

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.23.013

薯蓣皂苷对硫代乙酰胺诱导急性肝损伤模型大鼠的保护作用

刘 潭, 夏 骏, 刘伯毅[△], 方志成, 李红新

(湖北省十堰市太和医院·湖北医药学院附属医院, 湖北 十堰 442000)

摘要:目的 探讨薯蓣皂苷通过法尼酯衍生物 X 受体(FXR)/AMP 活化蛋白激酶(AMPK)信号通路对硫代乙酰胺(TAA)诱导急性肝损伤模型大鼠的保护作用。方法 将 60 只雄性大鼠均分为正常对照组(A 组), 模型组(B 组), 薯蓣皂苷低剂量组(C₁ 组)、中剂量组(C₂ 组)、高剂量组(C₃ 组)和阳性对照组(D 组), 各 10 只。C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组大鼠分别灌胃薯蓣皂苷 25, 50, 100 mg/kg, D 组大鼠灌胃水飞蓟素 200 mg/kg, A 组和 B 组大鼠灌胃生理盐水每 100 g 体重 0.1 mL, 每天 1 次, 连续 7 d。末次灌胃 2 h 后, B 组、C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠腹腔注射 TAA 100 mg/kg 构建急性肝损伤模型, A 组注射等量生理盐水。禁食不禁饮, 24 h 后麻醉大鼠, 心脏取血, 采用自动生物分析仪测定血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)的水平, 采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)6、IL-10 的水平, 以及肝脏组织匀浆中谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性和丙二醛(MDA)的含量, 采用蛋白免疫印迹法测定肝组织中 FXR、AMPK、核因子 E₂ 相关因子 2(Nrf2)、核转录因子 κ B(NF- κ B)的蛋白表达水平。结果 与 A 组比较, B 组、C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠 ALT, AST, TNF- α , IL-6, MDA 水平及 NF- κ B 蛋白表达水平均显著升高, IL-10, GSH, SOD 水平, 以及 FXR, AMPK, Nrf2 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$); 与 B 组比较, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠 ALT, AST, TNF- α , IL-6, MDA 水平及 NF- κ B 蛋白表达水平均显著降低, IL-10, GSH, SOD 水平, 以及 FXR, AMPK, Nrf2 蛋白表达水平均显著升高, 且 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组呈剂量依赖性($P < 0.05$); D 组和 C₃ 组各指标比较无显著差异($P > 0.05$)。结论 薯蓣皂苷对 TAA 诱导的急性肝损伤模型大鼠具有保护作用, 其作用机制可能与激活 FXR/AMPK 信号通路有关。

关键词:薯蓣皂苷; 硫代乙酰胺; 急性肝损伤; 法尼酯衍生物 X 受体/活化蛋白激酶信号通路; 保护作用; 大鼠

中图分类号: R965; R975+.5

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)23-0044-05

Protective Effect of Diosgenin on Thioacetamide-Induced Acute Liver Injury in Model Rats

LIU Tan, XIA Jun, LIU Boyi, FANG Zhicheng, LI Hongxin

(Taihe Hospital · Affiliated Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei, China 442000)

