

酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肝肾氧化损伤和肠道微生物的影响

曹伟东, 刘黎红

Effects of Saponins of Semen Ziziphi Spinosae on Oxidative Damage of Liver and Kidney and Intestinal Microflora in Lead-exposed Mice

CAO Weidong and LIU Lihong

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024060299>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

酸枣仁不同极性部位成分含量与抗氧化活性及其相关性分析

Content and Antioxidant Activity of Components in Different Polar Parts of Semen Ziziphi Spinosae and Their Correlation Analysis

食品工业科技. 2023, 44(16): 288-296 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022090054>

基于¹H NMR和GC-MS技术评价不同干燥方法对酸枣仁活性成分及抗氧化活性的影响

Evaluating the Effects of Different Drying Methods on the Bioactive Components and Antioxidant Activities of Ziziphi Spinosae Semen Based on ¹H NMR and GC-MS Approach

食品工业科技. 2022, 43(21): 282-293 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120334>

酸枣仁-茯苓-党参水提取物对小鼠睡眠的改善作用及机制研究

Effects of Water Extract of Ziziphi Spinosae Semen, Poria Cocos and Codonopsis Radix on Sleep Function in Mice and Its Underlying Mechanisms

食品工业科技. 2021, 42(11): 300-308 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070005>

酸枣仁蛋白的不同蛋白酶酶解产物功能特性及抗氧化活性分析

Study on the Functional Properties and Antioxidant Activities of Different Enzymatic Hydrolysates of Ziziphi Spinosae Semen Protein

食品工业科技. 2022, 43(9): 31-39 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021070167>

酸枣仁茯苓粉、大豆肽粉对失眠模型小鼠的改善睡眠作用

Study on the Effect of Ziziphi spinosae Semen Poria cocos Powder and Soybean Peptide Powder on Improving Sleep in Insomnia Model Mice

食品工业科技. 2023, 44(7): 359-366 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022050374>

一种酸枣仁提取物、茶氨酸、 γ -氨基丁酸配方产品改善睡眠作用研究

Sleep Improvement Effects of Semen Ziziphi Spinosae Extracts, Theanine and γ -Aminobutyric Acid Formula Products

食品工业科技. 2020, 41(20): 303-306 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.20.050>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

曹伟东, 刘黎红. 酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肝肾氧化损伤和肠道微生物的影响 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(8): 371–381. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060299

CAO Weidong, LIU Lihong. Effects of Saponins of Semen Ziziphi Spinosae on Oxidative Damage of Liver and Kidney and Intestinal Microflora in Lead-exposed Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(8): 371–381. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060299

· 营养与保健 ·

酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肝肾氧化损伤和肠道微生物的影响

曹伟东, 刘黎红

(长春职业技术学院, 吉林长春 130033)

摘要:目的: 探究酸枣仁皂苷对铅中毒小鼠肝肾氧化损伤及肠道微生物菌群组成的影响以及其解毒机制。方法: 小鼠饮用含 0.05% 醋酸铅水构造 Pb 中毒模型, 同时给予小鼠灌胃不同浓度的酸枣仁皂苷和二巯基丁二酸进行治疗, 试验期间记录小鼠的体重变化, 并测定血液、肝脏、肾脏和脑中 Pb 浓度、血浆和肝脏 TC 和 TG 含量以及肝脏和肾脏氧化应激相关指标, 检测肝脏和肾脏自噬相关基因表达和 16S rDNA 测序技术分析小鼠粪便肠道菌群的变化。结果: 与 Pb 组相比, 酸枣仁皂苷显著降低了小鼠血液、肝脏、肾脏和脑中铅含量, 提高肝脏和肾脏抗氧化酶活性, 改善 Pb 暴露导致的脂代谢紊乱。此外, 酸枣仁皂苷通过调节小鼠肝脏和肾脏中自噬相关基因 *Beclin1*、*LC3-II* 和 *Lamp2* mRNA 的表达水平抑制铅导致的肝脏和肾脏细胞过度自噬, 减轻铅暴露导致的肝肾损伤。酸枣仁皂苷通过提高小鼠肠道微生物菌群丰富度和多样性, 提高肠道微生物属水平中 *norank-f-Muribaculaceae* 和 *Lactobacillus* 属的相对丰度, 降低 *Allobaculum*、*Staphylococcus* 和 *Coriobacteriaceae*-UCG-002 相对丰度, 调节 Pb 暴露小鼠肠道微生物菌群组成, 从而改善肠道健康。结论: 酸枣仁皂苷可通过调节 Pb 暴露小鼠肠道微生物组成和肝肾自噬相关基因的表达, 提高肝肾抗氧化酶活力, 并改善 Pb 暴露导致的脂质代谢紊乱, 从而缓解小鼠 Pb 中毒, 研究结果为酸枣仁皂苷作为一种天然抗铅剂奠定了理论基础。

关键词: 酸枣仁皂苷, 铅暴露, 氧化应激, 肠道微生物

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)08-0371-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060299

本文网刊:



Effects of Saponins of Semen Ziziphi Spinosae on Oxidative Damage of Liver and Kidney and Intestinal Microflora in Lead-exposed Mice

CAO Weidong, LIU Lihong

(Changchun Vocational Institute of Technology, Changchun 130033, China)

Abstract: Objective: To investigate the effects of saponins of Semen Ziziphi Spinosae (SSZS) on liver and kidney oxidative damage and intestinal flora composition in lead-exposed mice and explore its detoxification mechanism. Methods: The Pb-intoxicated mice model was induced by drinking water containing 0.05% lead acetate. Different concentrations of SSZS and DMSA were administered orally to the mice for treatment. During the experiment, the weight changes of the mice were recorded, and the Pb content of blood, liver, kidney and brain, TC and TG levels of plasma and liver, as well as oxidative stress related indicators in liver and kidney were measured. In addition, the expression of autophagy related genes in the liver and kidney was detected, and 16S rDNA sequencing technology was used to analyze changes in fecal intestinal flora of mice. Results: Compared with the Pb group, SSZS significantly reduced Pb content of the blood, liver, kidney and brain in mice, increased antioxidant enzyme activity in the liver and kidney, and improved lipid metabolism disorders caused by Pb exposure. In addition, SSZS inhibited that Pb induced excessive autophagy in liver and kidney cells by regulating the expression levels of autophagy related genes of *Beclin1*, *LC3-II*, and *Lamp2* mRNA of liver and kidney in mice, thereby reducing liver and kidney damage caused by Pb exposure. Moreover, SSZS increased the richness and diversity of the fecal

收稿日期: 2024-06-21

作者简介: 曹伟东 (1980-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 中药制药, E-mail: 158215635@qq.com。

intestinal flora in mice, and increased the relative abundance of norank-f-Muribacaceae and *Lactobacillus*, decreased the relative abundance of *Allobacterium*, *Staphylococcus*, and *Coriobacteriaceae*-UCG-002, regulated the composition of intestinal flora in Pb-exposed mice, and improved gut health. Conclusion: SSZS can alleviate Pb poisoning in mice by regulating the composition of intestinal flora and the expression of autophagy genes in liver and kidney, increasing the antioxidant enzymes activity of liver and kidney, and improving lipid metabolism disorders caused by Pb exposure. The results of this study provides the theoretical foundation for SSZS as a natural anti-Pb agent.

