

灵芝孢子粉多糖对APAP肝损伤的保护作用研究

刘洋, 韩忠明, 刘琳玲, 李金涛, 张楠, 闫梅霞

Protect Effects of *Ganoderma lucidum* Spore Polysaccharide on Liver Injury Caused by Acetaminophen

LIU Yang, HAN Zhongming, LIU Linling, LI Jintao, ZHANG Nan, and YAN Meixia

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040285>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

灵芝子实体和孢子粉纯化多糖体外抗氧化活性研究

Antioxidant Activities of *Ganoderma lucidum* Fruit Body and Spore Powder Polysaccharide *in Vitro*

食品工业科技. 2019, 40(16): 27-31 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.16.005>

破壁对灵芝孢子粉品质的影响

Effect of Broken Wall on the Quality of *Ganoderma lucidum* Spore Powder

食品工业科技. 2020, 41(23): 51-56 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019100042>

蝉花孢子粉多糖的酶辅助提取及其对酒精性肝损伤小鼠的保护作用

Enzyme-assisted Extraction of Polysaccharides from *Cordyceps cicadae* Spores and Its Hepatoprotective Effect against Alcohol-induced Liver Injury in Mice

食品工业科技. 2021, 42(2): 295-301,309 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020010123>

灵芝孢子粉生物活性成分及药理作用

Research Progress in Bioactive Ingredients and Pharmacological Functions of *Ganoderma lucidum* Spores

食品工业科技. 2020, 41(6): 325-331 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.06.054>

破壁与去壁灵芝孢子粉的化学成分与抗氧化活性比较

Comparative Analysis of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Sporoderm-removal and Sporoderm-broken *Ganoderma lucidum* Spore Powder

食品工业科技. 2020, 41(10): 32-37,51 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.10.006>

灵芝孢子粉蜂胶复合物对小鼠免疫功能的影响

Effect of *Ganoderma lucidum* Spores and Propolis Complex on Immune Function in Mice

食品工业科技. 2019, 40(6): 294-297,302 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.06.050>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

刘洋, 韩忠明, 刘琳玲, 等. 灵芝孢子粉多糖对 APAP 肝损伤的保护作用研究 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(11): 289–295. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040285

LIU Yang, HAN Zhongming, LIU Linling, et al. Protect Effects of *Ganoderma lucidum* Spore Polysaccharide on Liver Injury Caused by Acetaminophen[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(11): 289–295. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040285

· 营养与保健 ·

灵芝孢子粉多糖对 APAP 肝损伤的保护作用研究

刘 洋^{1,2}, 韩忠明², 刘琳玲¹, 李金涛¹, 张 楠^{1,2}, 闫梅霞^{1,*}

(1. 中国农业科学院特产研究所, 吉林长春 130112;

2. 吉林农业大学中药材学院, 吉林长春 130118)

摘要:目的: 探讨灵芝孢子粉多糖 (*Ganoderma lucidum* spore polysaccharide, GLSP) 在对乙酰氨基酚 (Acetaminophen, APAP) 肝损伤中的保护作用。方法: 将 50 只小鼠随机分为五组, 分别为空白组、模型组、阳性药物组、GLSP 低剂量组和 GLSP 高剂量组, 每组 10 只, 各组按相应剂量连续 14 d 预给药后, 使用 APAP 造模、取材, 测定肝脏指数、血清指标 (谷草转氨酶 (glutamic oxalacetic transaminase, AST)、谷丙转氨酶 (glutamic-pyruvic transaminase, ALT)) 及肝组织匀浆指标 (谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、丙二醛 (malonaldehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、Caspase-3、Bax 和 Bcl-xl)。结果: 与空白组相比, 模型组中 ALT、AST、MDA 及促凋亡基因 Caspase-3、Bax 均极显著升高 ($P<0.01$), SOD、GSH 含量极显著降低 ($P<0.01$), HE 染色结果显示 APAP 处理的小鼠肝脏出现典型的小叶中心性坏死; 多糖剂量组与模型组相比 ALT、AST 极显著降低 ($P<0.01$), 多糖低剂量组 SOD、GSH 显著升高 ($P<0.05$), MDA 显著降低 ($P<0.05$), 在多糖高剂量组中, SOD、GSH 极显著升高 ($P<0.01$), MDA 极显著降低 ($P<0.01$), 多糖组促凋亡基因 Caspase-3、Bax 极显著降低 ($P<0.01$), 且肝组织病理学观察中可见肝组织坏死面积减小。结论: 灵芝孢子粉多糖对 APAP 肝损伤能够起到预保护作用, 其作用机制可能与提高肝脏的抗氧化能力和抑制凋亡的发生有关。

关键词: 灵芝孢子粉, 多糖, APAP, 抗氧因子, 凋亡基因

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)11-0289-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040285



本文网刊:

Protect Effects of *Ganoderma lucidum* Spore Polysaccharide on Liver Injury Caused by Acetaminophen

LIU Yang^{1,2}, HAN Zhongming², LIU Linling¹, LI Jintao¹, ZHANG Nan^{1,2}, YAN Meixia^{1,*}

(1. Institute of Special Animal and Plant Sciences of Chinese Academy of Agricultural Sciences,

Changchun 130112, China;

2. College of Traditional Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: Objective: To investigate the protective effects of *Ganoderma lucidum* spore polysaccharide (GLSP) on liver injury caused by acetaminophen (APAP). Methods: Fifty mice were randomly divided into five groups: Blank group, model group, positive drug group, GLSP low-dose group and GLSP high-dose group, with 10 mice in each group. After each group was pre-administered according to the corresponding dose for 14 consecutive days, the liver index, serum indexes (glutamic oxalacetic transaminase (AST), glutamic-pyruvic transaminase (ALT)) and liver tissue plasma indexes (glutathione (GSH), malonaldehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), Caspase-3, Bax and Bcl-xl) were determined.

