

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000684

玉郎伞多糖对双氯芬酸致小鼠肝损伤的保护作用 及相关机制研究

阮文福¹, 梁杏梅², 段文明¹, 陈春霞¹, 黄仁彬¹

(1. 广西医科大学药理学教研室, 南宁 530021; 2. 广西卫生职业技术学院药理学系, 南宁 530023)

【摘要】目的:探讨玉郎伞多糖(Yulangsans polysaccharide, YLSPS)对双氯芬酸(Diclofenac, DICF)致小鼠肝损伤的保护作用及相关机制研究。**方法:**把昆明种小鼠随机分为正常对照组(normal control, NC), DICF 损伤模型组, YLSPS 高(YLSPS_H, 600 mg/kg)、YLSPS 中(YLSPS_M, 300 mg/kg)、YLSPS 低(YLSPS_L, 150 mg/kg)剂量组和联苯双酯阳性对照组(dimethyl diphenyl bicarboxylate, 200 mg/kg DDB), 每组 10 只。YLSPS 高、中、低剂量组和联苯双酯组灌胃给予相应药物, 正常对照组和模型组同法给予相等容积的生理盐水, 每日 1 次, 连续 14 d。末次给药后 1 h, 除正常组给予相等容量生理盐水腹腔注射外, 其余各组小鼠同法给予 DICF 50 mg/kg。造模后动物禁食 20 h, 取血及脏器检测肝功能指标碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及总胆红素(total bilirubin, TBIL), 检测肝匀浆超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和过氧化氢酶(catalase, CAT)的水平及血清中白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)水平, HE(Hematoxylin eosin)染色法观察各组小鼠肝细胞损伤程度。**结果:**与模型对照组比较, YLSPS 能降低血清 ALT、AST、ALP 活性和 TBIL 含量以及肝组织 MDA 含量($P<0.05$), 能降低血清 TNF- α 、IL-1 β 水平($P<0.05$), 提高肝组织 SOD、GSH-Px 以及 CAT 活性($P<0.05$)。**结论:**YLSPS 能够有效减轻肝细胞损伤程度, 对 DICF 所致的小鼠肝损伤具有保护作用, 机制可能与抗氧自由基及抑制脂质过氧化等作用有关。

【关键词】玉郎伞多糖; 双氯芬酸; 保肝作用**【中图分类号】**R96**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2014-11-25

Protective effect of Yulangsans polysaccharide on hepatic injury induced by diclofenac in mice and its relative mechanism

Ruan Wenfu¹, Liang Xingmei², Duan Wenming¹, Chen Chunxia¹, Huang Renbin¹

(1. Teaching and Research Section of Pharmacology, Guangxi Medical College;

2. Department of Pharmacy, Guangxi Health Vocational and Technical College)

【Abstract】Objective: To observe the protective effect of Yulangsans polysaccharide (YLSPS) on diclofenac-induced liver injury in Kunming mice. **Methods:** The models of diclofenac-induced liver injury in mice with method of injection were used to study the protective effect of YLSPS. Kunming mice were randomly divided into liver injured DICF group, NC group, YLSPS high-, middle-, low-group (600, 300, 150 mg/kg) and dimethyl diphenyl bicarboxylate (200 mg/kg DDB) group. The treatment groups were orally administered once per day whereas the normal and model groups were orally administered with saline for 14 d. Except normal group, all the other mice were injected intraperitoneally with DICF (50 mg/kg body weight). After fasting for 20 h, animals were sacrificed and blood, liver samples were obtained. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (TBIL), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in serum and levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA) in liver tissue were measured. Hematoxylineosin (HE) stain was used to examine the degree of hepatic injury. **Results:** Compared with model group, YLSPS could reduce the levels of ALT, AST, ALP, TBIL, MDA, TNF- α and IL-1 β . The activities of GSH-Px, SOD, and CAT could be increased ($P<0.05$), and the degree of hepatic injury could be lessened. **Conclusion:** YLSPS has protective effect on diclofenac-induced liver injury in mice. The mechanism may be related to attenuating free radical and inhibiting the effect on lipid peroxidation.