Key words: saponins of Semen Ziziphi Spinosae; Pb exposure; oxidative stress; intestinal flora

重金属铅(Pb)广泛存在于自然界中,包括土壤、水资源和空气,可通过呼吸、食物和饮用水等多种途径进入体内,随后对中枢神经系统、血液、心脑血管、肠道、肝脏、肾脏及生殖等造成损害^[1]。研究表明,Pb可诱导炎症,促进氧化应激,影响抗氧化酶的活性,而抗氧化酶又可诱导活性氧类过量产生,并刺激细胞凋亡,从而导致肝脏和肾脏损伤^[2-3]。近年来我国食品行业快速发展,但重金属污染严重威胁着我国居民饮食安全问题。虽然国家相关部门对食品中铅检出标准制定了相应的标准,长期低剂量铅暴露依然严重威胁着人体健康,且Pb暴露对儿童的健康影响更为严重,包括神经行为缺陷、智力受损等^[4]。肠道菌群在机体健康中发挥着重要作用,参与机体多种生理病理过程。研究表明,铅暴露处理的无菌小鼠血液、肾脏、肝脏和脾脏中的铅浓度显著高于非无菌小鼠,提示肠道菌群在抵挡铅在体内蓄积中扮演重要角色^[5]。

酸枣仁是指酸枣干燥成熟的种子,含有丰富的脂肪油、皂苷、黄酮、生物碱及多糖等成分,其中皂苷含量为0.1%~0.15%。研究表明,酸枣仁皂苷具有镇静安神和提高机体抗氧化能力的功效,且在神经系统、免疫系统、心脑血管系统等方面也具有广泛的药理活性^[6-7]。细胞试验表明,酸枣仁皂苷能促进紫外损伤的Hacat细胞的增殖,提高其过氧化氢酶(CAT)与谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力^[8]。体外试验结果也表明,酸枣仁皂苷能有效清除OH自由基和DPPH自由基,具有很强的体外抗氧化活性^[9]。许多研究表明,提高机体抗氧化能力在缓解Pb中毒中有着重要作用^[10-11]。上述结果显示酸枣仁皂苷具有很强的体外抗氧化能力,但其能否提高机体的抗氧化应激能力尚不清楚。此外,其是否能调节Pb暴露引起的肠道菌群紊乱还有待深入研究。

醋酸铅可用来诱导构建Pb中毒模型小鼠^[12]。因此,本研究以染Pb小鼠为模型,探究酸枣仁皂苷通过抑制肝肾氧化应激,调控肝肾自噬基因的表达对Pb暴露小鼠肝肾氧化应激的缓解效应,并探究其对Pb暴露小鼠肠道微生物菌群的调节作用,阐明酸枣仁皂苷治疗Pb中毒的可能机制,以期酸枣仁皂苷作为一种有效天然铅拮抗剂的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

120只SPF级3周龄雄性昆明小鼠,体重为(12±

1.08)g 吉林元和元生物工程有限公司,试验动物许可证号为SYXK(吉)2020-0007;酸枣仁 当地中药批发市场;总胆固醇(TC)测定试剂盒、甘油三酯(TG)测定试剂盒、丙二醛(MDA)测定试剂盒、总超氧化物歧化酶(T-SOD)测定试剂盒、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定试剂盒 南京建成生物工程研究所;Trizol、PrimeScript™ RT Master Mix、SYBR® Premix Ex Taq™ II 赛默飞世尔科技有限公司;醋酸铅、二巯基丁二酸、石油醚、无水乙醇、氯仿等试剂 均为国产分析纯,长春晶美生物科技有限公司。

TAS-990 原子吸收分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪 赛默飞世尔科技有限公司;5430R 高速低温离心机 德国艾本德科技有限公司;HM-P16 实时荧光定量PCR仪 山东恒美电子科技有限公司;Kimble 749540-0000 组织匀浆器 北京明阳科华生物科技有限公司;HH-S28A 数显双列八孔恒温水浴锅 深圳市三莉科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 酸枣仁皂苷的制备 按照谢红^[8]的方法进行制备酸枣仁皂苷(Semen Ziziphi Spinosae saponins, SZSS),经测定,酸枣仁皂苷得率为2.18%,酸枣仁皂苷含量为73.62%。

1.2.2 动物分组及试验设计 100只大小体重相近的健康昆明雄性小鼠适应性饲养7d后用于动物试验。课题组前期实验结果显示50、75和100mg/kg BW的SZSS可降低Pb暴露小鼠血液中Pb含量,且100mg/kg BW的SZSS降低效果最明显,因此本试验选取100mg/kg BW作为低剂量组,按4倍设置高剂量组。将小鼠随机分为5组,每组20只小鼠,分别为对照组(CK组)、Pb处理组(Pb组)、酸枣仁皂苷低剂量治疗组(SZSS-L组)、酸枣仁皂苷高剂量治疗组(SZSS-H组)和二巯基丁二酸治疗组(DMSA组)。CK组小鼠饮用纯净水作为饮用水,其他组小鼠饮用含0.05%醋酸铅的水溶液作为饮用水。此外,SZSS-L组和SZSS-H组小鼠每天灌胃100mg/kg BW和400mg/kg BW的SZSS;DMSA组小鼠每天灌胃50mg/kg BW的DMSA;CK组和Pb处理组小鼠灌胃相同体积的生理盐水,灌胃剂量为0.3mL/只。试验周期为6周,每周对各组小鼠称重并记录。上述所有程序均由长春职业技术学院实验动物福利与动物实验伦理审查委员会批准,并根据

其要求,按照实验动物护理和使用指南执行。

1.2.3 样品采集 试验 6 周后,小鼠禁食 12 h 后尾静脉采血于抗凝管中,其中一部分血液用于血液中 Pb 含量的测定,另一部分血液室温静置 30 min 后,3000 r/min 离心 10 min 后取血浆用于后续血液生化指标测定。随后断颈处死小鼠,快速取出小鼠大脑组织、肝脏和肾脏组织置于 EP 管中并放于-80 ℃ 冰箱中保存用于后续试验。

1.2.4 检测指标

1.2.4.1 血液、肝脏、肾脏和脑组织中 Pb 含量的测定 按照 Kippler 等^[13]方法测定血液、肝脏、肾脏和脑组织中 Pb 含量。取适量血液、肝脏、肾脏和脑组织样品置于消化管中,湿法消解样品,并使用原子吸收分光光度计测定样品中 Pb 的含量。计算得出 Pb 标曲回归方程为 $y=1.2781x-0.0014$, 相关系数 $R^2=0.9987$ 。样本中 Pb 含量按照如下公式进行计算:

$$w(\mu\text{g/g}) = \frac{(y - y_0) \times V}{m}$$

式中: w 是样品中铅的含量, $\mu\text{g/g}$; y 样品溶液中铅的质量浓度, $\mu\text{g/L}$; y_0 是空白溶液中铅的质量浓度, $\mu\text{g/L}$; m 是样品的质量, g ; V 是样品消解后的定容体积, L 。

1.2.4.2 血浆和肝脏中 TC 和 TG 含量的测定 各组小鼠血浆和肝脏中 TC 和 TG 含量使用 TG 和 TC 试剂盒进行测定,具体步骤按照说明书进行。

1.2.4.3 肝脏和肾脏氧化应激相关指标的测定 各组小鼠肝脏和肾脏中 T-SOD、CAT、GSH-Px 和 MDA 含量使用 T-SOD 测定试剂盒、CAT 测定试剂盒、GSH-Px 测定试剂盒和 MDA 测定试剂盒进行测定,具体操作步骤按照说明书进行。

1.2.4.4 实时荧光定量 PCR 检测基因表达 使用 Trizol 试剂提取小鼠肝脏和肾脏组织中总 RNA,并按照 PrimeScript™ RT Master Mix 试剂盒说明书将 RNA 反转录成 cDNA。使用 qRT-PCR 测定肝脏和肾脏自噬相关基因 *Beclin1*、*LC3-II* 和 *Lamp2* mRNA 的表达水平。以 β -actin 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析目的基因 mRNA 相对表达量。引物的设计与合成:在 NCBI 基因数据库中查询目的基因序列,并使用 Primer Premier 5.0 设计引物,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成引物。引物信息如

表 1 所示。

1.2.4.5 小鼠肠道菌群分析 试验结束前 1 d,使用无菌 EP 管收集各组小鼠新鲜粪便。将收集的小鼠新鲜粪便使用-80 ℃ 冰箱中进行保存,将样品邮寄至上海美吉生物科技有限公司进行 16S rDNA 高通量测定。使用美吉生物在线平台进行微生物多样性相关数据分析。

1.3 数据处理

使用 SPSS 22.0 对数据进行单因素方差分析和 Duncan 检验进行多重比较,数据以“平均值±标准差”表示, $P<0.05$ 表示差异显著,并使用 GraphPad Prism 5 进行作图。

