

氯化血根碱对亚砷酸钠致小鼠肝损伤的预防和治疗作用

杨和平^{1a,1b}, 杨明飞^{1b}, 张爱华^{1c}, 余佳^{1d}, 程莎^{1d}, 孙宝飞^{1a,1b}, 晏晨², 余资江^{1a}, 骆衡^{1b,1d}

1. 贵州医科大学 a. 基础医学院解剖学教研室 b. 天然产物化学重点实验室 c. 环境污染与疾病教育部重点实验室 d. 药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550000
2. 贵州省安顺市人民医院药剂科, 贵州 安顺 561000



DOI 10.11836/JEOM22059

摘要:

[背景] 天然产物氯化血根碱(SC)对小鼠肝脏纤维病变和肝脏急性损伤均有明显的改善作用,但其对环境污染物亚砷酸钠(SA)导致的小鼠肝损伤是否有保护作用尚未见报道。

[目的] 研究 SC 对 SA 所致小鼠肝损伤的预防和治疗作用。

[方法] 将 140 只 SPF 级雄性昆明小鼠随机分为预防效果研究组和治疗效果研究组,分别设立空白组(生理盐水),模型组(SA 5 mg·kg⁻¹),阳性对照组(双环醇 11.375 mg·kg⁻¹和谷胱甘肽 182 mg·kg⁻¹),SC 低、中、高剂量组(25、50、100 mg·kg⁻¹),每组 10 只。预防效果研究中,空白组给予生理盐水,模型组给予 SA,其余各组(即 SC 低、中、高剂量组以及阳性对照组)在 SA 灌胃前 30 min 给予相应药物,每日 1 次,持续处理 28 d。在治疗效果研究中,空白组持续给予生理盐水;其余各组给予 SA 持续染毒 28 d 后,模型组给予生理盐水,余组每天给予相应药物进行治疗 28 d。实验结束后处死小鼠,分别测定血清及其肝组织的生理生化指标,并采用 HE 染色观察其组织病理变化。

[结果] 预防和治疗效果研究中:与空白组比较,SC 各剂量组小鼠体重、肝脏质量、肝脏系数及血清谷丙转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)差异均无统计学意义($P > 0.05$);而与模型组比较,SC 各剂量组小鼠体重上升($P < 0.01$),肝脏质量、肝脏系数下降($P < 0.01$),ALT、AST、TBIL、MDA 降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而 GSH、SOD 上升($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)或呈现上升的趋势;与阳性对照组比较,各指标差异均无统计学意义($P > 0.05$);组织病理学分析显示,SC 各剂量组小鼠肝小叶结构均较清楚,肝索排列较整齐,炎症细胞浸润减少。

[结论] 对 SA 导致的小鼠肝损伤,SC 具有一定的预防和治疗效果。

关键词: 氯化血根碱;肝损伤;砷中毒;保护作用

Preventive and therapeutic effects of sanguinarine chloride on sodium arsenite-induced liver damage in mice YANG Heping^{1a,1b}, YANG Mingfei^{1b}, ZHANG Aihua^{1c}, YU Jia^{1d}, CHENG Sha^{1d}, SUN Baofei^{1a,1b}, YAN Chen², YU Zijiang^{1a}, LUO Heng^{1b,1d} (1.a. Department of Anatomy, School of Basic Medical Sciences b. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products c. Key Laboratory of Environmental Pollution and Disease, Ministry of Education d. State Key Laboratory for Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550000, China; 2. Department of Pharmacy, Anshun People's Hospital of Guizhou Province, Anshun, Guizhou 561000, China)

Abstract:

[Background] Natural product sanguinarine chloride (SC) can significantly alleviate liver fibrosis and acute liver injury in mice, but whether it has a protective effect on mouse liver injury caused by sodium arsenite (SA) has not been studied.

[Objective] To verify if SC may present preventive and therapeutic effects on SA-induced liver injury in mice.

