

## 黄果槲寄生果实多糖对急性酒精肝损伤小鼠的保护作用

叶文斌<sup>1</sup>, 樊亮<sup>1</sup>, 王昱<sup>1</sup>, 黄兆辉<sup>1</sup>, 赵庆芳<sup>2</sup>, 郭守军<sup>3</sup>, 周紫鹃<sup>4</sup>

(1. 陇南师范高等专科学校农林技术学院, 成县 742500; 2. 西北师范大学生命科学学院, 兰州 730030;  
3. 韩山师范学院生物系, 潮州 521041; 4. 中国科学院寒区旱区工程研究所, 兰州 730000)

**摘要:** 探讨黄果槲寄生果实多糖 (VCFP) 对急性酒精性肝细胞损伤小鼠的保护作用。通过一次性高浓度酒精灌胃建立小鼠急性酒精性肝损伤模型, 之后将 KM 小鼠随机分为 VCFP 低、中、高剂量组和酒精模型组, 同时设正常对照组。VCFP 组连续灌胃多糖 28 d, 酒精模型组及正常对照组灌胃等量生理盐水, 动态观察生长情况和肝组织形态学结构的变化。结果显示, 小鼠酒精灌胃后, 模型组谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG) 水平、丙二醛 (MDA) 含量、CAT 及 GSH-Px 活力与正常对照组相比显著升高 ( $P < 0.01$ ), 体重、肝脏指数和 SOD 活力显著 ( $P < 0.01$ ) 降低; VCFP 组连续灌胃多糖 28 d 后, 均能显著提高小鼠体重、肝脏指数和 SOD 活力, 降低 ALT、AST、TC、TG 水平、MDA 含量、CAT 及 GSH-Px 活力, 肝组织逐渐得到明显修复。研究表明, 黄果槲寄生果实多糖可通过提高抗氧化酶活性, 清除氧自由基减轻膜脂质过氧化反应, 对肝细胞起到保护作用。

**关键词:** 黄果槲寄生果实多糖; 急性酒精肝损伤; 保护作用

中图分类号: Q946.3; S865.13

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)02-0218-06

### The protection mechanism of *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai *f. lutescens* kitag fruit polysaccharides on acute alcoholic liver injury in mice

YE Wenbin<sup>1</sup>, FAN Liang<sup>1</sup>, WANG Yu<sup>1</sup>, HUANG Zhaohui<sup>1</sup>, ZHAO Qingfang<sup>2</sup>, GUO Shoujun<sup>3</sup>, ZHOU Zijuan<sup>4</sup>

(1. School of Agriculture and Forestry Technology, Longnan Teachers College, Chengxian 742500;

2. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730030;

3. Department of Biology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041;

4. Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

**Abstract:** To investigate the protective mechanism of *V. coloratum* fruit polysaccharides (VCFP) on acute alcoholic liver injury in mice, an acute liver injury model was established by one time irrigation stomach. The mice were randomly divided into VCFP-treated groups (low-, medium-, and high-dosage), alcohol model group and normal control group at the same time. VCFP-treated group was given polysaccharide on continuous 28 days by gavage; the alcohol model group and normal control group were injected with the same amount of normal saline, and then the general situation and liver tissue morphological structure changes were observed. The results showed that the levels of ALT, AST, TC, TG, MDA content, and CAT and GSH-Px activities of mice in model group were significantly increased ( $P < 0.01$ ), while the activity of SOD and weight and liver index were lower ( $P < 0.01$ ) compared with the normal control group. After continuously given polysaccharide for 28 days by gavage, the VCFP significantly increased the weight, liver index and SOD activity, while significantly decreased the contents of ALT, ST, TC, TG, MDA and CAT and GSH-Px activities. These results suggested that the VCFP can improve antioxidant enzyme activity and remove oxygen free radicals reducing membrane lipid peroxidation reaction; therefore protect liver cells.

