

舒肝宁注射液对顺铂中毒小鼠肝脏损伤的保护作用

张 瑾*(中国医学科学院肿瘤医院临床前药理中心,北京 100002)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0920-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.17

摘要 目的:观察舒肝宁注射液对顺铂中毒小鼠肝脏损伤的保护作用。方法:将100只小鼠随机分正常对照(生理盐水)组、模型组和舒肝宁注射液高、中、低剂量[41.5、20.8、10.4 g(生药)/kg]组,每组20只。除正常对照组外,其余各组小鼠于每周一、周四ip顺铂(3 mg/kg)复制顺铂中毒模型,并同时于每周一至周五ip相应药物,每天1次,连续10周。测定各组小鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活性和白蛋白(ALB)、总蛋白、球蛋白含量及总蛋白/球蛋白(A/G)比值,计算肝脏指数并观察肝脏组织形态。结果:与正常对照组比较,模型组小鼠血清中AST活性升高,ALB、球蛋白含量增加,A/G值升高($P<0.01$),肝组织中多见肝索界限不清、肝细胞浊肿、胞浆疏松化,肝细胞明显嗜酸性病变。与模型组比较,舒肝宁注射液低、高剂量组小鼠血清中ALB含量减少、球蛋白含量增加、A/G值升高,且舒肝宁注射液高剂量组小鼠血清中AST活性降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),肝组织病理形态改善。结论:舒肝宁注射液对顺铂所致小鼠肝脏损伤有一定的保护作用。

关键词 舒肝宁注射液;肝损伤;顺铂;血清;生化指标;小鼠

Protective Effect of Shuganning Injection against Liver Injury Induced by Cisplatin in Mice

ZHANG Jin (Preclinical Medical Center, Cancer Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the protective effect of Shuganning injection against liver injury induced by cisplatin in mice. METHODS: 100 mice were randomized into normal control group (normal saline), model group, Shuganning injection high-dose, medium-dose and low-dose groups [41.5, 20.8, 10.4 g (crude drug)/kg] with 20 mice in each group. Except normal control group, other groups were given cisplatin 3 mg/kg, ip, on Monday and Thursday to induce cisplatin toxicosis model; at the same time, they were given relevant medicines from Monday to Friday by intraperitoneal injection, once a day for consecutive 10 weeks. The activities of ALT and AST, the contents of albumin, total protein and globin in serum, total protein/globin (A/G) were determined, and hepatic index was calculated and hepatic histomorphology was observed. RESULTS: Compared with normal control group, the activity of AST, the contents of ALB and globin in serum and A/G all increased in model group ($P<0.01$), unclear hepatic cords range, hepatocellular albuminoid degeneration and endochylema puffing were common and obvious acidophilic change was found in hepatic tissue. Compared with model group, the serum content of ALB decreased in Shuganning injection low-dose and high-dose groups, while globin content and A/G increased; and the activity of AST in serum decreased in Shuganning high-dose group ($P<0.05$ or $P<0.01$), and pathological state of hepatic tissue was improved. CONCLUSIONS: Shuganning injection possesses a protective effect on cisplatin-induced liver injury in mice.

KEYWORDS Shuganning injection; Liver injury; Cisplatin; Serum; Biochemical indicator; Mice

舒肝宁注射液是一种用于治疗病毒性肝炎的纯中药复方注射剂,由茵陈、栀子、板蓝根和灵芝等提取物以及黄芩苷等植物精制单体成分组合构成,在药物配伍中除了注重清热解毒、利湿退黄的基本功效外,还着重体现保肝护肝、扶正祛邪、标本兼治的中医肝病防治理念。其提取物中含有多种生物活性物质,在抑制病毒复制、调节机体免疫、抑制肝纤维化、改善肝细胞功能等方面具有确切的药理作用^[1-3]。其除了对病毒性因素所致的肝损害有着确切治疗作用以外,还对药物性等非病毒性因素所致的肝损害具有治疗和缓解作用,体现了中药治疗肝病“寓补肝于清热中、置护肝于解毒内”的辨证施治精髓,是国家中药现代化理念推进过程中诞生的新一代治肝保肝药物。

顺铂是目前临床常用的细胞周期非特异性抗肿瘤药物,但在抑制癌细胞的同时也会对机体产生剂量依赖性的毒副作用,如造成骨髓抑制^[4]、消化道黏膜损伤^[5]、腹泻^[6]和肝肾损伤等^[7-9]。在本实验中,笔者旨在验证舒肝宁注射液对顺铂所致

小鼠肝脏毒性的保护作用,为顺铂所致肝脏毒副作用的临床防治提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