[Methods] A total of 140 SPF male Kunming mice were randomly divided into two sub-studies, which included a prevention sub-study and a treatment sub-study. In each sub-study, a blank group (normal saline), a model group (5 mg·kg⁻¹ SA), and a positive control group (11.375 mg·kg⁻¹

基金项目

教育部重点实验室联合开放基金项目(黔教合 KY 字 [2020]249)

作者简介

杨和平(1996—),女,硕士生;
E-mail: 352749619@qq.com

通信作者

骆衡, E-mail: luoheng@gzcnpcn
余资江, E-mail: yzj0112@126.com

伦理审批

已获取
利益冲突 无申报
收稿日期 2022-02-23
录用日期 2022-06-19

文章编号

2095-9982(2022)08-0913-06
中图分类号 R114
文献标志码 A

补充材料

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22059

►引用

杨和平, 杨明飞, 张爱华, 等. 氯化血根碱对亚砷酸钠致小鼠肝损伤的预防和治疗作用[J]. 环境与职业医学, 2022, 39(8): 913-918.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22059

Funding

This study was funded.

Correspondence to

LUO Heng, E-mail: luoheng@gzcnpcn
YU Zijiang, E-mail: yzj0112@126.com

Ethics approval

Obtained
Competing interests None declared
Received 2022-02-23
Accepted 2022-06-19

Supplemental material

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22059

► To cite

YANG Heping, YANG Mingfei, ZHANG Aihua, et al. Preventive and therapeutic effects of sanguinarine chloride on sodium arsenite-induced liver damage in mice[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(8): 913-918.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22059

bicyclol and $182 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ glutathione), as well as SC low, medium, and high dose groups ($25, 50$, and $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) were arranged with 10 mice in each group. In the prevention sub-study, the blank group was given normal saline, the model group was given SA, and the other groups (the SC low, medium, and high dose groups and the positive control group) were given the corresponding treatment 30 min before gavage of SA, once a day, for 28 d. In the treatment sub-study, except for the blank group which was given normal saline, the other groups were given SA for 28 d, then the model group was given normal saline, and the other groups were given the corresponding treatment every day for 28 d. After the experiment, the mice were sacrificed to evaluate selected physiological and biochemical indicators in serum and liver tissue and to observe histopathological changes after HE staining.

[Results] In either sub-study of preventive effect or treatment effect: compared with the blank group, body weight, liver weight, liver coefficient, as well as serum alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH), and superoxide dismutase (SOD) among all SC groups were not significantly different ($P > 0.05$); but compared with the model group, the SC groups showed increased body weight ($P < 0.01$), decreased liver weight and liver coefficient ($P < 0.01$), reduced ALT, AST, TBIL, and MDA ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and increased GSH and SOD with ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) or without significance; compared with the positive control group, no differences were found in the above indicators ($P > 0.05$). The result of histopathological evaluation showed that the SC groups had a clear liver lobule structure, neatly arranged hepatic cords, and less infiltration of inflammatory cells.

[Conclusion] SC has both preventive and therapeutic effects on SA-induced liver injury in mice.

Keywords: sanguinarine chloride; liver injury; arsenic poisoning; preventive effect

砷是一种自然存在的环境毒物和致癌物,以无机和有机两种形式广泛分布于环境中^[1]。肝脏是砷的靶器官之一,负责砷进入体内的代谢^[2]。砷暴露致使肝细胞受损,出现肝功能异常、肝肿大、肝纤维化、肝硬化甚至发生癌变等,是其致死的主要因素^[3-4]。据统计数据显示,目前全世界有超过 2 亿人口面临饮水中砷含量超标,砷中毒已成为当今世界关注的一个环境问题^[5],寻求砷致肝损伤的防治药物势在必行。目前,砷诱导氧化应激学说得到广泛认可,但其机制尚未明确,研究其相关指标的改变可以更好地了解砷致肝损伤的原因,为砷中毒的防治提供新的研究视角。

氯化血根碱(sanguinarine chloride, SC)是从传统草药白屈菜及博落回等罂粟科植物中发现的苯并菲啶类苝基四氢异喹啉生物碱,其分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{ClNO}_4$,相对分子质量为 367.78^[6]。其在自然界中分布广泛,资源丰富,具有广谱的生物学活性,发挥抗菌、抗炎、抗氧化和抗肿瘤等作用^[7]。Lei 等^[8]证实,SC 能明显改善模型小鼠的肝脏纤维病变;Circo 等^[9]发现 SC 可有效清除自由基,保护体内氧化系统平衡及抑制脂质过氧化损伤。本研究采用亚砷酸钠(sodium arsenite, SA)建立小鼠肝损伤模型,进一步验证 SC 对 SA 致小鼠肝损伤是否具有改善作用。

