DOI:10.12441/spyswjs.20231123002 [文章编号] 1673-1689(2024)12-0081-11

# 堇叶碎米荠富硒多肽对乙醇诱导小鼠肝脏氧化应激损伤的保护作用

李一晴[1] 丛 欣[2] 李 玥[3] 陈尚卫[1] 朱 松[1*]

(1. 江南大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室,江苏 无锡 214122; 2. 恩施德源硒材料工程科技有限公司,湖北 恩施 445000; 3. 江南大学食品学院,江苏 无锡 214122)

**摘要:【目的】**探究堇叶碎米荠富硒多肽(selenium-enriched peptide of *Cardamine violifolia*,SPE)对乙醇诱导小鼠肝脏氧化应激损伤的保护作用。**【方法】**通过梯度乙醇干预建立了酒精性肝损伤动物模型,以SPE干预模型动物,考察其对小鼠血清生化指标、肝脏氧化应激指标、肝脏组织病理学和肝脏代谢谱的影响。**【结果】**SPE可以显著缓解乙醇诱导的肝脏损伤,提高肝脏中抗氧化酶的水平。代谢组学的结果表明,SPE显著改善了小鼠肝脏中37种代谢物的表达水平,涉及不饱和脂肪酸的生物合成、亚油酸代谢和甘油磷脂代谢等代谢途径。**【结论】**SPE对乙醇诱导的小鼠肝脏氧化应激损伤具有保护作用,其机制可能与亚油酸代谢激活、不饱和脂肪酸的生物合成和甘油磷脂代谢有关。

**关键词:**堇叶碎米荠;富硒多肽;乙醇;氧化应激;代谢组学

# Protective Effect of Selenium-Enriched Peptide of *Cardamine violifolia* on Alcohol-Induced Oxidative Stress Damage in the Liver of Mice

*LI Yiqing*[1] *CONG Xin*[2] *LI Yue*[3] *CHEN Shangwei*[1] *ZHU Song*[1*]

(1. State Key Laboratory of Food Science and Resources, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Enshi Deyuan Selenium Material Engineering Technology Co., Ltd., Enshi 445000, China; 3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** [**Objective**] This study aimed to investigate the protective effect of selenium-enriched peptide of *Cardamine violifolia* (SPE) on the alcohol-induced oxidative stress damage in the liver of mice. [**Method**] A mouse model of alcoholic liver damage was established by gradient alcohol gavage. The effects of SPE on the serum levels of biochemical indicators, liver oxidative stress indicators, liver histopathology and liver metabolic profile in mice were studied. [**Result**] SPE significantly alleviated alcohol-induced liver damage and elevated the levels of antioxidant enzymes in the liver. Metabolomics results showed that SPE significantly recovered the levels of 37 metabolites in the liver of mice. These metabolites were involved in metabolic pathways such as biosynthesis of unsaturated fatty acids, linoleic acid metabolism, and glycerophospholipid metabolism. [**Conclusion**] SPE exerts a positive protective effect on alcohol-induced oxidative stress injury in mouse liver by regulating the activation of linoleic acid metabolism, biosynthesis of unsaturated fatty acids, and glycerophospholipid metabolism.

**Keywords:** *Cardamine violifolia*; selenium-enriched peptide; alcohol; oxidative stress; metabolomics

---

**基金项目:**国家自然科学基金项目(32172197)。

**通信作者:**朱松(1979—),男,博士,研究员,博士研究生导师,主要从事植物源功能成分的功效评价研究。E-mail:zhusong@jiangnan.edu.cn

**收稿日期:**2023-11-23 **修回日期:**2024-02-14

近年来，因过量摄入乙醇诱发的肝脏损伤，即酒精性肝病（alcoholic liver disease，ALD）已成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病[1-2]。ALD发病机制复杂，涉及多个方面，主要包括氧化应激、炎症、脂代谢异常等[3-5]。其中氧化应激在ALD产生和发展中具有重要作用，被认为是ALD发病过程中的主要影响因素[6-7]。机体在代谢乙醇的过程中会产生大量活性氧（reactive oxygen species，ROS），过量的ROS诱导氧化应激。ROS通过氧化修饰一些关键大分子来介导细胞毒性效应，脂质、蛋白质、核酸等物质均可与ROS发生反应，从而导致脂质过氧化、蛋白质变性以及DNA损伤等[8-9]。基于氧化应激在ALD发病机制中的重要作用，调控ALD发病过程中的氧化应激水平具有重要意义。

硒是人体必需的微量元素，适量的硒可作为外源抗氧化剂保护细胞和组织免受氧化应激损伤[10]。已有研究表明，富硒益生菌能够缓解高脂饮食引起的小鼠肝脏氧化应激和脂质积累[11]。此外，硒对重金属诱导的肝脏损伤也有一定的保护作用。研究发现亚硒酸钠可以显著抑制鸡肝中由镉诱导的CYP450家族基因表达水平的上升，酵母硒则下调了$CdCl_2$诱导的坏死性凋亡基因的表达[12-13]。Ojeda等[14]和Fu等[15]研究发现，亚硒酸钠或富硒螺旋藻能显著恢复饮酒导致的小鼠肝脏中抗氧化酶酶活力的下降及丙二醛（malondialdehyde，MDA）含量的增加。

在自然界中，硒分为无机和有机两种形式，有机硒较无机硒具有更高的生物利用度[16]，植物可以通过自身代谢将无机硒转化为有机硒。十字花科植物堇叶碎米荠对硒具有极强的富集能力[17]，主要以硒代胱氨酸的形式存在于其组织蛋白质中[18]。2021年堇叶碎米荠被国家卫生健康委员会批准为新食品原料。研究表明，从堇叶碎米荠中提取到的富硒蛋白质具有良好的自由基清除能力[19]，SPE对乙醇诱导的THLE-2人肝永生化细胞氧化应激损伤具有保护作用[20]，因此推测堇叶碎米荠在维持机体氧化还原平衡方面具有一定的潜力。目前，关于硒的抗氧化作用的研究较多，但大多以无机硒和酵母硒为主，对于富硒能力极强的堇叶碎米荠的研究较少。作为有机硒含量较高的代表性植物之一，探究堇叶碎米荠对机体氧化应激的保护作用非常重要。作者通过连续乙醇灌胃诱导氧化应激动物模型，研究了SPE对乙醇诱导的小鼠肝脏氧化应激损伤的保护作用及作用机制，为其作为天然护肝产品提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

富硒堇叶碎米荠：恩施德源硒材料工程科技有限公司；水飞蓟素：美国Sigma公司；质量分数4%的多聚甲醛固定液：上海碧云天生物技术有限公司；谷丙转氨酶（alanine aminotransferase，ALT）、谷草转氨酶（aspartate aminotransferase，AST）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）、还原型谷胱甘肽（glutathione，GSH）、MDA检测试剂盒：南京建成生物工程研究所；盐酸、氢氧化钠和无水乙醇：国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

