

萝卜硫素对纳米二氧化钛诱导小鼠肝损伤的保护作用

孔玉雯^{1,2}, 朱金芳¹, 李丽华^{2*}

¹新疆农业大学食品科学与药学院 乌鲁木齐 830000

²台州学院医学院基础教研室 浙江台州 318000

摘要 目的:研究萝卜硫素(SFN)对纳米二氧化钛颗粒(TiO₂ Nps)诱导的小鼠肝损伤的保护作用。方法:将 50 只 6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠随机分成对照组(NC)、TiO₂ Nps 模型组(100 mg/kg)、TiO₂ Nps+低剂量 SFN 给药组(0.5 mg/kg)、TiO₂ Nps+中剂量 SFN 给药组(1 mg/kg)、TiO₂ Nps+高剂量 SFN 给药组(2 mg/kg),每组 10 只。9 周后眼眶取血,留取小鼠肝脏。检测小鼠血清中 ALT 和 AST 水平,肝脏组织氧化应激、炎症指标。HE 染色观察小鼠肝脏组织病理形态学变化,免疫组织化学染色检测小鼠肝脏中 F4/80 蛋白的表达。蛋白免疫印迹法检测 OGG1、NF- κ b、ERK、p-ERK 蛋白表达水平。结果:与对照组相比,模型组小鼠血清中 AST、ALT 水平显著升高($P<0.01$);与模型组相比,各 SFN 给药组均显著降低了小鼠血清中 ALT、AST、TBIL 水平($P<0.01$);显著提高肝组织的 GSH/GSSG 比值以及 SOD 水平($P<0.01$);显著降低小鼠肝脏组织 MDA 水平($P<0.05$, $P<0.01$)。实时定量 PCR 结果显示,与模型组相比,SFN 中、高剂量给药组显著降低了 IL-6、TNF- α 的 mRNA 水平($P<0.05$, $P<0.01$)。Western Blotting 结果显示,与模型组相比,给药组 NF- κ b、p-ERK、ERK 蛋白表达水平显著下调($P<0.05$, $P<0.01$)。HE 染色结果显示,与模型组相比,给药组的肝细胞空泡化程度有所改善。免疫组织化学染色结果显示,相比于模型组,给药组 F4/80 表达减少。结论:SFN 能够减轻 TiO₂ Nps 诱导的小鼠肝损伤、氧化应激和炎症指标的变化,表明 SFN 能够缓解 TiO₂ Nps 诱导的氧化应激和炎症反应,且可能通过 NF- κ b-ERK/p-ERK 通路发挥作用。

关键词 萝卜硫素; 纳米二氧化钛; 肝损伤

文章编号 1009-7848(2025)01-0160-09

DOI: 10.16429/j.1009-7848.2025.01.016

随着纳米技术的不断发展与应用,越来越多的纳米颗粒被应用在各行各业^[1],其中纳米二氧化钛因高稳定性、光敏感、耐腐蚀等良好性能而被广泛应用于工业、化妆品、制药、食品^[2]、医疗^[3]等领域,安全性受到很多学者的关注。肝脏在调节新陈代谢以及物质的分泌、储存和解毒中起着关键作用^[4-5]。纳米二氧化钛在日常生活中可通过皮肤、消化道、呼吸道等途径进入人体,在人体的肝脏、肾脏和脑等器官沉积,会成为产生活性氧自由基的媒介^[6],诱导机体生产 ROS,产生氧化应激,导致蛋白质、脂质和 DNA 的氧化^[7-9],对肝脏的影响较大^[10]。国内外研究表明纳米二氧化钛在肝脏积累后具有肝脏毒性,会引起肝脏产生氧化应激和炎症反应^[11-15]。

萝卜硫素是一种异硫氰酸酯类天然小分子化合物,又称莱菔硫烷^[16],存在于多种可食用的十字

花科芸苔属蔬菜中,如西兰花、卷心菜、花椰菜、萝卜等^[17]。目前已有大量有关萝卜硫素预防与治疗多种疾病以及对健康作用的研究,萝卜硫素对多种肝损伤模型有积极的保护作用,有不少学者选择用食物成分开发相关特殊医学用途配方食品、功能食品以预防慢性肝病^[18-20]。研究表明萝卜硫素具有抗癌、抗菌、抗炎和抗氧化^[21-22]的作用,对氧化应激和炎症反应均有影响,经典的信号通路为 NF- κ b 和 NF- κ b。

有研究表明纳米二氧化钛通过升高小鼠肝脏 NF- κ b 的 mRNA 和蛋白表达^[23]引发炎症,而萝卜硫素会减轻阿霉素所致的小鼠急性肝损伤,与降低 NF- κ b 的表达有关^[24]。然而,萝卜硫素对纳米二氧化钛导致的肝损伤的作用机制尚不清楚。本文用纳米二氧化钛建立小鼠肝脏损伤模型,研究萝卜硫素是否对肝损伤具有保护作用,探究萝卜硫素对纳米二氧化钛诱导的肝损伤的影响,为萝卜硫素相关功能食品、特殊医学用途配方食品的应用提供理论依据。

收稿日期: 2024-01-12

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LY23H030002)

