

桦褐孔菌多糖对急性酒精性肝损伤模型大鼠的保护作用研究^Δ

陈辉^{1*}, 钟秀宏^{2#}, 杨森林¹, 刘燕秀¹, 彭顺利¹, 白杨¹, 张琪¹, 张欣¹(1.吉林医药学院临床医学院, 吉林吉林 132013; 2.吉林医药学院病理学教研室, 吉林吉林 132013)

中图分类号 R285;R961 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2510-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.05

摘要 目的:研究桦褐孔菌多糖对急性酒精性肝损伤模型大鼠的保护作用。方法:连续灌胃白酒(20 ml/kg)9 d以复制大鼠急性酒精性肝损伤模型。健康雄性Wistar大鼠48只随机均分为空白对照(等容生理盐水)、模型(等容生理盐水)、海王金樽(270 mg/kg)与桦褐孔菌多糖高、中、低剂量(600、400、200 mg/kg)组,灌胃白酒1 h后灌胃给药,每天1次,连续9 d。末次给药后,取大鼠血液,检测血清天冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT);取肝组织,HE染色后进行病理形态学检查。结果:与空白对照组比较,模型组大鼠血清AST、ALT活性显著增强($P<0.01$);与模型组比较,桦褐孔菌多糖高、中、低剂量组大鼠血清AST、ALT活性显著减弱($P<0.01$)。与模型组比较,桦褐孔菌多糖高、中、低剂量组大鼠肝脏变性、炎症坏死均有所减轻。结论:桦褐孔菌多糖具有良好的解酒、护肝作用。

关键词 桦褐孔菌多糖;急性酒精性肝损伤;病理检查;肝功能

Study on Protective Effect of *Inonotus obliquus* Polysaccharide on Acute Alcoholic Hepatic Injury Model Rats
CHEN Hui¹, ZHONG Xiu-hong², YANG Sen-lin¹, LIU Yan-xiu¹, PENG Shun-li¹, BAI Yang¹, ZHANG Qi¹, ZHANG Xin¹(1.School of Clinical Medicine, Jilin Medical College, Jilin Jilin 132013, China; 2.Dept. of Pathology, Jilin Medical College, Jilin Jilin 132013, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the protective effects of *Inonotus obliquus* polysaccharide on alcoholic hepatic injury in rats. METHODS: Acute alcoholic model of rats were induced by i.g. administration of white spirit. 48 health male Wistar rats were randomized into blank control group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), Haiwang jinzun group (270 mg/kg) and *I. obliquus* polysaccharide high-dose, medium-dose and low-dose groups (600, 400, 200 mg/kg). 1 h after, they were given relevant medicine intragastrically once a day for consecutive 9 days. After last administration, the blood samples of rats were collected to measure AST and ALT, and then hepatic tissue of rats were collected to conduct HE staining and pathological examination. RESULTS: Compared with blank control group, the activities of AST and ALT increased significantly in model group ($P<0.01$); compared with model group, the activities of AST and ALT decreased significantly in *I. obliquus* polysaccharide high-dose, medium-dose and low-dose groups ($P<0.01$). Hepatic degeneration and inflammatory necrosis both were relieved in *I. obliquus* polysaccharide high-dose, medium-dose and low-dose groups. CONCLUSIONS: *I. obliquus* polysaccharide shows good anti-inebriation and liver-protective effects.

KEY WORDS *Inonotus obliquus* polysaccharide; Acute alcohol-induced hepatic injury; Pathological examination; Hepatic function

lactic reactions[J]. *Am J Chin Med*, 2001, 29(2):293.

[6] 钟恒亮,王荔萍,陈力.益智仁口服液镇静催眠作用实验研究[J].贵阳医学院学报,2002,27(2):132.

[7] Fisher A, Pittel Z, Haring R, et al. M1 muscarinic agonists can modulate some of the hallmarks in Alzheimer's disease: implications in future therapy[J]. *J Mol Neurosci*, 2003, 20(3):349.

[8] Palmer AM. Cholinergic therapies for Alzheimer's disease: progress and prospects[J]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2003, 4(7):820.

[9] Giacobini E. Cholinergic function and Alzheimer's disease [J]. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2003, 18(Suppl 1):S1.

[10] 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2010:681.

[11] 周丽莎,朱书秀,望庐山.核桃仁提取物对老年痴呆模型大鼠Ach、ChAT及AchE活性的影响[J].中国医院药学杂志,2011,31(6):446.

[12] 吕秀香,张连学.益智仁化学成分及药理作用研究进展[J].吉林农业,2011(4):310.

[13] 周家驹,谢桂荣,严新建.中药原植物化学成分集[M].北京:科学出版社,2009:2988.

