通过 ERK/MAPK 通路观察水飞蓟素对梗阻性黄疸大鼠肝细胞凋亡的影响

和 燕[1]，王晓萍[2]，吴胜利[3]，张淑玲[4*]

（1. 铜川职业技术学院孙思邈医学院，陕西铜川 727031；2. 陕西省中医医院药剂部，陕西西安 710003；
3. 西安交通大学第一附属医院肝胆外科，陕西西安 710061；4. 北京中医药大学孙思邈医院药学部，陕西铜川 727031）

摘要：目的 探究水飞蓟素对梗阻性黄疸大鼠肝细胞凋亡的影响，以及对细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase，ERK）/p38 丝裂原活化蛋白激酶（p38 mitogen-activated protein kinase，MAPK）通路的调控机制。**方法** 50 只 SD 大鼠随机选取 40 只建立梗阻性黄疸大鼠模型，余 10 只大鼠为假手术组，建模成功的大鼠随机分为模型组及水飞蓟素低、中、高（50 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg）剂量组，每组 10 只。灌胃给予药物处理，4 周后检测肝功能指标；采用酶联免疫吸附试验检测白介素（interleukin，IL）-6、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 水平；观察肝脏组织病理学变化以及肝细胞凋亡；采用免疫组化法检测肝组织胱天蛋白酶（caspase）-3、caspase-9 蛋白表达；蛋白免疫印迹法检测肝组织 ERK/p38MAPK 通路相关蛋白表达。**结果** 与模型组比较，水飞蓟素各剂量组大鼠的肝组织病变随药物剂量升高而逐渐减轻，且肝细胞凋亡率也逐渐降低（$P < 0.05$）；肝功能指标、IL-6、TNF-α 水平、肝组织 caspase-3、caspase-9 蛋白表达、ERK 以及 p38MAPK 的磷酸化水平均下降（$P < 0.05$）。**结论** 水飞蓟素可以降低肝细胞凋亡，改善梗阻性黄疸大鼠肝损伤，其机制可能与抑制 ERK/p38MAPK 通路有关。

关键词：水飞蓟素；梗阻性黄疸；凋亡；细胞外信号调节激酶；p38 丝裂原活化蛋白激酶

中图分类号：R735.9 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2023）02-0142-07

DOI：10.13683/j.wph.2023.02.007

To observe the effect of silymarin on hepatocyte apoptosis in rats with obstructive jaundice through ERK/MAPK pathway

HE Yan[1], WANG Xiaoping[2], WU Shengli[3], ZHANG Shuling[4*]

（1. Sun Simiao Medical College, Tongchuan Vocational and Technical College, Tongchuan 727031, Shaanxi Province, China; 2. Department of Pharmacy, Shaanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, Shaanxi Province, China; 3. Department of Hepatobiliary Surgery, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China; 4. Department of Pharmaceutical Sciences, Sun Simiao Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Tongchuan 727031, Shaanxi Province, China）

Abstract: ***Objective*** To investigate the effect of silymarin on hepatocyte apoptosis in rats with obstructive jaundice and the regulatory mechanism of extracellular signal regulated kinase（ERK）/p38 mitogen activated protein kinase（MAPK）pathway. ***Methods*** Forty SD rats were randomly selected from 50 SD rats to establish obstructive jaundice rats model, and 10 rats were set as sham operation group. The rats successfully modeled were randomly divided into model group, low（50 mg/kg）, medium（100 mg/kg）, and high（200 mg/kg）silymarin dose groups, with 10 rats in each group. The liver function indexes were detected after 4 weeks of drug intragastric administration. The levels of interleukin（IL）-6 and tumor necrosis factor（TNF）-α were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Liver histopathological changes and hepatocyte apoptosis were observed. The expressions of caspase-3 and caspase-9 in liver tissue were detected by immunohistochemical method. Western blotting was used to detect ERK/p38MAPK pathway-related proteins in liver. ***Results*** Compared with model group, the liver tissue lesions of rats in low, medium and high dose of silymarin groups were gradually reduced with

收稿日期：2022-07-20；**修回日期：**2022-12-22

作者简介：和燕，副主任药师，研究方向：中药学的研究与应用。

通信作者：张淑玲，副主任药师，研究方向：药学的研究与分析。

项目基金：陕西省重点研发计划项目（2020SF-060）

increasing dose, and the hepatocyte apoptosis rate was decreased ($P<0.05$). Compared with model group, liver function indexes, IL-6, TNF-α, caspase-3, caspase-9 protein expression, ERK and p38MAPK phosphorylation levels in low, medium and high dose of silymarin groups were decreased ($P<0.05$). ***Conclusion*** Silymarin can reduce hepatocyte apoptosis and improve hepatic injury in rats with obstructive jaundice, and the mechanism may be related to the inhibition of ERK/p38MAPK pathway.

