

胡黄连苷II对CCl₄致大鼠急性肝损伤的保肝利胆作用研究

谭 琴¹, 李 鹏¹, 丁选胜^{2*}

1. 扬子江药业集团有限公司, 江苏 泰州 225321

2. 中国药科大学, 江苏 南京 211198

摘要: 目的 研究胡黄连苷II对四氯化碳(CCl₄)诱导的大鼠急性肝损伤的保肝和利胆作用。方法 保肝作用和利胆作用研究各选取60只健康SD大鼠,均随机分为6组:对照组、模型组、溶剂对照组和胡黄连苷II低、中、高剂量(2.5、5.0、10.0 mg·kg⁻¹)组,除对照组外,其余5组大鼠分别1次性ip给予CCl₄油溶液(50%橄榄油、2 mL·kg⁻¹)制备急性肝损伤模型。保肝作用研究:在造模后3、24和48 h ig给药1次,对照组和模型组ig给予等体积生理盐水,溶剂对照组ig给予等体积溶剂,试剂盒检测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(TBIL)、总胆汁酸(TBA)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-8(IL-8)及白细胞介素-6(IL-6)水平和肝组织中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽S转移酶(GST)、谷胱甘肽(GSH)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平;HE染色观察肝组织病理改变。利胆作用研究:大鼠造模12 h之后进行胆管插管,并通过十二指肠给药,给药前及给药后30、60、90及120 min分别记录胆汁流量。结果 与模型组比较,胡黄连苷II能显著降低血清中肝功能生化指标ALT、AST、ALP、TBA和TBIL水平($P < 0.01$);显著降低大鼠肝脏MDA水平,并显著增加肝脏SOD、CAT、GSH、GST及GSH-Px水平($P < 0.01$);显著降低血清TNF-α、IL-6及IL-8水平($P < 0.01$),且呈剂量相关性。胡黄连苷II各剂量均可不同程度减轻模型大鼠肝脏病变范围与程度。与模型组比较,各给药后时间点胡黄连苷II均可显著增加胆汁流量($P < 0.01$),且呈剂量相关性。结论 胡黄连苷II能显著缓解CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤并增加胆汁流量。

关键词: 胡黄连苷II; 急性肝损伤; 肝脏保护; 利胆; 氧化应激; 炎症

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 07-1343-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.07.015

Study on hepatoprotective and choleric effects of picroside II on CCl₄-induced acute liver injury in rats

TAN Qin¹, LI Peng¹, DING Xuansheng²

1. Yangtze River Pharmaceutical Co., Ltd., Taizhou 225321, China

2. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: Objective To study the hepatoprotective and choleric effects of picroside II on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute liver injury in rats. **Methods** Sixty healthy SD rats were selected respectively for liver protection and cholagogic effects, and were randomly divided into six groups respectively: control group, model group, solvent control group and picroside II low-dose, medium-dose and high-dose (2.5, 5.0, 10.0 mg·kg⁻¹) groups. Except for the control group, rats were given CCl₄ oil solution (50% olive oil, 2 mL·kg⁻¹) by ip once to prepare acute liver injury model. Study on liver protection: The drug was administered once at 3, 24 and 48 h after modeling, control group and model group were ig given equal volume of normal saline, and solvent control group was ig given equal volume of solvent. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (TBIL), total bile acid (TBA), tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-6 (IL-6) in serum and malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione S transferase (GST), glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in liver tissues were detected by kit method. HE staining was used to observe the pathological changes of liver tissue. Cholagogic effect study: Bile duct intubation was performed 12 h after rat modeling, and bile flow was recorded before and 30, 60, 90 and 120 min after administration. **Results** Compared with model group,

收稿日期: 2021-12-30

第一作者: 谭 琴,研究方向中药新药研究。E-mail: tanqin@yangzijiang.com

*通信作者: 丁选胜,研究方向心血管药理。E-mail: dxs0162@sina.com

picroside II could significantly reduce the levels of ALT, AST, ALP, TBA and TBIL in serum ($P < 0.01$), increased the levels of SOD, CAT, GSH, GST and GSH-Px in liver significantly ($P < 0.01$), significantly decreased serum TNF- α , IL-6 and IL-8 levels ($P < 0.01$), in a dose-dependent manner. The range and degree of liver lesions in model rats could be alleviated by different doses of picroside II. Compared with model group, picroside II significantly increased bile flow at time points after administration ($P < 0.01$), in a dose-dependent manner. **Conclusion** Picroside II could alleviate CCl₄-induced acute liver injury and cholestasis in rats.