2 结果与分析

2.1 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠体重的影响

在试验期间,各组小鼠均无死亡。由图 1 可知,试验期间 Pb 组小鼠体重略低于其他组,但各组小鼠体重间无显著差异($P>0.05$)。

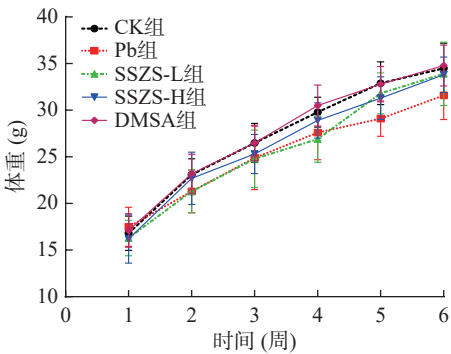


图 1 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠体重的影响
Fig.1 Effects of SSZS on the body weight of Pb exposed mice

2.2 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠血液及组织中 Pb 含量的影响

由图 2 可知,小鼠饮含 Pb 水后,血 Pb 含量急剧增加,且 Pb 在组织中的蓄积情况为肾 Pb($28.56 \mu\text{g/g}$)>肝 Pb($13.28 \mu\text{g/g}$)>脑 Pb($3.42 \mu\text{g/g}$)。与 CK 组相比,Pb 组小鼠血液、肝脏、肾脏和脑中 Pb 含量显著升高($P<0.05$)。与 Pb 组相比,SSZS-L、SSZS-H 组和 DMSA 组小鼠血液、肝脏、肾脏和脑中 Pb 含量显著降低($P<0.05$)。此外,SSZS-L、SSZS-H 组和 DMSA 组小鼠血液、肝脏、肾脏和脑中 Pb 含量显著高于 CK 组($P<0.05$),而 DMSA 组小鼠血

表 1 引物信息

Table 1 Information of the primers

基因名称	引物序列(5'-3')	登录号
苊氯素1 <i>Beclin1</i>	F: ATGCACAGACACTCTTTTAGACC R: ACTGTCATCTCATTCATCTGC	NM_019584.4
微管相关蛋白轻链3-Ⅱ <i>LC3-II</i>	F: CGAGAAGACCTTCAAGCAGCG R: GCTCCTATGGGGTTAGGGTC	NM_001364358.1
溶酶体关联膜蛋白2 <i>Lamp2</i>	F: TCTCTCCGGTTAAAGGCGCAAA R: CTGCATAAAGGCAAGTACCCT	NM_001017959.2
β -肌动蛋白 β -actin	F: GTACCACCATGTACCCAGGC R: GCAGCTCAGTAACAGTCCGC	NM_031144.3

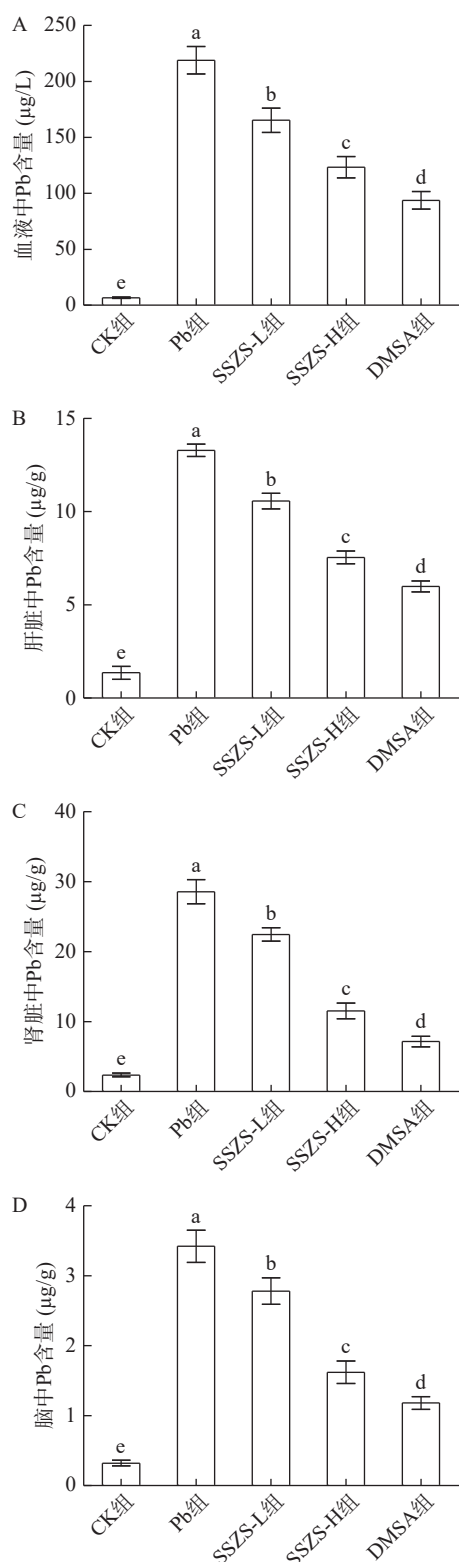


图2 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠血液(A)、肝脏(B)、肾脏(C)和脑(D)中 Pb 含量的影响

Fig.2 Effects of SSZS on Pb content in blood (A), liver (B), kidney (C), and brain (D) of Pb exposed mice

注: 不同小写字母表示各组之间具有显著性差异 ($P < 0.05$), 图3~图7同。

液、肝脏、肾脏和脑中 Pb 含量显著低于 SSZS-L 和 SSZS-H 组 ($P < 0.05$)。以上数据表明, SSZS 可以显著降低 Pb 暴露小鼠血液、肝脏、肾脏和脑中的 Pb 含量, 但 DMSA 排 Pb 效果好于 SSZS。

2.3 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠血液和肝脏 TC 和 TG 含量的影响

由图3可知, 与 CK 组相比, Pb 组小鼠血液和肝脏中 TC 和 TG 含量显著升高 ($P < 0.05$)。SSZS-H 组和 DMSA 组小鼠血液和肝脏 TC 和 TG 含量显著低

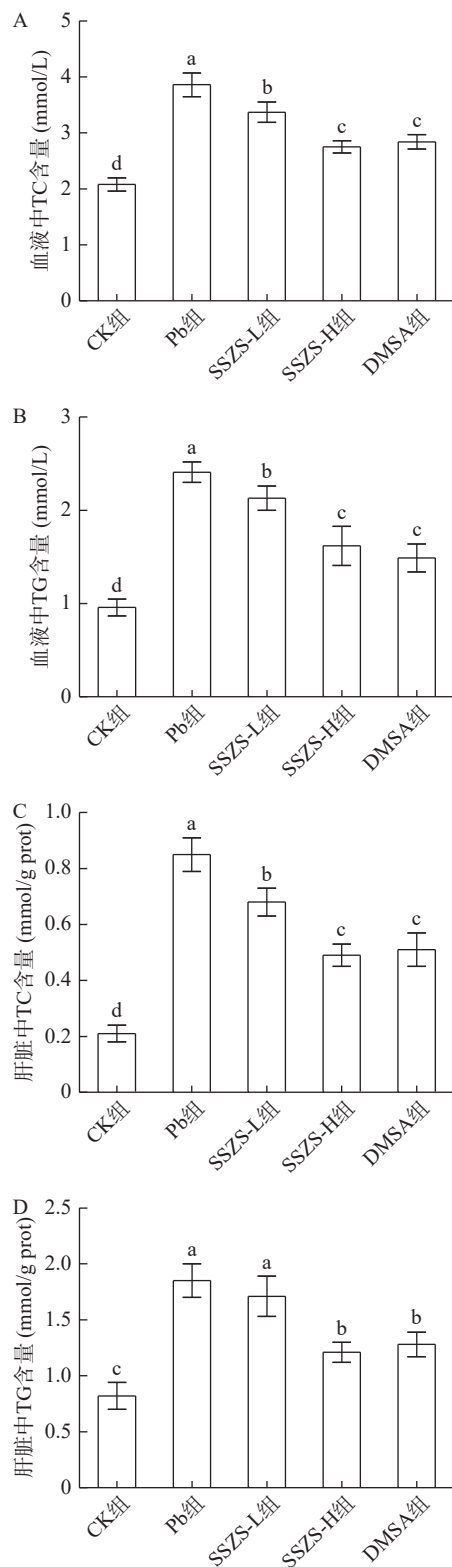


图3 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠血液 TC(A)和 TG(B)含量、肝脏 TC(C)和 TG(D)含量的影响

Fig.3 Effects of SSZS on blood TC (A) and TG (B) content, liver TC (C) and TG (D) content in Pb exposed mice

