇引起的肝损伤具有保护作用。总的来说,刺五加酸对酒精引起的小鼠急性肝毒性有很好的预防和保护作用。我国生药资源共有 12 000 余种,在众多的中药资源中,能够运用于临床用于治疗酒精性肝病的特别稀少^[11]。目前有关刺五加酸的研究较少,其确切的药理作用及作用机制报道甚少,可以是一种极具开发研究潜力的药材。

[参考文献]

[1] 吴艳玲. 刺五加酸、红景天苷对小鼠急性肝衰竭的保护作用及干预机制研究 [D]. 延吉:延边大学,2009.
[2] 王君明,崔瑛,王峥涛,等. 超氧化物歧化酶参与肝损伤的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17 (7):265.
[3] 王君明,崔瑛,申玲玲,等. 中药致药源性肝损伤的氧化应激机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17 (5):247.
[4] 柴智,周文静,高丽,等. 雷公藤肝毒性及其作用机制的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17 (7):243.
[5] Ai-Yan Wang, Li-Hua Lian, Ying-Zi Jiang. Gentiana manshurica Kitagawa prevents acetaminophen-induced acute hepatic injury in mice via inhibiting JNK/ERK MAPK pathway [J]. World Journal of Gastroenterology, 2010,16(3):384.
[6] 厉有名. 酒精性肝病的分类及其诊断标准若干问题 [J]. 中华消化杂志,2002,22(1):38.
[7] 蒙明瑜,郭又嘉,文坎,等. 剑叶耳草水提物对急性肝损伤小鼠的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18 (11):185.
[8] 冯有辉,何康,邹丽宜,等. 人参须对四氯化碳致小鼠肝纤维化的保护作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9 (9):1019.
[9] 杨平. 刺五加苷延缓衰老作用机理研究 [D]. 沈阳:沈阳农业大学,2009.
[10] 崔昊震. 刺五加酸对 D-氨基半乳糖与内毒素合用所致小鼠暴发性肝衰竭的保护作用 [D]. 延吉:延边大学,2006.
[11] 陈东方,李立,王亚东,等. 解酒口服液对乙醇致急性肝损伤的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17 (10):199.

[责任编辑 聂淑琴]