Key words: picroside II; acute liver injury; hepatoprotective; choleric; oxidative stress; inflammation

化学性肝损伤是由化学性肝毒性物质所造成的肝损伤。日常生活中,化学性有害物质会通过胃肠道、血液循环进入肝脏进行转化,因此,肝脏容易受到毒性物质的损害,造成化学性肝损伤。化学毒物种类繁多,如从事有毒物质的生产及使用、工业三废(废气、废水、废渣)、农药;车辆废气、生活煤烟以及某些日用化学品(如酒精);生活中接触的化学物质,比如腌制食品(泡菜、腊肉等)中的亚硝酸盐、衣物干洗剂中的四氯化碳(CCl₄);药物以及饮食中存在的有毒元素等。因此,化学性肝毒性物质引起的肝损伤是比较常见的,这些毒性物质在人群中普遍易感,潜伏期短,病变的过程与接触的毒性物质剂量直接相关,可引起肝脏不同程度的肝细胞坏死、脂肪变性、肝硬化和肝癌。然而,治疗化学性肝损伤的药物非常有限,过多使用护肝药还可能导致肝损伤进一步加重^[1],因此寻找新型的安全有效的用于治疗化学性肝损伤的药物非常必要和迫切。

胡黄连苷II是胡黄连的主要成分之一^[2]。大量研究表明,胡黄连苷II具有广泛的药理作用,包括抗炎、抗氧化以及抗细胞凋亡等^[3],且胡黄连苷II在预防和治疗某些疾病方面具有强大的潜力,例如器质性缺血/再灌注(I/R)损伤、肝损伤、炎症、癌症转移和血管生成等^[4]。值得注意的是,胡黄连苷II可以显著缓解多种化学物质及其他病因诱导的肝损伤。研究表明^[5-6]胡黄连苷II可以缓解由 α -萘基异噻唑酸酯(α -naphthylisothiocyanate, ANIT)诱导的肝损伤,并可通过调节胆汁合成、摄取、排泄及代谢相关蛋白抑制胆汁淤积;胡黄连苷II可改善重度急性胰腺炎诱导的大鼠肝细胞损伤^[7];胡黄连苷II可显著降低由D-氨基半乳糖(D-GalN)和脂多糖(LPS)诱导的急性肝脏损伤小鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天氨酸氨基转移酶(AST)的水平^[8];胡黄连苷II可显著缓解由CCl₄、D-GalN和对乙酰氨基酚(AP)诱导的肝细胞损伤^[9]。肝损伤会造成胆汁淤积,而胆汁淤积可进一步加重肝损伤^[10]。胡黄连苷II对CCl₄诱导的肝损伤作用及机制研究很少亦不全面,且尚无胡黄连苷II对CCl₄诱导的肝损伤模

型中胆汁排泄作用的研究。基于此,本研究在CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤模型中,通过检测肝功能生化指标、肝脏脂质过氧化指标、血清炎症因子水平及肝脏病理系统探讨胡黄连苷II对肝损伤的改善作用,通过检测给药前及给药后各时间点各组大鼠胆汁流量探讨胡黄连苷II对胆汁排泄的作用,为胡黄连苷II用于治疗化学性肝损伤及胆汁淤积提供依据。