**Key words:** *V. coloratum* fruits; polysaccharides; acute alcoholic liver injury; protection mechanism

收稿日期: 2016-09-22

基金项目: 国家“863”计划项目(2006EA780088), 甘肃省自然科学基金项目(1107RJZK243), 冻土工程国家重点实验室自主基金项目 (SKLFSE-ZY-05), 甘肃省教育厅项目(2015B-148), 陇南市科技计划项目 (2016-09) 和全国第四次中药资源普查甘肃试点两当普查点子项目 (2015GSZYZYPC-10) 共同资助。。

作者简介: 叶文斌, 讲师。E-mail: yewenbinbest@sohu.com

酒在全球范围被广泛饮用,但同时饮用酒含有的乙醇又对肝脏造成毒害,这已经成为世界范围内导致慢性肝病的重要原因<sup>[1]</sup>。我国饮酒文化历史悠久,随着人民生活水平的提升,过度饮酒引起的酒精性肝损伤严重威胁我国人民的身体健康,而且酒精滥用引起的酒精性肝病(alcoholic liver diseases, ALD)发病率迅速增加<sup>[2]</sup>。酒精在体内的代谢主要通过乙醇脱氢酶和过氧化氢酶进行脱氢氧化作用生成乙醛,这两个途径都能激活氧自由基导致氧化损伤,形成酒精性肝损伤,同时产生的乙醛对肝细胞也有显著的毒性,严重干扰了肝细胞的正常生理功能,如果长期干扰肝细胞,会使肝细胞变性和坏死,细胞活性逐渐下降,甚至丧失,继而发生纤维化,严重时肝脏将发生硬化<sup>[3]</sup>。目前认为酒精在肝脏的代谢过程中主要扰乱营养物质代谢并通过氧化应激、炎症和免疫反应产生损伤,同时局部缺氧、营养不良和病毒的叠加作用等多种因素加重了肝脏病理性损伤的进程<sup>[4]</sup>,酒精的长期作用可能导致体内的脂肪代谢发生紊乱而引起肝损伤<sup>[5]</sup>。有研究表明,在治疗酒精性肝损伤,抗炎抗氧化作用对酒精性的肝损伤有一定的治疗作用。李伟等<sup>[6]</sup>用当归多糖治疗酒精性肝损伤体现出了独特的作用,当归多糖可增强抗氧化酶 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性,提高机体抗氧化系统清除自由基的能力,纠正氧化和抗氧化系统失衡,逆转肝细胞损害。急性小鼠酒精灌胃模型,是采用灌胃给予酒精来实现的,最常用的酒精剂量根据小鼠体重是 4~6 g·kg<sup>-1</sup><sup>[7]</sup>,这种模型常用来研究酒精性肝损伤特别是急性发病的机制<sup>[7-8]</sup>。研究表明,急性酒精灌胃能明显影响肝线粒体功能<sup>[9]</sup>,对线粒体的呼吸作用和细胞色素 c 氧化酶活性也影响较大<sup>[10]</sup>,诱导氧化应激和炎症反应<sup>[11-12]</sup>以及清除受损的线粒体<sup>[13]</sup>。酒精喂养动物后,肝脏发生了明显的纤维化,其血清谷丙转氨酶增高了 2 倍,并且有小结节性肝硬化形成,组织中性粒细胞浸润明显增加,肝的损伤与巨噬细胞浸润有很大关系<sup>[14]</sup>。

黄果槲寄生(*Viscum coloratum* (Kom.) Nakai f. *lutescens* (Makino) Kitag.), 半寄生类植物,果实橙黄色,是市场上主流入药植物<sup>[15-16]</sup>,具有祛风湿、补肝肾和强筋骨,以及治疗胃病、腰腿痛、原发性高血压、妇女妊娠胎动不安、咳嗽和冻伤等作用<sup>[17]</sup>。近年来,槲寄生的研究逐渐成为生物药物开发的热点<sup>[18]</sup>,槲寄生多糖是槲寄生水提取物的重要组成部分,主要包括高度酯化半乳糖聚合物<sup>[19]</sup>、中性多糖及酸性多糖<sup>[20]</sup>等。黄果槲寄生果实多糖(*V. coloratum* fruits Polysaccharides(VCFP)),系槲寄生果

实的主要有效成分,而用黄果槲寄生果实多糖进行急性酒精肝损伤小鼠的保护作用研究还未见报道。

本研究通过建立小鼠急性酒精性肝损伤模型,从体内抗氧化和病理学角度研究黄果槲寄生果实多糖对酒精所致小鼠急性肝细胞损伤的再生修复作用,探讨其对肝细胞的保护机制,旨在为开发保肝解毒的药物和保健食品提供理论和实验依据,使黄果槲寄生果实多糖的价值得到充分利用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级昆明小鼠,6 周龄,体重(22±2)g,实验动物和饲料均购自兰州大学医学院实验动物中心。实验动物合格证号:甘医动字第 14-005 号;生产许可证:SCXK(甘)2009-0004。饲养实验室环境温度为(23±2)℃,湿度(55±5)%,每日照明 12 h。

