

由肝脏产生的一种急性期蛋白, 由脂肪细胞分泌的细胞因子 IL-6 和 TNF- α 是刺激肝脏合成 CRP 的主要细胞因子^[13-14]。所以蜂胶降低血清 CRP 水平可能是通过降低 IL-6 及 TNF- α 等来实现的。

Leinonen 等^[15]通过试验证明 2 型糖尿病患者的 CRP、IL-6 等炎症因子水平较正常对照组明显升高。2002 年, Freeman 等^[16]提出, 在中年男性中 CRP 是独立于糖尿病其它危险因素的预测糖尿病发生的物质。本实验中, 模型组伴随 IL-6、TNF- α 、CRP 水平显著升高, 而各治疗组血清中的炎症因子水平与模型组比较均显著降低。提示蜂胶可能是通过降低血清中一系列炎症因子的水平, 从而达到降低血糖的目的, 炎性标志物能够预测 2 型糖尿病的发生。

2 型糖尿病的发病机制在国际上一直存在较多争议, 炎症因子在其中的所占比例尚不清楚, 控制了炎症因子是否就可以预防糖尿病的发生还有待于大规模的临床研究。

REFERENCES

- [1] HU F B, MEIGS J B, LI T Y. Inflammatory markers and risks of developing type 2 diabetes in women [J]. Diabetes, 2004, 53(3): 693-700.
- [2] SUN F, PENG J R, SUN B L. C-reactive protein change with type 2 diabetes complications [J]. J Microcirc(微循环学杂志), 2004, 14(3): 92.
- [3] CHEN H L, XIE Z D, LEI M X, et al. Plasma TNF- α levels and insulin resistance in the patients with type 2 diabetes [J]. J Chin Phys(中国医师杂志), 2003, 5(10): 1358-1359.
- [4] KLEBANOVA E M, BALABOLKIN M I, KREMSKAIA V M. The role of the fat tissue and its hormones in the mechanisms of insulin resistance and the development of type 2 diabetes mellitus [J]. Klin Med, 2007, 85(7): 20-27.
- [5] DU Z H, CHEN J G. Diabetes mellitus drug therapy [J]. China Pharm(中国药师), 2008, 11(7): 782-787.
- [6] WU X X. Propolis on sugar metabolism regulating mechanism and clinical application [J]. China Mod Doctor(中国现代医生), 2009, 47(28): 18-19.
- [7] SHI H, LIN Y, YU W Z, et al. Experimental study of dendrobium compound(DC) on relieving the insulin resistance(IR) in model rats [J]. J Fujian Coll Tradit Chin Med(福建中医学院学报), 2004, 14(6): 24-27.
- [8] LI Y J, HU F L, CHEN M L. Advances in studies on regulation effects and mechanisms of propolis on glycometabolism and lipid metabolism [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2007, 38(10): 1593-1596.
- [9] SPRANGER J, KROKE A, MOHLIG M, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective populationbased European prospective investigation into cancer(EPIC) and nutrition potsdam study [J]. Diabetes, 2003, 52(3): 812-817.
- [10] STEER S A, SCARIM A L, CHAMBERS K T, et al. Interleukin-1 stimulates beta-cell necrosis and release of the immunological adjuvant HMGB1 [J]. PLoS Med, 2006, 3(2): 17.
- [11] WULLAERT A, HEYNINCK K, BEYAERT R, et al. Mechanisms of crosstalk between TNF 2 induced NF- κ B and JNK activation in hepatocytes [J]. Biochem Pharmacol, 2006, 72(9): 1090-1101.
- [12] TILL A, ROSENSTIEL P, KRIPPNER H A, et al. The Met2196 $\rightarrow$ Arg variation of human tumor necrosis factor receptor 2(TNFR2) affects TNF-alpha induced apoptosis by impaired NF-kappaB signaling and target gene expression [J]. J Biol Chem, 2005, 280(7): 5994-6004.
- [13] NIE X Q, CHEN H H, BIAN K. Role of inflammatory markers C-reactive protein, high sensitivity C-reactive protein in diabetes and its cardiovascular complications [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(1): 26-30.
- [14] YE X W, YU X M, XIE H B. The relationship between serum Hs-CRP, insulin resistance in type II diabetes [J]. Prev Treat Cardio Cereb Vasc Dis(心脑血管病防治), 2006, 6(3): 151-154.
- [15] LEINONEN E, HURT-CAMEJO E, WIKLUND O, et al. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes [J]. Atherosclerosis, 2003, 166(2): 387-394.
- [16] FREEMAN D J, NORRIE J, CASLAKE M J, et al. C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the west of Scotland Coronary prevention study [J]. Diabetes, 2002, 51(5): 1596-1600.

