

桑椹多糖对急慢性酒精中毒小鼠的护肝作用

尹爱武¹, 田润², 邓胜国³, 万新³, 刘芳玉³

(1. 湖南工程学院化学化工学院, 湖南湘潭 411104) (2. 湖南中医药高等专科学校, 湖南株洲 412012)

(3. 湖南科技学院化学与生物工程学院, 湖南永州 425199)

摘要: 探讨桑椹多糖对急慢性酒精中毒小鼠的护肝作用。给药4周后测定急性酒精中毒小鼠醉酒时间, 血中乙醇浓度, 肝功能酶, 肝中氧化酶、氧化产物和脂肪的分布。给药10周后测定慢性中毒小鼠的自发活动次数, 血清中脂质、载脂蛋白和肝中一氧化氮及细胞因子的含量。结果表明桑椹多糖(400和200 mg/kg bw)可显著缩短急性酒精中毒小鼠的醉酒睡眠与醒酒时间、血中乙醇浓度, 延长醉酒潜伏期, 减少肝中丙二醛和甘油三酯的含量与脂滴的分布, 增加肝中谷胱甘肽的含量与超氧化物歧化酶的活性, 减少血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、血清碱性磷酸酶及谷氨酰转氨酶的活性; 显著减少慢性酒精中毒小鼠的自发活动次数、血中胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白和肝中一氧化氮、肿瘤坏死因子 α 的含量, 增加血中高密度脂蛋白与肝中白细胞介素10的含量。桑椹多糖对急慢性酒精中毒小鼠的肝功能有保护作用。

关键词: 桑椹; 多糖; 抗氧化; 血脂

文章编号: 1673-9078(2016)12-13-19

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.12.003

Hepatoprotective Effects of *Fructus mori* Polysaccharide on Mice with Acute or Chronic Alcoholism

YIN Ai-wu¹, TIAN Run², DENG Sheng-guo³, WAN Xin³, LIU Fang-yu³

(1. Department of Chemistry Engineering, Hunan Institute of Engineering, Xiangtan 411104, China)

(2. Hunan Traditional Chinese Medical College, Zhuzhou 412012, China)

(3. Department of Life Science and Chemistry, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425199, China)

Abstract: In order to explore the hepatoprotective effects of *Fructus mori* Polysaccharide (FMP) on mice with acute and chronic alcoholism. Inebriation time, blood alcohol concentration, liver function enzymes, oxidase, oxidation products, and fat distribution in the liver were measured in mice with acute alcoholism after continuous FMP administration for 4 weeks. The number of spontaneous activities, serum lipids, apolipoproteins, nitric oxide (NO), and cytokine content in the liver were measured or observed in mice with chronic alcoholism after continuous FMP administration for 10 weeks. The results showed that high and moderate doses of FMP (400 and 200 mg/kg bw) significantly reduced inebriated sleep time, sobering time, and blood alcohol concentration, and significantly extended inebriation latency in mice with acute alcoholism. Malondialdehyde (MDA) and triglyceride (TG) contents and the distribution of lipid droplets in the liver were significantly decreased upon FMP administration at these doses. In addition, reduced glutathione (GSH) content and superoxide dismutase (SOD) activity were significantly increased, and the activity of alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), serum alkaline phosphatase (ALP) and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) in serum were significantly reduced. FMP significantly reduced spontaneous activity, the content of cholesterol (TC), TG, blood low-density lipoprotein (LDL), NO content, and tumor necrosis factor- α (TNF- α) level in livers of mice with chronic alcoholism. Serum high density lipoprotein (HDL) and interleukin-10 (IL-10) in the liver were significantly increased. *Fructus mori* polysaccharide had a significant hepatoprotective effect on mice with acute and chronic alcoholism.

Key words: *Fructus mori*; polysaccharide; antioxidants; blood lipids

收稿日期: 2015-08-05

基金项目: 湖南省重点学科建设项目资助(2011-76); 湖南省高校科技创新团队支持计划资助(2012-318); 湖南省教育厅项目资助(11C0973); 湖南中医药管理局项目资助(2013FJ3004)

作者简介: 尹爱武(1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然资源的开发与利用

长期过量饮酒会引起酒精性肝损伤, 初期常诱发脂肪肝, 进而发展成酒精性肝炎、肝纤维化和肝硬化, 最终导致肝功能衰减。酒精性肝病是西方发达国家肝硬化疾病最主要的原因。近年来酒精性肝病在我国的发病率有逐渐上升的趋势, 现已成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病。酒文化是我国社会文化的重要组成部分