7600型全自动生化分析仪(日本日立工业株式会社);电子秤(湘仪天平仪器厂)。

1.2 药品与试剂

注射用顺铂(齐鲁制药有限公司,批号:8030022DB,规格:10 mg/支);舒肝宁注射液(贵州瑞和制药有限公司,批号:200803071,规格:20.74 g:10 ml)。

1.3 动物

昆明小鼠,100只,♂♀各半,体质量20~22 g,购自中国医学科学院实验动物研究所繁育场[动物合格证号:SCXK(京)2004-0001]。

2 方法

2.1 动物分组、造模与给药

小鼠适应性饲养观察3 d,确认体征无异常后按体质量随机分为5组,分别为正常对照组、模型组和舒肝宁注射液高、

*教授,硕士。研究方向:临床前药理学。电话:0851-8517926。
E-mail:458590751@qq.com

中、低剂量[41.5、20.8、10.4 g (生药)/kg]组(给药剂量根据前期急性毒性实验而定),每组20只。除正常对照组外,其余各组小鼠均于每周周一、周四ip顺铂(3 mg/kg)复制顺铂中毒模型,同时每周一至周五ig相应量舒肝宁注射液,每天1次,连续10周,记录各组小鼠体质量和料块消耗量。

2.2 各组小鼠血清生化指标的检测

给药结束后的第2天,每组随机选取10只小鼠(♂♀各半),称定体质量后ip 10%水合氯醛(4 ml/kg)麻醉,眼眶采血,生化法检测血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活性和白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)、球蛋白(GLO)含量以及ALB/GLO(A/G)值。

2.3 各组小鼠肝脏指数的检测

待“2.1”项下取血完成后,处死小鼠取肝脏,剔除多余脂肪组织和结缔组织,用滤纸吸干组织表面水分,立即称取肝脏质量并计算肝脏指数:肝脏指数=肝脏质量(mg)/体质量(g)×100%。

2.4 各组小鼠肝脏组织形态观察

取肝脏组织,生理盐水冲洗后置于10%中性福尔马林溶液中固定12~24 h,乙醇梯度脱水,常规石蜡包埋、切片,苏木精-伊红(HE)染色,中性树脂封片,于200倍光镜下拍摄图像。

2.5 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠体质量和料块消耗量检测结果

随着实验时间的延长,正常对照组小鼠平均体质量持续上升,其余各组小鼠平均体质量维持相对稳定状态(见图1A)。随着顺铂给药时间延长,模型组小鼠平均料块消耗量明显减少,顺铂给药6周后,小鼠平均料块消耗减少更为明显;舒肝宁注射液各剂量组小鼠体质量和料块消耗量较模型组均有增加的趋势;随着实验时间的延长,正常对照组小鼠平均料块消耗无显著变化(见图1B)。

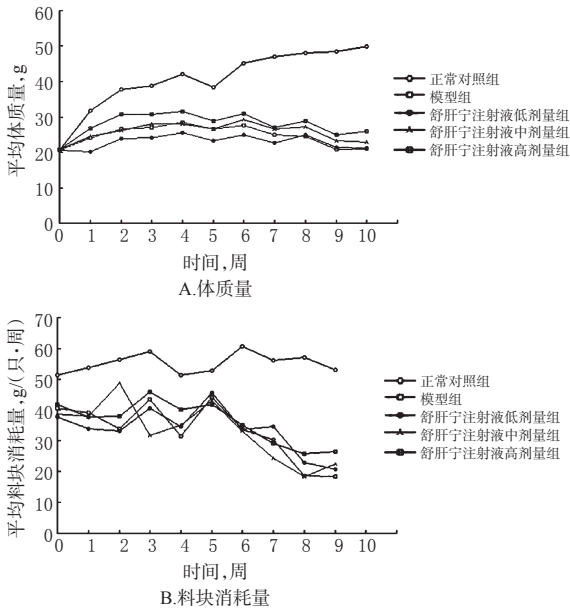


图1 各组小鼠体质量和料块消耗量的检测结果

Fig 1 Determination result of body weight and food consumption of mice in each group

3.2 各组小鼠血清生化指标检测结果

与正常对照组比较,模型组小鼠血清中AST活性及A/G

值升高,ALB含量增加,GLO含量减少($P < 0.01$);与模型组比较,舒肝宁注射液低、高剂量组小鼠血清中ALB含量减少,GLO含量增加,A/G值降低,且舒肝宁注射液高剂量组小鼠血清中AST活性降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组小鼠血清生化指标检测结果见表1。

