

黄芪甲苷对“铁超载”所致小鼠肝损伤的保护作用

叶枝红¹, 谢海纳², 钱知知³, 叶晶³, 姜文静², 刘霖⁴, 谢东浩^{2,4*}, 张良^{3*}

(1. 江苏大学药学院, 江苏镇江 212013; 2. 南京中医药大学基础医学院, 南京 210023;

3. 南京中医药大学药学院, 南京 210023; 4. 上海市徐汇区大华医院, 上海 200237)

[摘要] 目的:研究黄芪甲苷对铁超载造成肝损伤保护的作用机制。方法:小鼠按体质量随机分为空白组,模型组、黄芪甲苷(As)低、中、高剂量组。连续给药 45 d,取血清,检测血清 Fe,总铁结合力(total iron binding capacity, TIBC),丙氨酸氨基转移酶(glutamic-pyruvic transaminase, ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(glutamic oxalacetic transaminase, AST),总胆红素(total bilirubin, T-BIL),丙二醛(malondialdehyde, MDA),谷胱甘肽(glutathione, GSH)水平;用苏木素-伊红(HE)染色观察肝脏病理组织学变化;用免疫组化法分析肝脏组织蛋白硝化的表达变化;用原位末端转移酶标记技术(TUNEL)染色法观察肝细胞凋亡的变化。结果:与空白组比较,模型组小鼠血清中血清 Fe, ALT, AST, MDA, 肝中铁和 T-BIL 含量显著增加($P < 0.01$),而 TIBC 和 GSH 含量显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,黄芪甲苷组小鼠血清中血清 Fe, ALT, AST, MDA 水平,及肝中 Fe 和 T-BIL 含量显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),肝中 TIBC 和 GSH 含量显著增高($P < 0.05$, $P < 0.01$);HE 结果显示,与空白组比较,铁超载组可见肝细胞水样变性、肝细胞脂肪变性和炎症细胞浸润等;不同浓度黄芪甲苷组的上述病理改变得以改善;免疫组化结果发现,与空白组比较,铁超载组血管周围细胞浆中 3-硝基酪氨酸(3-NT)显著增加,而黄芪甲苷组血管膜周围的 3-硝基酪氨酸则显著减少;TUNEL 染色发现与空白组比较,模型组肝细胞凋亡显著增多;与模型组比较,黄芪甲苷组肝细胞凋亡显著减少。结论:黄芪甲苷对铁超载造成的肝损伤具有保护作用。

[关键词] 黄芪甲苷; 铁超载; 肝损伤; 凋亡

[中图分类号] R22;R24;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)08-0116-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180735

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180118.1914.002.html>

[网络出版时间] 2018-01-20 10:40

Protective Effect of Astragaloside on Liver Injury Induced by Iron Overload in Mice

YE Zhi-hong¹, XIE Hai-na², QIAN Zhi-zhi³, YE Jing³, JIANG Wen-jing², LIU Lin⁴,

XIE Dong-hao^{2,4*}, ZHANG Liang^{3*}

(1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. School of Basic Medical Sciences, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

3. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

4. Dahua Hospital of Xuhui District, Shanghai 200237, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective role of astragaloside (As) in the liver injury caused by iron overload. **Method:** The mice were randomly divided into blank control group, model group, as low-dose group, as middle-dose group and as high-dose group according to their weight. Mice were intraperitoneally injected with As once daily for 45 d. Then their serum was taken to determine the content of serum iron, total iron binding capacity (TIBC), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (T-BIL),

[收稿日期] 20171017(014)

[基金项目] 上海市徐汇区医学科研项目(SHXH201310)

[第一作者] 叶枝红, 硕士, 从事中药治疗标准及中药复方抗肝纤维化作用机制研究, E-mail: 11311611476@qq.com

[通信作者] * 谢东浩, 博士, 主任中医师, 从事中药治疗标准及中药复方抗肝纤维化作用机制研究, E-mail: xdhdh2012@126.com;