Abstract: Objective To investigate the protective effect of diosgenin on thioacetamide(TAA)-induced acute liver injury in model rats through farnesoid X receptor (FXR)/AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling pathway. **Methods** A total of 60 male rats were divided into the normal control group (group A), model group (group B), diosgenin low-dose group (group C₁), diosgenin medium-dose group (group C₂), diosgenin high-dose group (group C₃) and positive control group (group D), 10 rats in each group. The rats in groups C₁, C₂ and C₃ were given 25, 50, 100 mg/kg of diosgenin by gavage, the rats in group D were given 200 mg/kg of silymarin by gavage, and the rats in groups A and B were given 0.1 mL of normal saline per 100 g, once a day for 7 d. Two hours after the last intragastric administration, the rats in groups B, C₁, C₂, C₃ and D were injected with 100 mg/kg of TAA intraperitoneally to establish the rat model of acute liver injury, and the rats in group A were injected with equivalent normal saline. After fasting without forbidding drink for 24 h, they were anesthetized and the blood was removed from the heart. The levels of serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were measured by the automatic biochemical analyzer, the levels of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-6 and IL-10, the activity of glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), and the content of malondialdehyde (MDA) in liver homogenate were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the expression levels of FXR, AMPK, nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) and nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) protein in liver tissue were measured by Western blot. **Results** Compared with those in group A, the levels of ALT, AST, TNF- α , IL-6, MDA and the expression level of NF- κ B protein in groups B, C₁, C₂, C₃ and D increased significantly, while the levels of IL-10, GSH, SOD, and the expression levels of FXR, AMPK and Nrf2 protein in groups B, C₁, C₂, C₃ and D decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with those in group B, the levels of ALT, AST, TNF- α , IL-6, MDA and the expression level of NF- κ B protein in groups C₁, C₂, C₃ and D decreased significantly, while the levels of IL-10, GSH, SOD, and the expression levels of FXR, AMPK and Nrf2 protein increased significantly, and the effect in the groups C₁, C₂ and C₃ were dose-dependent ($P < 0.05$). There was no significant difference in the above indexes between group D and group C₃ ($P > 0.05$). **Conclusion** Diosgenin has a protective effect on TAA-induced acute liver injury in model rats, and its mechanism may be related to the activation of the FXR/AMPK signaling pathway.

Key words: diosgenin; thioacetamide; acute liver injury; FXR/AMPK signaling pathway; protective effect; rat

急性肝损伤以细胞坏死、炎症和氧化损伤为特征^[1], 过量产生促炎因子会诱发炎症, 并与肝损伤的发展、恶

第一作者: 刘潭, 男, 硕士, 住院医师, 研究方向为危重症疾病的诊治, (电子信箱) yuneizhiba@163.com。

[△]通信作者: 刘伯毅, 男, 大学本科, 主任医师, 副教授, 研究方向为危重症疾病的诊治, (电子信箱) liuboyi66@163.com。

化、死亡率增加有关。硫代乙酰胺(TAA)是一种经典的肝脏有毒化合物,可诱导氧化应激和炎症反应引起器官损伤,用于建立肝损伤实验模型^[2]。法尼酯衍生物 X 受体(FXR)是一种高表达肝核胆汁酸受体,在胆固醇/胆汁酸代谢、葡萄糖/脂质代谢、氧化应激和炎症反应中起关键作用^[3]。研究表明,FXR 可能是肝病的潜在治疗靶标,FXR 激动剂可抑制胆汁酸引起的氧化应激反应,FXR 配体可能是肝炎症性疾病的潜在治疗手段^[4-5]。FXR 可调节 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)来保护肝损伤,在氧化应激、炎症反应和线粒体功能障碍中起调节作用^[6]。许多用于细胞保护的药物可通过激活 AMPK 抑制自由基,并诱导抗氧化酶产生^[7],激活 FXR/AMPK 信号通路是肝损伤的治疗靶点。薯蓣皂苷是一种具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等功效的天然药物,对四氯化碳引起的急性肝损伤具有保护作用^[8]。本研究中探讨了薯蓣皂苷对 TAA 诱导的急性肝损伤模型大鼠的保护作用,以及 FXR/AMPK 信号通路的作用机制,为薯蓣皂苷开发保肝药物提供理论依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:AU5800 型全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司);HBS-1096B 型酶标仪(南京德铁实验设备有限公司);BIO-RAD 型垂直电泳仪(美国 BD 公司);LYNX4000 型高速冷冰离心机(德国 Sorvall Heraeus 公司);AL104 型电子天平(梅特勒 <上海>仪器有限公司,精度为 0.1 mg);HR2838 型匀浆机(上海菲利浦公司)。

