

注射用丹参多酚酸联合 3 种他汀类药物对 CCl₄ 致肝损伤大鼠安全性研究

李 智¹, 施阳扬², 王 昕², 万梅绪^{3,4}, 张燕欣^{3,4}, 李 智^{3,4}, 原 景^{3,4}, 李德坤^{3,4}, 鞠爱春^{3,4*}, 高 磊^{5*}

1. 内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特 010107
2. 天津中医药大学, 天津 301617
3. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410
4. 天津市中药注射剂安全性评价重点实验室, 天津 300410
5. 内蒙古自治区药品检验研究院, 内蒙古 呼和浩特 010010

摘 要: **目的** 探讨在已有肝损伤的情况下, 注射用丹参多酚酸(SAFI)与 3 种他汀类药物联合使用对大鼠肝脏损伤安全性的影响。**方法** 采用 20%CCl₄ 油溶液 ip 建立大鼠肝损伤模型, 将造模成功的大鼠随机分为 8 组: 模型组 (ig+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)、SAFI 组 (ig 0.9%氯化钠注射液+尾 iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹)、阿托伐他汀组 (ig 阿托伐他汀钙片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)、瑞舒伐他汀组 (ig 瑞舒伐他汀钙片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)、普伐他汀组 (ig 普伐他汀钠片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)、阿托伐他汀+SAFI 组 (ig 阿托伐他汀钙片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹)、瑞舒伐他汀+SAFI 组 (ig 瑞舒伐他汀钙片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹)、普伐他汀+SAFI 组 (ig 普伐他汀钠片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹), 另取 10 只大鼠为对照组 (ig+尾 iv 0.9%氯化钠注射液), 各组每天给药 1 次, 持续 14 d。给药结束后各组大鼠腹主动脉取血, 试剂盒法检测血清中丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 水平; 取出全部肝组织称质量, 计算肝指数, 试剂盒法检测肝组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、肿瘤坏死因子-α (TNF-α)、白细胞介素 (IL)-1β、IL-6、IL-10 水平; HE 染色后对肝组织进行病理学观察。**结果** 与模型组比较, 给药后 SAFI 组肝指数显著降低 ($P<0.05$); 各给药组血清 ALT 水平显著降低 ($P<0.01$ 、 0.001), 瑞舒伐他汀组、普伐他汀组、阿托伐他汀+SAFI 组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组、SAFI 组血清 AST、LDH 水平显著降低 ($P<0.01$ 、 0.001), 肝组织 SOD 水平显著升高 ($P<0.001$); 瑞舒伐他汀组、普伐他汀组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组、SAFI 组血清 ALP 水平显著降低 ($P<0.01$ 、 0.001), 肝组织 TNF-α 水平显著降低, IL-10 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001); 各给药组肝组织 MDA、IL-1β、IL-6 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), 瑞舒伐他汀组、阿托伐他汀+SAFI 组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组肝组织 GSH-Px 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。与他汀类药物单用组比较, 阿托伐他汀+SAFI 组血清 AST、LDH 显著降低 ($P<0.01$), 肝组织 SOD 水平显著升高 ($P<0.01$); 瑞舒伐他汀+SAFI 组肝组织 MDA 水平显著降低 ($P<0.05$); 普伐他汀+SAFI 组肝组织 GSH-Px 水平显著升高 ($P<0.05$); 各联用组肝组织 TNF-α、IL-1β、IL-6 均有降低趋势, 但差异无统计学意义。HE 染色结果显示, 各给药组均未发现肝损伤加重的情况。**结论** 在已有肝损伤的情况下, 注射用 SAFI 与他汀类药物联合使用对肝脏的安全性良好, 并未出现损伤加重的现象, 且均表现出改善肝损伤作用。

关键词: 注射用丹参多酚酸; 他汀类药物; 肝损伤; CCl₄; 安全性

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)02-0362-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.02.010

Study on safety of Salvianolic Acid for Injection combined with three kinds of statins on CCl₄-induced liver injury in rats

LI Zhi¹, SHI Yangyang², WANG Xin², WAN Meixu^{3,4}, ZHANG Yanxin^{3,4}, LI Zhi^{3,4}, YUAN Jing^{3,4}, LI Dekun^{3,4}, JU Aichun^{3,4}, GAO Lei⁵

收稿日期: 2024-06-27

基金项目: 天津市制造业高质量发展专项资金—天津天士力之骄药业有限公司技术中心创新能力建设 (ZZY20232088)

作者简介: 李 智, 硕士研究生, 研究方向为药品质量控制与安全。E-mail: 1298330440@qq.com

*通信作者: 高 磊, 女, 主任药师, 研究方向为药品质量控制与安全。E-mail: nmyjsjl@sina.com

鞠爱春, 男, 正高级工程师, 主要从事中药工艺、质量控制及药物警戒研究。E-mail: Juac@tasly.com

1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010107, China
2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China
3. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China
4. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of TCM Injections, Tianjin 300410, China
5. Inner Mongolia Institute for Drug Control, Hohhot 010010, China