收稿日期: 2011-10-23

8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚致小鼠急性肝损伤的保护作用

魏鹏, 刘伟霞, 贾凤兰, 阮明, 张宝旭^{*} (北京大学公共卫生学院毒理学系, 国家中医药管理局中药配伍减毒重点研究室, 北京 100191)

摘要: 目的 研究 8-甲氧补骨脂素(8-methoxypsoralen, 8-MOP)对对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)致小鼠急性肝损伤的保护作用。方法 采用对乙酰氨基酚所致小鼠急性肝损伤模型。24 h 后, 检测小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)和乳酸脱氢酶(LDH); 留取肝脏组织, 常规石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜观察肝脏组织病理变化; 制备肝匀浆, 测定肝中还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)和丙二醛(MDA)的含量。结果 与正常对照

作者简介: 魏鹏, 男, 硕士 E-mail: 0629wp@163.com *通信作者: 张宝旭, 男, 博士, 教授 Tel: (010)82801527 E-mail: bxzhang@bjmu.edu.cn

组比较, 模型组小鼠血清中 ALT、AST 和 LDH 活性明显升高, 肝脏组织出现明显的肝细胞变性坏死; 与模型组相比, 8-甲氧补骨脂素可以明显降低小鼠血清中 ALT、AST 和 LDH 的活性, 降低肝组织中 MDA 的含量, 升高 GSH/GSSG 比值, 肝组织病理损伤也明显减轻。结论 8-甲氧补骨脂素对乙酰氨基酚致小鼠急性肝损伤具有明显的保护作用。

关键词: 8-甲氧补骨脂素; 对乙酰氨基酚; 急性肝损伤; 保护作用

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)08-0682-05

Protective Effect of 8-Methoxypsoralen against Acetaminophen-induced Acute Hepatic Injury in Mice

WEI Peng, LIU Weixia, JIA Fenglan, RUAN Ming, ZHANG Baoxu* (Department of Toxicology, School of Public Health, Peking University Health Science Center, Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine of Compatibility Attenuated, Beijing 100191, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the hepatoprotective effect of 8-methoxypsoralen against acetaminophen-induced acute hepatic injury in mice. **METHODS** Liver injury model of mice was induced by subcutaneous injection of acetaminophen. Twenty-four hours later, the activities of serum alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST) and lactate dehydrogenase (LDH) were determined, and the liver tissues were collected for histopathological assessment by HE staining under light microscope. The ratio of glutathione(GSH) and oxidized glutathione(GSSG), and the content of GSH, GSSG and malondialdehyde (MDA) in liver homogenate were also measured. **RESULTS** Compared with the normal control group, the model group could markedly increase serum ALT, AST and LDH activities, and the degeneration and necrosis could be observed in liver tissues. Compared with the model group, 8-methoxypsoralen could markedly decrease serum ALT, AST and LDH activities, reduce the MDA level in liver homogenate, and increase GSH content and the ratio of GSH/GSSG in the liver homogenate. The hepatic histopathological changes in liver were also significantly ameliorated. **CONCLUSION** The 8-methoxypsoralen can prevent the liver from acetaminophen-induced acute hepatic injury.