Key words: silymarin; obstructive jaundice; apoptosis; extracellular signal-regulated kinase; p38 mitogen-activated protein kinase

梗阻性黄疸是由于胆汁排泄受阻，不能排入十二指肠造成胆汁淤积，胆红素反流，最终导致黄疸的发生，是临床常见的一种肝胆外科疾病，严重时易引起肝脏、胆管等全身系统病变[1—2]。梗阻性黄疸易引起肝功能衰竭，继续发展可诱发其他脏器损伤[3]。目前梗阻性黄疸的主要治疗以外科手术为主[4]，配合其他保肝药物可显著减轻肝损伤，改善肝功能指标。水飞蓟素是一种天然多酚类黄酮，具有抗炎、抗氧化的作用[5]，近年来因其在保肝护肝方面的作用受到广泛关注[6]。研究显示，水飞蓟素对非酒精性脂肪肝和急性肝损伤等均有明显保护作用[7—8]。但其对梗阻性黄疸引起肝损伤的保护机制尚不明确。细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase, ERK）/p38 丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）属于 MAPK 的主要亚族通路，其不仅参与机体多种炎症反应，还与细胞的不同生理活动相关[9—10]。研究显示，药物通过抑制 ERK、p38MAPK 磷酸化，可有效改善急性肝损伤，减少肝细胞凋亡及纤维化[11—12]。本研究拟通过建立梗阻性黄疸大鼠模型，探究水飞蓟素对梗阻性黄疸大鼠肝功能和肝细胞凋亡的影响，以及对 ERK/p38MAPK 通路的调控机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只，6 ～ 8 周龄，体质量为 200 ～ 220 g，由赛业模式生物研究中心（太仓）有限公司提供［SCXK（苏）2018-0003、SYXK（苏）2018-0004］。环境温度 22 ℃ ～ 25 ℃，相对湿度 45% ～ 60%，光照循环 12 h/12 h 的实验室中进行适应性饲养，自由摄食、饮水。本研究涉及的动物实验符合 3R 原则，且经铜川职业技术学院动物伦理委员会审批。

水飞蓟素（25 mg，30003142）购自深圳海思安生物技术有限公司；戊巴比妥钠（P013601）购自北京华迈科生物技术有限责任公司；苏木精伊红（hematoxylin eosin，HE）染色试剂盒（4×10 ml，R3209）购自北京康瑞纳生物科技有限公司；蛋白酶 K（S10085）、枸橼酸（R30226）购自上海源叶生物；原位末端标记法（TdT-mediated biotinylated-dUTP nick end labeling，TUNEL）染色试剂盒（50T，YT2205）由北京伊塔生物公司提供；3% 过氧化氢溶液（MM0750）购自上海懋康生物科技有限公司；胱天蛋白酶（caspase）-3 抗体、caspase-9 抗体均由英国 Abcam 公司提供（ab184787、ab184786）；p-ERK 抗体（4370S）、ERK 抗体（4695S）、p-p38MAPK 抗体（4511S）、p38MAPK 抗体（8690S）以及辣根过氧化物酶（horse radish peroxidase，HRP）标记山羊抗兔抗体（7074S）均购自美国 CST 公司；二氨基联苯胺（diaminobenzidine，DAB）显色试剂盒（My35730）购自北京凯诗源生物科技有限公司；ECL 发光液（100 ml，RPN2232）购自英国 Cytiva 公司；放射免疫沉淀法（radio immunoprecipitation assay，RIPA）蛋白裂解液（100 ml，AR0102）购自武汉博士德生物工程有限公司；二喹啉甲酸（diquinolinic acid，BCA）蛋白测定试剂盒（500 微孔，PC0050）购自北京索莱宝科技有限公司。

全自动生化分析仪（BS-280）由南京贝登医疗股份有限公司提供；Siner 生物显微镜（NB3000）购自

先纳（南京）光学仪器有限公司；Touch 一体式凝胶成像系统（GenoSens 2100）购自上海勤翔科学仪器有限公司。

1.2 模型建立及分组

随机选取 40 只大鼠，参照文献[13]建立阻塞性黄疸大鼠模型。在大鼠腹腔处注射 2% 戊巴比妥钠 45 mg/kg，麻醉大鼠开腹，沿十二指肠韧带找到胆总管，将胆总管于十二指肠上方，肝门 1 cm 处分离，于胆总管中上 1/3 行双重结扎，关闭腹腔，术后 24 h 观察大鼠小便和巩膜颜色，以颜色变黄为梗阻性黄疸模型建立成功。余 10 只大鼠仅开腹不结扎作为假手术组。

