

太白橐木总皂苷对小鼠急性酒精性肝损伤的干预作用

范 好 郭东艳 郑 蓓

摘 要 **目的** 探讨太白橐木总皂苷对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用及其机制。**方法** 将健康昆明小鼠 60 只随机分为空白组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、阳性对照组(联苯双酯, 125mg/kg)、太白橐木总皂苷高、中、低剂量组(400、200、100mg/kg), 每组 10 只, 雌雄分开饲养, 灌胃给药。除空白组外, 其余各组每日上午给予 56°北京二锅头(10mg/kg)灌胃, 下午给予干预治疗, 连续 7 天。末次给药 8h 后, 检测小鼠肝脏指数, 血清及肝组织中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)含量, 肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量, HE 染色观察肝组织病理改变。**结果** 与模型组比较, 太白橐木总皂苷不同浓度治疗组均能够降低酒精性肝损伤小鼠血清及肝组织中 ALT、AST 水平 ($P < 0.01$), 升高肝组织 SOD 活性 ($P < 0.01$), 降低 MDA 含量 ($P < 0.05$); 肝组织 HE 染色显示, 太白橐木总皂苷可明显减轻小鼠肝损伤的病变程度。**结论** 太白橐木总皂苷对急性酒精性肝损伤小鼠具有一定的保护作用, 其作用机制可能与对抗自由基生成, 抑制氧化应激来实现抑制抗氧化应激有关。

关键词 太白橐木总皂苷 急性酒精性肝损伤 氧化应激

中图分类号 R1 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.10.015

Effect of Total Saponin of Aralia Taibaiensis on Acute Liver Injury Induced by Alcohol in Mice. Fan Yu, Guo Dongyan, Zheng Bei. *Medicine Shaanxi University, Shaanxi 712046, China*

Abstract **Objective** To study the protection effect of Total Saponin of Aralia Taibaiensis (TSAT) on liver injury induced by alcohol in mice and explore its possible pharmacological mechanisms. **Methods** A total of 60 mice were randomly divided into normal group, model group, bifendate group (125mg/kg) and TSAT high dose, middle dose, and low dose groups (400, 200, 100mg/kg). 10 mice in each group were fed and reared, and the medicine was given to the stomach. Except the normal group, other groups were given 56° Beijing Erguotou (10mg/kg) in the morning, the medicine group were given the corresponding medicine by gavage in the afternoon once a day for 7 days. 8 Hours later, blood and liver samples of mice were collected for the calculation of liver indexes of mice in each group and the detection AST and ALT levels in serum and liver tissues as well as SOD activity and MDA in liver tissues. Histopathological changes of liver were observed by HE staining. **Results** Compared with model group, TSAT could significantly reduce the liver index in mice ($P < 0.05$), reduce ALT and AST levels in serum and liver tissues ($P < 0.01$), increase the activities of SOD ($P < 0.01$) and decrease the MDA content ($P < 0.05$) in liver tissues. Pathological changes of the mice liver were observed by HE staining. **Conclusion** TSAT may have protection effect on alcohol-induced liver injury in mice, and the mechanism may be associated with the regulation of oxidative stress in the liver.

Key words Total Saponin of Aralia Taibaiensis; Acute alcohol-induced liver injury; Oxidative stress

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是长期、大量饮酒所致的肝脏损伤性病变,以酒精性脂肪肝、酒精性脂肪性肝炎、酒精性肝纤维化、酒精性肝硬化和肝细胞癌为主要病理变化。近年来酒精性肝病发生率逐年升高,已成为威胁国民健康的主要疾病。

太白橐木是五加科(Araliaceae)橐木属(Aralialinn)植物,药用根皮,也称橐木白皮、飞天蜈蚣七,是“秦岭七药”之一,具有驱风除湿、利水消肿、止痛、健脾之功效,用于治疗急性慢性肝炎、风湿性关节炎、淋巴结肿大、糖尿病等^[1]。太白橐木总皂苷(total Saponin of Aralia Taibaiensis, TAST)是本实验室从太白橐木根皮中经提取纯化得到的皂苷类物质^[2-4]。有研究表明太白橐木总皂苷对CCl₄致化学性肝损伤及肝纤维化模型大鼠具有较好的治疗作用,但其对急性酒精性肝损伤的防治作用鲜有报道^[5,6]。本研究通过建立小鼠酒精性急性肝损伤模型,观察不同剂量太

