

· 论 著 ·

# 枸杞多糖对肝内胆汁淤积大鼠血液指标和肝组织形态的影响

夏勇, 蔡德雷, 傅剑云, 徐彩莉, 宋燕华, 孟真, 谢佳莹

浙江省疾病预防控制中心理化毒理所, 浙江 杭州 310051

**摘要:** **目的** 研究枸杞多糖对肝内胆汁淤积大鼠血液指标和肝组织形态的影响。**方法** 雄性SD大鼠50只, 随机分为正常对照组, 模型对照组和枸杞多糖低、中、高剂量组。模型对照组及枸杞多糖各剂量组大鼠于实验开始当天给予 $\alpha$ -萘异硫氰酸脂 (ANIT) 60 mg/kg灌胃, 以后每隔3天一次; 正常对照组以色拉油代替ANIT。第3天起, 各剂量组大鼠分别给予40、150、600 mg/kg枸杞多糖, 模型对照组大鼠给予等体积蒸馏水。4周后测定大鼠血液和尿液指标, 观察肝组织形态。**结果** 实验第3天起, 模型对照组和各剂量组大鼠活动减少, 尿液颜色均发生改变, 呈深黄色; 正常对照组大鼠未见异常。模型对照组大鼠总胆红素、直接胆红素、总胆汁酸 (TBA)、碱性磷酸酶 (ALP)、 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶 ( $\gamma$ -GGT)、胆固醇、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、白细胞 (WBC)、粒细胞百分比、尿胆红素、尿胆汁酸、肝重量、肝体比均高于正常对照组, 红细胞和淋巴细胞百分比低于正常对照组 (均 $P < 0.05$ ); 肝组织形态发生病理性改变。枸杞多糖高剂量组大鼠血TBA、ALP、 $\gamma$ -GGT、ALT、AST、WBC和肝体比低于模型对照组 (均 $P < 0.05$ ); 肝脏炎细胞浸润, 胆管增生、扩张, 以及肝细胞变性、坏死等病理性改变均减轻。**结论** 600 mg/kg剂量枸杞多糖可改善肝内胆汁淤积大鼠的血液指标和肝组织病理性改变。抑制炎症反应、减轻氧化应激损伤可能是枸杞多糖缓解胆汁淤积性肝损伤的重要机制。

**关键词:** 枸杞多糖; 肝内胆汁淤积; 肝功能; 肝组织形态

**中图分类号:** R-33      **文献标识码:** A      **文章编号:** 2096-5087 (2021) 10-1003-06

## Effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on blood indexes and liver tissue morphology in rats with intrahepatic cholestasis

XIA Yong, CAI Delei, FU Jianyun, XU Caiju, SONG Yanhua, MENG Zhen, XIE Jiaying

Institute of Physical, Chemical and Toxicology, Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

**Abstract: Objective** To study the effects of *Lycium barbarum* polysaccharides (LBP) on blood indexes and liver tissue morphology in rats with intrahepatic cholestasis. **Methods** Sprague-Dawley rats were randomly divided into the control group, the model group, and LBP low, medium and high dose group. The rats in the model group and LBP dose groups were given 60 mg/kg alpha-naphthylisothiocyanate (ANIT) by gavage every three days of the experiment, and the rats in the control group were given salad oil instead of ANIT. From the third day, the rats in each dose group were given 40, 150 and 600 mg/kg LBP, and the rats in the model group were given distilled water. After four weeks, the blood and urine indexes were measured, and the morphological changes of liver tissue were observed. **Results** From the third day of the experiment, the activity of rats in the model group and LBP dose groups decreased, and the color of urine changed to dark yellow. There was no abnormality in the group. In the model group, the levels of serum total bilirubin, direct bilirubin, total bile acid (TBA), alkaline phosphatase (ALP),  $\gamma$ -glutamyltransferase ( $\gamma$ -GGT), cholesterol, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), white blood cell (WBC), percentage

**DOI:** 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2021.10.007

**作者简介:** 夏勇, 本科, 主任技师, 主要从事卫生毒理学工作

**通信作者:** 傅剑云, E-mail: jyfu@cdc.zj.cn

of granulocyte, urinary bilirubin, urinary bile acid, liver mass and liver to body ratio were higher than those in the control group, while red blood cell and percentage of lymphocyte were lower than those in the control group (all  $P < 0.05$ ). Pathological changes of liver tissue were observed. The levels of serum TBA, ALP,  $\gamma$ -GGT, ALT, AST, WBC and liver to body ratio in LBP high dose group were lower than those in the model group (all  $P < 0.05$ ). The infiltration of inflammatory cells, proliferation and expansion of bile duct, degeneration and necrosis of liver cells were alleviated.