部分, 过度饮酒已成为一个普遍的公共卫生问题, 由过度饮酒导致的人体伤害已引起社会广泛的关注。因此研究开发解酒护肝的解酒饮料或药物成为食品与医学领域的研究热点。目前有阿坎酸、纳曲酮和拖吡酯等西药用于酒精性肝病的治疗。

桑椹是桑科植物桑 (*Morus alba* L.) 的成熟果实, 其有白桑、黑桑与药桑三大类型。桑椹是一种药食同源的中药, 中医理论认为其能滋阴补血、生津和润肠的功效。本草纲目记载桑椹汁能解酒毒。我国栽桑养蚕业历史悠久, 桑椹资源非常丰富, 其产量居世界首位。近年研究表明, 桑椹有增强记忆、抗糖尿病与抗氧化等作用^[1-3]。桑椹中主要含有多糖与黄酮类生物活性物质。多糖是天然植物资源中重要的生物活性物质, 现代研究发现多糖有抗氧化、降血糖、护肝与抗辐射及解酒等多种生物活性^[4-8]。目前报道解酒的中药主要有葛根、葛花、枳椇子、人参和绿豆等。有文献报桑椹果饮有一定的防醉酒作用^[9], 但目前未见桑椹多糖解酒护肝作用的深入报道, 本研究建立急性酒精性肝损伤模型, 给药后观察小鼠醒酒时间、自发活动情况, 测定血清和肝组织中反应肝功能的生化指标的变化, 并观察肝组织的病理学变化, 以期探讨桑椹多糖的解酒护肝作用, 为开发新的解酒药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

桑椹为黑桑椹, 采于湖南永州。53°红星二锅头, 北京红星股份有限公司; 丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH)、超氧化物歧化酶 (SOD)、甘油三脂 (TG)、胆固醇 (TC)、一氧化氮 (NO)、高密度脂蛋白 (HDL) 及低密度脂蛋白 (LDL) 试剂盒, 南京建成生物工程研究所; 谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、血清碱性磷酸酶 (AKP) 及谷胺酰转移酶 (GGT) 测定试剂盒, 波音特生物科技 (上海) 有限公司; 肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1β (IL- 1β) 和白细胞介素 10 (IL-10) 试剂盒, 美国 R&D 公司。

1.2 动物

昆明种雄性小白鼠 200 只, 体重 19~22 g, 购于湖南斯莱克达实验动物有限公司, 合格证号: HNASLJ20143015。

1.3 仪器

Sartorius 电子天平; JJ-2 组织捣碎匀浆机, 常州国华电器有限公司; N-1000S-WA 旋转蒸发器, 日本

EYELA; TGL-16G 冷冻超速离心机, 上海安亭科学仪器厂; SP-1000 气相色谱仪, 北京北分瑞利仪器有限公司; CB 3201 数字描记式小动物活动测定仪, 中国川北电子工业公司。

1.4 方法

1.4.1 桑椹多糖的提取^[10]与测定

桑椹在 60 °C 下烘干, 粉碎过 40 目筛, 桑椹粉用石油醚脱脂, 凉干挥尽有机溶剂。脱脂后的桑椹粉加 7 倍质量的 90% 乙醇, 加热回流提取 2 h 除去单糖、黄酮及色素等成分, 过滤, 滤渣加 7 倍质量的饮用水加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并两次滤液。滤液减压浓缩至一定体积, 然后加入 1/4 体积的 Sevag 试剂 (氯仿: 正丁醇=4:1), 震荡 20 min, 静置分层, 多糖层继续用 Sevag 试剂重复处理 4 次至无蛋白质析出。多糖层然后加入 4 倍体积的 95% 乙醇, 充分搅拌, 置冰箱 (4 °C) 中静置过夜, 冷冻离心 (5000 r/min, 15 min), 收集沉淀, 用无水乙醇洗涤, 经冷冻干燥得桑椹多糖提取物。苯酚-硫酸法^[11]测定桑椹多糖提取物中多糖的质量分数为 89.6%。

1.4.2 急性酒精中毒试验

1.4.2.1 灌酒量的选择

昆明种小鼠 40 只随机分为 5 组, 每组 8 只。禁食 12 h 后, 各组分别灌胃 10、12、13、14 和 16 mL/kg·bw 53°红星二锅头。观察小鼠的醉酒表现, 记录小鼠的入睡数、醒酒数以及死亡数。试验表明, 12 mL/kg bw 的剂量下小鼠均出现醉酒症状 (步态不稳, 攀爬、翻正反射消失), 但未出现小鼠死亡。以此剂量作为小鼠急性酒精中毒试验的灌酒剂量。