1 材料

1.1 药物及化学试剂

胡黄连苷II原料药(批号20141215,白色粉末状固体,由扬子江药业集团有限公司提供);CCl₄(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司);橄榄油(化学纯,上海凌峰化学试剂有限公司);氯化钠注射液(辰欣药业股份有限公司);甲醛溶液(分析纯,西陇化工股份有限公司);甘油(Amresco公司)。

ALT检测试剂盒、AST检测试剂盒、总蛋白定量测试盒、碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒、总胆汁酸(TBA)检测试剂盒、总胆红素(TBIL)检测试剂盒、丙二醛(MDA)检测试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒、过氧化氢酶(CAT)检测试剂盒、谷胱甘肽(GSH)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)检测试剂盒、谷胱甘肽S转移酶(GST)检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-6(IL-6)ELISA Kit均购自南京翼飞雪生物科技有限公司。

1.2 动物、饲料及垫料

SPF级健康SD大鼠,雌雄各半,10周龄,体质量180~220 g,由浙江省试验动物中心提供,实验动物生产许可证号SCXK(浙)2014-0001。饲养于SPF级屏障动物房,雌雄分笼饲养,每笼5只,自由进食饮水。实验鼠颗粒饲料,购自南京市江宁区青龙山动物繁殖场,其质量符合GB/T14924.9-2001;辐照灭菌颗粒垫料,购自南京市江宁区青龙山动物繁殖场,外包装紫外线照射灭菌后使用。动物实验经中国药科大学实验动物伦理委员会批准。

2 方法

2.1 药物配制

胡黄连苷 II 溶剂为甘油、聚乙二醇400(PEG400)和蒸馏水的混合物,甘油质量分数为19%,PEG400质量分数为70.5%,蒸馏水质量分数为10.5%。将胡黄连苷 II 原料用配好的溶剂溶解,配成终质量浓度为0.25、0.50、1.00 mg·mL⁻¹的药物溶液,药物溶液现配现用,放置时间不超过12 h。

2.2 动物分组、造模及给药

保肝作用研究和利胆作用研究各选取60只健康SD大鼠。大鼠适应性饲养1周后,按照体重随机分为6组:对照组、模型组、溶剂对照组和胡黄连苷 II 低、中、高剂量(2.5、5.0、10.0 mg·kg⁻¹)组。除对照组外,其余5组大鼠分别1次性ip给予CCl₄油溶液(50% 橄榄油、2 mL·kg⁻¹)制备急性肝损伤模型^[1]。

2.2.1 保肝作用研究 在造模后3、24、48 h,对照组和模型组ig给予等体积生理盐水,溶剂对照组ig给予等体积溶剂,给药组分别ig给予相应剂量的胡黄连苷 II,给药体积均为10 mL·kg⁻¹。于末次给药后12 h,各组大鼠眼眶取血(取血前大鼠禁食12 h),分离血清,检测生化指标。取血后,大鼠脱颈椎处死,解剖,取肝脏。然后将肝左叶剪取一部分,用10%中性福尔马林固定,剩余肝脏按测定需求分别用锡纸包裹,做好标记,置于-80 °C保存备用。

2.2.2 利胆作用研究 造模后12 h(禁食不禁水),各组大鼠以25%乌拉坦(3.5 mL·kg⁻¹)ip麻醉后,仰位固定于固定板上,沿腹正中线切开2 cm,打开腹腔,找到胃幽门部,翻转十二指肠,在十二指肠降部肠系膜中找到白色有韧性的胆管,在其下穿2根丝线,结扎乳头部,向肝脏方向作“V”形切口,行胆管插管,用小烧杯收集胆汁,注意避光。手术后用止血钳夹闭腹壁,以生理盐水纱布覆盖。待稳定20 min后,先收集30 min胆汁,然后给药组大鼠由十二指肠按10 mL·kg⁻¹体质量给予不同剂量的胡黄连苷 II,溶剂对照组注入等体积溶剂,模型组、对照组注入等体积生理盐水。给药后每隔30 min收集胆汁1次,共4次,记录胆汁流量。

