

# 白马骨水提物对急性肝损伤小鼠氧化应激及炎症反应的影响

高雅<sup>1</sup>, 王刚<sup>1</sup>, 杜沛霖<sup>2</sup>, 陈春<sup>1</sup>, 曹后康<sup>1</sup>, 蒯博婷<sup>1</sup>, 张可锋<sup>1,3\*</sup>

(1. 桂林医学院, 广西 桂林 541004; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001;  
3. 甘肃中医药大学, 兰州 730000)

**[摘要]** 目的: 基于氧化应激及炎症反应, 研究白马骨水提物对急性肝损伤小鼠的保护作用机制。方法: 将 60 只小鼠随机分为正常组, 模型组, 阳性组(水飞蓟素  $0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 和白马骨高、中、低剂量 ( $4, 2, 1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 组, 每组 10 只。连续灌胃给药 7 d, 末次给药 2 h 后, 除正常组外, 其余各组小鼠均腹腔注射  $0.12\%$  四氯化碳 ( $\text{CCl}_4$ ) 花生油溶液 ( $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 建立小鼠急性肝损伤模型。16 h 后, 眼球取血, 并收取肝脏。生化法检测血清中丙氨酸氨基转移酶 (ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶 (AST), 总胆红素 (TBIL), 直接胆红素 (DBIL), 总超氧化物歧化酶 (T-SOD), 丙二醛 (MDA), 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 以及一氧化氮 (NO) 水平; 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测肝组织中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 白细胞介素- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) 和 IL-6 水平; 蛋白质印迹法 (Western blot) 分析肝组织中核转录因子- $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) 蛋白的表达情况; 显微观察肝组织病理变化。结果: 与正常组比较, 模型组血清中 ALT, AST, TBIL, DBIL, MDA 及 NO 的水平显著升高, T-SOD 和 GSH-Px 的活性降低 ( $P < 0.01$ ); 肝组织中 IL- $1\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 含量升高和 NF- $\kappa\text{B}$  蛋白表达增强 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 白马骨水提物各剂量组不同程度降低化学性肝损伤小鼠血清中 ALT, AST, TBIL, DBIL, MDA 及 NO 的水平 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 并抑制 T-SOD 和 GSH-Px 活性的降低; 白马骨水提物可抑制肝组织 IL- $1\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 含量的升高和 NF- $\kappa\text{B}$  蛋白的表达 ( $P < 0.01, P < 0.05$ ); 病理切片观察也表明白马骨水提物能明显改善受损的肝损伤病理特征。结论: 白马骨水提物对  $\text{CCl}_4$  致急性肝损伤小鼠具有明显的保护作用, 其作用机制可能与抑制氧化应激, 抑制肝脏炎症反应相关。

**[关键词]** 白马骨水提物; 四氯化碳; 急性肝损伤; 氧化应激; 炎症反应

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)21-0135-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017210135

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170809.1126.054.html>

**[网络出版时间]** 2017-08-09 11:26

## Effect of Water Extracts from *Serissa serissoides* on Oxidative Stress and Inflammatory Reaction in Mice with Acute Liver Injury

GAO Ya<sup>1</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>, DU Pei-lin<sup>2</sup>, CHEN Chun<sup>1</sup>, CAO Hou-kang<sup>1</sup>, XI Bo-ting<sup>1</sup>, ZHANG Ke-feng<sup>1,3,\*</sup>

(1. Guilin Medical University, Guilin 541004, China; 2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 3. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the protective effect of *Serissa serissoides* water extract on acute liver injury in mice based on oxidative stress and inflammatory response. **Method:** A total of 60 mice were randomly divided into six groups, namely normal group, model group, silymarin group, and high, middle and low-dose *S. serissoides* water extract ( $4, 2, 1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) groups, with 10 in each group. Continuous administration lasted for 7 d. Two hours later after the last administration, the mice in the groups except for the normal group were intraperitoneally injected with  $0.12\%$   $\text{CCl}_4$  peanut oil solution ( $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) to establish the acute liver injury