第一作者: 孔玉雯,女,硕士生

通信作者: 李丽华 E-mail: 347584368@qq.com

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

萝卜硫素(Sulforaphane, SFN, 纯度>99%), 上海源叶生物; 纳米二氧化钛颗粒(Titanium dioxide nanoparticles, TiO₂ Nps, 21 nm), 美国 Sigma-Aldrich 公司; 总胆红素(TBIL)含量检测试剂盒、天冬氨酸转氨酶(AST)检测试剂盒、丙氨酸转氨酶(ALT)检测试剂盒, 中国南京建成生物工程研究所; 丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、还原态谷胱甘肽(GSH)、氧化态谷胱甘肽(GSSG)检测试剂盒, 碧云天生物技术有限公司; GAPDH、IL-6(白细胞介素 6)、TNF- α (肿瘤坏死因子 α)、IL-8(白细胞介素 8)引物, 上海生工。一抗 GAPDH、 β -actin、OGG1, Proteintech 公司; F4/80, Cell Signaling Technology 公司; NF- κ b、ERK、p-ERK, abcam 公司。免疫组织化学二抗羊抗兔、羊抗鼠, 中衫金桥公司; 蛋白免疫印迹二抗羊抗兔、羊抗鼠, Proteintech 公司。

Amersham Imager 680 RGB 型号荧光化学发光成像仪, 美国 GE 公司; 垂直电泳仪、蛋白转印系统, 美国 Bio-Rad 公司; Olympus BX53 型正置荧光显微镜, 日本 Olympus 公司; Thermo Multisan Mk3 酶标仪, 美国 Thermo 公司; 手动切片机, 德国 Leica 公司。

1.2 实验动物分组及模型建立

采用 50 只 6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠, 小鼠来自常州卡文斯实验动物有限公司, 动物生产许可证号: SCXK(苏)2021-0013。将小鼠随机分为以下 5 组: 对照组(NC)、TiO₂ NPs 模型组(TiO₂ Nps)、TiO₂ Nps+低剂量 SFN 给药组(SFN-Low)、TiO₂ Nps+中剂量 SFN 给药组(SFN-Medium)、TiO₂ Nps+高剂量 SFN 给药组(SFN-High), 每组 10 只。模型组连续 9 周 TiO₂ Nps 混悬液灌胃[TiO₂ Nps 溶于 1% Tween 80, 100 mg/(kg·d)]; 低、中、高剂量给药组在 100 mg/(kg·d) TiO₂ Nps 混悬液灌胃的基础上, 分别给予萝卜硫素 0.5, 1.0, 2.0 mg/(kg·d), 腹腔注射至第 9 周结束。最后 1 次给药 24 h 后, 各组小鼠眼眶取血, 留取肝脏。

1.3 血清生化分析

各组小鼠于眼眶取血, 静置 1 h 后, 4 $^{\circ}$ C, 2 000

r/min 离心 20 min, 小心吸取上清, 得到血清, 根据试剂盒说明书检测血清中 ALT、AST、TBIL 水平。

1.4 肝脏组织病理学分析

解剖取出各组小鼠肝脏, 放于 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 切肝脏组织约 1~2 mm, 用石蜡包埋肝脏组织, 切石蜡切片进行 HE 染色, 染色结果用正置显微镜拍照。

1.5 免疫组织化学

石蜡切片获得方法同 1.4 节, 用石蜡切片对肝组织中的 F4/80 蛋白进行染色, 光学显微镜下观察到棕黄色为 F4/80 蛋白阳性表达。

1.6 肝脏组织生化分析

取适量肝脏组织于 1.5 mL 离心管中加入 10 倍体积的裂解液, 快速剪碎并超声。静置 30 min 后, 4 $^{\circ}$ C, 12 000 r/min 离心 30 min。小心吸取上清, 得到肝脏组织匀浆, 检测肝脏组织匀浆中 MDA、GSH、GSSG、SOD 水平。

1.7 肝脏炎症因子的表达量及浓度测定

RT-qPCR 检测 IL-6、TNF- α 、IL-8 的 mRNA 水平, 提取肝脏组织匀浆总 RNA, 选择分光光度计检测 RNA 的浓度和纯度, 将其逆转录为 cDNA, 加入 RT-qPCR 中进行扩增, 分析 mRNA 表达。

1.8 蛋白免疫印迹(Western Blotting)

肝脏组织上清制备方法同 1.6 节。用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量, 取适量蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳并转膜至 PVDF 膜上, 封闭, 一抗孵育过夜, TBST 洗 3 次, 每次 15 min; 二抗室温孵育 2 h, TBST 洗 3 次, 每次 15 min; 滴加 ECL 发光液, 曝光仪曝光。用 Image J 进行灰度分析, 目的蛋白(OGG1、NF- κ b、ERK、p-ERK)条带灰度值与内参蛋白(β -actin、GAPDH)条带灰度值比较, 进行半定量分析。

1.9 统计分析

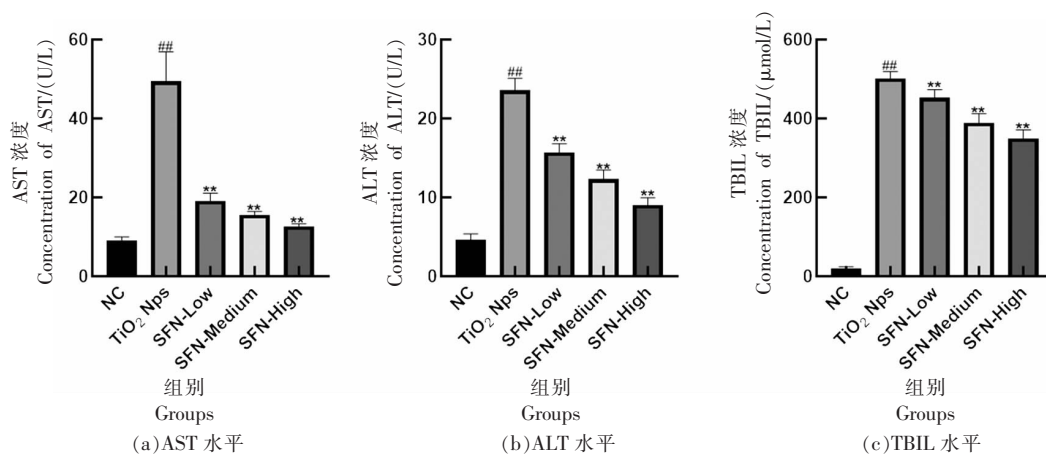
用 Graph Pad Prism 9、SPSS 22.0 软件进行数据统计分析, 所有检测结果至少 3 次重复, 数据以“平均值 \pm 标准差”表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 SFN 对 TiO₂ Nps 所致小鼠血清中 AST、ALT、TBIL 水平的影响