依据随机数字表法将建模成功的 40 只大鼠分为水飞蓟素低、中、高剂量组和模型组，每组 10 只。参照文献[14]给予水飞蓟素低、中和高剂量组分别灌服 50、100 和 200 mg/kg 水飞蓟素（用二甲基亚砜配制），模型组与假手术组予以 200 mg/kg 生理盐水灌服，每日 1 次，连续给药 4 周。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 血清肝功能检测

末次给药 24 h 后，麻醉大鼠开腹，于肝下门静脉取血，1000×*g* 离心，收集血清，采用全自动生化分析仪检测血清肝功能指标：谷丙转氨酶（alanine aminotransferase，ALT）、总胆红素（total bilirubin，TBIL）及谷草转氨酶（aspartate aminotransferase，AST）水平。

1.3.2 血清炎性因子检测

取“**1.3.1**”中分离的血清，37 ℃孵育 90 min，加入肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 和白介素（interleukin，IL）-6，孵育 1 h，洗板后，加入 HRP，37 ℃再次孵育 30 min，再次洗板后，加入底物溶液，孵育 15 min，最后加入终止液终止反应。在 450 nm 波长下读数，并计算 TNF-α 和 IL-6 水平。

1.3.3 肝脏组织的病理学观察

取血后处死大鼠分离肝脏组织，一部分固定于多聚甲醛中，用于制备常规石蜡切片，切片经脱蜡、水化、HE 染色后，光镜下观察组织病理学变化；一部分保存至 −80 ℃冰箱中备用。

1.3.4 肝脏组织细胞凋亡检测

取“**1.3.2**”中制备的石蜡切片进行脱蜡处理，加入蛋白酶 K 修复，采用 TUNEL 染色试剂盒进行染色，封片后置于显微镜下观察并拍照，以观察到胞核呈棕黄色为凋亡细胞，随机选取 10 张切片，每张切片选取 5 个视野记录阳性细胞数，并依据公式计算凋亡率，凋亡率＝凋亡细胞数 / 细胞总数 ×100%。

1.3.5 免疫组化法检测凋亡相关蛋白

取“**1.3.2**”中制备的组织切片经脱蜡、水化，采用枸橼酸修复，先加入 3% 过氧化氢溶液封闭，再加入 caspase-3、caspase-9 一抗，4 ℃孵育过夜，最后加入二抗，DAB 显色，光镜下拍照，采用 Image J 8.0 软件分析积分光密度，计算目的蛋白相对表达量。

1.3.6 免疫印迹法检测 ERK/p38MAPK 通路相关蛋白

将 −80 ℃冰箱中保存的肝脏组织与 RIPA 裂解液混合均匀，离心后获得总蛋白，BCA 法测得蛋白浓度后，取蛋白样品 40 μg 行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）、转膜、封闭，然后添加 p-ERK、ERK、p-p38MAPK、p38MAPK 以及甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）一抗，4 ℃孵育过夜，洗膜后加入二抗，37 ℃孵育 2 h，使用 ECL 显色，凝胶成像系统分析灰度值，计算其相对表达量。

1.3.7 统计学方法

使用 SPSS22.0 软件分析数据，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，采用单因素方差分析进行 5 组间数据比较，采用 SNK-q 检验进行进一步两两比较。校正检验水准 α，以 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 水飞蓟素对大鼠肝功能指标的影响

与假手术组比较，模型组大鼠血清 ALT、AST 及 TBIL 水平均升高，差异有统计学意义（$P < 0.05$）；水飞蓟素各剂量组与模型组比较，大鼠血清 ALT、AST 及 TBIL 水平随着药物剂量增加而逐渐降低，差