1.4.2.2 动物的分组与给药

80 只昆明种小鼠随机分为空白组、模型组及桑椹多糖高、中和低剂量组, 每组 16 只。空白组和模型组灌胃生理盐水 (12 mL/kg·bw), 桑椹多糖高、中和低剂量组分别每天灌胃 400、200 和 100 mg/kg bw 的桑椹多糖。连续给药 4 周, 末次给药 30 min 后 (末次给药前小鼠禁食不禁水 12 h), 空白组灌胃 12 mL/kg bw 的生理盐水, 其余各组灌胃 12 mL/kg·bw 的 53°白酒。

1.4.2.3 血中乙醇浓度的测定

小鼠灌胃白酒 30、60、90、120、180 和 240 min 后, 从每组中交替取 8 只小鼠进行眼眶取血。采用气相色谱法测定小鼠血中乙醇浓度。

1.4.2.4 小鼠醉酒时间的测定

测定小鼠翻正反射消失的醉酒潜伏期 (小鼠背部向下保持 30 s 为翻正反射消失)、睡眠时间 (翻正反射消失至翻正反射恢复) 及小鼠活动自如的醒酒时间

(从灌酒至翻正反射恢复)。

1.4.2.5 肝与血中肝功能指标的测定

小鼠末次给药后,禁食 12 h 后,眼眶后静脉丛采血,分离血清,处死动物,取肝脏,加入 9 倍质量的冷生理盐水,制成 10%的肝组织匀浆,4 °C 下离心 15 min (3000 r/min),取上清液,按试剂盒方法测定肝脏中 MDA、GSH 和 TG 的含量、SOD 的活性及血清中 ALT、AST、AKP 和 GGT 等反应肝功能的指标。

1.4.2.6 急肝损伤病理学检查

取小鼠左叶肝脏,用 4%多聚甲醛固定,PBS 液冲洗,置冷冻保护液中保存(-20 °C),病检前一天用 30%蔗糖沉底脱水。从肝左叶中部取材,冰冻切片,用苏丹 III 染色。镜检观察脂滴在肝脏中的分布范围和面积,评价肝脏的脂肪变性。含脂滴的肝细胞稀少计为 0 分;含脂滴的肝细胞不超过 1/4、1/2 和 3/4 分别计为 1、2 和 3 分;含脂滴的肝细胞超过 3/4 计为 4 分。

1.4.3 慢性酒精中毒试验

1.4.3.1 动物分组与给药

80 只昆明种小鼠随机分为 5 组,分组与给药剂量同急性酒精中毒试验。试验期间空白组每日灌胃生理盐水(12 mL/kg·bw)。其余各组于第 1、2 和 3 周内分别灌胃 2.2、2.6 和 3.0 mL/kg·bw 的 53°白酒,第 4 周起灌胃 3.2 mL/kg·bw 的 53°白酒。从灌胃白酒第 1 d 起,给予小鼠桑椹多糖,连续灌胃 10 周。末次给药 30 min 后,测定小鼠 10 min 内自发活动的次数。

1.4.3.2 血清中脂质和载脂蛋白含量的测定

末次给药后,小鼠禁食不限水 12 h,摘眼球取血,断头处死小鼠。分离血清,用自动生化仪测定血清中

TG、TC、HDL-C 及 LDL-C 水平。

1.4.3.3 肝中一氧化氮及细胞因子含量的测定

取肝脏,按“1.4.2.5”项制备肝均浆,低温离心后分离上清液,按试剂盒方法测定 NO, TNF- α 、IL-1 β 和 IL-10 水平。

1.4.4 数据处理

数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,用 SPSS 17.0 软件统计分析,组间差异用 *t* 检验, $p<0.01$ 为有极显著性差异, $p<0.05$ 为有显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 桑椹多糖对血中乙醇浓度的影响