全自动生化分析仪：BS-420型，深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司；电感耦合等离子体质谱仪：iCAP TQ型，赛默飞世尔（上海）仪器有限公司；包埋机：JB-P5型，武汉俊杰电子有限公司；病理切片机：RM2016型，上海徕卡仪器有限公司；光学显微镜：Nikon Eclipse E100型，日本Nikon公司；成像系统：Nikon DS-U3型，日本Nikon公司；三重四极杆复合线性离子阱液质联用仪：QTRAP5500型，美国AB Sciex公司；高通量组织研磨器：SCIENTZ-48型，宁波新芝生物科技股份有限公司。

### 1.3 试验动物

从斯贝福（苏州）生物技术有限公司购入SPF级雄性ICR小鼠60只（体质量：18~22 g），饲养于江南大学实验动物中心屏障环境，饲养温度保持在20~26 ℃、相对湿度控制在40%~70%。试验中所有试剂的使用和试验操作均在江南大学伦理委员会的要求下开展，伦理批准编号：JN.No20230215i0780425[002]。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 SPE的制备和硒质量分数检测

采用无水乙醇对富硒堇叶碎米荠进行脱色，处理后于通风橱中至乙醇完全挥发。蛋白质的提取工艺参照凌荣瑞等[20]的方法，将富硒堇叶碎米荠与去离子水按料液比1 g∶40 mL恒温（50 ℃）水浴4 h，离心收集上清液，用0.1 mol/L的NaOH提取沉淀6 h并离心，合并2次上清液并调节pH为2.9，4 ℃放置12 h后离心收集沉淀，冷

冻干燥后得到富硒蛋白质。将该蛋白质与去离子水按料液比1 g∶30 mL复溶，调节pH为8.5，先后加入碱性和中性蛋白酶（9 800 U/g），于50 ℃酶解2 h，灭酶离心后将上清液冷冻干燥得到SPE。

参照叶梅等[18]的方法，采用电感耦合等离子体质谱仪对SPE中的硒质量分数进行检测。

1.4.2　乙醇诱导小鼠肝脏氧化应激模型的建立

试验动物适应1周后，按体质量将小鼠分为6组，每组10只，分组情况为：空白组（NC组）、模型组（MC组）、SPE低、中、高剂量组（Se-L组、Se-M组、Se-H组）和阳性对照组（PC组）。试验周期内，每天对小鼠实施灌胃干预，用质量分数0.9%的生理盐水对NC组和MC组的小鼠进行基础干预，分别给予SPE干预组小鼠10、20、40 μg/kg的SPE，给予PC组80 mg/kg的水飞蓟素。在各组灌胃2 h后，NC组继续给予等体积的生理盐水，其余试验组小鼠均通过梯度递增的方式给予52°的白酒溶液（初始剂量为4 mL/kg，逐渐递增至10 mL/kg并维持稳定）。灌胃试验持续4周，在末次灌胃结束时，对小鼠实施禁食处理（自由饮水）12 h。随后，将小鼠麻醉后取血，待将小鼠安乐死后迅速分离出小鼠的肝脏组织，经液氮速冻后转入−80 ℃超低温冰箱中保存。

1.4.3　小鼠体质量及肝脏指数的测定

试验期间，每隔5 d记录1次小鼠的体质量，另外，记录禁食后小鼠的空腹体质量用于计算肝脏指数。肝脏指数的计算见式（1）：

$$I=\frac{m_2}{m_1}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

$I$——肝脏指数，%；

$m_1$——小鼠最后一次灌胃后禁食12 h的空腹体质量，g；

$m_2$——肝脏湿质量，g。

1.4.4　血清生化指标检测

收集的血液样本静置分层后，于4 ℃、3 000 r/min离心15 min获得上层血清，检测血清中AST、ALT的水平，用全自动生化分析仪测定碱性磷酸酶（alkaline phosphatase，ALP）、乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）、总胆固醇（total cholesterol，TC）、低密度脂蛋白胆固醇（low-density lipoprotein cholesterol，LDL-C）和高密度脂蛋白胆固醇（high-density lipoprotein cholesterol，HDL-C）的水平。

1.4.5　肝组织病理检测

肝脏称质量后，取部分组织浸于质量分数4%的多聚甲醛固定液中，用于苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，H&E）染色分析。将固定完全的肝组织依次经过脱水、透明、石蜡包埋制作石蜡切片，切片经过脱蜡复水后，依次用苏木素和伊红进行染色，脱水封片后置于光学显微镜下观察，并采集组织病理学图像。

1.4.6　肝组织氧化应激指标的测定

称取0.2 g肝组织，加入9倍体积的生理盐水，经组织研磨器破碎后获得肝脏匀浆。肝脏匀浆在3 000 r/min、4 ℃下离心10 min，收集上清液用于后续检测，按照试剂盒说明书检测肝脏匀浆中MDA、SOD、GSH-Px、GSH的水平。

1.4.7　肝脏代谢组学分析

对NC组、MC组和Se-M组的肝脏样本进行代谢组学分析。样品前处理参照Lyu等[21]的方法并稍加修改。取50 mg的肝组织，加入200 μL含有内标物的甲醇溶液和3颗钢珠，在组织匀浆机上破碎，4 ℃超声15 min，于4 ℃、12 000 r/min离心，收集上清液。从每份样本的上清液中各取10 μL，充分混合后制成质量控制（QC）样本，将QC样本和各样本的剩余上清液蒸干，加入100 μL体积分数20%的甲醇溶液复溶，微孔滤膜过滤后进行检测。

代谢物检测采用液质联用仪进行，分别使用ACQUITY UPLC® BEH C18色谱柱和HSS T3色谱柱在正负离子模式下进行检测，柱温45 ℃。流动相A：体积分数0.1%的甲酸水溶液；流动相B：乙腈。梯度变化为：0~1.0 min，体积分数为95%的流动相A；1.0~11.0 min，流动相A的体积分数由95%降至1%；11.0~13.0 min，流动相A的体积分数保持为1%；13.0~13.1 min，流动相A的体积分数由1%升至95%。质谱条件为：电喷雾离子源（ESI），离子源温度550 ℃，雾化气压413.7 kPa，辅助气压413.7 kPa。正、负离子模式喷雾电压分别为5 500 V和−4 500 V。

1.4.8　数据处理

所有数据的结果均表示为平均值±标准差，利用SPSS 27对数据结果进行统计分析，$P<0.05$代表差异显著。代谢组学的数据分析包括多元统计分析、单变量分析、T检验等，并根据上述分析结果筛选出变化显著的差异代谢物，最后，基于京都基因与

基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)数据库,对得到的差异代谢物进行代谢途径注释并完成富集分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 SPE对小鼠体质量及肝脏指数的影响