作者介绍:阮文福, Email: phuedhy@gmail.com,

研究方向: 肝炎药物研究。

通信作者:黄仁彬, Email: huangrenbin518@163.com。**基金项目:** 广西科学研究与技术开发计划资助项目(编号: 桂科攻 10124008-6); 广西医学科学实验中心开放基金专项资助项目(编号: KFJJ2010-22); 广西科技基础条件平台建设资助项目(编号: 12-97-20)。**优先出版:** <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150708.2317.011.html>

(2015-07-08)

the levels of ALT, AST, ALP, TBIL, MDA, TNF- α and IL-1 β . The activities of GSH-Px, SOD, and CAT could be increased ($P<0.05$), and the degree of hepatic injury could be lessened.**Conclusion:** YLSPS has protective effect on diclofenac-induced liver injury in mice. The mechanism may be related to attenuating free radical and inhibiting the effect on lipid peroxidation.**【Key words】**Yulangsans polysaccharide; diclofenac; hepatoprotection

非甾体抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)被广泛用于治疗风湿性疾病和解热镇痛,但其在临床上可引起多种副作用,如消化道出血、肾小管损伤及过敏性休克等,其中以肝损伤现象尤为常见,临床表现可从轻微的肝功能异常到严重的肝衰竭甚至导致死亡^[1-2]。目前已知的几种具有内在肝脏毒性的 NSAIDs 有对双氯芬酸钠、对乙酰氨基酚、尼美舒利和阿司匹林等,其对肝脏的损害机制为直接或间接毒性^[3]。双氯芬酸钠多引起急性肝损伤,损伤机制可能与多种因素有关,如氧化应激、线粒体损伤以及一氧化氮生成等。线粒体通透性改变在双氯芬酸钠诱导的肝损伤中具有重要作用,其可导致活性氧物质生成和线粒体肿胀并且引起肝细胞坏死^[4-8]。研究表明,肝脏作为一个免疫器官,是机体免疫系统的重要组成部分。双氯芬酸钠引发肝脏损伤后,募集到肝脏的单核细胞和肝内 Kupffer 细胞被活化,成为 TNF- α 的主要来源,参与肝脏损伤过程。双氯芬酸钠致肝损伤时 TNF- α 与 IL-1 β 水平明显升高^[9-16]。

玉郎伞(Yulangsan polysaccharide, YLSPS)是一种尚未开发利用的民间草药,为蝶形花科植物疏叶崖豆的干燥根,是广西壮族习用药材,具有补气、补血、抗衰老等作用功效。临床用于治疗老年健忘、小儿智力低下及体弱多病等^[21]。其成分复杂,主要活性成分有多糖、黄酮、皂苷类等^[17]。本课题组前期研究结果表明,YLSPS 对四氯化碳、对乙酰氨基酚、D-半乳糖胺盐酸盐、酒精、卡介苗(bacillus calmette guerin vaccine, BCG) + 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、环磷酰胺、抗结核药利福平和异烟肼等分别所致的小鼠急性肝损伤均有明显的保护作用^[17-24],其主要机制与清除自由基、抑制脂质过氧化、抗细胞凋亡等有关^[22],而 YLSPS 对 DICF 所致的肝损伤的保护作用尚未研究。

目前对对乙酰氨基酚所致肝损伤的机制研究较多,对 DICF 所致的肝损伤研究相对较少。本课题通过建立非甾体抗炎药 DICF 所致小鼠肝损伤的实验模型,研究 YLSPS 对小鼠的保肝活性。

1 材料及方法

1.1 材料

1.1.1 动物 取健康昆明种小鼠 60 只,体质量(20 $\pm$ 2) g,雌雄各半,由广西医科大学实验动物中心提供(试验动物使用许可证:SYXK 桂 2011-0005,实验动物生产许可证:SCXK 桂 2011-0003)。