于 Pb 组 ($P<0.05$)。SSZS-H 组小鼠血液和肝脏 TC 和 TG 含量与 DMSA 组小鼠之间无显著差异 ($P>0.05$)。与 CK 组相比, SSZS-L、SSZS-H 和 DMSA 组小鼠血液和肝脏中 TC 和 TG 含量显著升高 ($P<0.05$), 而 SSZS-H 和 DMSA 组小鼠血液和肝脏中 TC 和 TG 含量之间无显著差异 ($P>0.05$)。上

述结果表明, 灌胃 SSZS 和 DMSA 可在一定程度上改善 Pb 暴露导致的小鼠脂代谢紊乱。

2.4 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠肝脏和肾脏氧化应激相关指标的影响

由图 4 可知, 与 CK 组相比, Pb 组小鼠肝脏和肾

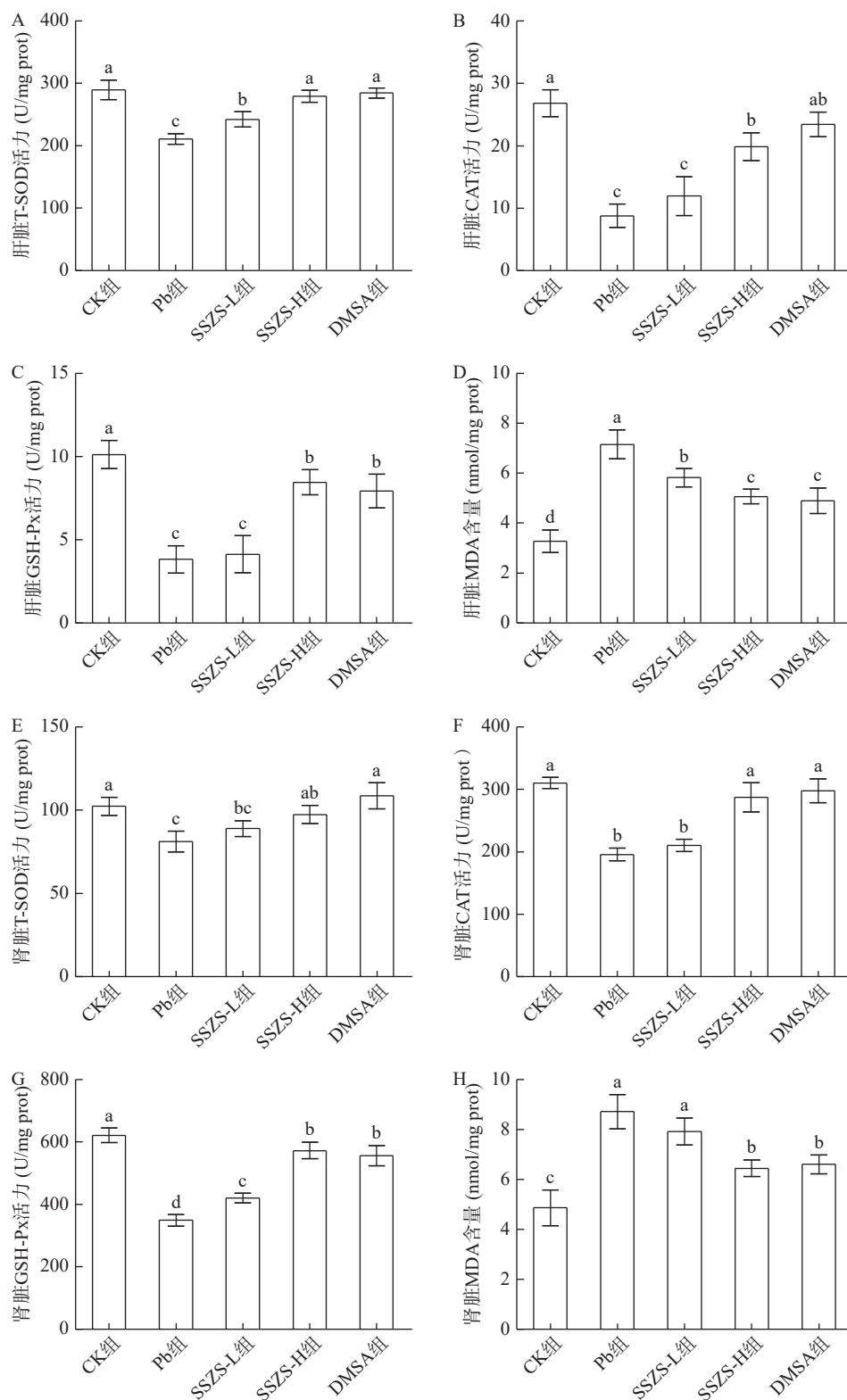


图 4 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠肝脏和肾脏氧化应激相关指标的影响

Fig.4 Effects of SSZS on oxidative stress-related indicators in the liver and kidneys of Pb exposed mice

注: 肝脏 T-SOD(A)、CAT(B)和 GSH-Px(C)活性及 MDA 含量(D); 肾脏 T-SOD(E)、CAT(F)和 GSH-Px(G)活性及 MDA 含量(H)。

脏中 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 活性显著降低,MDA 含量显著升高($P<0.05$)。与 Pb 组相比,SSZS-L 组小鼠肝脏中 T-SOD 和肾脏中 GSH-Px 活性显著升高,肝脏中 MDA 含量显著降低($P<0.05$)。此外,SSZS-H 组和 DMSA 组小鼠肝脏和肾脏中 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 活性显著升高,MDA 含量显著降低($P<0.05$)。与 CK 组相比,SSZS-L 组小鼠肝脏和肾脏中 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 活性显著降低,MDA 含量显著升高($P<0.05$)。SSZS-H 和 DMSA 组小鼠肝脏和肾脏中 GSH-Px 活性显著降低($P<0.05$),MDA 含量显著升高($P<0.05$),而 T-SOD 无显著差异($P>0.05$)。上述结果表明,SSZS 和 DMSA 可以提高 Pb 暴露小鼠肝脏和肾脏抗氧化酶活性,提高其抗氧化应激能力,且 SSZS 的提高小鼠肝肾抗氧化酶活性呈现剂量依赖性。

2.5 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠肝脏和肾脏自噬基因 mRNA 表达的影响

由图 5 可知,与 CK 组相比,Pb 组小鼠肝脏和肾脏中 *Beclin1*、*LC3-II* 和 *Lamp2* mRNA 表达水平显著升高($P<0.05$)。SSZS-L 组小鼠肝脏和肾脏中 *Beclin1* 和 *LC3-II* mRNA 表达水平显著低于 Pb 组($P<0.05$)。与 Pb 组相比,SSZS-H 组和 DMSA 组小鼠肝脏和肾脏中 *Beclin1*、*LC3-II* 和 *Lamp2* mRNA 表达水平显著降低($P<0.05$)。然而,SSZS-H 组和 DMSA 组小鼠肝脏和肾脏中 *Beclin1*、*LC3-II* 和 *Lamp2* mRNA 表达无显著差异($P>0.05$)。与 CK 组相比,SSZS-L、SSZS-H 和 DMSA 组小鼠肝脏和肾脏 *Beclin1*、*LC3-II* 和 *Lamp2* mRNA 表达水平显著升高($P<0.05$)。此外,SSZS-H 组和 DMSA 组小鼠肝脏和肾脏 *Beclin1*、*LC3-II* 和 *Lamp2* mRNA 表达

