

# 草原羊脑磷脂型 DHA 对小鼠 生理机能的影响

包音都古荣·金花<sup>1,2,3</sup>, 宝鲁日<sup>4</sup>, 和硕特麦丽斯<sup>5</sup>, 侯荣伦<sup>3</sup>, 呼格吉勒图<sup>3</sup>,  
敖日格勒<sup>3</sup>, 岩松<sup>1,2</sup>, 敖日格乐<sup>1,2</sup>, 周欢敏<sup>2</sup>

(1. 内蒙古农业大学 食品科学与工程学院, 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古生物制造重点实验室, 呼和浩特 010010; 3. 内蒙古贺斯格农牧业科技有限公司, 内蒙古 锡林郭勒盟 026321; 4. 内蒙古医科大学 基础医学院病理教研室, 呼和浩特 010110; 5. 晶云药物科技股份有限公司, 美国 新泽西 08512)

**摘要:**旨在为草原羊脑磷脂型 DHA (DHA-PLs) 的开发利用提供科学依据, 从苏尼特羊脑中萃取 DHA-PLs, 在确定其不携带朊病毒蛋白的基础上, 选择 7 周龄、平均体质量为 27 g 的 SPF 级昆明雌性小白鼠 30 只, 分为空白组(基础饲料)、鱼油组(基础饲料+鱼油)和羊脑 DHA-PLs 组(基础饲料+羊脑 DHA-PLs), 考察饲喂 3 个月后各组小鼠体征指标、周能量排出量、粪便中粗脂肪含量和脏器指数的变化, 测定其血清生化和肝功能指标, 观察肠道和脏器组织形态, 以揭示羊脑 DHA-PLs 对小鼠营养物质吸收、脏器、血脂和肝功能的影响程度。结果表明:羊脑中无朊病毒蛋白, 正常朊蛋白含量最高达 200 mg/g; 3 个月饲喂试验结束后, 各组小鼠健康状况良好, 平均日采食量无差异, 终体质量均显著增大( $p < 0.05$ ); 与空白组比较, 羊脑 DHA-PLs 组小鼠周能量排出量, 粪便中粗脂肪含量, 血清中甘油三酯和总胆固醇含量, 以及谷草转氨酶、谷丙转氨酶水平显著降低( $p < 0.05$ ), 但与鱼油组无显著差异( $p > 0.05$ ); 各组小鼠脏器指数之间无显著差异( $p > 0.05$ ), 心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃和脑等组织均未出现病变, 肠道均无损伤, 空肠绒毛高度与隐窝深度比值组间无差异( $p > 0.05$ ), 但羊脑 DHA-PLs 组和鱼油组小鼠肠道分别长出 14 个和 13 个潘氏斑, 而空白组未出现。综上, 草原羊脑 DHA-PLs 能促进小鼠营养物质吸收, 显著降低血脂, 提高肝脏机能和肠道免疫机能, 对小鼠脏器无不良影响, 可以应用于食品和保健品生产中。

**关键词:**草原羊脑磷脂型 DHA; 脏器指数; 血脂; 肝功能; 组织学分析; 潘氏斑

中图分类号: TS201.4; TS225.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2025)03-0060-08

## Effect of phospholipid-type DHA from grassland sheep brain on physiological functions of mice

BAOYINDUGURONG · Jinhua<sup>1,2,3</sup>, BAOLURI<sup>4</sup>, HESHUOTE Mailisi<sup>5</sup>, HOU Ronglun<sup>3</sup>,  
HUGEJILETU<sup>3</sup>, AORIGELE<sup>3</sup>, YAN Song<sup>1,2</sup>, AORIGELE<sup>1,2</sup>, ZHOU Huanmin<sup>2</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

收稿日期: 2024-07-14; 修回日期: 2024-11-24

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2023MS03034); 内蒙古自治区科技计划项目(2023YFDZ0050); 内蒙古自治区科技计划项目(2021GG0348); 草原英才项目(内组通字[2021]333号, 内人才发[2023]3号)

作者简介: 包音都古荣·金花(1965), 女(蒙古族), 副教授, 硕士生导师, 博士, 研究方向为食品分子机能学(E-mail) huajin25@hotmail.com; 宝鲁日(1981), 女, 硕士, 研究方向为病理学与病理生理学(E-mail) 514062296@qq.com。包音都古荣·金花与宝鲁日同为第一作者。

2. Inner Mongolia Key Laboratory of Biofabrication, Hohhot 010010, China; 3. Inner Mongolia Hesige Agriculture and Animal Husbandry Technology Co., Ltd., Xilingol League 026321, Inner Mongolia, China; 4. Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 5. Crystal Pharmatech, Inc., New Jersey 08512, USA)