1.1.2 药物及试剂 YLSPS(由本教研室自行提取,多糖经定性检验核实)加于蒸馏水中配制成 YLSPS 高剂量(600 mg/kg, YLSPS_H)、YLSPS 中剂量(300 mg/kg, YLSPS_M)和 YLSPS 低剂量(150 mg/kg, YLSPS_L);DICF 分子量为 318.13,购于美国 Sigma 公司(批号:BCBG3484V);DDB,由北京协和制药厂提供(批号:20120606);ALT 试剂盒(批号:20130409)、AST 试剂盒(批号:20130409)、ALP 试剂盒(批号:20130904)、TBIL 试剂盒(批号:20130904)、SOD 试剂盒(批号:20130408)、MDA 试剂盒(批号:20130420)、CAT 试剂盒(批号:20130814)、GSH-Px 试剂盒(批号:20130410)、考马斯亮蓝试剂盒(批号:20130809)均为南京建成生物工程研究所产品;TNF- α 和 IL-1 β ELISA 试剂盒均购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.1.3 仪器 电子天平:Startorius 公司;可见分光光度计:上海精密科学仪器有限公司;三用电热恒温水箱:北京长源实验设备厂;旋转蒸发仪:上海亚荣生化仪器厂;高速冷冻离心机、台式低速大容量离心机:上海安亭科学仪器厂;彩色病理图文分析系统 PTPS-2011;重庆天海医疗设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物造模及分组 取 60 只健康合格、体质量为(20 $\pm$ 2)g 的昆明种小鼠,随机分为 6 组,每组 10 只,即:DICF 模型组,正常对照组,YLSPS 低、中、高剂量组(YLSPS_L、YLSPS_M、YLSPS_H)及 DDB(150 mg/kg DDB)阳性对照组。正常对照组和 DICF 模型组小鼠灌胃给予 10 ml/kg 的生理盐水,其余 4 组小鼠灌胃给予 10 mg/kg 的相应药物,每日 1 次,连续 14 d。末次给药后 1 h,除正常对照组动物按 10 mg/kg 的给药容量腹腔注射生理盐水外,其余各组动物均按相同的给药容量腹腔注射 DICF 溶液(50 mg/kg),禁食不禁水约 20 h 后,取血及脏器进行相应指标测定。

1.2.2 血清生化指标测定 腹腔注射 DICF 20 h 后进行小鼠眼球取血,样本于 3 000 r/min,4 $^{\circ}$ C 条件下离心 10 min,吸取上层血清,按试剂盒说明书测定血清中 ALT(赖氏法)、AST(赖氏法)、TBIL(咖啡因比色法)和 ALP(铁氰化钾比色法)水平。

1.2.3 血清 TNF- α 和 IL-1 β 水平检测 采用 ELISA 法,操作过程严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.4 测定肝组织生化指标

1.2.4.1 制备肝组织匀浆 肝脏右叶用预冷生理盐水漂洗以除去积血,拭净后称重并加适量预冷生理盐水制备成 10% 的肝匀浆,于 4 $^{\circ}$ C 及 3 500 r/min 条件下离心 15 min,吸取上清液。考马斯亮蓝法测定蛋白含量。

1.2.4.2 测定肝组织匀浆中谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶(catalase, CAT)及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平 按试剂盒说明书测定肝组织匀浆中 MDA(硫代巴比妥酸比色法)、SOD(黄嘌呤氧化酶法)、CAT(可见光法)和 GSH-Px(比色法)。考马斯亮蓝法测定组织中蛋白含量。

1.2.4.3 肝组织病理学检查 10%甲醛对肝右叶相同部位的肝组织进行固定,HE 染色后,光镜下观察肝组织损伤程度。采用临床上常用的肝损伤标准,肝组织损伤程度分成 4 级:0 级(-),肝组织结构正常,无明显变性、坏死和炎症细胞浸润;

I 级(+),肝小叶结构尚正常,可见明显混浊肿胀、气球样变或脂肪变性和散在点状坏死;Ⅱ级(++),肝小叶结构不清,可见明显灶状坏死且伴炎症细胞浸润;Ⅲ级(+++),肝小叶结构模糊不清,可见明显片状坏死且伴炎症细胞浸润。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件对各组数据进行统计分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,模型组与对照组的比较采用 Dunnett-*t* 检验;肝组织病理学变化经 Ridit 分析统计。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠血清 ALT、AST、ALP 和 TBIL 水平的影响

实验结果表明,模型组小鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 活性以及 TBIL 含量明显高于正常组 ($P<0.05$),表明肝损伤模型建立成功。YLSPS 高、中剂量组能降低小鼠血清 ALP、AST、ALT 水平及 TBIL 含量,保肝活性跟阳性对照药 DDB 相当。YLSPS 的高、中剂量组与阳性对照组血清 ALT、AST、ALP 和 TBIL 含量与模型组比较具有统计学差异 ($P<0.05$),见表 1 和表 2。