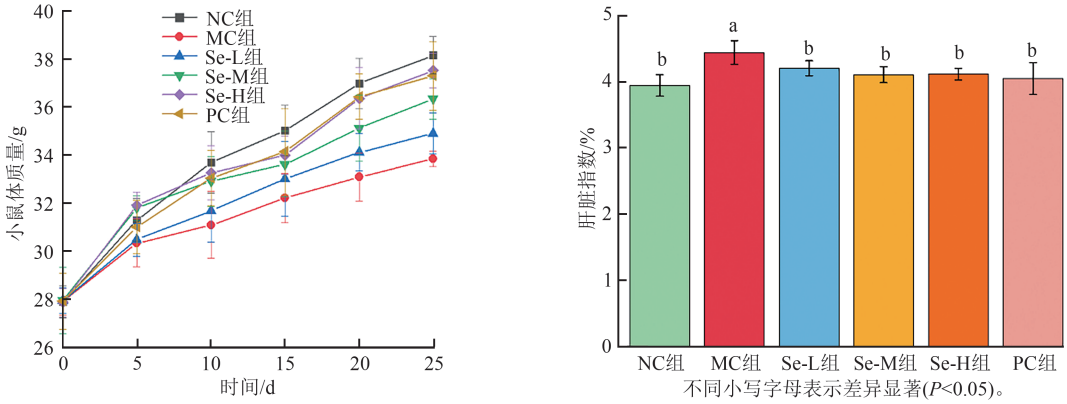
试验期间小鼠的体质量变化见图1(a),MC组小鼠的体质量增长速率从第5天开始明显低于其他组,SPE的干预对小鼠的体质量增长具有一定的积极作用。如图1(b)所示,MC组小鼠的肝脏指数与NC组相比显著升高($P$<0.05),说明单纯的乙醇干预可能使MC组小鼠肝脏发生一定程度的损伤。与MC组相比,灌胃SPE的小鼠肝脏指数显著降低($P$<0.05),表明SPE具有缓解肝脏损伤的潜力。

### 2.2 SPE对小鼠肝组织结构的影响

H&E染色结果见图2。如图2(a)所示,NC组小鼠肝细胞结构正常,没有发生明显病理变化。如图2(b)所示,MC组小鼠的肝细胞呈现出不规则的排列,部分细胞核呈溶解趋势,细胞边界不清晰,胞浆中出现脂肪空泡。如图2(c)~(e)所示,与MC组相比,SPE的干预缓解了肝组织的病理改变,Se-L组仍存在细胞核溶解和细胞排列紊乱的现象,部分胞浆中有空泡出现,Se-M组和Se-H组的肝细胞排列整齐,组织结构接近NC组。结果表明,SPE可以缓解乙醇诱导的肝组织病理变化,且中、高剂量组的效果更佳。

### 2.3 SPE对肝损伤指标的影响

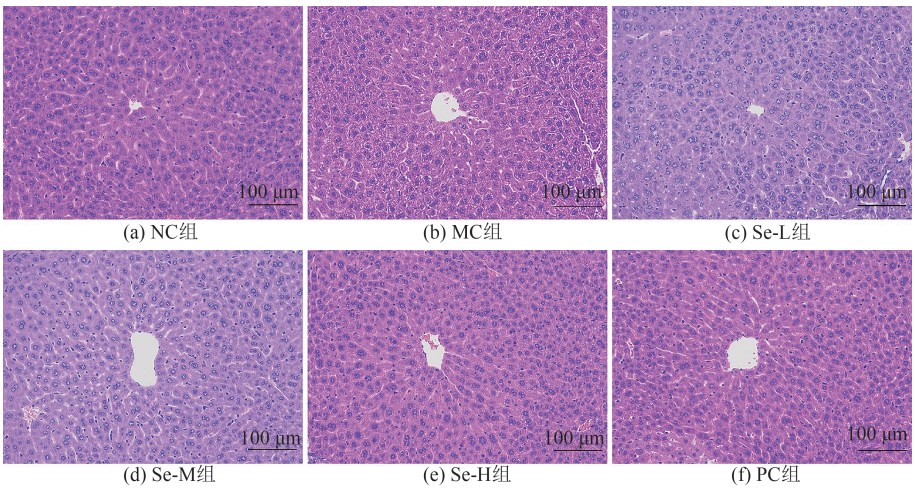
正常机体血清中AST和ALT含量较低,当肝脏受到损伤时,AST和ALT则会进入血液,因此血清中高含量的AST和ALT反映了肝细胞线粒体损伤和细胞膜损伤的发生[22]。如图3(a)~(b)所示,乙醇灌胃后,MC组小鼠血清中AST和ALT的水




(a) 小鼠体质量变化　(b) 肝脏指数

图1 SPE对小鼠体质量和肝脏指数的影响

Fig. 1 Effects of SPE on the body weight and liver index of mice




(a) NC组　(b) MC组　(c) Se-L组

(d) Se-M组　(e) Se-H组　(f) PC组

图2 小鼠肝组织的H&E染色(200×)

Fig. 2 H&E staining of the liver tissue in mice (200×)

平较NC组显著上升（$P$<0.05），分别是NC组的1.98倍和2.13倍，表明MC组小鼠肝脏受乙醇影响发生了肝损伤。SPE干预显著降低了MC组小鼠血清中的AST和ALT水平（$P$<0.05）。结果表明低剂量的SPE干预也可以降低小鼠血清中的AST和ALT水平，但效果不如高剂量的SPE。

当肝细胞受到损伤后，肝脏中的ALP和LDH会进入血液，导致血清中的ALP和LDH水平异常升高[23-24]。因此，为了进一步反映小鼠肝损伤程度，对血清中的ALP和LDH水平进行了检测。如图3（c）~（d）所示，MC组小鼠血清中ALP和LDH水平较NC组分别提高了42.26%和75.28%，SPE干预组小鼠血清中ALP和LDH水平低于MC组。尽管低剂量的SPE干预降低了血清中的ALP水平，但与MC组相比无显著差异（$P$>0.05）。中、高剂量的SPE干预则显著降低了血清中的ALP和LDH水平（$P$<0.05），其效果与PC组的干预效果相似。上述结果均表明SPE干预可以缓解由乙醇干预诱导的肝脏损伤，且中、高剂量的干预效果更好。