**Conclusions** LBP can improve the blood indexes and pathological changes of liver tissue in rats with intrahepatic cholestasis at the dosage of 600 mg/kg. Inhibition of inflammatory response and reduction of oxidative stress injury may be the mechanism for alleviating cholestatic liver injury.

**Keywords:** *Lycium barbarum* polysaccharides; intrahepatic cholestasis; hepatic function; liver tissue morphology

胆汁淤积是由肝细胞、胆管系统胆汁分泌或排泄障碍导致的疾病,表现为肝和血液内的胆红素、胆汁酸等过度堆积,造成肝细胞损伤,可能进展为肝硬化,并引起肝、肾功能改变<sup>[1-2]</sup>。胆汁淤积在婴幼儿人群中发生率较高,尚缺乏有效的治疗手段,目前主要通过熊去氧胆酸和糖皮质激素类药物,但50%左右的患者应答不敏感或不耐受,对约30%左右的患者无效<sup>[3]</sup>。此外,药物不良反应也不适合婴幼儿长时间服用。枸杞多糖是枸杞的主要活性成分,具有明确的保肝功效<sup>[4-5]</sup>,本研究旨在探索其对于胆汁淤积性肝损伤的保护作用。

动物胆汁淤积模型的构建方法主要有药物诱导法、胆管手术结扎法和肠外营养法3种,其中药物诱导法属非创伤性方法,诱导胆汁淤积模型的病理生理过程与临床更接近,更适用于肝内胆汁淤积模型<sup>[6]</sup>。经口给予大鼠 $\alpha$ -萘异硫氰酸脂(alpha-naphthylisothiocyanate, ANIT)是药物诱导肝内胆汁淤积的成熟方法,具有可逆性、重复性和周期短等特点<sup>[6-7]</sup>。本研究以多次经口给予大鼠ANIT的方法构建肝内胆汁淤积模型,用不同剂量的枸杞多糖进行干预,观察其对大鼠血液指标、尿液指标及肝组织形态的影响。现报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物及环境条件** 实验用雄性SD大鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,生产许可证号为SCXK(沪)2017-0005,清洁级,体重150~180g。实验动物饲料由浙江省实验动物中心提供,执行GB/T 14924.1—2001《实验动物 配合饲料通用质量标准》。环境条件:屏障环境,实验动物使用许可证号为SYXK(浙)2013-0190,温度21~24℃,相对湿度45%~70%。实验动物实验前在动物房环境适应3d。

**1.2 主要试剂与仪器** ANIT(上海麦克林生化科技有限公司,批号为C10752371);枸杞多糖(西安瑞盈生物科技有限公司,批号为RY20210128,含量

规格为90%);瑞沃德R546W型麻醉机(深圳瑞沃德生命科技有限公司);Sysmex XT-1800i型全自动血细胞分析仪(日本希森美康公司);TOSHIBA TBA-40FR型全自动生化分析仪(日本东芝公司);LEICA AOTOSTAINER XL型组织标本染色机(德国莱卡公司);3DHISTECH Panoramic SCAN型病理数字切片扫描仪(匈牙利3D公司);迪瑞H-800型全自动尿分析仪(迪瑞医疗科技股份有限公司)。

**1.3 方法** 50只雄性SD大鼠随机分为正常对照组、模型对照组和枸杞多糖低、中、高剂量组。根据预试验结果和文献[2, 8-9]构建大鼠肝内胆汁淤积模型,采用灌胃法给予受试物。实验当天给予模型对照组和枸杞多糖低、中、高剂量组大鼠1.2%(质量/体积)ANIT色拉油溶液诱导肝损伤,以后每隔3天一次,直至实验结束,灌胃前后分别禁食2h,灌胃容量为5mL/kg。实验第3天起,分别给予枸杞多糖低、中、高剂量组大鼠40、150、600mg/kg枸杞多糖,给予模型对照组大鼠等体积的蒸馏水,每天一次,持续4周,灌胃容量为10mL/kg。正常对照组以色拉油代替造模剂,处理方法同模型对照组。大鼠单笼饲养,自由进食、饮水。每天观察并记录大鼠的一般表现、中毒和死亡情况。每周称量并记录一次大鼠体重。实验期末将大鼠放入代谢笼收集尿液,禁食过夜,次日用麻醉机(麻醉剂为异氟烷)麻醉大鼠,经腹主动脉采集血液,检测红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血红蛋白(Hb)、淋巴细胞百分比(LYMPH%)、单核细胞百分比(MONO%)、粒细胞百分比(GR%)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、直接胆红素(DBIL)、总胆红素(TBIL)、碱性磷酸酶(ALP)、 $\gamma$ -谷氨酰转移酶( $\gamma$ -GGT)、胆固醇(CHOL)和总胆汁酸(TBA)。收集大鼠尿液,经0.45 $\mu$ m一次性滤器过滤后,测定pH值、比重、尿胆红素和尿胆汁酸。解剖时进行大体检查,称取肝重量,计算肝体比;摘取肝脏并固定保存于10%中性福尔马林,石蜡包

