

不同剂型的垂盆草对急性肝损伤大鼠的防治作用

董亚男, 陈逸云, 叶青艳, 申弘, 江筱蕙, 陈建杰*

上海中医药大学附属曙光医院, 上海 200021

摘要: 目的 探讨不同剂型的垂盆草对大鼠四氯化碳 (CCl₄) 急性肝损伤模型的保护作用。方法 Wistar 大鼠 80 只, 随机分成正常组、模型组、鲜垂盆草榨汁高、低剂量组及鲜垂盆草煎煮组、干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组、垂盆草配方颗粒组。ig 给药, 1 次/d, 连续 7 d。第 7 天, 除正常组外, 给予大鼠 ip 50% CCl₄ 橄榄油造模。观察大鼠的一般情况, 检测肝功能指标总胆红素 (Tbil)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 及肝组织丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、一氧化氮 (NO) 的含量和肝脏组织学变化情况。结果 干垂盆草煎煮组可显著降低大鼠肝质量。干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组、垂盆草配方颗粒组均能降低大鼠血清 ALT 水平, 干垂盆草煎煮组能降低大鼠血清 AST 水平。干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组和垂盆草配方颗粒组均可降低大鼠肝组织 MDA、NO 的含量, 提高大鼠肝组织 SOD 活力。干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组、垂盆草配方颗粒组显著改善肝小叶细胞的变性和炎症坏死, 减轻汇管区的炎细胞浸润。结论 干垂盆草煎煮液、垂盆草颗粒、垂盆草配方颗粒可保护 CCl₄ 导致的大鼠急性肝损伤, 且起到抗脂质过氧化的作用。

关键词: 垂盆草; 急性肝损伤; 保肝降酶; 抗脂质过氧化

中图分类号: R975.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2013)06-0426-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.06.006

Protection of different preparations of *Sudum sarmentosum* against acute liver injury of rats

DONG Ya-nan, CHEN Yi-yun, YE Qing-yan, SHEN Hong, JIANG Xiao-yi, CHEN Jian-jie

Shuguang Hospital Affiliated Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China

Abstract: Objective To explore the preventive effect of different preparations of *Sudum sarmentosum* on the model of carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute liver injury in rats. **Methods** Purebred 80 Wistar rats were randomly divided into normal, model, the high- and low-dose fresh sarmentosum juice groups, the decoction of fresh sarmentosum, the decoction of sarmentosum, the sarmentosum granules, and the sarmentosum formula granules groups. Gavage started from the first day of the experiment, once a day, for consecutive 7 d. All rats in each group accepted ip injection of 50% CCl₄ olive oil except the normal group on the day 7. General changes of vital signs, the liver function (Tbil, ALT, and AST), levels of MDA, SOD, and NO in liver tissue, and liver histology examination were observed. **Results** The dry sarmentosum decoction group could significantly reduce the weight of liver. The dry sarmentosum decoction group, the sarmentosum granules group and the sarmentosum formula granules group could reduce the levels of ALT in serum of rats. The dry sarmentosum decoction group could also reduce the levels of AST in serum of rats. The dry sarmentosum decoction group, the sarmentosum granules group, and the sarmentosum formula granules group could reduce the levels of MDA and NO and improve the levels of SOD in liver tissue of rats. The dry sarmentosum decoction group, the sarmentosum granules group and the sarmentosum formula granules group could significantly improve the hepatic lobule cell degeneration inflammation and necrosis, reduce the infiltration of inflammatory cell in portal areas. **Conclusion** The dry sarmentosum decoction solution, the sarmentosum granules, and the sarmentosum formula granules have a protective effect on rats with CCl₄-induced acute liver injury and show the anti-lipid peroxidation.