表 1 各组大鼠血清肝功能指标比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

Table 1 Comparison of serum liver function indicators of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	ALT/U·L^{-1}	AST/U·L^{-1}	TBIL/μmol·L^{-1}
假手术组	8.25±1.04	25.83±2.37	8.07±0.65
模型组	75.41±9.13*	117.81±14.75*	73.06±6.35*
水飞蓟素低剂量组	57.36±6.21$^{\#}$	86.54±6.73$^{\#}$	52.93±5.17$^{\#}$
水飞蓟素中剂量组	43.01±3.98$^{\#\blacktriangle}$	63.21±6.27$^{\#\blacktriangle}$	25.92±2.48$^{\#\blacktriangle}$
水飞蓟素高剂量组	26.47±2.92$^{\#\blacktriangle\triangle}$	38.84±4.33$^{\#\blacktriangle\triangle}$	18.73±1.95$^{\#\blacktriangle\triangle}$
F值	231.847	209.176	458.446
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与假手术组比较，*$P<0.01$；与模型组比较，$^{\#}P<0.01$；与比水飞蓟素低剂量组较，$^{\blacktriangle}P<0.01$；与水飞蓟素中剂量组比较，$^{\triangle}P<0.01$

Note: *vs* sham operation group, *$P<0.01$; *vs* model group, $^{\#}P<0.01$; *vs* silymarin low-dose group, $^{\blacktriangle}P<0.01$; *vs* silymarin medium dose group, $^{\triangle}P<0.01$

异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 1。

2.2 水飞蓟素对大鼠血清炎性因子水平的影响

模型组 IL-6、TNF-α 水平高于假手术组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；水飞蓟素各剂量组 IL-6、TNF-α 水平低于模型组，且具有剂量依赖性，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 2。

表 2 各组大鼠血清炎症因子水平的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

Table 2 Comparison of serum inflammatory factor levels in rats of each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	IL-6/pg·ml^{-1}	TNF-α/pg·ml^{-1}
假手术组	12.38±1.06	71.29±5.19
模型组	66.19±7.02*	308.44±32.54*
水飞蓟素低剂量组	48.33±4.35$^{\#}$	228.13±23.56$^{\#}$
水飞蓟素中剂量组	36.23±4.07$^{\#\blacktriangle}$	165.43±14.86$^{\#\blacktriangle}$
水飞蓟素高剂量组	25.14±2.43$^{\#\blacktriangle\triangle}$	123.59±10.72$^{\#\blacktriangle\triangle}$
F值	234.988	215.165
P值	＜0.001	＜0.001

注：与假手术组比较，*$P<0.01$；与模型组比较，$^{\#}P<0.01$；与比水飞蓟素低剂量组较，$^{\blacktriangle}P<0.01$；与水飞蓟素中剂量组比较，$^{\triangle}P<0.01$

Note: *vs* sham operation group, *$P<0.01$; *vs* model group, $^{\#}P<0.01$; *vs* silymarin low-dose group, $^{\blacktriangle}P<0.01$; *vs* silymarin medium dose group, $^{\triangle}P<0.01$

2.3 水飞蓟素对大鼠肝组织病理学变化的影响

HE 染色结果可知（图 1），假手术组大鼠肝组织未见病理变化，肝小叶结构正常，肝细胞排列整齐，呈放射状，未见中性粒细胞浸润情况。模型组大鼠肝小叶受损严重，出现肝窦充血、中性粒细胞大量浸润，肝细胞排列紊乱、坏死。水飞蓟素各剂量组随着给药剂量的增加，肝组织病变逐渐减轻，且水飞蓟素高剂量组大鼠肝组织中仅可见少量中性粒细胞浸润，肝细胞排列趋于正常，肝小叶受损减轻。

2.4 水飞蓟素对大鼠肝细胞凋亡的影响

模型组肝细胞凋亡率高于假手术组，差异有统计学意义（$P<0.05$），水飞蓟素各剂量组肝细胞凋亡率低于模型组，且具有剂量依赖性，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。结果见图 2、表 3。

表 3 各组大鼠肝细胞凋亡率的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

Table 3 Comparison of hepatocyte apoptosis rate in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	凋亡率/%
假手术组	3.85±0.37
模型组	64.28±5.31*
水飞蓟素低剂量组	45.29±4.11$^{\#}$
水飞蓟素中剂量组	29.36±2.82$^{\#\blacktriangle}$
水飞蓟素高剂量组	18.44±1.33$^{\#\blacktriangle\triangle}$
F值	500.850
P值	＜0.001

注：与假手术组比较，*$P<0.01$；与模型组比较，$^{\#}P<0.01$；与比水飞蓟素低剂量组较，$^{\blacktriangle}P<0.01$；与水飞蓟素中剂量组比较，$^{\triangle}P<0.01$

Note: *vs* sham operation group, *$P<0.01$; *vs* model group, $^{\#}P<0.01$; *vs* silymarin low-dose group, $^{\blacktriangle}P<0.01$; *vs* silymarin medium dose group, $^{\triangle}P<0.01$