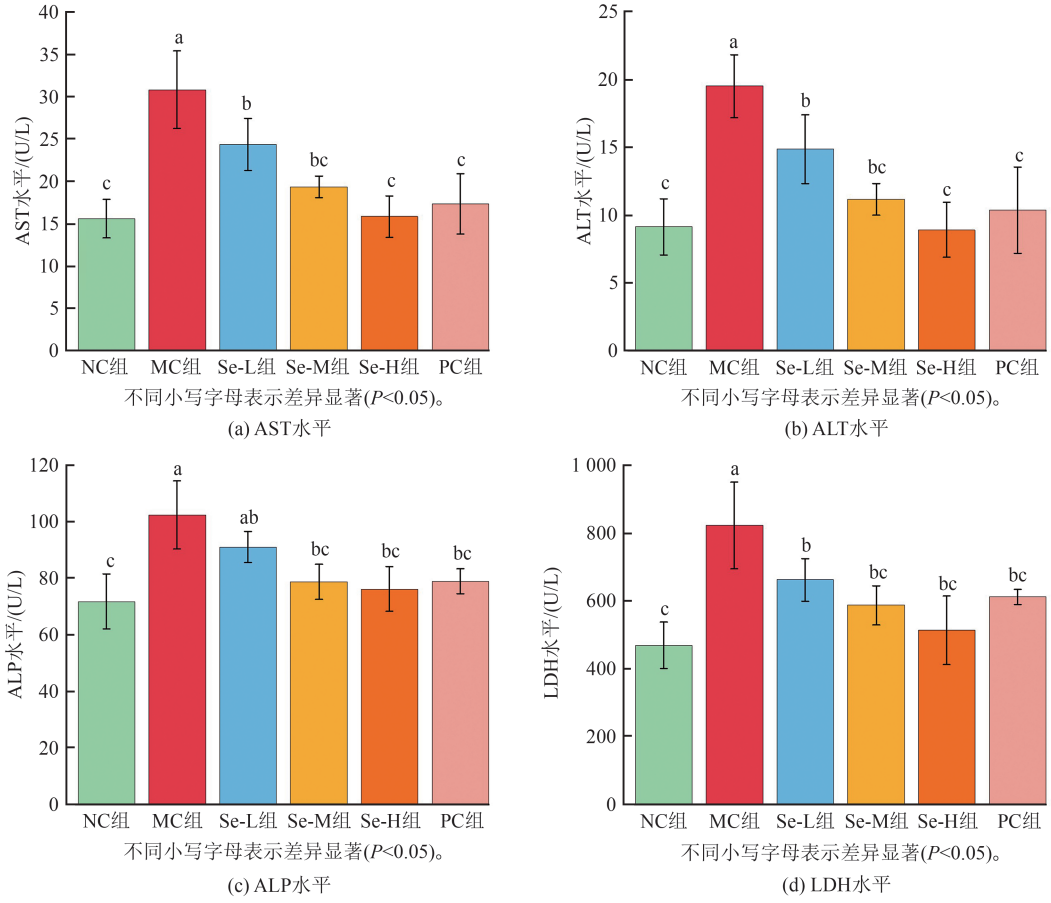
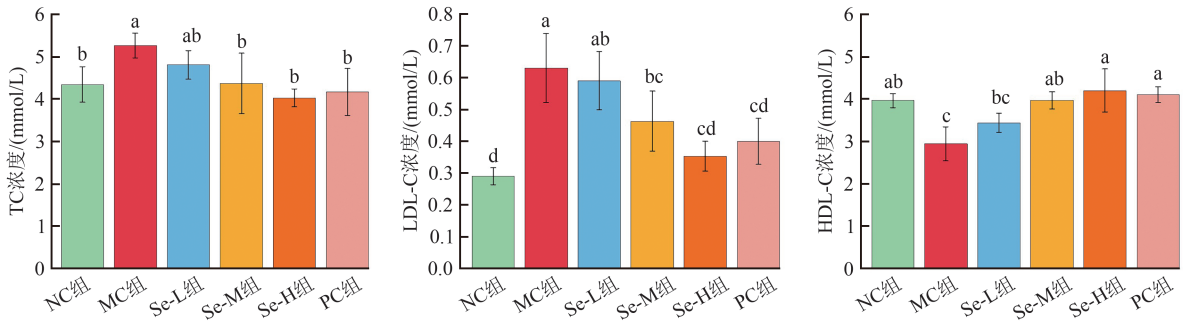



图3　SPE对小鼠血清中AST、ALT、ALP和LDH水平的影响

Fig. 3　Effects of SPE on AST, ALT, ALP and LDH levels in mice serum

## 2.4　SPE对小鼠血脂代谢的影响

血脂代谢异常是酒精性肝损伤的特征之一[25]，通过检测血清中相关脂质指标来评估小鼠体内的脂代谢水平。如图4（a）~（b）所示，MC组小鼠血清中的TC浓度为5.26 mmol/L，较NC组显著升高（$P$<0.05），LDL-C的浓度为0.63 mmol/L，较NC组显著升高（$P$<0.05）。经SPE干预后，血清中TC和LDL-C的浓度呈下降趋势。如图4（c）所示，HDL-C与TC和LDL-C变化趋势相反，MC组的HDL-C的浓度较NC组显著下降（$P$<0.05），在SPE干预后，血清中HDL-C的浓度上升，Se-M和Se-H组的HDL-C浓度更接近NC组。结果表明，在MC组小鼠体内发生了异常的脂质代谢，SPE干预可改善该现象。



