

[文章编号] 1007-3949(2009)17-02-0109-04

• 实验研究 •

## 家兔肝缺血再灌注损伤中脂质过氧化反应及人参多糖的干预

郑艳蓉<sup>1</sup>, 石璐<sup>2</sup>, 颜王鑫<sup>3</sup>, 贾旭广<sup>2</sup>, 陈亮<sup>3</sup>, 梁瑛琦<sup>2</sup>, 王万铁<sup>2</sup>

(1. 温州市疾病预防控制中心, 浙江省温州市 325027; 2. 温州医学院病理生理教研室, 浙江省温州市 325035;

3. 温州市第三人民医院, 浙江省温州市 325000)

[关键词] 人参多糖; 肝脏; 缺血再灌注损伤; 脂质过氧化

[摘要] 目的 观察肝缺血再灌注损伤时脂质过氧化的变化以及人参多糖的干预作用, 并探究其机制。方法 30只家兔随机均分为对照组、缺血再灌注组和人参多糖组。观察血浆及肝组织中丙二醛含量及超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、黄嘌呤氧化酶和丙氨酸氨基转移酶活力变化, 光镜下观察肝组织结构变化, 并观察人参多糖对上述指标的影响。结果 缺血再灌注组血浆超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活力在肝脏缺血 45 min 以及再灌注 45 min 逐步降低, 丙氨酸氨基转移酶、黄嘌呤氧化酶活力和丙二醛含量明显升高。人参多糖组血浆超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活力与缺血前比无明显下降, 丙氨酸氨基转移酶、黄嘌呤氧化酶活力和丙二醛含量无明显升高, 尤其再灌注 45 min 血浆超氧化物歧化酶活力显著高于缺血再灌注组同期 ( $P < 0.01$ ), 丙氨酸氨基转移酶、黄嘌呤氧化酶活力和丙二醛含量显著低于缺血再灌注组同期水平 ( $P < 0.01$ )。肝组织超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力缺血再灌注组明显低于对照组, 人参多糖组则明显高于缺血再灌注组 ( $P < 0.01$ ); 黄嘌呤氧化酶活力和丙二醛含量缺血再灌注组明显高于对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 而人参多糖组则明显低于缺血再灌注组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。光镜下发现缺血再灌注组肝组织细胞形态学结构明显异常, 人参多糖组肝组织损伤明显减轻。结论 人参多糖能降低黄嘌呤氧化酶活性, 减少氧自由基的生成, 并且能增强超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶的活性, 清除氧自由基, 抑制脂质过氧化反应, 从而有效减轻肝缺血再灌注损伤。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Ginseng Polysauharides Interfering Changes of Lipid Peroxidation During Hepatic Ischemia Reperfusion in Rabbits

ZHENG Yan-Rong<sup>1</sup>, SHI Lu<sup>2</sup>, YAN Wan-Xin<sup>3</sup>, JIA Xu-Guang<sup>2</sup>, CHEN Liang<sup>3</sup>, LIANG Ying-Qi<sup>2</sup>, and WANG Wan-Tie<sup>2</sup>

(1. Disease Prevention and Control Center of Wenzhou, Wenzhou 325027; 2. Department of Pathophysiology, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035; 3. Surgical Department, The 3rd People's Hospital of Wenzhou, Wenzhou 325000, China)

[KEY WORDS] Ginseng Polysauharides, Liver, Ischemia Reperfusion Injury, Lipid Peroxidation

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of Ginseng polysauharides on changes of lipid peroxidation in hepatic ischemia reperfusion injury and its mechanism. **Methods** 30 rabbits were randomly divided into control group, ischemia-reperfusion (IR) group and Ginseng polysauharides group. Alanine aminotransferase (ALT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), xanthine oxidase (XO), malondialdehyde (MDA) were recorded, and the liver organizational structure change were observed under the light microscope. **Results** In IR group, the plasma SOD, GSH-Px activity declined gradually 45 minutes after ischemia and this phenomenon continued for 45 minutes after reperfusion. The activity of ALT, XO and the content of MDA clearly increased. In Ginseng polysauharides group, the plasma SOD, GSH-Px activity had no prominent decline; the activity of ALT, XO and content of MDA had no obvious increase, especially when 45 minutes after reperfusion, the SOD activity was much higher and the ALT and XO activity, content of MDA were much lower than that in IR group of the same period ( $P < 0.01$ ). The SOD and GSH-Px activity of IR group in liver increased compared with control group, but decreased in Ginseng polysauharide group compared with IR group ( $P < 0.01$ ). The XO activity and the MDA content of the IR group in liver decreased compared with control group, but increased in Ginseng polysauharide group compared with IR group ( $P < 0.05$  or  $0.01$ ). In IR group, the morphology structure of hepatic cell obviously abnormal, but in Ginseng polysauharides group, relatively mild injury occurred to the hepatic. **Conclusion** Ginseng polysauharides can reduce the activity of XO and suppress the production of oxygen-derived free radicals, tone up antioxidant like SOD, GSH-Px and suppress lipid peroxidation, thus effectively reduce the injury caused by hepatic ischemia reperfusion.