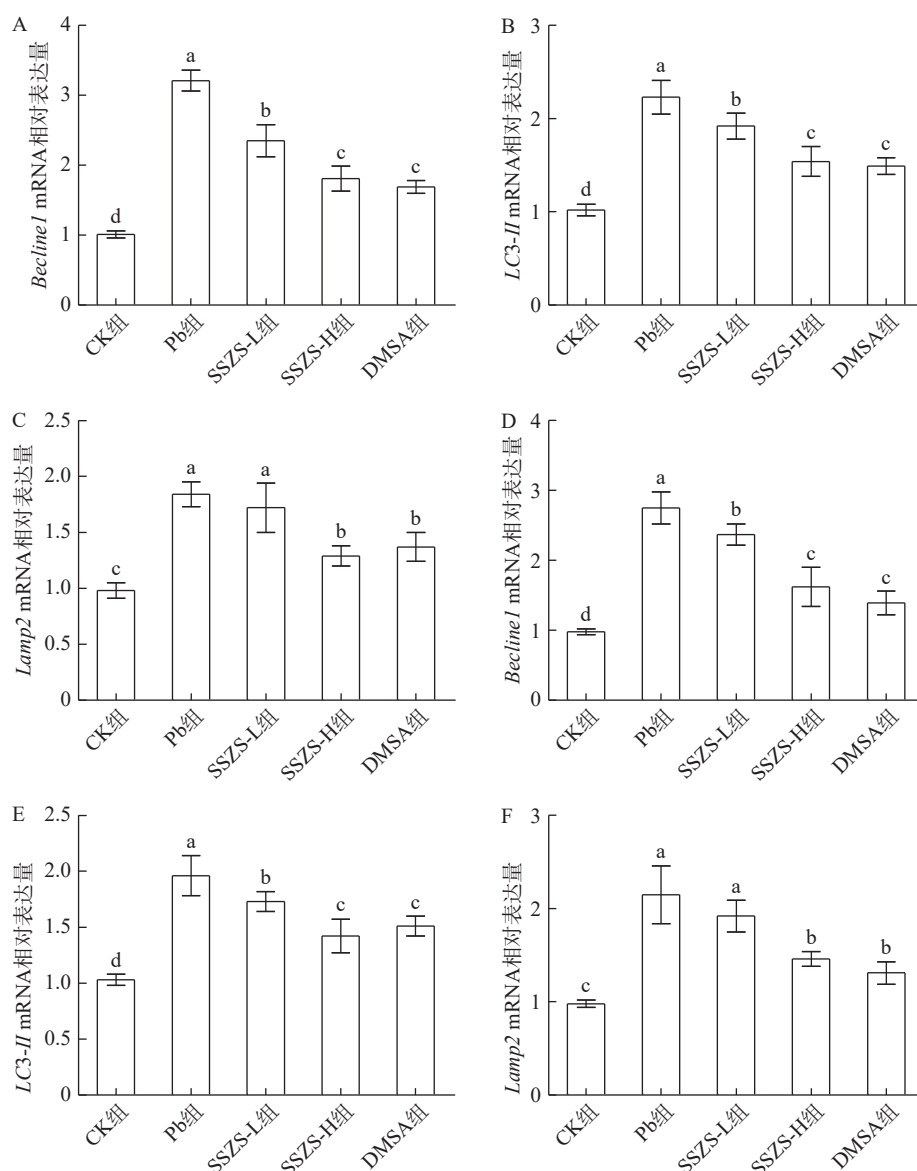


图 5 酸枣仁皂苷对 Pb 暴露小鼠肝脏和肾脏自噬基因 mRNA 表达的影响

Fig.5 Effects of SSZS on mRNA expression of autophagy genes in liver and kidney of Pb exposed mice

注: 肝脏 *Beclin1*(A)、*LC3-II*(B)和 *Lamp2*(C)mRNA 的表达; 肾脏 *Beclin1*(D)、*LC3-II*(E)和 *Lamp2*(F)mRNA 的表达。

水平之间无显著差异($P>0.05$)。上述结果表明, SSZS 和 DMSA 可通过调节小鼠肝脏和肾脏自噬相关基因的表达抑制 Pb 暴露导致的细胞过度自噬,减轻器官损伤。

2.6 酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肠道微生物 α 多样性的影响

如图 6 所示,与 CK 组相比,Pb 组、SSZS-L 组和 DMSA 组 Chao 指数和 Shannon 指数显著降低($P<0.05$),表明 Pb 暴露导致小鼠肠道微生物群落多样性和丰度降低。SSZS-H 组 Chao 指数和 Shannon 指数与 CK 组无显著差异($P>0.05$)。有研究指出,正常小鼠和灌胃 DMSA 组小鼠肠道微生物多样性和丰度之间无显著差异,但 DMSA 治疗后并未提高 Pb 中毒小鼠肠道微生物多样性和丰度^[14]。这表明 DMSA 并不能改善 Pb 暴露导致的小鼠肠道菌群紊乱,但补充高剂量 SSZS 提高了 Pb 暴露小鼠肠道微生物菌群多样性和丰度。

2.7 酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肠道微生物门水平物种组成的影响

由图 7 可知,在门水平上,Bacteroidota 和 Firmicutes 是小鼠肠道主要的菌群,占总序列的 80% 以上。与 CK 组相比,其他组小鼠肠道中 Firmicutes 相对丰度显著提高($P<0.05$),Pb 组、SSZS-L 组和 DMSA 组小鼠肠道中 Bacteroidota 相对丰度显著降低($P<0.05$)。此外,与 CK 组相比,其他组小鼠 F/B(Firmicutes/Bacteroidota)值显著提高($P<0.05$)。与 Pb 组相比,SSZS-H 组小鼠 F/B 值显著降低($P<$

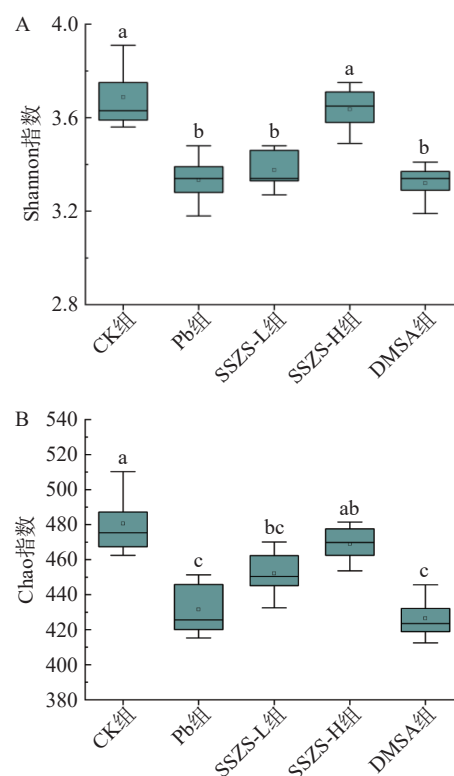


图 6 酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肠道微生物 α 多样性 Shannon 指数(A)和 Chao 指数(B)的影响

Fig.6 Effects of SSZS on Shannon index (A) and Chao index (B) of gut microbiota α diversity in lead exposed mice

0.05)。与 CK 组相比,SSZS-L 组和 DMSA 组小鼠 Firmicutes 的相对丰度显著升高,Bacteroidota 相对丰度显著降低($P<0.05$)。SSZS-H 组小鼠 Bacteroi-

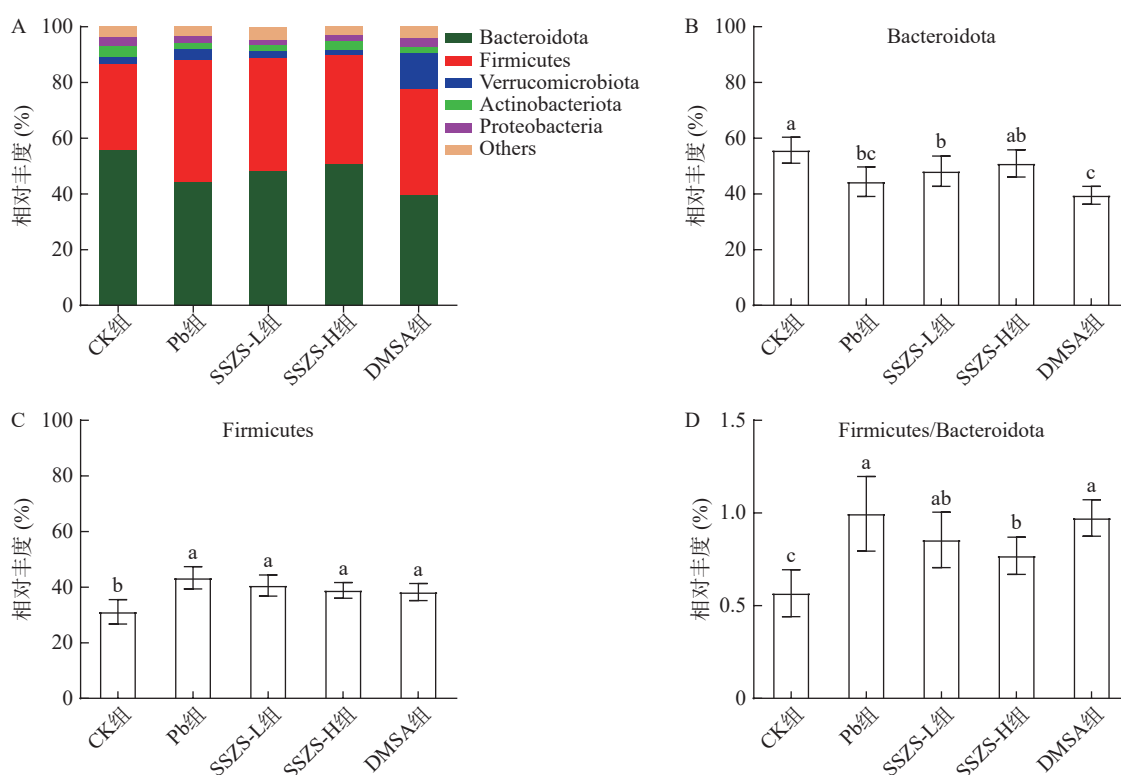


图 7 酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肠道微生物门水平物种组成的影响

Fig.7 Effects of SSZS on the species composition of gut microbiota in lead exposed mice at the phylum level