Key words: *Sudum sarmentosum* Bunge; acute liver injury; protect liver while lowering enzyme levels; anti-lipid peroxidation

中国是肝病大国。2006 年全国乙型肝炎流行病学调查表明, 我国 1~59 岁一般人群 HBsAg 携带率为 7.18%^[1-2]。全国血清流行病学调查资料显示, 我国一般人群抗-HCV 阳性率为 3.2%^[3]。在我国,

收稿日期: 2013-08-01

基金项目: 国家中医药管理局重点学科建设—中医传染病学

作者简介: 董亚男 (1988—), 女, 河北沧州人, 在读医学硕士, 研究方向为中医治疗肝病。Tel: 18817388967 E-mail: dongya_nan1988@126.com

*通信作者 陈建杰 Tel: 13801872388 E-mail: jianjie_chen@hotmail.com

针对乙肝和丙肝,抗病毒治疗是最常用但不是唯一的治疗方案。中老年脂肪肝在中国是仅次于病毒性肝炎的第二位肝病^[4],自身免疫性肝病和药物性肝损害也属于临床常见病。临床针对各种肝病,多进行保肝降酶治疗,以改善其临床症状,减慢疾病进展。中国传统医学利用中药进行保肝降酶治疗,收到一定的临床疗效。垂盆草属于众多保肝降酶中药的一种,临床应用广泛。

在临床应用中,垂盆草分为鲜垂盆草、干垂盆草、垂盆草颗粒、垂盆草配方颗粒4种,加工方法有榨汁和煎煮两种。为了进一步研究不同剂型的垂盆草之间的功效差异,本文就不同类型的垂盆草对四氯化碳(CCl₄)造成的大鼠急性肝损伤的防治作用进行了实验研究。

1 材料

1.1 药品与试剂

鲜垂盆草,采自苏州东山,经杨涛博士鉴定为 *Sudum sarmentosum* Bunge 的新鲜全草。干垂盆草,上海养和堂中药饮片公司,批号 121010。垂盆草颗粒,上海静安制药厂,批号 120309-1。垂盆草配方颗粒,江阴天江药业有限公司,批号 1206045。红外测油专用试剂四氯化碳,上海欧陆科仪有限公司。橄榄油(化学纯 CP),国药集团化学试剂有限公司,批号 69018028。

Tbil 原装配套试剂盒,批号 AUZ 0586。ALT 原装配套试剂盒,批号 AUZ 0475。AST 原装配套试剂盒,批号 AUZ 0422。贝克曼库尔特实验系统(苏州)有限公司。

Rat MDA ELISA 试剂盒 cat.DE-2.32M,批号 M1354.01。Rat SOD ELISA 试剂盒 cat. DR-221SD,批号 S6587.22。Rat NO ELISA 试剂盒 cat.DN-N.833E,批号 N6630.9。ABCAM 抗体包被,上海楚都生物技术有限公司。

1.2 动物

纯种的 Wistar 大鼠 80 只,雄性,清洁级,体质量 180~220 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限责任公司提供,许可证号 SCXK(沪)2008-0016。

1.3 仪器

Au2700 全自动生化分析仪,贝克曼库尔特公司生产。Leica RM2135 切片机,Leica EG1160 组织包埋机,Leica TP1020 自动脱水机,Leica Auto stainer XL 染色机,德国 Leica 公司生产。Precellys 24 多功能样品均质器,法国 Bertin Technologies 公司生产。

高速冷冻离心机 Centrifuge 5417R,德国 Eppendorf 公司生产。Multiskan MK3 酶标仪,赛默尔上海世飞仪器厂生产。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药

大鼠 80 只随机分成 8 组:正常组、模型组、鲜垂盆草榨汁高剂量组、鲜垂盆草榨汁低剂量组、鲜垂盆草煎煮组、干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组、垂盆草配方颗粒组。以下剂量按正常成人体质量 60 kg,大鼠用药剂量为正常成人用量的 7 倍^[5]进行换算。鲜垂盆草榨汁高剂量组给生药剂量为 58.33 g/kg(由成人每日用量 500 g 折算而成);鲜垂盆草榨汁低剂量组、鲜垂盆草煎煮组给生药剂量为 29.17 g/kg(由成人每日用量 250 g 折算而成^[6]);干垂盆草煎煮组给生药剂量为 2.92 g/kg(由成人每日用量 25 g 折算而成^[6]);垂盆草颗粒组给药剂量为 1.46 g/kg(由成人每日用量为 12.5 g 折算而成^[7]);垂盆草配方颗粒组给药剂量为 0.29 g/kg(由成人每日用量 2.5 g 折算而成);模型组、正常组按 1 mL/kg 体质量给同体积的生理盐水。实验第 1~7 天,各实验组 ig 给药,每日一次。实验第 7 天,动物给药 2 h 后,各实验组大鼠 ip 50% CCl₄(用橄榄油配成 50%的溶液)2 mL/kg;正常组大鼠 ip 化学纯橄榄油 2 mL/kg。