急性酒精中毒小鼠血中乙醇浓度见表 1,灌胃白酒 120 min 后血中乙醇浓度达到峰值。与模型组比较,桑椹多糖高和中剂量组(400, 200 mg/kg·bw)各时间点血中乙醇浓度均显著降低($p<0.01$ 或 $p<0.05$)。在各时间点高剂量组血中乙醇浓度显著小于中剂量组血中乙醇浓度($p<0.01$ 或 $p<0.05$)。在灌胃白酒 30、60、90、120、180 和 240 min 后,桑椹多糖高剂量组小鼠血乙醇浓度分别为模型组的 73.02%、71.13%、62.66%、71.98%、67.82%和 66.95%;中剂量组分别为模型组的 86.26%、85.48%、79.54%、82.62%、84.41%和 83.61%。高剂量组分别为中剂量组的 84.65%、83.22%、78.78%、85.44%、80.35%和 80.08%。结果表明,桑椹多糖能降低血中乙醇浓度,其可能的机制是抑制胃肠道对乙醇的吸收或加速体内乙醇的分解。

表 1 不同时间小鼠血乙醇浓度(n=8, $\bar{x}\pm s$)

Table 1 Serum alcohol content at different time points (n=8, $\bar{x}\pm s$)

组别	乙醇浓度/(mg/dL)					
	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min
模型组	344.73 \pm 34.15	386.14 \pm 54.39	512.06 \pm 68.49	552.36 \pm 76.51	520.62 \pm 65.18	461.05 \pm 46.84
高剂量组	251.73 \pm 22.16 ^a	274.68 \pm 34.82 ^a	320.84 \pm 45.67 ^a	397.62 \pm 57.38 ^a	353.09 \pm 36.79 ^a	308.68 \pm 34.55 ^a
中剂量组	297.36 \pm 26.87 ^{ac}	330.07 \pm 46.95 ^{bd}	407.28 \pm 57.81 ^{ac}	465.37 \pm 68.04 ^{bd}	439.45 \pm 51.37 ^{bc}	385.47 \pm 47.43 ^{ac}
低剂量组	339.67 \pm 31.82 ^c	370.98 \pm 57.51 ^c	505.39 \pm 64.76 ^c	541.15 \pm 78.95 ^c	507.64 \pm 63.56 ^c	453.12 \pm 44.85 ^c

注:与模型组相比a, $p<0.01$; b, $p<0.05$; 与高剂量组相比c, $p<0.01$; d, $p<0.05$; 以下各表同。

表 2 桑椹多糖对醉酒时间的影响(n=16, $\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effect of FMP administration on inebriation time (n=16,

$\bar{x}\pm s$)

组别	醉酒潜伏期/min	睡眠时间/min	醒酒时间/min
模型组	12.47 \pm 8.14	458.62 \pm 60.18	471.31 \pm 69.93
高剂量组	29.32 \pm 14.57 ^a	267.45 \pm 47.39 ^a	296.12 \pm 77.52 ^a
中剂量组	20.54 \pm 12.83 ^b	389.96 \pm 58.71 ^{ac}	410.07 \pm 56.19 ^{bc}
低剂量组	13.75 \pm 8.66 ^c	447.39 \pm 57.05 ^c	461.07 \pm 64.87 ^{ac}

2.2 桑椹多糖对醉酒时间的影响

桑椹多糖对小鼠醉酒时间的影响见表 2。与模型组相比,桑椹多糖高和中剂量组小鼠的睡眠时间及醒酒时间均显著减少($p<0.01$ 或 $p<0.05$),但醉酒潜伏期显著延长。桑椹多糖高和中剂量组之间比较,高剂量组小鼠的睡眠时间和醒酒时间均显著减少($p<0.01$)。与模型组比较,高和中剂量组小鼠的醉酒

潜伏分别为模型组的 2.35 和 1.65 倍, 睡眠时间分别为模型组的 58.32% 和 85.03%, 醒酒时间分别为模型组的 62.83% 和 87.01%。高剂量组小鼠睡眠时间与醒酒时间分别为中剂量组的 68.58% 和 72.21%。结果表明, 桑椹多糖有显著的醒酒作用。

2.3 桑椹多糖对肝脏中 MDA、GSH、TG 和 SOD 的影响

酒精经肠道吸收后约 90% 在肝脏经乙醇脱氢酶和非乙醇脱氢酶系统代谢产生乙醛并伴有大量自由基的生成。

SOD 与 GSH 是机体中抗氧化系统的重要组成部分, 能清除体内自由基, 从防而止自由基对机体的损伤。乙醛与 GSH 的巯基结合, 使 GSH 水平进一步下降, 从而减弱机体的内源性抗氧化能力。MDA 为脂质过氧化反应的终产物, 当肝脏所受的损伤越严重时, 肝脏内的 MDA 含量越高。故可通过测定肝组织匀浆中的 SOD、GSH 和 MAD 的变化, 以评价桑椹多糖的护