KEY WORDS: 8-methoxypsoralen; acetaminophen; acute hepatic injury; protective effect

对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)一种常见的乙酰苯胺类解热镇痛药^[1], 大剂量或者长期服用, 常可导致严重的不良反应, 以肝损伤最为常见^[2]。对于对乙酰氨基酚造成肝损伤的原因, 普遍认为这是由于其在生物转化过程中产生了大量的氧自由基等毒性代谢产物, 与细胞膜结合产生脂质过氧化反应^[2], 产生大量脂质过氧化产物; 同时消耗谷胱甘肽, 当谷胱甘肽耗竭之后, 肝细胞抗氧化能力下降, 进而产生氧化应激损伤。因此, 开发拮抗对乙酰氨基酚致肝损伤的药物非常重要。

8-甲氧补骨脂素(8-methoxypsoralen, 8-MOP), 又称花椒毒素, 是一个具有强光敏性的呋喃香豆素类天然化合物, 最早从大阿美(*Ammimajus* L.)的果实中提取分离获得, 最近几年研究发现其主要存在于伞形科和芸香科等植物中^[3]。临床上其主要通过结合长波紫外光照射来治疗中重度银屑病患者^[4]。本研究主要是通过对乙酰氨基酚导致的急性肝损伤模型来研究 8-甲氧补骨脂素对乙酰氨基酚引起的急性肝损伤的保护作用, 为其开发为一种对乙酰氨基酚肝损伤的临床解毒剂提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级健康 C57BL/6 小鼠 36 只, ♂, 体质量

18~22 g, 由北京大学医学部实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SYXK(京)2006-0008。适应性饲养 3 d, 动物室和实验室温度均为(23±2)℃, 自动通风, 明暗周期 12/12 h, 自由摄食饮水, SPF 级动物饲料喂养。

1.2 药品与试剂

8-甲氧补骨脂素(购自金坛天源药业化学研究所, 批号: 060320, 以 1%的吐温 80 溶解); 对乙酰氨基酚(河南焦作鑫安股份有限公司提供, 批号: 040216, 用生理盐水配制, 置于 100℃水浴中溶解); 硫代巴比妥酸(TBA)(北京红星生化技术公司提供, 批号: 14919, 分析纯); 十二烷基磺酸钠溶液(SDS)(Serva 进口分装, 上海化学试剂公司, 批号: 920805, 分析纯); 还原型谷胱甘肽(GSH)(上海丽珠东风生物技术有限公司, 批号: 0003028); 氧化型谷胱甘肽(GSSG)(北京红星生化技术公司, 批号: 070320); *N*-乙基顺丁烯二酰亚胺(NEMI)(上海三杰生物技术有限公司, 批号: 081102, 分析纯); 邻苯二甲醛(OPT)(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 30147323, 分析纯); 磷酸钠(北京化工厂, 批号: 090715, 分析纯); 乙二胺四乙酸(EDTA)(天津市化学试剂六厂分厂, 分析纯, 批号: 95041); 偏磷酸(北京新光化学试剂厂, 批号:

910620, 分析纯); NaOH(分子量 40.01)(北京化工厂, 批号: 20090825); 丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)和乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(均为四川迈克生物科技股份有限公司提供, 批号: 1011071)。

1.3 动物分组及处理

取健康 C57BL/6 小鼠 36 只, ♂, 随机分为 6 组, 每组 6 只: 正常对照组, 8-甲氧补骨脂素对照组($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), 模型组(对乙酰氨基酚组 $450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 8-甲氧补骨脂素低、中、高剂量组(10, 20, $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。各组于每天上午 9 点到 10 点称重给药。正常对照组和模型组给予蒸馏水 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 8-甲氧补骨脂素组分别给予 8-甲氧补骨脂素 10, 20, $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 8-甲氧补骨脂素对照组给予 8-甲氧补骨脂素 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 均为灌胃给药, 每天 1 次, 连续 4 d; 最后 1 次给药 30 min 后, 除正常对照组和 8-甲氧补骨脂素对照组外, 其余各组均皮下注射对乙酰氨基酚 $450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 制备小鼠急性肝损伤模型。