[收稿日期] 2008-10-08

[修回日期] 2009-01-16

[基金项目] 温州市科技局资助项目 (Y20060195)

[作者简介] 郑艳蓉, 主管护师, E-mail为 ivy-1616@hotmail.com。陈亮, 副主任医师, 研究方向为肝胆胰疾病防治。通讯作者王万铁, 教授, 硕士研究生导师, E-mail为 wzw@tm.com。

近年来,氧自由基及其介导的脂质过氧化反应在组织缺血再灌注损伤发生、发展中的作用日益受到关注<sup>[1]</sup>。人参多糖(Ginseng polysauharides GP)是人参的主要有效成分<sup>[2]</sup>。近来发现,人参多糖还具有清除氧自由基和抗氧化的作用<sup>[3]</sup>。为了进一步探讨脂质过氧化反应在肝缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury, HRI)中的作用及人参多糖对其的干预,本研究拟通过建立家兔肝缺血再灌注模型,观察家兔在HRI时脂质过氧化物的变化及人参多糖对其的干预作用,并探讨其作用机制,为加强围手术期肝脏的保护提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

清洁级日本大耳兔 30 只,雌雄不拘,体重 2.0 ~ 2.4 kg 由温州医学院动物实验中心提供(温医动物字: 220002)。丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)和丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。人参多糖注射液(山西普德药业有限公司, 2 mL: 6 mg 批号国药准字 H14023512)。

### 1.2 动物模型的制备及分组

制备家兔 HRI 模型<sup>[4]</sup>, 动物随机分为三组。

对照组( $n=10$ ): 仅行麻醉、开腹和游离肝叶等操作,但不阻断肝血流; ④缺血再灌注组( $n=10$ ): 行肝门阻断,单纯缺血 45 min 后再灌注 45 min; ④人参多糖组( $n=10$ ): 缺血 45 min 后再灌注 45 min 于缺血前 10 min 经颈外静脉注射人参多糖注射液 0.3 mg/kg(对照组及缺血再灌注组注射等量生理盐水),其余操作同缺血再灌注组。各组动物实验结束时,静脉注入 10% 氯化钾处死。

### 1.3 检测指标

三组兔分别在缺血前 10 min、缺血 45 min 及再灌注 45 min 后自颈外静脉取血,每次 8 mL, 4℃ 离心 10 min (2 000 r/min), 取上清液待测; 并在再灌注第 45 min 时处死动物,取左、中叶肝组织 100 mg 制成匀浆, 4℃ 离心 (3 000 r/min, 15 min) 取上清液待测。分别用相应试剂盒,按说明检测血浆及肝组织丙二醛、SOD、GSH-Px、XO 和 ALT 含量。

### 1.4 光镜标本制作和观察

实验末迅速取出家兔肝组织,用冰生理盐水冲

洗后,制成 1 cm × 1 cm × 1 cm 大小样本,用 10% 多聚甲醛固定后包埋切片,苏木素-伊红染色,光镜下观察。

### 1.5 统计学处理方法

应用 SPSS12 统计软件包进行统计分析,对所有数据进行正态性及方差齐性检验(方差不齐者对数变换数据)。组内比较采用 Dunnett's T 检验,组间比较进行  $q$  检验或 LSD 检验。双变量相关性检验,采用 Bivariate 过程的 Pearson 相关分析法。 $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 血浆丙氨酸氨基转移酶浓度