**[收稿日期]** 20170627(003)

**[基金项目]** 广西重点学科壮药项目(桂教科研[2013]16号);广西八桂学者中药创新理论与药效研究项目(J13162);壮瑶药协同创新中心项目(桂教科研[2013]20号);广西壮瑶药重点实验室项目(桂科基字[2014]32号)

**[第一作者]** 高雅, 硕士, 讲师, 从事生药质量和保肝药物筛选研究, Tel:0773-2303431, E-mail:svidy@163.com

**[通讯作者]** \*张可锋, 在读博士, 副教授, 从事生药质量和保肝药物筛选研究, Tel:13457684046, E-mail:xueshengcailliao@163.com

model. The blood was taken from eye sockets, and the liver was collected. Biochemical method was used to detect serum content of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL), total-superoxide dismutase (T-SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px) and nitric oxide (NO). Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), interleukin-1 beta (IL-1 beta) and interleukin-6 (IL-6) in liver tissues were detected by enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA), and the protein expression of NF-kappa B in liver tissues was detected by the western blotting. the pathological change in liver tissues was observed through microscopy. **Result:** Compared with the normal group, the serum activity or contents of ALT, AST, TBIL, DBIL, MDA and NO significantly increased, whereas T-SOD and GSH-Px activity decreased ( $P < 0.01$ ), and the hepatic expressions of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 and NF- $\kappa$ B increased in the model group ( $P < 0.01$ ). After intervention of the water extract of *S. serissoides* on acute liver injury, the activities and concentrations of ALT, AST, TBIL, DBIL, MDA and NO in serum were decreased ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), the T-SOD and GSH-Px activity were increased, and the expressions of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 and NF- $\kappa$ B protein expressions in liver were inhibited ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); The pathological changes also showed that water extract of *S. serissoides* could significantly improve the pathological characteristics of damaged liver. **Conclusion:** Water extract of *S. serissoides* has an obvious protective effect on acute liver injury induced by CCl<sub>4</sub> in mice, and its mechanism may be related to inhibition of oxidative stress and inflammatory reaction.

[**Key words**] water extract of *Serissa serissoides*; carbon tetrachloride; acute liver injury; oxidative stress; inflammatory reaction

肝脏在调节人体各种生理功能的过程中发挥着重要的作用,病毒性感染、药物或化学毒物、大量持续酒精刺激、自身免疫反应等多种原因都会引起肝损伤。肝损伤导致的肝功能降低及结构发生变化,如不进行药物干预,严重时可发展为肝衰竭<sup>[1]</sup>。中药在防治肝损伤方面具有多靶点、多环节的作用特点,效果显著且优势明显,在实验研究和临床应用中越来越受到重视。许多中药含有抗氧化化学成分,能清除自由基,抑制脂质过氧化,起到保护肝细胞的作用;此外,有效控制肝组织炎症,可减轻对肝细胞的破坏和延缓肝纤维化的发生发展<sup>[2]</sup>。从中药抗氧化和抗炎作用的角度来研究抗肝损伤药物及探究其作用机制,在中药的现代化研究进程中具有重要的现实意义。

白马骨,又名六月雪、满天星、鸡骨柴、路边姜等,为茜草科植物白马骨的全草,在我国长江以南及日本等地均有分布,其含有齐墩果酸、齐墩果酸乙酰化物和 $\beta$ -谷甾醇等化学物质<sup>[3]</sup>。白马骨全草具有清热、解毒、退黄等功效<sup>[4]</sup>,广西民间常用其治疗急慢性肝炎、消化不良及小儿疳积等疾患<sup>[5]</sup>。为了进一步论证白马骨在防治急慢性肝炎的科学依据,本研究采用四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)致小鼠急性肝损伤的动物模型,观察和评价白马骨水提取物对CCl<sub>4</sub>诱导的急性肝损伤小鼠的保肝作用,拟从抑制氧化应激及抗炎作用,初步探讨其作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 小鼠60只,体重20~22g,雌雄各半,由桂林医学院SPF实验动物中心提供,合格证号SCXK(桂)2007-0001,此次动物实验得到桂林医学院动物伦理委员会批准。