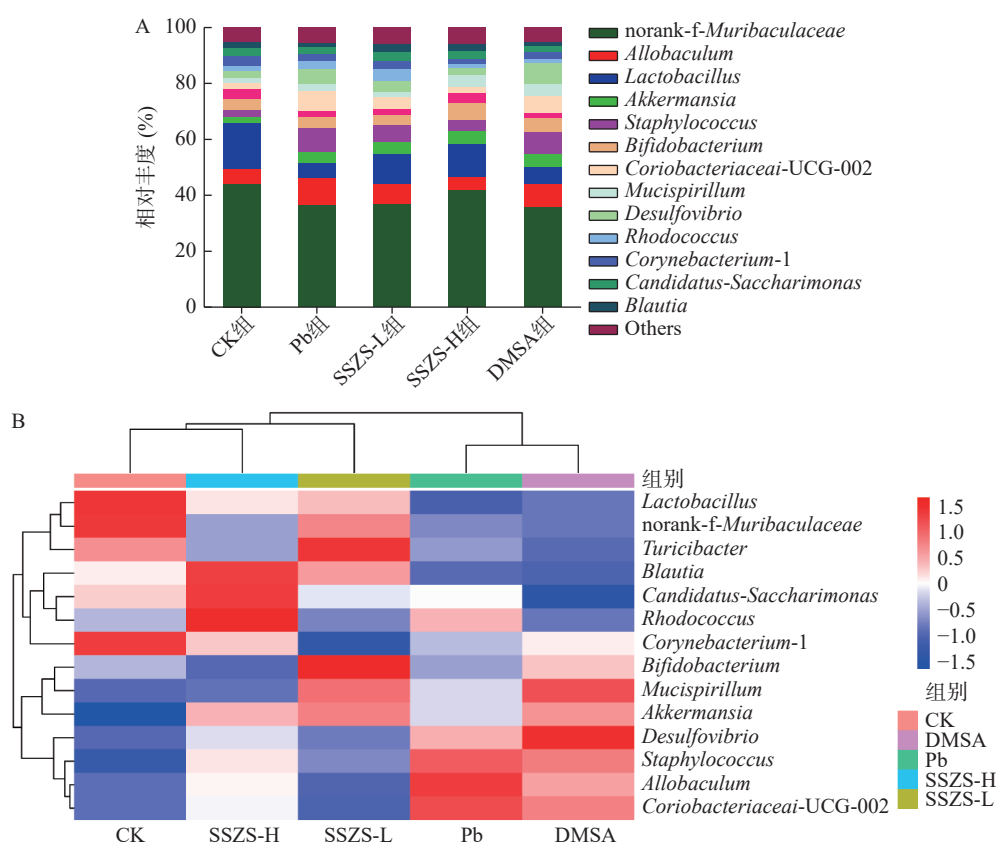


图 8 酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肠道微生物属水平上物种组成的影响

Fig.8 Effects of SSZS on species composition of gut microbiota at the genus level in lead exposed mice

注: A: 属水平上小鼠粪便菌群组成; B: 小鼠粪便菌群在属水平上的热图。

dota 相对丰度与 CK 组之间无显著差异($P>0.05$)。上述结果表明, SSZS 治疗能够调节 Pb 暴露小鼠肠道微生物门水平组成, 使其肠道菌群向正常组恢复。

2.8 酸枣仁皂苷对铅暴露小鼠肠道微生物属水平上物种组成的影响

由图 8A 可知, 与 CK 组相比, Pb 组小鼠肠道中 *norank-f-Muribaculaceae*、*Lactobacillus* 和 *Blautia* 属相对丰度显著降低($P<0.05$), *Allobaculum*、*Staphylococcus*、*Coriobacteriaceai-UCG-002* 和 *Desulfovibrio* 属相对丰度显著升高($P<0.05$)。与 Pb 组相比, SSZS-H 组 *norank-f-Muribaculaceae* 和 *Lactobacillus* 属相对丰度显著升高($P<0.05$), *Allobaculum*、*Staphylococcus* 和 *Coriobacteriaceai-UCG-002* 相对丰度显著降低($P<0.05$)。与 CK 组相比, DMSA 组 *norank-f-Muribaculaceae*、*Lactobacillus*、*Blautia* 和 *Candidatus-Saccharimonas* 属相对丰度显著降低($P<0.05$), *Coriobacteriaceai-UCG-002*、*Staphylococcus*、*Desulfovibrio* 和 *Mucispirillum* 相对丰度显著升高($P<0.05$)。由图 8B 可知, CK 组和 SSZS-H 组小鼠肠道微生物组成相似, Pb 组和 DMSA 组小鼠肠道微生物组成相似。

3 讨论与结论

Pb 广泛存在于自然界中, 主要通过食物和饮用水摄入进入机体, 而过量摄入 Pb 会导致机体生理、

生化异常及行为障碍。Pb 进入机体后会对中枢及周围神经系统、心血管系统、肝脏、肾脏以及生殖系统产生严重的毒副作用^[1,3]。通过食物和饮用水摄入的 Pb 大部分会通过粪便排除体外, 而剩余一部分 Pb 则会经过血液循环通过肾脏代谢经尿路排除体外, 另外一部分则随血液循环在机体内各组织中蓄积, 并对机体产生毒副作用。先前的研究表明, Pb 在机体组织中的蓄积情况为: 骨骼>肾脏>脾脏>肝脏>肌肉>心脏>脑^[15]。本研究结果则显示 Pb 进入机体组织后的蓄积情况为: 血液>肾脏>肝脏>脑。研究表明, 小鼠自由饮用含不同浓度醋酸铅进行 Pb 中毒试验, 小鼠体重在试验期间无明显变化^[16]。本研究结果也显示 Pb 暴露后各组小鼠体重之间无显著差异。此外, 灌胃 SSZS 和 DMSA 后, 小鼠血液、肝脏、肾脏以及脑中的 Pb 浓度显著降低, 这表明灌胃 SSZS 可促进小鼠体内 Pb 的排出, 且 SSZS 与 DMSA 一样, 可以有效地减轻 Pb 对小鼠的危害。

在 Pb 暴露中, 肝脏已被确定是关键靶器官。肝脏在机体脂质代谢中起着重要作用, 其促进脂肪的消化吸收以及分解代谢。研究表明, Pb 暴露会导致小鼠血清中 ALT 和 AST 水平升高, 并促进肝脏中 *NLRP3* 炎症小体、*Caspase-1* 和 *IL-18* 的表达以及脂质在肝脏中的积累^[17]。孙洪林^[18]研究也表明 Pb 暴露会引起 Wistar 大鼠脂质代谢紊乱, 导致其血清中 TG 和 LDL-C 含量升高, 肝脏中脂肪沉积。本研究

结果表明, Pb 暴露导致小鼠血液和肝脏中 TC 和 TG 含量显著升高, 表明 Pb 暴露导致小鼠机体内脂质代谢发生紊乱。SSZS 和 DMSA 治疗显著降低了 Pb 暴露小鼠血液和肝脏中 TC 和 TG 含量, 表明 SSZS 和 DMSA 的治疗改善了小鼠脂代谢紊乱。DMSA 和 SSZS 可通过螯合 Pb 降低 Pb 在肝脏中的蓄积, 从而改善 Pb 暴露引起的机体脂代谢异常, 但 SSZS 还可能通过其他途径降低 Pb 对肝脏的毒副作用, 这还需要进一步探究。

