

葛根素对大鼠急性乙醇中毒性肝损伤的保护作用

杜艳秋, 赵敏

(中国医科大学附属盛京医院, 辽宁 沈阳 110004)

摘要: 目的 研究急性乙醇中毒对大鼠肝功能及组织病理学的影响及葛根素的保护作用。方法 Wistar大鼠分为对照组、模型组、葛根素组; 染毒 5 d后, 检测各组血清及肝组织匀浆 GST、MDA含量, 并于普通光镜及电镜下观察肝组织病理学改变。结果 模型组大鼠营养状态差, 肝组织出现水肿、脂变、局灶性坏死, 肝糖原减少、线粒体增大畸形及嵴断裂, 细胞器明显减少; 血清 MDA、GST水平分别为 $(9.60 \pm 2.99) \text{ nmol/ml}$ $(33.17 \pm 9.79) \text{ U/ml}$, 肝组织匀浆 MDA、GST水平分别为 $(5.87 \pm 2.09) \text{ nmol/mg protein}$ $(75.47 \pm 11.44) \text{ U/mg protein}$, 均较对照组显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 葛根素组大鼠营养状态尚可, 肝组织损伤较模型组明显减轻, 血清 MDA、GST水平分别为 $(6.63 \pm 1.96) \text{ nmol/ml}$ $(23.69 \pm 5.40) \text{ U/ml}$, 肝组织匀浆 MDA、GST水平分别为 $(3.85 \pm 1.13) \text{ nmol/mg protein}$ $(64.80 \pm 6.11) \text{ U/mg protein}$, 均较模型组明显降低 ($P < 0.05$)。结论 急性乙醇中毒可致大鼠肝功能异常, 并引起急性肝病理学改变; 葛根素可通过拮抗脂质过氧化等机制对急性乙醇中毒所致肝损伤起到一定保护作用。

关键词: 急性乙醇中毒; 葛根素; 肝损伤; 谷胱甘肽-S转移酶 (GST); 丙二醛 (MDA)

中图分类号: R575 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2011)01-0009-03

Protective effect of puerarin on experimental acute alcoholic liver injury

DU Yan-qiu ZHAO Min

(Affiliated Second Hospital of Chinese Medical University, Shenyang 110004, China)

Abstract: Objective To investigate the influence of acute alcohol poisoning on liver function and pathology of rat and the protective effect of Puerarin. Methods Healthy Wistar rats were divided into three groups: control group, alcohol poisoning (model) group, puerarin treatment group. Taking the blood and liver samples of all the animals at the 5th day after administration, measuring the levels of GST, MDA in serum and liver homogenate, then the liver samples were pathologically examined. Results The results showed that the rats in model group were in poor nutritional status, there were cloudy swelling, lipid degeneration, local necrosis and glycogen and organelles reduced, mitochondria swelling and cristae rupture could be observed in hepatic cells, the serum levels of MDA, GST were $(9.60 \pm 2.99) \text{ nmol/ml}$ and $(33.17 \pm 9.79) \text{ U/ml}$ respectively, which in hepatic tissue were $(5.87 \pm 2.09) \text{ nmol/mg protein}$ and $(75.47 \pm 11.44) \text{ U/mg protein}$ respectively, both were significantly increased as compared with those of control group ($P < 0.05$ for MDA and $P < 0.01$ for GST). While the damages were all relieved in puerarin group, that the serum levels of MDA and GST were $(6.63 \pm 1.96) \text{ nmol/ml}$ and $(23.69 \pm 5.40) \text{ U/ml}$ respectively, and those in hepatic tissue homogenates were $(3.85 \pm 1.13) \text{ nmol/mg protein}$ and $(64.80 \pm 6.11) \text{ U/mg protein}$ respectively, both were significantly decreased than that in model group ($P < 0.05$). Conclusion It was suggested that acute alcohol poisoning might induce hepatic dysfunction and pathological changes in rats, while puerarin could play a protective role by inhibiting the oxidative stress induced by acute alcoholism.