对照组缺血前、缺血 45 min 及再灌注 45 min 血浆 ALT 浓度无明显差异。缺血 45 min 时,缺血再灌注组血浆 ALT 浓度显著高于缺血前水平( $P < 0.01$ ),且显著高于对照组同期水平( $P < 0.01$ );再灌注 45 min 血浆 ALT 浓度进一步升高,且显著高于缺血 45 min 及对照组同期水平( $P < 0.01$ )。人参多糖组缺血 45 min 及再灌注 45 min 血浆 ALT 浓度与缺血前比升高不明显,而且,再灌注 45 min 时明显低于缺血再灌注组同期水平( $P < 0.01$ , 表 1)。

表 1 血浆丙氨酸氨基转移酶浓度 ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)

分 组	缺血前	缺血 45 min	再灌注 45 min
对照组	33.6 ± 4.72	37.5 ± 5.38	36.4 ± 2.99
缺血再灌注组	36.9 ± 3.07	45.2 ± 5.85 <sup>ad</sup>	58.9 ± 6.31 <sup>abd</sup>
人参多糖组	37.5 ± 5.66	41.4 ± 5.34	45.2 ± 7.33 <sup>ce</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与本组缺血前比较; b 为  $P < 0.01$ , 与本组缺血 45 min 比较; c 为  $P < 0.05$ ; d 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; e 为  $P < 0.01$ , 与缺血再灌注组比较。

### 2.2 血浆丙二醛含量及超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和黄嘌呤氧化酶活力

缺血前三组血浆 SOD、GSH-Px、XO 和丙二醛水平均无统计学差异; 缺血再灌注组血浆 SOD、GSH-Px 活力在肝脏缺血 45 min 以及再灌注 45 min 逐步降低, XO 活力和丙二醛含量明显升高; 人参多糖组血浆 SOD、GSH-Px 活力与缺血前比无明显下降, XO 活力和丙二醛含量无明显升高, 尤其再灌注 45 min 血浆 SOD 活力显著高于缺血再灌注组同期水平( $P < 0.01$ ), XO 活力和丙二醛含量显著低于缺血再灌注组同期水平( $P < 0.01$ ; 表 2)。

表 2 血浆丙二醛含量及超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和黄嘌呤氧化酶活力

指 标	对照组			缺血再灌注组			人参多糖组		
	缺血前	缺血 45 m in	再灌注 45 m in	缺血前	缺血 45 m in	再灌注 45 m in	缺血前	缺血 45 m in	再灌注 45 m in
SOD (ku/L)	357.8 ± 22.0	356.6 ± 18.6	353.6 ± 20.9	345.3 ± 25.8	247.8 ± 30.8 <sup>b</sup>	171.2 ± 21.9 <sup>bde</sup>	347.9 ± 24.8	333.6 ± 31.0 <sup>f</sup>	330.7 ± 24.8 <sup>f</sup>
GSH-Px (u/L)	78.03 ± 18.44	78.06 ± 21.24	77.12 ± 17.94	80.00 ± 16.70	72.00 ± 14.30 <sup>a</sup>	62.00 ± 19.80 <sup>a</sup>	71.00 ± 13.55	69.60 ± 9.56	69.20 ± 15.77
丙二醛 (mmol/L)	5.46 ± 0.73	5.72 ± 0.52	5.58 ± 0.51	5.68 ± 0.50	5.97 ± 0.64 <sup>a</sup>	7.47 ± 0.71 <sup>bde</sup>	5.59 ± 0.46	5.78 ± 0.56	6.21 ± 0.59 <sup>f</sup>
XO (u/L)	2.12 ± 0.50	2.03 ± 0.61	2.06 ± 0.45	2.15 ± 1.00	3.18 ± 1.72 <sup>a</sup>	4.69 ± 1.80 <sup>bce</sup>	1.78 ± 0.53	2.40 ± 0.68	2.51 ± 0.70 <sup>f</sup>

a为  $P < 0.05$  b为  $P < 0.01$  与本组缺血前比较; c为  $P < 0.05$  d为  $P < 0.01$  与本组缺血 45 m in 比较; e为  $P < 0.01$  与对照组比较; f为  $P < 0.01$  与缺血再灌注组比较。

2.3 肝组织丙二醛含量和超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶及黄嘌呤氧化酶活力变化

缺血再灌注组 SOD、GSH-Px 活力明显低于对照组 ( $P < 0.01$ ), XO 活力和丙二醛含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 人参多糖组 SOD、GSH-Px 活力均明显高于缺血再灌注组 ( $P < 0.01$ ), XO 活力和丙二醛含量显著低于缺血再灌注组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ; 表 3)。