试剂:薯蓣皂苷对照品(陕西慈缘生物技术有限公司,批号为 19057-60-04,纯度为 98%);水飞蓟素(德国马博士大药房,批号为 254952);TAA(美国 Sigma 公司,批号为 2020045-1-7);丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(批号为 080120),天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(批号为 080122),均购于中生北控生物科技有限公司;肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒(批号为 MM-0670R84),白细胞介素 6(IL-6)试剂盒(批号为 MM-0670R22),白细胞介素 10(IL-10)试剂盒(批号为 MM-0670R72),均购于欣博盛生物科技有限公司;谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒(批号为 A004-1-3),超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(批号为 A003-1-4),丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号为 A002-2-1),均购于南京建城生物工程有限公司;蛋白抽提试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号为 175056);FXR 抗体(批号为 SC-4176),AMPK 抗体(批号为 SC-5218),核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)抗体(批号为 SC-5328),核转录因子 κ B 抗体(NF- κ B,批号为 SC-5329), β -actin 抗体(批号为 SC-5429),均购于美国 Santa Cruz 公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记亲和纯化山羊抗鼠免疫球

蛋白(Ig)G 二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号为 115-58-264);生理盐水。

动物:健康雄性 SD 大鼠购自广西医科大学实验动物中心,动物生产许可证号为 SYXK(桂)2019-0003,动物质量合格证号为 0015182。于温度为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度为 40%~70%,噪音 ≤ 50 dB,昼夜循环(12 h/12 h)的环境中适应性喂养,1 周后进行实验。

1.2 分组、造模及给药

将 60 只雄性大鼠均分为正常对照组(A 组),模型组(B 组),薯蓣皂苷低剂量组(C_1 组)、中剂量组(C_2 组)、高剂量组(C_3 组)和阳性对照组(D 组)。 C_1 组、 C_2 组、 C_3 组大鼠分别灌胃薯蓣皂苷 25, 50, 100 mg/kg^[9], D 组大鼠灌胃水飞蓟素 200 mg/kg^[10], A 组和 B 组大鼠灌胃生理盐水每 100 g 体质量 0.1 mL,每天 1 次,连续 7 d。末次灌胃 2 h 后, B 组、 C_1 组、 C_2 组、 C_3 组、D 组大鼠均腹腔注射 TAA 100 mg/kg, A 组大鼠腹腔注射等量生理盐水。禁食不禁饮,24 h 后麻醉大鼠,心脏取血 3 mL,以 3 000 r/min 的速率离心 15 min,分离血清;处死大鼠,分离肝脏,液氮保存,备用。

1.3 观察指标

血清中 ALT 和 AST 水平:采用 AU5800 型自动生化分析仪测定血清中 ALT 和 AST 的水平。

血清中 TNF- α , IL-6, IL-10 水平:酶联免疫吸附试验(ELISA)法。血清离心,取上清液,将 TNF- α , IL-6, IL-10 一抗稀释至 10 $\mu\text{g/mL}$,加入 96 孔板中(每孔 0.1 mL),4 $^\circ\text{C}$ 过夜,洗涤 3 次,加血清 0.1 mL 于上述反应孔中,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 1 h;加入新配置相应的二抗 0.1 mL,孵育 1 h,显色 20 min,用 2 mol/L 硫酸 0.05 mL 终止反应,于 450 nm 波长处测定各孔吸光度值。

肝组织中 GSH 与 SOD 活性和 MDA 含量:ELISA 法检测。取肝组织,按 1:10 ($m:V$)加入生理盐水,制成匀浆,加入磷酸盐缓冲液 1 mL,12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,将相应一抗稀释至 10 $\mu\text{g/mL}$,加入 96 孔板中,每孔 0.1 mL,4 $^\circ\text{C}$ 过夜,洗涤 3 次,加肝组织匀浆 0.1 mL 于上述反应孔中,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 1 h;加入新配置相应的二抗 0.1 mL,孵育 1 h,显色 20 min,用 2 mol/L 硫酸 0.05 mL 终止反应,于 450 nm 波长处测定各孔吸光度。