1 对象与方法

1.1 实验材料

1.1.1 SC 的制备 SC 化合物来源于贵州省安顺市人民医院晏晨课题组,纯度为 98%,回收率达 50%以上。其制备方法参照 Pi 等^[10]报道。制备方法:取 1 g 干燥

的血水草粉末,加 100 mL 盐酸溶解,放入超声波中超声提取过滤,再装入经甲醇浸泡后的大孔吸附树脂玻璃层析柱中,分步骤用不同浓度甲醇、水进行洗脱后,过滤结晶,滤渣加适量甲醇进行重结晶,即可得到高纯度血根碱盐酸盐。

1.1.2 实验动物 本研究所用实验动物为无特定病原体(SPF)级雄性昆明小鼠,140 只,8~10 周龄,体重 25~30 g,由辽宁省实验动物资源中心提供(中国重庆腾鑫比尔),动物生产许可证号[合格证号:SCXK(辽)2020-0001],本实验通过贵州医科大学实验动物伦理委员会的审批(编号 2101015)。实验小鼠饲养于贵州医科大学实验动物中心 SPF 级动物房,独立通风系统的屏障环境,实验设施合格证编号:SYXK(黔)2018-0001。饲养环境温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度(50 ± 10)%,保持正常的明暗循环,自由摄取食物和水。小鼠饲料、垫料均为 SPF 级,饮用水为高温高压灭菌后的蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组及处理 正式实验前小鼠适应性喂养 1 周,将小鼠按体重随机分为预防效果研究和治疗效果研究两类组别,其中每类组别分为空白组、模型组、双环醇组、谷胱甘肽组、SC 低/中/高剂量组,均予以灌胃给药,给药剂量 $0.1 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ (按小鼠体重计)。空白组(阴性对照)给予生理盐水,并以临床常用保肝治疗用药双环醇($11.375 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和谷胱甘肽($182 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)作为阳性对照^[11]。参照文献[12]用 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的 SA 给药建立小鼠肝损伤模型;参照文献[13],SC 剂量设计分别为 25、50、 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。预防效果研究中,空白组给予生理盐水,模型组给予 SA,其余各组(即 SC

低、中、高剂量组以及阳性对照组)在 SA 灌胃前 30 min 给予相应药物,每日 1 次,持续处理 28 d。在治疗效果研究中,除空白组给予生理盐水外,其余各组给予 SA 持续染毒 28 d 后,模型组给予生理盐水,其余各组每天给予相应药物进行治疗 28 d。

末次给药后,所有小鼠均禁食,不禁水,次日晨称量其体重并记录,眼眶静脉丛采血法收集小鼠血液样本,室温静置 30 min 后以 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ (离心半径为 8.5 cm),离心 15 min 收集上清,冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中用于后续实验。采血后,颈椎脱臼法处死小鼠,摘取完整肝脏,快速用预冷的磷酸盐缓冲液冲洗干净,滤纸吸干,称量肝脏质量。部分肝组织固定于 4% 多聚甲醛溶液中保存,以供病理学检查;其余肝脏组织迅速置于液氮,后冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,用于后续实验。

1.2.2 肝脏器系数的计算 根据各组小鼠肝脏组织的质量以及其处死前的体重,计算各组小鼠末次给药后的肝脏系数。肝脏系数=(肝脏质量/体重) $\times 100\%$ 。

1.2.3 血清中生化指标水平检测 血清中谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平的测定,分别按照 ALT、AST 测定试剂盒(中国深圳雷杜)的说明书步骤进行,总胆红素(total bilirubin, TBIL)水平的测定按照 TBIL 测定试剂盒(中国长春汇力)的说明书步骤进行。以上指标均采用全自动生化分析仪(Chemray 800,中国深圳雷杜)进行校准。

1.2.4 肝组织中氧化应激指标的检测 剪取适量肝组织,加入预冷的生理盐水(每 9 mL 生理盐水含有 1 g 组织),用高速低温组织研磨仪制成 10% 的肝组织匀浆 0.1 mL。丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化

物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH)水平的测定,分别按照 MDA、SOD、GSH 测定试剂盒的说明书步骤进行(中国南京建成),使用酶标仪检测(SYNERGY-H4,美国 Bio-Tek)。