### 1.2 实验材料

黄果槲寄生 2015 年 7 月采自陇南市两当县,将黄果槲寄生果实在 50℃低温烘干后粉碎,过 100 目筛,将细粉经热水提取、浓缩、乙醇沉淀和真空冷冻干燥等步骤后,得到粗多糖,粗多糖与 Sevag 试剂按体积比 5:1 混合后脱蛋白、透析、乙醇沉淀和真空冷冻干燥后用斐林试剂析出铜络合物,再用乙醇、丙酮和乙醚洗涤,冷冻干燥得洁白多糖粉末,在 260 nm 和 280 nm 波长处紫外光谱检测无特征吸收峰,HPLC-GPC 色谱检测多糖纯度,用面积归一化法进行计算。液相色谱条件:色谱柱:Shodex SUGA-G0810 糖分析柱;流动相:纯 H<sub>2</sub>O;流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;检测器:Shodex RI-10A 示差折光检测器;柱温:80℃;进样量:25 μL,测定多糖含量为 99.45%。

### 1.3 实验药品与仪器

谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆固醇(TC)和三酰甘油(TG)的试剂盒,宁波美康生物科技股份有限公司生产;丙二醛(MDA)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒,上海酶联免疫公司。TGL-16G 高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;UV759 紫外-可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;TDL-5000B 型低速冷冻大容量离心机,上海安亭科学仪器厂;LGJ-18 型冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂;全自动生化分析仪 AU5800,贝克曼库尔特有限公司;二氧化碳培养箱,美国 Thermo Forma

公司; 96孔培养板, 赛业生物科技有限公司; 多功能酶标仪, 美国Molecular Devices公司等。

## 1.4 实验方法

**1.4.1 急性酒精肝损伤小鼠模型建立** 取健康的120只小鼠适应性喂养7d, 期间供给全价颗粒饲料, 不限制饮食饮水, 观察小鼠生长状态, 7d后随机分为空白对照组、模型组及VCFP各剂量组(按小鼠体重分为400、200和100 mg·kg<sup>-1</sup>), 每组20只。模型组及VCFP各剂量组, 除对照组外, 各组小鼠禁食不禁水12h后, 多糖高、中、低剂量组和模型组以按体重以12 mL·kg<sup>-1</sup>的量用50%的乙醇连续灌胃48h后造模, 第11天随机取5只小鼠脱臼处死, 迅速解剖取出肝脏镜下观察肝损伤的程度, 来确定弥漫性酒精性肝损伤小鼠的造模是否成功, 获得急性肝损伤模型。造模成功后分别用黄果糖寄生果实多糖进行灌胃, 每天灌胃1次, 连续28d, 连续灌胃期间供给全价颗粒饲料, 不限制饮食饮水, 每周称量2次小鼠体重来调整供给多糖样品, 观察小鼠生长状态, 空白对照组每天灌胃等体积的生理盐水。

**1.4.2 小鼠血清中ALT、AST、TC和TG的测定** 末次给药24h后, 每组随机各取5只小鼠, 眼眶取血, 并立即低温离心取其血清, 参照试剂盒说明书进行操作, 用全自动生化分析仪检测小鼠血清中ALT、AST、TC和TG的水平。

**1.4.3 小鼠肝脏组织中MDA含量、CAT、SOD和GSH-Px活力的测定** 于末次灌胃给药后1h, 每组随机各取5只小鼠, 将小鼠颈椎脱臼处死, 迅速取其肝脏, 剔去结缔组织称量0.5g, 匀浆器研磨, 加预冷的生理盐水制备成10%的组织匀浆, 4℃下冷冻离心, 取其上清液备用。按试剂盒说明书操作, 测定肝脏组织中MDA含量、CAT、SOD和GSH-Px的活力。

