

# 胆红素和牛黄拮抗正己烷致小鼠脂质过氧化作用的初步研究

王天成<sup>1</sup>, 王振宇<sup>2</sup>, 沈惠麒<sup>3</sup>, 贾光<sup>3</sup>, 王翔<sup>3</sup>, 郇昌松<sup>4\*</sup>

(1. 北京大学第三医院检验科, 北京 100083; 2. 北京大学医学部校医院中医科, 北京 100083; 3. 北京大学医学部公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 北京 100083; 4. 深圳市宝安区疾病预防控制中心, 广东 深圳 518101)

**摘要:** 目的 探讨胆红素、牛黄和以牛黄为主药的中药组方对正己烷所致小鼠脂质过氧化损伤的拮抗作用。方法 30只CD小鼠随机分为5组, 每组6只, 分别为对照组、正己烷组和胆红素、牛黄、中药组方组, 后三组分别先给予胆红素(150 μmol/kg)、牛黄(25 mg/kg)、中药(含牛黄0.5 mg/ml, 50 ml/kg), 连续给药3天, 每天1次。第3天同时以正己烷16.5 g/kg体重一次经口染毒, 第4天脱髓处死, 计算脏器系数; 取血清并制备肝、脑组织匀浆, 测定总抗氧化能力(TAOC)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平。结果 正己烷染毒小鼠血清、肝、脑组织中TAOC水平和GSH-Px活性降低, MDA增高( $P < 0.05$ ); 分别以胆红素、牛黄和中药组方进行干预可以明显提高血清和组织中TAOC水平和改善GSH-Px活力, 降低MDA水平( $P < 0.05$ )。结论 正己烷引起的小鼠过氧化损伤, 可为胆红素或牛黄所拮抗, 含牛黄的中药组方效果似更明显。

**关键词:** 正己烷; 脂质过氧化; 胆红素; 牛黄; 中草药

中图分类号: R994.6 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)06-0356-03

## Primary study on antagonistic effect of bilirubin and bezoar against lipid peroxidation caused by *n*-hexane in mice

WANG Tian-cheng<sup>1</sup>, WANG Zhen-yu<sup>2</sup>, SHEN Hui-qi<sup>3</sup>, JIA Guang<sup>3</sup>, WANG Xiang<sup>3</sup>, XUN Chang-song<sup>4</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Peking University Third Hospital, Beijing 100083, China; 2. Department of Chinese Medicines, School Hospital of Peking University Health Science Center, Beijing 100083, China; 3. School of Public Health, Peking University Health Science Center, Beijing 100083, China; 4. Baoan Disease Control Center, Shenzhen 518101, China)

**Abstract: Objective** To study the antagonistic effect of bilirubin and Chinese traditional recipe with bezoar as main component against lipid peroxidation caused by *n*-hexane in mice. **Method** 30 CD mice were randomly divided into 5 groups (6 mice per group), i. e., control group, *n*-hexane group, bilirubin group, bezoar group and Chinese traditional recipe containing bezoar group; mice in bilirubin group, bezoar group and Chinese traditional recipe containing bezoar group were respectively given bilirubin (150 μmol/kg), bezoar (25 mg/kg) and Chinese traditional recipe (containing 0.5 mg/ml bezoar, 50 ml/kg) once a day for 3 days; at the third day, the *n*-hexane was orally given in a dose of 16.5 g/kg except for control group. The mice were killed at the fourth day and measured the total anti-peroxidation capacity (TAOC), malonaldehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels in sera, brains and livers of the mice. **Result** The TAOC and GSH-Px levels of serum, liver and brain in the mice of *n*-hexane group were obviously declined and the MDA levels were significantly higher than that of controls ( $P < 0.05$ ), while the drug intervention groups showed distinguished difference compared with *n*-hexane group, that all the TAOC and GSH-Px levels were increased and the MDA levels decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The results suggested that the oxygen free radical injure caused by *n*-hexane could be protected by bilirubin or bezoar in mice, and the Chinese traditional recipe seemed to have better protective effect.