2.3 指标检测

2.3.1 肝功能生化指标 各组取适量血清按照试剂盒说明书方法测定ALT、AST、ALP、TBIL及TBA水平。

2.3.2 肝脏氧化应激指标 取各组大鼠肝左叶,称质量,按比例(100 mg组织:1 mL生理盐水)加入生

理盐水,在冰上充分研磨成肝组织匀浆,3 000 rmin⁻¹、4 °C离心10 min,取上清液,用生理盐水稀释5倍后,用总蛋白定量试剂盒进行蛋白测定。取适量肝组织匀浆按照试剂盒说明书方法测定SOD、CAT、GSH-Px、GST、GSH及MDA水平。

2.3.3 炎症因子 取适量血清按照ELISA试剂盒说明书方法测定TNF- α 、IL-6及IL-8水平。

2.4 肝脏病理组织学观察(HE染色)

固定于10%中性福尔马林中的肝脏组织,委托江苏省中西医结合医院病理科进行组织脱水,浸蜡、包埋及切片,并进行常规HE染色,光镜下观察肝脏病理学改变。

2.5 统计分析

利用Excel进行试验数据录入,采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较采用单因素方差分析,方差齐时采用Bonferroni法,方差不齐时采用Dunnett's T3法。

3 结果

3.1 胡黄连苷 II 缓解CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤

3.1.1 胡黄连苷 II 降低血清中肝功能生化指标水平 与对照组大鼠比较,模型组和溶剂对照组大鼠血清ALT、AST、ALP、TBA和TBIL水平均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,溶剂对照组各指标水平无显著性差异,胡黄连苷 II 能显著降低各指标水平($P < 0.01$),且呈剂量相关性。结果见表1。

3.1.2 胡黄连苷 II 改善肝脏脂质过氧化 与对照组比较,模型组和溶剂对照组肝脏中MDA水平显著升高,SOD、CAT、GST、GSH及GSH-Px均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,溶剂对照组各指标含量无显著性差异,胡黄连苷 II 可显著降低大鼠肝脏MDA水平,并显著增加肝脏SOD、CAT、GSH、GST及GSH-Px水平($P < 0.01$),且呈剂量相关性。结果见表2。

3.1.3 胡黄连苷 II 降低血清炎症因子水平 与对照组比较,模型组和溶剂对照组大鼠血清中TNF- α 、IL-6及IL-8水平均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,溶剂对照组各指标含量无显著性差异,胡黄连苷 II 可显著降低大鼠血清TNF- α 、IL-6及IL-8水平($P < 0.05$ 、0.01),且呈剂量相关性。结果见表3。

3.1.4 胡黄连苷 II 改善大鼠肝脏病理情况 光镜下镜检发现,对照组大鼠肝组织正常,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝索排列规则有序;模型组肝细胞胞浆疏松、细胞核缩小,有点块状坏死及水泡样病变,肝小叶结构改变程度严重,门管区

表1 胡黄连苷II对CCl₄诱导大鼠急性肝损伤后肝功能生化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effects of picroside II on biochemical indexes of liver function in rats with acute liver injury induced by CCl₄ ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	TBA/(μmol·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	11.05±3.37	19.39±2.29	72.9±24.2	18.39±3.13	3.13±0.85
模型	—	75.73±6.19**	82.11±13.78**	424.6±40.8**	85.59±5.71**	14.83±2.93**
溶剂对照	—	79.86±9.32**	87.22±20.10**	418.1±38.4**	90.81±11.30**	12.62±2.01**
胡黄连苷II	2.5	51.76±7.01 [#]	64.73±6.95 [#]	321.0±58.7 [#]	67.80±9.24 [#]	10.07±1.47 [#]
	5.0	37.42±6.41 [#]	50.83±10.20 [#]	237.4±42.5 [#]	44.51±7.44 [#]	7.66±2.00 [#]
	10.0	26.00±4.60 [#]	38.19±9.77 [#]	164.2±30.8 [#]	30.87±4.79 [#]	5.30±0.84 [#]