**Abstract:** Aiming to provide scientific basis for the development and utilization of grassland sheep brain

phospholipid - type DHA (DHA - PLs), the DHA - PLs was extracted from Sunite sheep brains. Based on the determination that the DHA - PLs did not carry prion protein, a total of 30 seven - week - old SPF Kunming female mice an average body mass of 27 g were selected and divided into blank group (basal feed), fish oil group (basal feed added with fish oil), and sheep brain DHA - PLs group (basal feed added with sheep brain DHA - PLs). The changes in physical signs, weekly energy discharge, crude fat content in feces, and organ indexes of the mice fed for 3 months were studied, and their serum biochemistry and liver function indexes were determined, as well as intestinal and organ tissue morphology were observed to reveal the degree of the effects of sheep brain DHA - PLs on nutrient absorption, organs, blood lipids and liver function in mice. The results showed that no prion protein in the sheep brain, and the highest normal prion protein level reached up to 200 mg/g. At the end of the 3 - month feeding test, the three groups of mice were in good health, with no difference in average daily feed intake, and all of them had significantly larger final body mass ( $p < 0.05$ ). Compared with the blank group, the weekly energy discharge, crude fat content in feces, serum triglyceride and cholesterol contents, and the levels of aspartate aminotransferase and alanine of mice in the sheep brain DHA - PLs group were significantly reduced ( $p < 0.05$ ), but there was no significant difference with the fish oil group ( $p > 0.05$ ). There were no significant differences in organ indexes among the mice in the three groups ( $p > 0.05$ ), and the tissues of the heart, liver, kidneys, spleen, stomach, and brain did not show any lesions. There was no injury to the intestines of the mice in the three groups, and the ratio of villus height to crypt depth in the jejunum showed no difference between the three groups ( $p > 0.05$ ), but in the sheep brain DHA - PLs group and the fish oil group, the intestines of mice grew 14 and 13 Peyer's patches, respectively, which did not appear in the blank group. In conclusion, DHA - PLs extracted from grassland sheep brain can promote nutrient absorption, significantly reduce blood lipids, enhance liver function, and improve intestinal immune function without adverse effects on mice organs, making them suitable for use in food and health care production.

**Key words:** grassland sheep phospholipid - type DHA; organ index; blood lipids; liver function; histological analysis; Peyer's patches

随着全球人口与平均寿命的增加,帕金森病、睡眠障碍等神经系统疾病的患病率正在不断上升。帕金森病是一种神经系统退行性疾病,其已成为继心脑血管病、肿瘤之后影响中老年人健康的第三大危险因素<sup>[1]</sup>。睡眠障碍会诱发焦虑、抑郁等不良情绪,增加中老年人患糖尿病、高血压、缺血性心脏病等疾病的风险<sup>[2]</sup>。Li等<sup>[3]</sup>研究发现,*Omega*-3多不饱和脂肪酸可以抑制小胶质细胞活性和神经炎症,保护星形胶质细胞产生神经营养因子,从而使神经传递正常化,改善神经退行性变。Yokoi - Shimizu等<sup>[4]</sup>研究发现,二十二碳六烯酸(DHA, *Omega*-3脂肪酸)可以改善中老年人的睡眠质量。相比于甘油三酯型DHA(DHA - TAG),磷脂型DHA(DHA - PLs)具有更高的生物效应和生物利用率<sup>[5-6]</sup>,其可以穿过血脑屏障并参与大脑生化反应<sup>[7]</sup>,通过调节氧化应激和炎症反应,在改善神经认知障碍

方面具有潜在的益处<sup>[8-9]</sup>,近年来受到科学界的极大关注。

脑是动物体内唯一高浓度储存*Omega*-3多不饱和脂肪酸的部位。全球多个地区具有食“脑”的饮食文化。羊脑的食用和药用价值在《中华本草》《中药大辞典》和《内蒙古药用动物》中均有记载。本团队前期利用草原羊脑萃取了DHA - PLs(该羊脑DHA - PLs中DHA含量为11.41%<sup>[10]</sup>),分析了其结构特性,但尚不了解其对试验动物生理机能的影响。因此,本研究在通过测定羊脑中朊蛋白含量,确定无朊病毒蛋白存在,确保羊脑DHA - PLs的生物安全性后,进一步分析了摄入羊脑DHA - PLs 3个月后小鼠的生长性能、脏器指数、粪便中粗脂肪含量和周能量排出量、组织形态学和肠道变化状况,以及对血脂和肝酶的影响,阐明羊脑DHA - PLs对小鼠生理机能的影响程度,以期为开发利用草原羊

脑 DHA - PLs 提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料、试剂与试验动物

从内蒙古锡林郭勒盟苏尼特左旗购进自然放牧环境下的 10 只苏尼特羊的羊头,开颅后取出羊脑,称质量,标记分装,于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。鱼油,由日本油脂株式会社友情惠赠。

朊病毒蛋白试剂盒 [Prion protein (PrP) EIA kit],日本小松屋株式会社;三氯甲烷、甲醇、正己烷、乙醇、氢氧化钠、氯化钠,均为分析纯,日本和光制药株式会社;三氟化硼,分析纯, Sigma 公司;甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、 $\gamma$ -谷氨酰转移酶( $\gamma$ -GT)检测试剂盒,南京建成生物工程研究所;冰丙酮、硅胶,国药集团化学试剂有限公司。

SPF 级昆明雌性小白鼠(7 周龄,平均体质量 27 g),北京维通利华实验动物技术有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