肝作用。桑椹多糖对乙醇中毒小鼠肝脏中 MDA、TG 和 GSH 的含量, SOD 活性的影响见表 3。与模型组相比, 空白组、桑椹多糖高、中剂量组 MDA 和 TG 的含量显著减少 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$), 但 GSH 的含量与 SOD 的活性却显著的增加 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$)。高剂量组小鼠肝脏 MDA 和 TG 含量分别为模型组的 42.15% 和 54.25%, GSH 含量和 SOD 活性分别为模型组的 1.62 和 1.39 倍。中剂量组小鼠肝脏 MDA 和 TG 含量分别为模型组的 68.48% 和 69.22%, GSH 含量和 SOD 活性分别为模型组的 1.24 和 1.18 倍。桑椹多糖高和中剂量组间 MDA、GSH 和 TG 的含量与 SOD 的活性亦有显著性差异 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$)。高剂量组小鼠肝脏 MDA 和 TG 含量分别为中剂量组的 61.55% 和 78.38%, GSH 含量和 SOD 活性分别为中剂量组的 1.31 和 1.18 倍。高剂量下肝脏中 MDA 和 TG 的含量越小, GSH 的含量越大, SOD 的活性越强。高剂量组与空白组之间 MDA 和 TG 的含量与 SOD 活性无统计学差异, 但高剂量组中 GSH 含量要显著低于空白组 ($p < 0.01$)。

表 3 肝脏中 MDA、GSH、TG 含量及 SOD 活性 ($n=16, \bar{x} \pm s$)

Table 3 MDA, GSH, and TG content and SOD activity in liver ($n=16, \bar{x} \pm s$)

组别	MDA/($\times 10^{-2}$ nmol/g)	GSH/(μ mol/g)	TG/(μ mol/g)	SOD/(U/mg)
空白组	6.23 \pm 1.24 ^a	11.57 \pm 0.76 ^{ac}	16.45 \pm 2.57 ^a	360.73 \pm 83.12 ^a
模型组	16.75 \pm 7.49	6.03 \pm 0.54	36.81 \pm 9.46	228.31 \pm 39.04
高剂量组	7.06 \pm 5.36 ^a	9.78 \pm 0.71 ^a	19.97 \pm 6.82 ^a	318.71 \pm 67.19 ^a
中剂量组	11.47 \pm 6.73 ^{bd}	7.48 \pm 0.66 ^{ac}	25.48 \pm 6.19 ^{ad}	269.63 \pm 48.05 ^{bd}
低剂量组	15.84 \pm 7.01 ^c	6.25 \pm 0.59 ^c	33.43 \pm 7.01 ^c	240.54 \pm 40.96 ^c

表 4 血清中 ALT、AST、AKP 及 GGT 活性 ($n=16, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Serum activity of ALT, AST, AKP, and GGT ($n=16, \bar{x} \pm s$)

组别	ALT/(IU/L)	AST/(IU/L)	AKP/(IU/L)	GGT/(IU/L)
空白组	93.54 \pm 7.12 ^{ac}	23.01 \pm 6.88 ^{ac}	110.76 \pm 33.91 ^a	3.99 \pm 2.76 ^a
模型组	149.75 \pm 7.93	78.53 \pm 7.14	184.63 \pm 40.65	11.46 \pm 4.07
高剂量组	117.81 \pm 6.05 ^a	54.26 \pm 6.97 ^a	120.37 \pm 35.18 ^a	6.13 \pm 3.85 ^a
中剂量组	130.69 \pm 6.81 ^{ac}	55.72 \pm 6.55 ^a	160.21 \pm 37.32 ^c	7.09 \pm 3.56 ^a
低剂量组	143.08 \pm 7.66 ^c	56.01 \pm 6.32 ^a	179.40 \pm 41.87 ^c	9.27 \pm 4.15 ^d

2.4 桑椹多糖对血清 ALT、AST、AKP 及 GGT 的影响

桑椹多糖对乙醇中毒小鼠血清 ALT、AST、AKP 及 GGT 等肝功能酶的影响见表 4。血清中 ALT、AST、AKP 及 GGT 酶是医学临床上常用评价肝功能的指标, 肝细胞遭到大量破坏时, 血清中 ALT、AST、AKP 及 GGT 活性将会大幅度增强。与空白组相比, 模型组 ALT、AST、AKP 及 GGT 的活性显著增强 ($p < 0.01$),