**1.2 药品与试剂** 白马骨经桂林医学院药物研究所张可锋副教授鉴定为茜草科植物白马骨 *Serissa serissoides* 的全草。将白马骨全草2kg加水10L浸泡完全,沸水加热1.5h后滤出药液,重复1次,将2次滤液合并浓缩,冷冻干燥呈粉末状,放置于4℃冰箱密封保存,临用时用蒸馏水稀释至给药浓度。CCl<sub>4</sub>(广东汕头市西陇化工厂,批号0710262);丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),总超氧化物歧化酶(T-SOD),丙二醛(MDA),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),一氧化氮(NO),总胆红素(TBIL),直接胆红素(DBIL)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为20160512, 20160512, 21060926, 20160613, 20160111, 2016524, 20160426, 20160518);肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和IL-6试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号分别为AK0016APR16002, AK0016APR16014, AK0016APR16008);核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)抗体和 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)(均为英国Abcam公司,批号分别为KO513, 201504),水飞蓟素(浙江万邦药

业有限公司,批号 A02140101)。

**1.3 仪器** H2050R 型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪离心机厂);Epoch 型全波长酶标仪(美国 BioTek 公司);BX51 型正置荧光显微镜(日本奥林巴斯公司);AUW220D 型微量电子天平(日本岛津公司);XMTD-6000 型恒温水浴锅(上海长风仪器厂);R-200 型旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司);1658000 型电泳仪,4530 型转膜仪(美国 Bio-Rad 公司);Fluor Chem M 型凝胶成像系统(美国 PS 公司)。

## 2 方法

**2.1 分组、建模和给药** 将 60 只小鼠随机分为正常组,模型组,水飞蓟素组(水飞蓟素,0.2 g·kg<sup>-1</sup>)和白马骨高、中、低剂量(4, 2, 1 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)组,每组 10 只,灌胃给药,连续 7 d。末次给药 2 h 后,除正常组外,其余各组小鼠均腹腔注射 0.12% CCl<sub>4</sub> 花生油溶液(10 mL·kg<sup>-1</sup>)建立小鼠急性肝损伤模型<sup>[6-7]</sup>,16 h 后,眼球取血,并收取肝脏。

### 2.2 指标监测

**2.2.1 病理学检查** 用 4% 多聚甲醛固定肝组织,经包埋,切片后苏木素-伊红(HE)染色,显微镜下观察肝组织病理学改变。

**2.2.2 生化指标检测** 高速冷冻离心分离血清和肝组织匀浆(4 ℃,4 000 r·min<sup>-1</sup>,15 min),于 -20 ℃ 贮存。按照试剂盒说明书,采用生化法分别检测血清中 ALT,AST, TBIL 和 DBIL;检测肝组织中 SOD, MDA, GSH-Px 以及 NO 含量或活性;酶联免疫吸附

法(ELISA)检测肝组织中 TNF-α, IL-1β 和 IL-6 水平。

**2.2.3 蛋白免疫印迹法**(Western blot)分析肝组织中 NF-κB 蛋白表达情况 肝组织中加入含苯甲基磺酰氟(PMSF)的组织裂解液,置冰上充分匀浆,离心,取上清液,应用聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)试剂盒测定蛋白含量;加入蛋白上样缓冲液,水浴变性。制备分离胶和浓缩胶,样品上样,进行 SDS-PAGE 电泳,分离蛋白;转膜,将分离后的蛋白转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,将 PVDF 膜放入脱脂牛奶封闭,TBST 洗涤,加入一抗(1:500),孵育过夜;再用 TBST 洗涤,然后放入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5 000),室温孵育,再用 TBST 洗涤;增强化学发光法显色,显影,定影,胶片扫描后使用 Quantity One 4.6 软件分析蛋白灰度,以 β-actin 为内参,计算蛋白 NF-κB 相对表达量。

**2.3 统计学方法** 实验数据结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采取独立样本 *t* 检验,*P* < 0.05 表示有统计学差异。

## 3 结果

**3.1 白马骨对小鼠血清中 ALT, AST 活性和 NO 含量的影响** 与正常组比较,模型组小鼠血清中 ALT, AST 活性和 NO 含量显著升高(*P* < 0.01)。与模型组比较,水飞蓟素组和白马骨水提物组血清中 ALT, AST 活性和 NO 含量呈现不同程度降低(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 1。

表 1 白马骨对血清中 ALT, AST 活性和 NO 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ , n = 10)