* 张良, 硕士生导师, 副教授, 从事中药毒理学研究, E-mail: zhangl_1999@163.com

malondialdehyde (MDA), and glutathione (GSH); pathological changes in liver tissues were examined by hematoxylin-eosin (HE) staining; the expression changes of protein nitration in liver tissues were detected by immunohistochemical staining; and the changes of the liver apoptosis were observed by TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) staining. **Result:** As compared with the blank group, the levels of serum Fe, MDA, ALT, and AST in serum as well as Fe and T-BIL in liver were increased in the model group ($P < 0.01$), while the levels of GSH and TIBC were decreased significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$). However, as compared with the model group, the levels of serum Fe, MDA, ALT and AST in serum as well as Fe and T-BIL levels in liver were significantly decreased in the As groups ($P < 0.05$, $P < 0.05$), while the levels of GSH and TIBC in liver were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). HE results showed that as compared with blank group, hepatocyte hydropic degeneration, hepatocyte fatty degeneration and inflammatory cell infiltration were present in iron overload group; but these pathological damages were improved in different dose As groups. Immunohistochemical results showed that as compared with the blank group, the 3-nitrotyrosine (3-NT) level in the perivascular plasma was increased significantly in the iron overload group, but was significantly reduced in the As groups. TUNEL staining results showed that as compared with the blank group, hepatocyte apoptosis was significantly increased in model group; as compared with the model group, the hepatocyte apoptosis was significantly reduced in As groups. **Conclusion:** As could attenuate the liver injury induced by iron overload.

[Key words] astragaloside; iron overload; liver injury; apoptosis

铁元素是机体必需微量元素之一,是正常生理过程中不可缺少的物质^[1],在细胞中的基本代谢过程具有至关重要的作用^[2]。红细胞的血红蛋白是人体内大部分铁的储存库,而其余铁则分布在肝、腺、骨髓等组织中^[3]。铁元素在机体正常状态下基本处于平衡状态,当铁供给超过机体对铁的需要时就会引起体内总铁量过多,即“铁超载”,通常会成为脏器疾病病理生化过程的重要机制。在遗传性血色病^[4]、慢性贫血^[5]等疾病中常见铁超载的病理现象。由于肝脏是贮存和代谢铁的主要器官,铁超载与肝脏疾病之间的关联也尤其密切^[6]。

目前,有关“铁超载”对肝细胞损伤的具体细胞病理学机制还未完全建立,但铁超载的毒性作用与活性氮氧化物相关这一学说,得到国内外学者们的广泛认可。研究表明,铁可促进氧自由基的产生并形成毒性更强的羟自由基,还能导致 NOs 上调及 NO 生成,从而导致细胞损伤,在多种类型肝脏疾病发生发展中占重要地位^[7]。黄芪甲苷为中药黄芪的主要有效成分之一,具有免疫调节、肝脏保护等广泛的药理作用^[8-10]。本文通过检测小鼠铁超载模型动物中氧化应激相关的生化指标,在小鼠铁超载造模成功的基础上,检验铁超载后小鼠肝脏的氧化及硝化损伤情况,并同时给予不同剂量黄芪甲苷,以此来研究黄芪甲苷与铁超载导致肝损伤的关系。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 ICR 小鼠 50 只,体质量 20 ~

22 g,雄性,合格证号 SCXK(苏)2012-0004,购自扬州大学医学动物中心,分笼饲养,周围环境通风,温度 22 ~ 25 °C,湿度 50% ~ 60%,动物实验操作严格按照江苏省实验动物管理办法规定执行。

1.2 药品与试剂 黄芪甲苷(纯度 $\geq 98\%$,上海 Aladdin 公司,批号 A111275);铁右旋糖苷(美国 Sigma 公司,批号 20151207);鼠单克隆抗 3-硝基酪氨酸抗体、生物素化山羊抗小鼠 IgG 二抗(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab5609, ab3711);原位末端转移酶标记技术(TUNEL)染色试剂盒(Roche 公司,批号 11435917910);血清 Fe,总铁结合力(TIBC),丙氨酸氨基转移酶(glutamic-pyruvic transaminase, ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(glutamic oxalacetic transaminase, AST),总胆红素(total bilirubin, T-BIL),丙二醛(malondialdehyde, MDA),谷胱甘肽(glutathione, GSH)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 201611, 201609, 201610, 201607, 201606, 201611, 201610);其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器 Synergy HT 型多功能酶标仪(美国 Biotek 公司);Discovery. V20 型倒置显微镜(德国 ZEISS 公司);TEC-5 型石蜡包埋机(日本 Tissue-TEK 公司);HM340E 切片机(美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 50 只 SPF 级 ICR 小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,分别为空白组、模型组(铁

