

# 蓬子菜总黄酮对四氯化碳诱导的小鼠肝损伤的保护作用及机制

向秋玲, 李雪兰(湖南省常德职业技术学院医学系, 湖南 常德 415000)

**摘要:** 目的 探讨蓬子菜总黄酮(total flavonoids extracts of *Galium verum* L., TFG)对 CCl<sub>4</sub>致小鼠急性肝损伤的影响及其机制。方法 60 只昆明小鼠随机分成正常组、模型组、阳性对照组、TFG 组。各治疗组予以相应的药物灌胃 6 d 后, 除正常组外其余各组腹腔注射 6%CCl<sub>4</sub>造模, 24 h 后取样, 肝组织 HE 染色, 检测血清中谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)以及肝肾组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)水平, 分析血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平。昆明小鼠 50 只, 随机分成正常组、模型组、TFG 组(200 mg·kg<sup>-1</sup>)、抗 IL-6 单抗(40 mg·kg<sup>-1</sup>)+TFG(200 mg·kg<sup>-1</sup>)组、抗 TNF- $\alpha$  单抗(5 mg·kg<sup>-1</sup>)+TFG(200 mg·kg<sup>-1</sup>)组, 各治疗组予以相应的药物处理 6 d 后, 除正常组外, 其余各组腹腔注射 6%CCl<sub>4</sub>造模, 24 h 后取血清分析 AST、ALT 水平。结果 与模型组比较, 蓬子菜总黄酮能改善肝损伤, 降低血清中 AST、ALT 活性以及肝肾中 MDA 含量, 提高肝肾 SOD 活性、GSH 含量, 降低血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 表达( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。抗 IL-6、TNF- $\alpha$  单抗能明显降低血清中 AST、ALT 活性( $P<0.05$ )。结论 蓬子菜总黄酮能通过清除自由基、抑制脂质过氧化, 保护细胞膜和线粒体膜的完整性。同时减少 IL-6、TNF- $\alpha$  的释放, 改善急性肝损伤。

**关键词:** 蓬子菜; 总黄酮; 急性肝损伤; 氧化应激; 抗炎

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2017)10-1392-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.10.007

引用本文: 向秋玲, 李雪兰. 蓬子菜总黄酮对四氯化碳诱导的小鼠肝损伤的保护作用及机制[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(10): 1392-1396.

## Effect and Mechanism of Total Flavonoids from *Galium Verum* L. on CCl<sub>4</sub>-induced Liver Injury in Mice

XIANG Qiuling, LI Xuelan(Department of Medicine of Changde Vocational Technical College, Changde 415000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the effect and mechanism of total flavonoids extracts of *Galium verum* L.(TFG) on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in mice. **METHODS** Sixty KM mice were randomly divided into the normal group, the model group, the positive control group and TFG group. The mice in each treatment group were given corresponding drugs for 6 d. Except the normal group, the other groups were injected intraperitoneally with 6% CCl<sub>4</sub> for 24 h, HE staining was used. Activitise of serum aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT) and levels of albumin superoxide dismutase(SOD), glutathione(GSH-Px), and malondialdehyde (MDA) in liver and kidney tissue were detected, levels of serum TNF- $\alpha$  and IL-6 were analyzed. Fifty KM mice were randomly divided into normal group, model group, TFG group(200 mg·kg<sup>-1</sup>), anti-TNF- $\alpha$  monoclonal antibody(40 mg·kg<sup>-1</sup>)+TFG(200 mg·kg<sup>-1</sup>) group, anti-IL-6 monoclonal antibody(5 mg·kg<sup>-1</sup>)+TFG(200 mg·kg<sup>-1</sup>) group. The mice in each treatment group were given corresponding drugs for 6 d. Except the normal group, the other groups were injected intraperitoneally with 6% CCl<sub>4</sub> for 24 h. Finally, activitise of serum AST and ALT were measured. **RESULTS** Compared with the model group, TFG could improve CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in mice, significantly decrease activitise of serum AST, ALT and level of MDA in liver and kidney, increase activities of SOD and content of GSH in liver and kidney, significantly decreased the levels of serum TNF- $\alpha$  and IL-6( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Anti-IL-6 and TNF- $\alpha$  monoclonal antibody could significantly decrease activities of serum AST and ALT( $P<0.05$ ). **CONCLUSION** TFG can effectively improve the CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in mice, which may be related to its ability to improve antioxidant, inhibit lipid peroxidation, protect the integrity of the cell membrane and mitochondrial membrane, while reducing the release of IL-6 and TNF- $\alpha$ .

