

and possible functions of aquaporins 3 and 8 in rat digestive system[J]. *Biotechn Histochem*, 2016, 91(4): 269-274.

[8] Cox S S, Speaker K J, Beninson L A, *et al.* Adrenergic and glucocorticoid modulation of the sterile inflammatory response [J]. *Brain Behav Immun*, 2014, 36: 183-192.

[9] 张亚平, 冯 茜, 干洪洲. 养阴利咽饮与玉液散吹喉对阴虚肺燥型慢性咽炎患者血清因子的影响[J]. *世界中医药*, 2020, 15(8): 1175-1178.

[10] 高励斌, 张 强, 陈 亮, 等. 干扰水通道蛋白 3 对胃癌细胞增殖与凋亡的影响[J]. *皖南医学院学报*, 2017, 36(16): 516-520.

[11] Zhao H J, Yang X J, Zhou Y C, *et al.* Potential role of aquaporin 3 in gastric intestinal metaplasia [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(36): 38926-38933.

[12] Lv H C, Jiang Y S, Li J, *et al.* Association between polymorphisms in the promoter region of interleukin-10 and susceptibility to inflammatory bowel disease[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(3): 1299-1310.

[13] Cao M W, Yang M, Ou Z Y, *et al.* Involvement of auqaporins in a mouse model of rotavirus diarrhea[J]. *Virol Sin*, 2014, 29(4): 211-217.

[14] 张 霓. 王氏连朴饮加味对脾胃湿热证大鼠抗氧化功能的影响[J]. *河南中医*, 2013, 33(4): 519-520.

[15] Chun F L, Yan F Z, Wen X, *et al.* Rhubarb tannins extract inhibits the expression of aquaporins 2 and 3 in magnesium sulphate-induced diarrhoea model[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 619465.

[16] Cui Z, Zhuang C, Jiang Z Y. Expression distribution and role of aquaporin water channels in human and animal stomach intestines[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): 1399.

蒲公英总黄酮对 CCl₄ 致大鼠肝损伤的保护作用

朱正望, 付双楠, 薛 宁, 马瑞雪, 郭恒博, 苗明三, 朱平生*
(河南中医药大学, 河南 郑州 450046)

摘要: **目的** 研究蒲公英总黄酮对 CCl₄ 致大鼠肝损伤的保护作用。**方法** 144 只大鼠随机分为空白组, 模型组, 联苯双酯组 (3.75 mg/kg), 蒲公英总黄酮低、中、高剂量组 (50、100、200 mg/kg), 每组 24 只, 分别灌胃给予相应药物 (10 mL/kg), 连续 7 d。末次给药后, 除空白组外, 其余各组大鼠腹腔注射 10% CCl₄ 橄榄油溶液 10 mL/kg 进行造模, 于 3、6、12、24 h 各取 6 只, 检测血清 ALT、AST、ALP、TBIL、Arg-1、α-GST、PNP、GLDH 水平, 以及肝组织匀浆中 GSH、MDA 水平及 SOD 活性, RT-qPCR 法检测血清及肝组织中 *miR-122* mRNA 表达, HE 染色观察肝组织病理变化。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠血清 ALT、AST、ALP、TBIL、Arg-1、α-GST、PNP、GLDH 水平及肝组织 MDA 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 血清及肝组织 *miR-122* mRNA 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 肝组织 SOD 活性及 GSH 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与模型组比较, 蒲公英总黄酮能不同程度地降低大鼠血清 ALT、AST、ALP、TBIL、Arg-1、α-GST、PNP、GLDH 水平及肝组织 MDA 水平 ($P<0.05$, $P<0.01$), 下调 *miR-122* mRNA 表达 ($P<0.05$, $P<0.01$), 升高肝组织 SOD 活性及 GSH 水平 ($P<0.05$, $P<0.01$), 改善大鼠肝组织病理学损伤。**结论** 蒲公英总黄酮对 CCl₄ 致大鼠肝损伤早期具有一定的预防保护作用。

关键词: 蒲公英总黄酮; 肝损伤; CCl₄; *miR-122*

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)11-3680-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.11.051

肝脏是人体重要的解毒和代谢器官, 多种因素如病毒感染、药物滥用、有毒化学物质、过度饮酒等都会引起肝功能异常导致肝损伤, 是肝硬化、肝癌等众多肝脏疾病的重要始动因素, 重者可进一步发展为急性肝衰竭^[1-2]。针对