收稿日期: 2023-05-04

基金项目: 吉林省科技发展规划项目 (20210401101YY)。

作者简介: 刘洋 (1994-), 男, 硕士, 研究方向: 食药菌, E-mail: 3227388379@qq.com。

* 通信作者: 闫梅霞 (1982-), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 食药菌, E-mail: yanmeixia@126.com。

Results: Compared with the blank group, ALT, AST, MDA and proapoptotic genes *Caspase-3* and *Bax* were very significantly increased in the model group ($P<0.01$). The contents of SOD and GSH decreased very significantly ($P<0.01$), and HE staining showed that APAP treated mice showed typical lobular central necrosis of liver. Compared with model group, ALT and AST were very significantly decreased in polysaccharide dose group ($P<0.01$), SOD and GSH were significantly increased ($P<0.05$) and MDA was significantly decreased in polysaccharide low-dose group ($P<0.05$), SOD and GSH were very significantly increased ($P<0.01$) and MDA was very significantly decreased in polysaccharide high-dose group ($P<0.01$), and pro-apoptotic genes *Caspase-3* and *Bax* were very significantly decreased in polysaccharide group ($P<0.01$), and the liver histopathological observation showed that the necrotic area of liver tissue decreased. Conclusion: *Ganoderma lucidum* spore polysaccharide can preprotect APAP liver injury, and its mechanism may be related to improving the antioxidant capacity of liver and inhibiting the occurrence of apoptosis.

Key words: *Ganoderma lucidum* spore; polysaccharide; acetaminophen (APAP); antioxidant factor; apoptosis gene

灵芝孢子 (*Ganoderma lucidum* spore) 是灵芝 (*Ganoderma lucidum*) 子实体弹射出的极细小的孢子, 为灵芝的生殖细胞, 孢子内具有灵芝的全部遗传活性物质, 主要化学成分有多糖类、三萜类、脂肪酸类、核苷类等^[1-2]。灵芝中的多糖类为天然产物, 具有较高的安全性, 具有抗肿瘤^[3]、保肝^[4]、免疫调节^[5]、抗氧化^[6]等作用。其保肝作用尤为突出, 对酒精^[7-8]、D-氨基半乳糖^[9]、CCl₄^[10] 以及鹅膏毒肽^[11] 等所致肝损伤可起到降低 ALT 和 AST 活力、改善肝脏氧化应激水平等作用。

对乙酰氨基酚, 也称为扑热息痛、APAP, 是一种临床上常用的解热镇痛药^[12]。在治疗剂量内, 对乙酰氨基酚具有退热、止痛效果, 但超出安全剂量的 APAP 在肝脏代谢后形成与谷胱甘肽(GSH)结合的活性代谢物 N-乙酰苯亚胺基醌(NAPQI), 使 GSH 耗竭, 进而导致肝损伤, 严重的甚至导致肝衰竭和死亡^[13-14]。N-乙酰半胱氨酸(NAC)是目前 FDA 唯一批准用于治疗肝脏毒性的药物, 其结构主要为半胱氨酸的 N-乙酰化衍生物^[15], 然而对超过 8 h 肝损伤患者的治疗效果显著降低^[16]。4-甲基吡唑、亚甲基蓝和二甲双胍等药物对肝损伤也有一定治疗作用, 但这些药物有的处于临床试验阶段, 有的存在着服用剂量和副作用较大、作用机制尚不完全明确等问题^[17]。因此, 开发具有预防和治疗肝损伤作用的天然药物具有重要意义。

灵芝孢子粉多糖为天然多糖, 目前研究证实其具备保肝作用, Li 等^[18] 发现灵芝多糖在哺乳动物中对化学、自身免疫和氧化应激引起的肝损伤具有显著影响, 灵芝多糖对 CCl₄ 诱导的鲤鱼肝损伤具有保肝和抗氧化作用, 灵芝多糖显著降低 CYP450 酶的活性, 并下调 NF- κ B 和炎症细胞因子的基因表达水平。常珊珊等^[19] 指出灵芝多糖通过调节依赖于 FXR-SHP/FGF 途径的胆汁酸合成并抑制其下游脂肪途径, 确定了灵芝多糖对非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 的治疗作用。本研究通过动物模型实验, 探究灵芝孢子粉多糖对对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤的保护作用机制, 为治疗 APAP 诱导急性肝损伤提供参考, 也为后续基础研究和临床实践提供方向以及灵芝的产品开发和应用提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