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(81703925);陕西省中医药管理局基金资助项目(15-ZY002);陕西省教育厅基金资助项目(16JK1218);陕西省中药基础与新药研究重点实验室开放基金资助项目(2017KF03)

作者单位:712000 咸阳,陕西中医药大学

通讯作者:范好,副教授,电子信箱:806919125@qq.com

白槲木总皂苷对急性酒精性肝损伤的保护作用及可能的作用机制,为太白槲木总皂苷在防治肝损伤中的应用提供理论依据。

材料与方法

1. 实验动物:健康清洁级昆明种小鼠共 60 只,雌雄各半,体重 $20 \pm 2\text{g}$,由西安交通大学动物实验中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(陕)2015-003。
2. 实验药物:太白槲木药材购于陕西眉县药材公司,经陕西中医药大学王继涛高级实验师鉴定为五加科植物太白槲木根皮,淡黄色粉末,气微,微苦;含总皂苷 80%。避光室温下保存。联苯双酯滴丸购自浙江医药股份有限公司新昌制药厂;56°北京二锅头购自北京龙泉四喜酿造有限公司;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、BCA 蛋白定量试剂盒均购自南京建成工程研究所。其他试剂均为分析纯。
3. 仪器:Centrifuge 5417R 台式冷冻高速离心机(德国 Eppendorf 公司), BIO-RAD Model680 酶标仪(北京伯乐生命科学发展有限公司),Leica RM2235 切片机(德国徕卡公司),ZEISS 显微镜(德国蔡司公司)。
4. 实验分组与给药方法:60 只昆明小鼠适应性饲养 1 周后开始实验,随机分为 6 组,即空白组、模型组、阳性对照组、太白槲木总皂苷高、中、低剂量组,每组 10 只,雌雄分开饲养。每日上午除正常组外,其余各组按 10mg/kg 剂量灌胃 56°白酒 1 次,连续 7 天;每日下午空白组和模型组灌胃等体积生理盐水,阳性组给予联苯双酯 125mg/kg 灌胃给药,高、中、低浓度太白槲木总皂苷组灌胃 400mg/kg、200mg/kg、100mg/kg,连续 7 天。末次给药后禁食不禁水,8h 后眼眶采血,分离血清,-20℃保存备用。颈椎脱臼处死小鼠,立即剖取肝脏,称取肝脏重量,称重,并取 0.5g 肝组织,制备组织匀浆,-20℃保存备用。剩余肝组织置于 4% 甲醛中固定。
5. 肝指数测定:取小鼠肝脏,置于 4℃生理盐水

中润洗,滤纸吸干,观察肝脏外观,称重,计算肝指数,肝指数(%) = 肝质量(mg) ÷ 体质量(g) × 100%。

6. 血清及肝组织中 ALT、AST 活性检测:按试剂盒说明书操作检测血清及肝组织中 ALT、AST 含量。
7. 肝组织形态学观察:取肝脏次大叶,10% 甲醛固定液中固定 24h 后,流水冲洗,经梯度乙醇脱水,二甲苯透明,进行石蜡包埋处理后切片,HE 染色观察肝脏病理学变化并拍照。
8. 肝组织中 SOD、MDA 的检测:肝组织匀浆应用 BCA 蛋白定量试剂盒检测组织上清的蛋白浓度,按试剂盒说明书操作检测肝组织中 SOD、MDA 含量。
9. 统计学方法:采用 SPSS 18.0 统计学软件对数据进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,行 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 太白槲木总皂苷对急性肝损伤模型小鼠肝脏指数的影响:与空白组比较,模型组小鼠肝脏指数显著升高($P < 0.01$),太白槲木总皂苷不同剂量治疗组和阳性对照组小鼠肝脏指数均明显降低($P < 0.05$),结果见表 1。