**KEY WORDS:** *Galium verum* L.; total flavonoid; liver injury; oxidative stress; anti-inflammatory

病毒、细菌、药物、酒精等因素易诱发肝损伤, 各种细胞因子、炎症介质以及自由基过度激活并释放, 加重肝损伤。蓬子菜(*Galium verum* L.)为茜草科拉拉属植物蓬子菜的全草<sup>[1]</sup>, 能减少血栓形成<sup>[2]</sup>, 抑制人肝癌 HepG2 细胞增殖<sup>[3]</sup>。研究显示<sup>[4]</sup>, 蓬子菜总黄酮具有明显的抗氧化、清除自由

基的作用, 但对肝损伤的影响鲜有报道。本研究拟采用超声波辅助提取蓬子菜全草中的总黄酮, 探讨蓬子菜总黄酮(total flavonoids extracts of *Galium verum* L., TFG)对四氯化碳诱导急性肝损伤小鼠的改善作用, 并分析其机制, 为蓬子菜资源的开发利用提供科学依据。

作者简介: 向秋玲, 女, 硕士, 讲师 Tel: 13721324733 E-mail: xqiling77@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 药物

蓬子菜采集于贵州省黎平县,经湖南中医药大学药学院药植教研室周日宝教授鉴定为茜草科拉拉属植物蓬子菜(*Galium verum* L.)全草,凭证标本保存在怀化学院侗族药用植物标本馆内,自然烘干,粉碎,过40目筛。

### 1.2 动物

清洁级健康昆明小鼠,♂,体质量(20±2)g,购自湖南嘉泰实验动物有限公司,许可证号:SCXK(湘)2012-0007。

### 1.3 试剂

谷丙转氨酶(ALT,批号:20140312)、谷草转氨酶(AST,批号:20130911)、超氧化物歧化酶(SOD,批号:20140309)、谷胱甘肽(GSH,批号:20140318)、过氧化氢酶(CAT,批号:20131103)、丙二醛(MDA,批号:20140817)等试剂盒,均购自南京建成生物有限公司;肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ,批号:141208)试剂盒和白细胞介素-6(IL-6,批号:131209)试剂盒均购自上海百蕊生物科技有限公司;小鼠抗IL-6单克隆抗体(英国Abcam公司,批号:ab6672);英夫利昔(西安杨森,批号:131008);其他试剂均为分析纯。槲皮素对照品(上海纯优生物科技有限公司,货号:P0014,纯度 $\geq$ 98%)。

### 1.4 仪器

Synergy H1型全功能酶标仪(美国BIO TEK仪器有限公司);AL104型电子天平(瑞士梅特勒托利多仪器公司);RE-52AA型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);UV-2501PC型紫外分光光度计(日本岛津公司)。

### 1.5 方法

**1.5.1 TFG的制备** 依据预实验工艺,称取干燥蓬子菜5 kg,按1:15的料液比加入75%乙醇浸泡12 h,循环式超声波提取仪于45℃、540 W条件下提取3次,每次60 min,合并提取液,减压浓缩得粗提液。采用D-101大孔树脂纯化粗提液,10%乙醇洗脱去除多糖和蛋白质等杂质,75%乙醇洗脱,洗脱液减压浓缩,真空冷冻干燥得TFG粉末。

**1.5.2 TFG含量测定** 配制200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 槲皮素对照品溶液,准确吸取0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL对照品溶液置于25 mL具塞试管中,甲醇