Abstract: Objective To investigate the effect of Salvianolic Acids for Injection (SAFI) combined with three statins on liver safety in rats with liver injury. **Methods** The rat model of liver injury was established by intraperitoneal injection of 20 % CCl₄ oil solution. The successfully modeled rats were randomly divided into eight groups: model group (ig + tail iv 0.9% sodium chloride injection), SAFI group (ig 0.9% sodium chloride injection + tail iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹), atorvastatin group (ig atorvastatin calcium tablets 1.79 mg·kg⁻¹ + tail iv 0.9 % sodium chloride injection), rosuvastatin group (ig rosuvastatin calcium tablets 1.79 mg·kg⁻¹ + tail iv 0.9 % sodium chloride injection), pravastatin group (ig pravastatin sodium tablets 1.79 mg·kg⁻¹ + tail iv 0.9 % sodium chloride injection), atorvastatin + SAFI group (ig atorvastatin calcium tablets 1.79 mg·kg⁻¹ + tail iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹), rosuvastatin + SAFI group (ig rosuvastatin calcium tablets 1.79 mg·kg⁻¹ + tail iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹), pravastatin + SAFI group (ig pravastatin sodium tablets 1.79 mg·kg⁻¹ + tail iv SAFI mg·kg⁻¹), and another 10 rats were taken as control group (ig + tail iv 0.9 % sodium chloride injection). Each group was administered once a day for 14 days. After the end of administration, blood was taken from the abdominal aorta of rats in each group, and the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) in serum were detected by kit method. All liver tissues were taken out and weighed to calculate the liver index. The levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) in liver tissues were detected by kit method. HE pathological observation of liver tissue. **Results** Compared with the model group, the liver index of the SAFI group was significantly decreased after administration ($P < 0.05$). The levels of serum ALT in each administration group were significantly decreased ($P < 0.01, 0.001$). The levels of serum AST and LDH in rosuvastatin group, pravastatin group, atorvastatin + SAFI group, rosuvastatin + SAFI group, pravastatin + SAFI group and SAFI group were significantly decreased ($P < 0.01, 0.001$), and the level of SOD in liver tissue was significantly increased ($P < 0.001$). The levels of serum ALP in rosuvastatin group, pravastatin group, rosuvastatin + SAFI group, pravastatin + SAFI group and SAFI group were significantly decreased ($P < 0.01, 0.001$), the level of TNF- α in liver tissue was significantly decreased, and the level of IL-10 was significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The levels of MDA, IL-1 β and IL-6 in liver tissue of each administration group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The levels of GSH-Px in liver tissue of rosuvastatin group, atorvastatin + SAFI group, rosuvastatin + SAFI group and pravastatin + SAFI group were significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Compared with the statin group, the serum AST and LDH levels in the atorvastatin + SAFI group were significantly decreased ($P < 0.01$), and the SOD level in the liver tissue was significantly increased ($P < 0.01$). The level of MDA in liver tissue of rosuvastatin + SAFI group was significantly decreased ($P < 0.05$). The level of GSH-Px in liver tissue of pravastatin + SAFI group was significantly increased ($P < 0.05$). The levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in liver tissue of each combination group showed a decreasing trend, but the difference was not statistically significant. HE staining results showed that no aggravation of liver injury was found in each administration group. **Conclusion** In the case of liver injury, the combined use of SAFI and statins is safe for the liver, and there is no aggravation of injury.

Key words: Salvianolic Acid for Injection; statins; liver injury; CCl₄; security

注射用丹参多酚酸 (SAFI) 是以丹参为原料, 经柱色谱技术分离提纯其水溶性有效成分丹参多酚酸冻干而成的中药粉针剂, 主要化学成分包括丹酚酸 B、迷迭香酸、紫草酸等^[1]。有很好的抗脑缺血损伤和脑梗死保护作用, 体现在抗炎、抗氧化、保护血脑屏障、促进神经功能恢复等方面^[2], 临床上用于缺血性脑卒中, 症见半身不遂, 口舌歪斜, 舌强言蹇, 偏身麻木等^[3]。

缺血性脑卒中是由于脑组织缺血、缺氧性坏死导致的脑血管病变, 血脂异常是缺血性脑卒中的危险因素^[4-5], 缺血性脑卒中合并血脂异常时首选他汀类药物调脂治疗。他汀类药物具有调脂、抗动脉粥样硬化、改善内皮细胞功能、稳定动脉粥样硬化斑块、抗血栓生成等作用^[6]。理论上 SAFI 与他汀类药物联合使用可产生协同作用, 提升治疗效果。然而, 他汀类药物治疗期间可能会诱发肝功能异常^[7], 目

前针对 SAFI 与他汀类药物联合使用是否会造成患者肝损伤的进一步加剧,研究不足,需要进一步实验验证。本研究通过建立 CCl_4 大鼠肝损伤模型,模拟临床上在已有肝损伤基础上,探究 SAFI 与他汀类药物联合使用对肝脏安全性的影响,为 2 类药物联用时的肝脏安全性研究提供参考依据。

1 材料

1.1 药品及主要试剂

SAFI (天津天士力之骄药业有限公司,每支 0.13 g,含丹参多酚酸 100 mg,批号 20211015);阿托伐他汀钙片(辉瑞制药有限公司,每片 20 mg,批号 8151330);瑞舒伐他汀钙片[阿斯利康药业(中国)有限公司,每片 10 mg,批号 504769];普伐他汀钠片[第一三共制药(上海)有限公司,每片 40 mg,批号 SC031MC]。

CCl_4 (天津渤化化学试剂有限公司,批号 20230619);花生油(胡姬花,批号 20230621);0.9%氯化钠注射液(陕西圣奥动物药业有限公司,批号 202304135);异氟烷(EZVET 公司,批号 G45990);大鼠丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(货号 ml059335)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(货号 ml059334)、碱性磷酸酶(ALP)试剂盒(货号 ml003360)、乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(货号 ml003416)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(货号 ml077379)、丙二醛(MDA)试剂盒(货号 ml077384)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(货号 ml059036)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒(货号 ml002859)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)试剂盒(货号 ml003057)、白细胞介素-6 (IL-6)试剂盒(货号 ml064292)、白细胞介素-10 (IL-10)试剂盒(货号 ml037371),均购自上海酶联生物科技有限公司。