Key words: acute alcohol poisoning; puerarin; hepatic injury; glutathione S-transferase (GST); malondialdehyde (MDA)

近年来, 乙醇中毒及饮酒导致的疾病呈现迅速上升趋势。急性乙醇中毒是临床常见的急重症, 其对肝脏损伤较为常见。为了解其对肝脏的影响及葛根素的保护作用, 我们进行了以下实验。

1 材料与方法

收稿日期: 2010-05-11; 修回日期: 2010-07-06

基金项目: 沈阳市科学技术计划项目——葛根素对大鼠急性酒精中毒时解毒作用机制的实验研究 (项目编号: 1063244-3-00)

作者简介: 杜艳秋 (1971-), 女, 副主任医师, 在读博士, 研究方向: 中毒发病机制及救治。

通讯作者: 赵敏, E-mail: minzhaog@sjia.com

1.1 材料

1.1.1 药物 无水乙醇; 葛根素注射液, 浙江康恩贝制药股份有限公司生产; 谷胱甘肽-S转移酶 (glutathione S-transferase, GST) 试剂盒, 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所。

1.1.2 动物 健康成年 Wistar 大鼠 24 只, 雌雄各半, 体重 150 ~ 200 g, 中国医科大学实验动物部提供。

1.1.3 实验仪器 分光光度计 (Beckman DU

640) 光学显微镜 (日本, OLYMPUS), 透射式电子显微镜 (日本, HITACHI H-600-4)。

1.2 分组及实验方法

将大鼠随机分为 3 组, 每组 8 只。模型组: 参照赵静波^[1]等酒精性肝损伤模型方法, 改 40%乙醇 8.0 g/(kg·d), 连续 5 d 灌胃, 制成急性乙醇中毒肝损伤模型; 葛根素组: 乙醇灌胃前予葛根素 200 mg/(kg·d) 腹腔注射; 对照组: 予生理盐水腹腔注射和灌胃。各组最后一次灌胃 2 h 后取血, 迅速留取肝组织。检测血清及肝组织匀浆 GST、MDA 含量。肝组织予固定、包埋、切片, 普通光学显微镜及透射电镜下观察病理学改变。

1.3 统计学处理

测定数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 检验分析相关数据之间的差异性, $P < 0.05$ 差异有统计学意义, $P < 0.01$ 差

异有非常显著性。

2 结果

2.1 一般情况

对照组大鼠鼠毛有光泽, 反应敏捷, 营养状态良好; 模型组大鼠毛色晦暗, 萎靡, 略为瘦弱; 葛根素组大鼠比模型组毛色略好, 反应较快, 营养状态尚可。对照组及葛根素组大鼠在第 3 天及第 5 天灌胃时误呛入肺各死亡 1 只。

2.2 急性乙醇中毒对大鼠血清及肝组织匀浆 GST、MDA 的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清及肝组织匀浆 GST、MDA 水平显著升高 ($P < 0.05$); 葛根素组较模型组 GST、MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$)。各组 GST、MDA 水平及统计学参数见表 1。

表 1 各组大鼠 GST 及 MDA 水平 ($\bar{x} \pm s$)

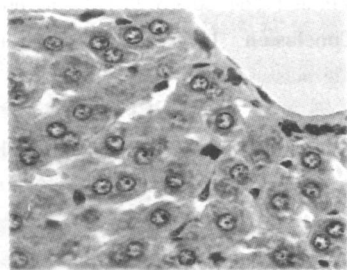
组别	血清		肝组织匀浆	
	MDA (nmol/ml)	GST (U/ml)	MDA (nmol/mg prot)	GST (U/mg prot)
对照组 (7 只)	6.06 ± 2.40	20.56 ± 5.11	3.62 ± 1.11	58.43 ± 9.23
模型组 (8 只)	9.60 ± 2.99*	33.17 ± 9.79**	5.87 ± 2.09*	75.47 ± 11.44**
葛根素组 (7 只)	6.63 ± 1.96#	23.69 ± 5.40#	3.85 ± 1.13#	64.80 ± 6.11#