肝损伤的早发现、早干预对避免其进展为重型肝病和保障大众健康具有十分重要的意义。临床上对于肝损伤的治疗多采用维生素类、核苷类似物、保肝降酶药等对症治疗, 对改善患者的症状虽有一定的疗效, 但也会加重肝脏的负

收稿日期: 2021-05-20

基金项目: 河南省科技创新人才计划-杰出青年项目 (154100510020); 河南省高校科技创新团队支持计划项目 (16IRTSTHN023)

作者简介: 朱正望 (1995—), 男, 硕士生, 从事中医药防治消化系统疾病研究。Tel: 13027611587, E-mail: 2235848407@qq.com

* 通信作者: 朱平生 (1973—), 男, 博士, 教授, 从事中医药防治肝胆病研究。Tel: (0371) 65680618, E-mail: zhupingsheng@126.com

网络出版日期: 2021-12-23

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20211222.1310.004.html>

担^[3-4]。因此,探索更安全高效、早期干预的药物对于临床肝病的防治具有重要意义。

中医药对于肝病的防治疗效显著,近年来在肝病的基础实验和临床研究方面已成为主要的热点^[5-6]。蒲公英是一种应用十分广泛的药食同源中药,性寒,味苦、甘,归肝、胃经,具有清热解毒、利尿消肿的作用^[7]。黄酮类是蒲公英的有效成分之一,具有抗炎、抗氧化、保肝利胆、增强免疫力等多种药理活性,应用价值大^[8-9]。众多研究发现,黄酮类成分在抗肝损伤方面效果显著,具有广阔的开发前景和研究空间^[10-11]。前期研究发现,Arg1、 α -GST、PNP、GLDH 作为 CCl₄ 致大鼠肝损伤早期生物标志物,较传统肝功能检测指标具有较好的灵敏性^[12]。本研究在此基础上检测 CCl₄ 肝损伤大鼠传统肝功能指标、脂质过氧化指标、早期生物标志物,观察蒲公英总黄酮对 CCl₄ 肝损伤早期的干预作用。

1 材料

1.1 仪器 Multiskan Fc 型酶标仪、YZB5065-2011 型洗板机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);KDC-160HR 型高速冷冻离心机(合肥科大创新股份有限公司中佳分公司);UV-2000 型紫外可见分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司];BX63 型电动显微镜(日本 Olympus 公司);ABI7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)。

1.2 试剂与药物 蒲公英总黄酮(含量>50%,批号 20160505,西安澳瑞特生物科技有限公司)。联苯双酯(批号 A020141206,台州万邦德制药集团股份有限公司);丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(TBIL)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(批号 20160809、20160808、20160812、20160730、20160810、20160810、20160810,南京建成生物工程研究所);精氨酸酶-1(Arg-1)、 α -谷胱甘肽-S-转移酶(α -GST)、嘌呤核苷酸磷酸化酶(PNP)、谷氨酸脱氢酶(GLDH)ELISA 试剂盒(批号均为 20160810,苏州卡尔文生物科技有限公司);TRIzol 总 RNA 提取试剂盒[批号 DP405-02,天根生化科技(北京)有限公司];CCl₄(批号 20160302,天津市富宇精细化工有限公司)。

1.3 动物 Wistar 大鼠,SPF 级,体质量 180~220 g,雌雄各半,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(鲁)2014-0007,实验动物使用许可证号 SYXK(豫)2015-0005。研究经河南中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号 DWLL16010005)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药 144 只大鼠随机分为空白组,模型组,联苯双酯组(3.75 mg/kg),蒲公英总黄酮低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg),每组 24 只,给药组分别按相应剂量灌胃给予联苯双酯或蒲公英总黄酮混悬液,空白组、模型组灌胃给予等量蒸馏水,给药容量 10 mL/kg,

每天 1 次,连续 7 d。末次给药 1 h 后,空白组大鼠腹腔注射橄榄油溶液 10 mL/kg,其余各组大鼠腹腔注射 10% CCl₄ 橄榄油溶液 10 mL/kg 进行造模^[13]。