表 1 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab.1 Effect of YLSPS on ALT and AST in DICF-induced liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)
空白对照	—	42.22 $\pm$ 9.22 ^b	49.65 $\pm$ 11.02 ^b
模型对照	—	123.79 $\pm$ 39.13 ^a	141.39 $\pm$ 42.43 ^a
DDB + DICF	200	63.66 $\pm$ 16.57 ^b	61.47 $\pm$ 23.36 ^b
YLSPS _H + DICF	600	72.78 $\pm$ 22.42 ^b	70.59 $\pm$ 27.57 ^b
YLSPS _M + DICF	300	88.81 $\pm$ 25.02 ^b	94.47 $\pm$ 34.76 ^b
YLSPS _L + DICF	150	114.61 $\pm$ 2.73	132.94 $\pm$ 38.12
<i>F</i> 值		96.490	80.110
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:a,与空白对照组比较, $P<0.05$;b,与模型对照组比较, $P<0.05$

表 2 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠血清 ALP 和 TBIL 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab.2 Effect of YLSPS on ALP and TBIL in DICF-induced liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	ALP(U/L)	TBIL(mg/dl)
空白对照	—	115.60 $\pm$ 25.24 ^b	0.52 $\pm$ 0.04 ^b
模型对照	—	250.36 $\pm$ 30.74 ^a	1.98 $\pm$ 0.11 ^a
DDB+DICF	200	134.24 $\pm$ 24.15 ^b	0.67 $\pm$ 0.08 ^b
YLSPS _H +DICF	600	137.83 $\pm$ 22.71 ^b	0.83 $\pm$ 0.12 ^b
YLSPS _M +DICF	300	177.26 $\pm$ 39.72 ^b	1.32 $\pm$ 0.07 ^b
YLSPS _L +DICF	150	238.83 $\pm$ 40.04	1.82 $\pm$ 0.21
<i>F</i> 值		194.560	9.450
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:a,与空白对照组比较, $P<0.05$;b,与模型对照组比较, $P<0.05$

2.2 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠肝血清 TNF- α 和 IL-1 β 含量的影响

表 3 显示,跟正常组比较,DICF 肝损伤模型组小鼠血清中 IL-1 β 和 TNF- α 含量明显升高 ($P<0.05$)。跟模型组比较,YLSPS 高、中剂量组能明显降低小鼠血清 IL-1 β 和 TNF- α 水平 ($P<0.05$)。

表 3 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠血清 TNF- α 和 IL-1 β 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab.3 Effect of YLSPS on TNF- α and IL-1 β in DICF-induced liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
空白对照	—	41.24 $\pm$ 10.93 ^b	34.11 $\pm$ 9.53 ^b
模型对照	—	104.17 $\pm$ 40.64 ^a	82.09 $\pm$ 34.91 ^a
DDB+DICF	200	49.77 $\pm$ 16.15 ^b	42.34 $\pm$ 16.77 ^b
YLSPS _H +DICF	600	55.80 $\pm$ 19.85 ^b	47.72 $\pm$ 13.79 ^b
YLSPS _M +DICF	300	61.75 $\pm$ 20.66 ^b	60.05 $\pm$ 28.79 ^b
YLSPS _L +DICF	150	96.18 $\pm$ 28.57	74.56 $\pm$ 29.57
<i>F</i> 值		18.855	77.213
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:a,与空白对照组比较, $P<0.05$;b,与模型对照组比较, $P<0.05$

2.3 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠肝匀浆 MDA 含量以及 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性的影响

DICF 肝损伤模型组小鼠肝匀浆 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性显著降低,与正常对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$),见表 4 和表 5。提示本次实验的小鼠急性肝损伤模型成功建立,且 YLSPS 对这些变化均有较强的抑制作用。其中,YLSPS 的高及中剂量组与 DDB 组肝匀浆中 GSH-Px、SOD 和 CAT 和活性与模型组比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。与空白对照组相比,模型组 MDA 水平上升,差异有统计学意义 ($P<0.05$);除 YLSPS 低剂量组外,阳性组、YLSPS 中、高剂量组 MDA 水平均下降,与模型组相比差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结果见表 5。

表 4 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠肝损伤 SOD 和 GSH-Px 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab.4 Effect of YLSPS on SOD and GSH-Px in DICF-induced liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (U/mg protein)
空白对照	—	125.22 $\pm$ 24.72 ^b	457.08 $\pm$ 57.28 ^b
模型对照	—	82.26 $\pm$ 15.64 ^a	244.60 $\pm$ 40.15 ^a
DDB+DICF	200	107.34 $\pm$ 20.89 ^b	355.16 $\pm$ 45.37 ^b
YLSPS _H +DICF	600	102.85 $\pm$ 28.58 ^b	362.04 $\pm$ 53.75 ^b
YLSPS _M +DICF	300	91.74 $\pm$ 26.07 ^b	323.61 $\pm$ 42.35 ^b
YLSPS _L +DICF	150	85.26 $\pm$ 22.44	262.18 $\pm$ 38.12
<i>F</i> 值		25.310	297.450
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:a,与空白对照组比较, $P<0.05$;b,与模型对照组比较, $P<0.05$