表1 各组小鼠血清生化指标检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Determination results of biochemical markers in serum of mice in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	ALT,U/L	AST,U/L	TP,g/L	ALB,g/L	GLO,g/L	A/G
正常对照组	41.9±12.1	89.9±14.9	60.1±3.2	32.2±4.4	27.9±3.6	1.2±0.3
模型组	39.5±9.0	125.7±34.9*	62.5±6.2	41.1±5.4*	21.4±3.7*	1.9±0.4*
舒肝宁注射液低剂量组	37.9±6.4	118.7±18.1	63.6±1.9	36.8±4.1#	26.7±4.8##	1.4±0.4##
舒肝宁注射液中剂量组	42.8±15.3	116.5±23.0	62.9±4.1	39.1±4.5	23.8±4.9	1.7±0.5
舒肝宁注射液高剂量组	41.3±15.1	100.2±21.6*	61.4±3.7	35.1±3.1##	26.3±4.8##	1.4±0.4##

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

Note: vs. normal control group,* $P < 0.01$; vs. model group,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

3.3 各组小鼠肝脏指数检测结果

与正常对照组比较,模型组小鼠肝脏指数有所降低,但差异无统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,舒肝宁注射液各剂量组小鼠肝脏指数无明显变化($P > 0.05$)。各组小鼠肝脏指数检测结果见表2。

表2 各组小鼠肝脏指数检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Determination result of liver indexes of mice in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	肝脏指数,%
正常对照组	44.9±18.1
模型组	43.4±18.1
舒肝宁注射液低剂量组	44.0±14.2
舒肝宁注射液中剂量组	43.1±19.6
舒肝宁注射液高剂量组	46.4±19.4

3.4 各组小鼠肝脏组织病理形态观察结果

与正常对照组比较,模型组、舒肝宁注射液低、中剂量组小鼠肝脏组织中多见肝索界限不清、肝细胞浊肿、胞浆疏松化,肝细胞明显嗜酸性病变;舒肝宁注射液高剂量组小鼠肝组织中央静脉及周围肝细胞结构大致正常,接近正常对照组。各组小鼠肝脏组织病理形态观察结果见图2。

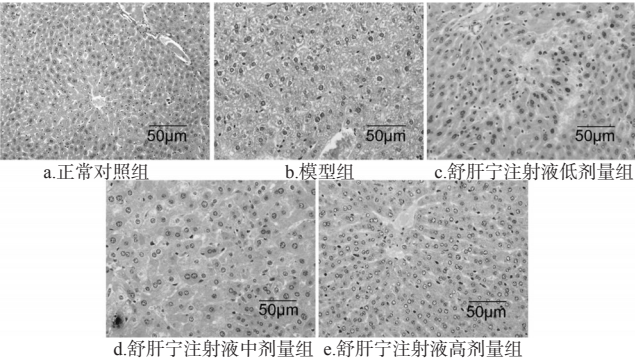


图2 各组小鼠肝脏组织病理形态学观察结果(HE,×200)

Fig 2 Pathomorphological observation of liver tissue in mice in each group(HE,×200)

4 讨论

临床研究表明,舒肝宁注射液联合用药可显著改善药物诱导的肝损伤、病毒性肝炎、肝硬化、肝衰竭,具有良好的保肝

作用^[10-11]。动物实验也证明,舒肝宁注射液能明显改善模型动物肝脏组织的病理性变化^[12]。本研究结果显示,ip 顺铂造成小鼠肝损伤模型后小鼠血清中AST活性、A/G值升高,ALB含量增加,GLO含量明显减少;肝脏组织可见肝细胞浊肿、胞浆疏松化和肝细胞嗜酸性病变。高剂量舒肝宁注射液能显著改善顺铂诱导的肝脏损伤。

ALT主要分布在肝细胞浆,AST主要分布在肝细胞的线粒体中^[13],二者也存在于其他组织细胞中。若肝细胞受损,则会导致血清中ALT和AST活性升高,且升高程度与肝细胞受损程度呈正相关,是目前最常用的肝功能指标。ALT升高提示急性肝细胞损伤,而慢性肝损伤时AST升高更明显。舒肝宁注射液各剂量组及模型组与正常对照组比较,ALT差异无统计学意义;而AST显著升高,尤其是模型组小鼠血清中AST含量增加最为明显。这表明顺铂在所用剂量与疗程下对小鼠肝脏产生一定的慢性损伤,给予舒肝宁注射液后损伤程度得到减轻。