如图 1 所示,与对照组相比,模型组小鼠血清中 AST 水平显著升高($P<0.01$),而 SFN 会显著降低($P<0.01$)AST 水平,且在高剂量组最为显著($P<0.01$)。模型组 ALT 水平相比于对照组显著升高

($P<0.01$),低、中、高剂量给药组 ALT 水平均有一定程度的下降,且高剂量组最为显著,说明 SFN 对 TiO₂ Nps 诱导的小鼠血清 ALT 水平升高的改善作用有一定的剂量依赖性。SFN 对 TBIL 水平升高有明显的改善作用,相比于模型组,各 SFN 给药组的 TBIL 水平显著降低($P<0.01$)。这些结果表明 SFN 可降低 TiO₂ Nps 诱导的肝损伤。



注:与对照组比较,##. $P<0.01$;与模型组比较,**. $P<0.01$ 。

图 1 萝卜硫素对 AST、ALT、TBIL 的影响

Fig.1 Effect of sulforaphane on AST, ALT, TBIL

2.2 SFN 对 TiO₂ NPs 所致小鼠肝脏组织病理形态学的影响

如图 2 所示,对照组肝脏肝细胞形态正常,且分布均匀,肝小叶的结构正常;模型组可以看到较多肝细胞空泡化,失去正常的肝细胞形态,且胞浆疏松浅染,肝小叶结构紊乱,出现炎性浸润;SFN 低剂量组肝组织中肝细胞形态较模型组有改善,炎性浸润减少,肝细胞空泡化数量减少,空泡体积减小;中、高剂量组空泡化数量和面积进一步减少,SFN 高剂量组作用更显著。各给药组肝细胞形态相比于模型组有改善。

2.3 SFN 对 TiO₂ Nps 所致小鼠肝脏组织氧化应激的影响

如图 3 所示,TiO₂ NPs 会使小鼠肝脏组织中 MDA 水平显著升高 ($P<0.01$),SFN 给药组可降低 MDA 水平,低剂量给药组的 MDA 水平降低($P<0.05$),中、高剂量给药组显著降低($P<0.01$)TiO₂ NPs 引起的 MDA 水平的升高。与对照组相比,模

型组 GSH/GSSG 的值显著降低 ($P<0.01$),SFN 给药组 GSH/GSSG 的值显著升高($P<0.01$)。SFN 低、中、高剂量给药组均提高了 TiO₂ Nps 引起的小鼠肝脏组织 SOD 水平的降低,差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。OGG1 的蛋白免疫印迹结果显示,相比于对照组,模型组的 OGG1 蛋白表达量增多,给药组 OGG1 表达量减少,差异具有统计学意义。以上结果表明 SFN 对 TiO₂ Nps 诱导的小鼠肝脏氧化应激有一定的改善作用。

2.4 SFN 对 TiO₂ Nps 所致小鼠肝脏炎症反应的影响

如图 4 所示,模型组 IL-6、TNF- α 的 mRNA 水平均高于正常对照组,差异具有统计学意义,SFN 中、高剂量给药组显著降低($P<0.01$)了 TiO₂ Nps 引起的 IL-6、TNF- α 的 mRNA 水平的升高。相比于对照组,模型组 IL-8 的 mRNA 水平升高,SFN 中、高剂量给药组 IL-8 的 mRNA 水平相比于模型组降低,差异无统计学意义。免疫组织化学染