[14] 石桂芳.益智仁中神经保护成分的分离及活性研究[D].大连:大连理工大学,2006.

[15] 任晓辉,王伟.胆碱酯酶抑制剂药石杉碱甲的药理作用及临床应用研究进展[J].中国药房,2005,16(16):1266.

(收稿日期:2012-11-20 修回日期:2013-01-04)

Δ 基金项目:吉林医药学院大学生科研基金资助课题(No.吉医药科学[2010]第3号)
* 本科。研究方向:抗肝损伤的中药保护。E-mail:CHkeyan@126.com
通信作者:副教授,硕士。研究方向:抗肿瘤、抗肝损伤的病理学。电话:0432-64560466。E-mail:xhzhong0416@yahoo.com.cn

桦褐孔菌 *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat 属于真菌门、担子菌亚门、层菌纲、非褐菌目、多孔菌科、褐卧孔菌属^[1]。大量研究发现,桦褐孔菌具有多种药理效应,如抑制肿瘤生长、抗氧化、抗炎、调血脂、调节免疫等作用^[2]。因桦褐孔菌十分珍贵,美国也把它列为“特殊天然物”作为航天人员的未来饮品。近年来,桦褐孔菌营养价值和药用价值正被国内外学者重视。

世界卫生组织在一份报告中提出:“酒精中毒是当今世界第一公害,其毒性可累及全身主要脏器,其中对肝脏的影响最大。在西方国家,酒精中毒是80%肝硬化变的原因,对病毒性肝炎、肝癌的发生、发展和预后都有重要的影响。”目前国内有研究报道,桦褐孔菌对 CCl₄ 引起的急性肝损伤和二乙基亚硝胺引起的亚急性肝损伤均有保护作用^[3-5]。但其对酒精性肝损伤是否有保护作用尚无报道。因此,本研究通过复制急性酒精性肝损伤大鼠模型,运用形态学和生化检测等手段观察桦褐孔菌多糖对急性酒精性肝损伤大鼠的保护作用,以期为广大人群提供新型保健饮品。

1 材料

1.1 仪器

BA300 型数码生物显微镜(中国麦克奥迪实业集团有限公司);RM2126 型轮转式切片机(上海徕卡仪器有限公司);ZMN-7803 型全自动组织包埋机(常州市华利电子有限公司);TD5A 型台式低速离心机(湖南凯达科学仪器有限公司);AG135 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司);SelectraXL 型全自动生化分析仪(荷兰威图仪器有限公司)。

1.2 真菌

桦褐孔菌产自吉林省长白山,由河南大学药学院赵芬琴讲师鉴定为担子菌亚门、多孔菌科桦褐孔菌。

1.3 药品与试剂

海王金樽片(深圳海王健康科技发展有限公司,批号:20110603);56°北京红星二锅头白酒(北京红星股份有限公司,批号:20110612);天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(潍坊三维生物工程公司);其余试剂均为国产分析纯。

1.4 动物

健康 Wistar 大鼠 48 只,♂,体质量 180~200 g,由吉林大学动物实验中心提供[动物使用许可证号:SCXK(吉)2008-0005]。

2 方法

2.1 桦褐孔菌多糖的制备

取桦褐孔菌干燥子实体的粗粉,用95%乙醇回流提取,提取液减压回收溶剂,得乙醇提取物。对上述乙醇提取物加水煎煮提取,得水提取液。浓缩,加乙醇至含乙醇体积分数为80%,静置,抽滤,得粗多糖。反复乙醇沉淀后将沉淀物用丙酮洗涤3次,抽滤,得精制多糖。

2.2 复制模型与分组、给药

大鼠禁食不禁水6h后,ig 56°白酒(20 ml/kg),每天1次,连续9d,以复制急性酒精性肝损伤模型^[6]。实验分为6组,即空白对照(等容生理盐水)、模型(等容生理盐水)、海王金樽(270 mg/kg)与桦褐孔菌多糖高、中、低剂量(600、400、200 mg/kg)组。ig 白酒1h后继续ig 给药,每天1次,连续9d。全部大

鼠末次给药禁食不禁水16h后采集血液样品,然后处死大鼠,取肝组织进行检查。

2.3 肝组织病理学观察

取肝脏右叶固定,石蜡包埋,切片,HE染色,镜检,进行肝组织病理形态学观察。根据肝损伤程度分为4级^[7]:-表示基本正常;+表示肝细胞损伤轻,无明显坏死和炎细胞浸润;++表示肝细胞损伤明显,偶见散在点状坏死;+++表示肝细胞损伤严重,有明显肝细胞坏死和炎细胞浸润等。

