

四氯化碳急性肝损伤敏感指标的研究

童 英 闫向东 高 珊 熊晓燕

(北京市卫生防疫站,北京 100013)

摘 要:为研究四氯化碳急性肝损伤后各项生化指标及病理损伤的时间—反应关系,选用 Wistar 种雄性大鼠,随机分为 5 组,每组 10 只。试验组动物给予 2% CCl_4 ,灌胃 160 mg/kg BW,阴性对照组给予植物油。分别于染毒后 12、24、48、72 h(对照组给油后 24 h)处死动物取静脉血测定血清 GPT、GOT、TG 含量,大鼠染毒后血清 GPT、GOT 含量显著性升高,24 h 达到峰值后逐渐下降,72 h 接近正常;12 h 肝组织中 MDA 含量显著性升高;GSH 含量 12~48 h 显著性升高。血清 TG 无明显变化,肝组织中 TG 含量 12 h 显著性升高,48 h 后恢复正常。染毒后 12、24、48 h 各组大鼠肝脏均出现典型四氯化碳中毒的病理变化,表明检测四氯化碳所致肝损伤可在染毒后 12~48 h 测定血清 GPT、GOT,进行肝脏病理组织学检查。此外,肝组织中 MDA、GSH 和 TG 含量的测定也可作为检测的辅助指标,有助于评价保健食品的保肝功能。

关键词: 大鼠

中图分类号: R155, O613.42, R575.2⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004—8456(2000)06—0010—03

四氯化碳是肝脏毒理学中研究较多的亲肝性毒物,对肝脏具有较强的损伤作用,可导致肝细胞的变性、坏死、脂肪变性、纤维化和癌变。^[1]对四氯化碳急性肝损伤敏感指标的研究可为建立急性肝损伤动物模型,评价保健食品的保肝功能提供科学依据。

1 材料与方法

- 1.1 动物 Wistar 种大鼠,雄性,体重 180~220 g,由预防医学科学院流行病学研究所实验动物中心提供。
- 1.2 肝损伤阳性对照物 四氯化碳(CCl_4)分析纯,北京化学试剂公司生产,试验时以植物油稀释。
- 1.3 试验方法 选用 50 只健康雄性大鼠,随机分为 5 组,每组 10 只。试验组动物给予 2% CCl_4 经口染毒,灌胃量 0.5 mL/100 g BW,折合剂量为 160 mg/kg BW,阴性对照组给予植物油。各组动物实验前隔夜禁食 16 h(供水),灌胃后给予正常饮食。分别于染毒后 12、24、48、72 h(对照组给油后 24 h)处死动物取静脉血测定血清 GPT、GOT、TG 含量,取肝右叶制成 10%肝匀浆测定 MDA、GSH、TG 含量,取肝左叶进行病理组织学检查。本实验所获数据用“Excel 7.0”软件进行统计。

1.4 测定方法

血清谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)的测定,均用赖氏法(试剂盒),北京化工厂生产。血清甘油三脂(TG)的测定,用甘油磷酸氧化酶过氧化物酶法(试剂盒),北京化工厂生产。肝匀浆中丙二醛(MDA)测定,采用 TBA 比色法。肝匀浆中还原型谷胱甘肽(GSH)测定,使用 DTNB 比色法。^[2]蛋白定量,用考马斯亮蓝比色法。肝脏病理组织学检查,常规制片,HE 染色,镜检。

2 结果

- 2.1 以 160 mg/kg BW CCl_4 对大鼠染毒后血清 GPT、GOT 含量显著性升高,24 h 达到峰值后逐渐下降,72 h 接近正常,结果见表 1。
- 2.2 以 160 mg/kg BW CCl_4 对大鼠染毒后 12 h 肝组织中 MDA 含量显著性升高;GSH 含量 12~48 h 显著性升高。结果见表 2。
- 2.3 以 160 mg/kg BW CCl_4 对大鼠染毒后血清 TG 无明显变化,肝组织中 TG 含量 12 h 显著性升高,48 h 后