50 只雄性 ICR 小鼠 (20~22 g) 由辽宁省长生生物技术股份有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK(辽)2020-0001。实验期间, 小鼠的饲养温度维持在 (23±1) °C, 湿度 55%±10%, 光照黑暗各 12 h 的循环环境中。动物实验经中国农业科学院特产研究所实验动物管理及福利伦理委员会批准, 编号: 特产所动(福)第 2022-059M 号 (NO.ISAPSAEC-2022-059M); 灵芝孢子粉多糖 由木段基质灵芝孢子粉 (中国农业科学院特产研究所食药菌团队提供) 经乙醇脱脂后, 以热水浴方法进行提取^[20] 得到, 经测定粗多糖中多糖含量为 93.3%; 对乙酰氨基酚 上海阿拉丁科技股份有限公司; 谷丙转氨酶试剂盒 (C009-2-1)、谷草转氨酶试剂盒 (C010-2-1)、谷胱甘肽试剂盒 (A006-2-1)、丙二醛试剂盒 (A003-1-2)、超氧化物歧化酶试剂盒 (A001-3-2) 南京建成生物工程研究所; TRNzol Universal 试剂盒 (DP424) 北京天根生物; HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (R211-01)、Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix (Q712-02) 诺唯赞生物科技有限公司; 无水乙醇、二甲苯、福尔马林溶液等 均为国产分析纯。

D3024R 高速冷冻离心机 美国 SCILOGEX; Epoch 酶标仪 BioTek; 组织包埋机、半自动石蜡切片机 德国 Leica; NLCD500 数码生物显微镜 江南永新光学股份有限公司; T25 可调高速匀浆机 IKA; 荧光定量 PCR 仪 德国 Analytik Jena。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物的分组与造模给药 将小鼠随机分为 5 组, 分组信息详见表 1。小鼠适应性喂养 3 d

表 1 实验动物分组信息

Table 1 Grouping information of experimental animals

分组	药物	剂量 (mg/kg)	数量 (只)
空白组	生理盐水	—	10
模型组	生理盐水	—	10
阳性药物组	联苯双酯滴丸	150	10
多糖低剂量组	灵芝孢子粉多糖	150	10
多糖高剂量组	灵芝孢子粉多糖	600	10

后, 各组按相应剂量灌胃给药, 小鼠饲养环境温度控制为 $(23\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 。连续预给药 14 d 后, 模型组、阳性药物组及多糖剂量组腹腔注射对乙酰氨基酚 (250 mg/kg) 造模, 造模后禁食不禁水, 24 h 后称量体重, 进行眼球取血, 血浆室温静置 1 h 后以 3500 r/min 离心 15 min, 取血清, 4°C 冷藏, 用于后续相应指标的测定。取血后小鼠颈椎脱臼处死, 沿腹中线剖开腹腔, 取出肝脏, 置于预冷的生理盐水中清洗干净, 滤纸吸干水分, 称量肝脏重量。小鼠肝组织分两部分保存, 一部分保存于 -80°C 冰箱中, 另一部分置于 10% 的中性福尔马林溶液中固定, 用于病理切片的制作。

正式实验前进行预实验, 确定 APAP 造模剂量为 250 mg/kg , 造模时间为 24 h。

1.2.2 小鼠肝脏指数的测定 造模 24 h 后, 称量小鼠体重及肝组织重, 肝脏指数按下列公式进行计算。

$$\text{肝脏指数}(\%) = \frac{\text{肝组织重量}(\text{g})}{\text{小鼠体重}(\text{g})} \times 100$$

1.2.3 血清中 ALT、AST 的测定 血清中的 ALT 和 AST 参照试剂盒说明书进行测定。

1.2.4 GSH、MDA、SOD 的测定 取肝组织加生理盐水, 使用匀浆机匀浆, 制备成 10% 组织匀浆液, 参照试剂盒说明书, 对肝组织中的 GSH、MDA、SOD 进行测定。

1.2.5 肝组织形态学观察 小鼠的肝组织称重后置于 10% 中性福尔马林溶液中固定。固定好的组织流水冲洗 3 次, 每次 20 min。再经梯度乙醇 $(75\%$ -

85% - 95% - 95% -无水乙醇-无水乙醇-无水乙醇)脱水, 二甲苯透明 $(20\text{ min}, 10\sim 20\text{ min})$ 后浸蜡包埋。包埋好的组织经切片 $(4\text{ }\mu\text{m})$ 、展片、捞片后脱蜡复水, 再以苏木素-伊红(HE)染色后脱水封片, 显微镜下观察肝组织形态学变化^[21-22]。

1.2.6 凋亡相关基因的检测

1.2.6.1 总 RNA 的提取及 cDNA 的制备 参照 TRNzol Universal 试剂盒说明书进行总 RNA 的提取, 并测定提取的总 RNA 浓度。按 HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒说明书进行第一链 cDNA 合成反应, 合成好的 cDNA 置于 -20°C 保存, 备用。

1.2.6.2 qPCR 引物设计合成由吉林省库美生物技术有限公司完成, 以上述合成的 cDNA 为模板, 进行实时荧光定量 PCR。引物信息见表 2, 按 Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒说明书进行 qPCR 反应(表 3)。