2.2 样本采集与处理

大鼠造模后,禁食不禁水过夜,18 h 内,按照 2 mL/kg 鼠体质量 ip 2%戊巴比妥钠,予以麻醉,打开腹腔进行腹主动脉取血,分离血清。采血后立即取肝脏和脾脏,称肝脾的质量。用 10%福尔马林固定左叶肝组织,予常规石蜡包埋切片,HE 染色。光镜(×400)下观察肝组织的病理形态学改变。

2.3 指标检测

造模后,观察大鼠的一般情况。按照试剂盒说明,用全自动生化分析仪检测血清 Tbil、ALT、AST 等项目,用 ELISA 方法检测肝匀浆 MDA、SOD、NO 的含量。

2.4 统计学方法

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS15.0 统计软件对各组数据进行正态性和方差齐性检验,多组均数比较用完全随机设计资料的方差分析,组间比较用 *t* 检验。

3 结果

3.1 大鼠一般情况观察

CCl₄ 造模 2 h 后,各实验组大鼠出现明显的行

动迟缓, 倦卧, 反应迟钝, 摄入量减少。造模 12 h 后, 鲜垂盆草榨汁低剂量组出现 2 只大鼠死亡。鲜垂盆草煎煮组出现 3 只大鼠死亡, 死亡率高。正常组大鼠皮毛光泽, 活动自如, 摄入量正常。

3.2 对大鼠体质量和肝、脾质量的影响

由表 1 可知, 模型组体质量低于正常组 ($P < 0.05$)。模型组的肝脏质量高于正常组 ($P < 0.01$); 干垂盆草煎煮组的肝脏质量低于模型组 ($P < 0.01$)。各组动物的脾脏质量没有明显统计学差异。

3.3 对大鼠血清 Tbil、ALT、AST 水平的影响

由表 2 可知, 模型组大鼠的血清 Tbil、ALT、AST 水平均高于正常组 ($P < 0.05$)。干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组、垂盆草配方颗粒组均可降低大鼠血清 ALT、AST、Tbil 水平 ($P < 0.05$)。

3.4 对大鼠肝组织 MDA、SOD、NO 水平改变

由表 3 可知, 模型组大鼠的肝组织 MDA、NO

水平均高于正常组 ($P < 0.05$), SOD 水平均低于正常组 ($P < 0.05$)。干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组和垂盆草配方颗粒组均可降低大鼠肝组织 MDA、NO 的量, 提高大鼠肝组织 SOD 的量。

3.5 对肝组织病理形态学的影响

正常组大鼠肝脏组织结构正常, 未见病理变化。模型组和鲜垂盆草榨汁高低剂量组均可见肝组织结构被严重破坏, 肝静脉明显淤血, 汇管区炎细胞浸润, 中央静脉周围细胞发生明显的水肿变性, 细胞间隙增宽, 细胞体积增大。鲜垂盆草煎煮组可见肝索结构被破坏, 大片细胞的水肿, 气球样变性, 细胞体积明显增大, 细胞间隙明显增宽, 片状坏死, 细胞内可见脂肪变性。干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组和垂盆草配方颗粒组可见肝索结构破坏减少, 中央静脉周围细胞的水肿变性明显减轻, 肝组织内炎细胞浸润减轻。