表明小鼠肝脏受到损伤。与模型组相比, 桑椹多糖高与中剂量组小鼠血清 ALT、AST 及 GGT 等肝功能酶活性显著降低 ($p < 0.01$), 在高剂量组中 AKP 活性也显著降低 ($p < 0.01$)。高剂量组小鼠血清 ALT、AST、AKP、GGT 的活性分别为模型组的 78.67%、69.09%、65.19% 和 53.49%。中剂量组小鼠血清 ALT、AST 和 GGT 的活性分别为模型组的 87.27%、70.95% 和 61.87%。高剂量组 ALT 和 AKP 的活性显著低于中剂量组 ($p < 0.01$)。高剂量组 ALT 和 AKP 的活性分别为中剂量组的 90.14% 和 75.13%。与空白组相比, 高剂量组

ALT 和 AST 活性显著增强 ($p<0.01$), 但两组间 AKP 与 GGT 活性无统计学差异。结果表明, 桑椹多糖可降低血中 ALT、AST 及 GGT 等肝功能酶。

2.5 桑椹多糖对乙醇所致肝病理性损伤的影响

表 5 小鼠肝脏病理学结果 (只)

Table 5 Mouse liver pathology results (number of mice)

组别	含脂滴肝细胞				
	0分	1分	2分	3分	4分
空白组	16	0	0	0	0
模型组	0	0	0	2	14
高剂量组	12	4	0	0	0
中剂量组	7	6	3	0	0
低剂量组	0	0	3	3	12

桑椹多糖对乙醇所致小鼠急性肝脏损伤保护作用结果见表 5。模型组中有 14 只小鼠肝脏组织中有大量的红色脂滴(4 分, 含脂滴的肝细胞超过 3/4), 有 2 只小鼠肝脏中含脂滴的肝细胞数大于 1/2 (小于 3/4)。

表 6 小鼠自发活动次数 ($n=16, x \pm s$)

Table 6 Number of spontaneous liver activities ($n=16, x \pm s$)

	空白组	模型组	高剂量组	中剂量组	低剂量组
自发活动次数	706.3±58.9 ^{ac}	984.6±86.1	864.9±64.6 ^a	917.5±69.7 ^{bd}	953.7±74.8 ^c

表 7 血清中脂质及载脂蛋白的含量 ($n=16, x \pm s$)

Table 7 Serum lipid and apolipoprotein content ($n=16, x \pm s$)

组别	TG/(mmol/L)	TC/(mmol/L)	LDL/(mmol/L)	HDL/(mmol/L)
空白组	1.02±0.24 ^{ad}	4.40±0.98 ^b	0.11±0.03 ^{ac}	2.65±0.18 ^{ad}
模型组	1.64±0.35	5.28±1.19	0.26±0.11	2.37±0.12
高剂量组	1.26±0.30 ^a	4.43±1.07 ^b	0.14±0.03 ^a	2.54±0.11 ^a
中剂量组	1.38±0.29 ^b	4.77±1.15	0.19±0.04 ^{bc}	2.47±0.13 ^b
低剂量组	1.57±0.33 ^c	5.13±1.06	0.21±0.04 ^c	2.41±0.17 ^d

2.7 桑椹多糖对血清中脂质和载脂蛋白的影响

桑椹多糖对血中脂质和载脂蛋白的影响见表 7。与模型组比较, 高和中剂量组中 TG 与 LDL 含量显著降低 ($p<0.01$ 或 $p<0.05$), HDL 含量显著增加 ($p<0.01$ 或 $p<0.05$), 高剂量组中 TC 含量亦显著降低 ($p<0.05$)。高剂量组小鼠血清中 TG、TC 和 LDL 含量分别为模型组的 76.83%、83.90%和 53.85%, 但血清中 HDL 含量是模型组的 1.07 倍。中剂量组小鼠血清中 TG 和 LDL 含量分别为模型组的 84.15%和 73.07%。高剂量组中小鼠血清 LDL 含量显著低于中剂量组 ($p<0.01$),

低剂量组肝脏中脂滴分布与模型组相近。随多糖给药剂量的增加, 肝脏中含脂滴的肝细胞明显减少, 高剂量组中有 12 只小鼠肝细胞内脂滴稀少, 仅 4 只小鼠肝细胞有脂滴, 但不超过 1/4 肝细胞有脂滴。

2.6 桑椹多糖对慢性酒精中毒小鼠自发活动的影响

桑椹多糖对慢性酒精中毒小鼠自发活动的影响见表 6。高和中剂量组小鼠自发活动次数显著少于模型组小鼠自发活动次数 ($p<0.01$ 或 $p<0.05$), 高剂量组小鼠自发活动次数显著少于中剂量组小鼠自发活动次数 ($p<0.05$)。