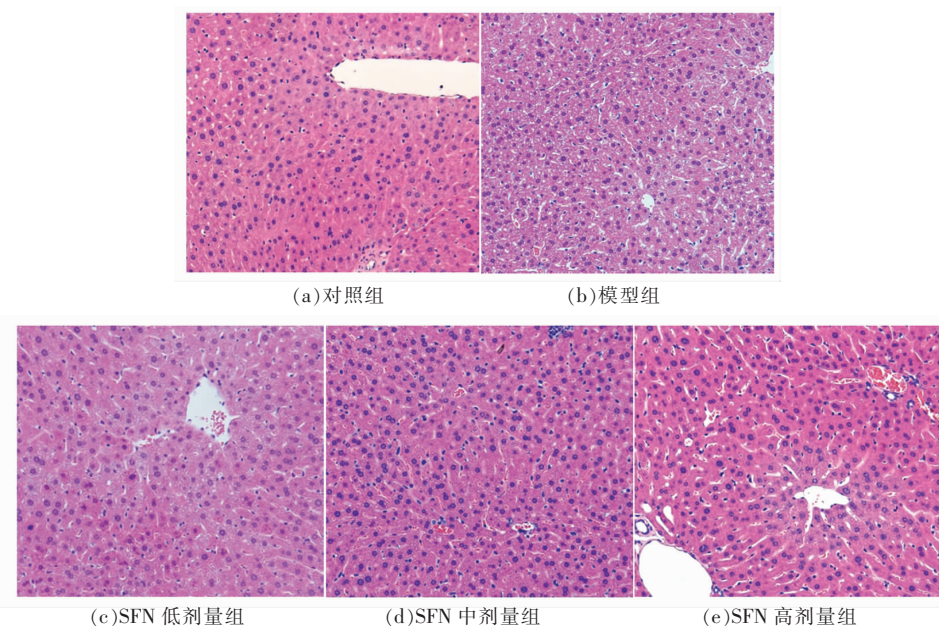
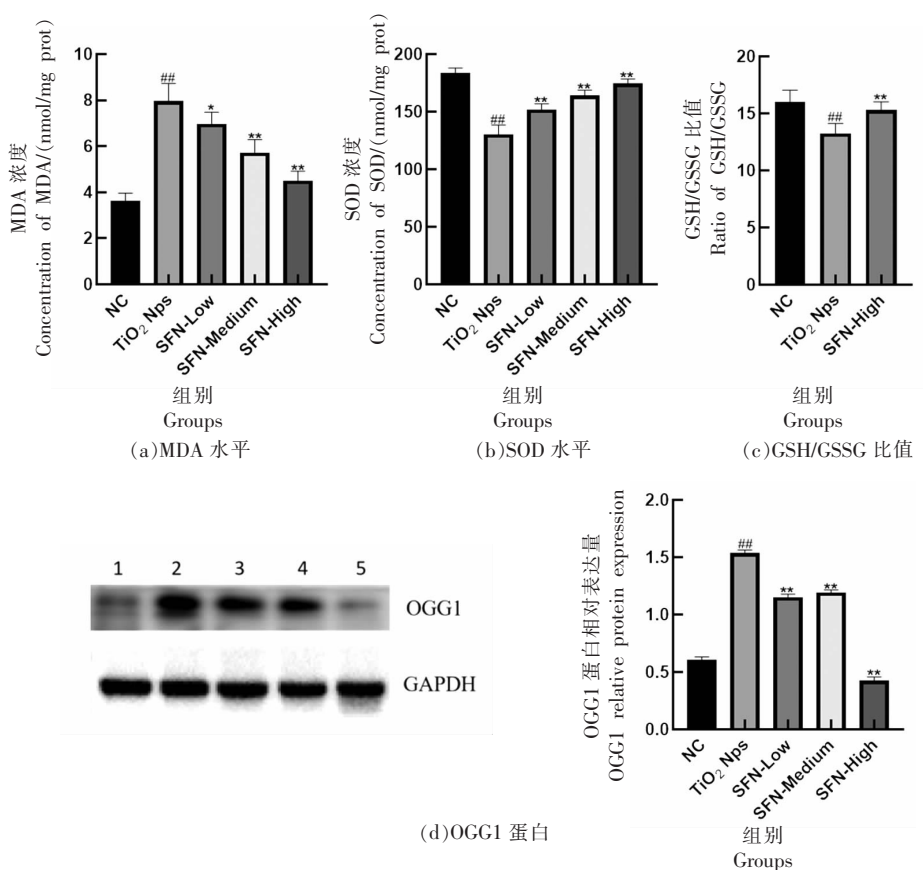


图 2 萝卜硫素对小鼠肝脏组织病理形态的影响

Fig.2 Effect of sulforaphane on histopathological morphology of liver in mice



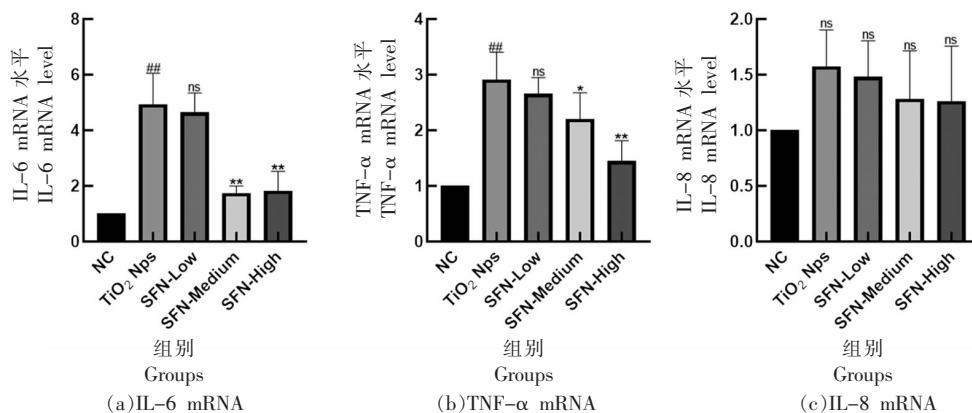
注:与对照组比较,##. $P < 0.01$;与模型组比较,**. $P < 0.01$,*. $P < 0.05$;图 d 条带 1,2,3,4,5 分别代表 NC、TiO₂ Nps、SFN-Low、SFN-Medium、SFN-High 组。