埋, 常规制片, 苏木精-伊红 (HE) 染色, 进行组织形态学观察。

**1.4 统计分析** 采用 SPSS 13.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布的采用均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 描述, 满足方差齐性资料的组间比较采用 *t* 检验或单因素方差分析, 进一步两两比较采用 Dunnett-*t* 检验; 方差不齐资料的组间比较采用 *t'* 检验和 Kruskal-Wallis *H* 检验。剂量-反应关系分析采用趋势方差分析。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 大鼠一般表现** 实验第 3 天起, 模型对照组和

各剂量组大鼠活动减少, 尿液颜色均发生改变, 呈深黄色; 实验第 1 周末起, 模型对照组和各剂量组大鼠皮毛颜色暗黄, 体重减轻。正常对照组大鼠未见异常。实验期内无大鼠死亡。

**2.2 5 组大鼠血液学分类指标比较** 模型对照组大鼠 RBC 和 LYMPH% 均低于正常对照组, WBC 和 GR% 均高于正常对照组 ( $P<0.05$ )。各剂量组和模型对照组大鼠 WBC 比较, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 其中, 高剂量组大鼠 WBC 低于模型对照组 ( $P<0.05$ )。枸杞多糖给药剂量与 WBC 存在剂量-效应关系 ( $F_{趋势}=11.426, P=0.002$ )。各组大鼠其他血液学分类指标差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 5 组大鼠血液学分类指标比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	Hb (g/L)	WBC ( $\times 10^9/L$ )	LYMPH% (%)	MONO% (%)	GR% (%)
正常对照组	145.8±10.9	7.9±0.4	10.1±1.9	71.2±3.3	3.0±0.6	25.8±3.2
模型对照组	136.7±10.9	6.9±0.5	13.5±2.2	67.1±3.3	3.4±0.7	29.5±3.2
枸杞多糖						
低剂量组	137.9±10.6	7.0±0.4	12.8±2.4	67.4±3.2	3.2±0.9	29.4±3.2
中剂量组	139.0±7.9	7.1±0.5	11.8±2.1	68.7±3.9	3.2±0.7	28.1±4.1
高剂量组	143.6±9.7	7.4±0.5	10.4±1.9	70.2±2.7	2.9±0.8	26.9±3.0
<i>t</i> 值 <sup>a</sup>	4.361	1.880	3.675	2.807	1.329	2.601
<i>P</i> 值 <sup>a</sup>	<0.001	0.076	0.002	0.012	0.200	0.018
<i>F</i> 值 <sup>b</sup>	0.936	2.031	3.896	1.922	0.865	1.299
<i>P</i> 值 <sup>b</sup>	0.433	0.127	0.016	0.143	0.468	0.290

注: a 表示模型对照组与正常对照组比较; b 表示各剂量组与模型对照组比较。

**2.3 5 组大鼠血清生化指标比较** 模型对照组大鼠 TBIL、DBIL、IBIL、 $\gamma$ -GGT、ALP、ALT、AST、CHOL 和 TBA 均高于正常对照组 ( $P<0.05$ )。各剂量组和模型对照组大鼠  $\gamma$ -GGT、ALP、ALT、AST 和 TBA 比较, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 其中, 高剂量组大鼠  $\gamma$ -GGT、ALP、AST 和 TBA 均低于模型对照组 ( $P<0.05$ ), 中、高剂量组大鼠 ALT 均低于

