

# 原花青素对铁负荷大鼠肝脏功能及 *TfR2*、*hepcidin* 基因表达的影响

张文芳 云少君 冯翠萍\* 何兴帅 褚东阳 郭李萌 吴艳丽

(山西农业大学 食品科学与工程学院,山西 太谷 030801)

**摘要** 为探讨原花青素对铁负荷致大鼠肝损伤的影响,通过监测肝功能、病理切片及转铁蛋白受体-2(*TfR2*)、铁调素(*hepcidin*)基因表达,将40只SD大鼠随机分为对照组、原花青素组、铁负荷组和试验组(铁负荷+原花青素)。ICP法辅以肝脏普鲁士蓝染色判别铁负荷大鼠模型是否建立成功;相关试剂盒检测谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)的活性;HE染色观察肝组织形态学变化;Real-Time PCR检测肝组织中*TfR2*、*hepcidin*基因表达的变化。与对照组相比,铁负荷组Fe及ALT、AST水平显著升高( $P<0.05$ ),肝组织结构严重紊乱,*hepcidin*基因的表达量显著下降( $P<0.05$ ),*TfR2*基因的表达无明显差异;原花青素组Fe显著降低( $P<0.05$ ),ALT、AST水平无显著性变化,肝组织结构正常,*TfR2*与*hepcidin*基因的表达量显著下降( $P<0.05$ )。与铁负荷组相比,试验组ALT、AST水平显著降低( $P<0.05$ ),肝组织紊乱程度减轻,Fe含量、*TfR2*及*hepcidin*基因的表达量均略降低,但差异无统计学意义。原花青素可以抑制铁的摄入量;在机体铁过载状态下,原花青素抑制铁吸收的能力可以在一定程度上改善肝功能。

**关键词** 铁负荷;原花青素;谷丙转氨酶;谷草转氨酶;*hepcidin*;*TfR2*

中图分类号 TS201.4

文章编号 1007-4333(2017)08-0057-07

文献标志码 A

## Effects of proanthocyanidins on the liver function and *TfR2*, *hepcidin* gene expression in iron overload rats

ZHANG Wenfang, YUN Shaojun, FENG Cuiping\*, HE Xingshuai,

CHU Dongyang, GUO Limeng, WU Yanli

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

**Abstract** This study was to discuss the effect of proanthocyanidins on the liver function of iron overload rats according to test the iron content, level of liver alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), the liver pathological changes, transferrin receptor-2 (*TfR2*) and *hepcidin* gene expression. Forty healthy male SD rats were randomly divided into 4 groups: Control group, proanthocyanidins group, iron overload group and test group. The rat liver were collected. ICP method was then used to measure the content of Fe supplemented with the identification of liver Prussian blue stain to check whether the iron-overloading rat model was set up successfully. The levels of ALT and AST were measured by related kits. HE staining was used to decide the liver pathological changes. *TfR2* and *hepcidin* gene expressions were examined by real-time PCR. Results comparison showed that the content of Fe and the level of ALT and AST in the overload group increased significantly ( $P<0.05$ ). The liver tissue structure was disorder severely. *hepcidin* gene expression decreased significantly ( $P<0.05$ ) and *TfR2* gene expression did not change significantly ( $P>0.05$ ). Compared with the control group, the content of Fe decreased significantly in the proanthocyanidins group ( $P<0.05$ ) while the activity of ALT and AST did not change significantly. No obvious lesion was observed in the liver tissue. The gene expression of *TfR2* and *hepcidin* both decreased significantly ( $P<0.05$ ). Compared with the iron

收稿日期: 2016-06-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31271826); 山西农业大学引进人才博士科研启动费(2013YJ30); 山西农业大学科技创新基金(20132-02)

第一作者: 张文芳, 硕士研究生, E-mail: 1012175492@qq.com

通讯作者: 冯翠萍, 教授, 主要从事食品营养与安全研究, E-mail: ndfcp@163.com

overload group, the level of ALT and AST in the test group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). The liver tissue disorder was reduced. The content of Fe, *TfR2* and *hepcidin* gene expression all decreased, but there were no significant differences. In conclusion, proanthocyanidins could restrain the intake of iron. In the condition of the body's iron overload, proanthocyanidins can improve liver function to a certain extent through inhibiting iron absorption.