图 3 萝卜硫素对小鼠肝脏 MDA、SOD、GSH/GSSG、OGG1 的影响

Fig.3 Effect of sulforaphane on MDA, SOD, GSH/GSSG and OGG1 in mice liver

色结果显示(图5),模型组的F4/80蛋白阳性表达多于对照组,而各给药组的F4/80蛋白阳性表达均低于模型组,且高剂量组减少程度最为显著。这

些结果表明SFN能够缓解TiO₂ Nps引起的小鼠肝脏炎症反应。



注:与对照组比较,##. $P < 0.01$;与模型组比较,**. $P < 0.01$,*. $P < 0.05$;ns. $P > 0.05$,不显著。

图4 萝卜硫素对小鼠肝脏IL-6、TNF- α 、IL-8的mRNA水平的影响

Fig.4 Effect of sulforaphane on mRNA levels of IL-6, TNF- α , IL-8 in mice liver

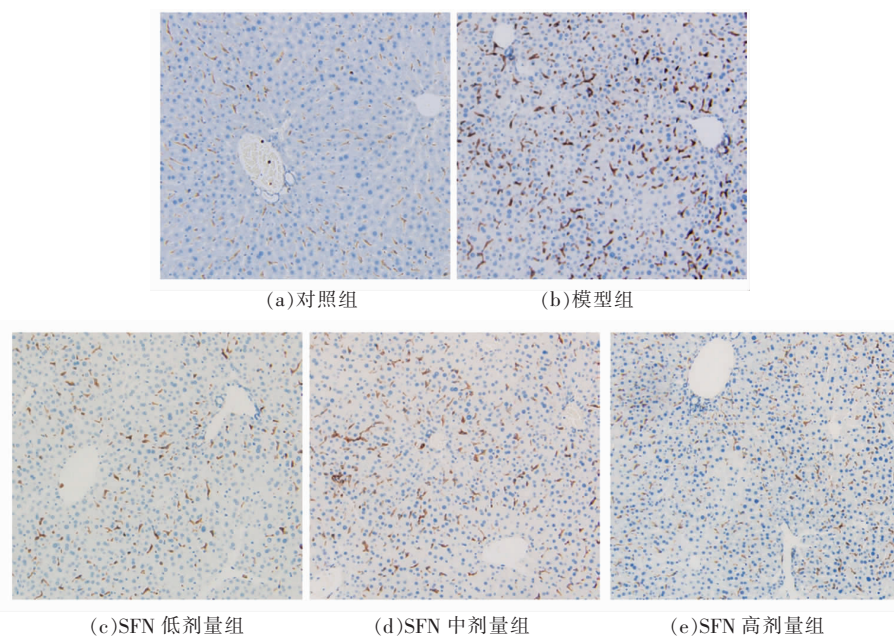


图5 萝卜硫素对小鼠肝脏组织中F4/80表达的影响

Fig.5 Effect of sulforaphane on F4/80 expression in mice liver

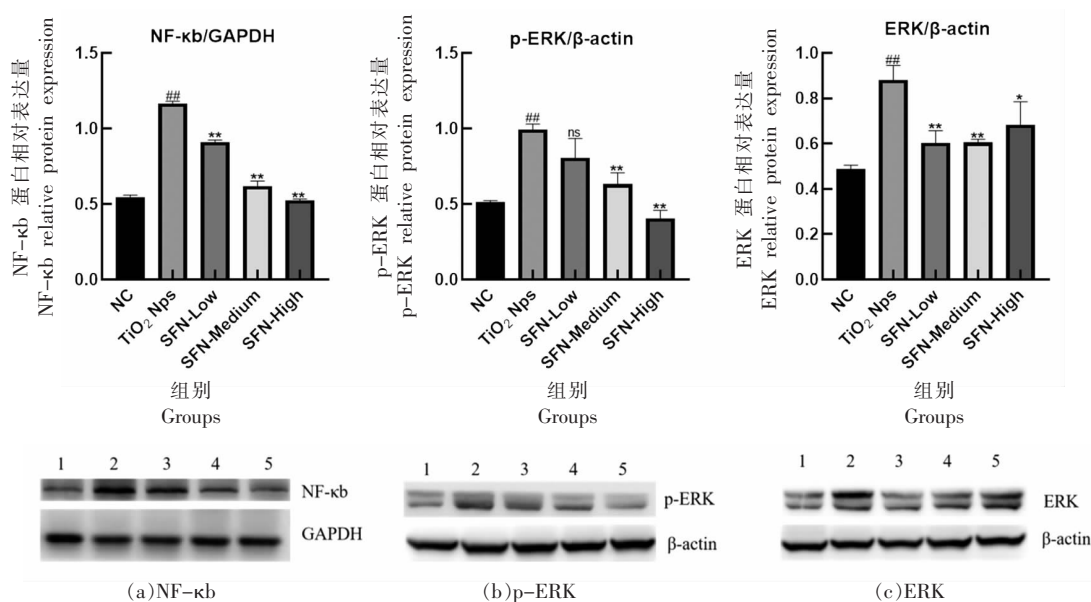
2.5 SFN对肝脏组织中NF- κ b、ERK、p-ERK蛋白表达的影响

由图6可知,与对照组相比,模型组NF- κ b蛋白的表达显著增多,SFN高剂量给药组相比于模型组显著减少了NF- κ b蛋白的表达。模型组p-ERK、ERK蛋白表达水平与对照组相比升高,SFN

中、高剂量给药组显著降低了TiO₂ Nps引起的p-ERK、ERK蛋白表达水平的升高。

3 讨论

本文研究了萝卜硫素是否对TiO₂ Nps诱导的小鼠肝损伤具有保护作用并探讨其相关机制,



注:与对照组比较,##, $P < 0.01$;与模型组比较,**, $P < 0.01$,*, $P < 0.05$;ns, $P > 0.05$,不显著。条带 1,2,3,4,5 分别代表 NC、TiO₂ Nps、SFN-Low、SFN-Medium、SFN-High 组。