1.2 主要仪器

TI1000 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂);RT-6100 酶标分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司);ST16R 高速冷冻离心机、902-ULTS-80 °C 低温冰箱(美国 Thermo Fisher 公司);VEM 型小动物麻醉机(上海赞德医疗器械有限公司);80i 正置显微镜及图像分析系统(日本 Nikon 公司);MASP300S 全自动脱水机、RM2235 轮转式切片机、EG1150 包埋机、HI1220 烘片机、HI1210 展片机(德国 Leica 公司)。

1.3 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 100 只,体质量 180~220 g,

由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2021-0011。动物饲养于天津天士力之骄药业有限公司动物屏障系统,实验动物使用许可证号 SYXK(津)2022-0005,动物在屏障环境适应性饲养 3 d,饲养条件:温度 20~26 °C,湿度 40%~70%,自由进食饮水。每天对动物进行观察,包括体质量、头部、躯干、尾部、四肢、皮毛、精神、活动等。实验严格按照天士力动物管理及福利伦理委员会标准执行(伦理号 TSL-IACUC-2023-65)。

2 方法

2.1 肝损伤模型制备^[7]

SD 大鼠适应性饲养 3 d 后,称量体质量并记录。随机取 10 只大鼠作为对照组,其余 90 只建立肝损伤大鼠模型,ip 给予 20% CCl_4 花生油溶液 1.5 mL·kg⁻¹;对照组大鼠 ip 等体积花生油,每周 2 次,连续 6 周。

2.2 分组及给药

除对照组(ig+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)外,将造模结束后剩余的 73 只大鼠随机分为模型组(ig+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)、SAFI (ig 0.9%氯化钠注射液+尾 iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹)组、阿托伐他汀(ig 阿托伐他汀钙片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)组、瑞舒伐他汀(ig 瑞舒伐他汀钙片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)组、普伐他汀(ig 普伐他汀钠片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv 0.9%氯化钠注射液)组、阿托伐他汀+SAFI (ig 阿托伐他汀钙片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹)组、瑞舒伐他汀+SAFI (ig 瑞舒伐他汀钙片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹)组、普伐他汀+SAFI (ig 普伐他汀钠片 1.79 mg·kg⁻¹+尾 iv SAFI 11.61 mg·kg⁻¹)组,除模型组 10 只外,其余每组 9 只,SAFI 及他汀类药物剂量选择均为临床等效剂量,给药体积为 5 mL·kg⁻¹,各组每天给药 1 次,给药周期均为 14 d。

2.3 体质量及肝指数的测定

给药前后对大鼠进行称质量并记录。末次给药并取血完成后,大鼠脱颈处死,迅速取出肝脏称质量,并计算大鼠肝脏指数。

2.4 血清肝功能指标 ALT、AST、ALP、LDH 测定

末次给药后 16~24 h 异氟烷麻醉大鼠,腹主动脉取血,3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上层血清,保存于-80 °C 冰箱待测。采用 ELISA 法检测血清

中 ALT、AST、ALP、LDH 水平，受试剂盒数量影响，对照组选择 9 个样本，其余不变（普伐他汀组、阿托伐他汀+SAFI 组给药期间各死亡 1 只，样本数变为 8 只），严格按照说明书步骤进行检测操作。

2.5 肝组织氧化应激指标 SOD、MDA、GSH-Px 测定

各组大鼠肝脏称质量结束后，取出部分肝组织匀浆，4℃、5 000 r·min⁻¹ 离心 20 min，取上清，-80℃ 冰箱保存备用。采用 ELISA 试剂盒检测 SOD、MDA、GSH-Px 水平，严格按照试剂盒的说明书步骤进行检测操作。

2.6 肝组织炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-10 测定

取“2.5”项下-80℃ 保存的样本，解冻后采用 ELISA 试剂盒检测其中 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-10 水平，严格按照试剂盒的说明书步骤进行检测操作。

2.7 病理组织检查

将“2.5”项下剩余的肝组织放入 10% 的甲醛溶液中进行固定，固定 1 周后取出肝脏，进行石蜡切片的制备，制备完成的 HE 染色切片用光学显微镜进行观察和拍照。

2.8 数据分析

采用统计学分析软件 Graphpad Prism 9.5 对各项数据进行统计学处理，数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间的比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA）。

3 结果

3.1 大鼠体质量及肝指数

结果如表 1 所示，与对照组比较，给药前模型组体质量显著降低（ $P<0.05$ ），给药后模型组、瑞舒伐他汀组肝脏指数显著升高（ $P<0.05$ 、 0.001 ）；与模型组比较，给药后 SAFI 组肝脏指数显著降低（ $P<0.05$ ）。

