

# 几种保肝药对急性肝损伤小鼠的作用对比研究

陈艳杰 韩莹莹

郑州工业应用技术学院河南省水环境与健康工程技术研究中心 河南新郑 451100

**摘要:** **目的:** 探讨肝泰乐胶囊、甘草酸二铵注射液、人参健脾丸对CCL<sub>4</sub>诱导小鼠急性肝损伤的保护作用。**方法:** 将48只小鼠随机分成空白组、模型组(15%CCL<sub>4</sub>, 10ml/kg)、肝泰乐组(150mg/kg)、甘草酸二铵组(10ml/kg)、人参健脾丸组(150mg/kg)以及阳性对照组(联苯双酯, 150mg/kg), 每组8只。各给药组灌胃给予相应剂量的药物, 空白组、模型组灌胃给予相应体积的生理盐水, 每天一次, 持续14h。末次给药2h后, 正常组腹腔注射给予生理盐水, 其余组腹腔注射给予CCL<sub>4</sub>花生油溶液。24h后于眼球采血, 测定血清中的丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶活性以及肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞介素-6的水平, 取出肝组织计算肝指数, 用HE染色法观察小鼠肝组织形态学变化及肝损伤程度, 检测肝组织中超氧化物歧化酶活性、丙二醛活性。**结果:** 几种保肝药均能明显减轻CCL<sub>4</sub>所致的小鼠急性肝损伤, 肝泰乐胶囊作用最明显, 甘草酸二铵注射液次之, 人参健脾丸居于最后。

**关键词:** 保肝药; 四氯化碳; 急性肝损伤; 保护作用

## Comparative study on the effects of several hepatoprotective drugs on acute liver injury in mice

Yanjie Chen, Yingying Han

Zhengzhou University of Industry Technology, Henan water environment and Health Engineering Technology Research Center, Xinzheng 451100, Henan

**Abstract:** **Objective:** To investigate the protective effects of Gantaile capsule, diammonium glycyrrhizinate injection and ginseng spleen-strengthening pill on CCL<sub>4</sub>-induced acute liver injury in mice. **Methods:** Forty-eight mice were randomly divided into blank group, model group (15%CCL<sub>4</sub>, 10ml/kg), gantai group (150mg/kg), diammonium glycyrrhizinate group (10ml/kg), ginsen-jianpi pill group (150mg/kg) and positive control group (biphenyl diester, 150mg/kg), with 8 mice in each group. Each administration group was given the corresponding dose of drugs by gavage, and the blank group and the model group were given the corresponding volume of normal saline by gavage, once a day for 14 hours. Two hours after the last administration, the normal group was intraperitoneally injected with normal saline, and the other groups were intraperitoneally injected with CCl<sub>4</sub> peanut oil solution. 24 hours later, blood was collected from the eyeballs to measure the activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, tumor necrosis factor - and interleukin-6 in the serum. The liver tissue was taken out to calculate the liver index. The morphological changes of the liver tissue and the degree of liver injury were observed by HE staining, and the activities of superoxide dismutase and malondialdehyde in the liver tissue were detected. **Results:** Several hepatoprotective drugs can significantly reduce CCL<sub>4</sub>-induced acute liver injury in mice. Gantaile Capsule has the most obvious effect, followed by diammonium glycyrrhizinate injection, and ginseng spleen-strengthening pill is the last.

**Keywords:** liver protecting drugs; Carbon tetrachloride; Acute liver injury; Protective effect

肝损伤<sup>[1-2]</sup>为严重危害人体健康的疾病之一。肝损伤有广义和狭义之分。广义的肝损伤一般包括内科系统各种肝脏的炎症性疾病。狭义的肝损伤一般是指外力作用造成的肝脏破裂。肝损伤诱因主要有饮用过量酒精、滥

用药物等。

肝泰乐胶囊、甘草酸二铵注射液及人参健脾丸均用于肝损伤病人的治疗, 具有明显的临床疗效<sup>[3-4]</sup>。本研究将采用CCL<sub>4</sub>诱导小鼠急性肝损伤模型<sup>[5-7]</sup>, 旨在观察三

种药物对急性肝损伤小鼠的保护作用, 并对其机制进行初步探讨, 为保肝药的临床应用和新药开发提供药理学依据<sup>[8-10]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

HH-6恒温水浴锅(常州天瑞仪器有限公司); BX51光学显微镜(日本O-LYMPUS公司); TDL-40B(低温离心机)。

### 1.2 试剂

肝泰乐胶囊(华中药业股份有限公司, 规格: 150mg/粒); 甘草双二铵注射液(正大天晴药业集团有限公司, 规格: 10ml/支); 联苯双酯滴丸(北京协和药厂, 规格: 1.5mg/丸); 人参健脾丸(北京同仁堂制药厂, 规格: 6g/丸); 丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)测试盒(中生北控生物科技有限公司); 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)测试盒(南京建成生物工程研究所); 其余试剂为分析纯。