**Key words:** *n*-hexane; Bilirubin; Bezoar; Lipid peroxidation; Chinese traditional herbs

正己烷是工业上常用的有机溶剂, 过量接触可引起中毒, 目前尚未发现有效的解毒药物。正己烷可以通过氧化应激作用造成机体损伤<sup>[1]</sup>, 而胆红素具有明

显的抗氧化作用<sup>[2]</sup>。本实验采用正己烷一次经口染毒, 应用胆红素、牛黄的抗氧化作用和中医药理论中牛黄解毒清心机理, 通过分析胆红素、牛黄和以牛黄为主药的中药组方对正己烷氧化损伤的影响, 探讨中药组方对正己烷毒性的拮抗作用, 为进一步研究开发用于正己烷接触工人解毒和保健的中药制剂积累资料。

收稿日期: 2004-09-03; 修回日期: 2004-09-28

基金项目: 深圳市科技局基金资助项目(编号: 200304262)

作者简介: 王天成(1959-), 男, 北京市人, 硕士, 副教授, 副主任医师, 研究方向: 临床化学; \*郇昌松(1967-), 课题负责人, 通讯作者, E-mail: cs\_tai@tom.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 实验动物、分组 动物 CD 小鼠 30 只 (由北京大学医学中心实验动物中心提供), 体重 (20±2) g。随机分为 5 组, 每组 6 只; 其中 3 组分别先以胆红素 (150 μmol/kg)、牛黄 (25 mg/kg)、中药组方 (组方药物制成煎剂, 含牛黄 0.5 mg/ml), 每天 1 次, 以 50 ml/kg 经口灌胃, 连续给药 3 天。第 3 天除对照组外均给予正己烷 16.5 g/kg 剂量一次经口染毒, 对照组给予生理盐水; 第 4 天脱髓处死, 游离肝、脑组织, 分别称重计算脏器系数。肝、脑组织的一部分用预冷生理盐水洗去浮血, 剔除脂肪及结缔组织, 滤纸吸干后在冰浴上剪成碎块, 制成 10% 的 5 mol/L 蔗糖-0.01 mol/L Tris 缓冲液匀浆, 匀浆液经 8 000 g 离心 30 min 后得组织上清液待分析; 另取血制备血清备用。

1.1.2 主要试剂和仪器 正己烷 (北京化工厂产品, 分析纯), 胆红素 (Sigma 公司产品, 分析纯), 牛黄 (北京同仁堂集团公司产品)。低温高速离心机 (德国 HERMLE), 751 型紫外分光光度计 (上海分析仪器厂)。

1.1.3 中药组方基本组成 该组方主要药物为牛黄、金银花、甘草等 (北京大学医学部校医院中药房提供)。

### 1.2 指标及方法

1.2.1 小鼠肝、脑脏器系数。血清和肝、脑组织总抗氧化能力 (TAOC)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行分析。

1.2.2 统计学处理 以 SPSS 8.0 软件进行一维方差分析。

## 2 结果

2.1 胆红素、牛黄、中药组方对正己烷染毒小鼠肝、脑脏器系数的影响 (见表 1)

表 1 胆红素、牛黄、中药组方对正己烷染毒小鼠肝、脑脏器系数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	肝脏器系数	脑脏器系数
对照组	0.0514±0.0154	0.0136±0.0047
正己烷组	0.0455±0.0224	0.0145±0.0035
正己烷+胆红素组	0.0587±0.0075	0.0186±0.0061
正己烷+牛黄组	0.0523±0.0045	0.0179±0.0032
正己烷+中药组方组	0.0401±0.0229	0.0160±0.0014

对照组、正己烷染毒组和胆红素、牛黄、中药组方干预组小鼠肝、脑脏器系数差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

以上数据表明正己烷急性染毒和胆红素、牛黄及中药组方的干预对小鼠肝、脑脏器系数无显著性影响。

2.2 胆红素、牛黄、中药组方对正己烷染毒小鼠血清和组织中 TAOC、MDA、GSH-Px 含量的影响 (见表 2~4)

表 2 胆红素、牛黄、中药组方对正己烷染毒小鼠血清中 TAOC、MDA、GSH-Px 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	TAOC (U/ml)	MDA (nmol/ml)	GSH-Px (U/ml)
对照组	8.04±0.77	2.88±1.13	36.88±12.55
正己烷组	6.57±2.51*	4.22±2.31*	11.56±3.55*
正己烷+胆红素组	9.91±4.15	3.70±0.84	16.56±7.74*
正己烷+牛黄组	9.21±1.19	3.87±0.91	25.36±17.42*#
正己烷+中药组方组	10.25±2.51	3.10±1.22	35.13±16.68*##