2.5 水飞蓟素对大鼠肝组织中凋亡相关蛋白的影响

模型组 caspase-3、caspase-9 蛋白表达高于假手术组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；水飞蓟素各

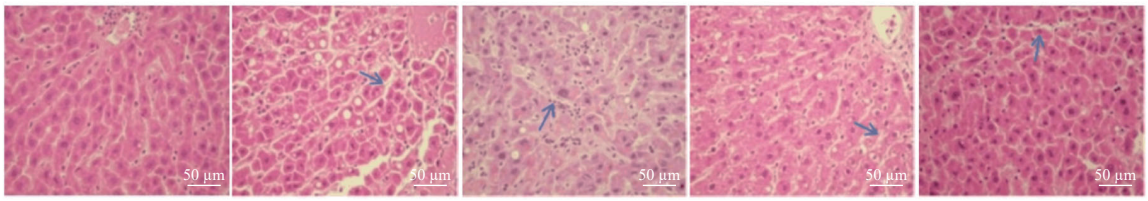


图 1　各组大鼠肝脏组织病理学切片（HE×200）
Figure 1　Histopathological sections of rat liver in each group（HE×200）

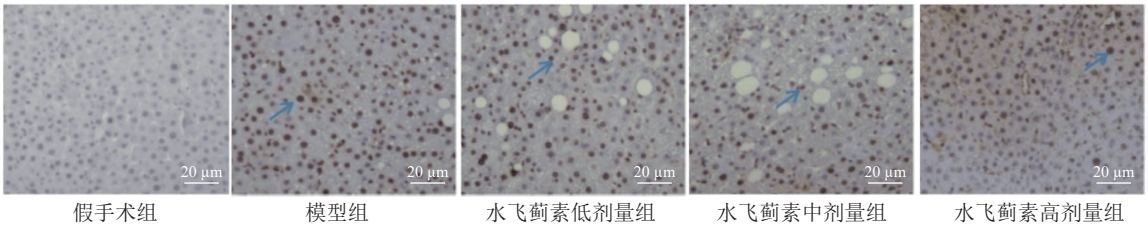


图 2　各组大鼠肝细胞凋亡情况（TUNEL×400）
Figure 2　Hepatocyte apoptosis in each group（TUNEL×400）

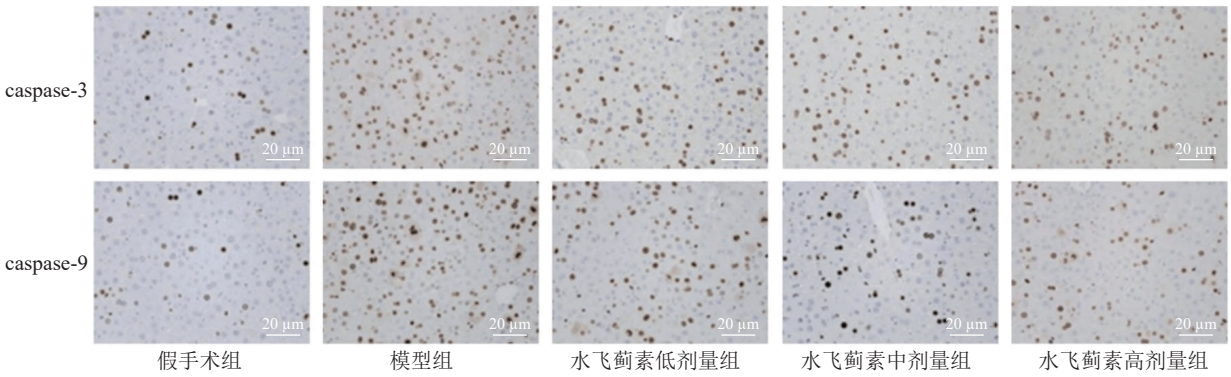


图 3　各组大鼠肝组织中 caspase-3、caspase-9 蛋白表达（免疫组化 ×400）
Figure 3　Protein expressions of caspase-3 and caspase-9 in liver tissues of rats in each group
（Immunohistochemistry×400）

剂量组与模型组比较，caspase-3、caspase-9 蛋白表达随着水飞蓟素给药剂量的增加而逐渐降低，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。结果见图 3、表 4。

2.6　水飞蓟素对大鼠肝组织中 ERK/p38MAPK 通路相关蛋白表达的影响

模型组 p-ERK/ERK、p-p38MAPK/p38MAPK 比值高于假手术组，水飞蓟素各剂量组大鼠肝组织中 p-ERK/ERK 以及 p-p38MAPK/p38MAPK 比值低于比模型组，且具有剂量依赖性，差异均有统计学意义（$P < 0.05$）。结果见图 4、表 5。