**1.4.4 小鼠肝脏组织形态结构检测** 于末次灌胃给药后12h, 每组随机各取5只小鼠, 将小鼠颈椎脱臼处死, 用冰生理盐水冲洗后称量, 用于计算肝脏器指数(肝脏重量/小鼠体重)。每组处死小鼠后迅速中取出肝脏, 在距肝大叶边缘处肝组织横切为5mm厚块状, 生理盐水冲洗后, 10%中性甲醛溶液固定, 梯度酒精脱水、浸蜡、石蜡包埋、切片并用苏木精—伊红(HE)染色, 制作病理切片, 光镜观察肝脏组织形态结构。

## 1.5 统计分析

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据分析采用SPSS17.0软件进行 $t$ 检验统计处理,  $P < 0.05$ 为差异显著,  $P < 0.01$ 为差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 VCFP对急性酒精肝损伤小鼠体重和肝脏指数的影响

饲养期间, 各分组小鼠在体重增长、进食状况、毛色光泽和大小便等均表现正常。而酒精模型组小鼠在酒精灌胃后, 小鼠皮毛光泽度差, 有不同程度的行动迟缓、精神萎靡和食量减退等现象, 但未出现中毒状况及死亡病例。VCFP各剂量组治疗28d后对小鼠体质量和肝脏指数的影响如表1所示, 模型组与对照组相比小鼠体重极显著下降( $P < 0.01$ ), VCFP各剂量组与对照组相比小鼠体重有增高但不显著( $P > 0.05$ ); 模型组与对照组相比小鼠肝脏指数极显著下降( $P < 0.01$ ), VCFP各剂量组与模型组相比肝脏指数有显著增高( $P < 0.05$ ), VCFP低、中剂量组治疗28d后肝脏指数有所升高, 与对照组相比有显著差异( $P < 0.05$ ), VCFP高剂量组治疗与对照组相比差异不显著( $P > 0.05$ )。综上, VCFP对急性酒精肝损伤小鼠体重的回升和肝脏的损害有很好的治疗作用。

### 2.2 VCFP对急性酒精肝损伤小鼠血清中肝脏功能及脂代谢水平的影响

当肝细胞受损细胞膜通透性增加时, ALT和AST会从细胞及线粒体中溢出使血清中升高, 血清ALT和AST含量高低是肝细胞损伤程度的间接反映, 也是肝细胞损伤的最灵敏指标<sup>[21]</sup>, 而TC和TG含量是反映脂肪在肝脏中代谢障碍的敏感指标。VCFP各剂量组灌喂治疗28d后对小鼠血清中ALT、AST、TC和TG含量的影响如表2所示, 模型组与对照组相比小鼠血清中ALT、AST、TC和TG含量均上升极显著( $P < 0.01$ )。VCFP低剂量组治疗28d后与模型组相比小鼠血清中除ALT( $P < 0.05$ )外AST、TC和TG含量均表现为极显著降低( $P < 0.01$ ), VCFP中剂量组治疗28d后与模型组相比小鼠血清中ALT和TC含量均表现为极显著降低( $P < 0.01$ ), AST和TG含量表现为显著降低( $P < 0.05$ ); VCFP高剂量组治疗后与模型组相比小鼠血清中ALT、AST和TC含量均表现为极显著降低( $P < 0.01$ ), TG含量表现为显著降低( $P < 0.05$ )。VCFP低剂量组治疗28d后与对照组相比小鼠血清中ALT、AST和TC含量均表现为极显著升高( $P < 0.01$ ), TG含量表现为显著升高( $P < 0.05$ ); VCFP中剂量组治疗28d后与对照组相比小鼠血清中ALT和AST含量均表现为极显著升高( $P < 0.01$ ), TC和TG含量表现为显著升高( $P < 0.05$ ); VCFP高剂量组治疗后与对照组

表 1 VCFP 对急性酒精肝损伤小鼠体重和肝脏指数的影响

Table 1 Effects of VCFP on weight and liver index in mice with acute alcoholic liver injury

组别 Group	剂量/mg·kg <sup>-1</sup> Dosage	动物数 Number of mice	体重/g Body weight	肝脏指数 Liver index
对照组 Control group	—	5	37.19±2.51 <sup>##</sup>	0.0391±0.0042 <sup>#</sup>
模型组 Model group	—	5	35.40±3.47 <sup>**</sup>	0.0372±0.0035 <sup>**</sup>
低剂量组 Low dosage group	100	5	37.90±3.79 <sup>##</sup>	0.0380±0.0021 <sup>#</sup>
中剂量组 Medium dosage group	200	5	37.57±3.36 <sup>##</sup>	0.0382±0.0017 <sup>#</sup>
高剂量组 High dosage group	400	5	37.41±4.72 <sup>##</sup>	0.0386±0.0025 <sup>#</sup>