与对照组比较:**P<0.01;与模型组比较:[#]P<0.01

**P<0.01 vs control group; [#]P<0.01 vs model group

表2 胡黄连苷II对CCl₄诱导大鼠急性肝损伤肝脏脂质过氧化指标的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effects of picroside II on indexes of hepatic lipid peroxidation in rats with acute liver injury induced by CCl₄ ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	MDA (nmol·mg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	GSH/(μmol·g ⁻¹)	GST/(U·mg ⁻¹)	GSH-Px/(μmol·g ⁻¹)
对照	—	2.34±0.30	19.19±1.35	48.19±3.82	32.90±3.15	72.88±5.65	1 208.25±117.3
模型	—	15.64±1.76**	5.54±1.07**	14.98±1.99**	11.15±2.18**	33.86±3.36**	392.51±52.84**
溶剂对照	—	15.47±2.39**	6.45±1.37**	15.98±2.47**	12.27±3.50**	36.03±5.10**	402.69±56.44**
胡黄连苷II	2.5	10.41±1.90 [#]	9.03±1.04 [#]	20.42±2.58 [#]	16.27±3.04 [#]	43.94±3.90 [#]	595.97±39.6 [#]
	5.0	7.42±1.13 [#]	11.56±1.13 [#]	26.74±2.77 [#]	24.32±2.30 [#]	55.27±5.63 [#]	716.53±33.41 [#]
	10.0	5.10±0.77 [#]	15.16±2.06 [#]	33.29±3.12 [#]	28.16±2.36 [#]	64.45±5.89 [#]	829.14±56.48 [#]

与对照组比较:**P<0.01;与模型组比较:[#]P<0.01

**P<0.01 vs control group; [#]P<0.01 vs model group

表3 胡黄连苷II对CCl₄诱导大鼠急性肝损伤血清炎症因子的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effects of picroside II on serum inflammatory factors in rats with acute liver injury induced by CCl₄ ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF-α/(ng·L ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	IL-8/(ng·L ⁻¹)
对照	—	26.93±1.46	16.89±1.45	61.62±5.60
模型	—	53.60±3.85**	52.76±3.99**	114.46±5.96**
溶剂对照	—	57.04±3.37**	55.68±4.01**	119.31±6.07**
胡黄连苷II	2.5	46.40±3.66 [#]	45.56±3.92 [#]	99.84±8.33 [#]
	5.0	37.85±1.48 [#]	36.66±3.55 [#]	83.07±5.80 [#]
	10.0	31.22±2.23 [#]	30.02±3.48 [#]	71.51±6.51 [#]

与对照组比较:**P<0.01;与模型组比较:[#]P<0.05 [#]P<0.01

**P<0.01 vs control group; [#]P<0.05 [#]P<0.01 vs model group

有大量炎细胞浸润;溶剂对照组大鼠肝脏病变与模型组类似;胡黄连苷II各剂量组均可不同程度减轻病变范围与程度。结果见图1。

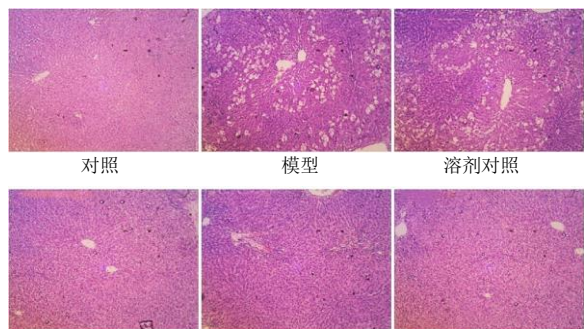
3.2 胡黄连苷II增加CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤的胆汁流量

与对照组比较,给药前及给药后各时间点造模组大鼠胆汁流量显著减少(P<0.01);与模型组比

较,给药前及各给药后时间点溶剂对照组胆汁流量无显著差异,给药后各时间点不同剂量胡黄连苷II均可显著增加胆汁流量(P<0.01),且呈剂量相关性,给药后90 min胆汁流量增加达到顶峰(图2)。