肝组织中 FXR, AMPK, Nrf2, NF- κ B 蛋白表达水平:蛋白免疫印迹(Western blot)法检测。取肝组织,用磷酸盐缓冲液洗涤 2 次,用研钵研碎,加入蛋白抽提试剂,冰浴 2 h 后离心,取上清液,每孔 30 μg ,电泳,转膜,用 5% 脱脂牛奶在室温下封膜 1 h,将膜与 FXR(1:200)、AMPK(1:400)、Nrf2(1:300)、NF- κ B(1:200)、 β -actin(1:1 000)进行孵育,4 $^\circ\text{C}$ 过夜,将山羊抗鼠 IgG 二抗(1:10 000)在室温下孵育 30 min。显色,采集图像,采用 AlphaEaseFC 图像分析软件分析,以 β -actin 作为内对照。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 23.0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 ALT 和 AST 水平

与 A 组比较,B 组、C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠血清中 ALT 和 AST 水平均显著升高($P < 0.05$);与 B 组比较,C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠血清中 ALT 和 AST 水平均显著降低,且 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组呈剂量依赖性($P < 0.05$);D 组和 C₃ 组各指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 1。

表 1 薯蓣皂苷对 TAA 致肝损伤模型大鼠血清中 ALT 和 AST 水平的影响($\bar{X} \pm s, U/L, n = 10$)

Tab.1 Effect of diosgenin on serum ALT and AST levels in model rats with TAA-induced liver injury($\bar{X} \pm s, U/L, n = 10$)

组别	剂量(mg/kg)	ALT	AST
A 组		18.26 ± 83.14	47.79 ± 6.30
B 组		138.07 ± 21.43 ^a	273.56 ± 17.62 ^a
C ₁ 组	25	104.52 ± 9.31 ^{ab}	216.51 ± 27.38 ^{ab}
C ₂ 组	50	89.21 ± 10.38 ^{abc}	162.49 ± 8.92 ^{abc}
C ₃ 组	100	65.78 ± 7.13 ^{abcd}	82.37 ± 11.50 ^{abcd}
D 组	200	67.34 ± 8.24 ^{abcd}	79.10 ± 9.54 ^{abcd}

注:与 A 组比较,^a $P < 0.05$;与 B 组比较,^b $P < 0.05$;与 C₁ 组比较,^c $P < 0.05$;与 C₂ 组比较,^d $P < 0.05$ 。表 2 至表 4 同。

Note: Compared with those in group A, ^a $P < 0.05$; compared with those in group B, ^b $P < 0.05$; compared with those in group C₁, ^c $P < 0.05$; compared with those in group C₂, ^d $P < 0.05$, as well as Tab. 2 to Tab. 4.

2.2 血清 TNF- α , IL-6, IL-10 水平

与 A 组比较,B 组、C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-6 水平均显著升高,IL-10 水平均显著降低($P < 0.05$);与 B 组比较,C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-6 水平均显著降低,IL-10 水平均显著升高,且 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组呈剂量依赖性($P < 0.05$);D 组和 C₃ 组大鼠各指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 2。

2.3 肝组织 GSH 与 SOD 活性和 MDA 含量

与 A 组比较,B 组、C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠肝组织中 MDA 含量均显著升高,GSH 和 SOD 活性均显著降低($P < 0.05$);与 B 组比较,C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠肝组织中 MDA 水平均显著降低,GSH 和 SOD 活性均显著升高,且 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组呈剂量依赖性($P < 0.05$);D 组和 C₃ 组大鼠各指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 3。