右旋糖酐 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 黄芪甲苷低剂量组 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (LAs), 黄芪甲苷中剂量组 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (MAs), 黄芪甲苷高剂量组 $160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (HAs)。5 组均给以正常饲料饮水, 其中模型组, 黄芪甲苷低、中、高组隔天按 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射铁右旋糖酐^[11], 而空白组则注射等体积的生理盐水, 共注射 5 次。同时, 根据预实验结果黄芪甲苷组每天腹腔注射不同剂量的黄芪甲苷。小鼠连续灌胃给药第 46 天处死, 处理前一晚禁食, 正常饮水。眼眶取血, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 离心取血清, 处死小鼠, 取出肝脏, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 漂洗后, 一侧肝放入 4% 多聚甲醛中固定, 用于检测病理检查和免疫组织化学等, 另一侧肝与液氮中保存备用; 小鼠血清用于生化试剂盒检测等。

2.2 小鼠血清 Fe, TIBC, ALT, AST, T-BIL, MDA 和 GSH 检测 按照试剂盒说明, 测定血清 Fe 和 TIBC, 采用赖氏法测定 ALT 和 AST, 重氮法测定 T-BIL; 取出肝脏, 用预冷的生理盐水冲洗后滤纸吸干后称质量。取部分肝脏, 加入 9 倍量生理盐水在冰上研磨制成 10% 的肝组织匀浆, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min 取上清液。采用硫代巴比妥酸法和比色法分别测定肝组织中 MDA, GSH 含量, 均严格按照相应的试剂盒说明操作。

2.3 苏木素-伊红 (HE) 染色观察各组小鼠肝脏组织损伤情况 取肝脏组织, 切成小块浸泡在 4% 中性甲醛溶液中 3 d 用蒸馏水洗涤组织块后放入 75% 乙醇中过夜。经脱水、透明、石蜡包埋、切片后, 用多聚赖氨酸封片于玻璃载玻片上, 进行苏木素伊红染色^[12], 光镜下观察各组小鼠肝脏组织损伤情况。

2.4 免疫组化法检测蛋白硝化的表达 采用链酶亲和素-生物素-酶复合物 (Strept Avidin Biotin Complex, SABC) 法, 石蜡切片常规脱蜡复水; 将其置入 3% H_2O_2 中温孵 10 min 以灭活内源性酶; 蒸馏水冲洗, PBS 漂洗 2 次 (5 min/次), 将切片浸入微波修复液中, 微波炉加热至沸腾后断电 10 min, 重复 2 次; 然后滴加 5% BSA 封闭液, 室温温孵 20 min 后滴加鼠单克隆抗 3-硝基酪氨酸抗体 (1:100), 4°C 过夜; PBS 漂洗 3 次 (5 min/次) 后滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG, 室温孵育 30 min, PBS 漂洗 3 次。根据肝组织血管膜棕黄色颗粒沉积计算。

2.5 肝细胞凋亡的 TUNEL 法检测 制作石蜡切片, 用二甲苯浸洗 2 次, 每次 5 min; 梯度乙醇 (100%, 95%, 90%, 80%, 70%) 各浸洗 1 次, 每次 3 min; Proteinase K 工作液处理组织 15 ~ 30 min 后

PBS 漂洗 2 次; 不同组别按要求加入不同反应液, 制备 TUNEL 反应混合液。待玻片干燥后, 加反应混合液 $50 \mu\text{L}$ (正常组只加荧光素标记的 dUTP 液 $50 \mu\text{L}$) 于标本上, 加盖玻片并在暗湿盒中反应 1 h 37°C , PBS 漂洗 3 次; 玻片干燥后, 加 converter-POD $50 \mu\text{L}$ 于标本上, 加盖玻片并在暗湿盒中反应 30 min 37°C , PBS 漂洗 3 次; 在组织处加 DAB 底物 $50 \sim 100 \mu\text{L}$, 反应 10 min, $15 \sim 25^\circ\text{C}$, PBS 漂洗 3 次; 拍照后再用苏木素或甲基绿复染, 自来水冲洗。梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 加一滴 PBS 或在甘油视野下^[13], 用光学显微镜观察凋亡细胞并拍照, 每组随机取 5 个视野对凋亡小体进行计数。