高和中剂量组小鼠 10 分钟内自发活动次数分别为模型组的 87.84%、93.18%, 高剂量组小鼠自发活动次数为中剂量组的 94.27%。表明桑椹多糖对酒精性中毒的兴奋状态有一定的抑制作用, 其镇静作用与给药剂量有关, 但高剂组小鼠自发活动次数仍大于空白组小鼠自发活动的次数 ($p<0.01$)。

其含量为中剂量组的 73.68%。空白组与高剂量组间 TG、LDL 和 HDL 含量有显著差异, 高剂量组间 TG ($p<0.05$)、LDL 含量显著增加 ($p<0.01$) 以及 HDL 含量显著降低 ($p<0.05$)。脂蛋白是脂质在血液中存在和转运的载体。HDL 由肝脏合成并分泌至血液, 能将肝外组织中的胆固醇转运到肝脏进行代谢, 从而有助于降低血中胆固醇含量。LDL 将脂质运输到全身各处细胞。结果表明, 桑椹多糖对酒精所致的肝细胞损伤有保护作用。

2.8 桑椹多糖对肝中一氧化氮及细胞因子含量的影响

表 8 肝中 NO 及细胞因子的含量 (n=16, $\bar{x} \pm s$)Table 8 NO and cytokine content in liver (n=16, $\bar{x} \pm s$)

组别	NO/(nmol/mg)	TNF- α /(pg/mg)	IL-10/(pg/mg)	IL-1 β /(pg/mg)
空白组	0.28 \pm 0.04 ^{ac}	46.37 \pm 1.26 ^{ac}	76.34 \pm 3.65 ^{ac}	14.69 \pm 0.76
模型组	0.43 \pm 0.03	55.48 \pm 1.43	55.72 \pm 3.07	15.12 \pm 0.53
高剂量组	0.34 \pm 0.05 ^a	50.39 \pm 1.27 ^a	69.83 \pm 3.94 ^a	14.76 \pm 0.89
中剂量组	0.40 \pm 0.04 ^{bc}	53.24 \pm 1.31 ^{ac}	61.44 \pm 3.86 ^{ac}	14.88 \pm 0.57
低剂量组	0.41 \pm 0.03 ^c	54.61 \pm 1.08 ^c	56.68 \pm 3.34 ^c	14.97 \pm 0.65

酒精代谢产生的促炎因子可激活肝 Kupffer 细胞中 NF- κ B 途径并促进促炎因子的表达,从而诱导大量的 NO 和 TNF- α 等炎性因子的产生,在炎性因子的介导下诱发肝脏炎症,长期炎症刺激下肝的功能受到损伤。桑椹多糖对肝中 NO 与细胞因子的影响见表 8。与模型组比较,高和中剂量组 NO 与 TNF- α 的含量显著减少 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$), IL-10 含量显著增加 ($p < 0.01$)。高剂量组 NO 和 TNF- α 的含量分别为模型组的 79.07% 和 90.82%, IL-10 含量是模型组的 1.25 倍。中剂量组 NO 和 TNF- α 的含量分别为模型组的 93.02% 和 95.96%, IL-10 含量是模型组的 1.10 倍。与中剂量组比较,高剂量组 NO 和 TNF- α 的含量显著减少 ($p < 0.01$), IL-10 含量显著增加 ($p < 0.01$)。高剂量组 NO 与 TNF- α 的含量分别为中剂量组的 85.00% 和 94.65%, IL-10 含量是中剂量组的 1.14 倍。慢性酒精中毒小鼠肝中 IL-1 β 含量没有变化。IL-10 为抑炎因子,可抑制前炎细胞因子的产生。结果表明,桑椹多糖提高抑炎因 IL-10 的含量,降低炎症因子 NO 和 TNF- α 水平,从而增强抑炎作用,抑制炎症反应对肝脏造成的损伤。

3 结论

氧化应激是酒精性肝损伤的一个重要因素。持续大量的摄入酒精,导致抗氧化酶与非酶类抗氧化物质的大量消耗。肝细胞内氧化还原平衡状态的破坏,还可使脂肪酸氧化减弱和导致三羧酸循环障碍而影响脂肪代谢。酒精及其代谢产物可增加甘油三酯的合成,阻碍脂肪氧化,减少载脂蛋白的合成与分泌,降低肝脏转运脂肪的能力从而引起肝细胞内脂肪的沉积及高脂血症^[12]。桑椹多糖可减少肝组织中 GSH 的消耗,增加 SOD 等抗氧化酶的活性,减少脂质过氧化,进而抑制氧化应激的产生,减少肝细胞内肝功能酶的释放。酒精性肝损伤中产生的大量促炎因子与炎性因子使肝细胞发生广泛的损伤。研究发现,酒精可诱导 NF- κ B 及其他转录因子的磷酸化和核转位,促进细胞因子的基因转录,从而增加 TNF- α 和 NO 的水平^[13,14]。本文探究桑椹多糖对急慢性酒精中毒的护肝作用,结