2.4 血清酶活性的测定

按照试剂盒说明,测定AST、ALT活性。

2.5 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS14.0软件进行统计,多组间计量资料差异比较采用单因素方差分析检验,两组间比较采用LSD检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 桦褐孔菌多糖对模型大鼠肝脏病理形态学的影响

与空白对照组比较,模型组大鼠肝损伤明显($P < 0.01$);与模型组比较,桦褐孔菌多糖高、中剂量组大鼠肝损伤有不同程度减轻($P < 0.05$)。光镜下可见,空白对照组大鼠肝小叶结构清晰,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列索排列,肝窦正常,高倍镜下肝细胞呈多边形,胞核结构清晰。模型组大鼠肝小叶界限欠清晰,肝细胞索紊乱,肝窦变窄,肝小叶内肝细胞出现散在和片状变性,以小泡性脂肪变性(或称酒精性泡沫样变性)为主,并可见点状坏死和炎细胞浸润。上述病变以小叶周边为主,高倍镜下大部分肝细胞胞浆内出现小脂滴空泡,部分肝细胞胞浆内有较大泡性脂肪变性,部分肝细胞胞浆疏松淡染,有的胞核模糊不清,有的细胞核呈固缩状。桦褐孔菌多糖低剂量组大鼠肝小叶界限尚清晰,小叶中央静脉附近的肝细胞正常,但是小叶周边的肝细胞仍有变性,以脂肪变性为主,偶见点状坏死。桦褐孔菌多糖高、中剂量组大鼠肝小叶结构清晰,肝细胞索排列整齐,肝窦基本恢复正常;高倍镜下肝细胞浊肿、脂肪变性和炎细胞浸润明显减轻,点状坏死基本消失,并可见肝细胞再生。其中,桦褐孔菌多糖高剂量组改善最为明显。桦褐孔菌多糖对模型大鼠肝脏病理学的影响见表1;肝组织病理图片见图1。

表1 桦褐孔菌多糖对模型大鼠肝脏病理学的影响($n=8$)
Tab 1 Effects of *I. obliquus* polysaccharide on morphology of model rats($n=8$)

组别	肝损伤级别			
	-	+	++	+++
空白对照组	6	2	0	0
模型组*	0	1	5	2
海王金樽组*	1	5	2	0
桦褐孔菌多糖低剂量组	0	4	3	1
桦褐孔菌多糖中剂量组*	5	2	1	0
桦褐孔菌多糖高剂量组*	6	2	0	0

与空白对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$
vs. blank control group * $P < 0.01$; vs. model group: * $P < 0.05$

3.2 桦褐孔菌多糖对模型大鼠血清AST、ALT的影响

与空白对照组比较,模型组AST、ALT活性显著增强($P < 0.01$);与模型组比较,桦褐孔菌多糖高、中、低剂量组AST、

ALT的活性显著减弱($P < 0.01$)。桦褐孔菌多糖对模型大鼠血清AST、ALT的影响见表2。

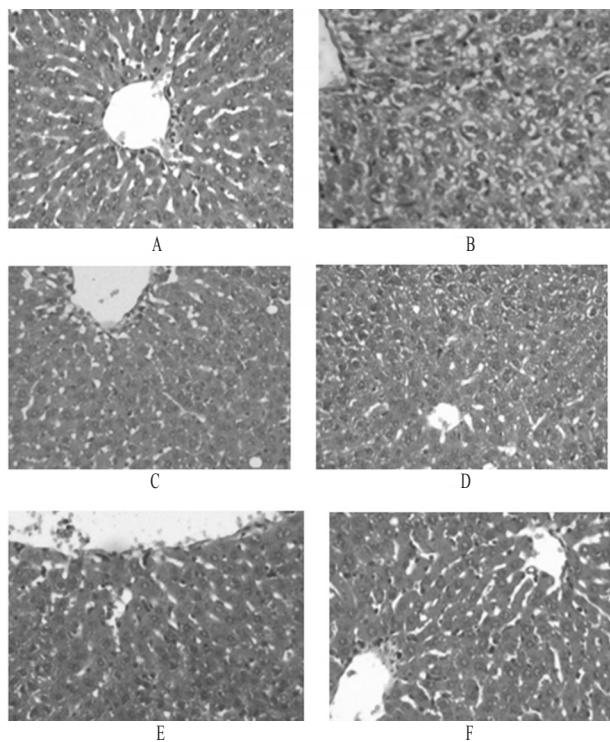


图1 肝组织病理图片(HE, 100×)

A.空白对照组; B.模型组; C.海王金樽组; D.桦褐孔菌多糖低剂量组; E.桦褐孔菌多糖中剂量组; F.桦褐孔菌多糖高剂量组

Fig 1 Histopathological changes of hepatic tissue of rats (HE, 100×)