2.4 肝组织 FXR, AMPK, Nrf2, NF- κ B 蛋白表达水平

与 A 组比较,B 组、C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠肝

表 2 薯蓣皂苷对 TAA 致肝损伤模型大鼠血清中 TNF- α , IL-6, IL-10 水平的影响($\bar{X} \pm s, pg/mL, n = 10$)

Tab.2 Effect of diosgenin on serum TNF- α , IL-6 and IL-10 levels in model rats with TAA-induced liver injury($\bar{X} \pm s, pg/mL, n = 10$)

组别	剂量(mg/kg)	TNF- α	IL-6	IL-10
A 组		475.76 ± 58.61	328.14 ± 46.72	673.28 ± 79.21
B 组		2348.28 ± 273.16 ^a	1172.32 ± 104.20 ^a	242.62 ± 53.42 ^a
C ₁ 组	25	1958.34 ± 267.39 ^{ab}	1003.59 ± 89.61 ^{ab}	341.28 ± 39.19 ^{ab}
C ₂ 组	50	1658.29 ± 135.81 ^{abc}	837.62 ± 57.15 ^{abc}	407.92 ± 67.34 ^{abc}
C ₃ 组	100	1062.24 ± 245.17 ^{abcd}	643.50 ± 67.64 ^{abcd}	573.16 ± 79.58 ^{abcd}
D 组	200	1043.25 ± 159.22 ^{abcd}	621.83 ± 74.69 ^{abcd}	590.45 ± 47.50 ^{abcd}

表 3 薯蓣皂苷对 TAA 致肝损伤模型大鼠肝组织中 GSH 与 SOD 活性和 MDA 含量的影响($\bar{X} \pm s, n = 10$)

Tab.3 Effect of diosgenin on GSH and SOD activities and MDA content in liver tissue of model rats with TAA-induced liver injury($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(mg/kg)	GSH(μ mol/mgprot)	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)
A 组		5.76 ± 0.69	180.19 ± 15.31	3.28 ± 0.41
B 组		3.18 ± 0.41 ^a	102.47 ± 5.48 ^a	5.69 ± 0.80 ^a
C ₁ 组	25	3.60 ± 0.53 ^{ab}	127.71 ± 10.31 ^{ab}	4.68 ± 0.34 ^{ab}
C ₂ 组	50	4.52 ± 0.49 ^{abc}	139.62 ± 15.46 ^{abc}	4.22 ± 0.58 ^{abc}
C ₃ 组	100	5.18 ± 0.61 ^{abcd}	160.84 ± 12.73 ^{abcd}	3.84 ± 0.71 ^{abcd}
D 组	200	5.24 ± 0.39 ^{abcd}	162.73 ± 14.24 ^{abcd}	3.71 ± 0.43 ^{abcd}

组织中 FXR, AMPK, Nrf2 蛋白表达水平均显著降低,NF- κ B 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$);与 B 组比较,C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠肝组织中 FXR, AMPK, Nrf2 蛋白表达水平均显著升高,NF- κ B 蛋白表达水平均显著降低,且 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组呈剂量依赖性($P < 0.05$);D 组和 C₃ 组大鼠各指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 4 和图 1。

表 4 薯蓣皂苷对 TAA 致肝损伤模型大鼠肝组织中 FXR, AMPK, Nrf2, NF- κ B 蛋白表达水平的影响($\bar{X} \pm s, n = 10$)