注: 与对照组比较, “\*”  $P < 0.05$ , “\*\*”  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, “#”  $P < 0.05$ , “##”  $P < 0.01$ 。下同。

Note: Compare with the control group, “\*”  $P < 0.05$ , “\*\*”  $P < 0.01$ ; compared with the model group, “#”  $P < 0.05$ , “##”  $P < 0.01$ . The same below.

表 2 VCFP 对急性酒精肝损伤小鼠血清中 ALT、AST、TC 和 TG 含量的影响

Table 2 Effects of VCFP on the contents of ALT,AST,TC and TG in mice with acute alcoholic liver injury

组别 Group	剂量/mg·kg <sup>-1</sup> Dosage	动物数 Number of mice	ALT/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>	TC/mmol·L <sup>-1</sup>	TG/mmol·L <sup>-1</sup>
对照组 Control group	—	5	31.98±3.65 <sup>##</sup>	29.91±1.23 <sup>##</sup>	1.37±0.55 <sup>##</sup>	0.39±0.052 <sup>##</sup>
模型组 Model group	—	5	215.43±14.49 <sup>**</sup>	78.72±5.05 <sup>**</sup>	1.76±0.87 <sup>**</sup>	0.47±0.045 <sup>**</sup>
低剂量组 Low dosage group	100	5	136.91±34.25 <sup>**##</sup>	69.00±2.23 <sup>**#</sup>	1.61±0.29 <sup>**#</sup>	0.45±0.031 <sup>#</sup>
中剂量组 Medium dosage group	200	5	107.87±21.36 <sup>**##</sup>	64.82±2.57 <sup>**#</sup>	1.42±0.16 <sup>**#</sup>	0.42±0.027 <sup>#</sup>
高剂量组 High dosage group	400	5	42.91±14.70 <sup>##</sup>	32.36±4.29 <sup>##</sup>	1.38±0.47 <sup>##</sup>	0.38±0.015 <sup>#</sup>

表 3 VCFP 对急性酒精肝损伤小鼠肝组织中 MDA 含量、CAT、SOD 和 GSH-Px 活力的影响

Table 3 Effects of VCFP on the contents of MDA and SOD ,CAT and GSH-Px activity in mice with acute alcoholic liver injury

组别 Group	剂量/mg·kg <sup>-1</sup> Dosage	动物数 Number of mice	MDA/mmol·L <sup>-1</sup>	SOD/U·L <sup>-1</sup>	CAT/U·L <sup>-1</sup>	GSH-Px/U·L <sup>-1</sup>
对照组 Control group	—	5	431.20±26.56 <sup>##</sup>	20.23±0.34 <sup>##</sup>	11.98±1.59 <sup>##</sup>	18.79±1.92 <sup>##</sup>
模型组 Model group	—	5	551.12±29.31 <sup>**</sup>	17.65±0.80 <sup>**</sup>	14.77±1.45 <sup>**</sup>	22.67±1.08 <sup>**</sup>
低剂量组 Low dosage group	100	5	483.32±25.02 <sup>**##</sup>	18.37±0.53 <sup>**#</sup>	14.58±1.31 <sup>**#</sup>	21.19±1.55 <sup>**#</sup>
中剂量组 Medium dosage group	200	5	460.53±45.35 <sup>**##</sup>	19.56±0.09 <sup>#</sup>	12.29±0.97 <sup>#</sup>	20.22±0.27 <sup>#</sup>
高剂量组 High dosage group	400	5	434.15±38.12 <sup>#</sup>	19.24±0.92 <sup>#</sup>	11.82±0.55 <sup>##</sup>	18.85±1.57 <sup>##</sup>