表 5 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠肝损伤 MDA 和 CAT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Tab.5 Effect of YLSPS on MDA and CAT in DICF-induced liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	MDA (nmol/mg protein)	CAT (U/mg protein)
空白对照	—	32.76 ± 10.91 ^b	38.09 ± 10.22 ^b
模型对照	—	58.78 ± 15.24 ^a	19.53 ± 6.28 ^a
DDB+DICF	200	36.08 ± 9.68 ^b	31.81 ± 8.03 ^b
YLSPS _H +DICF	600	39.66 ± 8.92 ^b	30.67 ± 9.95 ^b
YLSPS _M +DICF	300	43.76 ± 10.98 ^b	24.28 ± 7.40 ^b
YLSPS _L +DICF	150	53.19 ± 17.26	20.25 ± 7.12
F 值		48.760	61.690
P 值		0.000	0.000

注: a, 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b, 与模型对照组比较, $P < 0.05$

2.4 对肝组织病理学的影响

正常对照组小鼠的肝组织结构正常, 肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列, 肝细胞索及肝血窦排列规则, 肝小叶内及汇管区无炎细胞浸润、无纤维结缔组织增生; 未见肝细胞变性、坏死等病理变化(图 1A)。DICF 模型组小鼠肝组织结构于镜下可见大多数肝细胞呈浑浊肿胀, 细胞质疏松, 有的呈气球样变, 门管区肝细胞呈灶性或片状坏死, 并伴炎性细胞浸润等病理改变(图 1B)。YLSPS 高、中剂量组肝细胞坏死、变性和炎性细胞浸润程度较模型组明显减轻, 比较其他部位病理结果发现, YLSPS 高、中剂量组有较强保肝活性(图 1D 和图 1E)。

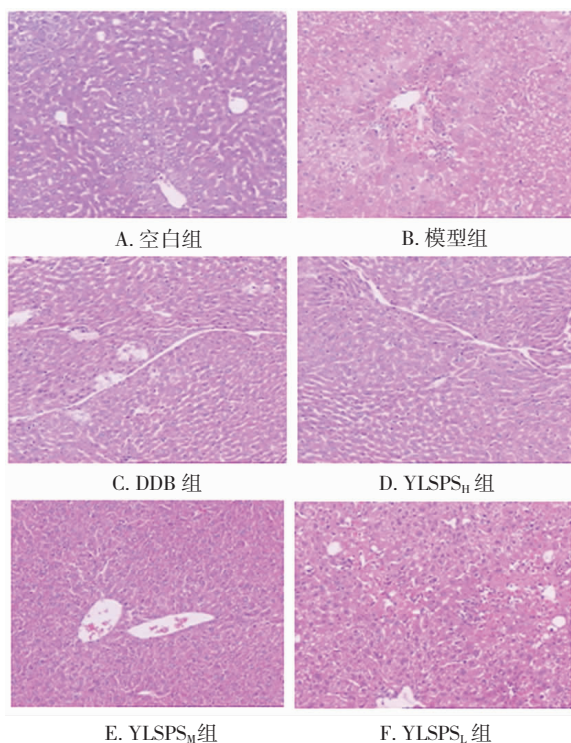


图 1 YLSPS 对 DICF 致肝损伤小鼠肝组织病理学的影响 (HE, 200 ×)

Fig.1 Effect of YLSPS on liver tissue pathology in diclofenac-induced liver injury (HE, 200 ×)