表 1 不同剂型的垂盆草对大鼠体质量和肝、脾质量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of different preparations of *S. sarmentosum* on body, liver, and spleen weights in rats with CCl_4 -induced acute liver injury ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	体质量/g	肝脏质量/g	脾脏质量/g
正常	10	207.70 ± 5.36 [#]	6.85 ± 0.55 ^{##}	0.66 ± 0.07
模型	10	199.30 ± 7.89 [*]	8.33 ± 0.54 ^{**}	0.73 ± 0.07
鲜垂盆草榨汁	10	199.30 ± 8.31 [*]	8.36 ± 1.19 ^{**}	0.66 ± 0.09
	8	204.00 ± 8.96	8.10 ± 0.63 ^{**}	0.66 ± 0.10
鲜垂盆草煎煮	7	206.57 ± 11.73	9.07 ± 0.52 ^{**#}	0.68 ± 0.09
干垂盆草煎煮	10	204.60 ± 12.41	7.68 ± 0.67 ^{**#}	0.67 ± 0.09
垂盆草颗粒	10	205.30 ± 4.69	8.06 ± 0.62 ^{**}	0.68 ± 0.05
垂盆草配方颗粒	10	202.60 ± 9.51	8.05 ± 0.40 ^{**}	0.66 ± 0.12

与正常组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, 下表同

^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ vs normal group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ vs model group, same as below

表 2 不同剂型的垂盆草对大鼠血清 Tbil、ALT、AST 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of different preparations of *S. sarmentosum* on levels of Tbil, ALT, and AST in serum of rats with CCl_4 -induced acute liver injury ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	Tbil/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	ALT/($\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$)	AST/($\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常	10	2.07 ± 0.18 [#]	42.77 ± 9.72 ^{##}	118.01 ± 16.46 ^{##}
模型	10	2.71 ± 0.24 [*]	224.31 ± 175.84 ^{**}	517.27 ± 373.66 [*]
鲜垂盆草榨汁	10	2.74 ± 0.59 [*]	266.53 ± 143.64 ^{**}	760.04 ± 424.22 ^{**}
	8	3.13 ± 0.78 ^{**}	283.34 ± 141.48 ^{**}	824.75 ± 380.11 ^{**#}
鲜垂盆草煎煮	7	2.76 ± 1.11 [*]	427.83 ± 195.98 ^{**##}	1 119.94 ± 313.67 ^{**##}
干垂盆草煎煮	10	2.23 ± 0.53	56.81 ± 14.45 ^{##}	162.46 ± 70.73 ^{##}
垂盆草颗粒	10	2.69 ± 0.49 [*]	94.76 ± 48.63 [#]	328.89 ± 210.47
垂盆草配方颗粒	10	2.70 ± 0.42 [*]	117.24 ± 68.94 [#]	400.66 ± 209.22 [*]

表3 不同剂型的垂盆草对大鼠肝组织MDA、SOD、NO水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of different preparations of *S. sarmentosum* on levels of MDA, SOD, and NO in liver tissue of rats with CCl₄-induced acute liver injury ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	MDA/(pmol·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)	NO/(μmol·L ⁻¹)
正常	7	277.02±61.78 [#]	33.27±4.30 [#]	72.27±9.79 [#]
模型	7	341.67±24.17 [*]	27.23±3.92 [*]	98.17±20.59 [*]
鲜垂盆草榨汁	7	293.95±54.16	30.57±4.29	96.90±16.70 [*]
	7	308.45±75.06	30.30±3.52	98.97±27.57 [*]
鲜垂盆草煎煮	6	298.82±46.55	31.14±2.88	99.33±23.62 [*]
干垂盆草煎煮	7	240.23±29.16 ^{##}	32.43±1.79 [#]	79.08±2.24 [#]
垂盆草冲剂	7	243.42±48.43 [#]	34.13±4.36 [#]	72.37±15.00 [#]
垂盆草配方颗粒	7	271.97±38.44 [#]	33.25±1.89 [#]	74.80±20.59 [#]