2.6 统计学方法 实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件处理, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 黄芪甲苷对小鼠铁超载肝损伤后血清生化指标的影响 与空白组比较, 模型组小鼠血清 Fe, ALT, AST, MDA, T-BIL 以及肝脏 Fe 含量水平显著升高 ($P < 0.01$), 而血清 TIBC, GSH 水平显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与模型组相比, 不同剂量黄芪甲苷组小鼠血清 Fe, ALT, AST, MDA, T-BIL 以及肝脏 Fe 含量水平均有不同程度的降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), 而血清 TIBC, GSH 水平均有不同程度的升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。以上结果表明, 肝脏中铁含量过多会造成肝组织损伤, 而黄芪甲苷可改善铁超载引起的肝损伤。见表 1。

3.2 黄芪甲苷对铁超载致小鼠肝组织的病理改变的影响 空白组肝脏细胞排列整齐, 未见水样变性、汇管区未见炎症细胞浸润等; 模型组可见明显的细胞紊乱、细胞水样变性、炎症细胞浸润等, 说明铁超载致小鼠肝损伤模型成功。给予黄芪甲苷后能显著改善上述病理改变, 且呈剂量依赖关系。见图 1。

3.3 铁超载对小鼠肝中蛋白质硝化的影响及黄芪甲苷的干预作用 血管膜周围棕黄色颗粒即为 3-NT, 模型组中 3-NT 的含量明显较正常组显著增加, 而 HAs 组小鼠血管膜周围的 3-NT 则显著减少。实验结果表明铁超载可以导致体内蛋白质发生硝化, 而黄芪甲苷对铁超载所导致的蛋白质硝化具有明显的抑制作用。见图 2。

3.4 黄芪甲苷对小鼠铁超载肝损伤后肝组织细胞凋亡的影响 细胞在凋亡过程中染色体 DNA 会断裂, 形成凋亡小体。对各组小鼠的肝脏组织进行 TUNEL 染色, 观察肝脏细胞中凋亡小体的生成情况

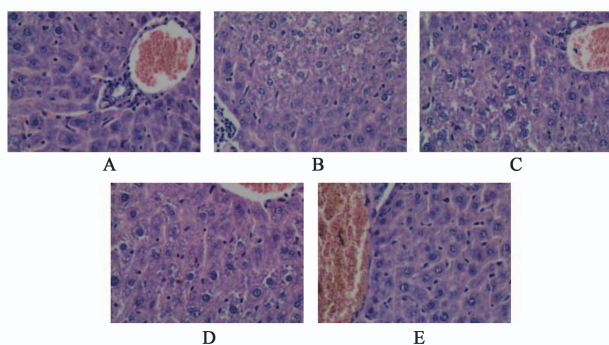
表 1 黄芪甲苷对小鼠铁超载肝损伤后血清生化检查指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of astragaloside on serum indicators of iron overload liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	GSH/U·mg ⁻¹	MDA/μmol·g ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹
空白	-	29.03 ± 0.76	8.06 ± 1.53	45.71 ± 2.01	121.0 ± 2.79
模型	-	20.84 ± 0.83 ²⁾	20.88 ± 1.03 ²⁾	58.73 ± 2.18 ²⁾	135.4 ± 2.14 ²⁾
黄芪甲苷	40	23.39 ± 0.72	18.49 ± 0.81	58.18 ± 1.79	132.1 ± 2.48
	80	25.52 ± 1.28 ³⁾	15.29 ± 0.95 ³⁾	53.59 ± 1.66	128.1 ± 2.39
	160	27.48 ± 1.39 ⁴⁾	11.47 ± 2.06 ⁴⁾	48.60 ± 1.70 ⁴⁾	123.2 ± 2.08 ⁴⁾

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	serum iron/μmol·L ⁻¹	T-BIL/μmol·L ⁻¹	TIBC/μmol·L ⁻¹	liver iron/μmol·L ⁻¹
空白	-	25.37 ± 0.40	1.48 ± 0.19	29.86 ± 2.31	291.8 ± 4.59
模型	-	36.93 ± 1.88 ²⁾	5.12 ± 0.85 ²⁾	20.52 ± 1.77 ¹⁾	424.7 ± 21.66 ²⁾
黄芪甲苷	40	33.94 ± 1.81	4.28 ± 0.43	20.93 ± 0.89	390.3 ± 20.87
	80	29.81 ± 2.97	2.72 ± 0.27 ³⁾	25.26 ± 1.50	342.8 ± 34.13
	160	25.19 ± 2.22 ⁴⁾	2.31 ± 0.31 ⁴⁾	27.75 ± 1.59 ³⁾	295.7 ± 22.41 ⁴⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。