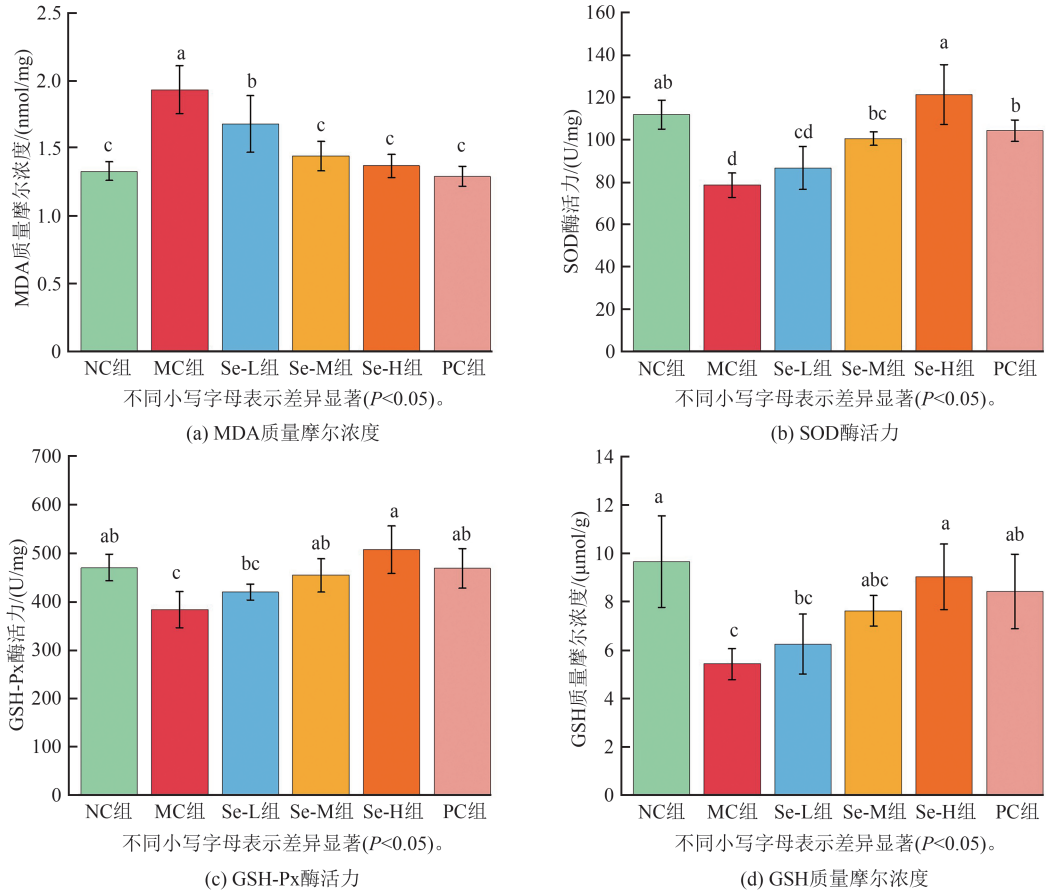

(a) TC浓度 (b) LDL-C浓度 (c) HDL-C浓度

图 4 SPE 对小鼠血清中 TC、LDL-C 和 HDL-C 浓度的影响

Fig. 4 Effects of SPE on TC, LDL-C, and HDL-C concentrations in mouse serum

## 2.5 SPE 对小鼠肝脏氧化应激指标的影响

MDA 是反映机体氧化应激的重要指标，自由基通过与机体脂质发生过氧化反应生成最终产物 MDA，因此，MDA 的含量可代表机体的氧化应激水平[21]。SOD、GSH-Px 以及 GSH 在肝脏抗氧化防御系统中发挥着重要作用，对自由基有较强的清除能力[26]。当体内自由基含量超过机体清除能力时，多余的自由基就会在体内积累，从而导致氧化损伤[27]。如图 5(a)所示，MC 组的 MDA 质量摩尔浓度显著升高($P$<0.05)，SPE 干预组中的 MDA 质量摩尔浓度下降，且 Se-L 组的 MDA 质量摩尔浓度与 Se-M 组和 Se-H 组存在显著差异($P$<0.05)，肝脏中 MDA 质量摩尔浓度随着 SPE 干预剂量的增加而降低。如图 5(b)~(d)所示，与 MDA 变化趋势不同的




(a) MDA质量摩尔浓度 (b) SOD酶活力

(c) GSH-Px酶活力 (d) GSH质量摩尔浓度

图 5 SPE 对小鼠肝脏中 MDA、SOD、GSH-Px 和 GSH 水平的影响

Fig. 5 Effects of SPE on MDA, SOD, GSH-Px, and GSH levels in mouse liver

是，MC组小鼠肝脏中SOD的酶活力与NC组相比显著降低（$P$<0.05），GSH-Px的酶活力和GSH质量摩尔浓度也在乙醇干预后显著下降（$P$<0.05），这些现象说明MC组小鼠肝脏氧化还原平衡遭到破坏，发生了氧化应激。与MC组相比，SPE干预显著提高了肝脏中SOD、GSH-Px的酶活力以及GSH质量摩尔浓度（$P$<0.05），且高剂量SPE的效果最佳。这些结果表明，SPE在抵抗机体氧化应激、提高肝脏抗氧化能力方面具有一定的潜力。

### 2.6　SPE对小鼠肝脏代谢谱的影响

#### 2.6.1　肝脏代谢轮廓分析

通过对检测结果进行峰提取、峰过滤、峰积分以及质控筛选后从正负离子模式下共获得449种物质。将正负离子模式下的检测结果合并后进行主成分分析（principal component analysis，PCA）和偏最小二乘法判别分析（partial least squares-discriminant analysis，PLS-DA），见图6。NC组、MC组和Se-M组明显分离，从PCA得分图中可以看出在第一主成分上MC组与NC组明显分离，而Se-M组分散在NC组附近，接近NC组，PLS-DA得分图也显示出相似的情况。结果表明，4周的乙醇干预改变了MC组小鼠肝脏的代谢谱，中剂量的SPE干预则改善了乙醇诱导的肝脏代谢谱的变化。