Tab.4 Effect of diosgenin on the expression levels of FXR, AMPK, Nrf2 and NF- κ B protein in liver tissue of model rats with TAA-induced liver injury($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(mg/kg)	FXR	AMPK	Nrf2	NF- κ B
A 组		0.93 ± 0.07	0.82 ± 0.04	1.05 ± 0.13	0.35 ± 0.06
B 组		0.40 ± 0.05 ^a	0.19 ± 0.04 ^a	0.37 ± 0.05 ^a	0.82 ± 0.04 ^a
C ₁ 组	25	0.51 ± 0.07 ^{ab}	0.27 ± 0.02 ^{ab}	0.43 ± 0.07 ^{abc}	0.70 ± 0.09 ^{abc}
C ₂ 组	50	0.59 ± 0.05 ^{abc}	0.33 ± 0.05 ^{abc}	0.52 ± 0.08 ^{abc}	0.63 ± 0.05 ^{abc}
C ₃ 组	100	0.82 ± 0.06 ^{abcd}	0.70 ± 0.08 ^{abcd}	0.94 ± 0.10 ^{abcd}	0.42 ± 0.06 ^{abcd}
D 组	200	0.85 ± 0.10 ^{abcd}	0.72 ± 0.06 ^{abcd}	0.97 ± 0.07 ^{abcd}	0.41 ± 0.09 ^{abcd}

3 讨论

急性肝损伤可由病毒感染、食品添加剂、药物滥用、放射性损伤等引起,并产生亲电子产物和自由基,导致

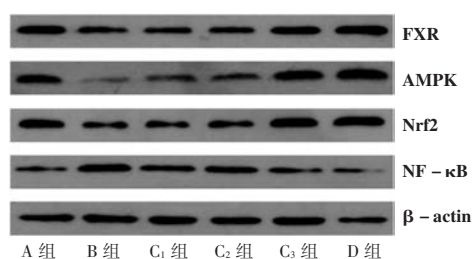


图1 薯蓣皂苷对TAA致肝损伤模型大鼠肝组织中FXR, AMPK, Nrf2, NF-κB蛋白表达水平的影响

Fig.1 Effect of diosgenin on the expression levels of FXR, AMPK, Nrf2 and NF-κB protein in liver tissue of model rats with TAA-induced liver injury

脂质过氧化,炎性细胞浸润和细胞坏死,促进肝损伤进展^[11]。薯蓣皂苷是一种甾体皂苷,广泛存在于薯蓣科、豆科、百合科等植物中,具有抗炎和抗氧化应激活性,可降低对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤模型大鼠血清中ALT和AST的水平,明显改善肝组织病理损伤^[12]。若肝脏受损,血液中的AST和ALT水平会升高。本研究结果显示,薯蓣皂苷可显著降低TAA诱导的肝损伤模型大鼠血清中ALT和AST的水平,且其治疗效果与临床常用保肝药物水飞蓟素类似,提示薯蓣皂苷可能是治疗急性肝损伤的有效药物。此外,发现薯蓣皂苷可通过抑制氧化应激和炎症反应来改善TAA诱导的肝损伤。

TNF-α是参与肝损伤的主要细胞因子,IL-6可抑制肝细胞再生,抗炎细胞因子IL-10水平降低可导致炎症反应失衡,增加氧自由基生成,最终导致肝损伤^[13]。氧化应激是引起各种肝脏损伤的原因。TAA可导致肝脏发生严重的氧化应激反应,产生自由基,增加MDA含量,导致肝细胞损伤和凋亡。GSH和SOD的抗氧化防御系统可以保护肝细胞免受氧化剂伤害,清除脂质过氧化物和氧自由基,保护肝细胞免受活性氧损伤^[14]。本研究结果显示,薯蓣皂苷可显著降低血清中的TNF-α和IL-6水平,升高IL-10水平,同时降低肝组织中MDA含量,提高了GSH和SOD活性。

FXR是一种配体介导的转录因子,在肝脏中呈高表达,可调节AMPK的磷酸化水平,在氧化应激、炎症反应线粒体功能障碍中起调节作用^[15]。许多用于保护细胞的药物可通过激活AMPK来抑制自由基,并诱导抗氧化酶。AMPK激活可保护四氯化碳诱导的急性肝损伤,并诱导Nrf2的表达增强,这在调节抗氧化过程中起重要作用^[16]。此外,AMPK可以抑制TNF-α和IL-6的产生,并抑制NF-κB的激活。在脂多糖诱导的小鼠急性肝衰竭中,通过降低TNF-α,IL-1β,IL-6水平激活AMPK,抑制炎症,减轻肝损伤^[17]。同时,AMPK不仅在调节上皮细胞小管极化中起关键作用,且对氧化应