\*与对照组相比  $P < 0.05$ ; #与正己烷组相比  $P < 0.05$ ; ## $P < 0.01$

正己烷急性染毒小鼠血清 TAOC 和 GSH-Px 水平明显降低, MDA 水平明显升高; 胆红素、牛黄和中药组方干预均可使小鼠血清 TAOC 和 MDA 恢复正常水平, 胆红素、牛黄和中药组方干预组小鼠血清 GSH-Px 水平比正己烷组有明显提高, 但三药物组间差异无显著性。

表 3 胆红素、牛黄、中药组方对正己烷染毒小鼠肝组织中 TAOC、MDA、GSH-Px 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	TAOC (U/mg Pro)	MDA (nmol/mg Pro)	GSH-Px (U/mg Pro)
对照组	13.13±5.23	3.18±0.83	20.90±11.81
正己烷组	10.44±1.70*	7.21±3.27*	16.91±7.21*
正己烷+胆红素组	13.57±5.66	3.59±1.40#	21.11±15.89
正己烷+牛黄组	15.45±6.10	3.44±1.11#	25.50±15.31
正己烷+中药组方组	13.55±8.44	2.42±1.73#	30.28±13.59*#

\*与对照组相比  $P < 0.05$ ; #与正己烷组相比  $P < 0.05$

正己烷急性染毒小鼠肝组织中 TAOC 和 GSH-Px 水平与对照组相比有显著下降, MDA 水平显著升高 ( $P < 0.05$ ); 采用胆红素、牛黄和中药组方干预可使 TAOC 恢复到正常水平, 不同程度的提高 GSH-Px 活力; 其中以中药组方组对 MDA 水平的降低和 GSH-Px 升高比较明显, 但胆红素、牛黄和中药组方干预组间 GSH-Px 活性的升高差异无显著性。

正己烷急性染毒小鼠脑组织中 TAOC 水平降低, MDA 水平升高, 但与对照组相比差异无显著性; 采用胆红素、牛黄和中药组方干预可使脑组织中 MDA 水平明显降低; 正己烷急性染毒小鼠脑组织中 GSH-Px 活性比对照组有显著降低, 采用胆红素、牛黄和中药组方干预可使染毒小鼠脑组织中 GSH-Px 活性不同程度地回升, 其中以中药组方组比较明显, 但三个

干预组间差异无显著性。

表4 胆红素、牛黄、中药组方对正己烷染毒小鼠脑组织中TAOC、MDA、GSH-Px含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	TAOC (U/mg Pro)	MDA (nmol/mg Pro)	GSH-Px (U/mg Pro)
对照组	10.19±2.41	0.73±0.26	20.74±11.43
正己烷组	9.29±1.60	2.45±1.55	4.66±3.19*
正己烷+胆红素组	10.32±3.25	1.51±0.22#	6.29±4.01*
正己烷+牛黄组	10.64±3.92	1.29±0.13#	7.51±6.20*
正己烷+中药组方组	10.92±1.44	1.33±0.55#	11.17±4.18*#

\*与对照组相比  $P < 0.05$ ; #与正己烷组相比  $P < 0.05$ ; # #  $P < 0.01$

### 3 讨论

胆红素有很强的抗氧化作用,可明显抑制自由基生成和脂质过氧化<sup>[2]</sup>;由于胆红素能清除超氧阴离子自由基,所以在防御氧化毒性方面起着重要作用,是机体拮抗自由基氧化损伤的主要防御机制之一,对生物大分子和细胞膜结构、功能起保护作用,它是机体抵抗脂质过氧化、清除自由基的一种天然抗氧化剂<sup>[3,4]</sup>。

牛黄性凉味甘苦,具有解毒清心的功效而被广泛用于临床并取得了满意的疗效。牛黄的主要成分是胆红素;文献报道牛黄也具有明显的稳定自由基和抗氧化作用<sup>[5]</sup>,其机制可能与其所含的胆红素有关;由于牛黄约70%的成分是胆红素,因此在某种意义上牛黄的药用价值反映的就是胆红素的药用价值,故有“牛黄之贵,贵在胆红素”之说<sup>[6]</sup>。