定容至10 mL,各加1 mL 5%  $\text{NaNO}_2$ 溶液,摇匀静置5 min,加入1 mL  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  (10%)溶液,摇匀静置5 min,加入 $\text{NaOH}$ (1.0  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )10 mL,甲醇定容,于510 nm处测定吸光值 $A$ 值,以 $A$ 为纵坐标,槲皮素的浓度 $C$ 为横坐标,线性回归并建立标准曲线: $A=10.638C+0.008$ ( $r=0.9995$ ),线性范围为0~48  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

精密称取TFG 0.2 g置于100 mL量瓶,甲醇溶解并定容,检测并计算TFG含量。

**1.5.3 肝损伤模型的建立** 60只昆明小鼠随机分成7组:正常组、模型组、阳性对照组(水飞蓟素,100  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、TFG给药组(100, 200, 400  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。对照组、模型组每天按20  $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃0.3%的羧甲基纤维素钠1次,阳性对照组和TFG给药组按20  $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃1次,连续6 d。末次给药后隔夜禁食不禁水16 h后,正常组按剂量5  $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射橄榄油,其余各组按5  $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射6% $\text{CCl}_4$ 橄榄油溶液,禁食不禁水24 h,麻醉后眼眶取血,4℃3 500  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min分离血清,备用。小鼠处死,取肝右叶和肾脏,4℃生理盐水冲洗备用,肝左叶10%甲醛固定,备用。

**1.5.4 肝组织的病理切片观察** 取小鼠左叶肝组织,4℃生理盐水冲洗,滤纸拭干,10%甲醛固定,石蜡包埋,常规切片,苏木素-伊红(HE)染色,光学显微镜下观察肝组织切片的病理变化。

**1.5.5 生化指标的测定** 自动生化分析仪检测血清ALT、AST活性;取肝、肾组织加入生理盐水于冰水浴中进行组织匀浆,4℃3 500  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清,黄嘌呤氧化酶法(羟胺法)测定SOD活力,可见光法测定CAT活力,分光光度法测定GSH含量,TBA法测定MDA的含量,均严格按照试剂盒说明操作。

**1.5.6 ELISA法检测血清TNF- $\alpha$ 和IL-6水平** 用稀释液将标准品等比稀释绘制标准曲线,加稀释液40  $\mu\text{L}$ 和待检测样品10  $\mu\text{L}$ 到包被之反应孔中,置37℃孵育1 h,洗涤。于各反应孔加入酶标抗体50  $\mu\text{L}$ (空白孔不加),37℃孵育0.5 h,洗涤。加入TMB底物50  $\mu\text{L}$ ,加入过氧化氢,避光显色20 min。于各反应孔中加入2  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸50  $\mu\text{L}$ ,混匀后即刻检测 $A$ 值,计算TNF- $\alpha$ 和IL-6水平。

**1.5.7 抗IL-6、TNF- $\alpha$ 单克隆抗体对小鼠肝损伤的影响** 昆明小鼠50只,随机分成5组:正常组、模型组、TFG组(200  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、抗IL-6单抗

(40 mg·kg<sup>-1</sup>, ip)+TFG(200 mg·kg<sup>-1</sup>, ig)组、抗 TNF-α 单抗(5 mg·kg<sup>-1</sup>, ip)+ TFG(200 mg·kg<sup>-1</sup>, ig)组, 连续给药 6 d。末次给药后参照“1.5.3”项下方法建立动物模型, 禁食不禁水 24 h 后, 麻醉后眼眶取血, 4 °C 3 500 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min 分离血清, 自动生化分析仪检测血清 ALT、AST 活性。

## 1.6 统计学处理

SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析。数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用方差分析和 *t* 检验, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 TFG 的含量

蓬子菜乙醇提取物经过大孔树脂纯化及冷冻干燥后, 得粉末 186.5 g, 纯度为 88.5%。

### 2.2 对各组小鼠的肝组织病理形态学的影响

正常组小鼠肝小叶结构正常, 肝细胞排列整齐, 肝细胞无变性、坏死等损伤性改变; 模型组小鼠肝细胞发生严重坏死, 并伴有一定程度的炎症细胞浸润; 阳性对照组小鼠肝小叶结构基本正常, 肝细胞坏死和炎症细胞浸润减少; 与肝损伤模型组比较, TFG 各剂量组小鼠肝小叶结构明显改善, 炎性浸润和坏死明显减少。结果见图 1。