2.2 样本采集与指标检测 于造模后 3、6、12、24 h 取各组大鼠 6 只,腹腔注射 10% 水合氯醛(3 mL/kg)进行麻醉,腹主动脉取血,3 500 r/min 离心 10 min,分离血清,取肝右叶加预冷生理盐水制成 10% 组织匀浆,3 500 r/min 离心 10 min,取上清液;取肝左叶于 4% 甲醛溶液中固定,HE 染色,光镜下观察肝组织病理变化。采用微板法检测血清 ALT、AST、ALP、TBIL 水平及肝组织 SOD 活性、GSH 水平,比色法检测肝组织 MDA 水平,ELISA 法检测血清 Arg-1、 α -GST、PNP、GLDH 水平,RT-qPCR 法检测血清及肝组织中 miR-122 mRNA 表达。

2.3 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 蒲公英总黄酮对大鼠血清 ALT、AST 水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠血清 ALT、AST 水平在 3、6、12、24 h 均升高($P<0.01$)。与模型组比较,联苯双酯组大鼠血清 ALT 水平在 3、12、24 h,蒲公英总黄酮低、中剂量组在 3、24 h 降低($P<0.05$, $P<0.01$),蒲公英总黄酮高剂量组无明显变化($P>0.05$);联苯双酯组、蒲公英总黄酮低剂量组大鼠血清 AST 水平在 3、6、12 h 降低($P<0.05$, $P<0.01$),蒲公英总黄酮中、高剂量组无明显变化($P>0.05$),见表 1。

3.2 蒲公英总黄酮对大鼠血清 ALP、TBIL 水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠血清 ALP、TBIL 水平在 3、6、12、24 h 均升高($P<0.01$)。与模型组比较,联苯双酯组、蒲公英总黄酮低剂量组大鼠血清 ALP 水平在 3、6、12、24 h,蒲公英总黄酮中剂量组在 6、12、24 h,蒲公英总黄酮高剂量组在 12、24 h 降低($P<0.05$, $P<0.01$);联苯双酯组及蒲公英总黄酮低、中剂量组大鼠血清 TBIL 水平在 12 h 降低($P<0.05$),蒲公英总黄酮高剂量组无明显变化($P>0.05$),见表 2。

3.3 蒲公英总黄酮对大鼠肝组织 SOD 活性及 MDA、GSH 水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠肝组织 MDA 水平在 3、6、12、24 h 均升高($P<0.01$),SOD 活性降低($P<0.05$, $P<0.01$),GSH 水平在 6、12、24 h 均降低($P<0.01$)。与模型组比较,联苯双酯组大鼠肝组织 SOD 活性在 24 h 升高($P<0.05$),蒲公英总黄酮各剂量组无明显变化($P>0.05$);联苯双酯组、蒲公英总黄酮低剂量组大鼠肝组织 GSH 水平在 6、12、24 h,蒲公英总黄酮中剂量组在 6、24 h,蒲公英总黄酮高剂量组在 24 h 升高($P<0.05$, $P<0.01$);联苯双酯组及蒲公英总黄酮低、中剂量组大鼠肝组织 MDA 水平在 3、6、12、24 h,蒲公英总黄酮高剂量组在 6、12、24 h 降低($P<0.05$, $P<0.01$),见表 3。

表 1 蒲公英总黄酮对大鼠血清 ALT、AST 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

时间/h	组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	ALT/($\text{IU}\cdot\text{L}^{-1}$)	AST/($\text{IU}\cdot\text{L}^{-1}$)
3	空白组	—	28.41±4.45	107.23±18.12
	模型组	—	72.80±8.84**	230.04±59.54**
	联苯双酯组	3.75	46.78±10.84##	151.74±45.29##
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	50.26±10.09##	163.16±44.06#
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	53.32±14.36##	181.80±54.62
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	60.90±16.61	182.74±56.62
6	空白组	—	29.09±5.44	109.02±23.82
	模型组	—	220.62±55.90**	332.58±73.09**
	联苯双酯组	3.75	195.22±38.24	245.01±30.64##
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	201.48±46.07	256.29±61.38#
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	210.64±43.79	277.96±63.50
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	218.21±54.71	315.97±35.38
12	空白组	—	28.68±7.32	114.65±21.02
	模型组	—	298.72±42.63**	388.08±55.35**
	联苯双酯组	3.75	222.31±50.44##	297.61±51.16##
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	261.53±46.71	308.38±41.02#
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	278.22±37.84	353.79±73.91
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	284.38±45.93	364.57±47.22
24	空白组	—	28.08±7.83	113.44±20.43
	模型组	—	350.99±35.34**	459.64±61.86**
	联苯双酯组	3.75	274.87±47.14##	414.78±59.46
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	280.59±55.19##	423.08±65.67
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	291.37±57.65#	443.35±49.73
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	330.92±30.24	450.42±55.26