正己烷为工业领域中广泛应用的一种有机溶剂,有明显肝和神经系统毒性<sup>[7]</sup>,目前已知正己烷急性中毒机制之一就是脂质过氧化损伤<sup>[1,8]</sup>。本实验结果显示急性正己烷染毒后小鼠肝、肾脏器系数虽无明显改变,但血清、肝、脑组织的MDA水平有明显升高,TAOC水平明显降低,以上结果表明急性正己烷染毒可导致小鼠抗氧化损伤能力受损,自由基清除能力下降,有明显的氧化损伤发生。采用胆红素、牛黄和以牛黄为主药的中药组方进行干预可使小鼠血清、肝和脑组织中TAOC恢复或接近正常水平,机体总抗氧化能力显著改善,抑制MDA的升高幅度,在一定程度上拮抗了正己烷所致的脂质过氧化损伤。以上结果提示胆红素、牛黄及中药组方可以通过抑制脂质过氧化反应来减轻急性正己烷染毒造成的组织损伤。

小鼠急性正己烷染毒后血清、肝和脑组织中GSH-Px活性均有所降低,提示机体抗氧化能力发生应激反应,这可能是因正己烷染毒引起的脂质过氧化水平增高对抗氧化物质的消耗使血清和组织抗氧化水

平下降所致<sup>[8]</sup>。以胆红素、牛黄和中药组方干预后小鼠血清、肝和脑中GSH-Px活性与正己烷组相比均有所恢复,表明胆红素、牛黄和中药组方可以增强小鼠的抗氧化能力。小鼠急性正己烷染毒后GSH-Px活性在脑、肝和血清三者中以脑GSH-Px下降最为明显,采用胆红素、牛黄和中药制剂干预后其恢复幅度也最低,我们推测这可能与胆红素不能通过血脑屏障进入脑组织以拮抗正己烷染毒诱导的过氧化反应有关。

以上结果表明胆红素、牛黄和以牛黄为主药的中药组方可通过抑制氧化应激反应减低正己烷染毒所产生的组织损伤;胆红素、牛黄和以牛黄为主药的中药制剂对正己烷诱发的氧化损伤毒性具有一定的保护作用。

本实验中牛黄组和中药组方组小鼠的牛黄用量为25 mg/kg,这主要是因我们在下一步进行的牛黄中药组方对正己烷作业工人保护作用研究中准备使用的中药组方其牛黄用量为1 g/剂中药,如将人体重按平均50 kg计算,其剂量约为20 mg/kg;虽然在一般动物实验中牛黄用量可高于人体,但为观察在此剂量范围牛黄对正己烷毒性的保护效应,本实验牛黄用量仍然采用了与人给药量大致相当的剂量。在下一步的实验中我们将继续观察不同剂量的牛黄对正己烷诱发氧化损伤的影响,并对中药组方的临床应用积累资料。

目前虽然我国涉含牛黄的中药方剂达数百种,但除零星报道外,其在职业中毒治疗方面应用的报道较少,本实验为中医药在正己烷毒性预防和治理方面的应用提供了初步的理论依据。

### 参考文献:

- [1] 沈其英, 刘录. 正己烷致大鼠脂质过氧化损伤的研究 [J]. 环境与健康杂志, 2001, 18 (2): 86-88.
- [2] 张金华, 沈惠麒. 胆红素拮抗二硝基苯所致氧化作用的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1998, 16 (3): 133-135.
- [3] 黎燕, 邵昌松, 杨青, 等. 胆红素对正己烷致体外周血淋巴细胞DNA损伤的拮抗作用 [J]. 中国工业医学杂志, 2004, 17 (3): 152-153, 163.
- [4] Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance [J]. Science, 1987, 235 (4792): 1043-1046.
- [5] 叶凤阁, 于庆海, 邵兰. 牛黄的抗脂质过氧化作用研究 [J]. 中国医药学报, 1998, 13 (2): 69.
- [6] 张能荣. 胆红素 [M]. 北京: 中国医药科学出版社, 1994.
- [7] 何家禧, 李来玉, 黄先青, 等. 深圳市正己烷职业危害状况调查 [J]. 中国职业医学, 2000, 27 (5): 50-51.
- [8] Masotto G, Bisiani C, Camisasca C, et al. Effects of acute n-hexane and 2, 5-hexane treatment on the striatal dopaminergic system in mice [J]. J Neural Transm Suppl, 1995, 45: 281-285.