### 1.3 实验动物

48只雄性昆明小鼠, 体重18-22g/只, 清洁级, 购买于郑州大学动物实验中心。

### 1.4 小鼠分组、建模及给药

将48只小鼠喂养一周后, 随机分为: 空白组、模型组、阳性对照组(联苯双酯150mg/kg)、肝泰乐胶囊组(150mg/kg)、甘草酸二铵组(10ml/kg)、人参健脾丸组(150mg/kg), 每组8只。阳性对照组及各给药组按上述剂量灌胃给予相应试剂, 每天一次, 连续7d。空白组及模型组灌胃一定体积的生理盐水, 灌胃体积为10ml/kg。末次给药2h后, 模型组及各试剂组腹腔注射给予15% CCL<sub>4</sub>花生油溶液诱导肝损伤, 注射剂量为10ml/kg, 空白组给予10ml/kg的生理盐水。

### 1.5 生化指标检测

#### 1.5.1 小鼠肝指数以及血清中ALT、AST、TNF- $\alpha$ 、IL-6的测定

末次给药后12h内禁食不禁水, 12h后称取小鼠的体重, 眼球取血, 4℃下离心5min, 分离血清, 检测血清ALT、AST、TNF- $\alpha$ 、IL-6的含量<sup>[11]</sup>。小鼠处死后取出肝组织, 冲洗并吸干水分后称取质量, 计算肝指数。肝指数(%) = 肝质量(g) / 体质量(g) × 100%<sup>[12]</sup>。

#### 1.5.2 肝组织匀浆的制备以及肝组织病理学观察

观察肝脏的大小、颜色、光滑度后, 称取0.3g小鼠肝左叶组织, 置于10%多聚甲醛溶液中固定, 24h后石蜡包埋切片, 切成5-8微米厚度的薄片。用二甲苯脱去

切片中的石蜡, 再经酒精冲洗, 然后放入蒸馏水中, 即可用苏木精-伊红(HE)染色<sup>[13-15]</sup>, 最后在光学显微镜下观察肝组织病理学切片并拍照记录。

#### 1.5.3 肝组织MDA、SOD含量

取肝脏右小叶0.3g、生理盐水冲洗干净后制备组织匀浆, 离心5min, 取上清液备用, 采用酶联免疫法测定肝脏组织中SOD、MAD含量<sup>[16]</sup>。

#### 1.6 统计学处理

通过SPSS 23.0软件进行统计学分析, 血清中ALT、AST、肝指数、TNF- $\alpha$ 、IL-6及肝组织中MDA、SOD含量均以( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组样本均数比较采用独立样本t检验, 多组样本均数比较采用单因素方差分析<sup>[17]</sup>。以P<0.05代表有统计学意义, 以P<0.01表示有显著统计学意义。

## 2 实验结果与分析

### 2.1 对小鼠肝指数以及血清中ALT、AST活力的影响

通过数据分析可知, 模型组与空白组相比较, 模型组小鼠血清中AST和ALT的含量有显著升高(P<0.01), 说明用CCL<sub>4</sub>造模成功。模型组小鼠的肝指数显著增大(P<0.01), 表明模型组小鼠肝脏出现肿大现象。各试剂组均能降低小鼠的肝指数、ALT和AST(P<0.05)。肝泰乐胶囊作用尤为显著。甘草酸二铵注射液次之, 人参健脾丸组居于最后。

### 2.2 对小鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量的影响

通过数据对比分析: 模型组与空白组相比, 血清中的TNF- $\alpha$ 、IL-6含量有显著升高, 差异有统计学意义(P<0.01), 进一步证明造模成功。与模型组比较, 各试剂组均能够明显的抑制TNF- $\alpha$ 、IL-6的活性, 差异有统计学意义(P<0.01)。甘草酸二铵有较强的抗炎作用, 肝泰乐次之, 人参健脾丸居于最后。

### 2.3 对小鼠肝组织中MDA含量和SOD活性的影响

通过数据对比分析: 与空白组相比, 模型组小鼠肝组织SOD的活性逐渐下降(P<0.01), MAD的含量显著升高(P<0.01), 说明模型组小鼠的抗氧化能力明显下降。与模型组比较, 各试剂组SOD的活性显著升高, MAD含量显著下降, 差异具有统计学意义(P<0.01)。除阳性对照组外, 各试剂组中肝泰乐胶囊升高SOD及降低MAD的作用最为明显, 提示肝泰乐的抗氧化能力最强。甘草酸二铵注射液次之, 人参健脾丸居于最后。

### 2.4 对急性肝损伤小鼠肝脏病理结构的影响

置于显微镜下观察, 空白组小鼠肝细胞索结构清晰, 肝小叶结构完整。模型组有大量变性坏死细胞, 肝小叶中肝细胞空洞且大小不一, 显示用CCL<sub>4</sub>制备肝损伤模型