恢复正常。结果见表 3。

表 1 CCl₄ 对大鼠血清 GPT、GPT 的影响

组 别	动物数	GPT U/L	GOT U/L
阴性对照	10	26.8 ±0.43	175.9 ±18.09
12 h 组	10	103.4 ±39.67 ⁽¹⁾	392.7 ±37.11 ⁽¹⁾
24 h 组	10	253.6 ±16.23 ⁽¹⁾	532.8 ±50.84 ⁽¹⁾
48 h 组	10	127.5 ±75.76 ⁽¹⁾	292.1 ±66.49 ⁽¹⁾
72 h 组	10	35.9 ±16.02	224.7 ±73.06

注:与阴性对照组比较:(1) $P < 0.01$ 。

表 2 CCl₄ 对大鼠肝脏 MDA、GSH 的影响

组 别	动物数	MDA nmol/ mg 蛋白	GSH μmol/ g 肝重
阴性对照	10	2.53 ±0.59	368.7 ±25.04
12 h 组	10	5.17 ±1.17 ⁽²⁾	488.4 ±42.28 ⁽²⁾
24 h 组	10	2.94 ±0.70	454.9 ±34.08 ⁽²⁾
48 h 组	10	3.01 ±1.25	389.2 ±22.25 ⁽¹⁾
72 h 组	10	4.00 ±3.67	394.4 ±50.24

注:与阴性对照组比较:(1) $P < 0.05$, (2) $P < 0.01$ 。

表 3 CCl₄ 对大鼠血清和肝脏 TG 的影响

组 别	动物数	血清 TG mg/ dL	肝 TG mg/ 10 g 肝组织
阴性对照	10	31.42 ±7.41	60.54 ±20.30
12 h 组	10	26.15 ±3.86	113.77 ±20.84 ⁽²⁾
24 h 组	10	35.73 ±7.82	77.22 ±7.37 ⁽¹⁾
48 h 组	10	32.09 ±10.67	57.87 ±8.19
72 h 组	10	29.70 ±5.55	77.36 ±19.88

注:与阴性对照组比较:(1) $P < 0.05$, (2) $P < 0.01$ 。

2.4 病理组织学检查结果显示染毒后 12、24、48 h 各组大鼠肝脏均出现典型四氯化碳中毒的病理变化,主要表现为弥漫性肝小叶中心带中间带肝细胞气球样变伴小叶中心管肝细胞胞浆凝聚。72 h 组大鼠肝脏病变较轻,仅可见个别肝小叶中心散在单个细胞气球样变及小点状炎细胞浸润。

3 讨论 四氯化碳对肝细胞的损伤作用使肝细胞内 GPT、GOT 释出,引起血清中该酶的活性大大提高。四氯化碳的毒性作用机理是多方面的,是脂质

过氧化作用,三氯甲烷自由基与蛋白质共价结合导致蛋白质合成抑制和脂质分泌能力降低,后者可引起肝细胞内 TG 的蓄积。^[3,4]MDA 是脂质过氧化作用的代谢产物,含量高可反映脂质过氧化的程度。GSH 是由以半胱氨酸、谷氨酸与甘氨酸为原料的三肽物质,具有多种主要的生理功能,解毒功能是其中之一,很多能形成亲电子代谢产物的化学毒物能直接或间接打击 GSH,使其耗竭。但以较低剂量的四氯化碳染毒时可出现肝脏 GSH 含量代偿性增高。^[5]

本次研究结果表明:检测四氯化碳所致肝损伤可在染毒后 12 ~ 48 h 测定血清 GPT、GOT,进行肝脏病理组织学检查。此外,肝组织中 MDA、GSH 和 TG 含量的测定也可作为检测的辅助指标,有助于评价保健食品的保肝功能。

参考文献:

[1] 江泉观. 基础毒理学[M]. 北京:化学工业出版社,1991,132 ~ 143
[2] 徐叔云,等. 药理实验方法学[M]第 2 版. 北京:人民卫生出版社,1991,506
[3] Nishida K,et al. Preventive effect of gamma - glutamylcysteinylethyl ester on carbon tetrachloride - induced hepatic triglyceride accumulation in mice[J]. Toxicol Lett,1998,95(2):141 - 146
[4] Turton JA,et al. Reduction of liver taurine in rats by beta - alanine treatment increases carbon tetrachloride toxicity[J]. Toxicology,1993,77(1 - 2):7 ~ 20
[5] 周建伟,等. 牛磺酸对四氯化碳所致肝损伤保护作用的探讨[J]. 卫生毒理学杂志,1995,9(4):231 ~ 233