氧化应激是 Pb 毒性的一个重要机制之一, Pb 暴露会导致 ROS 产生的增加并影响机体的抗氧化防御系统^[19]。MDA、SOD、CAT 和 GSH-Px 是人体抗氧化状态的重要标志指标。SOD、CAT 和 GSH-Px 是机体内重要的抗氧化防御功能酶, 维持细胞氧化还原平衡。MDA 是氧化应激的生物标志物, 也是脂质过氧化的最终产物^[20]。有研究指出 Pb-谷胱甘肽复合物是 Pb 在肝脏(50%~90%)和肾脏(40%~60%)中主要的形式存在, Pb 会大量消耗肝脏和肾脏中谷胱甘肽以及谷胱甘肽相关酶(如谷胱甘肽还原酶, 谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽-S 转移酶), 导致肝肾出现氧化应激^[15]。谢志明等^[20]研究发现, Pb 暴露小鼠肝脏和肾脏中 SOD、CAT 和 GSH-Px 酶活性显著降低, MDA 含量显著升高, 表明 Pb 暴露会导致小鼠肝肾氧化应激。当前研究也发现, 小鼠长期饮用 Pb 水后肝脏和肾脏中 SOD、CAT 和 GSH-Px 酶活性显著降低, MDA 含量显著升高, 这与 Li 等^[17]的研究结果一致。给予 DMSA 和高剂量 SSZS 后, 小鼠肝脏和肾脏中 SOD、CAT 和 GSH-Px 酶活性升高, MDA 含量降低, 表明小鼠肝脏和肾脏氧化应激得到缓解。因此, 可推测 SSZS 可通过提高小鼠肝脏和肾脏抗氧化酶活性来抵抗 Pb 暴露引起的氧化应激。

自噬是细胞内广泛存在的保护和防御机制, 在机体多种生理和病理过程中起着重要作用。Pb 诱导的自噬已被证明对细胞和生物体是有害的。例如, Pb 通过增强自噬形成诱导小鼠巨噬细胞中的主要组织相容性复合体(MHC) II 类分子的异常表达^[21]。同时, Pb 可引起 SD 大鼠海马 tau 蛋白过度磷酸化和 α -突触核蛋白聚集, 诱导内质网应激, 并抑制 Akt/mTOR 途径, 从而促进细胞凋亡和自噬^[22]。Beclin1、LC3-II 和 Lamp2 在自噬过程中扮演着重要角色。Beclin1 是自噬发生的始动因子, 能介导其他自噬蛋白定位于前自噬小体的关键因子, 是参与哺乳动物细胞内自噬体形成的关键调控蛋白^[23]。LC3-II 参与了自噬体的形成, 是自噬小体生成的标志因子之一, 其基因的相对表达量可反映细胞内自噬的水平^[24]。而 Lamp2 在自噬过程中介导自噬体与溶酶体的融合, 在自噬体成熟过程中起着重要的作用^[25]。已有研究表明, Pb 暴露会提高 Beclin1、LC3B-II、Atg5 以及 Lamp2 基因的表达量, 促进细胞自噬的发生^[26]。本研究结果发现, Pb 暴露导致小鼠肝脏和肾脏自噬相

关基因 Beclin1、LC3-II 和 Lamp2 表达上升, 这是肝脏和肾脏细胞面对 Pb 毒性的一种保护机制, 通过提高细胞自噬水平来抵御 Pb 毒性。但过度的自噬反应会加重肝脏和肾脏损伤。而 SSZS 的治疗显著降低了 Pb 暴露小鼠肝脏和肾脏中 Beclin1、LC3-II 和 Lamp2 mRNA 的表达, 表明 SSZS 可抑制 Pb 暴露导致的小鼠肝脏和肾脏过度自噬, 减轻肝肾损伤。此外, 当前研究结果还表明 DMSA 治疗抑制了小鼠肝脏和肾脏 Beclin1、LC3-II 和 Lamp2 mRNA 的表达, 这可能与 DMSA 降低了 Pb 在小鼠肝脏和肾脏中的蓄积有关。

近年来, 肠道微生物对宿主健康的影响已引起人们的关注。它代表了一个代谢高度活跃的宿主“器官”, 并在出生后建立了微生物组和宿主之间的共生关系。肠道微生物参与宿主多种生理活动中, 包括营养吸收、应激反应以及行为等, 与宿主的健康密切相关^[27]。微生物 α 多样性可反映微生物菌群的物种丰富度和多样性, Chao 指数和 Shannon 指数是 α 多样性的重要指标, Chao 指数越大, 表明某群落的物种丰富度越高; Shannon 指数用来计算样本中菌群的多样性, Shannon 指数值越大, 样本中菌群的多样性越高^[14]。先前研究表明, Pb 暴露会降低小鼠肠道内菌群的物种丰富度和多样性^[14], 这与本研究结果一致。Bacteroidota 和 Firmicutes 是肠道内主要的细菌。研究表明, Firmicutes/Bacteroidot 的比值升高与肥胖、脑功能障碍、肠道炎症和代谢紊乱相关^[28]。当前研究结果表明, Pb 暴露导致小鼠肠道内 Firmicutes/Bacteroidot 的比值升高。本研究先前的研究也表明 Pb 暴露引起小鼠肠道氧化应激和炎症的发生。Pb 暴露也显著降低了小鼠肠道内 norank-f-Muribaculaceae、Lactobacillus、Blautia 属的相对丰度, 显著提高了 Allobaculum、Staphylococcus、Coriobacteriaceai-UCG-002 和 Desulfovibrio 属相对丰度。norank-f-Muribaculaceae 是一种重要的肠道共生菌, 对肠道的稳态和宿主的健康有着重要作用, 在抑制肠道内病原菌的生长, 提高宿主肠道免疫功能, 减轻肠道炎症和损伤起着重要作用。Lactobacillus 是人体内重要益生菌, 在人体内具有多种功能, 如维护肠道菌群平衡、增强免疫力、促进营养物质吸收等。乳酸杆菌具有很强的 Pb 吸附能力, 其可能通过吸附肠道内的 Pb 导致其生长受到抑制, 导致其他有害病原菌的大量繁殖, 导致肠道内菌群失调。然而当前的研究结果表明, SSZS 的补充可提高肠道内有益菌的生长(norank-f-Muribaculaceae 和 Lactobacillus 属相对丰度增加), 改善肠道内菌群丰富度和多样性, 这提示 SSZS 可以纠正 Pb 暴露导致的小鼠肠道菌群失调, 改善小鼠肠道健康。此外, 当前的研究结果还表明, DMSA 的治疗并不能改善 Pb 暴露引起的肠道菌群失调, 甚至会加剧肠道菌群失调。DMSA 具有一定的肠道毒性, 会引起恶心、腹泻等。

先前的研究也表明,DMSA 治疗 Pb 中毒会降低肠道内微生物丰富度和多样性^[14],这与当前研究结果一致。聚类分析的结果也显示,高剂量 SSZS 改善了 Pb 暴露小鼠肠道微生物菌群组成,其肠道微生物菌群组成与 CK 组相似。

综上所述,酸枣仁皂苷能够有效的排除 Pb 中毒小鼠机体中的 Pb,改善 Pb 中毒带来的机体脂代谢紊乱以及氧化应激的发生。其机制可能与提高小鼠肝肾抗氧化酶活性以及抑制自噬损伤有关。此外,酸枣仁皂苷还提高了 Pb 暴露小鼠肠道微生物菌群物种丰富度和多样性,并提高肠道内益生菌丰富度,抑制有害菌的生长,调节 Pb 暴露引起的肠道菌群失衡。本研究的结果可为酸枣仁皂苷作为一种天然铅拮抗剂的开发提供重要理论依据,并且为 Pb 中毒治疗的研究提供借鉴意义。