3　讨论

梗阻性黄疸是由多种因素引起的胆管机械性狭窄或闭塞，导致胆汁无法流入十二指肠，引发肝脏及其他器官功能损伤[15—16]。研究显示，梗阻性黄疸病理表现为肝组织受损，炎性细胞大量释放，导致肝功能指标异常[17]。本研究通过结扎法建立梗阻

表 4 各组大鼠肝组织中 caspase-3、caspase-9 蛋白表达的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

Table 4 Comparison of caspase-3 and caspase-9 protein expression in liver tissues of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	caspase-3	caspase-9
假手术组	0.93±0.08	1.04±0.10
模型组	3.19±0.31*	3.73±0.28*
水飞蓟素低剂量组	2.72±0.26$^{\#}$	3.12±0.23$^{\#}$
水飞蓟素中剂量组	2.34±0.22$^{\#\blacktriangle}$	2.62±0.22$^{\#\blacktriangle}$
水飞蓟素高剂量组	1.71±0.18$^{\#\blacktriangle\triangle}$	1.64±0.15$^{\#\blacktriangle\triangle}$
*F*值	155.474	280.302
*P*值	＜0.001	＜0.001

注：与假手术组比较，*$P<0.01$；与模型组比较，$^{\#}P<0.01$；与比水飞蓟素低剂量组较，$^{\blacktriangle}P<0.01$；与水飞蓟素中剂量组比较，$^{\triangle}P<0.01$

Note: *vs* sham operation group, *$P<0.01$; *vs* model group, $^{\#}P<0.01$; *vs* silymarin low-dose group, $^{\blacktriangle}P<0.01$; *vs* silymarin medium dose group, $^{\triangle}P<0.01$

表 5 各组大鼠肝组织中 p-ERK/ERK、p-p38MAPK/p38MAPK 比值的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

Table 5 Comparison of p-ERK/ERK and p-p38MAPK/p38MAPK ratios in liver tissues of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	p-ERK/ERK	p-p38MAPK/p38MAPK
假手术组	0.12±0.01	0.23±0.02
模型组	0.94±0.10*	0.86±0.08*
水飞蓟素低剂量组	0.76±0.07$^{\#}$	0.64±0.06$^{\#}$
水飞蓟素中剂量组	0.54±0.05$^{\#\blacktriangle}$	0.46±0.04$^{\#\blacktriangle}$
水飞蓟素高剂量组	0.37±0.04$^{\#\blacktriangle\triangle}$	0.35±0.03$^{\#\blacktriangle\triangle}$
F值	270.628	238.256
*P*值	＜0.001	＜0.001

注：与假手术组比较，*$P<0.01$；与模型组比较，$^{\#}P<0.01$；与比水飞蓟素低剂量组较，$^{\blacktriangle}P<0.01$；与水飞蓟素中剂量组比较，$^{\triangle}P<0.01$

Note: *vs* sham operation group, *$P<0.01$; *vs* model group, $^{\#}P<0.01$; *vs* silymarin low-dose group, $^{\blacktriangle}P<0.01$; *vs* silymarin medium dose group, $^{\triangle}P<0.01$

性黄疸模型，结果显示，模型大鼠血清肝功能指标 ALT、AST、TBIL 以及炎性因子 IL-6、TNF-α 水平均显著升高，且 ALT、AST 和 TBIL 的水平分别高于假手术组大鼠的 3 倍、2 倍和 3 倍，同时肝功能严重受损，表明模型建立成功。

水飞蓟素是欧洲药用植物水飞蓟种子或果实中提取的多酚类黄酮物质，因其抗炎、清除氧自由基

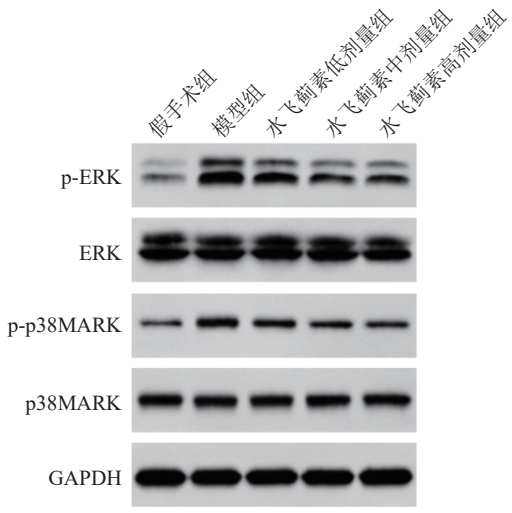


图 4 各组大鼠肝组织中 p-ERK、ERK、p-p38MAPK 及 p38MAPK 蛋白表达

Figure 4 Protein expression of p-ERK, ERK, p-p38MAPK and p38MAPK in liver tissues of rats in each group