**Keywords** iron overload; proanthocyanidins; ALT; AST; *hepcidin*; *TfR2*

铁是生物体必需的营养元素,在氧的运输与储存、电子传递、物质能量代谢、DNA、RNA及蛋白质的合成、血红素生物合成的调节等方面起着重要的生物学作用<sup>[1]</sup>。长期以来,人们由于过多的关注铁的营养价值及缺铁性贫血与防治,而忽略了铁过量潜在的危害,很容易引起机体铁负荷。此外也有动物试验表明,随着年龄的增长肝中铁蓄积会增加<sup>[2]</sup>。铁过量对机体生理机能和脏器具有明显的副作用,游离铁能与过氧化氢( $H_2O_2$ )反应生成具有高度反应活性的羟自由基,诱导氧化应激,从而加剧细胞毒性作用,导致组织损伤<sup>[3]</sup>。此外,铁负荷还与机体多种损害有关,对于慢性输血患者,肝损伤是其器官损害和死亡的主要原因<sup>[4]</sup>,而在血色病患者中,肝脏是最主要的铁沉积受累器官<sup>[5]</sup>。因此改善铁负荷进而维持铁稳态对于机体有着非常重要的意义。

目前治疗铁负荷的药物主要是一些金属螯合剂,如去铁胺(DFO)、去铁酮(DFP)和去铁斯若(DFS)等,但也有很多副作用,如引起低血压、心悸、心血管功能紊乱,肝、肾功能损害、血小板减少、关节毒和粒细胞缺乏症等。长期静脉注射治疗还会引起病人耐受性差、生活质量下降等问题。而原花青素(Proanthocyanidins, PAs)是一类广泛存在植物中的天然多酚类物质,是由不同数量的儿茶素或表儿茶素结合而成的多聚体,它是一种超强的氧自由基清除剂和脂质过氧化抑制剂<sup>[6]</sup>。目前国内外关于原花青素保护肝损伤的报道,多着眼于其能够拮抗肝脏的氧化应激水平,研究表明葡萄籽寡聚体原花青素可保护酒精引起的大鼠肝损伤,对四氯化碳( $CCl_4$ )<sup>[7-8]</sup>、氟化钠( $NaF$ )<sup>[9]</sup>、砷<sup>[10]</sup>造成的肝脏氧化损伤均有拮抗作用。本课题组之前的研究也表明葡萄籽原花青素能够抑制缺铁大鼠对大豆铁蛋白中铁的吸收,使缺铁大鼠全部死亡<sup>[11]</sup>。原花青素对于铁过量引起的肝脏损伤有何影响,且其影响机制如何,目前不甚明了,报道较少。因此,本试验拟通过构建铁负荷大鼠模型,以肝脏铁含量、相关酶水平、肝脏组织切片及铁代谢相关基因为观测点,旨在为进一

步探讨原花青素对铁负荷引起的肝损伤的影响及其相关机制提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

葡萄籽原花青素 购自天津尖峰有限责任公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 仪器及药品

高速电动匀浆器 天津恒奥科技公司;D-3752 高速冷冻离心机 Sigma 公司(美国);Optima5300DV 型 ICP 发射光谱仪 美国 PE 公司;超低温冰箱 日本松下公司;YXQ-LS-50SII 立式压力蒸汽灭菌器 上海博讯实业有限公司医疗设备厂;DNM-9606 酶标仪 北京普朗新技术有限公司;HY-BM1160 生物组织包埋机 金华惠友仪器生物有限公司;RM2265 型切片机 德国 Leica 公司;YT-6C 生物组织摊烤片机 湖北省亚光医用电子技术有限公司;DYY-7 型转移电泳仪 北京市六一设备仪器厂;Eppendorf AG 核酸蛋白测定仪 德国 Eppendorf 公司;Mx3000P 荧光定量 PCR 仪 美国 Stratagene 公司;BIO-RAD 凝胶成像系统 意大利 BIO-RAD 公司。

谷丙转氨酶试剂盒、谷草转氨酶试剂盒、右旋糖酐铁(购自南京建成有限公司),普鲁士蓝染色液(promega 公司)、RNAiso Plus、PrimeScript™ RT Master Mix、SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒(TaKaRa 公司),50×TAE 缓冲液(北京诺博莱德科技公司),DNA Marker(宝生物工程(大连)有限公司),PCR 引物(上海市生工生物工程技术有限公司)、Loading Buffer(北京 Solarbio 科技有限公司)、DEPC、琼脂糖(上海索莱宝生物科技有限公司)、溴化乙锭(EB,意大利 BBI 公司分装产品)。其他试剂均为国产分析纯。