模型对照组 ( $P<0.05$ )。枸杞多糖给药剂量与  $\gamma$ -GGT ( $F_{趋势}=7.687, P=0.009$ )、ALP ( $F_{趋势}=8.738, P=0.005$ )、ALT ( $F_{趋势}=10.798, P=0.002$ )、AST ( $F_{趋势}=4.818, P=0.035$ )、TBA ( $F_{趋势}=16.248, P<0.001$ ) 存在剂量-效应关系。各组大鼠其他血清生化指标差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 5 组大鼠血清生化指标比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	TBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	DBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	IBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	$\gamma$ -GGT (U/L)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	CHOL (mmol/L)	TBA (mmol/L)
正常对照组	2.6±0.5	1.6±0.2	1.0±0.5	0.98±0.41	129±21	32.2±4.3	145.1±20.4	1.86±0.24	13.5±4.0
模型对照组	28.7±5.9	22.2±5.4	6.5±1.8	3.24±0.81	266±56	72.0±12.1	242.8±62.0	3.17±0.46	43.8±8.4
枸杞多糖									
低剂量组	27.4±5.7	20.7±5.8	6.7±1.8	3.33±0.93	258±53	73.9±14.5	246.5±64.0	3.12±0.44	40.2±8.2
中剂量组	24.5±7.2	18.0±5.8	6.5±2.3	3.13±0.78	238±55	55.2±11.3	230.9±63.1	3.10±0.45	36.5±8.5
高剂量组	22.3±5.9	16.3±5.0	6.0±2.0	2.21±0.82	201±41	52.0±19.1	163.9±58.6	2.75±0.37	29.7±7.2

表 2 (续)

组别	TBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	DBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	IBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	$\gamma$ -GGT (U/L)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	CHOL (mmol/L)	TBA (mmol/L)
<i>t</i> 值 <sup>a</sup>	14.040	11.995	10.321	7.812	6.680	9.828	4.734	8.034	10.306
<i>P</i> 值 <sup>a</sup>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<i>F</i> 值 <sup>b</sup>	2.154	2.245	0.245	3.803	3.164	6.003	3.901	2.019	5.564
<i>P</i> 值 <sup>b</sup>	0.110	0.100	0.864	0.018	0.036	0.002	0.016	0.129	0.003

注: a表示模型对照组与正常对照组比较; b表示各剂量组与模型对照组比较。

2.4 5组大鼠尿液指标比较 模型对照组大鼠尿胆红素和尿胆汁酸水平均高于正常对照组 ( $P<0.05$ )。各组大鼠其他尿液指标差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 3。

表 3 5组大鼠尿液指标比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	pH值	比重 (g/mL)	尿胆红素 ( $\mu\text{mol/L}$ )	尿胆汁酸 ( $\mu\text{mol/L}$ )
正常对照组	8.2 $\pm$ 0.4	1.015 $\pm$ 0.005	6.2 $\pm$ 2.7	16.4 $\pm$ 12.9
模型对照组	8.0 $\pm$ 0.6	1.010 $\pm$ 0.006	95.6 $\pm$ 36.1	482.5 $\pm$ 219.6
枸杞多糖				
低剂量组	8.1 $\pm$ 0.6	1.010 $\pm$ 0.005	99.2 $\pm$ 51.5	502.1 $\pm$ 237.5
中剂量组	8.2 $\pm$ 0.3	1.011 $\pm$ 0.007	82.2 $\pm$ 61.0	449.5 $\pm$ 217.3
高剂量组	8.5 $\pm$ 0.3	1.015 $\pm$ 0.006	49.8 $\pm$ 42.6	371.3 $\pm$ 107.0
<i>t</i> '值 <sup>a</sup>	0.885	1.777	7.801	6.701 <sup>c</sup>
<i>P</i> 值 <sup>a</sup>	0.388	0.093	<0.001	<0.001
$\chi^2/F$ 值 <sup>b</sup>	1.957	1.457	2.131	0.206 <sup>d</sup>
<i>P</i> 值 <sup>b</sup>	0.138	0.243	0.113	0.650

注: a表示模型对照组与正常对照组比较; b表示各剂量组与模型对照组比较; c表示*t*'值; d表示 $\chi^2$ 值。

2.5 5组大鼠空腹体重、肝重量和肝体比比较 模型对照组大鼠空腹体重低于正常对照组,肝重量和肝体比均高于正常对照组 ( $P<0.05$ )。各剂量组与模型对照组大鼠肝体比比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ );其中,高剂量组大鼠肝体比低于模型对照组 ( $P<0.05$ )。枸杞多糖给药剂量与肝体比存在剂量-效应关系 ( $F_{趋势}=22.442$ ,  $P<0.001$ )。见表 4。