1.3 数据处理

所有数值均以平均数 $\pm$ 标准偏差表示, 采用 SPSS 进行单因素方差分析。运用 GraphPad Prism 8.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 肝脏指数

小鼠肝脏指数见表 4, 与空白组相比, 模型组肝指数极显著升高 $(P<0.01)$, 可能是由于肝细胞受到损伤, 提示小鼠肝脏发生肿胀、坏死。与模型组相比, 阳性药物组肝脏指数极显著降低 $(P<0.01)$, 低剂量组

表 2 引物信息
Table 2 Primer information

基因名称	引物序列(5'-3')	
	上游引物	下游引物
<i>GAPDH</i>	CGTGCCGCTGGAGAAACC	TGGAAGAGTGGGAGTTGCTGTTG
<i>Caspase3</i>	GTGTCCATGCTACGAAAGA	CCAGGAGGACCGTCAGATTA
<i>Bax</i>	CTCAAGGCCCTGTGCACTAA	CACGGAGGAAGTCCAGTGTC
<i>Bcl-xl</i>	TGACCACCTAGAGCCTTGGA	TGTTCCCGTAGAGATCCACAA

表 3 反应程序
Table 3 Reaction procedure

步骤	重复次数	反应温度($^{\circ}\text{C}$)	反应时间
预变性	1	95	3 min
循环反应	40	95	3 s
		60	32 s
		95	15 s
熔解曲线	1	60	60 s
		95	15 s

表 4 各组小鼠的肝脏指数
Table 4 Liver index of mice in each group

组别	空白组	模型组	阳性药物组	GLSP低剂量组	GLSP高剂量组
肝脏指数(%)	4.05 $\pm$ 0.21	6.21 $\pm$ 0.12**	4.67 $\pm$ 0.11##	5.66 $\pm$ 0.30#	4.63 $\pm$ 0.18##

注: *表示与空白组相比具有显著性差异 $(P<0.05)$, **表示与空白组相比具有极显著差异 $(P<0.01)$; #表示与模型组相比具有显著性差异 $(P<0.05)$, ##表示与模型组相比具有极显著差异 $(P<0.01)$; 表5~表6, 图2同。

肝指数显著降低($P<0.05$),多糖高剂量组的肝指数与阳性药物组相近,与模型组相比均极显著降低($P<0.01$),说明 GLSP 可能对 APAP 肝损伤有预保护的作用。

2.2 血清中 ALT、AST 的水平

ALT、AST 是反映肝损伤的敏感指标,当肝细胞受损时两者均会快速释放进入血液^[23],ALT、AST 的升高标志着肝损伤。本实验 ALT、AST 测定结果见表 5,与空白组相比,模型组中两种酶的活性极显著升高($P<0.01$),表明肝细胞发生损伤,造模成功;与模型组相比,阳性药物组、多糖剂量组的两种酶活性都极显著降低($P<0.01$),且呈剂量相关性,说明 GLSP 对 APAP 肝损伤具有保护作用。

2.3 GSH、MDA、SOD 的水平

SOD 的主要作用就是降解清除体内的活性氧自由基,因此检测 SOD 的活性可以反映清除自由基的能力及抗氧化能力。GSH 是肝脏细胞内主要的水溶性抗脂质过氧化的物质,它除了能调节细胞内氧化还原反应外,还有非常明显的解毒功能。因此,测定 GSH 的含量可以了解氧化应激反应及脂质过氧化的

程度。MDA 是自由基作用于脂质发生过氧化反应的最终产物之一。因此,通过测定 MDA 的含量可以反映机体脂质过氧化的程度,是最常用的膜脂质过氧化指标^[24]。测定结果如表 6 所示,与空白组相比,模型组中 GSH 极显著降低($P<0.01$),提示过量 APAP 在肝脏代谢时大量消耗 GSH,同时,还原性酶 SOD 含量极显著降低,氧化产物 MDA 含量极显著升高($P<0.01$),提示肝脏氧化应急水平升高;与模型组对比,多糖低剂量组 GSH、SOD 显著升高,MDA 含量显著降低($P<0.05$);多糖高剂量组中 SOD 的活性及 GSH 含量极显著升高,同时 MDA 极显著降低($P<0.01$),提示 GLSP 可提升 APAP 肝损伤中的抗氧因子水平,其保肝作用可能与调节肝组织中的氧化应激水平有关。

2.4 肝组织 HE 染色结果

小鼠肝组织 HE 染色见图 1,空白组肝细胞完整,细胞核呈圆形位于中央,胞浆完整,肝索清晰;模型组肝细胞破裂,核丢失,肝索排列紊乱,中央静脉周围出现大面积坏死和炎症浸润;预给予多糖后,各剂量组小叶结构清晰,多糖低剂量组肝细胞坏死面积有

表 5 血清中 AST 和 ALT 的活性

Table 5 Activity of AST and ALT in serum

组别	空白组	模型组	阳性药物组	GLSP低剂量组	GLSP高剂量组
AST(U/L)	44.7±7.0	285.1±4.9**	58.8±9.4##	142.6±6.5##	67.4±15.6##
ALT(U/L)	41.0±3.2	224.4±8.5**	38.5±3.3##	178.5±2.5##	43.4±1.2##