#### 1.2.2 试验设计

1) 动物模型的建立。选用(230±5) g SPF 级雄性 SD 大鼠,随机分为 4 组:对照组(0.9%生理盐水)、原花青素组(0.9%生理盐水+100 mg/kg 体重

原花青素), 铁负荷组(0.9%生理盐水+100 mg/kg 体重右旋糖酐铁)及试验组(100 mg/kg 体重右旋糖酐铁+100 mg/kg 体重原花青素), 每组 10 只。自然昼夜, 节律光照, 温度(20±5)℃, 相对湿度为 40%~60%。其中隔天腹腔注射右旋糖酐铁, 原花青素每天通过灌胃给予大鼠, 空白组按相应方式给予生理盐水刺激。每次灌胃、腹腔注射量为 1 mL/100 g 体重。试验期共 10 d。

2) 样品的采集及处理。饲养 10 d 后, 过夜禁食 12 h, 称重, 用乙醚将大鼠麻醉, 断颈椎处死动物, 取肝脏, 剔净周围肌肉组织, 一部分经固定、脱水、包埋、切片、染色, 镜下观察组织形态; 另一部分组织迅速存于液氮中, 然后在 -80℃ 冰箱中保存, 待用。

3) 肝脏中 Fe 含量的测定。准确称取肝脏 0.1 g, 加入混合酸: 8 mL 硝酸和 2 mL 高氯酸 (V(高氯酸): V(硝酸)=1: 4) 静置过夜后于电炉上进行湿法消化, 同时作对照管对照。消化至白色颗粒后用双蒸水定容至 25 mL, 用电感耦合等离子发射光谱仪测定其中 Fe 的含量。

按照普鲁士蓝试剂盒说明书进行操作, 常规脱水透明, 中性树脂封固, 显微镜下观察。

4) 谷丙转氨酶、谷草转氨酶水平测定。测定方法参照相关试剂盒说明书。

5) 肝脏组织 HE 染色。肝组织经甲醛固定后, 通过石蜡包埋、切片后按常规染色方法进行 HE 染色, 显微镜下观察。

6) 荧光定量 RT-PCR。按 Trizol 试剂盒的方法提取肝脏组织中的总 RNA, 采用琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白测定仪对 RNA 进行检测, RNA 定量后按照 TaKaRa 反转录试剂盒说明书进行反转录, cDNA 置于 -80℃ 保存备用。

① 荧光定量 RT-PCR 引物设计与合成: 引物由 Primer 5.0 软件设计, 上海生工生物工程有限公司合成。引物序列如下:  $\beta$ -actin 的上游引物: TACCCAGGCATTGCTGACAG, 下游引物: AGCCACCAATCCACACAGAG; *hepcidin* 的上游引物: ACGAGACAGACTACGGCTCT, 下游引物: GGGAAAGTTGGTGTCTCGCTT; *TfR2* 的上游引物: GGTGTACCCATTCCTGCACA, 下游引物: TTAAGGTTGCCGATGTGCCT。

② 荧光定量 RT-PCR 试验: 每个 RNA 样品均

以目的基因和管家基因引物进行荧光定量 PCR 反应。反应体系为 10.0  $\mu$ L: SYBR<sup>®</sup> PremixExTaqTM II (2 $\times$ ), 5.0  $\mu$ L; Forward Primer (10  $\mu$ mol/L), 1.0  $\mu$ L; Reverse Primer (10  $\mu$ mol/L), 1.0  $\mu$ L; cDNA, 1.0  $\mu$ L; ddH<sub>2</sub>O (灭菌双蒸水), 2.0  $\mu$ L。反应条件: 95℃ 5 min; 95℃ 5 s; 60℃ 30 s, 45 个循环; 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 95℃ 15 s。反应结束后, 进行数据分析, 调整基线, 计算 Threshold cycle (*Ct*) 值。然后以样品 cDNA 为模板, 2 倍浓度梯度稀释, 进行荧光定量 PCR 反应。采用 MXPro-MX3000P 软件进行数据收集, 并绘制标准曲线。

③ 数据分析: 本试验采用相对定量标准曲线法, 计算待测组目的基因相对于对照组的表达差异倍数。公式表达量=(待测样品目的基因初始浓度/待测样品内参基因初始浓度)/(对照样品目的基因初始浓度/对照样品内参基因初始浓度)。计量数据以均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示。