A. 空白组; B. 模型组; C~E. 黄芪甲苷低、中、高剂量组(图 2, 3 同)
图 1 黄芪甲苷对小鼠铁超载肝损伤后肝脏的病理变化影响(HE, × 200)

Fig. 1 Effect of astragaloside on liver histopathology of iron overload liver injury mice(HE, × 200)

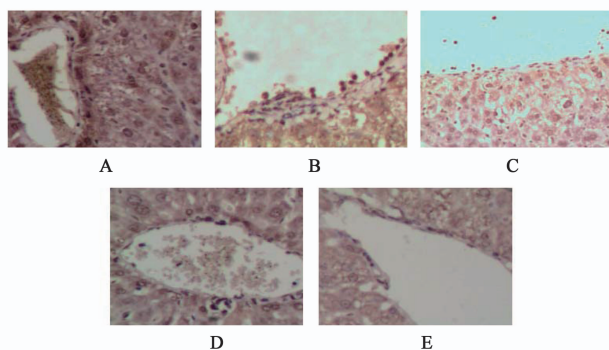


图 2 黄芪甲苷对小鼠铁超载肝损伤后肝组织蛋白硝化的影响(免疫组化, × 400)

Fig. 2 Effect of astragaloside on protein nitration of iron overload liver injury mice(IHC, × 400)

(棕褐色颗粒),结果显示,空白组中凋亡小体几乎不可观测到。与空白组比较,模型组中凋亡小体显著增多,而不同剂量 AS 组小鼠肝脏细胞中凋亡

小体显著减少。说明铁超载引起的肝细胞凋亡在黄芪甲苷的作用下能够得到一定的缓解。见图 3, 表 2。

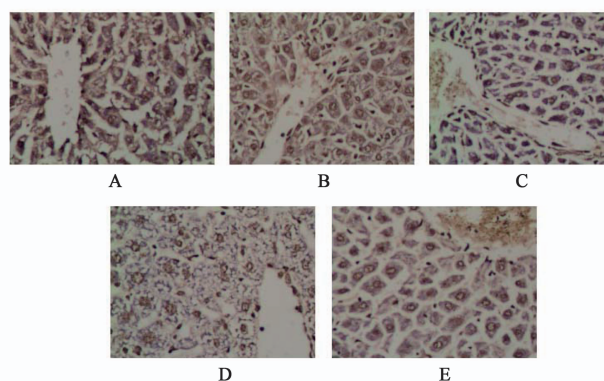


图 3 黄芪甲苷对小鼠铁超载肝损伤后肝组织细胞凋亡的影响(TUNEL, × 400)

Fig. 3 Effect of astragaloside on hepatocyte apoptosis of iron overload liver injury mice(TUNEL, × 400)

表 2 黄芪甲苷对小鼠铁超载肝损伤后肝细胞中凋亡小体数量的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effect of astragaloside on number of apoptotic bodies of iron overload liver injury mice($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	凋亡小体/个
空白	-	17.2 ± 3.08
模型	-	66.8 ± 2.53 ²⁾
黄芪甲苷	40	62.4 ± 2.42
	80	59.6 ± 1.71 ³⁾
	160	58.2 ± 3.52 ³⁾

4 讨论

铁元素在体内的水平保持着动态平衡,而这种平衡易被多种因素打破,导致铁缺乏或铁超载(iron overload)^[14]。研究发现,铁超载时,氧应激的发生、细胞 ATP 水平降低、溶酶体功能减退、细胞内钙稳态的破坏以及 DNA 的损伤都可能引起肝细胞损伤^[15-16]。黄芪为豆科植物,其具有补气升阳、托疮生肌等功效^[17],黄芪甲苷是黄芪的主要有效成分之一^[18]。因此,深入研究黄芪甲苷对铁超载所致肝损伤的影响具有重要的临床意义。