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

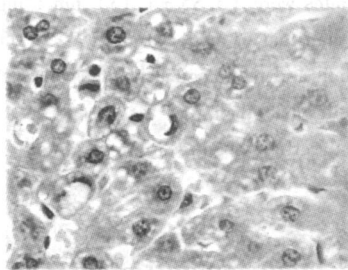
2.3 急性乙醇中毒大鼠肝组织病理学改变

2.3.1 光镜改变 对照组肝小叶清晰, 界板整齐, 肝索呈放射状排列, 肝窦正常, 胞浆丰富, 粉红色, 胞核结构清晰, 中央静脉居中。模型组肝小叶结构不清, 肝索紊乱, 肝窦僵硬, 肝细胞弥漫性脂肪变性、

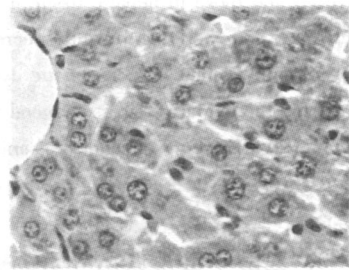
浊肿并气球样变, 可见局灶性坏死。葛根素组肝小叶结构尚清, 肝细胞索排列成放射状, 基本整齐, 肝窦基本正常, 肝细胞浊肿明显减轻, 可见少量脂滴。见图 1。



对照组
肝小叶清晰, 肝索呈放射状排列, 胞浆丰富, 粉红色, 中央静脉居中



模型组
肝小叶结构不清, 肝索紊乱, 肝细胞弥漫脂肪变性, 可见印戒细胞

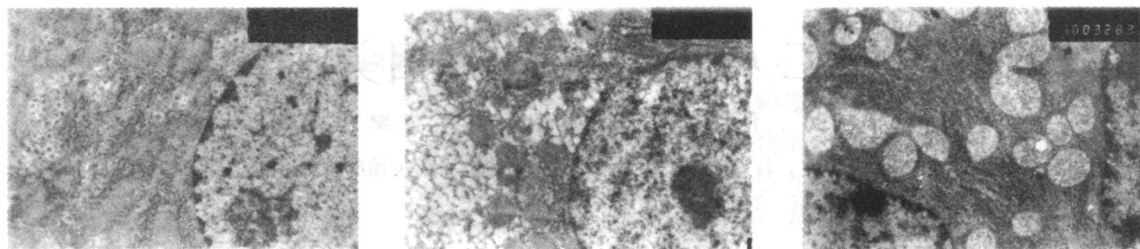


葛根素组
肝小叶结构尚清, 肝细胞索排列基本整齐, 肝细胞水肿、脂变明显减轻

图 1 光镜下各组大鼠肝组织的病理变化 (HE, 400×)

2.3.2 电镜改变 正常对照组肝细胞基本正常, 肝细胞胞核为常染色质, 有 1~2 个核仁, 糖原颗粒丰富。模型组可见胞浆内脂变, 内质网扩张, 糖原减少, 线粒体增大畸形、嵴断裂, 细胞核电子密

度增强, 异染色质呈团块状集聚在核的周边, 胞质内细胞器明显减少, 出现空泡样改变。葛根素组肝细胞有少许脂滴, 少数线粒体肿胀, 糖原略减少。见图 2。



对照组

肝细胞核膜清晰, 胞核为常染色质, 糖原颗粒丰富

模型组

胞浆内大量脂滴, 糖原颗粒减少, 胞质内细胞器减少

葛根素组

内质网丰富, 糖原略减少, 部分线粒体肿胀

图 2 电镜下各组大鼠肝组织的病理变化 (HE 10000×)