1.2.5 肝组织的病理形态学观察 取置于 4%多聚甲醛内固定的肝脏组织样本适量,手术刀切取厚薄均匀的肝组织小块。依次进行脱水、浸蜡、包埋、染色及镜检,观察肝组织病理形态变化。

1.2.6 统计学方法 采用 GraphPad Prism7.0 软件对数据进行统计分析。所有数据均为计量资料,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析。进一步进行组间两两比较时,采用 Tukey 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 体重、肝脏质量及肝脏系数的变化

预防效果研究中:染毒 1、2、3、4 周后,模型组小鼠体重均低于空白组($P<0.01$),其余各组小鼠经药物进行预防干预后,与模型组相比,体重均呈上升趋势($P<0.01$),且接近空白组(见补充材料图 S1)。染毒第 4 周时,与空白组相比,模型组小鼠肝脏质量、肝脏系数上升($P<0.01$),阳性对照组及 SC 各剂量组均没有差异($P>0.05$);而与模型组相比,阳性对照组及 SC 各剂量组小鼠肝脏质量、肝脏系数均下降($P<0.01$);SC 各剂量组与阳性对照组之间则均无差异($P>0.05$);并且随着 SC 剂量升高,小鼠体重呈上升趋势,而肝重及肝脏系数呈下降趋势。治疗效果研究中:小鼠体重、肝脏质量、肝脏系数变化趋势与预防效果研究相似,染毒第 8 周时,随着 SC 剂量升高,小鼠体重呈上升趋势,而肝重及肝脏系数则呈下降趋势。结果见表 1。

表 1 小鼠体重、肝脏质量及肝脏系数的变化($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 1 Changes in body weight, liver weight, and liver coefficient of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	预防效果研究			治疗效果研究		
	体重/g	肝脏质量/g	肝脏系数/%	体重/g	肝脏质量/g	肝脏系数/%
空白组	48.92 $\pm$ 2.45	1.64 $\pm$ 0.20	3.56 $\pm$ 0.402	52.48 $\pm$ 2.97	1.76 $\pm$ 0.17	3.36 $\pm$ 0.259
模型组	35.02 $\pm$ 1.18**	2.06 $\pm$ 0.01**	5.90 $\pm$ 0.203**	39.45 $\pm$ 2.22**	2.17 $\pm$ 0.09**	5.52 $\pm$ 0.270**
双环醇组	45.02 $\pm$ 2.41***	1.49 $\pm$ 0.09***	3.10 $\pm$ 0.210***	49.37 $\pm$ 1.81***	1.71 $\pm$ 0.10***	3.59 $\pm$ 0.388***
谷胱甘肽组	48.12 $\pm$ 2.40***	1.37 $\pm$ 0.07***	3.03 $\pm$ 0.254***	50.37 $\pm$ 3.85***	1.70 $\pm$ 0.16***	3.40 $\pm$ 0.324***
SC低剂量组	46.32 $\pm$ 1.63***	1.55 $\pm$ 0.22***	3.19 $\pm$ 0.509***	48.20 $\pm$ 3.84***	1.83 $\pm$ 0.11***	3.45 $\pm$ 0.312***
SC中剂量组	46.70 $\pm$ 2.42***	1.42 $\pm$ 0.12***	3.04 $\pm$ 0.271***	49.00 $\pm$ 2.78***	1.74 $\pm$ 0.35***	3.40 $\pm$ 0.550***
SC高剂量组	48.68 $\pm$ 2.13***	1.39 $\pm$ 0.08***	3.00 $\pm$ 0.253***	49.58 $\pm$ 2.18***	1.73 $\pm$ 0.21***	3.36 $\pm$ 0.192***
F值	25.96	19.41	55.85	12.28	4.80	32.05
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001

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

2.2 血清中 ALT、AST、TBIL 的变化

预防效果研究中：与空白组比较，模型组小鼠血清 ALT、AST、TBIL 上升($P<0.01$)，阳性对照组及 SC 各剂量组均无差异($P>0.05$)；而与模型组相比，阳性对照组及 SC 各剂量组小鼠血清 ALT、AST、TBIL 下降