表 6 肝组织匀浆中 SOD、GSH 和 MDA 的水平

Table 6 SOD, GSH and MDA levels in liver tissue homogenate

组别	空白组	模型组	阳性药物组	GLSP低剂量组	GLSP高剂量组
SOD(U/mg prot)	4.95±0.11	2.58±0.14**	4.30±0.27##	3.51±0.27#	3.93±0.06##
GSH(μmol/g prot)	7.41±0.69	1.57±0.15**	11.74±2.16##	2.40±0.68#	9.85±2.72##
MDA(nmol/mg prot)	1.44±0.05	3.52±0.34**	1.44±0.03##	2.51±0.31#	1.95±0.30##

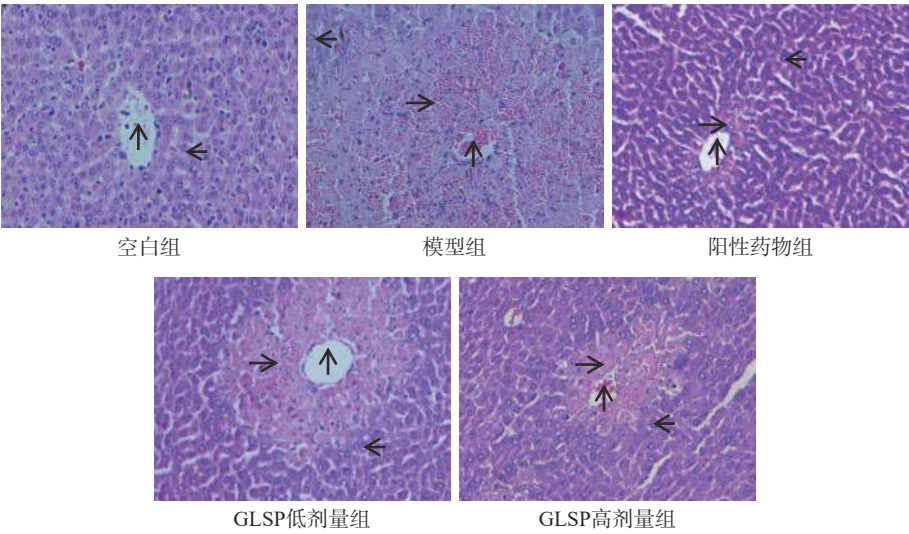


图 1 肝组织病理切片(HE, 200×)

Fig.1 Pathological section of liver tissue (HE, 200×)

注: 图中↑为中央静脉, →为坏死和炎症浸润, ←为正常肝细胞。

所减少,阳性药物组和多糖高剂量组可见损伤程度明显减轻。

2.5 凋亡相关基因的测定结果

细胞凋亡基因主要包括两类:促进凋亡基因和抑制凋亡基因。*Bax* 属于促进凋亡基因,其能够直接或间接促进细胞凋亡的发生;*Bcl-xl* 属于抑制凋亡基因,其能够抑制细胞凋亡的发生;另外 *Caspase* 家族也是细胞凋亡调控中不可或缺的一部分,其能够直接参与细胞凋亡的执行过程,从而促进细胞凋亡的发生^[25]。小鼠肝组织中 *Caspase3*、*Bax*、*Bcl-xl* 的 mRNA 表达水平见图 2。与空白组相比,模型组中凋亡因子 *Caspase3*、*Bax* 的表达极显著升高($P<0.01$),提示肝细胞发生凋亡;与模型组相比,多糖低、高剂量组均极显著降低促凋亡基因 *Caspase3*、*Bax* 的表达($P<0.01$),提示 GLSP 的保肝活性可能与参与调节凋

亡基因的表达有关。此外,各剂量组抑凋亡基因 *Bcl-xl* 的 mRNA 表达差异均不显著。

3 讨论

目前,APAP 诱导的肝损伤已成为测试天然类药物和其他肝脏保护干预措施中最流行的和临床相关的模型^[26]。血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶是评估肝功能的典型指标,二者的急剧升高是肝损伤发生的标志之一^[27]。在本研究中,给予 APAP 后,小鼠两种酶活性以及肝指数极显著升高,提示小鼠的肝细胞发生损伤;同时,肝脏的病理变化也证实了这一点,可见模型组的肝小叶结构紊乱、炎症浸润和肝细胞坏死;阳性药物组和多糖剂量组的 ALT、AST 和肝指数均显著降低,肝组织的病理病变得得到治疗和缓解,灵芝孢子粉多糖与灵芝菌丝体多糖效果一致,都能起到降低 ALT、AST 的作用^[8],且灵芝孢子粉多糖降低 AST 效果更显著。