© The Author(s) 2025. 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] 乔增运,李昌泽,周正,等.铅毒性危害及其治疗药物应用的研究进展[J].毒理学杂志,2020,34(5):416-420. [QIAO Z Y, LI C Z, ZHOU Z, et al. Research progress on lead toxicity hazards and their therapeutic drug applications[J]. Journal of Toxicology, 2020, 34(5): 416-420.]
- [2] ALHUSAINI A M, FADDA L M, HASAN I H, et al. Role of some natural anti-oxidants in the down regulation of Kim, VCAM1, Cystatin C protein expression in lead acetate induced acute kidney injury[J]. *Pharmacology Reports*, 2020, 72(2): 360-367.
- [3] LIU G, WANG Z K, WANG Z Y, et al. Mitochondrial permeability transition and its regulatory components are implicated in apoptosis of primary cultures of rat proximal tubular cells exposed to lead[J]. *Archives of Toxicology*, 2016, 90(5): 1193-1209.
- [4] 李雨露,李斌.铅暴露对不同性别儿童神经系统影响差异的研究进展[J].毒理学杂志,2022,36(6):533-537,542. [LI Y L, LI B. Research progress on the differential effects of lead exposure on the nervous system of children of different genders[J]. Journal of Toxicology, 2022, 36(6): 533-537,542.]
- [5] BRETON J, DANIEL C, DEWULF J, et al. Gut microbiota limits heavy metals burden caused by chronic oral exposure[J]. *Toxicology Letters*, 2013, 222(2): 132-138.
- [6] 唐雪燕,秦令祥,曹源,等.酸枣仁总皂苷提取工艺优化及其改善睡眠作用机制研究[J].食品安全质量检测学报,2023,14(17):147-155. [TANG X Y, QIN L X, CAO Y, et al. Optimization of the extraction process of total saponins from jujube kernels and its mechanism of improving sleep[J]. Journal of Food Safety and Quality Testing, 2023, 14(17): 147-155.]
- [7] LEE S Y, JU S K, LEE J H, et al. A new saponin from the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa*[J]. *Bulletin of The Korean Chemical Society*, 2013, 34(2): 657-660.
- [8] 谢红.酸枣仁皂苷的分离纯化及生物活性研究[D].广州:华南理工大学,2021. [XIE H. Separation, purification, and biological activity study of jujube seed saponin[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021.]
- [9] 徐文祥,李毅翔,卞宏生,等.Box-Behnken 法优化酸枣仁总皂苷和多糖提取工艺及抗氧化作用研究[J].*包装与食品机械*, 2022, 40(6): 20-24. [XU W X, LI Y X, BIAN H S, et al. Optimization of total saponins and polysaccharides extraction process and antioxidant activity of jujube seed by box behnken method[J]. *Packaging and Food Machinery*, 2022, 40(6): 20-24.]
- [10] 赵盼,李鸿梅,王志超,等.罗耳阿太菌多糖经 Nrf2 通路预防小鼠肝脏铅损伤机制[J].食品工业科技,2022,43(20):395-402. [ZHAO P, LI H M, WANG Z C, et al. Mechanism of *athelia rolfsii* polysaccharides protect against liver injury in lead-exposed mice via Nrf2 signaling pathway[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(20): 395-402.]
- [11] LIU Y Y, LI H L, REN P, et al. Polysaccharide from *Flammulina velutipes* residues protects mice from Pb poisoning by activating Akt/GSK3 β /Nrf-2/HO-1 signaling pathway and modulating gut microbiota[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 230: 123154.
- [12] 董丽君.褪黑素、维生素 C 对慢性铅中毒小鼠肝损伤的保护作用[D].重庆:西南大学,2023. [DONG L J. Protective effects of melatonin and vitamin C on liver injury in mice with chronic lead poisoning[D]. Chongqing: Southwest University, 2023.]
- [13] KIPPLER M, LÖNNERDAL B, GOESSLER W, et al. Cadmium interacts with the transport of essential micronutrients in the mammary gland-a study in rural Bangladeshi women[J]. *Toxicology*, 2008, 257(12): 64-69.
- [14] CHEN Z H, TANG Z Y, KONG J J, et al. *Lactobacillus casei* SYF-08 protects against Pb-induced injury in young mice by regulating bile acid metabolism and increasing Pb excretion[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 28(9): 914323.
- [15] FUJIMORI T, TOYOMAKI H, SHIOTA K, et al. Lead speciation in body tissues, gastrointestinal contents, and feces of lead-exposed wild rats (*Rattus rattus*) [J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 908: 168297.
- [16] 胡明月,李鑫,高磊,等.蒙古黄芪皂苷对铅暴露致发育期大鼠神经炎症与肠道菌群紊乱的影响[J].*天津医药*, 2023, 51(9): 955-960. [HU M Y, LI X, GAO L, et al. The effect of Mongolian *Astragalus* saponins on lead exposure induced neuroinflammation and gut microbiota disorder in developing rats[J]. *Tianjin Medical Journal*, 2023, 51(9): 955-960.]
- [17] LI H, XIA X Y, CHENG S Z, et al. Oyster (*Crassostrea gigas*) ferritin relieves lead-induced liver oxidative damage via regulating the mitophagy[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253: 126965.
- [18] 孙洪林.铅暴露导致大鼠脂代谢紊乱的机制研究[D].上海:上海交通大学,2017. [SUN H L. Mechanism of lipid metabolism disorder in rats induced by lead exposure[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2017.]
- [19] MATOVI V, BUH A, ĐUKI D, et al. Insight into the oxidative stress induced by lead and/or cadmium in blood, liver and kidneys[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2015, 78: 130-140.
- [20] 谢志明,吴春梅,陈少元,等.柴胡多糖通过抑制氧化应激和炎症反应减轻铅诱导小鼠肝肾损伤的研究[J].*畜牧兽医学报*, 2021, 52(9): 2660-2672. [XIE Z M, WU C M, CHEN S Y, et al. Study on Chaihu polysaccharides reducing lead induced liver and kidney damage in mice by inhibiting oxidative stress and inflammatory response[J]. *Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2021, 52(9): 2660-2672.]
- [21] KERR R P, KRUNKOSKY T M, HURLEY D J, et al. Lead at 2.5 and 5.0 μ M induced aberrant MH-II surface expression through increased MII exocytosis and increased autophagosome for-

- mation in raw 267.4 cells[J]. *Toxicology in Vitro*, 2013, 27(3): 1018–1024.
- [22] ZHANG J B, CAO T J, ZHANG F, et al. The role of α -synuclein and tau hyperphosphorylation mediated autophagy and apoptosis in lead-induced learning and memory injury[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2012, 8(7): 935–944.
- [23] LEVINE B, KROEMER G. Autophagy in the patho-genesis of disease[J]. *Cell*, 2008, 132(1): 27–42.
- [24] 田晓琳, 杨玲玲, 赵倩, 等. 氟与砷单独及联合暴露对子代大鼠肾脏毒性损伤与细胞自噬的影响[J]. 癌变·畸变·突变, 2022, 34(3): 169–177. [TIAN X L, YANG L L, ZHAO Q, et al. The effects of fluoride and arsenic exposure alone and in combination on renal toxicity and cellular autophagy in offspring rats[J]. *Cancer, Distortion, and Mutation*, 2022, 34(3): 169–177.]
- [25] 卢星如, 吴蕊, 艾洪湖, 等. 绣球菌多糖对铅诱导小鼠肾脏氧化应激和自噬损伤的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(12): 8097–8110. [LU X R, WU R, AI H H, et al. The effect of polysaccharides from *Hydrangea* on lead induced oxidative stress and autophagic damage in the kidneys of mice[J]. *Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(12): 8097–8110.]
- [26] BA Q, LI M, CHEN P Z, et al. Sex-dependent effects of cadmium exposure in early life on gut microbiota and fat accumulation in mice[J]. *Environ Health Perspect*, 2017, 125: 437–446.
- [27] 屈定武, 翟齐啸, 于雷雷, 等. 多形拟杆菌对小鼠急性铅毒性的缓解作用[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(16): 54–62. [QU D W, ZHAI Q X, YU L L, et al. Alleviative effect of *Bacteroides multiforme* on acute lead toxicity in mice[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2019, 45(16): 54–62.]
- [28] YOON C H, RYU J S, MOON J, et al. Association between aging-dependent gut microbiome dysbiosis and dry eye severity in C57BL/6 male mouse model: A pilot study[J]. *BMC Microbiology*, 2021, 21: 106.