表 1 给药前后大鼠体质量及给药后肝质量、肝指数（ $\bar{x} \pm s$ ）

Table 1 Body mass of rats before and after administration and liver mass and liver index after administration ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g		肝质量/g	肝脏指数/%
			给药前	给药后		
对照	10	—	339.70±10.28	359.40±10.11	9.43±0.37	2.62±0.58
模型	10	—	291.00±36.07 [#]	325.50±29.63	9.75±1.28	2.99±0.15 ^{###}
阿托伐他汀	9	1.79	320.56±31.49	338.56±33.30	9.34±1.11	2.76±0.13
瑞舒伐他汀	9	1.79	306.67±26.49	336.11±37.10	9.69±1.04	2.89±0.20 [#]
普伐他汀	8	1.79	301.75±35.43	345.50±29.89	9.78±1.48	2.82±0.27
阿托伐他汀+SAFI	8	1.79+11.61	291.75±51.69	333.38±28.70	9.59±0.88	2.88±0.13
瑞舒伐他汀+SAFI	9	1.79+11.61	304.78±34.89	332.78±35.21	9.47±1.06	2.85±0.16
普伐他汀+SAFI	9	1.79+11.61	309.22±22.96	346.22±23.81	9.75±1.24	2.81±0.26
SAFI	9	11.61	301.00±36.90	332.67±39.78	9.09±1.02	2.73±0.06 [*]

与对照组比较：[#] $P<0.05$ ^{###} $P<0.001$ ；与模型组比较：^{*} $P<0.05$ 。

[#] $P<0.05$ ^{###} $P<0.001$ vs control group；^{*} $P<0.05$ vs model group。

3.2 血清肝功能指标 ALT、AST、ALP、LDH 水平

如表 2 所示，与对照组比较，模型组大鼠血清中 ALT、AST、ALP、LDH 水平显著升高（ $P<0.001$ ）。与模型组比较，各给药组血清 ALT 水平均显著降低（ $P<0.01$ 、 0.001 ）；瑞舒伐他汀组、普伐他汀组、阿托伐他汀+SAFI 组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组、SAFI 组 AST、LDH 水平显著降低（ $P<0.01$ 、 0.001 ）；瑞舒伐他汀组、普伐他汀组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组、SAFI 组 ALP 水平显著降低（ $P<0.01$ 、 0.001 ）。与他汀类药物单用组比较，阿托伐他汀+SAFI 组血清 AST、

LDH 显著降低（ $P<0.01$ ），其余各联合组指标与单用组间差异无统计学意义。与 SAFI 组比较，阿托伐他汀组血清 AST 水平显著升高（ $P<0.01$ ）。结果表明，SAFI 与他汀类药物联合使用对大鼠肝功能的安全性良好，且 SAFI 及与他汀类药物联用组的肝功能指标水平有明显好转。

3.3 肝组织氧化应激指标 SOD、MDA、GSH-Px 水平

如表 3 所示，与对照组比较，模型组大鼠肝组织 SOD、GSH-Px 水平显著降低（ $P<0.001$ ），MDA 水平显著升高（ $P<0.001$ ）。与模型组比较，瑞舒伐

表 2 血清肝功能指标 ALT、AST、ALP、LDH 水平 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Serum liver function indexes ALT, AST, ALP, LDH levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(ng·mL ⁻¹)	AST/(ng·mL ⁻¹)	ALP/(ng·mL ⁻¹)	LDH/(ng·mL ⁻¹)
对照	9	—	30.62±3.46	21.13±2.92	21.91±3.30	47.81±5.55
模型	10	—	47.71±4.27 ^{###}	32.91±2.11 ^{###}	37.09±4.34 ^{###}	78.14±7.32 ^{###}
阿托伐他汀	9	1.79	40.25±4.84 ^{**}	32.21±2.71 ^{△△}	34.93±4.86	71.52±6.71
瑞舒伐他汀	9	1.79	39.12±2.13 ^{***}	25.19±2.50 ^{***}	29.62±3.64 ^{**}	64.17±4.44 ^{***}
普伐他汀	8	1.79	39.51±3.33 ^{***}	26.62±3.30 ^{**}	30.45±3.84 ^{**}	62.94±7.02 ^{***}
阿托伐他汀+SAFI	8	1.79+11.61	36.80±4.83 ^{***}	25.68±3.06 ^{***▲▲}	32.02±3.55	59.24±7.04 ^{***▲▲}
瑞舒伐他汀+SAFI	9	1.79+11.61	34.26±2.89 ^{***}	23.30±3.99 ^{***}	26.97±2.81 ^{***}	56.67±8.17 ^{***}
普伐他汀+SAFI	9	1.79+11.61	35.53±3.58 ^{***}	25.30±2.71 ^{***}	29.13±2.75 ^{***}	55.48±7.57 ^{***}
SAFI	9	11.61	37.50±2.86 ^{***}	25.74±4.35 ^{***}	30.74±3.40 ^{**}	62.91±4.83 ^{***}

与对照组比较: ^{###} $P<0.001$; 与模型组比较: ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$; 与相应他汀类药物单用组比较: ^{▲▲} $P<0.01$; 与 SAFI 组比较: ^{△△} $P<0.01$ 。
^{###} $P<0.001$ vs control group; ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs model group; ^{▲▲} $P<0.01$ vs corresponding statin monotherapy group; ^{△△} $P<0.01$ vs SAFI group.

