

胡芦巴对急性化学性肝损伤的保护作用

朱宝立¹, 班永宏¹, 段金康²

(1. 江苏省职业病防治研究所, 江苏 南京 210028; 2. 中国药科大学, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 探讨胡芦巴对急性化学性肝损伤的保护作用及其机理。方法 采用四氯化碳和 D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤的模型, 染毒前不同时间、不同剂量给药对小鼠肝功能指标 ALT 和 AST 的影响, 同时观察脂质过氧化水平。结果 胡芦巴有效地抑制 CCl₄ 和 D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤的血清 ALT 和 AST 的升高, 并呈现良好的剂量-效应关系; 不同治疗时间、每日给药次数对疗效有很大影响, 每日 3 次给药, 治疗 3 天以上效果较好; 给药后, 肝脏 MDA 水平降低, GSH-Px 升高, 呈现剂量-反应关系, 以上各指标与对照组(不给药组)均有显著性差异。结论 胡芦巴提取物能有效地保护小鼠急性化学性肝损伤, 其机理可能是抑制脂质过氧化, 增加 GSH-Px 酶活力而发生作用。

关键词: 胡芦巴; 化学性肝损伤; 保护作用; 脂质过氧化

中图分类号: Q949.751.9; R595; R322.4⁺7 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2000)01-0019-03

Protective effect of Fenugreek Seed on Acute Chemical Liver Injury

ZHU Bao-li, BAN Yong-hong, DUAN Jin-ao

(1. Jiangsu Provincial Institute for Occupational Medicine, Nanjing 210028, China; 2. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract; Objective To study protective effect of fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum* L.) against acute chemical liver injury and its mechanism. **Methods** An animal model with acute liver injury was reproduced by carbon tetrachloride and D-chondrosamine in mice. Liver function indicators serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), were determined in mice with different chemical dose at varied time periods as well as level of lipid peroxide. **Results** Increase in serum ALT and AST in mice caused by carbon tetrachloride and D-chondrosamine could be inhibited by fenugreek seed, with a good dose-response pattern. Therapeutic effect was based on period of treatment and times of drug administration, with better result in those with a daily dose dividing into three times for three days. Liver MDA level reduced and GSH-Px increased after treatment with a dose-response pattern. There was significant difference in all indicators mentioned above between them and controls. **Conclusion** It suggests that the extract from fenugreek seed can protect mice from acute chemical liver injury with its mechanism of inhibiting lipid peroxide and increasing activity of GSH-Px.

Key words: Fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum* L.); Chemical liver injury; Protection; Lipid peroxide

随着现代化工业的发展, 肝毒性化合物的种类越来越多, 由此造成的化学性肝损伤大大增加, 因此寻找具有抑制这一损伤作用的有效药物对保护人群健康有着重要意义。胡芦巴为豆科植物, 其种子性温、味苦、气香, 入肝、肾, 是中医常用的补肾阳、祛寒湿药物, 也是我国西部地区回族通常食用的香料和补品; 在德国及欧洲其他一些地区也是民间常用的保肝药。

本文用四氯化碳和 D-氨基半乳糖制作急性肝损伤模型, 观察胡芦巴对四氯化碳和 D-氨基半乳糖所致急性肝损伤的保护作用, 并对这一作用的机理从自由基学说方面进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 受试药物

1.1.1 胡芦巴提取物由中国药科大学提供, 使用前用 0.5% 羧甲基纤维素配成 5% 混悬液, 阳性药物联苯双酯由江苏宜兴制药厂生产。

1.1.2 动物分组及处理 健康的昆明种小鼠体质量 20~21g, 随机分为 6 组, 即胡芦巴高、中、低剂量组, 阳性对照组, 对照组(染毒不给药)和正常组, 口服给药连续 3 天, 每日 3 次, 末次给药 1 小时后, 除正常组外各组腹腔注射染毒 (CCl₄ 模型: 0.1% CCl₄ 10ml/kg, D-氨基半乳糖模型: D-氨基半乳糖 800mg/kg), 18 小时后眼眶采血, 分离血清作 ALT 和 AST 检验。

1.1.3 不同给药时间急性肝损伤的治疗作用 选用正交试验设计方案, 观察不同给药时间 (1、3、7 天), 每日不同给药次数 (1、2、3 次), 观察对 CCl₄

收稿日期: 1999-09-20

作者简介: 朱宝立 (1966—), 男, 江苏泰县人, 主管医师。

急性肝损伤治疗效果。

1. 1. 4 小鼠肝匀浆、微粒体及线粒体的制备 在动物处死后, 立即取出肝脏放入 4℃生理盐水中洗去浮血, 剔除脂肪及结缔组织, 吸干水分, 称质量, 剪碎, 按 1g 组织加入 9ml sucrose (0. 25mol/L) -Tris-HCl (0. 01mol/L) 缓冲液、匀浆。取部分肝匀浆经 500g 离心 20 分钟去除胞核片后, 经 104g 离心 10 分钟, 沉淀物为线粒体, 取上清液 105g 离心 65 分钟, 沉淀物为微粒体。