($P<0.01$)；SC 各剂量组与阳性对照组之间均无差异($P>0.05$)。治疗效果研究中：小鼠血清 ALT、AST、TBIL 的变化与预防效果研究相似，随着 SC 剂量升高，其活性呈下降趋势。结果见表 2。

表 2 小鼠血清中 ALT、AST、TBIL 的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Changes in serum ALT, AST, and TBIL in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	预防效果研究			治疗效果研究		
	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)
空白组	62.55±15.31	76.99±5.90	23.60±2.96	45.49±10.01	76.88±11.45	10.01±2.46
模型组	125.05±10.90**	146.52±9.24**	48.18±4.15**	78.95±7.57**	147.84±29.06**	18.04±4.65**
双环醇组	79.29±7.46##	83.98±7.51##	23.95±5.88##	59.87±4.74##	89.65±8.26##	12.58±1.43 ^Δ
谷胱甘肽组	77.68±11.08##	82.12±8.31##	21.29±4.92##	54.68±3.20##	80.70±8.65##	12.20±1.64 ^Δ
SC低剂量组	78.74±7.46##	79.93±11.73##	26.58±6.88##	54.88±4.98##	87.02±6.76##	12.60±2.20 ^Δ
SC中剂量组	77.68±6.51##	75.35±5.80##	22.60±3.27##	53.86±6.46##	82.24±4.58##	11.74±1.76##
SC高剂量组	76.40±3.62##	70.22±3.06##	20.52±0.67##	48.25±10.61##	81.33±4.22##	10.44±2.83##
F值	20.57	55.28	22.47	11.45	20.95	5.56
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

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

2.3 肝组织中 MDA、GSH、SOD 的变化

预防效果研究中：与空白组比较，模型组小鼠肝组织 MDA 上升($P<0.01$)，GSH 和 SOD 下降($P<0.01$)，阳性对照组及 SC 各剂量组均无差异($P>0.05$)；而与模型组相比，阳性对照组及 SC 各剂量组小鼠肝组织 MDA 下降，GSH 和 SOD 上升($P<0.05$ 或 $P<0.01$)或呈

上升趋势；SC 各剂量组与阳性对照组之间均无差异($P>0.05$)。治疗效果研究中：小鼠肝组织 MDA、GSH、SOD 的结果变化与预防效果研究相似，随着 SC 剂量升高，MDA 呈下降趋势，而 GSH 和 SOD 则呈上升趋势。结果见表 3。

表 3 小鼠肝组织中 MDA、GSH、SOD 的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Changes in MDA, GSH, and SOD in liver tissues of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	预防效果研究			治疗效果研究		
	MDA ^Δ /(μmol·g ⁻¹)	GSH ^Δ /(μmol·g ⁻¹)	SOD ^Δ /(U·g ⁻¹)	MDA ^Δ /(μmol·g ⁻¹)	GSH ^Δ /(μmol·g ⁻¹)	SOD ^Δ /(U·g ⁻¹)
空白组	14.69±3.68	26.78±10.98	141.12±36.82	9.09±2.17	39.81±16.04	90.46±9.17
模型组	27.54±4.23**	11.06±1.42**	87.63±17.00**	20.14±4.14**	16.61±1.42**	45.44±7.72**
双环醇组	18.69±2.48##	18.64±3.20	119.00±15.39	11.73±1.49##	25.08±3.70##	82.06±6.54##
谷胱甘肽组	17.20±4.85##	19.17±2.81	117.89±9.01	11.07±1.55##	26.54±4.20##	80.84±6.34##
SC低剂量组	16.22±4.48##	19.72±2.92	114.62±7.82	11.84±2.53##	31.53±5.42##	73.91±19.13##
SC中剂量组	16.13±2.27##	20.59±4.64	122.09±18.53	10.07±1.14##	32.09±5.83 ^Δ	75.47±18.24##
SC高剂量组	15.74±0.61##	22.83±5.45 ^Δ	146.12±30.95##	9.74±1.33##	34.57±9.06 ^Δ	75.55±14.34 ^Δ
F值	8.64	4.72	4.46	18.58	5.23	7.24
P值	<0.001	0.001	0.002	<0.001	<0.001	<0.001