3 讨论

酒精性肝病是临床常见疾病, 其发生机制与炎症细胞因子的作用、活性氧自由基损害、乙醛的毒性作用等有关^[2], 急性乙醇中毒可导致肝脏相关酶类的改变, 造成肝脏损伤^[3]。GSI对反映肝损伤具有较好的敏感性和特异性, 是反映急性肝细胞损伤、肝细胞坏死的最敏感指标, 敏感性优于 $AST^{[4]}$; MDA是脂质过氧化反应的终产物, 可反映体内自由基脂质过氧化的程度, MDA的含量反映细胞受自由基攻击的程度。本实验结果显示, 急性乙醇中毒可致大鼠肝组织损伤, 肝细胞浊肿、脂肪变性、局灶性坏死, 内质网扩张, 糖原减少, 线粒体增大畸形、嵴断裂, 细胞器明显减少等组织病理学改变; 血清及肝组织 GST、MDA升高, 表明乙醇中毒可致肝脏氧化代谢的改变, 线粒体等细胞器功能障碍, 能量代谢障碍, 引起细胞质膜破坏, 肝细胞变性、坏死, 导致肝损伤。葛根素是葛根的主要有效成分之一, 化学名称为 8-β-D葡萄糖吡喃糖-4',7-二羟基异黄酮, 目前多用于治疗高血压、心脑血管病等疾病。有报道葛根素对乙醇中毒小鼠自由基损伤有明显的拮抗作用^[5], 可降低乙醇性肝损伤大鼠血清转氨酶, 有抗肝纤维化作用^[6,7], 对乙醇性肝细胞损伤有保护作用^[8,9], 临床已试用于治疗急、慢性乙醇中毒^[10,11]。本实验结果显示经葛根素预处理后, 大鼠肝组织有明显改善, 肝细胞脂变及水肿明显减轻, 无局灶性坏死, 细胞器损害减轻, 大鼠血清及肝组织匀浆 GST、MDA水平较模型组显著降低, 从而提示葛根素可减轻乙醇中毒大鼠肝组织病

理学损伤, 改善肝功能, 与其抗自由基损伤, 减轻脂质过氧化对肝细胞的损害有关。

参考文献:

- [1] 赵静波, 王泰玲, 张晶, 等. 大鼠急性酒精性肝损伤模型分析 [J]. 中日友好医院学报, 1996 10 (1): 17
- [2] 李灏, 姜颖, 贺福初. 乙醇肝毒性及治疗的研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2008 22 (5): 396-400
- [3] 殷文波, 程英, 程惠珍. 乙醇性肝损伤患者血清酶及血脂分析 [J]. 齐鲁医学杂志, 2004 15 (1): 46
- [4] 俸家富. 肝功能相关的血清酶学研究进展 [J]. 医学综述, 2007 13 (3): 225-231
- [5] 顾呈华, 刘协. 葛根素对酒精诱发小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 江苏预防医学, 2006 17 (3): 69-70
- [6] Zhang S, Ji G, Liu J. Reversal of chemical induced liver fibrosis in Wistar rats by puerarin [J]. J Nutr Biochem, 2006 17 (7): 485-491
- [7] 卢雯雯, 陈玖, 吴国琳. 葛根素对酒精性肝损伤大鼠血清转氨酶及肝纤维化指标的影响 [J]. 浙江中医杂志, 2008 43 (1): 7
- [8] Singh AK, Jiang Y, Benhabib E, et al. Herbal mixtures consisting of puerarin and either polyenylphosphatidylcholine or curcumin provide comprehensive protection against alcohol-related disorders in P rats receiving free choice water and 15% ethanol in pure water [J]. J Med Food, 2007 10 (3): 526-542
- [9] 曲智威, 温春阳, 王爱平, 等. 葛根素对大鼠酒精性肝炎的影响及其机制 [J]. 世界华人消化杂志, 2009 17 (7): 657-661
- [10] 张兆志, 李广琪, 王利红, 等. 葛根素治疗急性重度酒精中毒患者的临床疗效 [J]. 中华急诊医学杂志, 2007 16 (3): 320-321
- [11] 孙霞. 葛根素治疗慢性酒精中毒 68 例疗效观察 [J]. 临沂医学专科学校学报, 2005 27 (4): 291-292

欢迎投稿、订阅、发布广告