

沙棘果对高脂膳食大鼠肝脏保护作用研究

宋春梅 杜鹃 葛红娟 李善姬

(吉林医药学院 公共卫生学院, 吉林 吉林 132013)

摘要:探讨沙棘对高脂膳食大鼠的肝脏保护作用。以雄性 Wistar 大鼠 60 只为研究对象, 随机分为对照组、高脂模型组和沙棘低、中和高剂量组。除对照组外, 其余 4 组给予高脂饲料。对照组和高脂模型组灌胃蒸馏水, 低、中和高剂量沙棘组分别灌胃不同剂量沙棘汁。喂养 28 d 后, 腹主动脉取血, 分离血清, 测超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)的含量, 观察肝细胞超微结构变化。沙棘各剂量组与高脂模型组比较, SOD 活性均升高, MDA 含量均降低, 有显著性差异($P < 0.05$)。高脂模型组与沙棘各剂量组比较, ALT 和 AST 活性均降低, AST 活性有统计学意义($P < 0.05$)。肝脏超微结构表明, 沙棘能改善对高脂饮食所致的大鼠肝细胞超微结构的损伤。沙棘对高脂膳食大鼠肝细胞具有保护作用。

关键词:沙棘; 大鼠; 抗氧化; 超微结构; 高脂膳食

Hepatoprotective Effects of Seabuckthorn in High-fat Diet Rats

SONG Chun-mei, DU Juan, GE Hong-juan, LI Shan-ji

(Jilin Medical College, School of Public Health, Jilin 132013, Jilin, China)

Abstract: The purpose of this study was to examine the hepatoprotective effect of seabuckthorn in high-fat diet rats. Sixty male Wistar rats were randomly divided into five groups: the control group, the high-fat model group, the low-dose seabuckthorn group, the middle-dose seabuckthorn group and the high-dose seabuckthorn group. Rats were treated with high-fat diet besides the control group. Then rats in both control group and high fat model group was given distilled water and those in low, medium and high treated group were received different doses of seabuckthorn juice. After 28 days treatment, the blood on abdominal aorta was collected and the levels of serum superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), alanine aminotransferase (ALT), aspartic acid oxo transferase (AST) were measured. And also the liver cell ultrastructure changes were observed. The each seabuckthorn dose group compared with high-fat model group, the SOD activity were increased, the MDA content were lower, and there was significant difference between two groups ($P < 0.05$). The high-fat model group compared with each seabuckthorn dose group ALT and AST activity were reduced, the activity of AST was significantly difference between two groups ($P < 0.05$). Liver ultrastructure showed that seabuckthorn can improve fat diet-induced liver cell damage in rats. In conclusion, seabuckthorn can play protective effects in high fat diet rat hepatocytes.

Key words: seabuckthorn; rat; antioxidant; ultrastructure; high-fat diet

沙棘属卫生部公布的既是食品又是药品类^[1], 含有丰富的营养素和多种生物活性物质, 具有较高的食用和药用价值, 是我国古代藏医、蒙医常用药材^[2]。现

代医学研究表明, 沙棘中黄酮物质及提取物具有抗氧化、抗肿瘤、抗辐射、抗衰老、增强机体免疫力和预防血栓形成等作用^[3-8]。关于沙棘果的营养保健作用研究报道较少。本文通过对高脂膳食大鼠实验研究, 探讨沙棘对高脂膳食大鼠抗氧化能力及肝细胞超微结构的影响, 为沙棘果做为天然保健食品提供一定的科学依据。

基金项目: 吉林省科技厅项目(编号 201105089)

作者简介: 宋春梅(1964—), 女(汉), 教授, 硕士, 从事营养与食品研究研发。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料

沙棘鲜果:沙棘果来源于内蒙,匀浆机制成匀浆,纱布过滤。

高脂饲料制备:79%基础饲料,1%胆固醇,10%猪油,10%蛋黄粉组成。

基础饲料:玉米粉35%、大豆粉30%、面粉25%、麸皮10%,另加多种维生素和无机盐。

1.1.2 实验动物

健康清洁级 wistar 雄性大鼠,体重 190 g~210 g,由吉林大学基础医学院实验动物中心提供,适应性饲养 1 周后进行实验。分笼饲养,每笼 5 只,大鼠自由进食和饮水,自然光照,室温 22℃~25℃。

1.1.3 主要仪器

全自动生化分析仪 Selectra-XL,荷兰威图科学公司;透射电镜:日立公司 Hitachi-7650;TD-5A 离心机:湖南凯达科学仪器有限公司;722 可见分光光度计:上海新仪器有限公司。

1.1.4 主要试剂

ALT 和 AST 试剂盒:3V 生物工程集团有限公司;SOD 和 MDA 试剂盒:南京建成试剂公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组