1.4 检测指标

给予 APAP 24 h 后, 所有小鼠内眦静脉取血, 制备血清用于 ALT, AST 和 LDH 的检测, 使用 7170A 自动分析仪测定血清中 ALT, AST 和 LDH 活性(由北京大学第三医院检验科测定)。颈椎脱臼处死小鼠, 解剖取肝脏, 生理盐水洗净, 吸干称重, 肉眼观察肝脏大体变化; 取肝左叶于 10%福尔马林溶液中固定, 常规病理切片, HE 染色光镜下镜检。另取部分左叶肝组织制备匀浆, 用改良 Hisson 方法^[5]分析肝组织中 GSH 和 GSSG 的含量, 并计算 GSH/GSSG; 用 TBA 反应法^[6]测定肝中丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。

1.5 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 15.0 软件进行方差分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 认为有显著差异。

2 结果

2.1 8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚所致肝损伤小鼠体质量、肝重和肝体比的影响

与正常对照组相比, 8-甲氧补骨脂素对照组的体质量、肝重和肝体比变化不明显; 模型组小鼠体质量明显下降 ($P < 0.05$), 肝体比明显增加 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 8-甲氧补骨脂素高剂量组体质量显著增加 ($P < 0.05$), 肝体比明显下降

($P < 0.05$); 其余各组指标与模型组相比差异不具有统计学意义, 结果见表 1。

表 1 8-甲氧补骨脂素对 APAP 所致肝损伤小鼠体质量、肝重和肝体比的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab 1 Effect of 8-methoxypsoralen on the body weight, liver weight and the ratio of body weight and liver weight on mice of APAP-induced hepatic injury ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	体质量/g	肝重/g	肝体比/%
正常对照组	—	23.6 ± 1.8	1.05 ± 0.12	4.46 ± 0.28
8-甲氧补骨脂素 对照组	40	23.1 ± 0.8	1.20 ± 0.18	5.18 ± 0.67
模型组	450	$20.3 \pm 2.3^{2)}$	1.11 ± 0.26	$5.45 \pm 0.91^{2)}$
8-甲氧补骨脂素 低剂量组	10	21.0 ± 0.4	1.17 ± 0.01	5.56 ± 0.06
8-甲氧补骨脂素 中剂量组	20	21.8 ± 1.4	1.14 ± 0.14	5.22 ± 0.49
8-甲氧补骨脂素 高剂量组	40	$22.9 \pm 1.2^{1)}$	1.06 ± 0.09	$4.61 \pm 0.17^{1)}$

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与正常对照组比较, ²⁾ $P < 0.05$

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with control group, ²⁾ $P < 0.05$

2.2 8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚所致肝损伤小鼠血清转氨酶的影响

与正常对照组相比, 8-甲氧补骨脂素对照组小鼠血清 ALT, AST 和 LDH 水平无明显变化; 模型组小鼠血清 ALT, AST 和 LDH 水平均明显升高, 有显著性差异 ($P < 0.01$), 表明该剂量的 APAP 可以引起明显的肝脏损伤。

给予不同剂量的 8-甲氧补骨脂素后, ALT, AST 和 LDH 水平较模型组均有不同程度的降低, 且随着剂量的增高, 减少得更加明显。其中 8-甲氧补骨脂素低剂量组有所降低, 但是差异没有统计学意义; 8-甲氧补骨脂素中剂量组下降明显, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 8-甲氧补骨脂素高剂量组 ALT、AST 和 LDH 水平已经接近正常水平, 有显著性差异 ($P < 0.01$), 基本上可以完全阻断 APAP 的肝损伤, 结果见表 2。