Table 1 Effect of *Serissa serissoides* on content of ALT, AST activity and NO in serum ( $\bar{x} \pm s$ , n = 10)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ALT/ U·L <sup>-1</sup>	AST/ U·L <sup>-1</sup>	NO/μmol·L <sup>-1</sup>
正常	-	42.90 ± 3.57	29.15 ± 3.19	21.50 ± 2.92
模型	-	357.79 ± 41.81 <sup>1)</sup>	326.56 ± 40.38 <sup>1)</sup>	48.23 ± 3.96 <sup>1)</sup>
水飞蓟素	0.2	105.68 ± 11.10 <sup>3)</sup>	130.92 ± 11.02 <sup>3)</sup>	28.25 ± 3.28 <sup>3)</sup>
白马骨	4	148.88 ± 15.33 <sup>3)</sup>	128.26 ± 10.16 <sup>3)</sup>	30.01 ± 3.85 <sup>3)</sup>
	2	267.09 ± 30.30 <sup>3)</sup>	189.65 ± 18.16 <sup>3)</sup>	34.28 ± 4.25 <sup>3)</sup>
	1	275.54 ± 30.51 <sup>2)</sup>	238.77 ± 26.03 <sup>2)</sup>	39.31 ± 4.43

注:与正常组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.01;与模型组比较<sup>2)</sup> *P* < 0.05, <sup>3)</sup> *P* < 0.01(表 2 ~ 5 同)。

**3.2 白马骨对小鼠血清中 TBIL 和 DBIL 含量的影响** 与正常组比较,模型组血清中 TBIL 和 DBIL 含量显著升高(*P* < 0.01)。与模型组比较,水飞蓟素组和白马骨水提物组血清中 TBIL 和 DBIL 含量呈现不同程度降低(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 2。

**3.3 白马骨对小鼠血清中 GSH-Px, T-SOD 活性及 MDA 含量的影响** 与正常组比较,模型组小鼠血清中 GSH-Px, T-SOD 活性显著降低,MDA 含量显著升

表 2 白马骨对血清中 TBIL 和 DBIL 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ , n = 10)

Table 2 Effect of *Serissa serissoides* on content of TBIL and DBIL in serum ( $\bar{x} \pm s$ , n = 10)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TBIL	DBIL
空白	-	1.69 ± 0.21	1.21 ± 0.19
模型	-	3.31 ± 0.77 <sup>1)</sup>	2.26 ± 0.95 <sup>1)</sup>
水飞蓟素	0.2	2.09 ± 0.44 <sup>3)</sup>	1.69 ± 0.61 <sup>2)</sup>
白马骨	4	1.97 ± 0.49 <sup>3)</sup>	1.55 ± 0.71 <sup>3)</sup>
	2	2.11 ± 0.35 <sup>3)</sup>	1.67 ± 0.56 <sup>2)</sup>
	1	2.31 ± 0.64 <sup>2)</sup>	1.81 ± 0.84 <sup>2)</sup>

高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,水飞蓟素组和白马骨高,中剂量组 GSH-Px, T-SOD 活性呈明显升高趋

势 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), MDA 含量呈降低趋势 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 白马骨对血清中 GSH-Px, T-SOD 活性及 MDA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of *Serissa serissoides* on content of GSH-PX, T-SOD activity and MDA in serum ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	GSH-Px / U·mL <sup>-1</sup>	T-SOD/ U·mL <sup>-1</sup>	MDA/μmol·L <sup>-1</sup>
空白	-	184.62 ± 17.51	241.29 ± 24.75	3.58 ± 0.44
模型	-	84.56 ± 15.9 <sup>1)</sup>	142.74 ± 16.13 <sup>1)</sup>	14.38 ± 1.86 <sup>1)</sup>
水飞蓟素	0.2	162.79 ± 11.63 <sup>3)</sup>	189.96 ± 18.02 <sup>3)</sup>	5.06 ± 0.64 <sup>3)</sup>
白马骨	4	164.88 ± 14.68 <sup>3)</sup>	188.67 ± 19.05 <sup>3)</sup>	6.27 ± 0.76 <sup>3)</sup>
	2	106.32 ± 12.01 <sup>2)</sup>	160.02 ± 13.01 <sup>2)</sup>	6.5 ± 0.81 <sup>2)</sup>
	1	92.46 ± 11.56	148.77 ± 15.63	12.31 ± 1.51