表 3 肝组织氧化应激指标 SOD、MDA、GSH-Px 水平 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Liver tissue oxidative stress indicators SOD, MDA, GSH-Px levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(ng·g ⁻¹)	MDA/(nmol·g ⁻¹)	GSH-Px/(ng·g ⁻¹)
对照	9	—	14.34±1.58	3.23±0.18	30.98±3.40
模型	10	—	6.52±1.18 ^{###}	5.61±0.53 ^{###}	14.71±2.80 ^{###}
阿托伐他汀	9	1.79	8.37±1.38 ^{△△}	4.73±0.28 ^{***△△}	17.45±3.23
瑞舒伐他汀	9	1.79	11.39±2.26 ^{***}	4.22±0.35 ^{***}	20.62±3.86 [*]
普伐他汀	8	1.79	10.91±2.54 ^{***}	4.04±0.30 ^{***}	19.89±3.94
阿托伐他汀+SAFI	8	1.79+11.61	11.83±2.05 ^{***▲▲}	4.27±0.32 ^{***}	22.48±5.07 ^{**}
瑞舒伐他汀+SAFI	9	1.79+11.61	13.71±1.78 ^{***}	3.71±0.31 ^{***▲}	24.52±4.30 ^{***}
普伐他汀+SAFI	9	1.79+11.61	13.49±1.89 ^{***}	3.54±0.28 ^{***△}	26.53±3.91 ^{***▲△△}
SAFI	9	11.61	11.74±1.95 ^{***}	4.12±0.27 ^{***}	19.78±3.37

与对照组比较: ^{###} $P<0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$; 与相应他汀类药物单用组比较: [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$; 与 SAFI 组比较: ^{△△} $P<0.01$ 。
^{###} $P<0.001$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs model group; [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$ vs corresponding statin monotherapy group; ^{△△} $P<0.01$ vs SAFI group.

他汀组、普伐他汀组、阿托伐他汀+SAFI 组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组、SAFI 组肝组织 SOD 水平显著升高 ($P<0.001$); 各给药组 MDA 水平均显著降低 ($P<0.001$); 瑞舒伐他汀组、阿托伐他汀+SAFI 组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组 GSH-Px 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。与他汀类药物单用组比较, 阿托伐他汀+SAFI 组肝组织 SOD 水平显著升高 ($P<0.01$); 瑞舒伐他汀+SAFI 组 MDA 水平显著降低 ($P<0.05$); 普伐他汀+SAFI 组 GSH-Px 水平显著升高 ($P<0.05$)。与 SAFI 组比较, 阿托伐他汀组肝组织 SOD 水平显著降低 ($P<0.01$), MDA 水平显著升高 ($P<0.01$); 普伐他汀+SAFI 组 MDA 水平显著降低 ($P<0.05$), GSH-Px 水平显著升高 ($P<0.05$)。

结果表明, SAFI 与他汀类药物联用后未发现对 CCl₄ 肝损伤大鼠肝脏有明显的氧化损伤, 且 SAFI 及与他汀类药物联用组的肝抗氧化能力有明显好转。

3.4 肝组织炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 水平

如表 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肝组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平显著升高 ($P<0.001$), IL-10 水平显著降低 ($P<0.001$); 与模型组比较, 各给药组大鼠肝组织 IL-1 β 、IL-6 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001); 瑞舒伐他汀组、普伐他汀组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组、SAFI 组 TNF- α 水平显著降低, IL-10 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。与他汀类药物单用组比较, 各联用组肝组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 虽有降低趋势, 但差异无统

表 4 肝组织炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 水平($\bar{x} \pm s$)
Table 4 liver tissue inflammatory factors TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-10 levels($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·g ⁻¹)	IL-1 β /(pg·g ⁻¹)	IL-6/(pg·g ⁻¹)	IL-10/(pg·g ⁻¹)
对照	9	—	308.89±44.15	25.69±9.19	133.89±30.74	97.71±10.73
模型	10	—	510.20±50.25 ^{###}	68.38±7.45 ^{###}	246.64±30.81 ^{###}	60.03±11.53 ^{###}
阿托伐他汀	9	1.79	449.68±49.68	55.64±7.16 [*]	197.34±31.28 [*]	62.92±10.47
瑞舒伐他汀	9	1.79	403.18±45.69 ^{***}	43.27±9.18 ^{***}	188.11±27.78 ^{**}	82.50±11.15 ^{**}
普伐他汀	8	1.79	422.48±58.52 [*]	43.69±5.39 ^{***}	180.05±37.56 ^{***}	80.28±10.42 ^{**}
阿托伐他汀+SAFI	8	1.79+11.61	442.87±56.13	46.49±10.17 ^{***}	181.61±23.80 ^{**}	74.35±12.35
瑞舒伐他汀+SAFI	9	1.79+11.61	405.77±36.64 ^{***}	35.34±9.95 ^{***}	160.71±35.81 ^{***}	87.97±11.87 ^{***}
普伐他汀+SAFI	9	1.79+11.61	377.76±45.58 ^{***}	39.33±6.92 ^{***}	175.02±28.70 ^{***}	90.92±12.45 ^{***}
SAFI	9	11.61	401.64±48.91 ^{***}	45.81±7.02 ^{***}	193.87±30.17 [*]	78.19±10.55 [*]

与对照组比较: ^{###} $P<0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ 。

^{###} $P<0.001$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs model group.