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

表 2 蒲公英总黄酮对大鼠血清 ALP、TBIL 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

时间/h	组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	ALP/($\text{IU}\cdot\text{L}^{-1}$)	TBIL/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
3	空白组	—	32.68±4.39	1.37±0.41
	模型组	—	43.67±6.24**	3.01±0.60**
	联苯双酯组	3.75	35.49±5.57#	2.42±0.59
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	36.43±6.78#	2.52±0.55
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	37.34±6.69	2.65±0.50
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	40.31±3.02	2.88±0.31
6	空白组	—	33.26±8.76	1.35±0.42
	模型组	—	54.25±7.11**	3.24±0.77**
	联苯双酯组	3.75	37.77±5.47##	2.81±0.54
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	39.26±7.87##	2.92±0.54
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	44.05±8.61#	2.96±0.40
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	46.67±8.81	2.97±0.38
12	空白组	—	32.84±6.60	1.38±0.31
	模型组	—	58.75±9.65**	3.60±0.83**
	联苯双酯组	3.75	36.60±10.78##	2.71±0.65#
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	39.20±12.04##	2.77±0.70#
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	41.02±11.13##	2.80±0.50#
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	46.44±11.27#	3.12±0.32
24	空白组	—	32.10±6.42	1.40±0.56
	模型组	—	62.38±8.69**	3.86±0.73**
	联苯双酯组	3.75	43.02±9.29##	3.18±0.42
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	43.88±10.00##	3.19±0.41
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	49.83±7.35#	3.20±0.77
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	51.16±12.20#	3.24±0.75

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

表 3 蒲公英总黄酮对大鼠肝组织 SOD 活性及 MDA、GSH 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

时间/h	组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(U·mgprot ⁻¹)	MDA/(nmol·mgprot ⁻¹)	GSH/(μmol·gprot ⁻¹)
3	空白组	—	117.47±13.35	5.86±0.90	40.28±5.52
	模型组	—	91.79±13.21 [*]	11.32±2.14 ^{**}	32.32±3.19
	联苯双酯组	3.75	109.37±18.52	7.90±1.13 ^{##}	37.86±8.43
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	105.26±18.85	8.88±1.38 [#]	36.23±8.29
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	93.36±19.84	8.88±2.30 [#]	36.76±6.81
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	91.69±13.73	9.76±2.05	35.31±7.03
6	空白组	—	116.45±14.41	6.05±1.27	40.12±5.79
	模型组	—	81.14±15.19 ^{**}	17.36±3.01 ^{**}	27.06±4.56 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	93.80±12.20	10.67±1.83 ^{##}	35.60±5.42 ^{##}
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	92.12±9.27	11.46±2.34 ^{##}	35.40±4.78 ^{##}
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	87.77±14.78	13.35±2.68 [#]	33.86±4.19 [#]
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	85.64±4.82	14.26±3.83 [#]	32.93±5.37
12	空白组	—	117.70±10.76	6.12±0.85	39.16±7.47
	模型组	—	78.15±19.47 ^{**}	19.13±3.91 ^{**}	21.99±3.21 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	91.82±14.44	10.71±1.76 ^{##}	30.31±7.57 [#]
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	91.71±17.49	11.17±2.30 ^{##}	30.11±3.57 [#]
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	90.28±18.90	12.26±3.92 ^{##}	27.32±5.87
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	85.07±14.23	14.16±2.94 ^{##}	26.72±6.79
24	空白组	—	118.36±9.21	6.00±1.19	40.15±6.54
	模型组	—	77.03±11.60 ^{**}	21.29±2.57 ^{**}	20.03±6.67 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	91.25±9.93 [#]	11.99±2.07 ^{##}	31.63±5.30 ^{##}
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	90.73±11.04	12.89±3.37 ^{##}	31.16±6.18 ^{##}
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	89.26±12.40	15.03±2.08 ^{##}	29.35±7.82 [#]
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	87.00±16.49	16.82±3.93 ^{##}	29.07±7.55 [#]

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

3.4 蒲公英总黄酮对大鼠血清 Arg-1、α-GST 水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 Arg-1、α-GST 水平在 3、6、12、24 h 均升高 ($P<0.01$)。与模型组比较，联苯双酯组大鼠血清 Arg-1 水平在 3 h，蒲公英总黄酮低、高剂量组在 3、12 h，蒲公英总黄酮中剂量组在 3、12、24 h 降低 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)；联苯双酯组及蒲公英总黄酮中、高剂量组大鼠血清 α-GST 水平无明显变化 ($P>0.05$)，蒲公英总黄酮低剂量组 α-GST 水平在 3 h 降低 ($P<0.01$)，见表 4。