Study on sensitive indexes of acute liver damage induced by carbon tetrachloride/ Tong Ying,Yan Xiangdong, Gao Shan,et al. // Chinese Journal of Food Hygiene. - 2000,12(6):10 ~ 12

To study the time effect pattern of biochemical indexes and liver pathological damage in acute live damage rats reducde by carbon tetrachloride, the male wistar rats were fed with carbon tetrachloride with the dose of 160

mg/kg BW. The biochemical indexes and liver pathological damages after 12, 24, 48, and 72 hours were detected. The serum GPT, GOT increased significantly compared with controls and the peak time was 24 hours, after 72 hours get right. MDA, TG and GSH increased separately after 12 hr, 12 ~ 48 hr, 12 ~ 48 hr in liver. Typical liver pathological change could be seen after 12, 24, 48 hours. It can be concluded that serum GPT, GOT and liver pathological damages after 12 ~ 48 hours could be detected to measure acute liver damage induced by carbon tetrachloride. The MDA, GSH and TG in liver could be detected as secondary indexes, in order to assess health foods.

Author's address Tong Ying, Beijing Municipal Center for Hygiene and Epidemic control, 100013 PRC

Key words Disease Models, Animal Carbon Tetrachloride Liver Diseases Rats, Wistar

关于召开“第二届中日维生素国际学术研讨会”的征文通知

由中华预防医学会与日本维生素学会主办的“第二届中日维生素国际学术研讨会”定于 2001 年 10 月份在上海召开。现将征文要求通知如下：

一、征文内容：维生素的基础研究；维生素测定方法的进展；维生素与儿童、青少年生长发育的关系；维生素与生殖健康的关系；维生素与抗衰老、提高免疫力的关系；维生素与慢性非传染性疾病的关系；维生素防治各种疾病的临床研究；对富含各种维生素的动、植物、食品、药品的研究等。

二、征文要求：论文需送打印的全文及 500—800 字中、英文摘要各一份，同时通过邮局汇 30 元论文评审费，终审稿选用与否均不退稿；来稿写明作者姓名、单位、通讯地址、邮编、电话，并加盖公章；征文截止日期为 2001 年 5 月底。

三、论文刊登：入选论文刊登在“第二届中日维生素国际学术研讨会”论文汇编上并向作者颁发中华预防医学会论文证书；优秀论文在大会或分组会上交流，并设论文壁报；向所有参会代表颁发卫生部继续医学教育学分证书。

四、会议具体时间及地点另行通知。

五、联系办法：单位：中华预防医学会 地址：北京市西城区鼓楼西大街 154 号（邮编：100009）

电话：010—84039863 传真：010—84039873、64012329 联系人：李军、金庆武

中华预防医学会
二 000 年七月二十日

关于征集“维生素与健康”科普文章的通知

为响应 WHO 提出的“2000 年人人享有卫生保健”的号召，普及健康知识，配合 2001 年 10 月在上海召开的“第二届中日维生素国际学术研讨会”，我会决定面向社会征集“维生素与健康”科普文章，具体办法如下：

一、征文内容：维生素与儿童、青少年健康；维生素与妇女健康；维生素与抗衰老、提高免疫力；维生素与疾病；富含维生素的食品等。

二、要求：文章在 2000 字以内，打印，不退稿、不查询，请自留底稿；作者应注明单位、地址、邮编、电话，以便联系；截止日期 2001 年 3 月底（以当地邮戳为准）。

三、刊登：优秀文章将于 2001 年 7—9 月份在主办单位选定的有关报刊刊登发表；优秀文章、入选文章录入主办单位印制的科普宣传手册。

四、奖励：向优秀文章、入选文章作者颁发中华预防医学会科普文章荣誉证书；对优秀文章将进行奖励。

五、联系办法：单位：中华预防医学会 地址：北京市西城区鼓楼西大街 154 号（邮编：100009）

电话：010—84039863 传真：010—84039873、64012329 联系人：李军、金庆武

中华预防医学会
二 000 年七月二十八日