计学意义。结果表明,SAFI 与他汀类药物联合使用不会加重 CCl₄ 肝损伤大鼠的肝组织炎症反应,且 SAFI 及与他汀类药物联用组的炎症反应有明显好转。

3.5 各组大鼠病理 HE 染色结果观察

通过 HE 染色法观察各组肝组织病理,结果如图 1 所示,对照组大鼠肝小叶结构完整,肝细胞排列整齐,无炎细胞浸润;模型组大鼠肝小叶结构破

坏,肝索排列紊乱,可见肝细胞肿胀坏死,有明显的炎细胞浸润现象。与模型组比较,阿托伐他汀组、瑞舒伐他汀组、普伐他汀组、阿托伐他汀+SAFI 组、瑞舒伐他汀+SAFI 组、普伐他汀+SAFI 组、SAFI 组肝索形态结构改善,炎细胞浸润未发现加重现象,且 SAFI 组及各联用组肝小叶结构趋于正常,肝索形态结构改善,炎细胞浸润明显减轻。说明

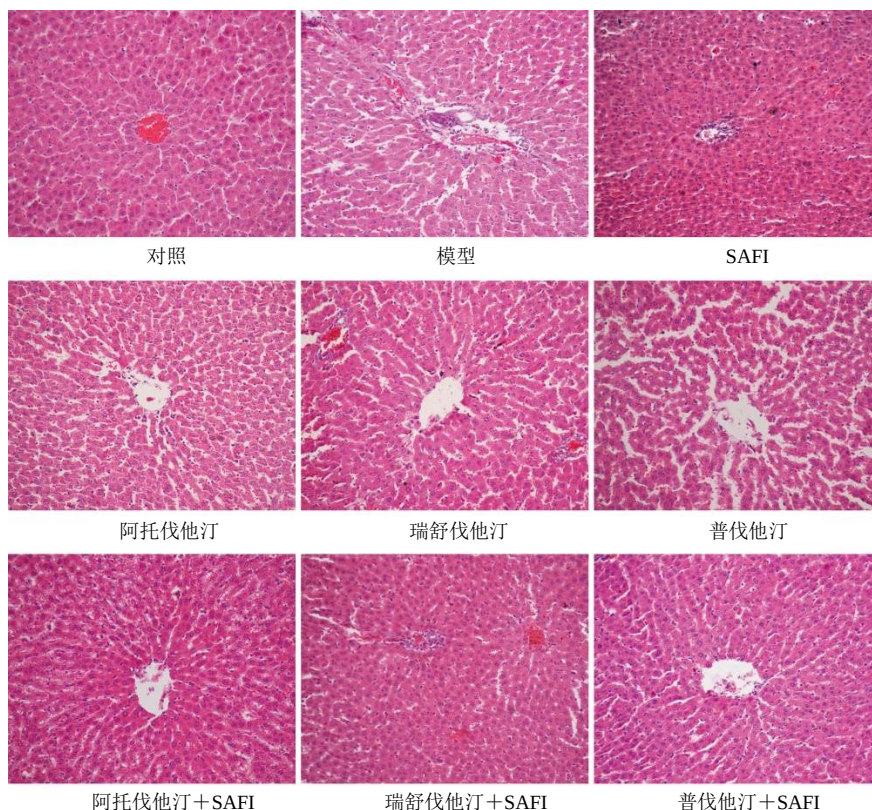


图 1 各组大鼠病理 HE 染色结果(×200)

Fig. 1 Pathological HE staining results of rats in each group (× 200)

SAFI 联合他汀类药物不会加重 CCl_4 诱导的肝损伤, 而且发现各给药组均对肝组织损伤具有一定的改善作用。

4 讨论

肝脏是机体重要的代谢和解毒器官, 有很强的再生和自我修复功能, 在受到病毒、药物、酒精等多因素刺激时, 肝脏解毒能力将超负荷, 易导致肝细胞及功能损伤, 引起急慢性肝脏疾病^[8-9]。 CCl_4 动物肝损伤模型是经典的肝损伤模型, CCl_4 是一种化学性肝损伤诱导剂, 可被肝细胞内微粒体酶活化三氯甲基自由基 ($\cdot\text{CCl}_3$), 后者与氧结合生成的 $\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$ 引发脂质过氧化反应, $\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$ 引起细胞膜结构和功能的改变^[10-11], 导致肝细胞损害, 其诱导的肝损伤所形成的肝脏病变特征与病毒性肝炎相似^[12], 且成模率高、模型均一性良好、重复性好, 方法简单。本实验采用 ip CCl_4 建立大鼠肝损伤模型, 大鼠血清中 AST 和 ALT 水平升高, 病理学检测表现为肝小叶结构破坏, 肝索排列紊乱, 肝细胞肿胀坏死, 有明显的炎细胞浸润现象, 说明造模成功。

ALT 和 AST 主要存在于肝脏中, 肝细胞损伤时会出现升高现象, 因此血清中 ALT 和 AST 是评价动物肝功能的经典指标^[13-14]。ALP、LDH 也常作为肝损伤的标志, 肝细胞损伤时会升高^[15], 血清中 ALP、LDH 的高低也可反映肝损伤程度^[16]。有研究发现氧化应激与肝炎、肝纤维化、肝硬化等肝脏疾病密切相关^[17]。SOD 和 GSH-Px 是肝脏 2 个重要的抗氧化酶, 在维持肝细胞膜结构和功能、清除自由基及提高肝脏解毒能力上有重要作用^[18]。MDA 是肝细胞脂质过氧化的主要代谢产物, 常作为反映肝细胞脂质过氧化和氧化应激程度的生物指示剂^[19]。有研究表明炎性细胞因子与肝损伤的发生发展关系密切, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎因子释放, 会引发肝脏炎性细胞浸润, 严重时可致肝组织坏死^[20-21]。IL-10 是一种重要的抗炎因子, 抑制炎症介质的合成与表达, 在肝损伤时能起到一定的保护作用, 减轻肝损伤的程度, 常作为评价机体免疫能力和抗炎能力的敏感指标^[22]。