以及保肝等作用，近年来被广泛用于肝脏疾病的治疗[18—19]。研究表明，水飞蓟素能够通过清除氧自由基减轻脂质过氧化，抑制炎症反应，减少细胞凋亡，显著逆转雷公藤甲素诱导的急性肝中毒[20]。另外，水飞蓟素能够通过抑制氧化应激反应，减轻肝脏组织病理改变，改善梗阻性黄疸对肝组织的损害[21]。本研究结果显示，不同剂量的水飞蓟素能够不同程度地降低肝功能指标，且至少低于模型组大鼠 1 倍，改善肝功能的同时还能够显著抑制炎性因子 IL-6、TNF-α 表达，并且改善大鼠肝脏组织损伤，下调 caspase-3、caspase-9 蛋白表达，减少肝细胞凋亡。

ERK/p38MAPK 通路是机体内多种炎症反应的重要调控通路。研究表明，抑制 ERK/p38MAPK 通路表达，下调 ERK、p38MAPK 磷酸化水平，可明显降低血清 TNF-α、IL-1、IL-6 等炎症因子水平[22]。ERK/p38MAPK 通路的激活参与调节细胞增殖、分化以及凋亡等过程[23]。本研究中水飞蓟素各剂量组肝组织中 p-ERK/ERK、p-p38MAPK/p38MAPK 比值均显著下调，表明水飞蓟素能够通过抑制 ERK、p38MAPK 的磷酸化反应，减轻炎症反应，减少肝细

胞凋亡，进而改善梗阻性黄疸引起的肝损伤。

4 结语

综上所述，水飞蓟素可显著抑制梗阻性黄疸大鼠血清炎症因子的表达，调节肝功能指标，下调caspase-3、caspase-9蛋白表达，减少肝细胞凋亡，从而改善梗阻性黄疸肝损伤，其机制可能与调控ERK/p38MAPK通路有关，为梗阻性黄疸的临床治疗提供潜在的靶向药物。由于梗阻性黄疸的致病因素复杂，参与通路较多，水飞蓟素对于梗阻性黄疸的具体作用机制还需进一步探索。此外，本研究仅初步证实水飞蓟素对ERK/p38MAPK通路的抑制作用，尚未通过联合通路激活剂进行恢复试验，这是本研究的不足，也是未来研究的重点。

参考文献：

[1] Li J, Zhuo S, Chen B, *et al*. Clinical efficacy of laparoscopic modified loop cholecystojejunostomy for the treatment of malignant obstructive jaundice[J]. J Int Med Res, 2020, 48(2): 300060519866285.

[2] 李雪, 张玮琛. 加味大柴胡汤对阻塞性黄疸老年大鼠TRPC1表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(11): 1331-1335.

[3] Zhang X, Zhang F, Zhang C, *et al*. MiRNA-125b signaling ameliorates liver injury against obstructive jaundice-induced excessive fibrosis in experimental rats[J]. Yonsei Med J, 2021, 62(5): 453-460.

[4] Xie Y, Guo C, Liu Y, *et al*. Dexmedetomidine activates the PI3K/Akt pathway to inhibit hepatocyte apoptosis in rats with obstructive jaundice[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(6): 4461-4466.

[5] Zhao X, Wang H, Yang Y, *et al*. Protective effects of silymarin against D-Gal/LPS-Induced organ damage and inflammation in mice[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 1903-1914.

[6] Ferraz AC, Almeida LT, da Silva Caetano CC, *et al*. Hepatoprotective, antioxidant, anti-inflammatory, and antiviral activities of silymarin against mayaro virus infection[J]. Antiviral Res, 2021, 194: 105168.

[7] Sahin E, Bagci R, Bektur Aykanat NE, *et al*. Silymarin attenuated nonalcoholic fatty liver disease through the regulation of endoplasmic reticulum stress proteins GRP78 and XBP-1 in mice[J]. J Food Biochem, 2020, 44(6): e13194.

[8] 陈继铭, 吴晓静, 刘田丰, 等. 水飞蓟素对四氯化碳致小鼠肝损伤和骨代谢的影响[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(8): 1224-1228.