3.4 白马骨对小鼠肝组织中 IL-1β, IL-6 及 TNF-α 表达水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠肝组织中 IL-1β, IL-6 及 TNF-α 表达显著升高 ( $P <$

0.01)。与模型组相比,水飞蓟素组和白马骨水提物组各剂量组肝组织中 IL-1β, IL-6 及 TNF-α 表达呈不同程度下降 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 4。

表 4 白马骨对肝组织中 IL-1β, IL-6 及 TNF-α 表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effects of *Serissa serissoides* on expressions of IL-1, IL-6 and TNF-α in liver tissue ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

μg·g<sup>-1</sup>

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-1β	IL-6	TNF-α
空白	-	24.36 ± 3.69	33.57 ± 5.01	31.25 ± 5.12
模型	-	117.21 ± 15.21 <sup>1)</sup>	128.29 ± 10.87 <sup>1)</sup>	115.29 ± 13.20 <sup>1)</sup>
水飞蓟素	0.2	77.98 ± 6.98 <sup>3)</sup>	69.12 ± 8.01 <sup>3)</sup>	81.08 ± 6.24 <sup>3)</sup>
白马骨	4	67.60 ± 8.61 <sup>3)</sup>	65.11 ± 6.78 <sup>3)</sup>	74.96 ± 6.87 <sup>3)</sup>
	2	88.63 ± 8.47 <sup>2)</sup>	70.12 ± 8.57 <sup>3)</sup>	88.67 ± 9.56 <sup>3)</sup>
	1	91.28 ± 9.95 <sup>2)</sup>	89.11 ± 10.14 <sup>2)</sup>	94.26 ± 10.27

3.5 白马骨对小鼠肝脏病理的影响 肉眼观察,正常组小鼠肝脏表面色泽红润,光滑细腻,而模型组颜色暗淡并伴有泛黄,颗粒状明显,体积稍有变大,个别腹腔内可有少量炎性渗液,除白马骨低剂量组改善不明显外,其余各用药组均对肝损伤病理特征有不同程度的改善。显微镜下,肝小叶结构清晰完整,肝索整齐排列,肝细胞结构清楚,核居中,汇管区和中央静脉附近无炎性细胞浸润等病理学形态改变;模型组肝索排列紊乱,大量炎性细胞浸润,肝细胞部分出现水肿、脂肪变性。阳性组和白马骨水提物高、中剂量组,肝小叶结构较清晰完整,肝细胞肿胀,脂肪样变性和炎性浸润得到显著改善,而白马骨低剂量组改善不明显。见图 1。

3.6 白马骨对肝组织中 NF-κB 的蛋白表达的影响

正常组小鼠肝组织中 NF-κB 仅有少量表达,与正常组比较,模型组小鼠肝组织中 NF-κB 的表达显著

上调。与模型组比较,白马骨水提物各剂量组小鼠肝组织中 NF-κB 的表达呈现不同程度抑制。见图 2,表 5。

#### 4 讨论

CCl<sub>4</sub> 建立的肝损伤动物模型,其在症状上、体征上与病毒性肝炎相似,常被应用于保肝药物的筛选<sup>[8]</sup>。CCl<sub>4</sub> 进入动物体内后经细胞色素 P450 酶代谢,生成三氯甲基过氧自由基等,生成的自由基与细胞内大分子物质进行结合,致使肝细胞膜结构和功能的破坏,最终引起肝细胞损伤<sup>[9]</sup>。此外,当肝脏受损,胞浆及线粒体内的 ALT 和 AST 流入血液,致血清中 ALT 和 AST 活性升高,可见,ALT 和 AST 活性的升高可直接体现肝细胞受损程度<sup>[10]</sup>。当肝脏发生炎症、坏死、中毒等损害时均可以引起黄疸,而血清中 TBIL, DBIL 增高后,机体也会出现黄疸,临床诊断中, TBIL, DBIL 也是判断肝损伤主要