图 6 萝卜硫素对小鼠肝脏组织中 NF-κB、ERK、p-ERK 蛋白表达的影响

Fig.6 Effect of sulforaphane on the expression of NF-κB, ERK, and p-ERK proteins in mice liver tissues

通过 TiO₂ Nps 诱导小鼠肝损伤并进一步测定给予萝卜硫素前、后的肝脏氧化应激和炎症指标的变化。结果表明,植物活性物质萝卜硫素能够缓解 TiO₂ Nps 诱导的小鼠肝损伤,通过减轻 TiO₂ Nps 诱导的氧化应激和炎症反应发挥对肝脏的保护作用。

血清中 AST、ALT 水平是最早反映肝损伤的敏感指标,肝脏受损时血清 AST、ALT 会明显增加。TBIL 是肝功能障碍的标志,血清 TBIL 升高被认为是普遍应激反应的标志^[25],在本研究中模型组血清 AST、ALT 水平显著升高,说明 TiO₂ Nps 造成了小鼠的肝损伤,而 SFN 减轻了肝损伤程度。对于氧化应激反应,TiO₂ Nps 能够诱导小鼠产生氧化应激的状态,使小鼠肝脏中 MDA 水平升高,SOD 的表达增多,GSH/GSSG 的比值减小,氧化态的谷胱甘肽增多,OGG1 蛋白表达量增多,而给药组的结果显示 SFN 会显著逆转这些指标的变化,缓解氧化应激反应。此外,TiO₂ Nps 增加了促炎因子 IL-6、TNF-α 的 mRNA 表达,增多了 F4/80 的表达,而 SFN 则会减少 IL-6、TNF-α 的 mRNA 表达,降低 F4/80 的表达,缓解 TiO₂ Nps 所致的小鼠肝脏的炎症反应。

TiO₂ Nps 会引起机体氧化应激,产生脂质过氧化反应,脂质过氧化反应的终产物为 MDA,它的含量反映机体脂质氧化的速率及强度,也间接反映机体细胞受自由基攻击损伤的程度^[26]。SOD 能有效清除超氧阴离子自由基,可反映机体氧化应激所处的状态和抗氧化能力的强弱^[27]。GSH/GSSG 的比值反映机体的氧化还原状态,正常情况下氧化还原处于较平衡状态,在氧化应激状态下,氧化态的 GSSG 会相对增多^[28]。8-oxoG 经常用作细胞氧化应激的标志物,而 OGG1 是真核细胞识别并切除 8-oxoG 的特异性 DNA 修复酶,常用作氧化应激指标^[29]。

如果氧化应激状态得不到缓解,机体不能及时清除 ROS,就将会导致一系列疾病或加重疾病的发生发展^[30]。已有研究表明在氧化应激条件下 OGG1 参与了 NF-κB 驱动的炎症因子的表达上调^[31]。一般来说,受到药物等因素刺激机体会发生免疫反应释放促炎细胞因子,包括 IL-6、TNF-α、IL-8 等。另外肝巨噬细胞是免疫细胞,F4/80 是小鼠成熟巨噬细胞的标记物,表达多说明巨噬细胞活化增多,产生免疫反应。TiO₂ Nps 可增加促炎因子如 IL-6、TNF-α 的释放,引发炎症反应^[32]。NF-

κb 是调节炎症的重要转录因子,参与多种基因的转录调控,NF- κb 信号通路对细胞的存活、发育、免疫、炎症等一系列过程极其重要^[31,33]。MAPK 信号通路是经典的炎症反应调节通路,细胞外信号调节激酶(ERK)是 MAPK 家族中的一员,ERK 通路是 MAPK 通路中重要的一条亚通路,ERK 蛋白调控肝细胞氧化应激、炎症等过程中的细胞信号的转导^[34-35]。总之,NF- κb 、ERK、p-ERK 在炎症反应中起到非常重要的作用。本研究结果显示萝卜硫素会逆转 TiO₂ Nps 带来的肝脏 NF- κb 、p-ERK 蛋白表达水平的变化,可能是通过 NF- κb -ERK/p-ERK 信号通路在此模型中发挥一定保护作用。