表 1 太白槲木总皂苷对急性肝损伤模型小鼠肝指数的影响

组别	<i>n</i>	给药剂量(mg/kg)	肝指数(%)
空白组	10	-	4.52 ± 0.60
模型组	10	-	5.76 ± 0.51 [#]
阳性对照组	10	125	5.05 ± 0.65 [*]
TSAT 高剂量组	10	400	4.83 ± 0.33 ^{**}
TSAT 中剂量组	10	200	4.97 ± 0.54 ^{**}
TSAT 低剂量组	10	100	5.22 ± 0.61 [*]

与空白组比较,[#] $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

2. 太白槲木总皂苷对急性肝损伤模型小鼠血清及肝组织中 AST、ALT 活性的影响:与空白对照组比较,模型组小鼠血清及肝组织中 ALT、AST 活性均显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性对照组、太白槲木不同剂量给药组均不同程度抑制 ALT、AST 活性的结果见表 2($P < 0.01$)。

表 2 太白槲木总皂苷对急性肝损伤模型小鼠血清及肝组织中 ALT、AST 的影响

组别	<i>n</i>	给药剂量 (mg/kg)	ALT		AST	
			血清	肝组织	血清	肝组织
空白组	10	-	23.76 ± 3.53	19.47 ± 6.31	20.73 ± 6.10	19.24 ± 5.34
模型组	10	-	119.64 ± 9.82 [#]	62.63 ± 4.46 [#]	74.62 ± 8.33 [#]	38.4 ± 3.78 [#]
阳性对照组	10	125	52.70 ± 4.99 ^{**}	37.18 ± 3.98 ^{**}	40.40 ± 7.08 ^{**}	20.98 ± 3.13 [*]
TSAT 高剂量组	10	400	52.89 ± 4.12 ^{**}	39.75 ± 5.80 ^{**}	44.74 ± 7.60 ^{**}	25.50 ± 5.43 ^{**}
TSAT 中剂量组	10	200	69.14 ± 6.54 ^{**}	42.19 ± 3.97 ^{**}	51.31 ± 8.29 ^{**}	27.17 ± 5.21 ^{**}
TSAT 低剂量组	10	100	75.78 ± 6.99 ^{**}	45.38 ± 4.15 ^{**}	61.39 ± 7.13 ^{**}	27.26 ± 4.64 ^{**}

与空白组比较,[#] $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

3. 太白橐木总皂苷对急性肝损伤模型小鼠肝组织病理学影响:空白组小鼠肝小叶结构清晰,肝索排列规则,肝细胞边界清晰,核大而圆,位置居中(图 1A)。模型组肝组织中央静脉扩大,肝细胞明显脂肪变性,汇管区炎性细胞浸润(图 1B)。阴性

对照组见图 1C。太白橐木总皂苷各治疗组与模型组比较,肝细胞病变程度明显减轻肝细胞肿胀减轻,胞质内脂滴减少,肝细胞水肿不明显,可见少量炎性细胞浸润,其中高、中剂量组较为明显(图 1 中 D、E、F)。

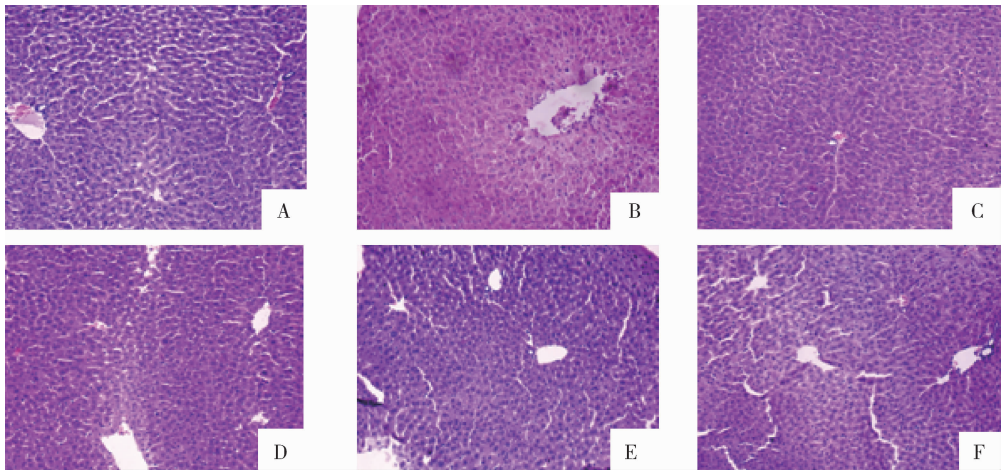


图 1 太白橐木总皂苷对小鼠肝组织病理变化的影响(HE, ×100)