3.5 蒲公英总黄酮对大鼠血清 PNP、GLDH 水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 PNP、GLDH 水平在 3、6、12、24 h 均升高 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)。与模型组比较，联苯双酯组大鼠血清 PNP 水平在 3、6、12 h，蒲公英总黄酮低剂量组在 12 h，蒲公英总黄酮中剂量组在 3、6 h，蒲公英总黄酮高剂量组在 6 h 降低 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)；联苯双酯组大鼠血清 GLDH 水平在 3 h，蒲公英总黄酮各剂量组在 3、12 h 降低 ($P<0.01$)，见表 5。

3.6 蒲公英总黄酮对大鼠血清及肝组织 miR-122 mRNA 表达的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 miR-122 mRNA 表达在 3、6、12、24 h 均升高 ($P<0.01$)，肝组织 miR-122 mRNA 表达在 6、24 h 升高 ($P<0.05$)。与模型组比较，联苯双酯组、蒲公英总黄酮中剂量组大鼠血清 miR-122 mRNA 表达无明显变化 ($P>0.05$)，蒲公英总黄酮低、高剂量组在 6、12 h 降低 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)；联苯双酯组、蒲公英总黄酮高剂量组大鼠肝组织 miR-122 mRNA 表达在 24 h 降

低 ($P<0.05$)，蒲公英总黄酮低、中剂量组无明显变化 ($P>0.05$)，见表 6。

3.7 蒲公英总黄酮对大鼠肝组织病理变化的影响 空白组大鼠肝小叶结构清晰，肝索排列有序，肝细胞未见异常；模型组大鼠肝小叶结构消失，肝索排列紊乱，多数肝细胞肿胀、坏死，可见大量的肝细胞脂肪变性，并有明显的炎细胞浸润现象，且随造模时间的增加，损伤逐渐加重；联苯双酯组大鼠肝细胞偶见点状坏死，汇管区有少量炎细胞浸润，肿胀不明显；蒲公英总黄酮各剂量组大鼠肝细胞病变程度较轻，肝细胞肿胀及脂肪变性较少，肝细胞坏死程度明显减轻，部分胞浆内可见小的脂滴形成，见图 1。

4 讨论

CCl₄ 作为典型的化学性肝毒性物质，其诱导的大鼠肝损伤表现及进程与人类肝损伤病理变化相似，因此被广泛用于肝损伤大鼠模型的研究以及保肝药物的筛选^[14-15]。CCl₄ 通过腹腔注射进入肝脏，经肝微粒体细胞色素 P450 代谢酶系统，产生三氯甲基等毒性物质，可结合细胞膜上的磷脂分子，引发脂质过氧化反应，破坏肝组织细胞膜结构，使细胞膜的通透性增加^[16-17]。

肝组织受到损伤时，肝细胞内各种酶如 ALT、AST 会大量释放到血液中，因此，血清中转氨酶升高是肝损伤的重要指标，在一定程度上反映了肝细胞受损程度^[18]。肝损伤导致体内 ALP、TBIL 排泄障碍而反流入血，从而引起血清 ALP、TBIL 水平增高，其主要反映肝脏受损时黄疸和胆汁淤积的程度^[19-20]。在脂质过氧化反应过程中，机体产

表 4 蒲公英总黄酮对大鼠血清 Arg-1、α-GST 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

时间/h	组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Arg-1/(U·L ⁻¹)	α-GST/(U·L ⁻¹)
3	空白组	—	10.68±1.58	15.45±1.57
	模型组	—	22.37±2.86 ^{**}	23.17±1.76 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	18.61±1.00 ^{##}	22.48±1.02
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	19.77±1.27 [#]	20.49±1.63 ^{##}
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	19.79±1.83 [#]	23.07±1.82
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	20.10±0.72 [#]	21.65±1.18
6	空白组	—	10.18±1.27	14.27±1.58
	模型组	—	21.24±3.56 ^{**}	22.45±2.12 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	19.59±0.81	22.73±1.93
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	20.59±2.51	20.91±2.02
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	21.87±2.75	25.99±1.03
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	20.31±2.84	23.87±2.02
12	空白组	—	10.38±1.41	14.89±1.37
	模型组	—	17.35±2.35 ^{**}	24.29±1.44 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	17.90±3.74	22.55±0.52
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	12.07±2.63 ^{##}	21.95±1.66
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	10.47±1.23 ^{##}	24.01±2.15
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	13.82±2.10 [#]	26.99±3.86
24	空白组	—	11.28±1.98	15.24±2.13
	模型组	—	13.98±1.58 ^{**}	21.81±1.22 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	12.99±1.34	20.90±3.02
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	13.19±0.76	21.67±0.80
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	12.42±0.81 [#]	21.79±1.55
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	13.62±0.90	22.57±0.52