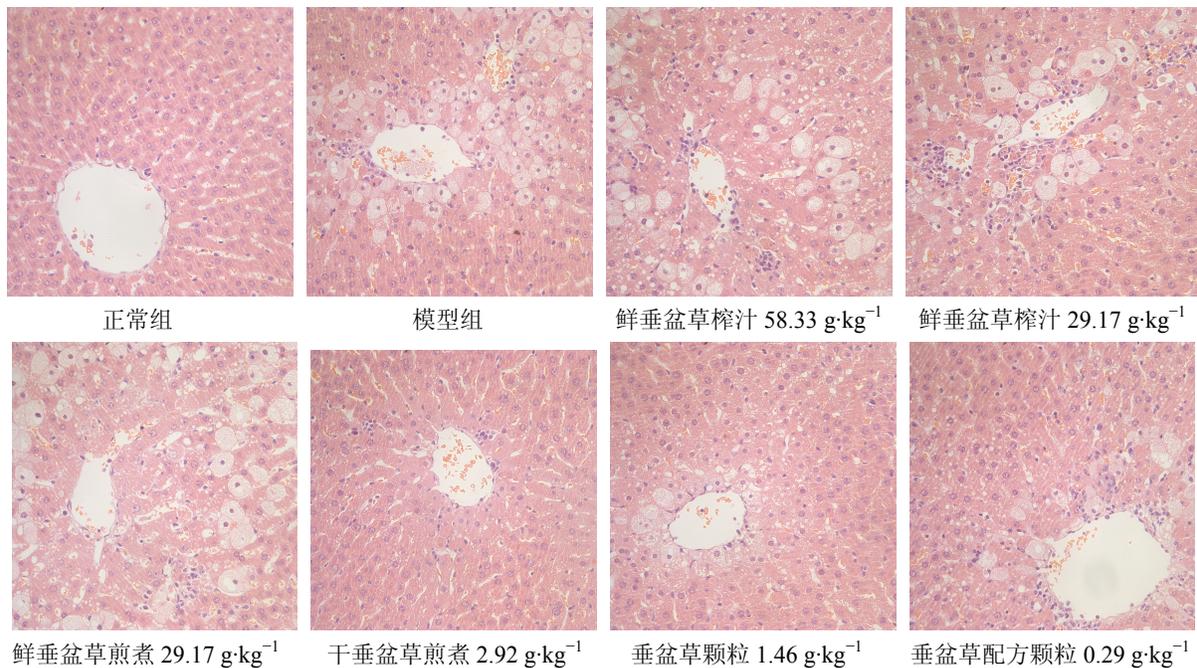


图1 各组大鼠肝组织病理学观察

Fig. 1 Histopathological observation on hepatic tissue of rats in each group

4 讨论

垂盆草是景天科植物垂盆草 *Sedum sarmentosum* Bunge 的新鲜或干燥全草，味甘、淡，性凉，归肝、胆、小肠经，功效为利胆退黄、清热解毒。《本草纲目拾遗》记载“治痢疗便毒，黄疸喉痹”。《天宝本草》：“利小便，敷火疮肿痛，汤火症；退湿热，兼治淋症。”《四川中药志》：“治喉头红肿，消痈肿。”化学研究表明，垂盆草含有黄酮、三萜、甾醇、生物碱、氰苷、挥发油、糖类成分^[8]。经现代临床和实验研究证实，垂盆草具有保肝降酶、免疫调节、抗肿瘤、增强肌力等作用^[9-12]，尤其有较好的降低 ALT 的功效，故临床多用于治疗各种急慢性肝病。

本实验采用经典的 CCl₄ 造成大鼠急性肝损伤模型，观察了不同类型的垂盆草防治急性肝损伤，对大鼠的生化学和组织学的影响。CCl₄ 进入大鼠体内，通过细胞色素 P450 的作用分解为三氯甲烷自由基 (CCl₃)，CCl₃ 既能选择性地损伤小叶中央区的肝细胞，又能迅速与 O₂ 结合转化为过氧化三氯甲烷自由基 (CCl₃O₂)，引起脂质过氧化反应，破坏肝细胞膜的结构，使肝细胞变性坏死^[13]；同时胞浆内可渗性酶如 ALT、AST 等渗入血液中，活性明显上升。CCl₄ 代谢产生的自由基进入机体后，进一步促进脂质过氧化反应，终产物丙 MDA 生成增加，消耗 SOD，生成大量过氧化脂质，抑制抗氧化系的