[注]**：与空白组比较， $P<0.01$ ；与模型组比较，#： $P<0.05$ ，##： $P<0.01$ 。Δ：以蛋白计。

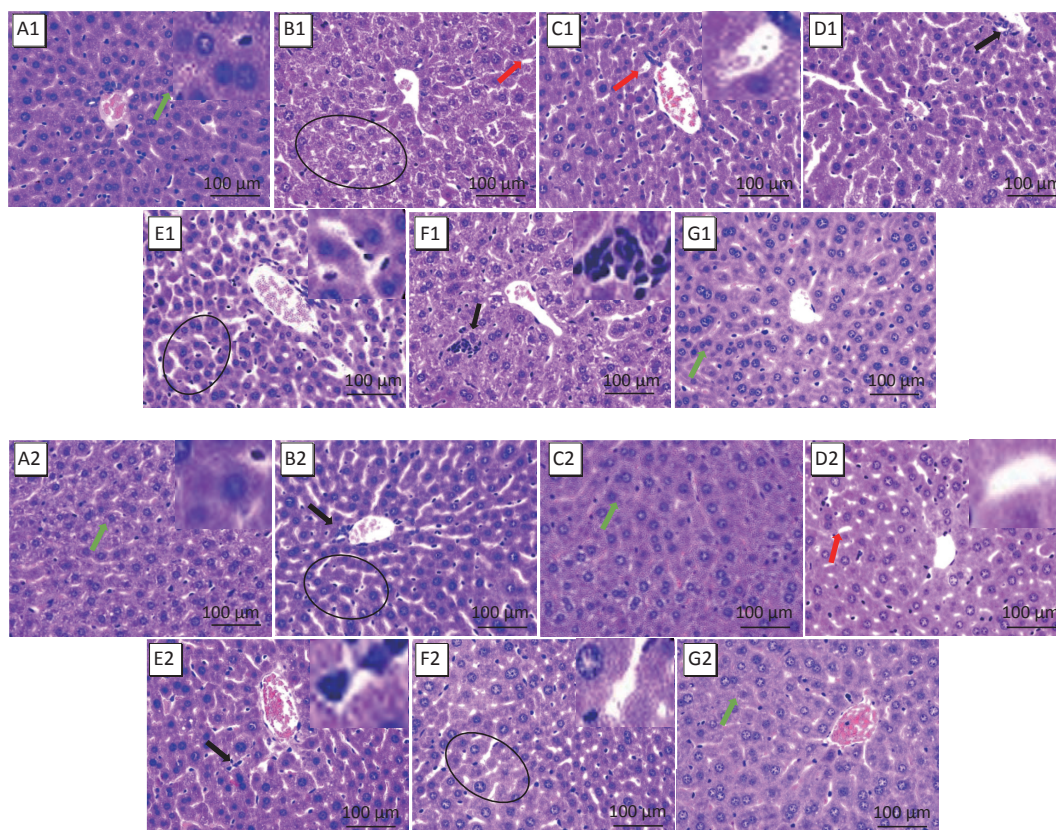
2.4 肝组织病理形态学的变化

预防效果研究中：空白组小鼠肝细胞形态正常，结构饱满，肝小叶结构清楚，染色质丰富，肝组织中央静脉轮廓清晰，肝索沿着中央静脉放射状排列；模型

组肝细胞肿大，坏死增多，细胞结构疏松明显，肝小叶结构不清，细胞间质内有炎细胞浸润，肝血窦扩张，细胞空泡明显；双环醇组肝细胞结构疏松，见少量细胞空泡；谷胱甘肽组肝细胞可见玻璃样变性，组织可见

少量炎细胞浸润; SC 低、中剂量组肝细胞玻璃样变性减少, 组织间见少量炎细胞浸润, 而高剂量组肝组织整体结构正常, 未见明显病理变化。治疗效果研究中: 各组病理变化与预防效果研究类似; 双环醇组及谷胱

甘肽炎性细胞数量有所减少; SC 低、中、高剂量组肝小叶结构均较清楚, 肝索排列较整齐, 炎症细胞浸润减少。见图 1。



[注] 1: 预防效果研究; 2: 治疗效果研究。A: 空白组; B: 模型组; C: 双环醇组; D: 谷胱甘肽组; E: SC 低剂量组; F: SC 中剂量组; G: SC 高剂量组。绿色箭头表示正常肝细胞; 红色箭头表示肝细胞空泡及颗粒变性; 黑色箭头表示炎细胞浸润; 黑色圆圈表示肝血窦扩张。