### 2.3 对各组小鼠血清中 AST、ALT 活力的影响

与正常组小鼠比较, 模型组小鼠血清中的 AST、ALT 活性显著升高(*P*<0.01)。与模型组比较, TFG 给药组小鼠血清中 AST、ALT 的活力明显降低(*P*<0.05 或 *P*<0.01)。结果见表 1。

### 2.4 对各组小鼠肝和肾中 SOD、CAT 活力和 GSH、MDA 含量的影响

与正常组比较, 模型组小鼠肝、肾组织中的 SOD、CAT 活力以及 GSH 含量均显著降低, MDA 含量显著升高(*P*<0.01); 与模型组比较, TFG 中、高剂量组小鼠肝、肾组织中的 SOD、CAT 活性和

GSH 含量均显著升高(*P*<0.01), MDA 的含量显著降低(*P*<0.01)。结果见表 2~3。

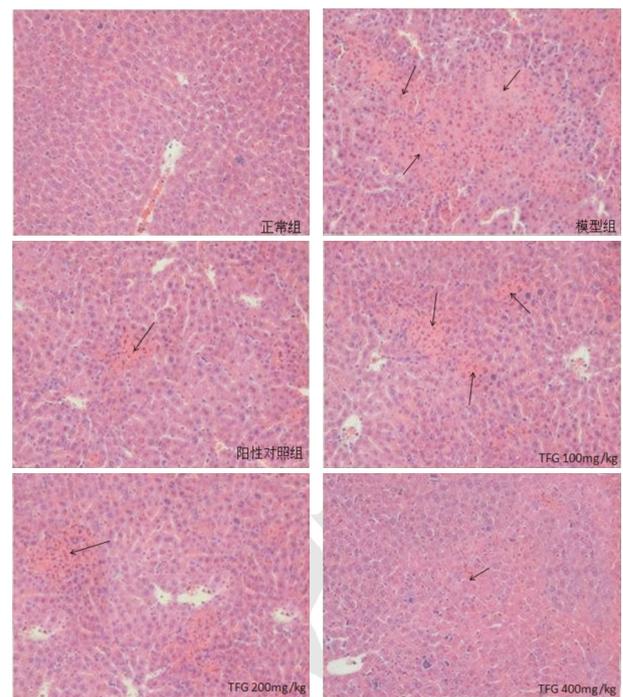


图 1 急性肝损伤小鼠肝组织病理学变化(200×)

→ 坏死肝细胞。

Fig. 1 Pathological changes of liver tissue in mice with acute liver injury(200×)

→ Necrotic hepatocytes.

表 1 TGP 对血清中 ALT、AST 的影响(*n*=10,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Effects of TGP on ALT and AST in serum (*n*=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	ALT 活力/U·L <sup>-1</sup>	AST 活力/U·L <sup>-1</sup>
正常组	-	36.4±2.4	65.3±1.7
模型组	-	154.2±10.8 <sup>1)</sup>	218.3±12.4 <sup>1)</sup>
阳性对照组	100	45.6±2.34 <sup>3)</sup>	70.3±4.4 <sup>3)</sup>
	100	115.7±4.8 <sup>2)</sup>	156.5±7.6 <sup>3)</sup>
TFG 给药组	200	68.5±2.7 <sup>3)</sup>	108.7±4.5 <sup>3)</sup>
	400	48.5±1.6 <sup>3)</sup>	81.5±2.3 <sup>3)</sup>

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。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup>*P*<0.01; compared with model group, <sup>2)</sup>*P*<0.05, <sup>3)</sup>*P*<0.01.