激有抑制作用。Nrf2是一种主转录因子,易位进入细胞核,与抗氧化反应元件结合,调控抗氧化基因血红素氧化酶-1、NADPH氧化还原酶等抗氧化应激^[18]。活化的NF-κB增强了细胞因子如TNF-α和IL-1β的转录,增加了炎性介质合成的持续时间^[19]。此外,NF-κB的激活可升高细胞间黏附因子1(ICAM-1)的表达水平,ICAM-1是一种跨膜糖蛋白,在嗜中性粒细胞从血液运输到炎症反应部位中起主要作用^[20]。本研究结果显示,薯蓣皂苷显著增加了大鼠肝组织中FXR,AMPK,Nrf2的蛋白表达水平,同时降低了NF-κB蛋白表达水平,抑制氧化应激和炎症反应。提示FXR/AMPK信号通路可能是薯蓣皂苷对抗TAA诱导的急性肝损伤的潜在作用机制。

综上所述,薯蓣皂苷对TAA诱导的急性肝损伤具有保护作用,可能通过激活FXR/AMPK信号通路改善肝脏氧化应激和炎症反应发挥作用,为薯蓣皂苷作为一种治疗急性肝损伤的新药提供了理论依据。

参考文献

- [1] 吴莹莹,李银,马雪,等. 珠芽景天不同部位提取物抗小鼠急性肝损伤的作用研究[J]. 中国药业,2020,29(9):73-76.
- [2] 庞敏,单宇,王菲菲,等. 诸葛菜种子水提取物对硫代乙酰胺诱导小鼠急性肝损伤的保护作用研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(6):193-199.
- [3] LIU YJ, SONG A, YANG X, et al. Farnesoid X receptor agonist decreases lipid accumulation by promoting hepatic fatty acid oxidation in db/db mice[J]. Int J Mol Med,2018,42(3):1723-1731.
- [4] TENO N, YAMASHITA Y, IGUCHI Y, et al. Nonacidic Chemotype Possessing N-Acylated Piperidine Moiety as Potent Farnesoid X Receptor (FXR) Antagonists[J]. ACS Med Chem Lett,2018,9(2):78-83.
- [5] 兰贺燕,汤湧,阎姝. 靶向FXR治疗胆汁淤积性肝病的研究进展[J]. 中国新药杂志,2018,27(23):2775-2780.
- [6] LI XJY, LIU RP, YU LX, et al. Alpha-naphthylisothiocyanate impairs bile acid homeostasis through AMPK-FXR pathways in rat primary hepatocytes[J]. Toxicology,2016,370:106-115.
- [7] PARK SY, CHOI MH, LI M, et al. AMPK/Nrf2 signaling is involved in the anti-neuroinflammatory action of Petasotalide B from *Petasites japonicus* against lipopolysaccharides in microglia[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol,2018,40(3):232-241.
- [8] 鲁碧楠. 薯蓣皂苷对小鼠四氯化碳急性肝损伤的保护作用研究[D]. 大连:大连医科大学,2010.
- [9] 王芙蓉,赵元,杨莹. 薯蓣皂苷元对甲状腺功能亢进大鼠肝功能和氧化应激状态的影响[J]. 中药药理与临床,2016,32(5):39-42.
- [10] 赵永忠,肖绪华,漆志平,等. 水飞蓟素对大鼠肝纤维化转化生长因子β₁及结缔组织生长因子表达的影响[J]. 中国现代医学杂志,2010,20(15):2267-2271.
- [11] 段冷昕,高杨,胡举,等. 四氯化碳诱导小鼠内质网应激所