A.blank control group; B.model group; C. Haiwang jinzun group; D. *I. obliquus* polysaccharides low-dose group; E. *I. obliquus* polysaccharides medium-dose group; F. *I. obliquus* polysaccharides high-dose group

表2 桦褐孔菌多糖对模型大鼠血清AST和ALT的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Effects of *I. obliquus* polysaccharide on the serum levels of AST and ALT in rats with hepatic injury ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	AST,U/L	ALT,U/L
空白对照组	49.83 ± 13.00	29.12 ± 6.21
模型组	130.28 ± 15.30*	54.51 ± 11.06*
海王金樽组	86.16 ± 9.02*	40.81 ± 7.09*
桦褐孔菌多糖低剂量组	99.33 ± 10.01*	44.23 ± 5.85*
桦褐孔菌多糖中剂量组	89.33 ± 5.18*	40.65 ± 4.36*
桦褐孔菌多糖高剂量组	80.33 ± 12.01*	39.82 ± 5.21*

与空白对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.01$

vs. blank control group * $P < 0.01$; vs. model group: # $P < 0.01$

4 讨论

正常情况下乙醇在体内的代谢产物乙酸及代谢终产物

CO₂和水可被排出体外。但是机体大量摄入乙醇后,就会引起急性酒精性肝损伤:一方面,由于内质网的微粒体乙醇过氧化酶系被诱导,促进乙醇氧化成乙醛,导致肝细胞内有害的中间产物乙醛浓度大大提高,而乙醛对肝脏有直接毒性;另一方面,乙醇浓度过高时还可通过内质网的微粒体乙醇氧化代谢系统进行代谢,酒精进入肝脏后,肝内微粒体中CYP2E1被激活,在铁离子的参与下发生氧化作用,可产生大量氧自由基。氧自由基极易攻击含不饱和和双键的生物膜,使肝细胞DNA、蛋白质、酶直接损伤;氧自由基还可以通过增加肝细胞对脂质过氧化的敏感性引起肝细胞损伤^[7]。酒精引起急性肝损伤血清学检查可见血清转氨酶升高,在形态学上主要表现为肝细胞脂肪变性,也可见肝细胞水肿、点状坏死和炎细胞浸润等病变。

本研究中,大鼠经56°白酒ig后,模型组与空白对照组比较血清AST、ALT水平显著升高($P < 0.01$);光镜下观察,肝小叶内肝细胞出现散在和片状变性,以小泡性脂肪变性(或称酒精性泡沫样变性)为主,并可见点状坏死和炎细胞浸润,此结果与文献^[8]报道一致。桦褐孔菌多糖高、中、低剂量组与模型组比较,大鼠血清中AST、ALT水平下降明显($P < 0.01$);光镜下观察,桦褐孔菌多糖高、中、低剂量组可减轻急性肝损伤大鼠的肝脏病理损害,使小泡状脂肪变性、肝细胞水肿减轻,炎细胞浸润明显减少,尤以高、中剂量组较显著。从肝功能实验结果及形态学观察结果综合表明,桦褐孔菌多糖对受损的肝细胞起到良好的保护作用,并存在剂量依赖性,但其保护作用是否通过其抗氧化性发挥作用则需进一步研究证实。

参考文献

- [1] 黄年来.俄罗斯神秘的民间药用真菌:桦褐孔菌[J].中国食用菌,2002,21(4):7.
- [2] 钟秀宏,杨淑艳,孙东植.桦褐孔菌药理作用的研究进展[J].中国药房,2007,18(2):1983.
- [3] 吴艳玲,南极星,朴慧善.桦褐孔菌乙醇提取物对急性肝损伤小鼠肝脏的保护作用[J].延边大学医学学报,2008,31(1):25.
- [4] 王晓刚,韩春姬,俞星.桦褐孔菌多糖对二乙基亚硝铵致肝损伤的保护作用[J].环境与职业医学,2010,27(7):407.
- [5] 杨淑艳,钟秀宏,张以忠,等.灯盏花素对抗结核药致小鼠肝损伤的保护作用及机制研究[J].中国药杂志,2011,46(16):1241.
- [6] 张琪,陈辉,彭顺利,等.急性肝损伤动物模型制备研究进展[J].吉林医药学院学报,2011,32(4):216.
- [7] 李业钊,李航.乙醇代谢酶与乙醇性肝损伤[J].医学综述,2008,14(18):2788.
- [8] 赵虹川,房龙,李靖涛,等.茵三硫对大鼠急性酒精性肝损伤的防治作用[J].中国新药杂志,2005,14(7):852.

(收稿日期:2012-08-05 修回日期:2013-01-09)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