2.3 8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚所致肝损伤小鼠肝组织中 MDA 含量和 GSH 与 GSSG 的比值的影响

与正常对照组相比, 8-甲氧补骨脂素对照组的 MDA 含量无明显变化, GSH/GSSG 的比值明显上升 ($P < 0.01$); 模型组的 MDA 含量明显上升 ($P < 0.01$), GSH/GSSG 的比值明显下降 ($P < 0.05$)。

给予不同剂量的 8-甲氧补骨脂素之后, MDA

的含量较模型组均有不同程度的下降，且随着剂量的增高，下降得更加明显，其中 8-甲氧补骨脂素低剂量组 MDA 的含量有所降低，但是差异没有统计学意义；8-甲氧补骨脂素中剂量组和高剂量组下降明显，有显著性差异($P<0.01$)，8-甲氧补骨脂

素高剂量组 MDA 含量已经接近正常水平；而 GSH/GSSG 的比值只有高剂量组基本上升到正常水平，和模型组相比差异有统计学意义($P<0.05$)，其余各组有所上升，但是没有统计学差异，结果见表 3。

表 2 8-甲氧补骨脂素对 APAP 所致肝损伤小鼠血清转氨酶的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 2 Effect of 8-methoxypsoralen on serum transaminase in mice of APAP-induced hepatic injury ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	ALT/IU·L ⁻¹	AST/IU·L ⁻¹	LDH/IU·L ⁻¹
正常对照组	—	50±14	142±18	831±200
8-甲氧补骨脂素对照组	40	71±15	143±25	883±264
模型组	450	13 129±7 601 ³⁾	9 101±6 395 ³⁾	18 239±13 471 ³⁾
8-甲氧补骨脂素低剂量组	10	10 000±2 951	5 408±3 441	16 149±5 008
8-甲氧补骨脂素中剂量组	20	106±95 ¹⁾	275±113 ¹⁾	3 609±3 317 ¹⁾
8-甲氧补骨脂素高剂量组	40	62±30 ²⁾	130±33 ²⁾	1 003±259 ²⁾

注：和模型组比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$ ；和正常对照组比较，³⁾ $P<0.01$

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with control group, ³⁾ $P<0.01$

表 3 8-甲氧补骨脂素对 APAP 所致肝损伤小鼠肝组织的 MDA 含量和 GSH/GSSG 比值的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Effect of 8-methoxypsoralen on the content of MDA of liver tissue and the ratio of GSH and GSSG in mice of APAP-induced hepatic injury($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	MDA/nmol·g ⁻¹	GSH/μg·g ⁻¹	GSSG/μg·g ⁻¹	GSH/GSSG
正常对照组	-	0.09±0.07	0.985±0.146	0.285±0.101	3.715±1.043
8-甲氧补骨脂素对照组	40	0.07±0.08	1.088±0.045	0.141±0.003 ⁴⁾	7.713±0.665 ⁴⁾
模型组	450	0.77±0.36 ⁴⁾	0.853±0.210	0.419±0.077 ³⁾	2.035±1.648 ³⁾
8-甲氧补骨脂素低剂量组	10	0.57±0.11	1.030±0.282	0.398±0.062	2.588±0.306
8-甲氧补骨脂素中剂量组	20	0.17±0.12 ²⁾	1.061±0.134	0.332±0.025	3.197±0.338
8-甲氧补骨脂素高剂量组	40	0.10±0.04 ²⁾	1.020±0.031	0.305±0.013 ¹⁾	3.345±0.259 ¹⁾

注：与模型组比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$ ；与正常对照组比较，³⁾ $P<0.05$ ，⁴⁾ $P<0.01$

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with control group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$

2.4 8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚所致肝损伤小鼠肝组织病理变化的影响

正常对照组小鼠肝脏颜色暗红，被膜光滑，有弹性，有光泽。8-甲氧补骨脂素对照组小鼠肝脏和正常对照组基本一致。模型组肝脏颜色略黄，无光泽，质地脆，出现点状坏死灶，点状坏死分布均匀，个别肝脏淤血严重。8-甲氧补骨脂素组的肝脏损伤减轻，并且随着剂量的增加，肝脏外观接近正常对照组。