2.6 大鼠肝组织形态学改变 正常对照组大鼠肝脏小叶结构完整,肝细胞索排列整齐,肝细胞形态正常,汇管区胆管结构清晰,未见胆管增生、管腔扩大、炎细胞浸润等改变(见图 1-A1~A3);模型对照组大鼠肝脏汇管区扩大,汇管区及小叶周边带胆管及胆管上皮增生,胆管管腔扩大,伴炎细胞浸润(见图 1-B1),肝小叶中央区肝细胞肿胀(见图 1-B2),

并可见多灶状炎细胞浸润伴肝细胞坏死(见图 1-B3);高剂量组大鼠肝脏汇管区可见胆管增生性改变(见图 1-C1),但增生数量和范围减少,炎症反应减轻,小叶中央区肝细胞肿胀但程度较轻(见图 1-C2),肝小叶内可见炎细胞浸润但浸润灶数量及范围减少(见图 1-C3),肝细胞坏死灶减少。低、中剂量组大鼠肝组织形态与模型对照组差异不明显。

表 4 5组大鼠空腹体重、肝重量和肝体比比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	空腹体重 (g)	肝重量 (g)	肝体比 (%)
正常对照组	391.7 $\pm$ 27.5	11.21 $\pm$ 1.07	2.86 $\pm$ 0.18
模型对照组	335.5 $\pm$ 25.4	12.70 $\pm$ 1.21	3.79 $\pm$ 0.29
枸杞多糖			
低剂量组	336.6 $\pm$ 28.6	12.25 $\pm$ 1.15	3.66 $\pm$ 0.44
中剂量组	351.0 $\pm$ 31.8	11.90 $\pm$ 1.13	3.40 $\pm$ 0.24
高剂量组	366.7 $\pm$ 36.6	11.59 $\pm$ 1.20	3.17 $\pm$ 0.26
<i>t</i> 值 <sup>a</sup>	4.755	2.930	8.630
<i>P</i> 值 <sup>a</sup>	<0.001	0.009	<0.001
<i>F</i> 值 <sup>b</sup>	2.244	1.670	7.613
<i>P</i> 值 <sup>b</sup>	0.100	0.191	<0.001

注: a表示模型对照组与正常对照组比较; b表示各剂量组与模型对照组比较。

### 3 讨论

目前尚无肝内胆淤积模型的统一评定标准,临床诊断胆汁淤积主要依据临床表现、实验室和组织形态学检查<sup>[1, 10]</sup>;临床表现主要有黄疸、尿液颜色深黄、皮肤瘙痒以及乏力等<sup>[1]</sup>。实验室检测指标主要包括血清 TBIL、DBIL、TBA、ALP、 $\gamma$ -GGT 和 CHOL 等。胆汁酸和胆红素主要通过肝脏代谢,在胆汁排泄障碍时,可逆行进入血液循环,体内胆汁酸、胆红素的分布改变,血清和尿液中胆汁酸和胆红素浓度均显著升高<sup>[10]</sup>,故胆汁酸和胆红素是胆汁淤积的重要临床诊断指标<sup>[11]</sup>。在排除机械性胆道梗阻及胆