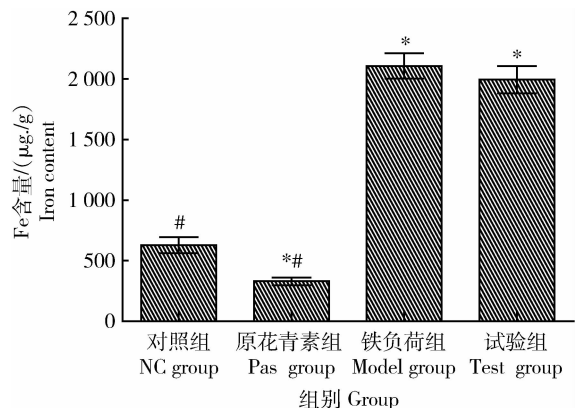
### 1.3 统计分析

对原始数据进行标准化处理, 采用 DPS 软件, 进行方差齐性检验后选用单因素方差分析, 再用 LSD 法进行均数间的两两比较, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义的判定标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 铁负荷大鼠模型的建立

铁负荷大鼠模型的建立见图 1, 图 2。



\*  $P<0.05$  与对照组相比; #  $P<0.05$  与高铁模型组相比。表 1 同。

\*  $P<0.05$  compared with NC group; #  $P<0.05$  compared with model group. The same below in Table 1.

图 1 各组大鼠肝组织铁含量

Fig. 1 Iron content in the liver of rats in each group

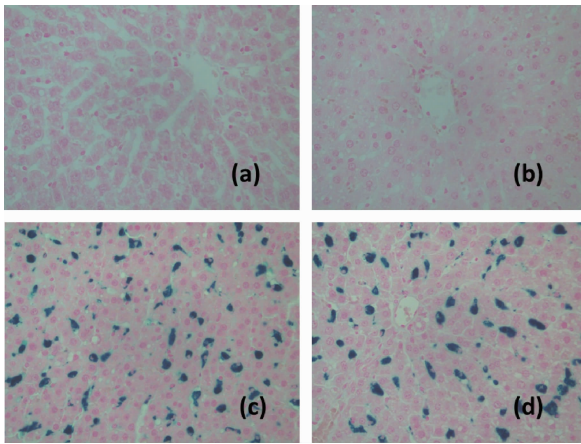


图2 原花青素对铁负荷大鼠肝脏铁沉积的影响  
Fig. 2 Effect of proanthocyanidins on iron deposition of liver in rats with iron overload

(a) 对照组  $\times 400$ ; (b) 原花青素组  $\times 400$ ; (c) 铁负荷组  $\times 400$ ; (d) 试验组  $\times 400$ 。  
(a) NC group  $\times 400$ ; (b) PAs group  $\times 400$ ; (c) Model group  $\times 400$ ; (d) Test group  $\times 400$ .

### 2.2 原花青素对铁负荷大鼠谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)活性的影响

与对照组相比,原花青素组的 Fe 含量显著降低,铁负荷组与试验组显著上升( $P < 0.05$ );与铁负荷组相比,试验组 Fe 含量略下降,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

由图 2 可知,与对照组相比,原花青素组大鼠肝细胞正常,基本没有铁沉积,铁负荷组肝细胞结构色素沉积最多,与铁负荷组相比,试验组肝细胞色素沉积也比较严重,但程度较铁负荷组轻。可见铁超载引起肝细胞铁沉积增多,原花青素在一定程度上可缓解肝细胞的铁沉积。

### 2.3 原花青素对铁负荷大鼠肝脏形态的影响

由表 1 可见,与对照组相比,原花青素组的 ALT, AST 水平无显著差异,铁负荷组显著或极显著升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );与铁负荷组相比,试验组 ALT, AST 水平显著性降低( $P < 0.05$ )。

### 2.4 葡萄籽原花青素对铁负荷大鼠肝脏 hepcidin、TfR2 表达量的影响

由图 3 可知,对照组大鼠肝细胞正常,排列整齐,无炎症,肝小叶没有坏死,无水肿,无其他病理异常。与对照组相比,原花青素组肝细胞正常,排列整齐,肝小叶无坏死,没有水肿;铁负荷组肝细胞结构紊乱,有炎症,色素沉积多,有出血现象,脂肪变性比较严重,有组织坏死。与铁负荷组相比,试验组肝细胞结构较紊乱,炎症减轻,有色素沉积,出血减少,脂