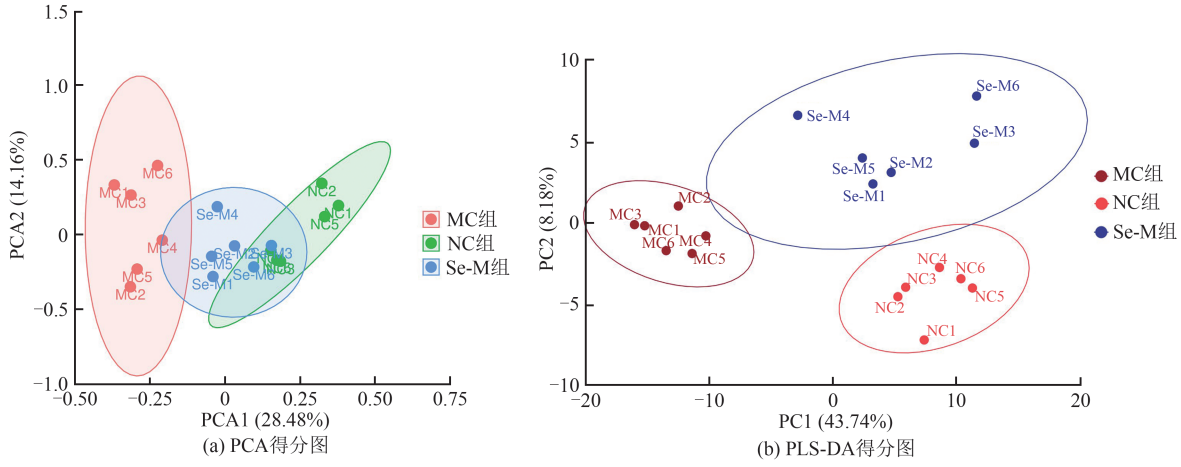



图6　PCA和PLS-DA得分图

Fig. 6　PCA and PLS-DA score plots

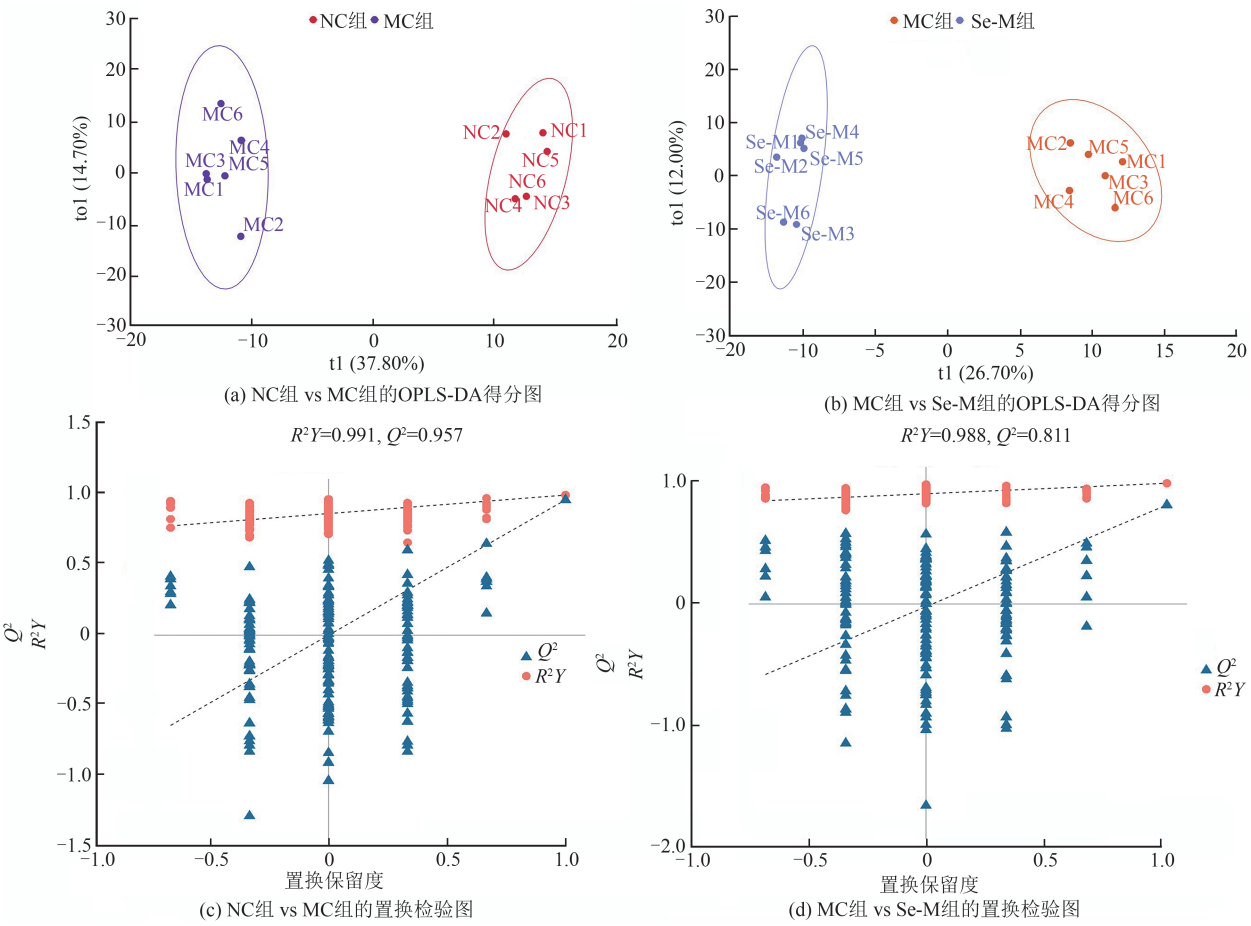
#### 2.6.2　差异代谢物筛选

在进行差异代谢物筛选之前，先进行正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）。如图7（a）~（b）所示，NC组和MC组以及MC组与Se-M组之间均存在明显分离，表明组间代谢物具有显著差异。为了检验模型是否存在过拟合，对上述模型进行置换检验，结果显示2个比较组的$R^2Y$均接近于1，$Q^2$>0.8且$Q^2$回归线与纵轴的交点小于0，见图7（c）~（d），表明模型预测能力较强且不存在过拟合。

根据OPLS-DA模型得到的变量重要性投影（variable importance projection，VIP）值、代谢物倍数变化（fold change，FC）值和T检验的$P$值筛选差异代谢物，其筛选标准为VIP值>1、FC值>2（或FC值<0.5）和$P$<0.05，同时满足该标准的代谢物即为组间具有显著差异的代谢物。NC组和MC组之间共发现了93种差异代谢物，与NC组相比，MC组中有24种代谢物的表达水平上调，69种代谢物的表达水平下调；MC组和Se-M组之间有37种显著变化的代谢物，与NC组相比，Se-M组中有23种代谢物的表达水平显著上升，14种代谢物的表达水平显著下降，见图8（a）。差异代谢物的韦恩图见图8（b），2个比较组有32种相同的差异代谢物，这些代谢物包括在MC组中表达水平上调的甘油磷酸胆碱、半乳糖肌醇、葡萄糖-6-磷酸和表达水平下调的二十二碳六烯酸、吲哚乙酸、$L$-棕榈酰肉碱等，具体的代谢物信息见表1。这些代谢物表达水平的变化在Se-M组中得到显著缓解，表明SPE可改善乙醇诱导的肝脏代谢紊乱。

#### 2.6.3　差异代谢物KEGG富集分析

基于KEGG数据库对差异代谢物进行系统

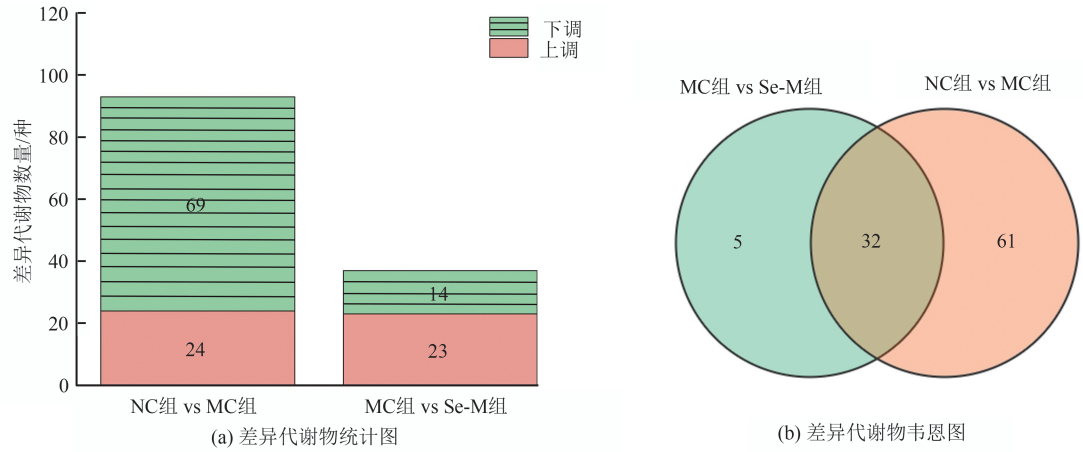



(a) NC组 vs MC组的OPLS-DA得分图　(b) MC组 vs Se-M组的OPLS-DA得分图

(c) NC组 vs MC组的置换检验图　(d) MC组 vs Se-M组的置换检验图

图 7　两组间 OPLS-DA 得分图和置换检验结果

Fig. 7　Score plots and permutation test results of OPLS-DA between two groups




(a) 差异代谢物统计图　(b) 差异代谢物韦恩图

图 8　差异代谢物统计柱状图和韦恩图

Fig. 8　Statistical bar chart and Venn diagram of differential metabolites

注释，并对其进行 KEGG 功能富集分析，最后，可视化呈现显著富集的前 20 条代谢通路。如图 9（a）所示，NC 组 vs MC 组的差异代谢物主要富集在不饱和脂肪酸的生物合成、亚油酸代谢、淀粉和蔗糖代谢、甘油磷脂代谢等途径；上述代谢通路在 MC 组 vs Se-M 组中也显著富集，表明被乙醇影响的代谢途径可以在 SPE 干预以后得到缓解。此外，MC 组 vs Se-M 组还富集到了肌动蛋白细胞骨架的调控、胰岛素分泌和胆碱能突触等代谢途径，见图 9（b），SPE 可以通过改善相关代