经文献研究后,笔者选择腹腔注射右旋糖酐铁建立铁超载小鼠模型^[19-22]。血清中 AST,ALT 活性是临床上常用的监测肝功能的生化指标^[23],实验结果显示,铁超载模型组小鼠血清中 AST,ALT 的含量均显著高于空白组,同时在免疫组化中也观察到模型组小鼠肝脏的组织形态出现了严重的病理变化。据此证实,笔者选择复制铁超载小鼠模型的方法适合于进行有关铁超载肝脏损伤的实验研究。

检测 TIBC 是通过将血清中的 Fe 与转铁蛋白分离的方法,间接得出血清 Fe 含量^[24],然而由于血清中还有极少的铁能够与除转铁蛋白外的其他蛋白结合,因此将血清 Fe 和 TIBC 两者的检测结果综合考虑,共同判断提铁超载的程度。本实验结果显示,给予黄芪甲苷后血清 Fe 含量较铁超载模型组显著降低,而 TIBC 显著升高。此外,肝组织中 MDA 的含量能够反映肝组织氧化应激损伤程度^[25]。GSH 是人体内重要的抗氧化物,能够清除体内有害的活性氧和自由基,其活性反映了机体清除氧自由基的能力^[26]。文献报道铁超载能够加重组织过氧化损伤,影响脂质代谢^[27]。而在铁超载小鼠肾脏组织中,也检测到 MDA 大幅上升,GSH 明显降低,说明铁超载的肾脏组织有严重的脂质过氧化损伤。给予黄芪甲苷后,发现不同剂量黄芪甲苷组的肝脏中 MDA 的浓度有不同程度的下降,而 GSH 的活性则显著升高,可初步推断肝脏的脂质过氧化损伤减轻。上述研究结果证明不同剂量的黄芪甲苷对于铁超载引起的脂质过氧化损伤的缓解作用呈现一定的剂量趋势,据此推测黄芪甲苷的保肝作用机制很可能与其抗氧化作用有关。

已有文献报道,大量的铁蓄积在肝脏组织中会通过降低肝药酶的活性,造成对肝脏细胞的损伤,从而影响肝脏的正常生理功能^[28]。在本次研究中,病理切片结果可见铁超载模型组的小鼠肝脏组织肝细胞水样变性、肝细胞脂肪变性和炎症细胞浸润等,给

予黄芪甲苷后能明显改善肝损伤情况。此外,又对肝脏组织蛋白硝化情况进行检测后发现,铁超载可以导致蛋白硝化,而黄芪甲苷对铁超载所致的蛋白硝化有一定的抑制作用^[29]。在本次实验中笔者还用 TUNEL 染色观察了铁超载是否会引起细胞凋亡,并且在给予黄芪甲苷后是否对凋亡现象有影响。实验结果也显示,模型组的小鼠肝脏组织中的细胞凋亡量明显多于正常小鼠。给予黄芪甲苷后,肝脏细胞凋亡数量小幅度下降,说明 As 对于铁超载所致细胞的凋亡有一定缓解作用。

综上所述,铁超载除能引起肝脏常规指标改变外,同时还可引起氧化损伤和蛋白质硝化,而黄芪甲苷能部分修复铁超载所致肝损伤。

[参考文献]

- [1] 葛亚龙,唐志华. 微量元素与人体健康[J]. 饮料工业,2013,16(3):4-6.
- [2] BAO W D, FAN Y, DENG Y Z, et al. Iron overload in hereditary tyrosinemia type 1 induces liver injury through the Sp1/Tfr2/hepcidin axis[J]. J Hepatol, 2016, 65(1):137-145.
- [3] 徐素萍. 微量元素铁与人体健康的关系[J]. 中国食物与营养,2007(12):51-54.
- [4] 席微波. 骨髓增生异常综合征患者线粒体 Mitoferrin-1/-2、ABCB10 的表达与其铁超载的关系[D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- [5] Kohgo Y, Urabe A, Kilin C Y, et al. Deferasirox decreases liver iron concentration in iron-overloaded patients with myelodysplastic syndromes, aplastic anemia and other rare anemias [J]. Acta Haematol, 2015, 134(4):233-242.
- [6] WANG M, LIU R R, LIANG Y Z, et al. Iron overload correlates with serum liver fibrotic markers and liver dysfunction: Potential new methods to predict iron overload-related liver fibrosis in thalassemia patients [J]. United European Gastroenterol J, 2017, 5(1): 94-103.
- [7] Aziza S A, Mels A, Elshall S K. Ameliorating role of rutin on oxidative stress induced by iron overload in hepatic tissue of rats [J]. Pak J Biol Sci, 2014, 17(8):964-977.
- [8] 韩林,李健,林欣,等. 黄芪甲苷对 ChangLiver 细胞酒精性和非酒精性氧化损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志,2014,39(22):4430-4435.
- [9] 王琳,闫晨. 玉屏风散中黄芪甲苷的制备及抗炎作用的研究[J]. 天津药学,2007,19(1):31-32.
- [10] 丁贺田,朱丽华,张庆波,等. 黄芪甲苷对免疫功能