肪轻微变性,总体病变较高铁组轻。

表 1 原花青素对铁负荷大鼠肝脏中 ALT、AST 水平的影响  
Table 1 Influence of proanthocyanidins on the level of liver ALT, AST in iron overload rats ( $\bar{x} \pm s, n=10$ ) U/g

组别 Group	谷丙转氨酶 ALT	谷草转氨酶 AST
对照组	45.000 0 $\pm$ 2.694 3	45.130 0 $\pm$ 4.975 7
原花青素组	47.730 0 $\pm$ 2.769 3	56.080 0 $\pm$ 3.272 4
铁负荷组	88.590 0 $\pm$ 5.885 1*	95.408 0 $\pm$ 3.865 4**
试验组	52.520 0 $\pm$ 4.235 6#	81.750 0 $\pm$ 2.437 7**#

注: \*\*  $P < 0.01$  与对照组相比。

Note: \*\*  $P < 0.01$  compared with NC group.

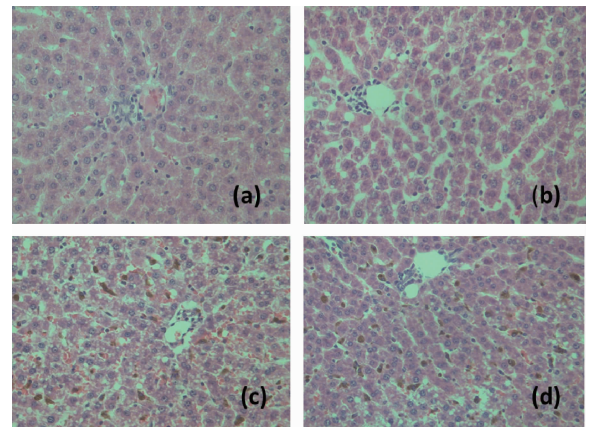


图3 原花青素对铁负荷大鼠肝脏形态的影响  
Fig. 3 Effect of proanthocyanidins on the liver pathological changes of rats with iron overload

(a) 对照组  $\times 400$ ; (b) 原花青素组  $\times 400$ ; (c) 铁负荷组  $\times 400$ ; (d) 试验组  $\times 400$ 。  
(a) NC group  $\times 400$ ; (b) PAs group  $\times 400$ ; (c) Model group  $\times 400$ ; (d) Test group  $\times 400$ .

### 2.4 葡萄籽原花青素对铁负荷大鼠肝脏 hepcidin、TfR2 表达量的影响

由图 4 可知,与对照组相比,原花青素组与铁负荷组 hepcidin 基因表达量显著下降( $P < 0.05$ );与铁负荷组相比,试验组略下降,但差异不显著( $P > 0.05$ )。与对照组相比,原花青素组 TfR2 基因的表达量显著下降( $P < 0.05$ ),铁负荷组 TfR2 基因的表达量差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与铁负荷组相比,试验组略下降,但差异不显著( $P > 0.05$ )。

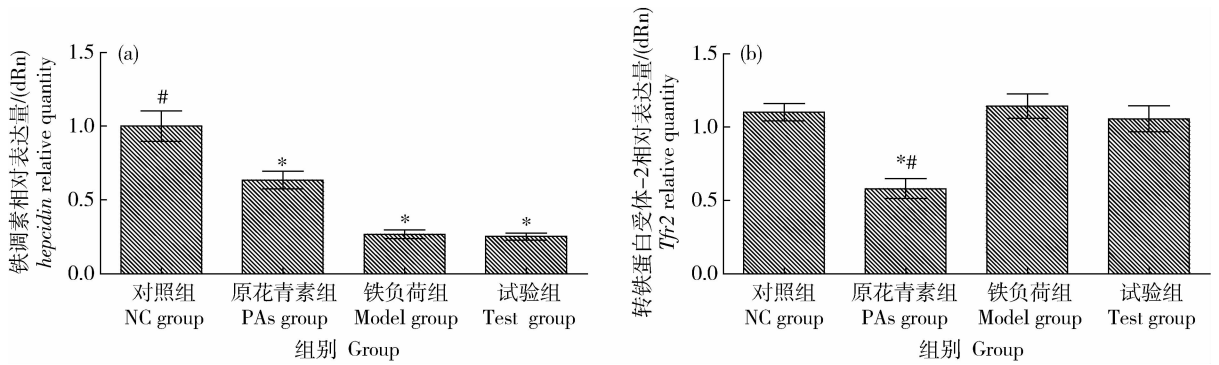


图 4 各组大鼠肝脏 *hepcidin*(a) 和 *TfR2* (b) 基因表达的影响

Fig. 4 Liver *hepcidin* (a) and *TfR2* (b) gene expressions of rats in each group