将大鼠按体重随机分成 5 组,即对照组、模型组、低剂量沙棘组、中剂量沙棘组和高剂量沙棘组,每组 12 只。实验开始后对照组给予基础饲料,其余各组给予高脂饲料喂养。对照组和高脂组灌胃蒸馏水,低剂量、中剂量和高剂量沙棘组分别按照标准人剂量 50 g/60 kg 的 1 倍、5 倍和 10 倍的沙棘量进行灌胃,每只大鼠 4 mL,连续灌胃 28 d,每周称体重一次,记录大鼠的体重,调整沙棘灌胃剂量。

1.2.2 实验方法

实验结束后,大鼠禁食 12 h,以 10%乌拉坦 7 mL/kg 腹腔麻醉后,打开腹腔,腹主动脉取血,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清,测定 ALT、AST、SOD 和 MDA,测试方法严格按照试剂盒内说明书进行检测。

1.2.3 肝脏电镜标本制备

各组随机取大鼠 3 只,将大鼠麻醉,固定在解剖台上,开腹暴露肝脏,取同一部位肝组织,用冰生理盐水漂洗,将其切成 1×1×1 mm³ 组织块,置于 4℃ 2.5% 戊二醛 4% 多聚甲醛固定液中,1% 锇酸后固定,梯度丙酮脱水,EPON812 包埋,徕卡 UC7 超薄切片机切片,透射电子显微镜 Hitachi-7650 进行观察照相。

1.3 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS10.0 统计软件进行统计处理,各组间差异采用 SNK 检验。

2 结果

2.1 沙棘对大鼠血清中 SOD 活性及 MDA 含量的影响

沙棘对大鼠血清中 SOD 活性及 MDA 含量的影响见表 1。

表 1 沙棘对大鼠血清中 SOD 活性及 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD 活性/(U/L)	MDA 含量/(nmol/L)
正常对照组	59.50±2.59	0.63±0.13
高脂模型组	46.54±3.44*	1.02±0.35*
沙棘低剂量组	51.71±1.76#	0.47±0.11#
沙棘中剂量组	66.28±5.30#	0.69±0.17#
沙棘高剂量组	74.85±9.93#	0.63±0.19#

注:*表示与正常对照组差异有显著性 $P < 0.05$ #表示与高脂模型组差异有显著性 $P < 0.05$ 。

由表 1 可见,对照组和沙棘各剂量组大鼠 SOD 活性均高于高脂模型组,高脂模型组与对照组比较,有统计学意义($P < 0.05$),沙棘各剂量组与高脂模型组比较,沙棘各剂量组均有显著差异($P < 0.05$)。MDA 含量高脂模型组最高,高脂模型组与对照组比较,有统计学意义($P < 0.05$),沙棘各剂量组与高脂模型组比较,均有显著差异($P < 0.05$)。

2.2 沙棘对大鼠血清中 ALT 和 AST 活性的影响

沙棘对大鼠血清中 ALT 和 AST 活性的影响见表 2。

表 2 沙棘对高脂膳食大鼠血清中 ALT 和 AST 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT 活性/(U/L)	AST 活性/(U/L)
正常对照组	47.30±6.03	157.73±29.73
高脂模型组	65.13±9.13*	197.23±26.98*
沙棘低剂量组	61.70±10.04*	159.76±28.30#
沙棘中剂量组	61.41±13.50*	169.75±25.25#
沙棘高剂量组	56.43±11.03*	157.71±22.43#

注:*表示与正常对照组差异有显著性 $P < 0.05$ #表示与高脂模型组差异有显著性 $P < 0.05$ 。

表 2 结果表明,高脂模型组 ALT 和 AST 活性均升高,高脂模型组与正常对照组比较,ALT 和 AST 活性均有显著性差异($P < 0.05$);高脂模型组与沙棘各剂量组比较,ALT 和 AST 活性均降低,AST 活性有统计学

意义($P<0.05$)。

2.3 电镜观察细胞的超微结构

正常组:肝细胞变小,细胞核1个~2个,呈圆形,核仁明显,核内常染色质多,胞质内线粒体数量多,嵴清晰可见,有丰富的粗面内质网和糖原颗粒。可见少量的溶酶体颗粒(见图1和2)。