3 讨论

肝脏是体内最大最主要的生化和药物代谢器官, 在外源性化合物的代谢和处置中起着十分重要的作用^[25-27]。中毒性肝损害是指药物、外源性毒物及其代谢产物引起的一类肝脏损害性病变^[28-30]。DICF 是一种广泛应用的强效的解热、镇痛、抗炎药, 临床应用时常引起肝损伤。目前对 DICF 引起肝损伤的发病机制尚未阐明, 以往研究认为 DICF 引起的肝损伤与其直接的肝细胞毒性和超敏反应有关^[5-8]。进一步研究认为 DICF 经肝脏 CYP450 代谢转化后形成 5-羟基双氯酚酸钠, 其能引起肝细胞内 ATP 不足、线粒体膜电位降低、钙离子积聚以及线粒体功能障碍^[12], 另外可促进氧化应激、脂质过氧化、消耗 GSH 和 NADPH、导致产生大量的氧自由基使肝细胞损伤加重等^[10-11, 14-15]。肝细胞损伤时, 血清 ALT、AST 和 ALP 活性增高^[4, 12, 24]。从实验结果上看, YLSPS 高、中剂量组能降低小鼠血清 ALP、ALT 及 AST 活性, 且呈一定量效关系, 提示 YLSPS 具有保肝活性。TNF- α 和 IL-1 β 都具有直接肝细胞毒性作用, 其中 TNF- α 是一种多态性激素, 主要由单核巨噬细胞产生, 又称为恶病质素, 其具有双重的生物学作用, 一方面 TNF- α 是机体免疫防护的重要介质, 另一方面 TNF- α 又可参与机体的病理损伤; 而血液中的 IL-1 β 主要为单核细胞和巨噬细胞所产生, 其含量升高表明机体内有组织损伤或者感染产生。在 IL-1 β 与 TNF- α 的作用下, 单核细胞与血管内皮细胞又可产生其他炎症因子, 一方面参与机体的免疫调节, 另一方面也参与病理损害, 因此, 减少肝损伤过程中 TNF- α 和 IL-1 β 的过多分泌, 能有望缓解肝损伤的程度。血清 TNF- α 和 IL-1 β 升高是 DICF 肝损伤的重要指标^[9, 25-27]。本实验结果发现 DICF 中毒后血清 TNF- α 和 IL-1 β 升高。YLSPS_H 和 YLSPS_M 能够明显降低血清中 TNF- α 和 IL-1 β 水平。SOD 为体内抑制自由基反应、清除自由基的基础物质之一, 其能减少自由基的产生, 减轻自由基对肝细胞的损伤。CAT 促使 H₂O₂ 分解为氧分子和水, 清除体内的过氧化氢。GSH-Px 为催化过氧化氢分解的酶, 其能特异性催化还原性 GSH 对过氧化氢的还原反应, 因而起到保护细胞膜结构及功能完整的作用。

MDA为脂质过氧化反应的终末产物之一,是脂质过氧化的常用指标^[16-20]。本实验研究结果显示,YLSPS高、中剂量组可降低 DICE 所致的急性肝损伤小鼠肝组织 MDA 水平,提高肝组织 CAT、SOD和 GSH-Px水平。提示 YLSPS 对肝细胞的保护作用可能是通过抗自由基及抑制脂质过氧化损伤来发挥作用的。此外,DDB 虽为临床上广泛应用的保肝药物,但其停药后转氨酶会反跳,有些患者在服药过程中甚至出现黄疸,而 YLSPS 未见此反应,或许 YLSPS 将会有更好的药用价值及更低的毒副作用。