表 2 各组小鼠肝中的 SOD、CAT、GSH 和 MDA 水平(*n*=10,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Changes of SOD, CAT, GSH and MDA levels of liver in mice (*n*=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	SOD 活力/U·mgprot <sup>-1</sup>	CAT 活力/U·mgprot <sup>-1</sup>	GSH/mg·gprot <sup>-1</sup>	MDA/nmol·mgprot <sup>-1</sup>
正常组	-	102.32±5.73	81.26±8.42	7.21±1.64	1.57±0.46
模型组	-	39.41±2.72 <sup>1)</sup>	38.31±4.26 <sup>1)</sup>	3.01±0.87 <sup>1)</sup>	4.13±0.48 <sup>1)</sup>
阳性对照组	100	85.42±4.13 <sup>3)</sup>	71.24±5.38 <sup>3)</sup>	5.68±0.69 <sup>3)</sup>	2.46±0.51 <sup>3)</sup>
	100	51.44±3.26 <sup>2)</sup>	48.26±4.21 <sup>2)</sup>	3.71±0.67 <sup>2)</sup>	3.61±0.58 <sup>2)</sup>
TFG 给药组	200	74.24±2.41 <sup>3)</sup>	55.21±5.26 <sup>3)</sup>	5.01±0.71 <sup>3)</sup>	3.02±0.46 <sup>3)</sup>
	400	81.38±2.51 <sup>3)</sup>	68.32±5.82 <sup>3)</sup>	5.63±0.49 <sup>3)</sup>	2.46±0.41 <sup>3)</sup>

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。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup>*P*<0.01; compared with model group, <sup>2)</sup>*P*<0.05, <sup>3)</sup>*P*<0.01.

表 3 各组小鼠肾中的 SOD、CAT、GSH 和 MDA 水平( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Tab.3 Changes of SOD, CAT, GSH and MDA levels of kidney in mice ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	SOD 活力/U·mgprot <sup>-1</sup>	CAT 活力/U·mgprot <sup>-1</sup>	GSH/mg·gprot <sup>-1</sup>	MDA/nmol·mgprot <sup>-1</sup>
正常组	-	81.26±5.92	71.21±5.24	6.84±1.59	2.42±0.61
模型组	-	41.25±1.86 <sup>1)</sup>	32.26±4.21 <sup>1)</sup>	2.42±0.47 <sup>1)</sup>	4.32±0.71 <sup>1)</sup>
阳性对照组	100	72.14±1.48 <sup>3)</sup>	66.38±3.26 <sup>3)</sup>	4.51±0.51 <sup>3)</sup>	2.32±0.63 <sup>3)</sup>
TFG 给药组	100	45.28±2.46	46.21±3.24 <sup>2)</sup>	3.46±0.38	4.11±0.61
	200	61.32±1.36 <sup>3)</sup>	51.21±3.47 <sup>3)</sup>	4.57±0.41 <sup>3)</sup>	3.26±0.57 <sup>3)</sup>
	400	78.42±2.68 <sup>3)</sup>	66.24±4.12 <sup>3)</sup>	4.95±0.32 <sup>3)</sup>	2.68±0.49 <sup>3)</sup>

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> $P<0.01$ 。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ .

### 2.5 对 各 组 小 鼠 血 清 中 TNF- $\alpha$ 和 IL-6 水 平 的 影 响

与正常组比较, 模型组小鼠血清中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较, TFG 低、中、高剂量组小鼠的血清 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平显著降低, 呈良好的剂量-效应关系( $P<0.01$ )。结果见表 4。

表 4 各组小鼠血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平变化( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Tab. 4 Changes of TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in serum of each group ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	IL-6/ng·mL <sup>-1</sup>	TNF- $\alpha$ /pg·mL <sup>-1</sup>
正常组	-	1.62±0.48	1.51±0.37
模型组	-	3.49±0.52 <sup>1)</sup>	3.26±0.29 <sup>1)</sup>
阳性对照组	100	1.58±0.46 <sup>3)</sup>	1.76±0.26 <sup>3)</sup>
TFG 给药组	100	2.74±0.42 <sup>2)</sup>	2.83±0.21 <sup>2)</sup>
	200	2.43±0.38 <sup>3)</sup>	2.11±0.18 <sup>3)</sup>
	400	2.32±0.29 <sup>3)</sup>	1.82±0.16 <sup>3)</sup>

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> $P<0.01$ 。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ .