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

表 5 蒲公英总黄酮对大鼠血清 PNP、GLDH 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

时间/h	组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	PNP/(U·L ⁻¹)	GLDH/(U·L ⁻¹)
3	空白组	—	42.80±2.32	5.17±0.64
	模型组	—	60.71±4.96 ^{**}	12.34±1.51 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	49.68±7.27 ^{##}	10.07±1.08 ^{##}
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	56.07±8.02	9.69±0.53 ^{##}
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	50.42±4.63 ^{##}	9.41±1.01 ^{##}
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	54.31±6.82	9.83±0.43 ^{##}
6	空白组	—	43.61±2.68	5.00±0.98
	模型组	—	56.84±5.15 ^{**}	9.97±1.41 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	47.01±4.78 ^{##}	8.80±0.74
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	55.15±7.30	9.99±0.67
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	49.71±7.71 [#]	9.64±1.41
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	44.78±2.19 ^{##}	9.68±0.96
12	空白组	—	43.18±5.47	5.11±0.61
	模型组	—	52.21±6.47 [*]	10.10±1.09 ^{**}
	联苯双酯组	3.75	43.39±6.11 [#]	9.07±0.83
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	43.47±5.60 [#]	5.56±0.87 ^{##}
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	45.74±7.46	5.31±0.78 ^{##}
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	47.60±4.84	5.16±1.01 ^{##}
24	空白组	—	42.92±5.86	4.99±0.89
	模型组	—	50.58±8.99 [*]	6.09±0.97 [*]
	联苯双酯组	3.75	47.66±4.51	5.09±0.66
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	45.19±5.07	5.84±1.33
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	47.95±4.62	5.38±0.40
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	44.78±4.33	5.81±0.51

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

表 6 蒲公英总黄酮对大鼠血清及肝组织 *miR-122* mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

时间/h	组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血清 <i>miR-122</i>	肝组织 <i>miR-122</i>
3	空白组	—	1.28±0.68	0.92±0.13
	模型组	—	10.07±2.35**	1.24±0.07
	联苯双酯组	3.75	7.09±1.47	1.13±0.21
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	7.66±1.59	1.20±0.26
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	7.07±2.13	1.23±0.25
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	8.91±2.87	1.18±0.25
6	空白组	—	1.37±0.30	0.86±0.03
	模型组	—	12.79±3.58**	1.23±0.22*
	联苯双酯组	3.75	10.27±1.57	1.01±0.14
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	7.78±1.83 [#]	1.07±0.08
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	10.87±1.68	1.10±0.22
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	8.87±1.77 [#]	0.91±0.27
12	空白组	—	1.29±0.08	0.94±0.20
	模型组	—	65.44±6.40**	1.34±0.11
	联苯双酯组	3.75	50.54±8.40	1.04±0.18
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	33.58±10.10 ^{##}	1.02±0.05
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	59.11±11.74	1.08±0.30
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	39.94±12.85 ^{##}	1.15±0.44
24	空白组	—	1.31±0.33	0.83±0.07
	模型组	—	352.47±112.93**	1.18±0.30*
	联苯双酯组	3.75	220.34±67.85	0.85±0.04 [#]
	蒲公英总黄酮低剂量组	50	243.16±73.97	0.94±0.16
	蒲公英总黄酮中剂量组	100	289.54±81.22	1.03±0.03
	蒲公英总黄酮高剂量组	200	254.68±76.08	0.88±0.11 [#]