R-210 型旋转蒸发仪, BÜCHI Labortechnik AG 公司;7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent 公司;Sigma3-18K 离心机,德国 Sartorius 公司;FD-1A-50+真空冷冻干燥机,博医康北京仪器有限公司;IKA C2000 标准型氧弹量热仪,德国艾卡(广州)仪器设备有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 羊脑的预处理

将羊脑切成 1~3 mm 片状装入密封袋中,利用真空冷冻干燥机在  $-58\text{ }^{\circ}\text{C}$  下冷冻干燥 72 h,制得干燥羊脑,在  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

#### 1.2.2 羊脑中 DHA - PLs 的提取

称取 15 g 干燥羊脑样品研磨成粉状,加入 60 mL 乙醇-正己烷(体积比 2:1)混合溶剂,室温下浸泡 72 h 后,过滤,滤液于  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  下减压蒸馏得到粗脂肪,再向其中加入适量的冰丙酮,磁力搅拌器搅拌,出现沉淀后过滤,除去滤液,回收沉淀。将沉淀再用冰丙酮重复处理 3 次,在  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温 30 min,挥发掉残余丙酮,得到 DHA - PLs。

#### 1.2.3 羊脑中朊蛋白含量的测定

取  $(175 \pm 20)\text{ mg}$  干燥羊脑并研磨成粉状,按照朊病毒蛋白试剂盒说明书测定朊蛋白含量。

#### 1.2.4 试验动物饲养

将 30 只 SPF 级昆明雌性小白鼠适应性喂养 1 周后,随机分为空白组(10 只)、鱼油组(对照,10 只)和羊脑 DHA - PLs 组(10 只),空白组小鼠摄取基础饲料,鱼油组和羊脑 DHA - PLs 组分别摄取添加鱼油和羊脑 DHA - PLs 的基础饲料。羊脑 DHA - PLs 和鱼油中 DHA 含量分别为 11% 和 46%,根据北京维通利华实验动物技术有限公司提供的昆明小鼠 19 周龄时平均体质量为 40 g,最高摄食量在 8 g/d 为依据,以成人 2 g/d(基于前期研究) DHA 的摄入量计算(成人体质量按 60 kg 计算),每千克饲料中分别添加 1.51 g 羊脑 DHA - PLs 和 0.36 g 鱼油制备颗粒饲料,各组饲料成分组成见表 1。各组小鼠饲养于温度  $(23 \pm 3)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度  $(50 \pm 3)\%$ 、12 h 明暗交替循环的环境中,自由进食和饮水,每日更换饲料和饮用水,每 2 d 更换垫料,饲养 3 个月。

表 1 小鼠日粮组成

Table 1 The dietary composition for mice g/kg			
组成	空白组	羊脑 DHA - PLs 组	鱼油组
玉米淀粉	400	400	400
酪蛋白	200	200	200
玉米糊精	135	135	135
蔗糖	100	100	100
纤维素	50	50	50
混合无机盐	35	35	35
混合维生素	10	10	10
大豆油	70	68.49	69.64
鱼油	0	0	0.36
羊脑 DHA - PLs	0	1.51	0

#### 1.2.5 小鼠体征指标测定

饲养期间每日观察小鼠的行为、体征体貌变化和死亡情况。每日称取采食量,每隔 2 d 称体质量,计算平均日采食量及体质量变化。

#### 1.2.6 小鼠周能量排出量和粪便中粗脂肪含量测定

周能量排出量:收集小鼠排出的粪便,烘干,称质量,将粪便研磨粉碎,利用量热仪测定粪便的能量值。以粪便能量值与平均每周排出的粪便质量的乘积计算小鼠周能量排出量。

粪便中粗脂肪含量:收集小鼠粪便并冻干,研磨成粉状后称取 15 g,按 1.2.2 方法得到粗脂肪。以粗脂肪质量与粪便质量比值计算粪便中粗脂肪含量。

### 1.2.7 小鼠血清生化及肝功能指标测定

饲喂3个月后小鼠绝食8 h,在腹腔注射戊巴比妥钠麻醉下进行解剖,下大静脉采血,于4℃、3 000 r/min离心10 min收集血清分装,置于液氮冷冻转,于-80℃保存。参考试剂盒说明书测定血清TG、TC、HDL-C、LDL-C含量及肝脏ALT、AST和 $\gamma$ -GT活性。

### 1.2.8 脏器指标测定

摘取1.2.7解剖小鼠的心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃、脑和肠等脏器,肉眼观察其外观。称心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃、脑质量,计算脏器指数(脏器质量与体质量的比值)。取部分上述脏器组织浸泡于10%福尔马林溶液中待组织学检查。

### 1.2.9 脏器组织学检查

将1.2.8中浸泡于10%福尔马林溶液中的脏器组织经修块、洗涤、脱水、浸蜡、包埋、切片(5  $\mu$ m)、展片、捞片、烘干、脱蜡、苏木素-伊红染色(H&E染色)等一系列步骤后置于光学显微镜下观察病理特征。空肠切片在显微镜中选择3个以上不同的视野,记录每个视野中每根绒毛高度(IV)和隐窝深度(dC),计算绒毛高度与隐窝深度比值(IV/dC),以考察小鼠肠道变化。