### 3 讨论

肝脏是机体重要的解毒器官,当有害物质超过肝脏所承受的量时,肝脏不能有效清除这些有毒物质,致使肝功能受损,进而导致机体发生相关疾病<sup>[5]</sup>。铁负荷能在某种程度上使机体氧化应激水平增加,从而使细胞膜的脂质过氧化反应加重。原花青素是否能够通过影响铁吸收而改善铁负荷引起的危害,本试验从不同的角度探讨了原花青素对铁负荷所致肝损伤的影响。

1) 试验结果表明与对照组相比,铁负荷组肝脏 Fe 含量显著性升高,原花青素组 Fe 含量显著性降低;与铁负荷组相比,试验组 Fe 含量有降低趋势,但差异不显著。与普鲁士蓝染色结果基本一致。说明实验中铁负荷大鼠模型构建成功,同时原花青素确实能够影响饮食中铁的吸收,与本课题组之前的研究结果一致<sup>[11]</sup>。而试验组的铁含量略低于铁负荷组,推测是由于试验中未观察葡萄籽原花青素对铁过量致肝损伤的最佳干预剂量及其干预的剂量一效应关系,之前研究的动物模型为缺铁动物模型,本试验构建的是铁负荷模型,因此试验过程中原花青素给予的量可能不足以使过量的铁在短期内(10 d)恢复正常,所以导致二者差异不显著。

2) ALT、AST 是机体肝脏中广泛存在的重要氨基酸转氨酶,也是指示肝功能的重要指标<sup>[12-13]</sup>。在正常情况下,细胞中这 2 种酶活性较低,当肝功能受损时,可增强 ALT、AST 的活性。因此,肝脏受损伤的程度可以用细胞中 ALT、AST 活性变化来指示<sup>[14]</sup>。本试验结果显示,铁负荷显著损伤了肝脏功能,使得大鼠肝脏中 ALT、AST 水平活性升高,给予原花青素处理后,二者水平显著性降低,其中

ALT 水平与正常组无明显差异。说明原花青素对铁负荷所致大鼠肝损伤具有保护作用,推测其除了影响铁吸收外,其较强的抗氧化特性也起一定的作用。在正常大鼠中,尽管原花青素导致肝脏中铁含量降低,但是并未影响到肝脏功能,可能是其通过使肝细胞内铁外排进而仍能够维持机体铁平衡。

3) 肝脏形态学观察结果显示与对照组相比,原花青素组大鼠肝细胞正常,而铁负荷组肝细胞肿胀膨大,肝细胞因脂肪堆积呈圆形,细胞核被挤压到细胞一侧,结构紊乱,色素沉积多,有出血现象,局部可见细胞核聚集的炎症症状,细胞出现大量的弥漫性的脂肪空泡,脂肪变性比较严重,有组织坏死。Sharma 等发现当肝内铁的含量为 2 000~4 000  $\mu\text{g/g}$  时,可使线粒体电子传递失调,肝细胞不规则坏死,本试验中肝脏铁含量为  $(2\ 107.389\ 0 \pm 227.258\ 9)\ \mu\text{g/g}$ ,与之前结果一致。与铁负荷组相比,试验组肝细胞结构较紊乱,仍有相当数量脂肪空泡存在,但与铁负荷组相比,空泡的数量及大小明显减少,局部可见少量细胞核聚集,炎症减轻,色素沉积与出血现象较高铁组轻,脂肪轻微变性,总体病变较铁负荷组轻。进一步说明铁负荷可导致肝细胞数目及结构变化,而给予适量的原花青素可以缓解铁负荷对肝细胞的损伤。

4) *hepcidin* 是一种由肝脏合成并具有广谱抗菌活性的 25 肽类激素,在机体铁稳态调节中居于中枢位置,*hepcidin* 在体内的表达升高或降低均会导致体内铁代谢稳态的失衡。*TfR2* 主要在肝脏中表达,其合成依赖细胞铁水平,对于 *hepcidin* 的调节起着非常重要的作用<sup>[15]</sup>。 $\text{Fe}_2$ -转铁蛋白( $\text{Fe}_2$ -Tf)与 *TfR2* 结合后可增强 *hepcidin* 的表达。当机体铁减少时, $\text{Fe}_2$ -Tf 减少,*TfR2* 不能结合  $\text{Fe}_2$ -Tf,降低了