相比已无显著差异 ( $P > 0.05$ )。这说明 VCFP 对急性酒精肝损伤后肝细胞恢复有很好的治疗作用。

### 2.3 VCFP 对急性酒精肝损伤小鼠肝脏氧化应激水平的影响

MDA 是机体受到氧自由基的攻击而产生的脂质过氧化产物,测定它的含量可反映机体内脂质过氧化的程度;CAT 存在于动物的各个组织中,特别在肝脏中以高浓度存在,是催化  $H_2O_2$  分解成氧和水的酶;SOD 为自由基清除剂,它广泛存在于生物体的各种组织中,能清除超氧阴离子自由基,可降低超氧阴离子自由基,减少细胞毒性,减弱脂质过氧化和细胞膜损伤,还能降低过多自由基引起的炎症;GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,能使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物,同时促进  $H_2O_2$  的分解,从而保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的干扰及损害,所以 CAT、

SOD 和 GSH-Px 是生物体内重要的抗氧化酶<sup>[22]</sup>,存在于细胞液中是抗氧化体系中重要的自由基清除剂。VCFP 对急性酒精肝损伤小鼠肝组织中 MDA 含量、CAT、SOD 和 GSH-Px 活力的影响见表 3。与对照组比较,模型组 MDA 含量、CAT 和 GSH-Px 活力极显著升高 ( $P < 0.01$ ),SOD 活力极显著降低 ( $P < 0.01$ ),这也由于造模使小鼠肝脏受损后 MDA、CAT 和 GSH-Px 对外界反应较为敏感而升高明显,SOD 降低可能是由于小鼠肝脏受损伤后一定程度破坏了 SOD 酶的产生体系;VCFP 低剂量组治疗 28 d 后与模型组比较 MDA 含量成极显著降低 ( $P < 0.01$ ),GSH-Px 活力显著降低 ( $P < 0.05$ ),SOD 活力升高显著 ( $P < 0.05$ ),CAT 活力无显著降低 ( $P > 0.05$ )。VCFP 中剂量组治疗 28 d 后与模型组比较 MDA 含量成极显著降低 ( $P < 0.01$ ),CAT 活力和 GSH-Px 活力成显著降低 ( $P < 0.05$ ),SOD 活

力升高显著( $P>0.05$ ); VCFP 高剂量组治疗 28 d 后模型组比较 CAT 和 GSH-Px 活力降低极显著 ( $P<0.01$ ), MDA 含量显著升高, 而 SOD 活力显著降低 ( $P<0.05$ )。VCFP 低剂量组治疗 28 d 后与对照组比较, MDA 含量和 CAT 活力成极显著升高 ( $P<0.01$ ), SOD 和 GSH-Px 活力成显著升高 ( $P<0.05$ ); 多糖中剂量组治疗后 MDA 含量升高极显著 ( $P<0.01$ ), CAT 和 GSH-Px 活力显著升高 ( $P<0.05$ ), SOD 活力降低但不显著 ( $P>0.05$ ); VCFP

高剂量组治疗 28 d 后与对照组比较小鼠肝组织中 MDA 含量、CAT、SOD 和 GSH-Px 活力均已无显著差异 ( $P>0.05$ ), 这也说明由于 VCFP 不同剂量治疗小鼠后 SOD 酶的产生体系得到了很好的恢复, MDA 含量、CAT 和 GSH-Px 活力也到了有效调节和降低。这表明, VCFP 对急性酒精肝损伤小鼠肝组织具有很好地保护作用, 对维持小鼠体内的氧化还原平衡具有重要的意义。