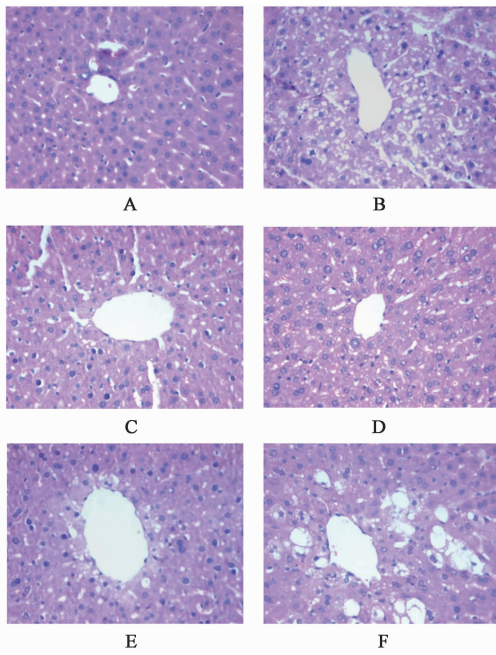


图 1 白马骨对肝组织病变的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of *Serissa serissoides* on pathological changes in liver (HE, ×200)

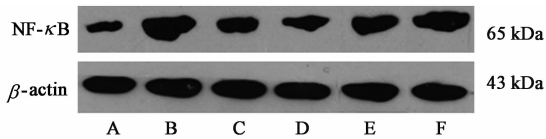


图 2 各组小鼠肝组织中 NF-κB 的表达

Fig. 2 Expression of NF-κB in liver tissue of mice in various groups

表 5 白马骨对肝组织中 NF-κB 表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 5 Effect of *Serissa serissoides* on expression of NF-κB in liver tissue ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	NF-κB/β-actin
正常	-	0.334 ± 0.057
模型	-	1.318 ± 0.128 <sup>1)</sup>
水飞蓟素	0.2	0.567 ± 0.077 <sup>3)</sup>
白马骨	4	0.521 ± 0.052 <sup>3)</sup>
	2	0.897 ± 0.093 <sup>2)</sup>
	1	1.011 ± 0.89

依据<sup>[11]</sup>。本研究中, CCl<sub>4</sub> 造模后, 模型组小鼠血清中 ALT, AST, TBIL 和 DBIL 活性或含量显著升高, 病理切片也显示其肝脏受损严重, 说明本实验造模成功。而经白马骨水提取物干预, 小鼠血清中 ALT, AST, TBIL 和 DBIL 活性或含量呈不同程度降低, 肝脏受损病理改善, 表明白马骨水提取物对急性肝损伤

小鼠可抑制转氨酶的升高和改善肝脏受损。

肝细胞损伤后, 会产生大量 MDA, MDA 可攻击细胞膜, 加重细胞质膜和细胞功能的损害, 使肝细胞变性、坏死, 因此, MDA 的含量高低直接反映体内脂质过氧化程度, 间接反映肝细胞损伤程度。T-SOD 和 GSH-Px 可通过催化肝组织中超氧化物自由基转化为过氧化氢, 达到清除自由基目的, 来维持自由基的产生与清除的动态平衡, 从而保护肝细胞膜结构和功能的完整性<sup>[12-13]</sup>。结合本实验结果, 提示白马骨水提取物可能通过抗脂质过氧化而发挥保护肝脏的作用。

在 CCl<sub>4</sub> 肝损伤过程中, 可激活免疫细胞及 Kupffer 细胞, 被激活的 Kupffer 细胞可诱导多种炎症细胞因子的产生, 如 TNF-α, IL-6 和 IL-1β 等, 这些炎症细胞因子能够相互作用, 引起炎症的级联放大和加剧肝脏炎症反应<sup>[14]</sup>。此外, TNF-α 能刺激肝细胞促使 NO 生成, NO 作为一种有毒性的自由基, 与氧自由基反应的产物能诱导脂质过氧化, 产生的过氧化产物损害肝脏<sup>[15]</sup>。NF-κB 具有 5 个亚单位的炎症转录因子家族性蛋白, CCl<sub>4</sub> 能诱导 NF-κB 从细胞质转移到细胞核, 从而诱导一些炎性基因转录, 从而产生大量炎性因子, 并引起炎症反应<sup>[16]</sup>。肝组织发生炎症时, 上调 NF-κB 的表达能增加 TNF-α, IL-6 和 IL-1β 等炎症细胞因子的释放, 而这些炎症细胞因子的过表达又能反馈作用于 NF-κB, 形成正反馈调节, 对炎症反应效应不断放大, 加重肝组织的损伤<sup>[17]</sup>。本实验结果表明, 白马骨能较好地抑制 TNF-α, IL-6, IL-1β 和 NF-κB 的表达, 提示其保肝机制可能与抗炎有关。