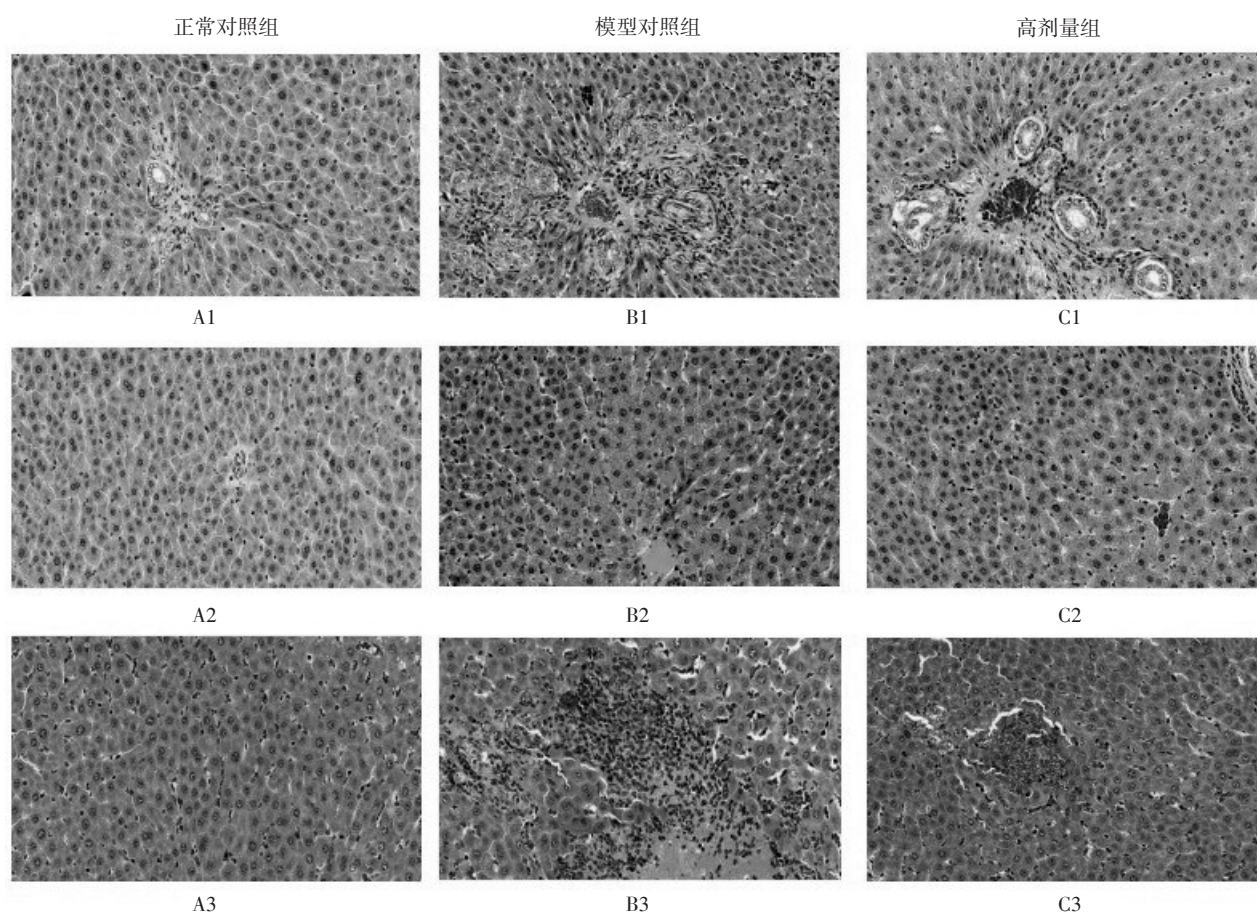


图 1 大鼠肝脏切片标本镜下观察 (HE 染色, ×400)

道手术史的情况下, 血清 TBIL>18  $\mu\text{mol/L}$ 、DBIL>4  $\mu\text{mol/L}$ 、TBA>10  $\mu\text{mol/L}$  可作为胆汁淤积的诊断标准<sup>[1]</sup>。胆固醇主要通过胆汁排泄, 胆汁淤积时血清胆固醇浓度也可升高<sup>[12]</sup>。胆汁淤积时, 毛细胆管内压增高, 可产生更多的 ALP 和  $\gamma$ -GGT, 血清 ALP 和  $\gamma$ -GGT 升高是胆汁淤积的特征性表现<sup>[13-14]</sup>。欧洲肝病学会建议“ALP 超过正常上限 1.5 倍, 且  $\gamma$ -GGT 超过正常上限 3 倍”可诊断为胆汁淤积性肝病。因此, 本实验将上述血清学指标、临床表现和组织形态学检查作为大鼠肝内胆淤积模型的评判标准。

枸杞多糖剂量的设置依据文献报道和预试验结果。相关研究报道枸杞多糖在 100、200 mg/kg 剂量水平下, 分别对四氯化碳致大鼠、小鼠肝损伤有保护作用<sup>[15-16]</sup>; 在 150 mg 剂量水平下, 对酒精致小鼠肝损伤有保护作用<sup>[17]</sup>。预试验结果显示, 250 mg/kg 枸杞多糖对一次给予 ANIT 诱导的大鼠急性肝损伤有保护作用。综合考虑胆汁淤积性肝损伤的作用机制及动物种属差异, 设 150 mg/kg 为中等剂量, 在此剂量基础上设 600 mg/kg 为高剂量, 40 mg/kg 为低剂量。