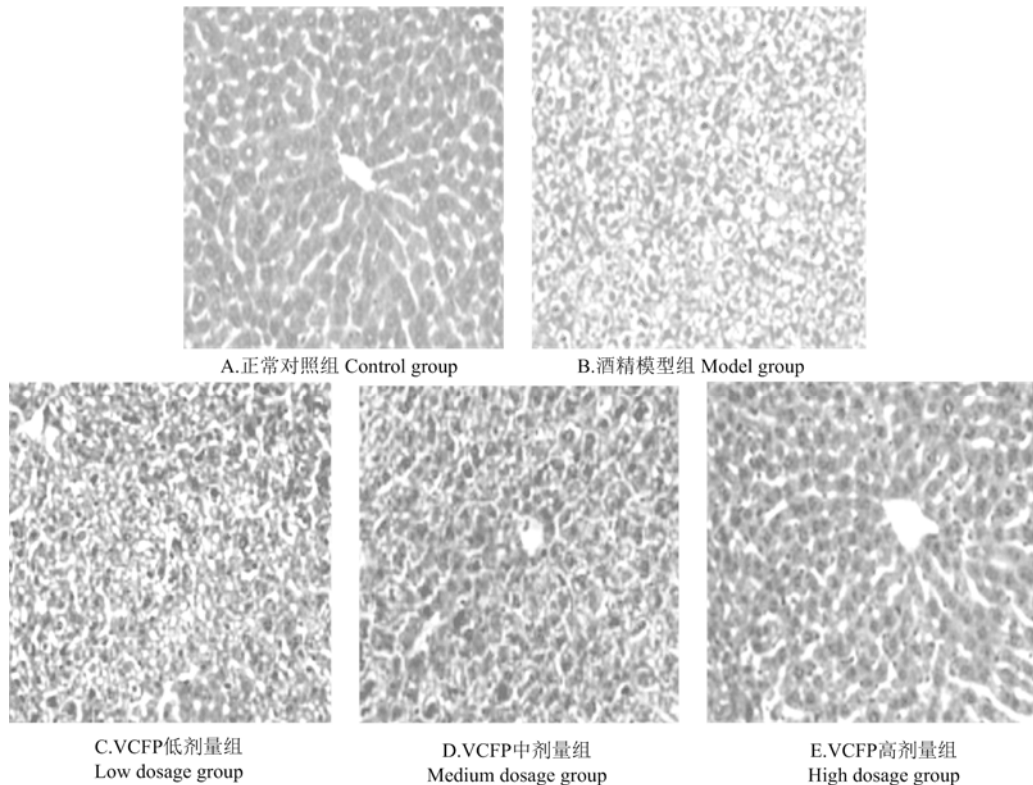


图 1 不同阶段小鼠肝脏组织的结构

Figure 1 The structure of mice liver tissue at different stages

#### 2.4 VCFP 对急性酒精肝损伤小鼠肝脏组织结构的影响

小鼠肝脏组织形态如图 1 所示, 正常对照组(图 1-A.HE 染色 $\times 400$ ) 在光镜下肝组织切片中肝小叶清晰可见, 中央静脉周围紧密有序的排列着放射状结构的肝细胞索和肝血窦; 酒精模型组(图 1-B.HE 染色 $\times 400$ ) 在光镜下表现出弥漫性酒精性肝损伤模型的典型特征, 肝细胞肿胀、脂肪变性、细胞内密布大小不一的脂肪颗粒、细胞核浓缩、肝细胞索和肝血窦紊乱不清甚至消失。VCFP 低中剂量组治疗 28 d 后肝脏组织损伤逐渐减轻, 肝小叶结构逐渐清晰, 细胞索、肝窦细胞逐渐恢复; VCFP 高剂量组治疗 28 d 后, 肝脏组织结构变化明显(图 1-C.HE

染色 $\times 400$ ), 组织可见中央静脉, 肝小叶结构清晰, 细胞索、肝窦及肝胞恢复正常。

### 3 结论

肝脏在机体内兼具代谢、生物合成、排泄、分泌与解毒等多方面的功能, 酒精主要在肝脏中代谢, 而过量饮酒会对肝脏产生损害, 近年来, 饮酒造成的酒精性肝损伤呈上升趋势<sup>[2]</sup>。酒精在肝脏的代谢叠加作用和脂肪代谢紊乱是导致肝损伤主要原因<sup>[4-5]</sup>。治疗酒精性肝损伤, 抗炎抗氧化作用体现出了独特的保护作用, 所以提高机体抗氧化系统清除自由基的能力, 纠正氧化和抗氧化系统失衡对酒精性肝损伤有重要的意义<sup>[6]</sup>。本研究探讨了 VCFP 对急性酒精性肝细胞损伤小鼠的保护机制, 通过连续灌胃 VCFP

治疗 28 d 后多糖均能显著提高小鼠体重、肝脏指数和 SOD 活力, 降低 ALT、AST、TC、TG 水平、MDA 含量、CAT 及 GSH-Px 活力, 肝组织逐渐得到明显修复。由于动物机体对外界不利环境刺激的调节是非常复杂的, 也有可能存在多种酶之间协同与拮抗作用而产生某一种酶活性变化较大, 所以本研究的结果与很多相似的文献结果不相同<sup>[6-13]</sup>, 但这也需要更进一步研究探寻其内在相互作用机制。