保护作用,使体内氧化-抗氧化机制失衡,并进一步活化 IKK β 途径引发肝损害^[14-15]。

实验中看到,不同剂型的垂盆草降低大鼠肝脏质量和生化指标的作用不同。干垂盆草煎煮组可显著降低大鼠肝脏质量 ($P<0.05$)。干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组,垂盆草配方颗粒组均可以明显的降低大鼠血清 ALT 水平 ($P<0.05$),干垂盆草煎煮组可以降低大鼠血清 AST 水平 ($P<0.01$)。干垂盆草煎煮组、垂盆草颗粒组和垂盆草配方颗粒组均可降低大鼠肝组织 MDA 的含量,提高大鼠肝组织 SOD 的含量 ($P<0.05$),抑制自由基的产生,降低肝细胞损伤,起到明显抗氧化的功效;同时也证实垂盆草通过调节体内酶的表达起到抗氧化的功效,为今后的研究提供了基础。同时 3 组均可降低肝组织中 NO 的含量 ($P<0.05$),起到抑制其细胞毒作用,但 NO 在肝内的作用比较复杂,具体机制尚需进一步研究。通过组织学观察,这 3 个实验组对肝组织的损伤小,炎症反应轻,证实了其临床功效。而鲜垂盆草榨汁组和煎煮组对大鼠的肝功能和肝脏组织损害没有明显的改善,可能与垂盆草的加工方法有关。鲜垂盆草榨汁高低剂量组之间在降低大鼠的生化指标方面没有明显的统计学差异,同时对大鼠肝组织病理没有显著改善,说明鲜垂盆草榨汁对于预防大鼠急性肝损伤没有明显的量效关系。故垂盆草的临床应用中具有保肝降酶的功效,但要注意其临床用量和加工方法。

参考文献

- [1] Liang X, Bi S, Yang W, *et al.* Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China—declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination [J]. *Vaccine*, 2009, 27(47): 6550-6557.
- [2] Liang X, Bi S, Yang W, *et al.* Evaluation of the impact of hepatitis B vaccination among children born during 1992-2005 in China [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(1): 39-47.
- [3] 中华医学会肝病分会和传染病与寄生虫病学会. 中国丙肝防治指南 [J]. *中华传染病杂志*, 2004, 4(22): 131-136.
- [4] 蒋冬瑞. 中老年人肥胖与脂肪肝、高脂血症的关系 [J]. *海军总医院学报*, 2011, 24(2): 79-81.
- [5] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [6] 中国药典 [S]. 2005.
- [7] 中国药典 [S]. 2010.
- [8] 张洪超, 兰天, 张晓辉, 等. 垂盆草化学成分与药理作用研究进展 [J]. *中成药*, 2005, 27(10): 1201-1203.
- [9] 潘金火, 何满堂, 许惠琴, 等. 垂盆草中保肝降酶活性组分的筛选 [J]. *中国药事*, 2002, 16(6): 365-366.
- [10] 张邦祝. 垂盆草水溶性成分的免疫活性研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2001, 12(6): 430-432.
- [11] 李清, 刘姣, 曹秀莲, 等. 垂盆草不同提取物对小鼠移植性肿瘤抑制作用的初步研究 [J]. *河北省科学院学报*, 2010, 27(4): 54-56.
- [12] 苏振阳. 垂盆草对训练大鼠不同组织 ATPase 活性的影响 [J]. *北京体育大学学报*, 2006, 29(11): 1505-1507.
- [13] 王小莺, 胡国良, 张彩英, 等. 保肝护脾液对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. *中兽医学杂志*, 2006, (2): 10-11.
- [14] Yang S Q, Zhu H, Li Y, *et al.* Mitochondrial adaptation to obesity related oxidant stress [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 378: 259-268.
- [15] Demeilliers C, Maisonneuve C, Grodet A, *et al.* Impaired adaptive resynthesis and prolonged depletion of hepatic mitochondrial DNA after repeated alcohol binges in mice [J]. *Gastroenterology*, 2002, 123: 1278-1290.