组织学观察：正常对照组小鼠肝脏肝小叶结构清晰，肝细胞核规则而清晰，胞质丰富，无变性，无坏死，无炎症细胞浸润；肝细胞索围绕中央静脉成放射状排列整齐，肝血窦正常。8-甲氧补骨脂素组织学观察和正常对照组基本一致。模型组肝脏肝小叶肝细胞有不同程度的坏死和变性，呈凝固性坏死，胞核固缩或溶解，伴炎症细胞浸

润；肝细胞索正常形态破坏。8-甲氧补骨脂素组随着剂量的增加，肝细胞坏死，变性和炎症细胞浸润的程度减轻；8-甲氧补骨脂素高剂量组已经接近正常水平。结果见图 1。

3 讨论

对乙酰氨基酚是常见的用来建立肝损伤的模型药物，而血清学指标 ALT，AST，LDH 是反应肝实质损害的常见的主要酶学指标，所以本实验选用对乙酰氨基酚作为造模药物，选用 ALT，AST，LDH 作为判断肝损伤的指标。从本实验结果可以看出，模型组小鼠血清的 3 个酶学指标均显著增高，表明小鼠肝脏受到损害，肝损伤模型是成功的。而给予 8-甲氧补骨脂素的小鼠的酶学指标均显著降低，并且呈现一定的剂量依赖关系，这表明 8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚造成的肝损伤有一定的保护作用。

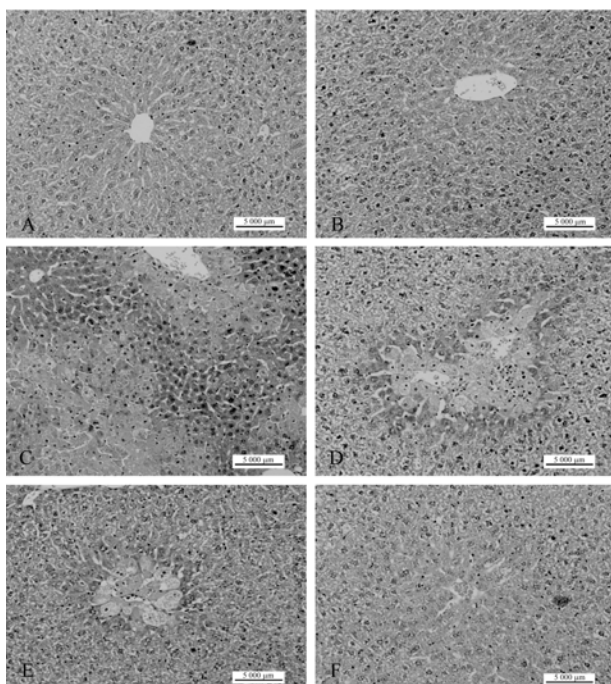


图 1 8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚所致肝损伤小鼠肝脏组织病理变化的影响

A-阴性对照组; B-8-甲氧补骨脂素对照组($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); C-模型组(给予对乙酰氨基酚 $450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); D-8-甲氧补骨脂素低剂量组($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); E-8-甲氧补骨脂素中剂量组($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); F-8-甲氧补骨脂素高剂量组($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Fig 1 Effect of 8-methoxypsoralen in liver histopathology changes on mice of APAP-induced hepatic injury

A-normal control group; B-8-methoxypsoralen control group($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); C-model group(APAP $450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); D-low dose of 8-methoxypsoralen ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); E-middle dose of 8-methoxypsoralen($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); F-high dose of 8-methoxypsoralen($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