血浆铁调素水平,从而使肠铁吸收增加。本试验显示与对照组相比,原花青素组 *TfR2*、*hepcidin* 基因表达显著降低,进一步说明原花青素抑制了机体对铁的吸收,使得 *TfR2* 下调,致 *hepcidin* 低表达,从而通过下游细胞铁的摄取通路使得细胞铁外排,维持机体的铁平衡。而铁负荷组 *hepcidin* 表达量显著低于正常组,推测可能是由于严重铁过载导致肝脏病变,不能正常调控铁代谢相关基因所致。也有相关研究表明肝硬化后期肝实质细胞铁负荷现象加重,*hepcidin* 和转铁蛋白合成量也降低,推测是因为肝功能缺陷所致<sup>[16]</sup>。铁负荷组 *TfR2* 表达与正常组无明显差异,这与邓玥等<sup>[17]</sup>关于酒精影响肝脏功能的研究结果一致。目前认为肝细胞主要有2种循环铁摄取方式:一种是在生理铁浓度下,以转铁蛋白结合铁的形式吸收;另一种是在铁负荷状态下,以非转铁蛋白结合铁的形式,通过二价金属离子转运体(DMT1)及锌和铁的转运体(ZIP14)参与铁吸收<sup>[18]</sup>。而 *TfR2* 在铁超载条件下并不是主要负责铁摄取,其主要是参与体内铁代谢的调节,*TfR2* 的3'端的非翻译区不存在与铁调节蛋白(IRP)结合的铁反应元件(IRE),对细胞内铁水平的变化几乎没有反应,加之肝细胞功能的缺陷这一因素,使得 *TfR2* 表达并无明显变化。与铁负荷组相比,试验组 *hepcidin*、*TfR2* 表达无显著性差异,推测仍然是原花青素的剂量不足,导致肝脏内仍为铁过载状态,肝细胞功能紊乱所致。由于本研究原花青素采用灌胃方式给予,不能有效的模拟实际情况,且未检测其最佳干预剂量,因此相关机制需后续试验研究。

综上所述,铁负荷可使肝脏中 Fe、ALT、AST 水平显著升高,同时使肝脏结构紊乱,影响肝细胞功能,从而干扰铁代谢相关基因的调控。而补充一定剂量的原花青素会抑制铁的吸收,进而一定程度上缓解由铁负荷引起的肝脏损伤。但是针对原花青素的研究至今仍囿于其对铁的螯合作用及对 ROS 的直接清除作用,对其调节铁代谢的相关机制,目前尚无直接研究证实,因此有待进一步探讨。

**致谢:**感谢实验室刘志宗、张素敏、常霞老师的帮助。

## 参考文献 References

[1] 刘玉倩. 不同强度游泳运动对大鼠排肠肌及十二指肠铁代谢的

影响[D]. 石家庄:河北师范大学,2005

Liu Y Q. Effects of different intensity swimming on iron metabolism of gastrocnemius and duodenum in rats [D]. Shijiazhuang: Hebei Normal University, 2005 (in Chinese)