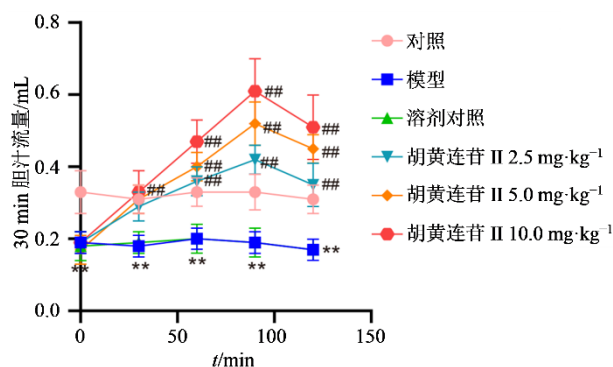
4 讨论

CCl₄诱导的急性肝损伤动物模型是经典的化学性肝损伤模型,也是筛选防治肝损伤药物药效最常



胡黄连苷 II 2.5 mg·kg⁻¹ 胡黄连苷 II 5.0 mg·kg⁻¹ 胡黄连苷 II 10.0 mg·kg⁻¹
图1 胡黄连苷 II 对 CCl₄ 诱导的大鼠急性肝损伤肝组织病理改变的影响(100×)

Fig. 1 Effects of picoside II on pathological changes of liver tissue in CCl₄-induced acute liver injury in rats (100×)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$
 ** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group

图2 胡黄连苷 II 对 CCl₄ 诱导大鼠急性肝损伤胆汁流量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 2 Effects of picoside II on bile flow in rats with acute liver injury induced by CCl₄ ($\bar{x} \pm s, n=10$)

用的模型之一^[12]。目前肝损伤的临床诊断主要以血清生化指标和病理学检查为主,肝损伤标志物如AST、ALT是诊断肝损伤的重要指标,当肝细胞炎症、坏死时肝细胞受损,转氨酶被释放入血,导致血清转氨酶水平显著升高^[13]。ALP与肝损伤和胆汁淤积两者都有密切的关系,是分析病情的重要参考指标^[14]。另外,血清TBIL升高,提示肝细胞遭受破坏,空腹血清TBA的增高可提示肝细胞实质损害,并可作为早期敏感指征^[15]。因此,检测血清中AST、ALT、ALP、TBIL及TBA水平可反映肝脏损伤程度。本研究中,大鼠ip CCl₄后血清中AST、ALT、ALP、TBIL及TBA水平显著增加,肝脏病理切片显示肝脏细胞肿大、肝细胞坏死,这与已有的CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤结果一致^[16-17],提示造模成功。ig给予梯度浓度的胡黄连苷II后,发现胡黄连苷II可以剂量相关性地降低血清中AST、ALT、ALP、TBIL及TBA水平且肝细胞坏死显著减少,较少细

胞呈现水样变性和气球样变,肝细胞损伤症状大幅缓解,提示胡黄连苷II可缓解CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤,并可能对胆道功能及胆汁排泄具有调节作用。已有的关于胡黄连苷II缓解化学性物质诱导的急性肝损伤的研究多集中在对AST和ALT的检测^[5,7,9],在本研究中,增加了对ALP、TBIL及TBA的检测,更加全面地反映了胡黄连苷II对CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤的缓解作用,以及对胆道功能的可能调节作用。