表 1　差异代谢物信息统计

Table 1　Information of differential metabolites

| 序号 | 代谢物名称 | NC 组 vs MC 组 | MC 组 vs Se-M 组 |
|---|---|---|---|
| 1 | *D*-甘露糖 | 上调 | 下调 |
| 2 | 莫拉辛 N | 上调 | 下调 |
| 3 | 异甘草素 | 下调 | 上调 |
| 4 | N-棕榈酰-磷酸乙醇胺 | 下调 | 上调 |
| 5 | *L*-乙酰乙酸薄荷酯 | 下调 | 上调 |
| 6 | 3,5-二碘-*L*-甲状腺素 | 下调 | 上调 |
| 7 | 多巴胺葡萄糖醛酸 | 下调 | 上调 |
| 8 | 二十二碳六烯酸 | 下调 | 上调 |
| 9 | 甘氨酰-*L*-脯氨酸 | 上调 | 下调 |
| 10 | 甘油磷酸胆碱 | 上调 | 下调 |
| 11 | 肌醇半乳糖苷 | 上调 | 下调 |
| 12 | 环苯扎林 | 上调 | 下调 |
| 13 | 葡萄糖-6-磷酸 | 上调 | 下调 |
| 14 | 甘氨酰-酪氨酸 | 上调 | 下调 |
| 15 | 半乳糖-1-磷酸 | 上调 | 下调 |
| 16 | 天冬氨酰-苯丙氨酸 | 上调 | 下调 |
| 17 | 吲哚乙酸 | 下调 | 上调 |
| 18 | 亚麻酰肉碱（C18:2） | 下调 | 上调 |
| 19 | 酰基肉碱 18:2 | 下调 | 上调 |
| 20 | 酰基肉碱 20:4 | 下调 | 上调 |
| 21 | 亚油酰基肉碱 | 下调 | 上调 |
| 22 | *L*-棕榈酰肉碱 | 下调 | 上调 |
| 23 | 酰基肉碱 20:3 | 下调 | 上调 |
| 24 | 肉碱 | 下调 | 上调 |
| 25 | 酰基肉碱 18:1 | 下调 | 上调 |
| 26 | 磷酸鞘氨醇 | 下调 | 上调 |
| 27 | 溶血磷脂酰乙醇胺 16:1 | 下调 | 上调 |
| 28 | 神经酰胺[NS] d40:1 | 下调 | 上调 |
| 29 | 香紫苏醇 | 下调 | 上调 |
| 30 | 二高-γ-亚麻酸 | 下调 | 上调 |
| 31 | 顺-8,11,14-二十碳三烯酸 | 下调 | 上调 |
| 32 | N-乙酰神经氨酸 | 下调 | 上调 |

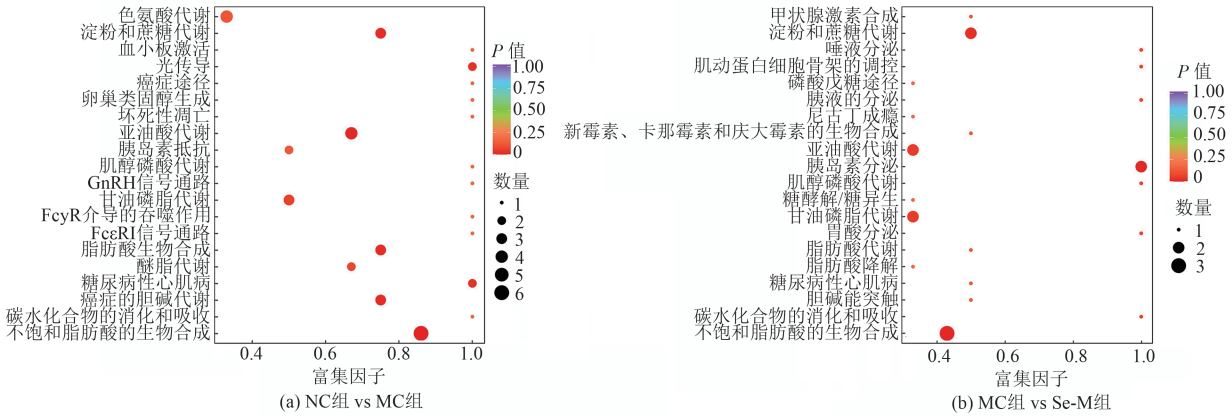



图 9　差异代谢物 KEGG 富集气泡图

Fig. 9　Bubble diagram of KEGG enrichment of differential metabolites

谢物的水平从而影响上述代谢途径达到缓解机体代谢异常的作用。

## 3 结论

作者成功建立了酒精性肝损伤动物模型，并探究了SPE对乙醇诱导的肝脏损伤的保护作用。研究结果表明，MC组小鼠的肝组织结构发生了明显的病理改变，肝脏指数和血清肝损伤标志物的水平显著升高。此外，MC组中血清TC和LDL-C的水平增加、肝脏MDA质量摩尔浓度显著上升，而SOD、GSH-Px的酶活力和GSH的质量摩尔浓度显著下降，证明了模型的成功建立。肝脏代谢组学分析结果显示，4周的乙醇干预显著改变了MC组小鼠的肝脏代谢轮廓，破坏了小鼠体内正常的代谢途径。在灌胃乙醇之前，给予小鼠SPE干预可以缓解上述病理变化，其保护作用与改善肝脏组织结构、调节脂代谢、提高肝脏抗氧化水平以及调节肝脏代谢谱有关。

在MC组小鼠体内参与不饱和脂肪酸生物合成的二十二碳六烯酸、花生四烯酸和硬脂酸等物质的水平显著下降，与淀粉和蔗糖代谢有关的*D*-果糖-6-磷酸和葡萄糖-6-磷酸的水平则显著上升。此外，差异代谢物在亚油酸代谢和甘油磷脂代谢中显著富集。而这些被乙醇影响的代谢通路在SPE干预以后得到了显著改善，表明SPE可以通过影响肝脏代谢通路从而缓解肝脏损伤。

另外，乙醇及其代谢产物会诱导肠道损伤从而改变肠道通透性，并引起肠道菌群的失调[28]。肠道通透性的增加，会使某些代谢物透过肠屏障进入门静脉系统而回流至肝脏，进一步加重了肝脏损伤，这种肠肝轴的相互作用被越来越多的研究证实。后期可以进一步检测SPE干预前后小鼠的肠道菌群，并与肝脏代谢组学、血清生化参数进行相关性分析，深入研究SPE对乙醇诱导的肝脏损伤的保护机制。

## 参考文献


[1] 九红，付满玲，刘洪盛，等. 赶黄草醇提物和赶黄草总黄酮对小鼠亚急性酒精性肝损伤保护作用的比较研究[J]. 食品工业科技，2023，44(3)：391-397.
JIU H，FU M L，LIU H S，et al. Comparative study on hepatoprotective effects of alcohol extract and total flavonoids of *Penthorum chinense* Pursh against alcohol-induced subacute liver injury in mice[J]. Science and Technology of Food Industry，2023，44(3)：391-397.(in Chinese)

[2] WANG F S，FAN J G，ZHANG Z，et al. The global burden of liver disease：the major impact of China [J]. Hepatology，2014，60(6)：2099-2108.