- [2] Liu Y T, Lu S X, Zhang Y C, Wang X D, Kong F, Liu Y, Peng L, Fu Y Q. Role of caveolae in high glucose and TGF- $\beta$ 1 induced fibronectin production in rat mesangial cells [J]. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2014, 7(12): 8381-8390
- [3] Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2005, 202(2): 199-211
- [4] Fernandes J L. Iron chelation therapy in the management of transfusion-related cardiac iron overload [J]. *Transfusion*, 2012, 52(10): 2256-2268
- [5] Youssef D M, Mohammad F F, Fathy A A, Abodelbasset M A. Assessment of hepatic and pancreatic iron overload in pediatric beta-thalassemic major patients by T2\* weighted gradient echo magnetic resonance imaging [J]. *International Standard Technical Report Number Hematology*, 2013(4): 1-5
- [6] 羊芹, 杜泓璇, 马尧, 陈荣昌, 唐云明. 柳树叶的原花青素的抗氧化性研究[J]. 西南大学学报:自然科学版, 2009, 32(6): 106-110
- Yang Q, Du X H, Ma Y, Chen R C, Tang Y M. Study on antioxidative activity of procyanidins from the leaves of willow [J]. *Journal of Southwest University: Natural Science Edition*, 2009, 32(6): 106-110 (in Chinese)
- [7] 王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 何佟, 陈世民. 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(16): 1480-1486
- Wang M, Ma Y P, Li Y W, Wei J, Zhang J H, He T, Cheng S M. Oligomeric proanthocyanidins from grape seeds protect against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2013, 21(16): 1480-1486 (in Chinese)
- [8] 李小丽, 王楷扬, 胡建辉, 李斌, 蔡永青. 葡萄籽原花青素对 CCl<sub>4</sub> 诱导小鼠氧化性肝损伤的保护作用及其机制研究 [J]. 中国药房, 2016, 27(13): 1752-1755
- Li X L, Wang K Y, Hu J H, Li B, Cai Y Q. Study on protective effect of grape seed proanthocyanidins against acute liver injury induced by CCl<sub>4</sub> in mice and its mechanism [J]. *Chinese pharmacy*, 2016, 27(13): 1752-1755 (in Chinese)
- [9] 牛强, 谢馨瑶, 刘雪娇, 何芳, 丹增卓玛, 李述刚. 葡萄籽原花青素对 NaF 致雄性小鼠肝脏氧化损伤的拮抗作用 [J]. 环境与职业医学, 2015, 32(4): 311-314
- Niu Q, Xie X Y, Liu X J, He F, Danzeng Z M, Li S G. Antagonistic effect of grape seed proanthocyanidin extract on male mice liver oxidative damage induced by excessive sodium fluoride [J]. *Environmental and Occupational Medicine*, 2015, 32(4): 311-314 (in Chinese)
- [10] 李嫦婧, 李述刚, 牛强, 徐上知, 冯刚玲, 丁玉松, 王海霞, 刘志

- 霞,王潇翰. 葡萄籽原花青素对砷致小鼠肝脏毒性预防保护作用的研究[J]. 毒理学杂志,2016,30(1):14-17
- Li C J, Li S G, Niu Q, Xu S Z, Feng G L, Ding Y S, Wang H X, Liu Z X, Wang X H. Procyanidin protects against arsenic-induced liver injury in mice[J]. *Journal of Toxicology*, 2016, 30(1):14-17 (in Chinese)
- [11] Yun S J, Zhang T, Li M L, Chen B, Zhao G H. Proanthocyanidins inhibit iron absorption from soybean (Glycine max) seed ferritin in rats with iron deficiency anemia [J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2011, 66:212-217
- [12] Vijayavel K, Balasubramanian M P. Fluctuations of biochemical constituents and marker enzymes as a consequence of naphthalene toxicity in the edible estuarine crab *Scylla serrata* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, 63(1): 141-147
- [13] Lin L, Zeng X L, Zhang J. Effect of profenofos poisoning on liver lipid peroxidation and liver function in rabbits[J]. *Chinese Journal of Clinic Rehabilitation*, 2004, 8(21):4380-4381
- [14] Zheng Y H, Pu F Y. Effect of mercury on transaminase activities of tissues in *Carassius parpio* & *Carassius auratus* [J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 1997, 19(1):41-45
- [15] Fleming R E. Iron and inflammation: Cross-talk between pathways regulating hepcidin [J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2008, 86(5):491-494
- [16] Dtivaud L, Nemeth E, Boudjema K, Turlin B, Troadec M B, Leroyer P, Ropert M, Jacquelinet S, Courselaud B, Ganz T, Brissot P, Loreal O. Hpcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function[J]. *Blood*, 2005, 106(2):746-748
- [17] 邓玥. 槲皮素对铁与酒精联合诱导的肝细胞氧化损伤及铁代谢相关基因表达的影响[D]. 武汉:华中科技大学, 2011
- Deng Y. Effect of quercetin on the oxidative damage induced by alcohol-iron and expression of iron-metabolism related genes [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2011 (in Chinese)
- [18] 董爱莲, 胡玉琳, 祁亚宾, 聂广军. 铁代谢紊乱和其他致病因素介导的肝氧化损伤及抗氧化保护策略研究进展[J]. 生物物理学报, 2012, 28(4):307-316
- Dong A L, Hu Y L, Qi Y B, Nie G J. Progress on hepatic oxidative damage mediated by iron homeostasis dysregulation and other detrimental factors and antioxidative protection strategy[J]. *Acta Biophysica Sinica*, 2012, 28(4):307-316 (in Chinese)

责任编辑: 苏燕