实验结果显示: 模型对照组大鼠活动减少, 尿液

颜色深黄, 皮毛颜色暗黄, 与胆汁淤积的临床表现一致; 血 TBIL、DBIL、TBA、ALP、 $\gamma$ -GGT、CHOL、ALT、AST、WBC、GR%、尿胆红素、尿胆汁酸、肝重量和肝体比均高于正常对照组; RBC 和 LYMPH% 低于正常对照组, 其中模型对照组 TBIL、DBIL、TBA、ALP 和  $\gamma$ -GGT 水平均达到或超过临床诊断标准。肝组织形态学观察发现模型对照组大鼠肝脏汇管区扩大, 胆管增生、扩张伴炎细胞浸润, 肝细胞肿胀、坏死伴炎细胞浸润, 而正常对照组大鼠肝组织结构与细胞形态均正常, 未见此类改变, 提示模型建立成功。

ALP 和  $\gamma$ -GGT 均表达于肝细胞血窦侧和毛细胆管侧及胆管细胞上, 是反映胆管损伤的生物学标志<sup>[13]</sup>。ALT 和 AST 大量存在于肝细胞, 是评估肝细胞损伤的指标<sup>[1, 13]</sup>。本次实验发现: 枸杞多糖高剂量组大鼠 ALP、 $\gamma$ -GGT、TBA、ALT、AST、WBC 和肝体比均低于模型对照组, 且有剂量依赖关系; 肝脏虽然仍可见汇管区胆管增生、小叶内肝细胞肿胀、炎细胞浸润等改变, 但程度均有所减轻, 说明枸杞多糖能减轻肝内胆淤积模型大鼠肝细胞及胆管系统损

伤,缓解肝内胆汁淤积。李梅林等<sup>[15]</sup>的研究结果显示:枸杞多糖能显著降低四氯化碳肝损伤模型大鼠血清 ALT、AST 和  $\gamma$ -GGT 水平,减少炎细胞浸润,显著改善大鼠肝脏病理组织结构。伍智慧等<sup>[16]</sup>和魏芬芬等<sup>[17]</sup>研究发现:枸杞多糖能降低四氯化碳肝损伤模型、酒精性肝损伤模型小鼠血清 ALT、AST 和炎症因子等指标的水平,减轻造模剂对肝组织结构的损伤,对四氯化碳或酒精引起的肝损有保护作用。虽然上述研究采用了不同的造模剂与实验动物,肝损伤机制也不尽相同,但均说明枸杞多糖在减轻肝、胆损伤及炎症损害方面有稳定的功效,与本实验结果一致。

本实验用造模剂 ANIT 刺激大鼠肝脏建立的肝内胆汁淤积模型与临床胆汁淤积的病理生理过程极为接近<sup>[18]</sup>,对临床实践有较高的参考价值。ANIT 经肝脏代谢,对胆管上皮细胞有选择性损伤作用,受损的胆管上皮细胞释放炎症因子,引发炎症反应,损伤毛细胆管<sup>[7]</sup>,使胆汁排泄不畅,TBA 肝内堆积。TBA 堆积可损伤肝细胞膜的结构和功能,引起肝细胞死亡,激活炎症和纤维化信号通路<sup>[19]</sup>。炎症反应在肝内胆汁淤积的发生发展中起重要作用,胆汁淤积常并发胆管炎症,致 WBC、GR% 升高<sup>[10]</sup>。枸杞多糖可通过抑制炎症反应途径保护肝脏免受损伤<sup>[20]</sup>,有研究显示 200 mg/kg 的枸杞多糖可减轻大鼠的炎症反应<sup>[21]</sup>。在本实验中,枸杞多糖高剂量(600 mg/kg)组大鼠血液 WBC 降低,肝脏炎症反应减轻,提示通过抑制炎症反应,减轻胆管损伤,缓解胆汁排泄障碍,减轻肝细胞损伤可能是枸杞多糖改善胆汁淤积性肝损害的重要机制。此外,枸杞多糖还具有良好的抗氧化功效,可提高大鼠组织中的抗氧化酶活性、谷胱甘肽水平,降低丙二醛水平,通过介导 p53、AMPK 和核因子  $\kappa$ B 信号通路减少氧化应激损伤,抑制肝细胞凋亡来保护肝脏<sup>[20, 22]</sup>。

枸杞多糖是一组分子量为 10~2 300 kDa 的水溶性糖缀合物,其结构与生物学活性是复杂的、多方面的<sup>[22]</sup>,故其对胆汁淤积性肝损伤的改善作用也是多方面的。要全面了解其作用机制,尚需从代谢组学、蛋白质组学等方面进一步研究。

#### 参考文献

[1] 中华医学会肝病学会,中华医学会消化病学分会,中华医学会感染病学分会.胆汁淤积性肝病诊断和治疗共识(2015)[J].胃肠病学,2016,21(1):39-51.  
[2] YAN J Y, XIE G X, LIANG C G, et al. Herbal medicine *Yinchenhaotang* protects against  $\alpha$ -naphthylisothiocyanate induced cholestasis in rats [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4211-4225.