- 影响的体外实验研究[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2014, 17(12):2021-2024.
- [11] 张燕. 铁超载肝损伤机理及黄芩苷干预作用的研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2009.
- [12] 杨召聪, 陆茵, 顾亚琴, 等. 马兜铃酸 I 对大鼠体内 PI3K/Akt/NF- κ B 通路的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2015, 31(3):250-253.
- [13] 张良, 杨召聪, 顾亚琴, 等. 马兜铃酸 I 激活大鼠肾脏 p38 MAPK 通路并导致肾细胞凋亡的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(5):576-581.
- [14] 马娟娟. 丹参对铁超载小鼠肾脏损伤的保护作用及机制研究[D]. 石家庄:河北医科大学, 2014.
- [15] Asare G A, Mossanda K S, Kew M C, et al. Hepatocellular carcinoma caused by iron overload: a possible mechanism of direct hepatocarcinogenicity[J]. Toxicology, 2006, 219(1/3):41-52.
- [16] Porter J B, De W T, Cappellini M D, et al. New insights into transfusion-related iron toxicity: implications for the oncologist [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2016, 99(2):261-271.
- [17] 王海霞, 罗耀群. 中医理论与现代药理学中的黄芪药理作用研究进展[C]//2013 年中国药学会暨第十三届中国药师周论文集, 南宁. 2013:269-273.
- [18] 段立军, 孙博航. 黄芪甲苷的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(5):410-412.
- [19] ZHANG Y, HUANG Y, DENG X, et al. Iron overload-induced rat liver injury: involvement of protein tyrosine nitration and the effect of baicalin [J]. Eur J Pharmacol, 2012, 680(1/3):95-101.
- [20] TANG Y, LI Y, YU H, et al. Quercetin attenuates chronic ethanol hepatotoxicity: implication of "free" iron uptake and release[J]. Food Chem Toxicol, 2014, 67(3):131-138.
- [21] Badria F A, Ibrahim A S, Badria A F, et al. Curcumin attenuates iron accumulation and oxidative stress in the liver and spleen of chronic iron-overloaded rats [J]. PLoS One, 2015, 10(7):e0134156.
- [22] GAO W X, ZHAO J, GAO Z H, et al. Synergistic interaction of light alcohol administration in the presence of mild iron overload in a mouse model of liver injury: involvement of triosephosphate isomerase nitration and inactivation[J]. PLoS One, 2017, 12(1):e0170350.
- [23] 贺蕾艳, 郭瑶雪, 李春, 等. 药物性肝损伤生物标志物研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2015, 50(8):959-965.
- [24] Pardoandreu G L, Barrios M F, Curti C, et al. Protective effects of *Mangifera indica* L extract (Vimang), and its major component mangiferin, on iron-induced oxidative damage to rat serum and liver [J]. Pharmacol Res, 2008, 57(1):79-86.
- [25] Khaki A, Khaki A A, Hajhosseini L, et al. The antioxidant effects of ginger and cinnamon on spermatogenesis dys-function of diabetes rats[J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2014, 11(4):1-8.
- [26] Geisser P. Iron therapy and oxidative stress[J]. Met Based Drugs, 1997, 4(3):137-152.
- [27] 冯星, 许东晖, 梅雪婷, 等. 儿茶素和漆黄素对铁超载模型大鼠血脂的影响[J]. 中国药科大学学报, 2004, 43(2):141-144.
- [28] Kudo H, Suzuki S, Watanabe A, et al. Effects of colloidal iron overload on renal and hepatic siderosis and the femur in male rats[J]. Toxicology, 2008, 246(2/3):143-147.
- [29] 阎海. 细胞凋亡研究进展[J]. 中山大学研究生学刊: 自然科学、医学版, 2012, 33(3):8-13.

[责任编辑 邹晓翠]