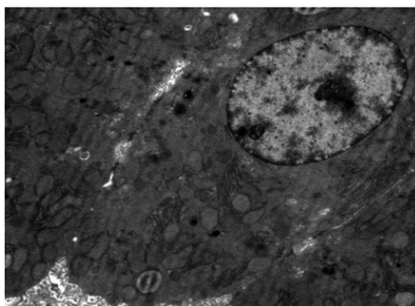


图1 对照组肝脏电镜结构×1 000

Fig.1 Structure of liver electron microscopy in control group×1 000

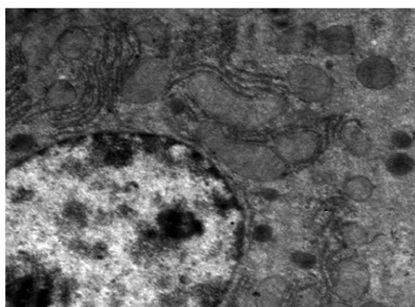


图2 对照组肝脏电镜结构×2 000

Fig.2 Structure of liver electron microscopy in control group×2 000

高脂模型组:肝细胞的界限不清,核呈圆形,1个~2个,基质轻度空化,核内异染色质略增多,胞质基质致密,线粒体致密状,嵴不易分清,可见大小不一的圆形脂滴和少量吞噬体,其内粗面内质网排列紧密,膜增厚,窦周隙内可见贮脂细胞和较多的胶原纤维(见图3和4)。

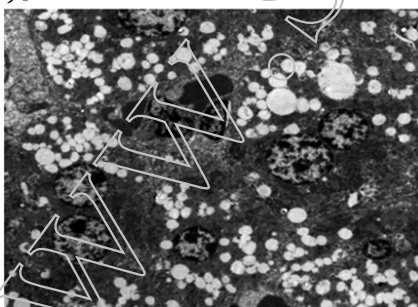


图3 高脂模型组肝脏电镜结构×500

Fig.3 Structure of liver electron microscopy in high-fat model group×500

沙棘组:肝细胞紧密排列,细胞较大,核1个~2个,大而圆形,核仁明显,核内常染色质多。个别肝细胞局

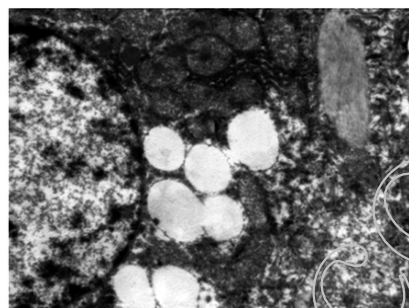


图4 高脂模型组肝脏电镜结构×2 000

Fig.4 Structure of liver electron microscopy in high-fat model group×2 000

部胞质略空化,胞质内粗面内质网增多,线粒体数目比模型组明显增多,变性程度较轻,嵴显示较清晰,脂滴颗粒明显减少,偶见单个小脂滴,糖原颗粒增多(见图5和6)。

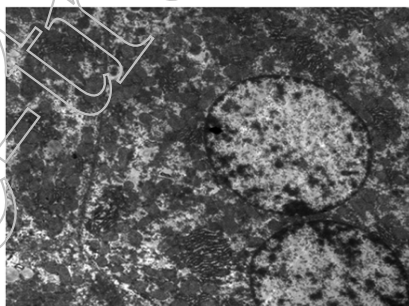


图5 沙棘组肝脏电镜结构×700

Fig.5 Structure of liver electron microscopy in seabuckthorn group×700

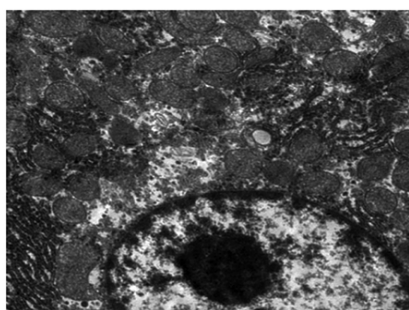


图6 沙棘组肝脏电镜结构×2 000

Fig.6 Structure of liver electron microscopy in seabuckthorn group×2 000

3 讨论

随着人民生活水平的提高,膳食结构的改变,高能和高脂膳食引起血脂水平升高,使机体内脂质代谢异常,引起脂质过氧化增强,影响肝脏的正常功能。现代医学研究表明,食物中的植物化学预防和治疗高血

(下转第135页)