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

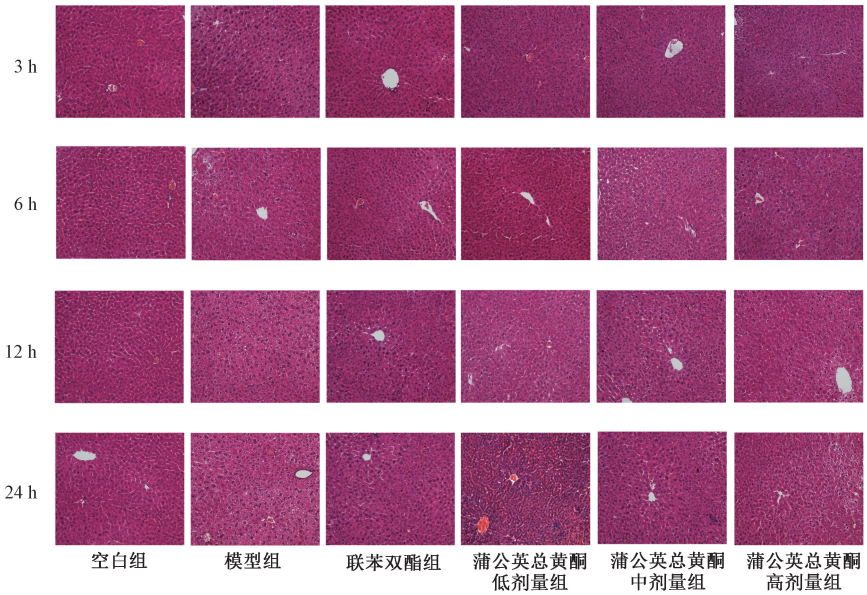


图 1 各组大鼠肝组织 HE 染色 (×200)

生大量的 MDA，持续破坏肝细胞膜结构，加剧肝脏受损程度，使肝细胞发生变性甚至坏死，从而加重病变^[21]。SOD、GSH 是机体重要的内源性抗氧化酶，能有效清除体内过量的自由基并增强机体的抗氧化能力，保护肝细胞结构和功能的完整^[22-23]。本研究显示，蒲公英总黄酮预防性干预后，降低了大鼠血清中 AST、ALT、TBIL、ALP 水平，减少肝组织中 MDA 水平，提高 SOD 活性和 GSH 水平，各给药组大鼠肝细胞病变程度减轻，肝细胞肿胀及脂肪变性较少，说

明蒲公英总黄酮可以减轻体内氧化应激损伤，稳定肝细胞结构，减少炎细胞浸润从而减轻肝脏损伤的程度。

PNP 主要位于肝细胞等的细胞质中，正常情况下多数检测不到，只有当肝细胞受到损伤时，才会在血液中被检测到，其敏锐度高于传统的肝损伤指标，可以作为潜在的肝细胞损伤的标志物^[24]；Arg-1 是肝脏中重要的水解酶，多分布于肝细胞核、微粒体，能够催化精氨酸生成尿素和鸟氨酸，研究表明其在肝损伤中有较高的灵敏度^[25]；

GLDH 在肝脏中水平最高，肝损伤时线粒体膜受到破坏，血液中的 GLDH 升高，其对于肝损伤的诊断具有较高的敏感性^[26]； α -GST 多分布在肝小叶中心细胞，在肝损伤早期就会透过受损的细胞膜进入血液，是理想的早期肝损伤指标^[27]；*miR*-122 是在肝细胞中特异性高表达的 miRNA，对于维持肝脏的正常代谢功能有重要的调控作用，在肝损伤早期血液中就可以检测到其表达显著升高，较传统的肝功能检测指标更灵敏^[28-29]。本研究显示，蒲公英总黄酮各剂量组可以不同程度降低大鼠血清中 PNP、Arg-1、GLDH、 α -GST 水平和 *miR*-122 表达，但对于相关指标的改善作用量效关系不明显，初步表明蒲公英总黄酮在 CCl₄ 致大鼠肝损伤早期即可起到一定的预防和保护作用，后期仍有待进行进一步的深入研究。

参考文献：

[1] Cheng W T, Liu G P, Kong D H, *et al.* Downregulation of *miR*-1224 protects against oxidative stress-induced acute liver injury by regulating hepatocyte growth factor [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8) : 12369-12375.

[2] 何国鑫, 邓青芳, 陈华国, 等. 杠板归乙醇提取物对化学性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中成药, 2019, 41 (6) : 1253-1257.

[3] 卢 伟, 潘 梦, 方亦可, 等. 中药治疗急性肝损伤作用机制研究进展[J]. 中南药学, 2019, 17(9) : 1504-1507.

[4] 周 璐, 宋新龙, 吕军苹, 等. 马齿苋对四氯化碳诱导小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(10) : 35-43.