同时选用小鼠肝脏的常规病理切片作为小鼠肝脏急性损伤的形态学指标,从本实验结果可以看出,模型组小鼠肝脏出现严重坏死,而给予 8-甲氧补骨脂素的小鼠肝脏坏死程度随着剂量的增加损伤逐渐减轻。所以在形态学上也可以表明 8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚造成的肝损伤有一定的保护作用。

对于对乙酰氨基酚的肝损伤机制,目前的研究主要集中在氧自由基的生成、活性代谢产物的产生、脂质过氧化和谷胱甘肽的耗竭等^[7-9]方面。对乙酰氨基酚在体内经肝细胞色素P450代谢^[8],绝大部分产物与葡萄糖醛酸、硫酸及半胱氨酸结合,其中氧分子也经P450活化成活性氧(O_2^- 、 H_2O_2),这类自由基的产生和膜脂质过氧化反应共同作用,引起肝GSH耗竭,导致肝细胞坏死,造成肝损伤。GSH是组织中重要的非蛋白质巯基化合物,自由基清除剂,当机体受到外源化合物攻击时,

GSH能够发挥其抗氧化功能,保持细胞和膜结构的稳定性。GSH/GSSG的降低则反映出GSH的耗竭,细胞的抗氧化能力大大降低,易受到毒物造成的损伤。MDA是脂质过氧化的终产物,其含量可以反映脂质过氧化程度和细胞损伤的程度,MDA含量的升高提示脂质过氧化加重,提示氧化损伤的严重程度,所以本实验还选择了GSH/GSSG的比值和MDA作为反应小鼠肝脏损伤在过氧化程度方面的指标。对乙酰氨基酚在体内代谢生成大量氧自由基,由GSH灭活。当氧自由基生成过多或者GSH含量减少,肝细胞的抗氧化能力下降,引起肝细胞坏死变性,导致肝损伤。本实验结果显示,模型组小鼠肝组织中MDA含量显著增高,GSH/GSSG的比值显著降低。而给予8-甲氧补骨脂素之后,小鼠肝组织MDA含量显著降低,GSH/GSSG的比值增高。这表明8-甲氧补骨脂素对对乙酰氨基酚所致的急性肝损伤的保护作用机制可能是通过增加肝脏GSH的含量,更好地清除过氧化物,提高机体抗氧化能力。其具体机制还需进一步的研究。

REFERENCES

- [1] MA Q X, JIA F L, RUAN M, et al. Hepatoprotective effect of alcohol-extract propolis against acetaminophen-induced acute hepatic injury in mice [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2009, 20(6): 524-528.
- [2] ZHANG H N. Research progress of acetaminophen-induced hepatic toxicity [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2006, 26(10): 1284-1286.
- [3] WANG L Y, HUANG F F, YANG D B, et al. Penetration kinetics of xanthotoxin across human skin and stratum corneum [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2006, 41(9): 878-881.
- [4] WANG L Y, BI H E, ZHOU H B, et al. Absorption mechanism of xanthotoxin in small intestine [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2009, 25(2): 278-279.
- [5] SHEN H Q, ZHAO L Y, QU Q S, et al. The fluorescence spectrometry of glutathione in organization [J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis(中华劳动卫生职业病杂志), 1988, 6(2): 103-108.
- [6] ZHONG X Q. Oxygen free radical and disease [J]. J Shaoguan Univ(韶关学院学报), 2006, 27(6): 87-90.
- [7] TANG X H, GAO J. Mechanism of injury in experimental liver injury [J]. Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis(中西医结合肝病杂志), 2002, 12(1): 53-55.
- [8] ZHAO Y, FANG D, CHEN L M, et al. Research Progress of acetaminophen-induced hepatic toxicity [J]. Chin J Mod Drug Appl(中国现代药物应用), 2008, 2(15): 114-115.
- [9] JAMES L P, MAYEUX P R, HINSON J A. Acetaminophen-induced hepatotoxicity [J]. Drug Metab Dispos, 2003, 31(12): 1499-1506.

收稿日期: 2011-12-12