### 2.6 抗 IL-6、TNF- $\alpha$ 单克隆抗体对小鼠肝损伤的影响

与正常组比较, 模型组小鼠血清中的 AST、ALT 的活性显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较, TFG 给药组及抗 IL-6、TNF- $\alpha$ +TFG 组小鼠血清中 AST、ALT 的活力明显降低( $P<0.01$ )。与 200 mg·kg<sup>-1</sup> TFG 给药组比较, 抗 IL-6、TNF- $\alpha$ +TFG 组小鼠血清中 AST、ALT 的活力明显降低( $P<0.05$ )。结果见表 5。

## 3 讨论

研究显示, CCl<sub>4</sub> 经酶系统作用后, 生成三氯甲基自由基 ( $\cdot\text{CCl}_3$ ),  $\cdot\text{CCl}_3$  与氧结合生成 CCl<sub>3</sub>OO $\cdot$  [5], 这些自由基进一步引发脂质过氧化, 导致细胞膜和肝组织损伤, 并使部分活性物质从肝脏中释放出来。本研究中, CCl<sub>4</sub> 造模后发现小

表 5 抗 IL-6、TNF- $\alpha$  单克隆抗体对小鼠肝损伤的保护作用( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Tab. 5 Protective effect of anti-IL-6 and TNF- $\alpha$  monoclonal antibodies on liver injury in mice ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	ALT 活力/U·L <sup>-1</sup>	AST 活力/U·L <sup>-1</sup>
正常组	-	36.7±2.5	65.6±1.9
模型组	-	158.4±11.6 <sup>1)</sup>	217.2±12.8 <sup>1)</sup>
TFG 给药组	200	67.2±2.5 <sup>2)</sup>	105.4±4.9 <sup>2)</sup>
抗 IL-6 单抗+TFG 组	40+200	47.5±2.5 <sup>2)3)</sup>	76.1±3.5 <sup>2)3)</sup>
抗 TNF- $\alpha$ 单抗+TFG 组	5+200	51.4±2.7 <sup>2)3)</sup>	79.2±3.7 <sup>2)3)</sup>

注: 与正常组比较, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P<0.01$ ; 与 TFG 给药组比较, <sup>3)</sup> $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.01$ ; compared with TFG group, <sup>3)</sup> $P<0.05$ .

鼠血清中 AST、ALT 活力明显提高, 同时肝组织 MDA 含量明显增加, SOD、CAT 和 GSH 活性显著降低, 并伴随血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平显著增加, 提示 CCl<sub>4</sub> 所致肝损伤的机制与脂质过氧化及炎症反应有关。组织病理学显示, 通过 CCl<sub>4</sub> 处理的小鼠肝小叶结构出现紊乱, 肝细胞伴有水样变性, 部分出现脂肪变性, 严重的产生坏死, 并伴有一定程度的炎症细胞浸润, 提示小鼠肝损伤的存在。本研究结果表明, TFG 降低肝细胞受损程度效果明显, 其中 TFG 高剂量组的 ALT 活力与阳性对照组无显著性差异, 而 AST 尽管高于阳性对照组, 但与模型组比较, 仍大大降低, 提示 TFG 能有效保护肝细胞, 拮抗 CCl<sub>4</sub> 所致的小鼠肝损伤。

研究表明, SOD 能将超氧自由基转化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub>, 从而参与氧自由基的清除, 能作为评价机体氧化损伤的指标之一 [6]。而 GSH 水平是评价肝脏和肾脏氧化损伤的另一个抗氧化参数, 参与自由基清除以及抗衰老。丙二醛代表细胞膜脂质过氧化程度, 其水平与细胞膜的脂质过氧化速率或强度密切相关 [7]。本研究发现, TFG 显著增强经