### 1.2.10 肠道潘氏斑计数

小鼠解剖采血之后,完整切取十二指肠至大肠,经生理盐水洗去黏在肠道上的血液后,置于锡箔纸上,计数肠道上呈椭圆形或圆形淋巴滤泡即潘氏斑。

### 1.2.11 数据统计分析

试验数据采用SPSS 26.0软件进行数据正态检验,若正态分布则进行 $t$ 检验及ANOVA方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$ , $p<0.05$ 为显著性差异,检验数据结果均以“平均值 $\pm$ 标准差”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 羊脑中朊病毒蛋白含量

在健康动物机体中存在朊蛋白(*PrP*)基因和正常朊蛋白( $PrP^c$ ), $PrP^c$ 可能与学习和记忆、维持生物钟、调节睡眠等高层次脑机能有关<sup>[11]</sup>,具有神经保护机能,能够抑制缺血和神经毒性蛋白质导致的神经细胞的死亡<sup>[12]</sup>。当 $PrP$ 基因正常构造改变成异常构造时正常朊蛋白就转变为朊病毒蛋白( $PrP^{Sc}$ ), $PrP^{Sc}$ 具有神经毒性作用,会造成神经细胞死亡、 $PrP^c$ 含量减少,导致正常机能受到损害,引起疯牛病和人类克雅氏病<sup>[12]</sup>。

经测定,10个苏尼特羊脑中均未发现 $PrP^{Sc}$ ,且 $PrP^c$ 含量在160~180 mg/g之间的样品居多,最高可达200 mg/g。因此,草原羊脑具有保护神经机能的作用,由其提供的羊脑DHA-PLs具有较高的生物安全性。

### 2.2 小鼠体征指标、周能量排出量、粪便中粗脂肪含量变化

在3个月饲喂试验中,各组小鼠摄食和活动正常,夜间活跃,健康状况良好,未出现中毒现象和死亡情况。各组小鼠体质量变化见表2,各组小鼠平均日采食量、周能量排出量和粪便中粗脂肪含量见图1。

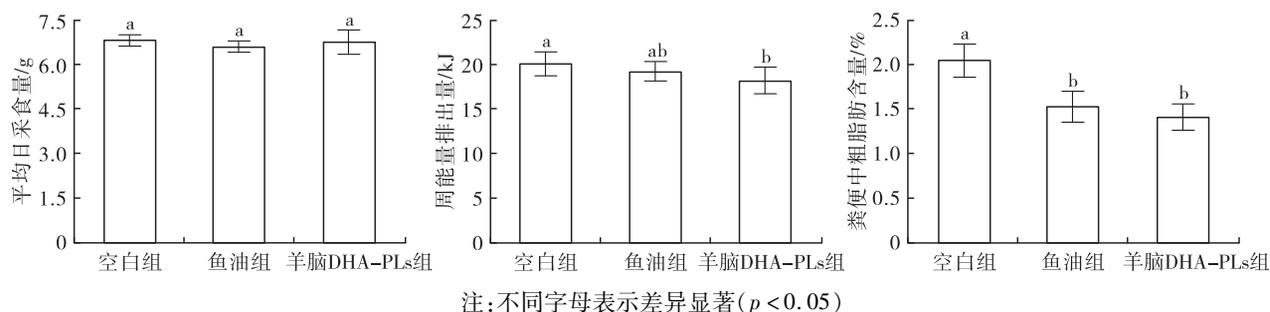
表2 各组小鼠体质量变化

Table 2 Body mass changes in three mice groups g

组别	起始	最终
空白组	28.12 $\pm$ 1.16 <sup>a</sup>	38.33 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>
鱼油组	28.14 $\pm$ 1.16 <sup>a</sup>	38.83 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>
羊脑DHA-PLs组	27.28 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	39.00 $\pm$ 0.63 <sup>b</sup>

注:同组不同字母表示差异显著( $p<0.05$ )

Note: Different letters for the same group indicate significant differences( $p<0.05$ )



Note: Different letters indicate significant differences ( $p<0.05$ )

图1 各组小鼠的平均日采食量、周能量排出量和粪便中粗脂肪含量

Fig. 1 Average daily food intake, weekly energy discharge and crude fat content in feces in three mice groups

由表2可看出,饲养3个月后3组小鼠体质量均显著高于起始体质量( $p<0.05$ ),空白组、鱼油组

和羊脑DHA-PLs组的体质量分别增加了0.36、0.38倍和0.43倍。可见,羊脑DHA-PLs和鱼油

的添加没有影响小鼠摄食,饲料吸收利用程度较高,促进了小鼠的生长。

由图 1 可看出,羊脑 DHA-PLs 组、空白组和鱼油组小鼠的平均日采食量无显著差异( $p > 0.05$ ),分别为( $6.8 \pm 0.2$ )g、( $6.9 \pm 0.1$ )g 和( $6.6 \pm 0.1$ )g。与空白组比较,鱼油组小鼠周能量排出量略有降低,但无显著差异( $p > 0.05$ ),而羊脑 DHA-PLs 组小鼠周能量排出量显著降低( $p < 0.05$ )。与空白组相比,羊脑 DHA-PLs 组和鱼油组小鼠粪便中粗脂肪含量均显著降低( $p < 0.05$ )。综上,日粮中添加羊脑 DHA-PLs 能显著降低小鼠的能量排出量和粪便中粗脂肪含量,与鱼油相似,羊脑 DHA-PLs 可促进营养物质的吸收,对小鼠体征和消化机能无不利影响。