- 社,2011:236-257,104,105-121
- [7] (德)阿尔伯特·施韦泽.敬畏生命[M].陈泽环,译.上海:上海社会科学院出版社,2003:9
- [8] 毛新志.转基因食品的伦理问题研究综述[J].哲学动态,2004(8):24-27
- [9] 周中之.经济全球化背景下当代中国消费伦理观念的变革及其研究[J].上海师范大学学报:哲学社会科学版,2007(3):14-20
- [10] 刘长兴.环境资源利用和保留的平衡—论环境法的环境预防原则[J].环境资源法论丛,2003(3):56-85
- [11] 杨通进.转基因技术的伦理问题[J].工程研究—跨学科视野中的工程,2010(2):157-167
- [12] 华启和.气候伦理:理论向度与基本原则[J].吉首大学学报:社会科学版,2011(4):6-9
- [13] (英)R.T.诺兰等.伦理学与现实生活[M].姚新中等译.北京:华夏出版社,1988:322-324
- [14] 王泽应.论新世纪我国经济伦理学发展的新领域[J].长春市委党校学报,2002(5):15-20
- [15] 张晨.非转基因很大方 转基因羞答答[EB/OL].<http://finance.people.com.cn/BIG5/n/2014/0410/c1004-24868673.html>,[2014-4-10]
- [16] (瑞士)司徒博.国际贸易伦理学[M].马晓秦译.江苏:江苏人民出版社,2006:178
- [17] 何志鹏,孙璐.贸易公平与国际法治:WTO 多哈回合反思[J].东方法学,2011(2):62-74
- [18] Sexton S, Hildyard N, Lohmann L. Food/health hope: genetic engineering and world hunger [EB/OL]. <http://www.thecornerhouse.org.uk/item.shtml?x=51965>,[2010-05-04]
- [19] 陈宏平,曾建平.绿色壁垒与国际环境正义[J].湖南大学学报:社会科学版,2004(6):91-94
- [20] Chadwick R. Playing God[J]. Cogito,1989(3):186-193
- [21] 北京日报.转基因食品标识能否更加细化[EB/OL].http://www.ce.cn/cyse/sp/info/201310/09/t20131009_1592383.shtml,[2014-4-1]
- 收稿日期 2014-10-31

(上接第 28 页)

脂和保护肝脏起着重要的作用^[9-11]。SOD 是机体内细胞中主要抗氧化酶,它通过歧化反应清除体内生成的氧自由基,阻断脂质过氧化连锁反应。MDA 是脂质过氧化物的分解产物,其含量反映了脂质过氧化反应程度的强弱和机体细胞受自由基攻击的程度。正常情况下,ALT 和 AST 主要来源于肝脏,血清中含量很低。肝功能受损时,肝功能的异常的变化可通过血清中的 ALT 和 AST 表现出来^[12-13]。本研究通过喂食大鼠高脂饲料进行造模,同时给予沙棘进行干预,实验结果显示,高脂模型组血清 SOD 活性降低,MDA 含量升高,表明高脂模型组因为高脂的作用,其脂质过氧化反应增强,氧自由基增多,引起肝细胞受损,出现血清 MDA 水平升高。沙棘各剂量组血清 SOD 活性升高,MDA 含量降低,均有显著性差异。沙棘能降低高脂膳食大鼠血清 ALT 和 AST 活性。从肝脏超微结构变化来看,沙棘能明显减轻肝细胞脂肪变性,改善肝脏病理损害。这表明沙棘能增强肝脏调节脂质代谢的能力,防治高脂血症及抑制脂质过氧化反应,保护肝细胞。这主要是沙棘含有丰富的黄酮类化合物、V_C、V_E 和沙棘油等成分有关。

参考文献:

- [1] 郑汉臣,蔡少膏.药用植物学与生药学[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2003:539
- [2] 高锦明.沙棘挥发油化学成分研究概况[J].沙棘,1995,8(3):25-28
- [3] 曹斌,陈广仁,王爱国.沙棘黄酮类化合物及其生理功能探究[J].饮料工业,2003,6(6):5-9
- [4] Erçisli S1, Akbulut M, Ozdemir O, et al. Phenolic and antioxidant diversity among persimmon (*Diospyrus kaki* L.) genotypes in Turkey [J]. Int J Food Sci Nutr, 2008,59(6):477-482
- [5] 艾木拉古丽·阿布拉,张迎春.沙棘果对小鼠血糖和血脂的影响[J].新疆师范大学学报:自然科学版,2008,27(4):39-41
- [6] 李路平,岳海涛,李天舒,等.沙棘提取物对急性血瘀模型大鼠血液流变学及血栓形成的影响[J].中草药,2010,41(2):272-274
- [7] 曹少谦,徐晓云,潘思轶.沙棘籽原花青素对小鼠免疫功能调节作用的影响[J].食品科学,2005,26(6):229-232
- [8] 杨现艳,瞿伟菁,徐自良,等.沙棘籽渣黄酮和沙棘油对高糖高脂诱导的老年肥胖雌鼠血脂的影响[J].营养学报,2007,29(3):284-287
- [9] 何志勇,夏文水.沙棘果汁营养成分及保健作用[J].食品科技,2002(7):69-71,63
- [10] 赵二芳,张海容,盖青青,等.沙棘黄酮的测定及其抗氧化作用[J].化学研究与应用,2003,15(2):284-285
- [11] 张晓林,杨安平.中华芦荟多糖对小鼠急性肝损伤保护作用[J].中国公共卫生,2007,23(3):339-340
- [12] 唐云安,刘玉清,王国钦.肝损伤动物模型研究进展[J].卫生毒理学杂志,2002,16(4):236-238
- [13] 焦岩,王振宇.大果沙棘果渣黄酮降血脂与抗氧化作用[J].营养学报,2009,31(5):516-518

收稿日期 2015-01-18