综上所述, 黄果槲寄生果实多糖在适当剂量下可提高急性酒精性肝细胞损伤小鼠抗氧化酶活性, 增强清除氧自由基的能力, 减轻膜脂质过氧化反应, 对肝细胞起到很好地修复作用。表明多糖对急性酒精性肝细胞损伤小鼠具有很好的保护作用。

### 参考文献:

- [1] 周恒, 李俊, 王华. 酒精性肝病动物模型研究进展[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(4): 468-472.
- [2] WANG F S, FAN J G, ZHANG Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China[J]. *Hepatology*, 2014, 60(6): 2099-2108.
- [3] 姚祯. 酒精性肝病的发病机制: 遗传学机制[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 20-21.
- [4] SARAVANAN N, NALINI N. Inhibitory effect of *Hemidesmus indicus* and its active principle 2-hydroxy 4-methoxy benzoic acid on ethanol-induced liver injury[J]. *Fund Clin Pharmacol*, 2007, 21(5): 507-514.
- [5] KANG L, CHEN X, SEBASTIAN B M, et al. Chronic ethanol and triglyceride turnover in white adipose tissue in rats inhibition of the anti-lipolytic action of insulin after chronic ethanol contributes to increased triglyceride degradation[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(39): 28465-28473.
- [6] 李伟, 王加志, 李健民, 等. 当归多糖对 Graves 病模型大鼠肝脏保护作用研究[J]. *中医药学报*, 2012, 40(5): 57-59.
- [7] BRANDON-WARNER E, SCHRUM L W, SCHMIDT C M, et al. Rodent models of alcoholic liver disease: of mice and men[J]. *Alcohol*, 2012, 46(8): 715-725.
- [8] SHUKLA S D, PRUETT S B, SZABO G, et al. Binge ethanol and liver: new molecular developments[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2013, 37(4): 550-557.
- [9] SETH D, HABER P S, SYN W K, et al. Pathogenesis of alcohol-induced liver disease: Classical concepts and recent advances[J]. *J Gastroen Hepatol*, 2011, 26(7): 1089-1105.
- [10] NASSIR F, IBDAH J A. Role of mitochondria in alcoholic liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(9): 2136-2142.
- [11] WILLIAMS J A, NI H M, DING Y, et al. Parkin regulates mitophagy and mitochondrial function to protect against alcohol-induced liver injury and steatosis in mice[J]. *Am J Physiol-Gastr L*, 2015, 309(5): G324-G340.
- [12] BERTOLA A, MATHEWS S, KI S H, et al. Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model)[J]. *Nat Protoc*, 2013, 8(3): 627-637.
- [13] WILLIAMS J A, NI H M, HAYNES A, et al. Chronic deletion and acute knockdown of Parkin have differential responses to acetaminophen-induced mitophagy and liver injury in mice[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(17): 10934-10946.
- [14] UENO A, LAZARO R, WANG P Y, et al. Mouse intragastric infusion (iG) model[J]. *Nat Protoc*, 2012, 7(4): 771-781.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 305-306.
- [16] 龚祝南, 王铮涛, 徐珞珊, 等. 中国桑寄生科 *Loranthaceae* 药用植物研究[J]. *中国野生植物资源*, 1996(1): 11-15.
- [17] 孙艳秋, 刘珂, 王守愚, 等. 槲寄生的研究进展[J]. *中草药*, 2000, 31(6): 471-474.
- [18] 王俊, 王国基, 颜辉, 等. 槲寄生的化学成分及药理作用研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2005, 16(4): 300-302.
- [19] 郑晓军, 李丽琴, 杜秀宝, 等. 白果槲寄生化学成分及药理活性[J]. *国外医药(植物药分册)*, 2001, 16(5): 196-199.
- [20] STEIN G M, EDLUND U, PFÜLLER U, et al. Influence of polysaccharides from *Viscum album* L. on human lymphocytes, monocytes and granulocytes in vitro[J]. *Anticancer Res*, 1998, 19(5B): 3907-3914.
- [21] 赵晓薇. ADA 与 ALT AST GGT 联合检测在肝脏疾病诊断中的意义[J]. *内蒙古医学杂志*, 2014, 46(11): 1357-1358.
- [22] YOU M, CONSIDINE R V, LEONE T C, et al. Role of adiponectin in the protective action of dietary saturated fat against alcoholic fatty liver in mice[J]. *Hepatology*, 2005, 42(3): 568-577.