### 2.3 小鼠血清生化和肝功能水平变化

经 3 个月饲喂,各组小鼠血清中血脂水平(TG、HDL-C、LDL-C、TC 含量)如表 3 所示,肝功能指标如表 4 所示。

表 3 各组小鼠血脂水平

Table 3 Blood lipid levels in three mice groups

组别	mmol/L			
	TG	HDL-C	LDL-C	TC
空白组	$1.73 \pm 0.57^a$	$0.61 \pm 0.13^b$	$2.40 \pm 0.33^a$	$1.53 \pm 0.27^a$
鱼油组	$1.08 \pm 0.14^b$	$0.70 \pm 0.11^b$	$2.24 \pm 0.19^a$	$1.31 \pm 0.49^b$
羊脑 DHA-PLs 组	$1.06 \pm 0.34^b$	$0.80 \pm 0.07^a$	$2.35 \pm 0.20^a$	$1.20 \pm 0.14^b$

注:同列不同字母表示差异显著( $p < 0.05$ )。下同

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ). The same below

表 4 各组小鼠肝功能指标

Table 4 Liver function indicators for three mice groups

组别	AST/(U/L)	ALT/(U/L)	$\gamma$ -GT/(U/L)	AST/ALT
空白组	$36.45 \pm 12.73^a$	$37.28 \pm 18.34^a$	$3.39 \pm 1.43^a$	0.98
鱼油组	$21.45 \pm 15.02^b$	$26.22 \pm 14.52^b$	$2.18 \pm 0.53^a$	0.82
羊脑 DHA-PLs 组	$23.40 \pm 12.11^b$	$24.58 \pm 4.79^b$	$2.11 \pm 0.88^a$	0.95

由表 3 可看出:与空白组比较,鱼油组和羊脑 DHA-PLs 组小鼠血清 TG 和 TC 含量显著降低( $p < 0.05$ ),LDL-C 含量降低,但无显著差异( $p > 0.05$ );

表 5 各组小鼠脏器指数

Table 5 Organ index for three mice groups

组别	%					
	心脏	肝脏	肾脏	脾脏	胃	脑
空白组	$0.39 \pm 0.06^a$	$4.44 \pm 0.27^a$	$0.86 \pm 0.15^a$	$0.47 \pm 0.02^a$	$2.95 \pm 0.09^a$	$1.25 \pm 0.05^a$
鱼油组	$0.33 \pm 0.05^a$	$4.46 \pm 0.21^a$	$1.11 \pm 0.08^a$	$0.33 \pm 0.01^a$	$3.12 \pm 0.06^a$	$1.26 \pm 0.05^a$
羊脑 DHA-PLs 组	$0.36 \pm 0.08^a$	$4.33 \pm 0.16^a$	$1.18 \pm 0.08^a$	$0.36 \pm 0.01^a$	$2.85 \pm 0.15^a$	$1.26 \pm 0.09^a$

由表 5 可知,羊脑 DHA-PLs 组小鼠的脏器指

鱼油组 HDL-C 含量增大,但变化不显著( $p > 0.05$ ),而羊脑 DHA-PLs 组 HDL-C 含量显著增大( $p < 0.05$ )。TC 作为一种调节分子,不仅是细胞及亚细胞结构的关键组成部分,而且是所有类固醇激素和维生素 D 类似物的前体物质,若血液循环中缺乏胆固醇,可能会导致维生素 K 和 E 无法分配到重要器官,从而产生严重后果<sup>[13]</sup>,但过高的 TC 也会引发健康问题。TG 水平升高是心血管疾病发生风险的生物标志物,与 LDL-C 一样,是动脉粥样硬化的病因<sup>[14]</sup>,而 HDL-C 可有效预防动脉硬化症的发生。本研究结果说明,羊脑 DHA-PLs 和鱼油对预防心血管疾病有积极的作用。

氨基转移酶包括 AST 和 ALT,其是肝细胞损伤的标志物,AST 对肝脏的敏感性或特异性不如 ALT,在多数类型的肝病中,ALT 水平通常高于 AST 水平<sup>[15]</sup>。AST/ALT 比值通常用于评估肝功能并反映肝病的严重程度<sup>[16-17]</sup>。AST/ALT 比值正常范围在 0.80~1.50 之间,其比值升高是心血管疾病发病率和死亡率的独立危险因素<sup>[18-19]</sup>。血清  $\gamma$ -GT 主要来自肝胆系统,被认为是肝损伤、癌症和低度慢性炎症的标志物<sup>[20-21]</sup>,在几种人类肿瘤中以及肝损伤后其表达显著增加<sup>[22-24]</sup>。由表 4 可看出,鱼油组和羊脑 DHA-PLs 组小鼠血清 AST 和 ALT 水平均显著低于空白组( $p < 0.05$ ), $\gamma$ -GT 水平低于空白组,但无显著差异( $p > 0.05$ ),各组小鼠 AST/ALT 比值均在正常值范围之内,说明鱼油和羊脑 DHA-PLs 未对小鼠肝胆造成损害或引起病变。综上,羊脑 DHA-PLs 与鱼油相似,对小鼠肝脏机能代谢具有良好的作用。