2.4 肝形态学改变

对照组肝脏组织结构完整, 肝细胞排列整齐, 无明显变性, 未见坏死, 无中性粒细胞浸润, 汇管区少量慢性炎症细胞浸润。缺血再灌注组肝小叶结构尚存, 肝细胞明显膨大, 胞浆变透亮, 呈水样变性, 部分呈气球样变性; 部分肝细胞崩解、坏死, 伴中性粒细胞灶性浸润; 汇管区静脉扩张充血, 见较多的淋巴浆

细胞浸润。人参多糖组肝小叶结构基本正常, 中央静脉略扩张; 近中央静脉部分肝细胞肿胀变性, 偶见点状坏死, 其程度、范围均明显较缺血再灌注组轻, 其周边肝细胞基本正常 (图 1)。

表 3 家兔肝组织超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、黄嘌呤氧化酶活力及丙二醛含量 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

分 组	SOD (ku/g)	GSH-Px (ku/g)	XO (u/g)	丙二醛 (μmol/g)
对照组	726.2 ± 64.3	60.3 ± 6.0	4.15 ± 2.28	1.25 ± 0.16
缺血再灌注组	475.7 ± 68.2 <sup>b</sup>	24.8 ± 3.8 <sup>b</sup>	8.10 ± 3.92 <sup>a</sup>	1.89 ± 0.26 <sup>b</sup>
人参多糖组	683.6 ± 32.5 <sup>d</sup>	34.6 ± 4.6 <sup>bd</sup>	3.83 ± 1.66 <sup>c</sup>	1.37 ± 0.26 <sup>d</sup>

a为  $P < 0.05$  b为  $P < 0.01$  与对照组比较; c为  $P < 0.05$  d为  $P < 0.01$  与缺血再灌注组比较。

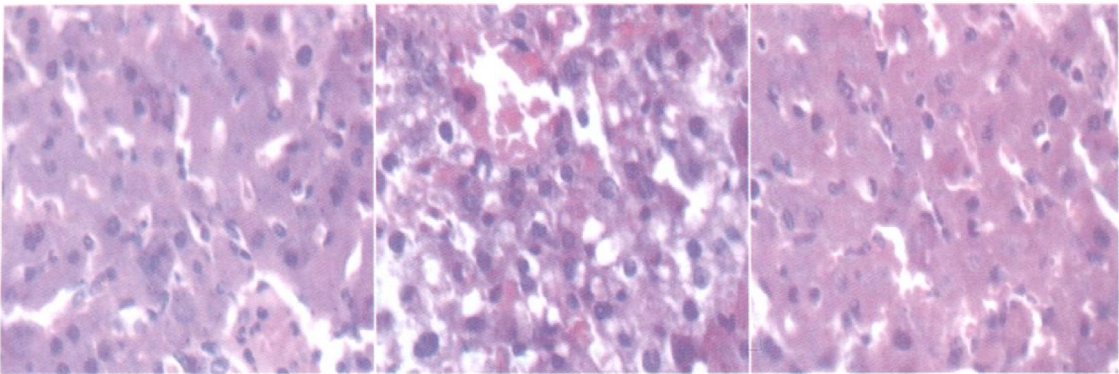


图 1 肝脏切片光镜下照片 (HE, ×40) 左为对照组, 中为缺血再灌注组, 右为人参多糖组。

2.5 各指标与丙氨酸氨基转移酶的相关关系

血浆 SOD 活力与 ALT 呈负相关 ( $r = -0.666$ ,  $P < 0.01$ ), 血浆 GSH-Px 活力与 ALT 呈负相关 ( $r = -0.082$ ,  $P < 0.05$ ), 血浆 XO 活力与 ALT 呈正相关 ( $r = 0.557$ ,  $P < 0.01$ ), 血浆丙二醛含量与 ALT 呈正相关 ( $r = 0.617$ ,  $P < 0.01$ )。

3 讨论

缺血再灌注是临床工作经常面临的一个问题, 氧自由基大量生成引起强烈的脂质过氧化反应, 是造成 HRI 的重要因素之一<sup>[1]</sup>。在 HRI 过程中, 由于缺血缺氧, 肝组织经腺苷酸激酶的作用从 2 个 ADP 产生 1 个 ATP 和 1 个 AMP, 使肝组织中 AMP 增加, 引起氧自由基前体次黄嘌呤大量生成, 同时细