大量研究表明氧化应激和炎症反应是诱发肝损伤的2大病理过程^[18-19]。CCl₄进入肝细胞,被细胞色素P4502E1(CYP2E1)代谢产生三氯甲基自由基,能不可逆地结合脂质、蛋白质、核酸等肝脏大分子,从而诱导肝脏中的脂质过氧化反应,攻击并破坏与磷脂有关的脂肪酸,影响线粒体、内质网和质膜的通透性,导致细胞内稳态的丧失,引起细胞的损伤,导致大量脂质过氧化活性产物的生成,例如MDA等^[20]。肝细胞含有防御系统来消除这些自由基并限制损伤,其中主要包括GSH、SOD、GST和CAT等以发挥抗氧化作用,自由基引发的促氧化剂和抗氧化剂之间的不平衡导致氧化应激,有效抑制氧化应激可控制肝损伤进展^[21-22]。本研究发现与模型组比较,胡黄连苷II能以剂量相关性的方式抑制肝脏组织中MDA的产生,并增加SOD、GSH、GSH-Px及GST的含量,可见胡黄连苷II能抑制CCl₄诱导的肝脏脂质过氧化及氧化应激,从而缓解肝损伤。这与以往对胡黄连苷II通过改善氧化应激缓解急性肝损伤的报道相一致^[9]。

越来越多的证据表明,CCl₄引发的氧化应激直接导致肝细胞坏死和凋亡,释放损伤相关分子模式(DAMPs)。这些DAMPs通过模式识别受体(PRRs)激活肝脏中的先天免疫细胞,产生促炎介质如TNF- α 、IL-6及IL-8等放大炎症反应,从而加重急性肝损伤^[23-24]。为了研究胡黄连苷II对CCl₄诱导的急性肝损伤的保护作用是否与抑制促炎症细胞因子产生有关,本课题组检测了血清中TNF- α 、IL-6及IL-8的水平。结果表明,胡黄连苷II剂量相关性地抑制CCl₄诱导的促炎细胞因子的产生,从而减轻肝脏炎症反应。之前的研究表明,胡黄连苷II可显著降低重度胰腺炎诱导的大鼠肝损伤模型肝组织中TNF- α 、IL-1及IL-6的水平^[7],本研究在CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤模型中检测了胡黄连苷II对血清中TNF- α 、IL-6及IL-8水平的影响,为胡黄连苷II缓解化学性肝损伤的作用及机制提供进一步的依据。

胆汁淤积会导致肝细胞坏死或凋亡,从而导致肝纤维化并最终危及生命^[25]。因此,本实验研究了胡黄连苷II对CCl₄诱导的急性肝损伤模型动物胆汁流量的影响,结果发现,胡黄连苷II可以剂量相关性地增加胆汁流量,从而缓解胆汁淤积。尽管,有研究表明,胡黄连苷II可以改善肝损伤模型中的胆汁淤积,但尚无胡黄连苷II改善CCl₄诱导的肝损伤中胆汁淤积的报道^[5-6],本研究进一步表明,胡黄连苷II具有改善化学性肝损伤胆汁淤积的作用。