据报道,灵芝中的多糖可能减少肝损伤的程度,其保肝活性常归因于抗氧化和抗炎特性^[28]。在 APAP 肝损伤类型中,氧化应激也是导致其肝毒性的主要原因之一,过量的 APAP 导致 GSH 的大量消耗,肝脏氧化水平升高,使线粒体功能障碍,细胞坏死进而诱发无菌炎症和凋亡^[29]。本研究中,多糖剂量组的 GSH 含量显著高于模型组,且与阳性药物组相比差异不显著,提示 GLSP 可能具有保护 APAP 肝损伤的潜力。此外,肝组织中还原酶 SOD 和氧化产物 MDA 也可以作为判断氧化应激水平的重要依据^[30],相对于模型组,多糖组中这两种指标均有所改善,MDA 和 SOD 水平的提高可以加快体内脂质代谢和氧化分解,通过减轻氧化应激反应并提高抗氧化能力来保护肝脏^[7]。

细胞凋亡是细胞的程序性死亡,在急性肝损伤中发挥着重要的作用^[31-32]。过量 APAP 引起的线粒体膜透化可能激活 *Bax* 凋亡因子,导致细胞色素 c 从线粒体释放到细胞质中,触发半胱天冬酶级联反应导致细胞凋亡^[33],*Caspase3*、*Bax* 和 *Bcl-xl* 这些凋亡基因在该过程中起到调控作用。本实验结果与前人研究基本一致,模型组促凋亡基因 *Caspase3*、*Bax* 表达升高,阳性药或多糖预给药组促凋亡基因表达极显著降低,提示 GLSP 的保肝作用可能和参与调节细胞凋亡有关,而抑凋亡基因 *Bcl-xl* 却呈降低趋势且差异并不显著。此外,关于 APAP 肝损伤过程中有关凋亡的研究中,Xandra 等^[34]认为坏死可能在 APAP 肝损伤中细胞坏死占据主导地位;Schulze 等^[35]和 Loyal 等^[36]认为 APAP 的 TUNEL 染色是胞质性的,而不是凋亡性肝细胞死亡中常见的核阳性,且不伴有 *Caspase3* 的裂解,也不能被 *Caspase* 抑制剂阻止。因此,GLSP 对 APAP 肝损伤的保护作用还有待深入研究。