[3] JIANG X X，ZHOU Y F，ZHANG Y，et al. Hepatoprotective effect of pyrroloquinoline quinone against alcoholic liver injury through activating Nrf2-mediated antioxidant and inhibiting TLR4-mediated inflammation responses[J]. Process Biochemistry，2020，92：303-312.

[4] HAMADA K，WANG P，XIA Y L，et al. Withaferin A alleviates ethanol-induced liver injury by inhibiting hepatic lipogenesis [J]. Food and Chemical Toxicology，2022，160：112807.

[5] REN R X，WANG Z M，WU M M，et al. Emerging roles of SIRT1 in alcoholic liver disease [J]. International Journal of Biological Sciences，2020，16(16)：3174-3183.

[6] MAGDALENO F，BLAJSZCZAK C C，NIETO N. Key events participating in the pathogenesis of alcoholic liver disease[J]. Biomolecules，2017，7(1)：9.

[7] KIM H，PAN J H，KIM S H，et al. Chlorogenic acid ameliorates alcohol-induced liver injuries through scavenging reactive oxygen species[J]. Biochimie，2018，150：131-138.

[8] LEUNG T M，NIETO N. CYP2E1 and oxidant stress in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease[J]. Journal of Hepatology，2013，58(2)：395-398.

[9] YANG Y M，CHO Y E，HWANG S . Crosstalk between oxidative stress and inflammatory liver injury in the pathogenesis of alcoholic liver disease [J]. International Journal of Molecular Sciences，2022，23(2)：774.

[10] KURŠVIETIENĖ L，MONGIRDIENĖ A，BERNATONIENĖ J，et al. Selenium anticancer properties and impact on cellular redox status[J]. Antioxidants，2020，9(1)：80.

[11] ZHAO D，GAO F，ZHU H，et al. Selenium-enriched *Bifidobacterium longum* DD98 relieves metabolic alterations and liver injuries associated with obesity in high-fat diet-fed mice[J]. Journal of Functional Foods，2020，72：104051.

[12] WANG Y，CHEN H W，CHANG W H，et al. Protective effects of selenium yeast against cadmium-induced necroptosis *via* inhibition of oxidative stress and MAPK pathway in chicken liver [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety，2020，206：111329.

[13] CONG Y M，CHI Q R，TENG X H，et al. The protection of selenium against cadmium-induced mitochondrial damage *via* the cytochrome P450 in the livers of chicken [J]. Biological Trace Element Research，2019，190：484-492.

[14] OJEDA M L，CARRERAS O，SOBRINO P，et al. Biological implications of selenium in adolescent rats exposed to binge drinking：oxidative，immunologic and apoptotic balance[J]. Toxicology and Applied Pharmacology，2017，329：165-172.

[15] FU X，ZHONG Z W，HU F，et al. The protective effects of selenium-enriched *Spirulina platensis* on chronic alcohol-induced liver injury in mice [J]. Food & Function，2018，9(6)：3155-3165.

[16] YANG R，LIU Y Q，ZHOU Z K. Selenium and selenoproteins，from structure，function to food resource and nutrition[J]. Food Science and Technology Research，2017，23(3)：363-373.

[17] 耿直，王利平，冯玉琦，等. 高聚硒植物堇叶碎米荠内生菌分离鉴定及硒耐受性评价[J]. 农业生物技术学报，2021，29(9)：1795-1807.
GENG Z，WANG L P，FENG Y Q，et al. Isolation，identification and selenium tolerance assay of endophytic microbes from selenium hyperaccumulator *Cardamine violifolia* [J]. Journal of Agricultural Biotechnology，2021，29(9)：1795-1807.(in Chinese)

[18] 叶梅，虞锐鹏，丛欣，等. 富硒堇叶碎米荠中硒化合物的形态分析与鉴定[J]. 分析测试学报，2022，41(1)：100-107.
YE M，YU R P，CONG X，et al. Detection and identification of selenium compounds in selenium-enriched *Cardamine violifolia*[J]. Journal of Instrumental Analysis，2022，41(1)：100-107.(in Chinese)

[19] 杜朝东，于添，丛欣，等. 碎米荠蛋白制备工艺及抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报，2020，39(1)：68-75.
DU C D，YU T，CONG X，et al. Preparation of *Cardamine* protein and its antioxidant activity [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2020，39(1)：68-75.(in Chinese)

[20] 凌荣瑞，丛欣，陈尚卫，等. 堇叶碎米荠富硒多肽对乙醇诱导THLE-2肝细胞损伤的保护作用[J]. 食品与发酵工业，2023，49(24)：44-51.
LING R R，CONG X，CHEN S W，et al. Protective effect of selenium-enriched peptide from *Cardamine violifolia* on ethanol-induced THLE-2 hepatocyte injury[J]. Food and Fermentation Industries，2023，49(24)：44-51.(in Chinese)

[21] LYU X C，WU Q，CAO Y J，et al. Ganoderic acid A from *Ganoderma lucidum* protects against alcoholic liver injury through ameliorating the lipid metabolism and modulating the intestinal microbial composition [J]. Food & Function，2022，13(10)：5820-5837.

[22] CAI Z，SONG L H，QIAN B J，et al. Understanding the effect of anthocyanins extracted from purple sweet potatoes on alcohol-induced liver injury in mice [J]. Food Chemistry，2018，245：463-470.

[23] OZKOL H，BULUT G，BALAHOROGLU R，et al. Protective effects of selenium，N-acetylcysteine and vitamin E against acute ethanol intoxication in rats[J]. Biological Trace Element Research，2017，175：177-185.

[24] LIN T A，KE B J，CHENG S C，et al. Red quinoa bran extract prevented alcoholic fatty liver disease *via* increasing antioxidative system and repressing fatty acid synthesis factors in mice fed alcohol liquid diet [J]. Molecules，2021，26(22)：6973.

[25] CHENG Q，LI Y W，YANG C F，et al. Methyl ferulic acid attenuates ethanol-induced hepatic steatosis by regulating AMPK and FoxO1 pathways in rats and L-02 cells[J]. Chemico-Biological Interactions，2018，291：180-189.

[26] 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.(in Chinese)

[27] LIN Y C，CHEN H，CAO Y J，et al. *Auricularia auricula* melanin protects against alcoholic liver injury and modulates intestinal microbiota composition in mice exposed to alcohol intake[J]. Foods，2021，10(10)：2436.

[28] 梁金辉，陈文迪，吴翠芳，等. 基于16S rDNA测序研究白酒对大鼠肠道菌群的影响[J]. 食品与生物技术学报，2023，42(12)：98-105.
LIANG J H，CHEN W D，WU C F，et al. Effect of Baijiu on gut microbiota of rats using 16S rDNA sequencing[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2023，42(12)：98-105.(in Chinese)

（责任编辑：闫林红）