综上所述, 白马骨水提取物对 CCl<sub>4</sub> 致急性肝损伤小鼠具有良好保肝作用, 其机制主要与降低氨基转移酶, 抑制脂质过氧化和抗炎作用有关, 但具体的作用机制还有待进一步研。

[参考文献]

[1] 孙铁锋, 王平, 张春莉. 中药治疗肝损伤的研究进展 [J]. 药学研究, 2014, 33(12): 715-717.  
 [2] 张红阳, 李雪激, 姚雪莲, 等. 肝损伤的分子机制及其中药药理研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(3): 448-455.  
 [3] 郭培, 柳航, 朱怀军, 等. 六月雪木脂素成分的研究 [J]. 中成药, 2016, 38(10): 2192-2197.  
 [4] 冯顺卿, 洪爱华, 岑颖洲, 等. 白马骨挥发性化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(5): 784-786, 808.  
 [5] 杨丽施, 刘华钢, 韦松基, 等. 白马骨的质量标准研究

- [J]. 广西中医药, 2014, 37(6): 73-76.
- [6] 卢春远, 林兴, 黄权芳, 等. 山芝麻酸甲酯对 CCl<sub>4</sub> 致大鼠慢性肝损伤的作用及其机制的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 141-147.
- [7] 刘钰华, 叶少武, 陈伟坚, 等. 复方肝宁颗粒的制备及其对 CCl<sub>4</sub> 诱导小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(14): 18-22.
- [8] 马蓉, 李茂星, 贾正平, 等. 螃蟹甲大孔吸附树脂 50% 乙醇洗脱物对大鼠 CCl<sub>4</sub> 肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(4): 132-136.
- [9] ZHONG M L, GAO Y, ZHANG K F, et al. Protective effects of total flavonoids in *Polygonum perfoliatum* L. on the acute liver injury of mice induced by CCl<sub>4</sub> and its action mechanism [J]. Med Plant, 2015, 6(3/4): 12-16.
- [10] 黄思茂, 曹后康, 高雅, 等. 金花茶多糖对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用及其机制的研究[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(6): 117-120.
- [11] Origassa C S, Camara N O. Cytoprotective role of heme oxygenase-1 and heme degradation derived end products in liver injury [J]. World J Hepatol, 2013, 5(10): 541-549.
- [12] Abdulazeez S S, Thiruvengadam D. Effect of lycopene on oxidative stress induced during-galactosamine/lipopolysaccharide-sensitized liver injury in rats [J]. Pharm Biol, 2013, 51(12): 1592-1599.
- [13] 王跃峰, 张可锋, 周雨晴, 等. 拳卷地钱总黄酮对四氯化碳致急性肝损伤大鼠的保护作用及其作用机制[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(2): 277-279.
- [14] Srilaxmi P, Sareddy G R, Setty O H, et al. Protective efficacy of natansnin, a dibenzoyl glycoside from *Salvinian atans* against CCl<sub>4</sub> induced oxidative stress and cellular degeneration in rat liver [J]. BMC Pharmacology, 2010, 10(1): 13-26.
- [15] 李隽, 曹治宸. NO 在 CCl<sub>4</sub> 致大鼠肝纤维化中的氧化应激作用[J]. 解放军医学杂志, 2006, 31(3): 234-236.
- [16] LI Z, WANG X, PAN H, et al. Resistin promotes CCl<sub>4</sub> expression through toll-like receptor-4 and activation of the p38-MAPK and NF-κB signaling pathways: implications for intervertebral disc degeneration [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2017, 25(2): 341-350.
- [17] M Niyazoglu, O Baykara, A Koc, et al. Association of PARP-1, NF-κB, NF-κBIA and IL-6, IL-1β and TNF-α with graves disease and graves ophthalmopathy [J]. Gene, 2014, 547(2): 226-232.

[责任编辑 邹晓翠]