4 结论

综上所述,灵芝孢子粉多糖对 APAP 肝损伤具

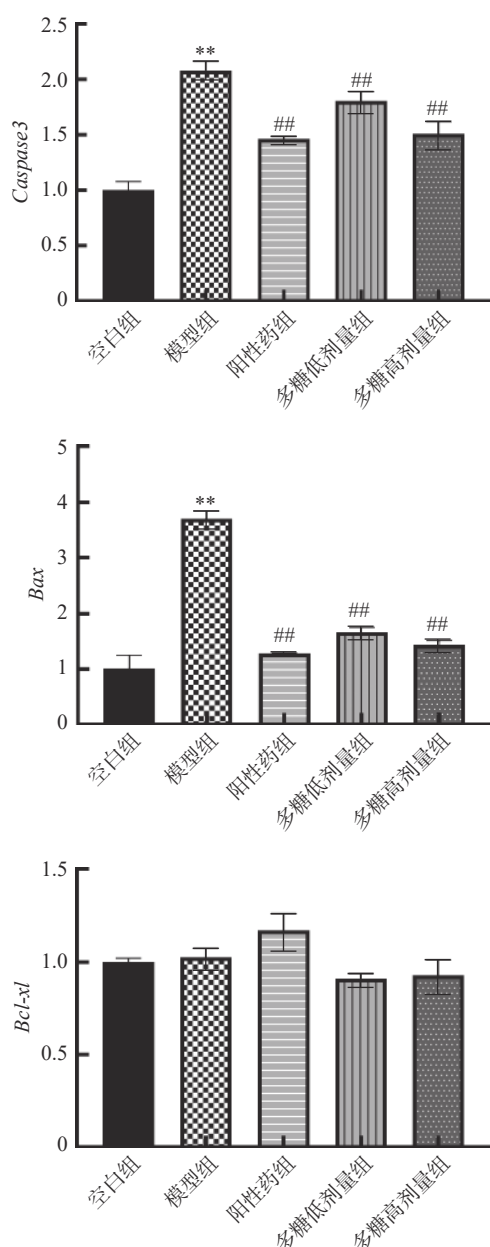


图 2 *Caspase3*、*Bax*、*Bcl-xl* 的 mRNA 表达水平

Fig.2 mRNA expression levels of *Caspase3*, *Bax* and *Bcl-xl*

有保护作用,灵芝孢子粉多糖可降低血清中 AST、ALT,并对抗氧化指标 SOD、GSH、MDA 和促凋亡基因 *Caspase-3*、*Bax* 均有改善。故其机制可能与调节肝组织的氧化应激水平、抑制凋亡的发生有关。同时,在本次实验中,仅初步探讨灵芝孢子粉粗多糖对 APAP 肝损伤的保护作用,其详细的作用机制仍需进一步研究。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] 包县峰,徐勇,刘维明,等.灵芝孢子粉生物活性成分及药理作用[J].食品工业科技,2020,41(6):325-331. [BAO X F, XU Y, LIU W M, et al. Research progress in bioactive ingredients and pharmacological functions of *Ganoderma lucidum* spores[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(6): 325-331.]
- [2] 刘洋,覃媚媚,罗印斌,等.灵芝孢子主要活性成分及其功能研究进展[J].北方园艺,2020(5):138-146. [LIU Y, QIN M M, LUO Y B, et al. Research progress on component and function of *Ganoderma lucidum* spore[J]. Northern Horticulture, 2020(5): 138-146.]
- [3] 井子良,吴纯宇,张慧敏,等.灵芝孢子油番茄红素复合物的抗肿瘤作用[J].现代食品科技,2022,38(9):46-51. [JING Z L, WU C Y, ZHANG H M, et al. Antitumor activity of *Ganoderma* spore oil-lycopene complex[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(9): 46-51.]
- [4] 路子佳,范春雪,辛念,等.灵芝孢子油对四氯化碳联合高脂饮食诱导大鼠肝纤维化的作用研究[J].食品科学技术学报,2023,41(1):67-76. [LU Z J, FAN C X, XIN N, et al. Study on effects of *Ganoderma lucidum* spore oil on liver fibrosis in rats induced by carbon tetrachloride combined with high fat diet[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023, 41(1): 67-76.]
- [5] 罗爱勤,王彤,陈亮,等.醇沉法和膜分离法制备灵芝孢子多糖免疫调节活性比较[J].食用菌学报,2023,30(1):73-78. [LUO A Q, WANG T, CHEN L, et al. Comparison of immunomodulatory activity of *Ganoderma lucidum* spore polysaccharides prepared by alcohol precipitation and membrane separation[J]. Acta Edulis Fungi, 2023, 30(1): 73-78.]
- [6] 刘宇琪,郝利民,鲁吉珂,等.灵芝子实体和孢子粉纯化多糖体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2019,40(16):27-31. [LIU Y Q, HAO L M, LU J K, et al. Antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* fruit body and spore powder polysaccharide *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(16): 27-31.]
- [7] 叶丽云,程冰,马水丽,等.赤芝多糖对小鼠急性酒精性肝损伤的保护效果和作用机制[J].食品科学,2022,43(5):103-110. [YE L Y, CHENG B, MA S L, et al. Preventive effect and mechanism of *Ganoderma lingzhi* polysaccharides on acute alcoholic liver injury in mice[J]. Food Science, 2022, 43(5): 103-110.]
- [8] 赵婷婷,戴映笛,舒昉,等.灵芝菌丝体多糖提取工艺优化及其对慢性酒精肝损伤的保护作用[J].食品工业科技,2023,44(5):388-396. [ZHAO T T, DAI Y D, SHU F, et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides from *Ganoderma lingzhi* mycelium and its protective effect on alcoholic liver injury[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(5): 388-396.]
- [9] 叶丽云,孟国良,吴龙月,等.灵芝子实体多糖对小鼠急性酒精肝损伤预防的代谢组分析[J].菌物学报,2021,40(9):2376-2389. [YE L Y, MENG G L, WU L Y, et al. Preventive effects of the *Ganoderma lingzhi* fruit-body polysaccharides on the acute alcoholic injury of mice liver based on metabolomics analysis[J]. Mycosystema, 2021, 40(9): 2376-2389.]
- [10] 周婕,周宏星,陈玉胜.灵芝多糖对D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2014,30(5):84-86. [ZHOU J, ZHOU H X, CHEN Y S. Protective effects of *Ganoderma* polysaccharide on D-galactamine induced acute liver injury in mice[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia, 2014, 30(5): 84-86.]
- [11] 陈玉胜,陈全战.灵芝多糖对CCl₄诱导的急性肝损伤小鼠的抗炎和保肝活性[J].食品科学,2017,38(17):210-215. [CHEN Y S, CHEN Q Z. Anti-Inflammatory and hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice[J]. Food Science, 2017, 38(17): 210-215.]
- [12] CAI X P, CAI H Q, WANG J, et al. Molecular pathogenesis of acetaminophen-induced liver injury and its treatment options[J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2022, 23(4): 265-285.
- [13] YAN M Z, HUO Y Z, YIN S T, et al. Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions[J]. Redox Biology, 2018, 17: 274-283.
- [14] GHANEM C I, PÉREZ M J, MANAUTOU J E, et al. Acetaminophen from liver to brain: New insights into drug pharmacological action and toxicity[J]. Pharmacological Research, 2016, 109: 119-113.
- [15] YUVAL S, SARA G, DEAN O M, et al. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine[J]. Biochimica et Biophysica acta, 2013, 1830(8): 4117-4129.
- [16] SMILKSTEIN M J, KNAPP G L, KULIG K W, et al. Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985)[J]. The New England Journal of Medicine, 1988, 319(24): 1557-1562.
- [17] JAESCHKE H, AKAKPO J Y, DAVID S U, et al. Novel therapeutic approaches against acetaminophen-induced liver injury and acute liver failure[J]. Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology, 2020, 174(2): 159-167.
- [18] LI W J, NIE S P, YAN Y, et al. The protective effect of *Ganoderma atrum* polysaccharide against anoxia/reoxygenation injury in neonatal rat cardiomyocytes[J]. Life Sciences, 2009, 85(17-18): 634-641.
- [19] 常珊珊,王爽,吴锋,等.灵芝多糖对非酒精性脂肪肝大鼠PPAR γ 和环氧化酶-2表达的影响[J].交通医学,2013,27(1):9-13. [CHANG S S, WANG S, WU F, et al. Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on the PPAR γ and COX-2 in the rat with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Medical Journal of Communications, 2013, 27(1): 9-13.]
- [20] 侯廷花,杨锦颖,杨星星,等.响应面法优化灵芝孢子粉药渣多糖提取工艺[J].时珍国医国药,2020,31(1):199-202. [HOU T H, YANG J Y, YANG X X, et al. Response surface method was used to optimize the extraction process of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* spore powder[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2020, 31(1): 199-202.]
- [21] 冯鹏,费璇,陈言,等.灵芝孢子糖肽对小鼠肝损伤的保护作用[J].中国药科大学学报,2021,52(5):603-608. [FENG P, FEI X, CHEN Y, et al. Protective effect of *Ganoderma lucidum* spore