1. 1. 5 检测方法 肝匀浆、微粒体、线粒体脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 和谷胱甘肽过氧化酶 (GSH-Px) 检测试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。用酶法测定血清 ALT 和 AST。

1. 1. 6 统计方法 采用 SAS 统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2. 1 胡芦巴对小鼠急性肝损伤的保护作用

表 1 表明, 对照组小鼠的 ALT 和 AST 显著高于正常组 ($P < 0. 01$), 说明 CCl₄ 和 D-氨基半乳糖染毒后肝细胞严重损伤, 而胡芦巴高、中、低剂量组显著低于对照组 ($P < 0. 01$), 与阳性药物相近, 并存在剂量-效应关系, 说明胡芦巴提取物能有效地抑制毒

物对肝细胞的作用。

表 1 胡芦巴提取物对小鼠急性肝损伤肝功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

模型	组别	剂量 (g/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)
CCl ₄	胡芦巴组	2. 0	61. 5±19. 3 **	74. 7±11. 0 **
		1. 0	80. 5±11. 0 **	95. 4±8. 0 **
		0. 5	108. 7±23. 1 **	127. 8±19. 3 **
	阳性对照组	0. 5	80. 8±16. 2 **	95. 7±11. 4 **
	对照组	—	241. 5±40. 7 ##	182. 5±18. 1 ##
	正常组	—	32. 9±8. 6	49. 2±6. 1
D-氨基半乳糖	胡芦巴组	2. 0	66. 7±7. 4 **	72. 7±8. 4 **
		1. 0	78. 7±8. 3 **	95. 4±8. 9 **
		0. 5	100. 4±18. 4 **	113. 8±13. 1 **
	阳性对照组	0. 5	81. 3±13. 4 **	91. 4±8. 3 **
	对照组	—	289. 4±36. 4 ##	213. 5±23. 1 ##
	正常组	—	28. 3±3. 3	39. 3±4. 2

**与对照组比较 $P < 0. 01$, ##与正常组比较 $P < 0. 01$ 。

2. 2 胡芦巴对肝脏 MDA 和 GSH-Px 的影响

表 2 表明, 对照组小鼠肝脏匀浆、线粒体和微粒体 MDA 含量显著高于正常组, 而 GSH-Px 活性低于正常组 ($P < 0. 01$); 胡芦巴高、中、低剂量组的 MDA 明显低于对照组, 而 GSH-Px 高于对照组 ($P < 0. 01$), 与阳性对照组和正常组相近, 存在剂量-效应

表 2 胡芦巴对小鼠肝脏 MDA 和 GSH-Px 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

动物模型	组别	剂量 (g/kg)	MDA (nmol/mg)			GSH-Px [U/ (min·mg)]		
			肝匀浆	微粒体	线粒体	肝匀浆	微粒体	线粒体
CCl ₄	胡芦巴组	2. 0	19. 4±1. 4 *	17. 4±1. 7 *	11. 3±1. 4	10. 7±1. 1 *	9. 2±1. 3 *	6. 4±0. 9 *
		1. 0	21. 5±2. 9 *	20. 4±1. 8 *	13. 4±1. 0	19. 6±1. 2 *	8. 1±0. 8 *	5. 0±1. 3 *
		0. 5	23. 1±2. 9 *	22. 7±2. 1 *	15. 3±1. 5	8. 8±1. 3 *	7. 1±1. 1 *	4. 5±0. 9 *
	阳性对照组	0. 5	22. 4±2. 0 *	21. 8±1. 6 *	15. 4±1. 2	9. 1±1. 0 *	7. 8±1. 3 *	4. 6±0. 7 *
	对照组	—	31. 2±2. 7 #	27. 9±2. 0 #	19. 7±1. 3 #	7. 0±0. 8 #	4. 7±0. 5 #	4. 0±0. 7 #
	正常组	—	18. 0±0. 9	16. 7±1. 1	9. 4±0. 7	10. 8±0. 9	10. 2±0. 8	6. 8±0. 9
D-氨基半乳糖	胡芦巴组	2. 0	20. 4±1. 8 *	17. 3±1. 4 *	11. 4±1. 6 *	14. 7±1. 2 *	12. 6±1. 0 *	8. 3±0. 7 *
		1. 0	22. 8±1. 6 *	20. 5±1. 6 *	14. 3±1. 3 *	13. 1±1. 1 *	11. 8±0. 9 *	7. 6±0. 5 *
		0. 5	25. 3±2. 1 *	22. 1±2. 0 *	6. 3±1. 5 *	10. 1±0. 8 *	9. 3±0. 7 *	6. 1±0. 4 *
	阳性对照组	0. 5	23. 1±2. 3 *	20. 8±1. 9 *	13. 9±1. 2 *	12. 4±0. 9 *	10. 7±0. 7 *	7. 8±0. 7 *
	对照组	—	40. 5±3. 8 #	31. 4±2. 4 #	29. 1±2. 4 #	5. 4±0. 7 #	4. 7±0. 5 *	3. 8±0. 5 #
	正常组	—	12. 5±1. 1	16. 4±1. 4	11. 0±0. 8	12. 9±0. 9	12. 3±1. 4	7. 8±0. 9