A. 空白对照组;B. 模型组;C. 阳性对照组;D. 太白橐木高剂量组;E. 太白橐木中剂量组;F. 太白橐木低剂量组

4. 总皂苷对急性肝损伤模型小鼠肝组织 SOD、MDA 水平的影响:与空白组比较,模型组 SOD 活性降低($P < 0.01$),MDA 含量增加($P < 0.01$);与模型组比较,阳性对照组、太白橐木不同剂量给药组 SOD 活性升高($P < 0.01$),MDA 含量降低($P < 0.05$),结果见表 3。

也被众多学者所重视。太白橐木根皮性寒,微苦,具有祛风除湿、清热镇痛、活血散瘀之功效^[7]。本实验通过复制急性酒精性肝损伤小鼠模型,研究太白橐木总皂苷对急性酒精性肝损伤的保护作用。

ALT 和 AST 由肝细胞合成,当肝细胞受损时释放入血,是评价肝损伤最具敏感度及特异性的指标,在临床中广泛应用^[8,9]。本实验结果显示,模型组小鼠血清和肝组织中 ALT、AST 水平明显升高,表明肝损伤模型成功建立,给予太白橐木总皂苷灌胃治疗的小鼠,血清和肝组织中 ALT、AST 水平显著减低,表明太白橐木总皂苷能够有效保护酒精诱导的肝损伤,与肝组织形态学改变结果相符。

氧化应激与酒精性肝病的发生密切相关。机体摄入的酒精超过 90% 由肝脏进行代谢,并在代谢中产生大量氧自由基。当酒精过量摄入时,乙醇被通过 ADH 途径转化为乙醛,乙醛是酒精代谢后最主要的毒性物质,不仅可以直接损伤肝组织,对肝脏产生毒性作用,还可以导致活体内性氧(reactive oxygen species, ROS)等氧化产物大量增多,抗氧化物如超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)等耗竭,机体内氧化和抗氧化失衡,诱发肝脏的氧化应激损伤。SOD 是生物体抗氧化酶防御体系的主要组成部分,能有效清除活性氧自由基,终止自由基链式反应,在抗氧方

表 3 太白橐木总皂苷对急性肝损伤模型小鼠肝组织 SOD、MDA 的影响

组别	n	给药剂量 (mg/kg)	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)
空白组	10	-	32.85 ± 6.60	5.39 ± 0.55
模型组	10	-	11.23 ± 2.51 [#]	9.22 ± 1.13 [#]
阳性对照组	10	125	28.16 ± 5.73 ^{**}	7.56 ± 0.42 ^{**}
TSAT 高剂量组	10	400	31.54 ± 4.25 ^{**}	6.87 ± 0.51 ^{**}
TSAT 中剂量组	10	200	28.69 ± 4.54 ^{**}	8.49 ± 0.60 [*]
TSAT 低剂量组	10	100	26.21 ± 4.67 ^{**}	8.63 ± 0.50 [*]

与空白组比较,[#] $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

讨 论

肝脏是酒精代谢的主要场所,长期大量饮酒是诱发肝损伤的重要危险因素。目前尚未有理想的治疗方案防治酒精性肝损伤,因此从中药以及天然药物中寻找和发现疗效确切、成分单一、易于观察的有效活性成分的研究,是防治酒精性肝病的有效途径之一,

面起着重要作用^[10]。MDA 是是氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的终产物,反映机体内脂质过氧化的强度,其含量高低间接表明细胞损伤程度^[11]。本实验中太白橐木总皂苷各剂量治疗组均能增强肝组织 SOD 活性,抑制 MDA 的生成,通过提高机体抗氧化能力改善酒精诱发的小鼠肝损伤。

综上所述,太白橐木总皂苷对急性酒精性肝损伤具有一定的防治作用,其作用机制可能是通过对抗自由基生成,调节机体内氧化和抗氧化平衡,抑制氧化应激来实现。

参考文献

- 1 郭东艳,覃鸿恩,唐志书,等. 基于谱效相关的星点设计-效应面法优化太白橐木提取工艺[J]. 西北药学杂志,2012,27(5):399-402
- 2 郭东艳. 太白橐木总皂苷纯化工艺研究,陕西中医学院学报[J], 2009,32(4):65-67
- 3 郭东艳,卢雪梅,王明耿. 太白橐木提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(2):377-378