TP是ALB和GLO之和,其临床意义决定于ALB和GLO的变化。急性或局灶性肝损伤时,血清中TP、ALB、GLO含量及A/G值多为正常,严重肝损伤时多伴有血清中ALB含量减少和GLO含量增加。在本实验结果中,与正常对照组比较,模型组小鼠血清中ALB含量增加而GLO含量减少,提示小鼠肝损伤可能未达到某种程度,同时有可能是化疗药自身所产生的副作用引起的食欲减退、恶心呕吐造成脱水 and 血液浓缩导致的ALB含量增加;与模型组比较,舒肝宁低、高剂量组小鼠血清中ALB、GLO含量及A/G值显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),然而舒肝宁中剂量组上述指标差异无统计学意义($P > 0.05$),其原因可能与动物体质、免疫等因素有关。而免疫功能抑制表现为血清中GLO含量减少。舒肝宁注射液对顺铂的毒副作用有所缓解,小鼠体质量动态和料块消耗的结果也支持这一结论。体质量的变化反映了动物体质的变化。料块消耗包括动物的食物摄入量和料块的损耗量,摄入量直接反映动物的食欲,而损耗量则通过动物的嗜嗜欲和活动能力间接反映其食欲和健康状况。本实验结果显示,舒肝宁注射液各剂量组小鼠体质量和料块消耗量较模型组均有增加的趋势。

肝脏指数通过肝脏相对于体质量的单位质量,反映出造模对动物肝脏的影响^[14]。模型组及舒肝宁注射液各剂量组的肝脏指数与正常对照组比较,差异均无统计学意义。然而,对肝脏组织HE染色结果发现,与正常对照组相比,模型组小鼠肝脏组织多见肝索界限不清、肝细胞浊肿、胞浆疏松化,肝细胞明显嗜酸性病变;舒肝宁注射液高剂量作用后小鼠肝脏组织中央静脉及周围肝细胞结构趋于正常。

综上,舒肝宁注射液能有效改善顺铂诱导的肝功能紊乱和肝脏组织病变,为其在顺铂所致肝脏毒副作用的临床防治中的应用提供了实验依据。

参考文献

[1] 陈明泉,李谦,张琼华,等.舒肝宁注射液治疗急慢性病毒性肝炎的临床疗效观察[J].肝脏,2007,12(3):194.

- [2] 王岩,黎有东.舒肝宁注射液治疗新生儿高胆红素血症72例[J].临床医学,2009,29(7):68.
- [3] 徐晓峰,郭君荣.舒肝宁注射液治疗慢性乙肝56例疗效观察[J].中国伤残医学,2014,22(11):157.
- [4] Rjiba-Touati K, Ayed-Boussema I, Skhiri H, et al. Induction of DNA fragmentation, chromosome aberrations and micronuclei by cisplatin in rat bone-marrow cells: protective effect of recombinant human erythropoietin[J]. *Mutat Res*, 2012, 747(2):202.
- [5] Rebillard A, Rioux-Leclercq N, Muller C, et al. Acid sphingomyelinase deficiency protects from cisplatin-induced gastrointestinal damage[J]. *Oncogene*, 2008, 27(51):6 590.
- [6] Ohno T, Kato S, Wakatsuki M, et al. Incidence and temporal pattern of anorexia, diarrhea, weight loss, and leukopenia in patients with cervical cancer treated with concurrent radiation therapy and weekly cisplatin: comparison with radiation therapy alone[J]. *Gynecol Oncol*, 2006, 103(1):94.
- [7] Tikoo K, Ali IY, Gupta J, et al. 5-Azacytidine prevents cisplatin induced nephrotoxicity and potentiates anticancer activity of cisplatin by involving inhibition of metallothionein, pAKT and DNMT1 expression in chemical induced cancer rats[J]. *Toxicol Lett*, 2009, 191(2/3):158.
- [8] Norrgren K, Sjolín M, Björkman S, et al. Comparative renal, hepatic, and bone marrow toxicity of Cisplatin and radioactive Cisplatin (191Pt) in Wistar rats[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2006, 21(5):528.
- [9] 朱永辉,邓维成,何永康,等.舒肝宁注射液对晚期血吸虫病肝纤维化患者血清转化生长因子 $\beta 1$ 、 γ -干扰素水平的影响[J].中国老年学杂志,2012,32(8):1 592.
- [10] 张泽敏,袁成江,李一鸣.舒肝宁联合多烯磷脂酰胆碱治疗药物性肝损害疗效观察[J].黑龙江医学,2014,38(6):685.
- [11] 张斌,赵巍,王立蓉.舒肝宁注射液对慢性乙型病毒性肝炎高胆红素血症患者肝功能及胆红素的影响[J].中医药导报,2014,20(16):71.
- [12] 赵璐,曾南,刘晓帅,等.舒肝宁注射液对小鼠实验性肝损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2007,23(6):65.
- [13] 孙蓉,杨倩,黄伟,等.肝功能相关指标在中药肝毒性损伤中作用于毒性相关程度分析[J].中药药理与临床,2008,24(6):82.
- [14] 向丽华,陈燕萍,张智,等.24味有毒中药长期毒性实验对小鼠脏器指数的影响[J].中国中医基础医学杂志,2006,12(1):35.

(收稿日期:2015-08-26 修回日期:2015-12-28)

(编辑:林 静)

《中国药房》杂志——RCCSE 中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