图 1 小鼠肝组织病理形态学变化的显微图(HE 染色)

Figure 1 Pathological changes in liver tissues of mice under microscope (HE staining)

3 讨论

砷具有很强的肝毒性, 研究表明砷及其代谢产物能够直接损伤肝细胞, 导致细胞功能异常, 最终向肝纤维化发展^[14]。本研究发现, SA 染毒小鼠血清 ALT、AST、TBIL 上升, 肝组织 MDA 上升, GSH、SOD 下降, 经 SC 干预后均可有效改善 SA 染毒导致的变化。

本研究利用 SA 建立砷中毒小鼠损伤模型。结果显示, 采用 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 SA 灌胃后, 小鼠出现活动度下降, 毛发暗淡, 饮水和摄食量明显减少等症状。该结果提示, 砷已对小鼠产生毒性作用。进一步测量小鼠体重, 发现其体重降低, 肝脏系数升高, 与 Zhong 等^[15]的研究结果一致, 提示砷致小鼠肝损伤模型建立成功。

在肝细胞中, ALT 主要存在于细胞质中, 而大约 80% 的 AST 存在于线粒体内, 当肝细胞受到损伤时, 细胞膜的通透性增加, 细胞质内的 ALT、AST 释放入血,

致使血清中 ALT 和 AST 酶活性增高^[16]。双环醇和谷胱甘肽为治疗肝炎的常用药物, 具有抗氧化、清除体内自由基等重要作用, 前者能显著降低肝损伤小鼠血清 ALT、AST 水平的升高幅度和改善肝组织炎症坏死, 维持细胞稳定性, 起到保护肝脏的作用^[17]; 后者能够有效改善体内因 GSH 的缺失而引发氧化应激反应所导致的肝损伤^[18]。本研究结果显示, 经 SC 处理后, 小鼠的 ALT、AST 呈下降趋势, 表明 SC 可改善 SA 引起的肝功能紊乱。

砷致肝损伤的机制较为复杂, 氧化应激是目前主要研究的内容之一^[19]。砷能使机体产生较多的活性氧自由基, 抑制机体抗氧化物质的活力, 降低机体的抗氧化能力, 导致机体氧化损伤^[20]。MDA 是脂质过氧化产物, SOD、GSH 是体内重要的超氧自由基清除剂, 它们水平的变化可以反映机体的氧化应激程度^[21]。据文

献报道,处于砷暴露环境中的小鼠,其肝脏组织中MDA增加,GSH和SOD明显降低,致使肝组织损伤甚至纤维化^[22]。本研究结果提示SC能有效清除氧自由基,增强机体抗氧化能力,抑制肝脏脂质过氧化,进而缓解砷所致的肝损伤。SC用于预防和治疗肝损伤的机制之一可能是通过清除氧自由基,从而维持机体抗氧化系统的平衡,但本研究局限性在于未进一步深入考察引起MDA、GSH、SOD三者变化中的相关基因或蛋白。

环境污染砷致肝损伤的病程较长,短时不易出现临床症状,对其诊断与治疗带来了一定的难度^[23],所以对砷毒性发生发展的预防显得尤为重要。本研究结果还显示,在预防效果研究中SC低、中、高剂量对SA染毒导致健康效应的改善效果优于治疗效果研究,提示SC的预防效果可能优于治疗,但尚需进一步研究证实。