本研究表明,胡黄连苷II可能通过抑制肝脏脂质过氧化、抑制肝脏促炎性细胞因子的产生以及促进胆汁排泄缓解CCl₄诱导的急性肝损伤,为开发保肝利胆药物提供实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Gu X S, Manautou J E. Molecular mechanisms underlying chemical liver injury [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2012, 14: e4.
- [2] Yang X B, Gao W J, Wang B, et al. Picroside II inhibits RANKL-mediated osteoclastogenesis by attenuating the NF- κ B and MAPKs signaling pathway *in vitro* and prevents bone loss in lipopolysaccharide treatment mice [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(12): 4479-4486.
- [3] Wang Y K, Hong Y J, Zhang C Y, et al. Picroside II attenuates hyperhomocysteinemia-induced endothelial injury by reducing inflammation, oxidative stress and cell apoptosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(1): 464-475.
- [4] Ma S Y, Wang X Y, Lai F F, et al. The beneficial pharmacological effects and potential mechanisms of picroside II: Evidence of its benefits from *in vitro* and *in vivo* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130: 110421.
- [5] Li T T, Zheng R Y, Xu L J, et al. Picroside II alleviates liver injury induced by alpha-naphthylisothiocyanate through AMPK-FXR pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 408: 115248.
- [6] Li T T, Xu L J, Zheng R Y, et al. Picroside II protects against cholestatic liver injury possibly through activation of farnesoid X receptor [J]. *Phytomedicine*, 2020, 68: 153153.
- [7] Piao X H, Sui X D, Liu B H, et al. Picroside II improves severe acute pancreatitis-induced hepatocellular injury in rats by affecting JAK2/STAT3 phosphorylation signaling [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 9945149.
- [8] Gao H, Zhou Y W. Inhibitory effect of picroside II on hepatocyte apoptosis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, 26(6): 729-736.
- [9] Gao H, Zhou Y W. Anti-lipid peroxidation and protection of liver mitochondria against injuries by picroside II [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(24): 3671-3674.
- [10] Strnad P, Tacke F, Koch A, et al. Liver-guardian, modifier and target of sepsis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(1): 55-66.
- [11] Taniguchi M, Takeuchi T, Nakatsuka R, et al. Molecular process in acute liver injury and regeneration induced by carbon tetrachloride [J]. *Life Sci*, 2004, 75(13): 1539-1549.
- [12] Dai C S, Xiao X L, Li D W, et al. Chloroquine ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice via the concomitant inhibition of inflammation and induction of apoptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(12): 1164.
- [13] Xu L, Yu Y F, Sang R, et al. Protective effects of taraxasterol against ethanol-induced liver injury by regulating CYP2E1/Nrf2/HO-1 and NF- κ B signaling pathways in mice [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 8284107.
- [14] Kamal N, Koh C, Samala N, et al. Asparaginase-induced hepatotoxicity: Rapid development of cholestasis and hepatic steatosis [J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(5): 641-648.
- [15] Xiong X, Ren Y Q, Cui Y, et al. Obeticholic acid protects mice against lipopolysaccharide-induced liver injury and inflammation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 1292-1298.
- [16] Ramos-Tovar E, Hernández-Aquino E, Casas-Grajales S, et al. *Stevia* prevents acute and chronic liver injury induced by carbon tetrachloride by blocking oxidative stress through Nrf2 upregulation [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 3823426.
- [17] Tang L, Wang F X, Xiao L Y, et al. Yi-Qi-Jian-Pi formula modulates the PI3K/AKT signaling pathway to attenuate acute-on-chronic liver failure by suppressing hypoxic injury and apoptosis *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 280: 114411.
- [18] Reyes-Gordillo K, Shah R, Muriel P. Oxidative stress and inflammation in hepatic diseases: Current and future therapy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 3140673.
- [19] Ning C Q, Gao X G, Wang C Y, et al. Hepatoprotective effect of ginsenoside Rg₁ from *Panax ginseng* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury by activating Nrf2 signaling pathway in mice [J]. *Environ Toxicol*, 2018, 33(10): 1050-1060.
- [20] Zhang X, Kuang G, Wan J Y, et al. Salidroside protects

- mice against CCl₄-induced acute liver injury via down-regulating CYP2E1 expression and inhibiting NLRP3 inflammasome activation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 85: 106662.
- [21] Wang M L, Niu J L, Ou L N, et al. Zerumbone protects against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute liver injury in mice via inhibiting oxidative stress and the inflammatory response: Involving the TLR4/NF- κ B/COX-2 pathway [J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1964.
- [22] Wang Q, Wei S, Zhou H M, et al. Hyperglycemia exacerbates acetaminophen-induced acute liver injury by promoting liver-resident macrophage proinflammatory response via AMPK/PI3K/AKT-mediated oxidative stress [J]. *Cell Death Discov*, 2019, 5: 119.
- [23] Martin S J. Cell death and inflammation: The case for IL-1 family cytokines as the canonical DAMPs of the immune system [J]. *FEBS J*, 2016, 283(14): 2599-2615.
- [24] He Y, Li S L, Tang D M, et al. Circulating Peroxiredoxin-1 is a novel damage-associated molecular pattern and aggravates acute liver injury via promoting inflammation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 137: 24-36.
- [25] Yu L X, Liu X X, Yuan Z H, et al. SRT1720 alleviates ANIT-induced cholestasis in a mouse model [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 256.

[责任编辑 兰新新]