CCl<sub>4</sub> 处理后小鼠肝脏和肾脏组织中 SOD、GSH-Px 活性, 并降低 MDA 含量, 其中 TFG 高剂量组小鼠肝脏和肾脏组织中 SOD、GSH-Px 和 MDA 水平与阳性对照物无显著性差异, 提示增强机体抗氧化能力可能是 TFG 发挥活性的机制之一。

TNF- $\alpha$  是一种多功能的细胞因子, 较高水平的 TNF- $\alpha$  会诱发细胞产生凋亡刺激因子以及中性粒细胞黏附, 并会活化中性粒细胞, 导致肝细胞产生过多的氧自由基或蛋白酶, 肝细胞发生毒性损伤, 并增加 IL-6 等炎症因子的分泌, 参与机体的相关反应<sup>[8]</sup>。而 IL-6 为常见的炎症因子, 具有抗感染和免疫防御功能, 对肝细胞具有一定程度的保护作用, 改善肝细胞再生, 但异常的升高会参与肝病的免疫病理反应<sup>[9]</sup>。本研究中, 模型组小鼠血清中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平明显增加, 通过不同剂量 TFG 处理, 小鼠血清中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平明显下降, 其中 TFG 高剂量组 IL-6 水平与阳性对照组无显著性差异, 而 TNF- $\alpha$  尽管高于阳性对照组, 但仍显著低于模型组水平, 这也说明 TFG 改善肝损伤, 与改善炎症有关。本研究中为了进一步探讨 TFG 改善肝损伤的可能机制, 通过注射抗 IL-6、TNF- $\alpha$  单克隆抗体, 观察其对大鼠的影响。结果显示, 抗 IL-6、TNF- $\alpha$  单抗干预组大鼠的血清 AST、ALT 活性明显低于模型组和 200 mg·kg<sup>-1</sup> TFG 给药组, 进一步提示 IL-6、TNF- $\alpha$  可能参与了 CCl<sub>4</sub> 诱导小鼠肝损伤, 并可能通过炎症级联放大效应加重机体的炎症反应。

总之, TFG 能有效的改善 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝损伤,

其机制可能是通过清除自由基、抑制脂质过氧化, 保护细胞膜和线粒体膜的完整性; 同时减少炎症细胞因子 IL-6、TNF- $\alpha$  的释放, 改善急性肝功能损伤。

## REFERENCES

- [1] ZHU Y L, MA Y L, LI R, et al. Pro-apoptotic effect of FGVL on NB4 cells and its mechanism [J]. Chin J Pub Health(中国公共卫生), 2017, 33(2): 211-213.
- [2] SHUI W X, DONG K, WAN X C, et al. Study on influence of resisting phlebothrombosis of Diosmin abstracted from *Galium verum* L [J]. J Harbin Univ Commer(Nat Sci Ed)(哈尔滨商业大学学报: 自然科学版), 2016, 32(4): 390-394.
- [3] LI H X, MA Y L, SHI L E, et al. Mechanism of flavonoids from *Galium verum* on cell proliferation and apoptosis of HepG<sub>2</sub> [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2013, 44(10): 1290-1294.
- [4] KOU H X, DONG K, NING X, et al. Ameliorative effect on hemorheology and mechanism of *Galium verum* L flavonoids in rats with acute blood stasis [J]. Acta Chin Med Pharm(中医药学报), 2015, 43(1): 11-15.
- [5] CONG M, ZHAO W, LIU T, et al. Protective effect of human serum amyloid P on CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury in mice [J]. Int J Mol Med, 2017, 40(2): 454-464.
- [6] HONG Y P, PANG X J. Protective effect of Jiejiu Oral Liquid on acute liver injury in mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2017, 34(3): 352-357.
- [7] YAO B Y, HUANG Z M. Berberine protect mice against CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(4): 424-427.
- [8] YIN H Y, QIU M S, HE D, et al. Protective effect of curcumin on hepatocytes in rats with sepsis [J]. Chin Crit Care Med(中华危重病急救医学), 2017, 29(2): 162-166.
- [9] 张米玲. 天晴甘平对急性白血病患者化疗所致肝损伤及 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(6): 643-645.

收稿日期: 2017-05-10

(本文责编: 曹粤锋)