4 结论

植物活性物质萝卜硫素可能通过调控 NF- κb -ERK/p-ERK 进而抑制氧化应激和炎症反应,从而减轻纳米二氧化钛诱导的小鼠肝损伤,然而其具体的机制还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] NAJAH I -MISSAOUI W, ARNOLD R D, CUMMINGS B S. Safe nanoparticles: Are we there yet? [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1): 385.
- [2] 王昊, 王然, 巴乾. 食品中二氧化钛纳米材料对消化道组织及肠道微生物群影响的研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2022, 42(2): 225-229.
WANG H, WANG R, BA Q. Progress in the study of the effects of titanium dioxide nanomaterials in food on digestive tract tissues and intestinal microbiota[J]. *Journal of Shanghai Jiao Tong University (Medical Edition)*, 2022, 42(2): 225-229.
- [3] ABDELAZIM S A, DARWISH H A, ALI S A, et al. Potential antifibrotic and angiostatic impact of idebenone, carnosine and vitamin E in nano-sized titanium dioxide-induced liver injury [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2015, 35(6): 2-11.
- [4] MEGA A, MARZI L, KOB M, et al. Food and nutrition in the pathogenesis of liver damage[J]. *Nutrients*, 2021, 13(4): 1326.
- [5] CHENG M L, NAKIB D, PERCIANI C T, et al. The immune niche of the liver[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2021, 135(20): 2445-2466.
- [6] THAI S F, WALLACE, KATHLEEN A, et al. Differential genomic effects of six different TiO₂ nanomaterials on human liver HepG2 cells[J]. *Biochem Mol Toxicol*, 2016, 30(7): 331-341.
- [7] WELLS P G, BHULLER Y, CHEN C S, et al. Molecular and biochemical mechanisms in teratogenesis involving reactive oxygen species[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 207(2 Suppl): 354-366.
- [8] HU H L, GUO Q, WANG C L, et al. Titanium dioxide nanoparticles increase plasma glucose via reactive oxygen species-induced insulin resistance in mice[J]. *Appl Toxicol*, 2015, 35(10): 1122-1132.
- [9] HOU J, WANG L Y, WANG C J, et al. Toxicity and mechanisms of action of titanium dioxide nanoparticles in living organisms [J]. *Environ Sci (China)*, 2019, 75: 40-53.
- [10] 田雨阳, 王旖旎, 王宇, 等. 纳米二氧化钛神经毒性的研究进展[J]. *现代医学杂志*, 2022, 32(4): 56-61.
TIAN Y Y, WANG Y N, WANG Y, et al. Progress of neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles[J]. *Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(4): 56-61.
- [11] HONG F S, JI J H, ZE X, et al. Liver inflammation and fibrosis induced by long-term exposure to nano titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in mice and its molecular mechanism[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2020, 16(5): 616-625.
- [12] 刘慧婷. 纳米二氧化钛引发小鼠肝脏损伤及其分子机制的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
LIU H T. Study on liver injury induced by titanium dioxide nanoparticles and its molecular mechanism in mice[D]. Suzhou: Suzhou University, 2014.
- [13] GONZÁLEZ -ESQUIVEL, AARÓN EMMANUEL, CHARLES-NINO C L, et al. Beneficial effects of quercetin on oxidative stress in liver and kidney induced by titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in rats[J]. *Toxicology Methods*, 2015, 25(3): 166-175.
- [14] HONG J, ZHANG Y Q. Murine liver damage caused by exposure to nano-titanium dioxide [J]. *Nanotechnology*, 2016, 27(11): 112001.
- [15] 胡明娟, 安红梅, 吕成, 等. 纳米二氧化钛经口暴露对小鼠肝脏的影响[J]. *现代预防医学*, 2019, 46(8): 1446-1449, 1486.
HU M J, AN H M, LÜ C, et al. Effects of oral exposure of titanium dioxide nanoparticles on the

- liver of mice[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2019, 46(8): 1446-1449, 1486.
- [16] 赵淞民, 李颖畅, 董高缘, 等. 萝卜硫素功能性及其机制研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(13): 357-362.
- ZHAO S M, LI Y C, DONG G Y, et al. Functionality and mechanism of radish thiols[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2023, 49(13): 357-362.
- [17] ZHAO A, JEFFERY E H, MILLER M J. Is bitterness only a taste? The expanding area of health benefits of brassica vegetables and potential for bitter taste receptors to support health benefits[J]. *Nutrients*, 2022, 14(7): 1434.
- [18] MORISCO F, VITAGLIONE P, AMORUSO D, et al. Foods and liver health[J]. *Mol Aspects Med*, 2008, 29(1/2): 144-150.
- [19] ZHAO M Y, CHEN S M, JI X G, et al. Current innovations in nutraceuticals and functional foods for intervention of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 166: 105517.
- [20] YUAN R S, TAO X, LIANG S, et al. Protective effect of acidic polysaccharide from *Schisandra chinensis* on acute ethanol-induced liver injury through reducing CYP2E1-dependent oxidative stress[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 537-542.
- [21] CHEN L, ZHANG W L, XIE D Q, et al. Sulforaphane alleviates hepatic ischemia-reperfusion injury through promoting the activation of Nrf-2/HO-1 signaling[J]. *Transpl Immunol*, 2021, 68: 101439.
- [22] 孙奕良, 李海燕, 洪汉君, 等. 十字花科植物萝卜硫素生理功能及其产品应用的研究进展[J/OL]. *食品工业科技*: 1-15 (2023-06-28)[2023-09-26]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020189>.
- SUN Y L, LI H Y, HONG H J, et al. Research progress on physiological functions of radish thiols in cruciferous plants and their product applications[J/OL]. *Food Industry Science and Technology*: 1-15 (2023-06-28)[2023-09-26]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020189>.
- [23] 纪倩, 王琦, 茹仁萍, 等. 萝卜硫素对阿霉素急性肝损伤小鼠的保护作用及对PPAR α 、NF- κ B的影响[J]. *中国卫生检验杂志*, 2019, 29(2): 143-146.
- JI Q, WANG Q, RU R P, et al. Protective effects of radicechioidin on adriamycin in mice with acute liver injury and effects on PPAR α and NF- κ B[J]. *Chinese Journal of Health Inspection*, 2019, 29(2): 143-146.
- [24] MA L L, ZHAO J F, WANG J, et al. The acute liver injury in mice caused by nano-anatase TiO $_2$ [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2009, 4(11): 1275-1285.
- [25] HUANG R, SHAO M, ZHANG C, et al. Serum total bilirubin with hospital survival in adults during extracorporeal membrane oxygenation[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 914557.
- [26] TSIKAS D. GC-MS and GC-MS/MS measurement of malondialdehyde (MDA) in clinical studies: Pre-analytical and clinical considerations[J]. *J Mass Spectrom Adv Clin Lab*, 2023, 30: 10-24.
- [27] 李卓, 陈梦璇, 汪苇杭, 等. Mn-SOD通过GSK-3 β 影响HO-1和Drp1的抗氧化应激减轻MTX相关肝细胞损伤[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2022, 47(9): 1191-1199.
- LI Z, CHEN M X, WANG W H, et al. Mn-SOD alleviates methotrexate-related hepatocellular injury via GSK-3 β affecting anti-oxidative stress of HO-1 and Drp1[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2022, 47(9): 1191-1199.
- [28] BJØRKLUND G, PEANA M, MAES M, et al. The glutathione system in Parkinson's disease and its progression[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2021, 120: 470-478.
- [29] 王若曦. OGG1在氧化应激引起的细胞死亡中的作用及机制研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2018.
- WANG R X. Research on the role and mechanism of OGG1 in oxidative stress-induced cell death[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2018.
- [30] 廖月, 何毅怀, 罗亚文. 氧化应激在急性肝损伤中的作用[J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(10): 2402-2407.
- LIAO Y, HE Y H, LUO Y W. Role of oxidative stress in acute liver injury[J]. *Journal of Clinical Hepatobiliary Diseases*, 2022, 38(10): 2402-2407.
- [31] 李洁. 氧化应激条件下OGG1对NF- κ B转录活化影响的探究[D]. 长春: 东北师范大学, 2017.
- LI J. Investigation of the effect of OGG1 on NF- κ B transcriptional activation under oxidative stress conditions[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2017.
- [32] GUI S X, ZHANG Z L, ZHENG L, et al. Molecular mechanism of kidney injury of mice caused by exposure to titanium dioxide nanoparticles[J]. *J Hazard Mater*, 2011, 195: 365-370.