综上,本研究提示SC能通过调节小鼠的ALT、AST、TBIL、GSH、SOD、MDA水平,改善SA导致的小鼠肝损伤。

参考文献

- [1] DONG L, LIU Y, WANG D, et al. Imbalanced inflammatory response in sub-chronic arsenic-induced liver injury and the protective effects of *Ginkgo biloba* extract in rats: potential role of cytokines mediated cell-cell interactions[J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(10): 2073-2092.
- [2] TRYNDYAK V P, BOROWA-MAZGAJ B, STEWARD C R, et al. Epigenetic effects of low-level sodium arsenite exposure on human liver HepaRG cells[J]. *Arch Toxicol*, 2020, 94(12): 3993-4005.
- [3] ACOSTA D, SORENSEN E M, ANUFORO D C, et al. An in vitro approach to the study of target organ toxicity of drugs and chemicals[J]. *In Vitro Cell Dev Biol*, 1985, 21(9): 495-504.
- [4] ABU EL-SAAD A M, AL-KAHTANI M A, ABDEL-MONEIM A M. N-acetylcysteine and meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid alleviate oxidative stress and hepatic dysfunction induced by sodium arsenite in male rats[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 3425-3434.
- [5] CHEN S C, HUANG S Y, LIN W T, et al. Aortic smooth muscle cell alterations in mice systemically exposed to arsenic[J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(5): 807-815.
- [6] TIAN S, WANG R, CHEN S, et al. Structural basis for PPARs activation by the dual PPAR α/γ agonist Sanguinarine: a unique mode of ligand recognition[J]. *Molecules*, 2021, 26(19): 6012.
- [7] ZHANG Y, LIU Y, WANG T, et al. Natural compound sanguinarine chloride targets the type III secretion system of *Salmonella enterica* Serovar typhimurium[J]. *Biochem Biophys Rep*, 2018, 14: 149-154.
- [8] LEI Q F, ZHAO X L, XU L J, et al. Chemical constituents of plants from tribe Chelidoniaceae and their bioactivities[J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(1): 1-21.
- [9] CIRCU M L, AW T Y. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48(6): 749-762.
- [10] PI G, REN P, YU J, et al. Separation of sanguinarine and chelerythrine in *Macleaya cordata* (Willd) R. Br. based on methyl acrylate-co-divinylbenzene macroporous adsorbents[J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1192(1): 17-24.
- [11] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1124.
- [12] MEHRZADI S, FATEMI I, MALAYERI A R, et al. Ellagic acid mitigates sodium arsenite-induced renal and hepatic toxicity in male Wistar rats[J]. *Pharmacol Rep*, 2018, 70(4): 712-719.
- [13] LI L, LIU Q, FAN L, et al. Protective effects of oxymatrine against arsenic trioxide-induced liver injury[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(8): 12792-12799.
- [14] MOGHADAM M D, BAGHSHANI H, AZADI H G, et al. Ameliorative effects of Caffeic acid against arsenic-induced testicular injury in mice[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 199(10): 3772-3780.
- [15] ZHONG G, HU T, TANG L, et al. Arsenic causes mitochondrial biogenesis obstacles by inhibiting the AMPK/PGC-1 α signaling pathway and also induces apoptosis and dysregulated mitophagy in the duck liver[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 230: 113117.
- [16] RINELLA M E. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review[J]. *JAMA*, 2015, 313(22): 2263-2273.
- [17] LI H, LI J R, HUANG M H, et al. Bicyclol attenuates liver inflammation induced by infection of hepatitis C virus via repressing ROS-mediated activation of MAPK/NF- κ B signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1438.
- [18] QIU M, CHEN L, TAN G, et al. A reactive oxygen species activation mechanism contributes to JS-K-induced apoptosis in human bladder cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15104.
- [19] ZHOU Q, XI S. A review on arsenic carcinogenesis: epidemiology, metabolism, genotoxicity and epigenetic changes[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2018, 99: 78-88.
- [20] ADEDARA I A, FABUNMI A T, AYENITAJU F C, et al. Neuroprotective mechanisms of selenium against arsenic-induced behavioral impairments in rats[J]. *NeuroToxicology*, 2020, 76: 99-110.
- [21] HU Y, XIAO T, WANG Q, et al. Effects of essential trace elements and oxidative stress on endemic arsenism caused by coal burning in PR China[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2020, 198(1): 25-36.
- [22] 时明阳, 胡倩, 毕顶念, 等. Dicer1、miR-155表达在亚砷酸钠致大鼠肝损伤中的作用[J]. *环境与职业医学*, 2021, 38(6): 643-648.
- [23] SHI M Y, HU Q, BI D N, et al. Roles of Dicer1 and miR-155 expression in sodium arsenite-induced liver damage in rats[J]. *J Environ Occup Med*, 2021, 38(6): 643-648.
- [23] OZTURK M, METIN M, ALTAY V, et al. Arsenic and human health: genotoxicity, epigenomic effects, and cancer signaling[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2022, 200(3): 988-1001.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 王晓宇)