[9] Liang X, Ju J. Matrine inhibits ovarian cancer cell viability and promotes apoptosis by regulating the ERK/JNK signaling pathway via p38MAPK[J]. Oncol Rep, 2021, 45(5): 82.

[10] 郭俊玲, 吴曼, 李颖, 等. 基于MAPK/ERK信号通路探究延胡索乙素对心肌梗死后心力衰竭大鼠的心肌保护作用[J]. 中国药师, 2022, 25(5): 765-771.

[11] 常虎林, 刘司南, 苗润晨, 等. 黄芩苷对急性药物性肝损伤小鼠的保护机制[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(7): 1280-1282.

[12] 窦增花, 马正军, 刘积庆, 等. 华法林对急性酒精性肝损伤小鼠症状改善作用及p38MAPK通路的影响[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(6): 701-705.

[13] 苗志钊, 王建国, 张生, 等. 小檗碱对梗阻性黄疸大鼠氧化性肝损害的保护机制[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(3): 463-466.

[14] 陈彩云, 许秋霞, 张吟, 等. 水飞蓟素对急性胰腺炎大鼠急性肺损伤及MAPK/NF-κB信号通路的影响[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(2): 192-197.

[15] Atalay E, Ozdemir MT, Tur BK, *et al*. The effect of alpha-lipoic acid on oxidative parameters and liver injury in rats with obstructive jaundice[J]. Bratisl Lek Listy, 2019, 120(11): 843-848.

[16] Wu YL, Li ZL, Zhang XB, *et al*. Yinchenhao decoction attenuates obstructive jaundice-induced liver injury and hepatocyte apoptosis by suppressing protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase-induced pathway[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(41): 6205-6221.

[17] Pavlidis ET, Pavlidis TE. Pathophysiological consequences of obstructive jaundice and perioperative management[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2018, 17(1): 17-21.

[18] Vahabzadeh M, Amiri N, Karimi G. Effects of silymarin on metabolic syndrome: a review[J]. J Sci Food Agric, 2018, 98(13): 4816-4823.

[19] Zhang B, Xu D, She L, *et al*. Silybin inhibits NLRP3 inflammasome assembly through the NAD^+/SIRT2 pathway in mice with nonalcoholic fatty liver disease[J]. FASEB J, 2018, 32(2): 757-767.

（下转第167页）

Ethiopia: a multi-level analysis[J]. Arch Public Health, 2021, 79(1): 93.

[18] Hu Z, Ma D. The precision prevention and therapy of HPV-related cervical cancer: new concepts and clinical implications[J]. Cancer Med, 2018, 7(10): 5217-5236.

[19] Elakkiya R, Subramaniyaswamy V, Vijayakumar V, *et al*. Cervical cancer diagnostics healthcare system using hybrid object detection adversarial networks[J]. IEEE J Biomed Health Inform, 2022, 26(4): 1464-1471.

[20] Bogdanova A, Andrawos C, Constantinou C. Cervical cancer, geographical inequalities, prevention and barriers in resource depleted countries[J]. Oncol Lett, 2022, 23(4): 113.

[21] 刘文敏, 付振明. 宫颈癌预防与筛查: 致力于消除宫颈癌的有力举措[J/OL]. [2022-06-21]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=3uoqIhG8C45S0n9fL2suRadTyEVl2pW9UrhTDCdPD66siKENVrDOT0R5YvJytz09qObWwqaTSjVQwAL-WbVzirOevitCgXKJ&uniplatform=NZKPT&src=copy.

（编辑：刘玲玲）

（上接第148页）

[20] Wang L, Huang QH, Li YX, *et al*. Protective effects of silymarin on triptolide-induced acute hepatotoxicity in rats[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(1): 789-800.

[21] Onalan AK, Tuncal S, Kilicoglu S, *et al*. Effect of silymarin on oxidative stress and liver histopathology in experimental obstructive jaundice model[J]. Acta Cir Bras, 2016, 31(12): 801-806.

[22] 胡浩原, 雷威. 荆防颗粒对风寒感冒患儿血清炎性因子水平的影响[J]. 现代医学与健康研究电子杂志(电子版), 2020, 4(14): 125-126.

[23] Na HG, Kim YD, Choi YS, *et al*. Diesel exhaust particles elevate MUC5AC and MUC5B expression via the TLR4-mediated activation of ERK1/2, p38MAPK, and NF-κB signaling pathways in human airway epithelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 512(1): 53-59.

（编辑：沈佳婕）