[5] 吴琳静, 余雪纯, 柯佳群, 等. 基于代谢组学的中药治疗化学性肝损伤研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12) : 202-215.

[6] 吕晓梅, 马丽杰. 中药治疗急性肝损伤的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(2) : 170-174.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 367.

[8] 谢士敏, 周长征. 蒲公英药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(5) : 138-142.

[9] 聂文佳, 徐帅师, 张咏梅. 蒲公英有效成分及其药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(7) : 140-145.

[10] 连苑宇, 徐 杰, 朱田田, 等. 基于 SIRT6/NF- κ B 信号通路研究杠板归总黄酮对急性肝损伤大鼠的保护作用[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(11) : 1818-1825.

[11] 何国鑫, 陈华国, 邓青芳, 等. 黄酮类化合物抗肝损伤的作用机制研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36 (12) : 1583-1591.

[12] 朱平生, 孟 玉, 付双楠, 等. CCl₄ 致大鼠肝损伤 24 h 生物标志物水平的变化规律[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(2) : 124-128.

[13] 乔靖怡, 李汉伟, 胡 锴, 等. 马齿苋总黄酮对四氯化碳致大鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(5) : 91-95.

[14] 梁佩诗, 周 旺, 江振洲, 等. 补骨脂素通过延缓肝再生加重四氯化碳所致肝毒性的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(12) : 2916-2923.

[15] Zarezade V, Moludi J, Mostafazadeh M, *et al.* Antioxidant and hepatoprotective effects of *Artemisia dracuncululus* against CCl₄-induced hepatotoxicity in rats[J]. *Avicenna J Phytomed*, 2018, 8(1) : 51-62.

[16] Amzar N, Iqbal M. The hepatoprotective effect of *Clidemia hirta* against carbon tetrachloride (CCl₄) -induced oxidative stress and hepatic damage in mice[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2017, 36(4) : 293-307.

[17] 王媛媛, 尹昕茹, 黄一可, 等. 丹皮酚对四氯化碳诱导急性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中成药, 2019, 41 (2) : 428-431.

[18] He P, Zeng B, Zhang X L, *et al.* Protective effect of apoptosis signal-regulating kinase 1 inhibitor against mice liver injury[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(3) : 283-287.

[19] Maeda K. Organic anion transporting polypeptide (OATP) 1B1 and OATP1B3 as important regulators of the pharmacokinetics of substrate drugs [J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38 (2) : 155-168.

[20] El-Hosseiny L S, Alqurashy N N, Sheweita S A. Oxidative stress alleviation by sage essential oil in co-amoxiclav induced hepatotoxicity in rats[J]. *Int J Biomed Sci*, 2016, 12 (2) : 71-78.

[21] 陈发菊, 彭 梅, 王 丽, 等. 藤茶总黄酮对酒精性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中成药, 2021, 43(1) : 200-203.

[22] 刘文静, 高进贤, 钱 倩, 等. 白皮杉醇抑制内质网应激保护四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤[J]. 中成药, 2020, 42(12) : 3158-3165.

[23] 蒋志涛, 王 雪, 韩 怡, 等. 垂盆草总黄酮对 APAP 诱导小鼠肝损伤的保护作用[J]. 中成药, 2021, 43 (2) : 349-355.

[24] 刘晓娜, 彭双清, 贾 栗, 等. 对乙酰氨基酚致小鼠肝损伤早期血清苹果酸脱氢酶和嘌呤核苷磷酸化酶的变化[J]. 毒理学杂志, 2015, 29(1) : 54-56.

[25] 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]. 药学报, 2015, 50(8) : 959-965.

[26] 曾 瑾, 唐绍微, 刘云华, 等. 苍耳子对正常大鼠重复给药的肝毒性效应及其机制研究[J]. 中药药理与临床, 2018, 34(2) : 79-82.

[27] 赵宏宇, 王 玉, 刘新宇, 等. 葛根护肝片对慢性酒精性肝损伤大鼠保护作用研究[J]. 特产研究, 2021, 43 (5) : 85-89; 95.

[28] McGill M R, Jaeschke H. Biomarkers of drug-induced liver injury: progress and utility in research, medicine, and regulation [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018, 18 (9) : 797-807.

[29] 徐志伟, 周小杰, 潘 伟, 等. *miR*-122 作为药源性肝损伤潜在生物标志物可能性研究进展[J]. 甘肃中医药大学学报, 2018, 35(2) : 110-113.