本研究中, 模型组大鼠体质量明显下降, 而肝指数显著升高, 表明 CCl_4 造模后肝脏发生损伤。各给药组体质量有一定回升, 与模型组比较各给药组肝指数降低, 说明各给药组肝损伤有所减轻。与模型组比较, 各给药组大鼠血清中 ALT、AST、ALP、

LDH 及肝组织中的 SOD、GSH-Px、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均不同程度下降, 肝组织中 MDA、IL-10 水平升高; 与他汀类药物单用组比较, 阿托伐他汀+SAFI 组血清 AST、LDH 显著降低, 肝组织 SOD 水平显著升高, 瑞舒伐他汀+SAFI 组 MDA 水平显著降低, 普伐他汀+SAFI 组 GSH-Px 水平显著升高。通过血清及肝组织的生化指标、病理染色的观察, SAFI 联合他汀类药物对 CCl_4 诱导的肝损伤大鼠安全性良好, 未发现损伤加重现象。

中国脑梗死中西医结合诊治指南 (2017) 在脑梗死、脑卒中中应用西医治疗与活血化瘀药相结合, 推荐使用 SAFI^[23]。缺血性脑卒中合并血脂异常时, 首选他汀类药物联合治疗血脂异常^[24]。SAFI 在用于治疗轻中度脑梗死合并血脂异常患者时就会涉及与他汀类药物联用, 本实验侧重考虑两者联用对肝脏的安全性, 并非用于治疗肝损伤, 研究发现在已有 CCl_4 所致大鼠肝损伤的基础上, SAFI 与他汀类药物联合使用并没有出现肝损伤加重的现象, 结果提示 SAFI 联合他汀类药物用于心脑血管疾病治疗时不会加重肝脏损伤生化指标, 安全性良好。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杨婷, 谢涛, 张臻臻, 等. 一标多测法同时测定注射用丹参多酚酸中 5 种成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2023, 40(1): 42-49.
Yang T, Xie T, Zhang Z Z, et al. Simultaneous determination of five components in Salvianolic Acids for Injection by one-marker multi-determination method [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2023, 40(1): 42-49.
- [2] 李德坤, 苏志刚, 万梅绪, 等. 注射用丹参多酚酸药理作用及临床应用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(2): 353-361.
Li D K, Su Z G, Wan M X, et al. Research progress on pharmacological effects and clinical application of salvianolic acid for injection [J]. Drug Eval Res, 2019, 42(2): 353-361.
- [3] 王楷, 郭艳平. 注射用丹参多酚酸联合瑞舒伐他汀治疗急性缺血性脑卒中的疗效及对患者 Lp-PLA2、ox-LDL、IL-6 的影响 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(8): 1709-1714.
Wang K, Guo Y P. Efficacy of Salvianolic Acids for Injection combined with rosuvastatin in the treatment of acute ischemic stroke and its effect on Lp-PLA2, ox-LDL and IL-6 [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(8): 1709-1714.