参 考 文 献

- [1] Aithal GP.Hepatotoxicity related to antirheumatic drugs[J].Nat Rev Rheumatol,2011,7(3):139-150.
- [2] García Rodríguez LA,Pérez Gutthann S,Walker AM,et al.The role of non-steroidal anti-inflammatory drugs in acute liver injury[J].BMJ,1992,305(6858):865-868.
- [3] Lee WM.Drug-induced hepatotoxicity[J].N Engl J Med,2003,349(5):474-85.
- [4] Baravalia Y,Vaghasiya Y,Chanda S.Hepatoprotective effect of Woodfordia fruticosa Kurz flowers on diclofenac sodium induced liver toxicity in rats[J].Asian Pac J Trop Med,2011,4(5):342-346.
- [5] Cantoni L,Valaperta R,Ponsoda X,et al.Induction of hepatic heme oxygenase-1 by diclofenac in rodents:role of oxidative stress and cytochrome P450 activity[J].J Hepatol,2003,38(6):776-783.
- [6] Oviedo-Gómez DG,Galar-Martínez M,García-Medina S,et al.Diclofenac-enriched artificial sediment induces oxidative stress in Hyalella Azteca[J].Environ Toxicol Pharmacol,2010,29(1):39-43.
- [7] Hur E,Duman E,Bozkurt D,et al.Non steroidal antiinflammatory drugs may be harmful to normal kidneys:experimental surgery model[J].Hippokratia,2012,16(2):160-165.
- [8] Masubuchi Y,Nakayama S,Horie T.Role of mitochondrial permeability transition in diclofenac-induced hepatocyte injury in rats[J].Hepatology,2002,35(3):544-551.
- [9] Moorthy M,Fakurazi S,Ithnin H.Morphological alteration in mitochondria following diclofenac and ibuprofen administration[J].Pak J Biol Sci,2008,11(15):1901-1908.
- [10] Pohl LR,Martin JL,Hargus SJ.Immunohistochemical methods of studying the mechanism of diclofenac-induced hepatitis[J].Arthritis Rheum,1994,37(10):1557.
- [11] Pourahmad J,Mortada Y,Eskandari MR,et al.Involvement of Lysosomal Labilisation and Lysosomal/mitochondrial Cross-Talk in Diclofenac Induced Hepatotoxicity[J].Iran J Pharm Res,2011,10(4):877-887.
- [12] Schapira D,Bassan L,Nahir AM,et al.Diclofenac-induced hepatotoxicity[J].Postgrad Med J,1986,62(723):63-65.
- [13] Shen S,Marchick MR,Davis MR,et al.Metabolic activation of diclofenac by human cytochrome P450 3A4:role of 5-hydroxydiclofenac[J].Chem Res Toxicol,1999,12(2):214-222.
- [14] Yano A,Higuchi S,Tsuneyama K,et al.Involvement of immune-related factors in diclofenac-induced acute liver injury in mice[J].Toxicology,2012,293(1-3):107-114.
- [15] Vanleeuwen JS,Vredenburg G,Dragovic S,et al.Metabolism related toxicity of diclofenac in yeast as model system[J].Toxicol Lett,2011,200(3):162-168.
- [16] Vickers AE.Tissue slices for the evaluation of metabolism-based toxicity with the example of diclofenac[J].Chem Biol Interact,2009,179(1):9-16.
- [17] 陈健,黄媛恒,王乃平,等.玉郎伞多糖和皂苷对氧自由基清除作用研究[J].中药药理与临床,2007,23(5):100.
- [18] 段小群,焦杨,张士军,等.玉郎伞多糖对肝星状细胞增殖和 I 型胶原合成的影响[J].中国现代医学杂志,2008,18(4):423-425.
- [19] 付书婕.玉郎伞多糖对小鼠肝损伤的作用及其机制研究[D].南宁:广西医科大学,2008.
- [20] 方允中,郑荣梁.自由基生物学的理论与应用[M].北京:科学出版社,2002:13-15.
- [21] 付书婕,黄建春,王乃平,等.玉郎伞多糖对小鼠急性酒精性肝损伤保护作用的研究[J].中国药房,2009,20(6):406.
- [22] 广西壮族自治区卫生厅.广西中药材标准[S].南宁:广西科学技术出版社,1990:166.
- [23] 黄仁彬,段小群,焦杨,等.玉郎伞提取物对小鼠急性化学性肝损伤保护作用及其机制的研究[J].广西医科大学学报,2003,20(6):874.
- [24] 吴咖.玉郎伞对大鼠慢性酒精性肝损伤的作用及机制研究[D].南宁:广西医科大学,2012.
- [25] Kem MC.Serum aminotransferase concentration as evidence of hepatocellular damage[J].Lancet,2000,355(204):591-592.
- [26] Kretz-Rommel A,Boelsterli UA.Cytotoxic activity of T cells and non-T cells from diclofenac-immunized mice against cultured syngeneic hepatocytes exposed to diclofenac[J].Hepatology,1995,22(1):213-22.
- [27] Roberts RA,Ganey PE,Cynthia Ju,et al.Role of the kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis[J].Toxic Sci,2007,96(1):2-15.
- [28] Tiegs G.Experimental hepatitis and role of cytokines[J].Acta Gastroenterol Belg,1997,60(2):176-179.
- [29] Grattagliano I,Portincasa P,Palmieri VO,et al.Overview on the mechanisms of drug-induced liver cell death[J].Ann Hepatol,2002,1(4):162-168.
- [30] Mizuhara H,Uno M,Seki Y.Critical involvement of interferon gamma in the pathogenesis of T-cell activation-associated hepatitis and regulatory mechanisms of interleukin-6 for the manifestations of hepatitis[J].Hepatology,1996,23(6):1608-1615.

(责任编辑:冉明会)