- 4 郭东艳,师延琼,王幸,等. 太白橐木不同部位(叶、茎皮、根皮)皂苷类成分分析[J],中药材,2012,35(7):1039-1041
- 5 黄苗,刘欣,董蕾,等. 太白橐木对 CCl₄ 诱导肝纤维化大鼠的干预作用[J]. 中国中药杂志,2015,40(21):4251-4255
- 6 史海涛,刘欣,刘超,等. 太白橐木对肝星状细胞凋亡及相关基因表达的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版,2017,38(2):295-303
- 7 衣蕾,吉海旺,白雪贞. 太白橐木抗肝纤维化的实验研究[J]. 中西医结合肝病杂志,2008,18(2):96-98
- 8 徐博,吴畏难,李传甲,等. 萱草花总黄酮对小鼠急性酒精性肝损伤保护作用及机制探讨[J]. 中国实验方剂杂志,2016,22(23):139-143
- 9 袁慧琦,梁楚燕,梁健,等. 铁皮石斛对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 暨南大学学报:自然科学与医学版,2016,37(5):384-388
- 10 吴道勋,张娜,邵维莉,等. 云南松松塔提取物对小鼠急性酒精性肝损伤的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2016,24(8):46-49
- 11 黄思远,孙宁阳,刘伟,等. 波棱瓜子总木脂素对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用及机制探讨[J]. 中药药理与临床,2017,33(5):66-69

(收稿日期:2018-01-03)

(修回日期:2018-01-11)

超声造影在肝癌 TACE 术后残留诊治中的价值

李红学 刘军杰 胡巧琴 李航

摘要 目的 探讨超声造影(CEUS)在原发性肝癌 TACE 术后残留诊治中的价值。**方法** 对 65 个经 DSA 验证的 TACE 术后残留原发性肝癌(PLC)病灶,行 CEUS 检查,明确其位置和 CEUS 特征,指导制定合理的经皮微波消融治疗(PMCT)方案,分析消融疗效并随访其 2 年生存率。**结果** PMCT 消融 1 个月内肿瘤直径未见明显变化,超声造影评估 PLC 疗效与 DSA 有很好的-一致性;TACE 术后残留病灶经 PMCT 治疗后完全消融率为 96.9%,AFP 均有不同程度的降低,术后未见严重并发症;其 6 个月、1 年、1 年半和 2 年的生存率分别为 87.7%、70.8%、53.8%和 43.1%。**结论** CEUS 准确显示了 TACE 术后 PLC 残存病灶的血流灌注特征,为准确制定 PMCT 方案和治疗策略提供了很大的帮助,CEUS 和 DSA 在 PLC 疗效评估方面有很好的-一致性,CEUS 逐渐成为 PLC 消融方案制定和疗效评估不可或缺的影像学方法。

关键词 超声造影 原发性肝癌 经导管动脉化疗栓塞 术后残留诊治

中图分类号 R445

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.10.016

Value of Contrast-enhanced Ultrasound in the Residual Diagnosis and Treatment of Primary Liver Cancer after TACE. Li Hongxue, Liu Junjie, Hu Qiaolin, et al. Department of Ultrasound, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi 530021, China

Abstract Objective To investigate the value of CEUS in the diagnosis and treatment of primary liver cancer after TACE. **Methods** Sixty-five DSA-confirmed residual PLC lesions after TACE were examined by contrast-enhanced ultrasound and their location and contrast-enhanced characteristics were evaluated. The rational PMCT ablation protocol was established and the 2-year survival rate was an-

基金项目:广西壮族自治区自然科学基金资助项目(2016GXNSFBA380194,2017GXNSFBA198232);广西壮族自治区医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S201632);广西医科大学青年科学基金资助项目(GXMUYSF201401)

作者单位:530021 南宁,广西医科大学附属肿瘤医院超声科

通讯作者:李航,教授,主任医师,硕士生导师,电子信箱:lihang25@163.com