### 2.4 小鼠脏器指数变化

动物脏器指数是衡量其生物学特征,反映动物体内各器官的发展水平、机能状态、病变程度和功能强弱的关键指标<sup>[25-26]</sup>,也能够说明动物生长发育状况和营养吸收情况<sup>[27]</sup>。本研究中饲喂 3 个月的小鼠,肉眼观察其心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃、脑均无异常改变,且各组小鼠脏器外观无差别。饲喂 3 个月,各小鼠脏器指数如表 5 所示。

数与空白组和鱼油组的无显著差异( $p > 0.05$ ),说

明羊脑 DHA - PLs 和鱼油未对小鼠心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃、脑造成毒害作用,羊脑 DHA - PLs 具有较高的生物安全性,不会造成器官损伤或代谢负担。

### 2.5 小鼠脏器组织形态学分析

在各种模型小鼠中,所用食物成分或药物的生物安全性是考察其能否应用于临床的重要指

标,常以主要器官为模型,考察这些材料是否对机体产生毒性。图2为饲喂3个月各组小鼠心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃和脑组织的 H&E 染色图,图3为饲喂3个月各组小鼠空肠上皮组织 H&E 染色图。

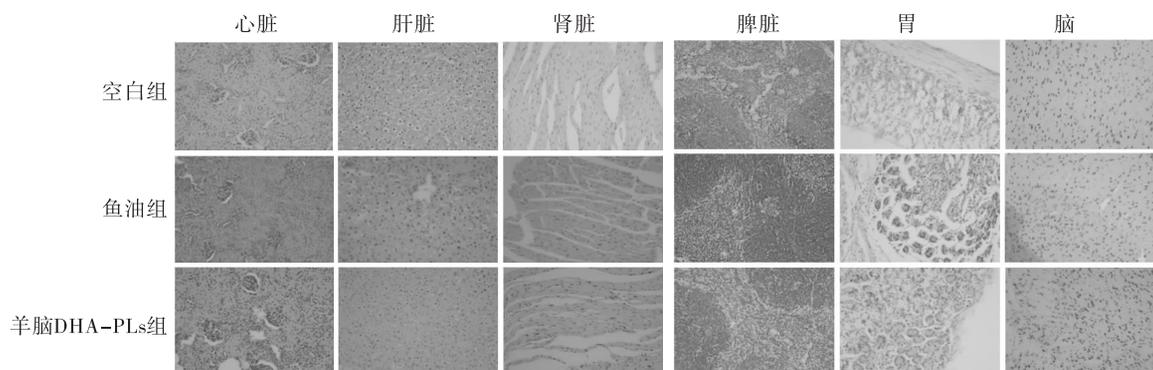


图2 各组小鼠心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃和脑的 H&E 染色图(100 ×)

Fig.2 H&E staining patterns of the heart, liver, kidneys, spleen, stomach and brain of mice in three groups fed (100 ×)

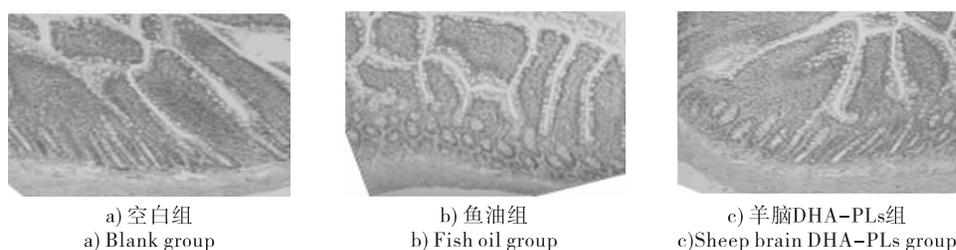


图3 各组小鼠空肠上皮组织 H&E 染色图(200 ×)

Fig.3 H&E staining of jejunal epithelial tissue of mice in three groups fed (200 ×)

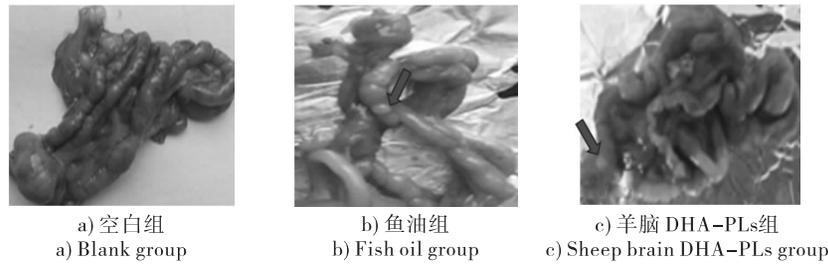
由图2可看出,鱼油组和羊脑 DHA - PLs 组小鼠的心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃和脑的细胞结构和形态、大小、排列模式均与空白组一致,未发生任何病理变化,表明羊脑 DHA - PLs 与鱼油相似,经3个月摄入,对小鼠各脏器组织无不良影响,生物安全性高。