[3] 刘洪涛,杨玉鹏,任炳楠,等.胆汁淤积性肝病治疗药物的临床研究进展[J].化学试剂,2021,43(1):34-40.  
[4] 冯彦.枸杞多糖药理作用与临床应用[J].中国现代药物应用,2016,10(6):278-279.  
[5] 王莉,叶维佳,吴红静,等.黑果枸杞多糖对大鼠肝损伤的保护研究[J].食品工业科技,2020,41(14):287-296.  
[6] 杜丽娜,杨燕.胆汁淤积动物模型的构建及应用前景[J].临床肝胆病杂志,2019,35(2):445-447.  
[7] 欧巧群,钱新华,黄笑群,等.ANIT 诱导大鼠亚急性肝内胆汁淤积的生化和病理变化[J].胃肠病学和肝病杂志,2015,24(4):463-468.  
[8] 夏勇,傅剑云,蔡德雷,等.某栀子复方中药制剂的安全性评价[J].预防医学,2019,31(8):786-794.  
[9] 卫双连,汪杰,李德民.獐牙菜苦苷对大鼠胆汁淤积性肝损伤肝纤维化的抑制作用[J].世界华人消化杂志,2016,24(23):3482-3487.  
[10] 葛均波,徐永健,王辰,等.内科学(第9版)[J].北京:人民卫生出版社,2018:401-425.  
[11] SUN F X, LI X L, XU C J, et al. Effect of compound *Yindan* decoction on  $\alpha$ -naphthylisothiocyanate induced acute intrahepatic cholestasis in rats [J]. *Tradit Chin Med*, 2019, 39(3): 315-323.  
[12] 冯丽娜,张晓雪,黄剑洁,等.原发性胆汁性胆管炎并发高脂血症的研究现状[J].临床肝胆病杂志,2021,37(1):221-224.  
[13] 万学红,卢雪峰.诊断学(第9版)[M].北京:人民卫生出版社,2018:363-366.  
[14] 夏勇,徐彩菊,鹿伟,等.某复方中药制剂引起大鼠肝肾色素沉积的研究[J].预防医学,2020,32(10):1004-1009.  
[15] 李梅林,刘建飞,邸多隆,等.枸杞多糖防治化学性肝损伤的药理作用研究[J].食品科技,2018,43(9):238-243.  
[16] 伍智慧,冉喆,张晴晴,等.枸杞多糖对四氯化碳致急性肝损伤小鼠的保护作用[J].宁夏医科大学学报,2021,43(4):364-369.  
[17] 魏芬芬,王文娟,贺青华,等.枸杞多糖对小鼠酒精性肝损伤的保护作用及机制研究[J].药物评价研究,2019,42(5):852-857.  
[18] 陈楚颖,代曼云,徐港铭,等.两种胆汁淤积模型肝毒性及胆汁酸代谢调控模式研究[J].中西医结合肝病杂志,2018,28(4):230-233.  
[19] JIN F, CHENG D, TAO J Y, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of corilagin in a rat model of acute cholestasis [J/OL]. *BMC Gastroenterol*, 2013, 13: 79 (2013-03-03) [2021-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23641818>. DOI: 10.1186/1471-230X-13-79.  
[20] 孟姣,吕振宇,孙传鑫,等.枸杞多糖药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2018,29(10):2489-2493.  
[21] POP C, BERCE C, GHIBU S, et al. Effects of *Lycium barbarum* L. polysaccharides on inflammation and oxidative stress markers in a pressure overload-induced heart failure rat model [J]. *Molecules*, 2020, 25(3): 466-470.  
[22] TIAN X J, LIANG T S, LIU Y L, et al. Extraction, structural characterization, and biological functions of *Lycium barbarum* polysaccharides: a review [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(9): 389-400.

收稿日期:2021-05-08 修回日期:2021-07-02 本文编辑:徐文璐