成功。各给药组及阳性对照组肝细胞索结构较为清晰, 细胞空洞和坏死程度均有不同程度的改善, 有细胞再生并且炎症有所减轻。结果提示, 各给药组对CCL<sub>4</sub>诱导的急性肝损伤有较明显的改善作用。肝泰乐组作用最明显。

### 3 结论

CCL<sub>4</sub>诱导肝损伤的机制主要与CCL<sub>4</sub>自身和其毒性代谢物-三氯甲烷自由基有关。该代谢物可致AST、ALT释放入血。因此, 血清中AST、ALT含量的高低可直接反映肝损伤程度。本实验结果显示肝泰乐胶囊、甘草酸二铵注射液、人参健脾丸均可以不同程度的降低小鼠AST、ALT的表达水平。其中, 肝泰乐胶囊效果最佳。

急性肝损伤后会产生炎症反应, 甘草酸二铵注射液抗炎作用最佳。

实验结果显示, 这几种保肝药均可提高肝脏SOD活性, 降低MDA含量, 减轻肝损伤。其中肝泰乐胶囊效果最佳。

通过对本实验结果发现, 肝泰乐胶囊发挥作用迅速, 减轻肝损伤效果最为显著。甘草酸二注射液发挥抗炎作用最好。人参健脾丸与前两种药相比效果不太理想, 只起到辅助治疗作用。本次实验只有七天, 猜测中药制剂未达到有效疗程, 效果未充分展现。但不可否认中药的强大作用, 中药和西药各有优点, 临床可以适当结合, 达到事半功倍的效果。

### 参考文献:

[1]Zhang Xiao man,Feng Jie,Su Shao feng, et al. Hepatoprotective effects of Camellia nitidissima aqueous ethanol extract against CCL<sub>4</sub>-induced acute liver injury in SD rats related to Nrf2 and NF- $\kappa$  B signalling.[J]. Pharmaceutical biology, 2020, 58(1).

[2]吕晓梅, 马丽杰. 中药治疗急性肝损伤的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2016, 25 (02): 170-174.

[3]王挺帅, 张荣臻, 王明刚, 黄少东, 周小博, 吴聪, 毛德文. 中医药治疗慢性乙型重型肝炎临床研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22 (10): 194-198.

[4]赵龙. 异甘草酸镁联合双环醇治疗化疗药物性肝损伤的临床效果分析[J]. 中国医药指南, 2020, 18 (04): 121-122.

[5]朱安妮, 李蕊, 刘三世等. 四氯化碳诱导小鼠急

性肝损伤模型的建立和优化[J]. 中国肝脏病杂志, 2014, 6 (01): 27-31.

[6]王丽霞. 护肝颗粒剂对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5 (96): 158.

[7]陈华, 金伟华, 张锦. 甲预胶囊对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 华西药理学杂志2019, 34 (01): 107-108.

[8]程志清, 黄超岚. 清心胶囊对病毒性心肌炎恢复期小鼠的药效学及免疫调节作用研究[J]. 中医药学刊, 2006 (09): 1598-1601.

[9]邱巧丽, 苏洁, 陈素红等. 复方白术提取物对高脂血症大鼠脂质代谢、血液流变学和微循环的影响[J]. 中成药, 2016, 38 (07): 1437-1443.

[10]Azeem A K, Mathew M, Nair C, et al. Hepatoprotective effect of Averrhoa carambola fruit extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice[J]. Asian Pac J Trop Med, 2010, 3(8): 610-61.

[11]郭子宁, 张立平, 陈丽如, 彭龙. 柴芪汤对非酒精性脂肪肝大鼠模型血清TNF- $\alpha$ 和IL-6表达的影响[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37 (07): 1341-1347.

[12]郑铁, 周微, 徐铁等, 李镛. 老鹳草水提取物对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 延边大学学报, 2009, 32 (03): 166-168.

[13]吕超, 石清兰, 覃倩, 周玲瑶, 周小博, 易鑫宇, 毛德文. 小鼠实验性肝损伤模型的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29 (01): 107-113.

[14]赵晶晶, 庄宝祥, 李如江. 小鼠胰腺石蜡切片制作程序优化与免疫荧光染色探索[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2019, 28 (04): 384-387.

[15]赵龙. 异甘草酸镁联合双环醇治疗化疗药物性肝损伤的临床效果分析[J]. 中国医药指南, 2020, 18 (04): 121-122.

[16]刘慧敏, 韩延忠, 郭玉明等. 六味五灵片对刀豆蛋白A诱导的小鼠急性免疫性肝损伤的保护作用研究[J]. 中国药理学通报, 2017, 33 (01): 133-140.

[17]李宝红, 李尽文, 欧阳贵锦, 等. 紫花前胡素对CCL<sub>4</sub>致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 山东化工, 2019, 48 (12): 95-98.