- [33] YUAN S H, LIU H X, YUAN D, et al. PNPLA3 I148M mediates the regulatory effect of NF- κ B on inflammation in PA-treated HepG2 cells[J]. *Cell Mol Med*, 2020, 24(2): 1541-1552.
- [34] 李斌, 何昱静, 王俊科, 等. 异甘草酸镁通过 ERK 通路影响大鼠肝细胞修复的研究[J]. *甘肃医药*, 2023, 42(4): 293-295, 300.
- LI B, HE Y J, WANG J K, et al. Magnesium isoglycyrrhizinate affects hepatocyte repair through ERK pathway in rats[J]. *Gansu Medicine*, 2023, 42(4): 293-295, 300.
- [35] XIE C F, LI X T, ZHU J Y, et al. Magnesium isoglycyrrhizinate suppresses LPS-induced inflammation and oxidative stress through inhibiting NF- κ B and MAPK pathways in RAW264.7 cells[J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(3): 516-524.

Protective Effect of Sulforaphane on Nano-Titanium Dioxide-Induced Liver Injury in Mice

KONG Yuwen^{1,2}, ZHU Jinfang¹, LI Lihua^{2*}

¹College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830000

²Department of Basic Teaching, School of Medicine, Taizhou University, Taizhou 318000, Zhejiang

Abstract Objective: To investigate the protective effect of sulforaphane (SFN) against titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ Nps)-induced liver injury in mice. Methods: Fifty 6-week-old male C57BL/6J mice were randomly divided into a control group (NC), a TiO₂ Nps model group (100 mg/kg), a TiO₂ Nps+low-dose SFN administration group (0.5 mg/kg), a TiO₂ Nps+medium-dose SFN administration group (1 mg/kg), a TiO₂ Nps+high-dose SFN administration group (2 mg/kg), and 10 in each group. Blood was collected from the orbits after 9 weeks, and the livers of the mice were retained. The serum levels of ALT and AST, oxidative stress and inflammation were detected in the liver tissues of mice. HE staining was used to observe the histopathological and morphological changes in the liver tissues of mice, and immunohistochemistry staining was used to detect the expression of F4/80 proteins in the livers of mice. Protein immunoblotting was used to detect the expression levels of OGG1, NF- κ B, ERK and p-ERK proteins. Results: Compared with the control group, the serum levels of AST and ALT were significantly increased in the model group ($P<0.01$); compared with the model group, each SFN administration group significantly reduced the serum levels of ALT, AST and TBIL ($P<0.01$); significantly increased the GSH/GSSG ratio of the liver tissues as well as the level of SOD ($P<0.01$); and significantly reduced the level of MDA in the liver tissues of the mice ($P<0.05$, $P<0.01$). Real-time quantitative PCR results showed that compared with the model group, the mRNA levels of IL-6 and TNF- α were significantly reduced in the SFN medium- and high-dose administration group ($P<0.05$, $P<0.01$). Western blotting results showed that compared with the model group, the protein expression levels of NF- κ B, p-ERK and ERK were significantly down-regulated in the administration group ($P<0.05$, $P<0.01$). HE staining results showed that compared with the model group, the administration group had HE staining results showed that the vacuolization degree of hepatocytes in the administered group was improved compared with that in the model group. Immunohistochemical staining showed that F4/80 expression was reduced in the administered group compared with the model group. Conclusion: SFN was able to attenuate TiO₂ Nps-induced changes in liver injury, oxidative stress and inflammatory indexes in mice, suggesting that SFN could alleviate TiO₂ Nps-induced oxidative stress and inflammatory responses and might act through the NF- κ B-ERK/p-ERK pathway.

Keywords sulforaphane; nano-titanium dioxide; liver injury