*与对照组比较 $P < 0. 01$, #与正常组比较 $P < 0. 01$ 。

关系,说明胡芦巴提取物能有效地抑制毒物所致小鼠肝脏脂质过氧化的作用。

2.3 不同给药时间对急性肝损伤疗效观察

表3表明,连续1、3、7天给药,小鼠ALT和AST均有不同程度降低,并存在时间-效应关系,3天以上治疗组ALT和AST显著低于对照组($P < 0.05$),但高于正常组,说明不同治疗周期对小鼠急性 CCl_4 肝损伤的疗效有较大的影响。同时每日给药1、2、3次,小鼠肝功能ALT和AST均有不同程度降低,每

表3 不同给药时间对小鼠急性肝损伤的疗效 ($\bar{x} \pm s$)

组别	每次剂量 (g/kg)	每日 次数	1天		3天		7天	
			ALT	AST	ALT	AST	ALT	AST
胡芦巴组	2.0	1	307±31.6	201±18.4	181±20.1*	143±16.3*	178±16.3	138±15.1
	2.0	2	263±25.1	181±17.4	90.3±10.4**	97.2±11.3**	83.1±8.1**	81.4±7.9**
	2.0	3	217±20.3*	104±9.5*	62.7±6.3**	69.1±7.1**	61.8±5.4**	60.7±7.3**
对照组	—	—	318±28.7	227±23.1				
正常组	—	—	29.7±2.7	33.8±3.9				

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

关系。机体内存在着抵御自由基损伤的防御系统,其中GSH-Px是该系统中重要的抗氧化酶类之一,它能还原过氧化物,保护组织细胞免受损害。本次研究证实, CCl_4 和D-氨基半乳糖均能使小鼠肝匀浆、线粒体和线粒体的MDA含量增加,GSH-Px活力降低,肝功能指标ALT和AST显著升高;而胡芦巴能明显逆转上述指标,表明胡芦巴可能活化小鼠的抗氧化酶系统,减少自由基作用于肝细胞膜的脂质过氧化作用,从而抑制 CCl_4 和D-氨基半乳糖对肝脏的急性损伤。

(上接第18页)企业实行合作医疗或医疗保险制度,可能是今后的发展方向。但据本次其他意向性调查结果说明,尽管乡镇企业采取的各种医疗保障措施可能与企业的各种因素存在着这样或那样的关系,但企业领导对该问题的认识程度和重视程度是其关键。本次分析结果表明,由于企业领导的认识和企业的具体情况不同,因而对职工的医疗保障形式有多种多样的选择,即使在同一企业中由于用工形式不同,而同时存在几种模式。可见对乡镇企业职工医疗保障问题,首先应当加强教育,同时在广泛深入调查研究的基础上,由政府制定出符合实际可能和实际需要的有关政策。

日2次以上效果较好。从上述结果可以推测,胡芦巴有效成分在体内代谢可能较快,要维持有效成分的正常浓度,应采取每日多次给药方式。

3 讨论

胡芦巴提取物能有效地保护小鼠急性化学性肝损伤,其有效成分可能为胡芦巴总甙,其给药剂量、时间和每日给药次数对肝功能的抑制有较大影响,可能由于其在体内代谢较快,需采取每日多次给药,以达到疗效。其作用机理与抗脂质过氧化反应有着密切的

因此,胡芦巴提取物是一种有价值的保肝药物,对有效地防治化学毒物对人群健康影响方面有着重要的价值。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部. 新药临床前实验指导原则汇编 [C]. 1993.
- [2] 李淑玉, 等. 问荆硅化物对实验性肝损伤的保护作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1992, 6 (1): 67~70.
- [3] 叶正君. 胶股蓝减弱四氯化碳所致大鼠肝脏脂质过氧化作用 [J]. 工业卫生与职业病, 1998, 24 (2): 74~76.

(对各地参与现场调查的有关同志表示衷心感谢!)

参考文献:

- [1] 农业部乡镇企业局. 1996 (1997) 年乡镇企业基本情况及经济运行分析 [Z]. 1997.
- [2] 农业部乡镇企业局. 历史里程碑 [Z]. 1997. 8
- [3] 国家体改委, 等. 职工医疗保障制度改革 [M]. 改革出版社, 1996.
- [4] 顾涛. 农村医疗保险制度相关问题及政策建议 [J]. 中国卫生事业管理, 1997.
- [5] 张朝阳, 等. 中国农村合作医疗改革研究技术总报告 [J]. 中国卫生事业管理, 1998.
- [6] 孔章圣. 乡镇企业职工“保偿医疗”模式的研究与构建 [J]. 中国初级卫生保健, 1997, 4 (11): 12~13.