胞内的黄嘌呤脱氢酶(XD)由于缺氧而转化成 XO,再灌注恢复血流和氧供后,在 XO作用下,次黄嘌呤与氧作用产生大量氧自由基。在机体内,大量氧自由基蓄积可对蛋白、脂肪及核酸等几乎所有生物活性物质具有损伤作用<sup>[5-6]</sup>。本研究结果发现,缺血再灌注组血浆 SOD 和 GSH-Px 活力在肝脏缺血 45 min 以及再灌注 45 min 逐步降低, XO 活力和丙二醛含量明显升高;同时肝组织 SOD 和 GSH-Px 活力亦降低, XO 活力和丙二醛含量升高;血浆 SOD 和 GSH-Px 活性与 ALT 呈负相关,血浆 XO 活力和丙二醛含量与 ALT 呈正相关;表明肝脏缺血后体内氧自由基增加,引发了不同程度的脂质过氧化反应,导致肝细胞损伤,尤以再灌注为著。

人参多糖是人参的主要有效成分<sup>[12]</sup>,由人参淀粉和人参果胶两部分组成,药理活性部分主要是人参果胶。人参多糖具有抗肿瘤、免疫调节、降血糖、造血调控和抗衰老等作用,临床上主要用于治疗肿瘤、高血糖等疾病<sup>[7-8]</sup>。近来发现,人参多糖还具有清除氧自由基和抗氧化的作用<sup>[3]</sup>,明显减弱髓过氧化物酶活性,抑制中性粒细胞的活化、聚集<sup>[9]</sup>,还可通过调控 Bcl-2 等基因表达,干预细胞凋亡<sup>[10]</sup>。本研究结果发现,使用人参多糖后反映肝功能的敏感指标 ALT 明显下降,肝组织损伤显著减轻,表明人参多糖对 HRI 有一定防治作用。同时发现人参多

糖组 XO 活力和丙二醛含量较缺血再灌注组明显下降, SOD 和 GSH-Px 活力较缺血再灌注组显著增强,提示人参多糖可通过提高机体抗氧化能力,降低体内氧自由基生成,减轻脂质过氧化反应,有效防治 HRI,其具体作用机制有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Baklus S, Rudolph V, Roiss M, et al. Heparins increase endothelial nitric oxide bioavailability by liberating vessel-immobilized myeloperoxidase [J]. *Circulation*, 2006 **113** (15): 1 871-878
  - [2] 张彬,林瑞超,冯芳. 人参多糖的研究概况 [J]. *中国药事*, 2004 **18** (9): 566-569
  - [3] 郭蓉,高守红,辛海量. 人参抗辐射损伤研究概况 [J]. *药学实践杂志*, 2007 **25** (6): 364-366
  - [4] 王万铁,王卫,徐正介,等. 肝缺血再灌注损伤中脂质过氧化反应及左旋精氨酸的干预作用 [J]. *中国危重病急救医学*, 2003 **2** (15): 91-93
  - [5] Hai S, Takemura S, Minamiyama Y, et al. Mitochondrial K (ATP) channel opener prevents ischemia-reperfusion injury in rat liver [J]. *Transplant Proc*, 2005 **37** (1): 428-431
  - [6] McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury [J]. *New Engl J Med*, 1985 **312** (3): 159-163
  - [7] 陈群,刘家昌. 人参多糖、黄苗多糖、枸杞多糖的研究进展 [J]. *淮南师范学院学报*, 2001 **3** (2): 39-41
  - [8] 赵俊,吴宏,王亚平. 人参多糖的化学与药理学研究进展 [J]. *国外医学·中医中药分册*, 2004 **26** (2): 79-81
  - [9] 张皖东,吕诚,赵宏艳,等. 人参多糖和猪苓多糖对 CIA 大鼠肠道黏膜免疫细胞功能的影响 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2007 **23** (9): 867-868
  - [10] 赵建平,王媛媛. 人参多糖体外诱导人非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡的实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2006 **26** (6): 95-97
- (此文编辑 许雪梅)

• 读者 • 作者 • 编者 •

## 作者声明

发表在 2008 年第 12 期由单海燕等作者撰写的《健康人群心血管超声结构和功能及血脂的增龄性变化》一文为辽宁省科学技术计划项目 (2007225004)。