维持正常的肠道屏障功能对动物机体健康具有重要意义。IV/dC 是反映肠道上皮组织发育程度和小肠消化吸收能力的重要指标,其值越高表明肠道的消化吸收功能越好<sup>[28]</sup>。目前已有研究证实,鱼油具有提高 IV/dC,改善肠道功能的作用,如:刘方方等<sup>[29]</sup>的研究结果显示,摄取5%的鱼油能使小鼠空肠和回肠的 IV/dC 分别提高43.1%和67.5%,使回肠绒毛杯状细胞的数量增加16.7%;Calder<sup>[30]</sup>报道,鱼油能够有效改善慢性长期肠炎小鼠结肠长度,维持肠道上皮细胞完整性,减轻结肠水肿程度,改善肠道组织结构。由图3可看出,各组小鼠空肠的绒毛长度没有明显改变,隐窝深

度和单位面积内杯状细胞数量无变化,经计算,空白组、鱼油组和羊脑 DHA - PLs 组小鼠空肠 IV/dC 分别为3.8、4.2和4.3,组间无显著差异( $p > 0.05$ )。上述结果表明,羊脑 DHA - PLs 与鱼油相似,对肠道上皮组织具有良好的作用,能够提高小肠的吸收功能。

### 2.6 小鼠肠道潘氏斑的形成

潘氏斑,又称聚集性淋巴结,是肠道中重要的淋巴滤泡结构,主要存在于黏膜免疫反应的诱导位点。该结构富含B淋巴细胞、T淋巴细胞以及特殊的M细胞,是肠黏膜免疫系统的关键部位,负责启动和调节黏膜免疫反应的发生及强度。研究表明,大豆油和鱼油以2:1的比例用于肠外营养,能维持潘氏斑和肠绒毛中淋巴细胞数量,与正常食物喂养相当<sup>[31]</sup>。此外,鱼油与抗癌药物联合使用,可保持小鼠肠道淋巴细胞的数量及呼吸道免疫球蛋白A(IgA)水平,从而增强肠道免疫力<sup>[32]</sup>。图4为饲喂3个月各组小鼠肠道上的潘氏斑。



注：箭头所指处为潘氏斑

Note: The arrow indicates Peyer's patches

图4 各组小鼠肠道上的潘氏斑

Fig. 4 Peyer's patches on the intestines of mice in three group fed

由图4可看出,羊脑DHA-PLs组和鱼油组小鼠肠道上潘氏斑数量分别为14个和13个,二者无显著差异( $p > 0.05$ ),而空白组小鼠肠道上未发现潘氏斑。可见,与鱼油相似,羊脑DHA-PLs对小鼠肠道黏膜免疫系统起到了良好的作用。

### 3 结论

本研究中羊脑未检测到朊病毒蛋白,而正常朊蛋白含量最高达200 mg/g。在3个月饲喂试验中,小鼠的健康状况良好,体质量显著增加,空白组、鱼油组和羊脑DHA-PLs小鼠的脏器指数变化无显著差异。羊脑DHA-PLs与鱼油相似,可降低能量排出量和粪便中粗脂肪含量,促进营养物质的吸收,能够显著降低小鼠血清TC和TG含量,提高肝功能。经组织形态学检测,饲喂3个月,羊脑DHA-PLs组和鱼油组小鼠心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃和脑均无任何病理变化,肠道无损伤,空肠的绒毛长度、隐窝深度和单位面积内杯状细胞数量无变化,小肠上出现潘氏斑。可见,羊脑DHA-PLs和鱼油都对小鼠健康维持、免疫机能提高有良好效果。综上,内蒙古草原羊脑萃取的DHA-PLs对试验小鼠无损伤作用,可以提高其生理机能,能够作为天然DHA-PLs资源深度开发和利用。