果显示桑椹多糖具有显著的护肝作用,其机制可能与桑椹多糖提高机体的抗氧化能力,促进抑炎因子以及抑制促炎因子的表达从而抑炎症反应所诱导的肝脏损伤有关。桑椹多糖可用于解酒护肝保健食品或药品的开发。

参考文献

- [1] Kim H G, Oh M S. Memory-enhancing effect of *Mori Fructus* via induction of nerve growth factor [J]. Br. J. Nutr., 2013, 110(1): 86-94
- [2] Kim J H, Chung H S, Kang M, et al. Anti-diabetic effect of standardized herbal formula PM021 consisting of *Mori Folium* and *Aurantii Fructus* on type II diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats [J]. Diabetes Res. Clin. Pract., 2011, 93(2): 198-204
- [3] Deng Q, Zhou X, Chen H. Optimization of enzyme assisted extraction of *Fructus Mori* polysaccharides and its activities on antioxidant and alcohol dehydrogenase [J]. Carbohydr. Polym. 2014, 111: 775-782
- [4] Yuan Q X, Xie Y F, Wang W, et al. Extraction optimization, characterization and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharides from mulberry (*Morus alba* L.) leaves [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 128(5): 52-62
- [5] Gao J, Han Y L, Jin Z Y, et al. Protective effect of polysaccharides from *Opuntia dillenii* Haw. fruits on streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 124(25): 25-34
- [6] 张惠芳,周瑜珍,陈嘉璐,等.酸枣多糖对小鼠 CCl₄ 急性肝损伤的作用[J].现代食品科技,2014,30(9):33-38
ZHANG Hui-fang, ZHOU Yu-zhen, CHEN Jia-lu, et al. Effect of polysaccharides from wild jujube on acute liver injury induced by CCl₄ in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(9): 33-38
- [7] Li X Y, Wang L, Wang Z Y. Radioprotective activity of neutral polysaccharides isolated from the fruiting bodies of *Hohenbuehelia serotina* [J]. Physica Medica, 2015, 31(4): 352-359

- [8] 叶青,汪何雅,钱和.芦荟粗多糖和芦荟苷对急性酒精中毒小鼠的解酒作用[J].食品工业科技,2012,33(13):355-358
YE Qing, WANG He-ya, QIAN He. Protective effects of crude aloe polysaccharides and aloin on mice with acute liver injury induced by alcohol [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(13): 355-358
- [9] 高丽辉,刘率男,刘泉,等.桑椹果饮解酒作用的试验研究[J].食品与机械,2010,26(1):83-85
GAO Li-hui, LIU Shuai-nan, LIU Quan, et al. The ameliorative effects of mulberry nectar on alcoholism [J]. Food & Machinery, 2010, 26(1): 83-85
- [10] 张文娜,陆敏,姚清国,等.桑椹多糖的抗氧化活性研究[J].安徽农业科学,2012,40(1):156-157,173
ZHANG Wen-na, LU Min, YAO Qing-guo, et al. Study on the antioxidative activity of polysaccharides from fructus mor [J]. Journal of Agricultural Science, 2012, 40(1): 156-157, 173
- [11] Masuko T, Minami A, Iwasaki N, et al. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format [J]. Analytical Biochemistry, 2005, 339(1): 69-72
- [12] Lee I S, Park S, Park K, et al. Hepatoprotective activity of scutellariae radix extract in mice fed a high fat diet with chronic alcohol exposure [J]. Phytotherapy Research, 2011, 25(9): 1348-1353
- [13] Kunar K J, Chu F H, Hsieh H W, et al. Antroquinonol form ethanolic extract of mycelium of antrodia cinnamomea protects hepatic cells from ethanol-induced oxidative stress through Nrf-2 activation [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 136(1): 168-177
- [14] Yoo Y M, Jung E M, Kang H Y, et al. The sap of acer okamotoanum decreases serum alcohol levels after acute ethanol ingestion in rats [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2011, 28(4): 489-495