- [4] 陈全华. 高血压并高脂血症的缺血性脑卒中患者应用依折麦布联合瑞舒伐他汀调脂治疗的临床观察 [J]. 心血管病防治知识, 2023, 13(18): 24-26.
- Chen Q H. Clinical observation of ezetimibe combined with rosuvastatin in the treatment of ischemic stroke patients with hypertension and hyperlipidemia [J]. Prevent Treat Cardiovasc Dis, 2023, 13(18): 24-26.
- [5] 龙宇, 张定堃, 郑川, 等. 川芎治疗脑卒中的理论溯源及研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(18): 6372-6382.
- LONG Y, ZHANG D K, ZHENG C, et al. Theoretical tracing and research progress on *Chuanxiong Rhizoma* in treatment of stroke [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(18): 6372-6382.
- [6] 姚宜琪, 袁梦莹, 何霞, 等. 他汀类药物在缺血性卒中二级预防中的作用机制及应用现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(17): 2556-2560.
- Yao Y Q, Yuan M Y, He X, et al. The mechanism and application status of statins in secondary prevention of ischemic stroke [J]. Chin J Clin Pharm, 2023, 39(17): 2556-2560.
- [7] 王增武, 郭远林. 中国血脂管理指南(基层版 2024 年) [J]. 中国循环杂志, 2024, 39(4): 313-321.
- Wang Z W, Guo Y L. Chinese Guidelines for Blood Lipid Management (Basic Edition 2024) [J]. Chin Circ J, 2024, 39(4): 313-321.
- [8] 卢春远, 林兴, 黄权芳, 等. 山芝麻酸甲酯对 CCl₄ 致大鼠慢性肝损伤的作用及其机制的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 141-147.
- Lu C Y, Lin X, Huang Q F, et al. Effect of methyl sesaminate on CCl₄-induced chronic liver injury in rats and its mechanism [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2017, 23(7): 141-147.
- [9] Reutemann B, Gordon F D. Evaluation of the Patient with Markedly Abnormal Liver Enzymes [J]. Clin Liver Dis, 2023, 27(1): 1-16.
- [10] 李涛, 陶山, 李倩, 等. 七珠胶囊对 CCl₄ 致大鼠慢性肝损伤的保护作用及机制研究 [J]. 现代中医药, 2021, 41(6): 16-21.
- Li T, Tao S, Li Q, et al. Protective effect and mechanism of Qizhu Capsule on CCl₄-induced chronic liver injury in rats [J]. Mod Chin Med, 2021, 41(6): 16-21.
- [11] HE Y J, Kuchta K, Deng Y M, et al. Curcumin promotes apoptosis of activated hepatic stellate cells by inhibiting protein expression of the MyD88 pathway [J]. Planta Med, 2017, 83(18): 1392-1396.
- [12] 夏娜, 陈义磊, 陶海燕, 等. 药桑多糖对四氯化碳所致大鼠肝损伤的保护作用 [J]. 食品科学, 2015, 36(13): 247-251.
- Xia N, Chen Y L, Tao H Y, et al. Protective effect of *Morus nigra* polysaccharide on liver injury induced by carbon tetrachloride in rats [J]. Food Sci, 2015, 36(13): 247-251.
- [13] 盛云华, 马静, 张志超, 等. 四氯化碳致小鼠急性肝损伤模型的优化及痰热清注射液的保肝作用 [J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(2): 221-225.
- Sheng Y H, Ma J, Zhang Z C, et al. Optimization of acute liver injury model induced by carbon tetrachloride in mice and hepatoprotective effect of Tanreqing Injection [J]. Chin J Pharm, 2017, 48(2): 221-225.
- [14] 张治杰, 潘阳阳, 姚亚乐, 等. 木犀草素对乙酰氨基酚诱导肝损伤的保护作用 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2024, 52(2): 12-21, 31.
- Zhang Z J, Pan Y Y, Yao Y L, et al. Protective effect of luteolin on acetaminophen-induced liver injury [J]. J Northwest A F Univ (Nat Sci Ed), 2024, 52(2): 12-21, 31.
- [15] 付满玲, 九红, 袁叶飞. 赶黄草总黄酮对四氯化碳所致小鼠急性化学性肝损伤的保护作用 [J]. 现代食品科技, 2021, 37(6): 50-56.
- Fu M L, Jiu H, Yuan Y F. Protective effect of total flavonoids from *Penthorum chinense* Pursh on acute chemical liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Mod Food Sci Technol, 2021, 37(6): 50-56.
- [16] Smith A K, Ropella G E P, McGill M R, et al. Contrasting model mechanisms of alanine aminotransferase (ALT) release from damaged and necrotic hepatocytes as an example of general biomarker mechanisms [J]. PLoS Comput Biol, 2020, 16(6): 1007622.
- [17] 李洪亮, 张秋芳, 郑雪皎, 等. 中药抗肝氧化应激的研究进展 [J]. 医药导报, 2013, 32(12): 1608-1612.
- Li H L, Zhang Q F, Zheng X J, et al. Research progress of traditional Chinese medicine against liver oxidative stress [J]. Her Med, 2013, 32(12): 1608-1612.
- [18] 杨帆, 魏小果, 赵鑫, 等. 白头翁皂苷 B₄ 对四氯化碳致急性肝损伤模型小鼠的保护作用及机制研究 [J]. 中草药, 2021, 44(12): 2938-2942.
- Yang F, Wei X G, Zhao X, et al. Protective effect and mechanism of Pulsatilla saponin B₄ on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. J Chin Med Mater, 2021, 44(12): 2938-2942.
- [19] 江颖倩, 彭梦超, 吴建国, 等. 长片金线兰多糖对四氯化碳诱导急性肝损伤小鼠的保护作用 [J]. 中草药, 2021, 52(19): 5932-5938.
- Jiang Y Q, Peng M C, Wu J G, et al. Protective effect of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(19): 5932-5938.
- [20] 郭伟, 胡田颖, 雷宏强, 等. 葛根-南五味子预防给药

- 减轻四氯化碳致小鼠急性肝损伤 [J]. 中药药理与临床, 2023, 39(11): 39-45.
- Guo W, Hu T Y, Lei H Q, et al. Prophylactic administration of *Puerariae Lobatae Radix-Schisandra Chinensis Fructus* alleviates acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2023, 39(11): 39-45.
- [21] Na C, Dianfeng L, Wassy L S, et al. Paeonol suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokines in macrophage cells and protects mice from lethal endotoxin shock [J]. Fund Clin Pharmacol, 2014, 28(3): 268-76.
- [22] 蔡文丽, 张慧, 唐选, 等. 有氧运动对酒精性肝损伤小鼠 ALT、AST、IL-10 和 IL-6 等的影响 [J]. 沈阳体育学院学报, 2013, 32(3): 89-92.
- Cai W L, Zhang H, Tang X, et al. Effects of aerobic exercise on ALT, AST, IL-10 and IL-6 in mice with alcoholic liver injury [J]. J Shenyang Sport Univ, 2013, 32(3): 89-92.
- [23] 高长玉, 吴成翰, 赵建国, 等. 中国脑梗死中西医结合诊治指南(2017) [J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(2): 136-144.
- Gao C Y, Wu C H, Zhao J G, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of cerebral infarction with integrated traditional Chinese and western medicine (2017) [J]. Chin J Integr Tradit Chin West Med, 2018, 38(2): 136-144.
- [24] 北京高血压防治协会, 北京糖尿病防治协会, 北京慢性病防治与健康教育研究会, 等. 基层心血管病综合管理实践指南 2020 [J]. 中国医学前沿杂志: 电子版, 2020, 12(8): 1-73.
- Beijing Hypertension Association, Beijing Diabetes Prevention and Treatment Association, Beijing Research for Chronic Diseases Control and Health Education. Practice guideline for comprehensive management of cardiovascular diseases at the grassroots level 2020 [J]. Chin J Front Med Sci: Electron Ed, 2020, 12(8): 1-73.

[责任编辑 兰新新]