- glycopeptide on liver injury in mice[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2021, 52(5): 603–608.]
- [22] 李金玲, 李佳滨, 元红权, 等. 鞣花酸对甲醛致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2022, 38(11): 30–36. [LI J L, LI J B, YUAN H Q, et al. Protective effect of ellagic acid on formaldehyde-induced liver injury in mice[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(11): 30–36.]
- [23] 刘文俊, 张敏, 陆小旭, 等. 肝功能指标与丙型肝炎的相关性研究进展[J]. 中国临床新医学, 2018, 11(9): 957–959. [LIU W J, ZHANG M, LU X X, et al. Advances in research on the correlation between liver function index and hepatitis C[J]. Chinese Journal of New Clinical Medicine, 2018, 11(9): 957–959.]
- [24] 陈丰, 刘殿娜, 陈绍红, 等. 枳椇解酒保肝方对酒精性肝损伤大鼠 SOD、MDA、GSH 的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2018, 41(4): 306–309. [CHEN F, LIU D N, CHEN S H, et al. Effects of Zhige Jiejiu Baogan Fang on SOD, MDA and GSH in rats with alcoholic liver injury[J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2018, 41(4): 306–309.]
- [25] 王红园. 老鼠筋生物碱 A 通过抑制 TLR4/NF- κ B 和 MAPK 通路改善小鼠急性肝损伤[D]. 南宁: 广西医科大学, 2023. [WANG H Y. The bougainvillea alkaloid A ameliorates acute liver injury in mice by inhibiting the TLR4/NF- κ B and MAPK pathways[D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2023.]
- [26] KUO D, RAMACHANDRAN A, JAESCHKE H. Oxidative stress during acetaminophen hepatotoxicity: Sources, pathophysiological role and therapeutic potential[J]. Redox Biology, 2016, 10: 148–156.
- [27] XU B C, HAO K Y, CHEN X G, et al. Polysaccharide alleviated acetaminophen-induced liver injury by regulating the intestinal flora[J]. Nutrients, 2022, 14(13): 2636.
- [28] CHEN Y S, CHEN Q Z, WANG Z J, et al. Anti-Inflammatory and hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides against carbon tetrachloride-induced liver injury in Kunming mice[J]. Pharmacology, 2019, 103(3–4).
- [29] KIM C Y, NA D J, KWON Y D, et al. Silymarin prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity via up-regulation of the glutathione conjugation capacity in mice[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 49: 235–240. .
- [30] SAEED S, MOHSEN A N, TAHEREH F, et al. Anti-oxidative effects of curcumin on immobilization-induced oxidative stress in rat brain, liver and kidney[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 87: 223–229.
- [31] 李金玲. 黄芩素对酒精诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用[D]. 长春: 吉林农业大学, 2022. [LI J L, Protective effect of baicalin on alcohol-induced acute liver injury in mice[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2022.]
- [32] 姜越, 赵霞, 严花. 固本防哮饮对哮喘缓解期小鼠肺组织线粒体凋亡相关因子 CytC、Bcl-2 及 Caspase-3 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(8): 81–86. [JIANG Y, ZHAO X, YAN H. Effects of Gu ben Fang xiao decoction on mitochondrial apoptosis-related factors CytC, Bcl-2 and Caspase-3 in lung tissue of mice in remission of Asthma[J]. Chinese Journal of Information on Traditional, 2023, 30(8): 81–86.]
- [33] SHU Y S, HE D, LI W, et al. Hepatoprotective effect of *Citrus aurantium* L. against APAP-induced liver injury by regulating liver lipid metabolism and apoptosis[J]. International Journal of Biological Sciences, 2020, 16(5): 725–765.
- [34] XANDRA V, MATTHIASA J H, et al. Caspase activation is associated with spontaneous recovery from acute liver failure[J]. Hepatology (Baltimore, Md.), 2008, 47(5): 1624–1633.
- [35] SCHULZE O K, BANTEL H. Necrosis versus apoptosis in acetaminophen-induced hepatotoxicity[J]. Hepatology (Baltimore, Md), 2011, 53(3): 1070–1070.
- [36] LAYAL S, ANDREA I, LILY D. Cell death in liver diseases: A Review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 73(2): 394–408.