### 参考文献:

- [1] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组,中国医师协会神经内科医师分会帕金森病及运动障碍学组. 中国帕金森病治疗指南(第四版)[J]. 中华神经科杂志, 2020, 53(12): 973-986.
- [2] 王炎喆, 林征, 李莎, 等. 睡眠健康的研究新进展[J]. 中国全科医学, 2024(35): 4364-4369.
- [3] LI P, SONG C. Potential treatment of Parkinson's disease with *omega*-3 polyunsaturated fatty acids [J]. Nutr Neurosci, 2022, 25(1): 180-191.
- [4] YOKOI-SHIMIZU K, YANAGIMOTO K, HAYAMIZU K. Effect of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid supplementation on sleep quality in healthy subjects: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial [J/OL]. Nutrients, 2022, 14(19): 4136 [2024-07-14]. <https://doi.org/10.3390/nu14194136>.
- [5] AHN S H, LIM S J, RYU Y M, et al. Absorption rate of krill oil and fish oil in blood and brain of rats [J/OL]. Lipids Health Dis, 2018, 17(1): 162 [2024-07-14]. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0812-7>.
- [6] CARDOSO C, AFONSO C, BANDARRA N M. Dietary DHA and health; Cognitive function ageing [J]. Nutr Res Rev, 2016, 29(2): 281-294.
- [7] MAHSHIS D, ANDREW M, ZHANG X, et al. Associations of fats and carbohydrate intake with disease and mortality in 18 countries from five continents (PURE): A prospective cohort study [J]. Lancet, 2017, 390(10107): 2050-2062.
- [8] CHOUINARD-WATKINS R, SCOTT LACOMBE R J S, METHEREL A H, et al. DHA esterified to phosphatidylserine or phosphatidylcholine is more efficient at targeting the brain than DHA esterified to triacylglycerol [J/OL]. Mol Nutr Food Res, 2019, 63(9): e1801224 [2024-07-14]. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801224>.
- [9] HACHEM M, NACIR H, PICQ M, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) bioavailability in humans after oral intake of DHA-containing triacylglycerol or the structured phospholipid AceDoPC® [J/OL]. Nutrients, 2020, 12(1): 251 [2024-07-14]. <https://doi.org/10.3390/nu12010251>.
- [10] 包音都古荣·金花, 和硕特麦丽斯, 呼格吉勒图, 等. 草原羊脑中磷脂型DHA萃取技术及其结构特性研究 [J]. 中国油脂, 2024, 49(10): 34-61.
- [11] COLLINGE J, WHITTINGTON M A, SIDLE K C, et al. Prion protein is necessary for normal synaptic function [J]. Nature, 1994, 370(6487): 295-297.
- [12] SAKURAI-YAMASHITA Y, SAKAGUCHI S, YOSHIKAWA D, et al. Female-specific neuroprotection against transient brain ischemia observed in mice devoid of prion protein is abolished by ectopic expression of prion

- proteinlike protein [J]. *Neuroscience*, 2005, 136(1): 281–287.
- [13] SCHADED S, SHEY L, EATON R P. Cholesterol review: A metabolically important molecule [J]. *Endocr Pract*, 2020, 26(12): 1514–1523.
- [14] BUDOFF M. Triglycerides and triglyceride-rich lipoproteins in the causal pathway of cardiovascular disease [J]. *Am J Cardiol*, 2016, 118(1): 138–145.
- [15] VASIMAHMED L, MUHAMMAD Z, DAVID A M. Liver function tests [M]. FL:StatPearls, 2024.
- [16] LIU Y, ZHAO P, CHENG M, et al. AST to ALT ratio and arterial stiffness in non-fatty liver Japanese population: A secondary analysis based on a cross-sectional study [J/OL]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17(1): 275 [2024-07-14]. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0920-4>.
- [17] MCPHERSON S, STEWART S F, HENDERSON E, et al. Simple noninvasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Gut*, 2010, 59(9): 1265–1269.
- [18] GAO F, CHEN C, LU J, et al. De Ritis ratio (AST/ALT) as an independent predictor of poor outcome in patients with acute ischemic stroke [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2017, 13: 1551–1557.
- [19] RIEF P, PICHLER M, RAGGAM R, et al. The AST/ALT (De-Ritis) ratio: A novel marker for critical limb ischemia in peripheral arterial occlusive disease patients [J/OL]. *Medicine*, 2016, 95(24): e3843 [2024-07-14]. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003843>.
- [20] ALEKSANDRA M, IMMACOLATA C. Targeting *gamma*-glutamyl transpeptidase: A pleiotropic enzyme [J]. *Free Radic Biol med*, 2023, 208: 672–683.
- [21] WHITFIELD J B. *Gamma* glutamyl transferase [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2001, 38(4): 263–355.
- [22] CASTELLANO I, MERLINO A.  $\gamma$ -Glutamyl transpeptidases: Sequence, structure, biochemical properties, and biotechnological applications [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(20): 3381–3394.
- [23] POMPELLA A, TATA V D, PAOLICCHI A, et al. Expression of *gamma*-glutamyl transferase in cancer cells and its significance in drug resistance [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 71(3): 231–238.
- [24] MÜHLROTH A, LI K, RØKKE G, et al. Pathways of lipid metabolism in marine algae, co-expression network, bottlenecks and candidate genes for enhanced production of EPA and DHA in species of *Chromista* [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11(11): 4662–4697.
- [25] 王黎琦, 汪攀, 曹珺, 等. 约式乳杆菌对断奶仔猪生产性能、血液学指标、脏器指数和组织病理学的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2016, 52(21): 76–80.
- [26] 魏仑, 张晓芳, 郝建红, 等. 昆明小鼠主要脏器系数及生长指标的测定 [J]. *河北北方学院学报(自然科学版)*, 2019, 35(2): 1–4.
- [27] 王斯琴塔娜. 探讨粗饲料品质对犊牛消化道组织形态及内脏器官发育的影响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2007.
- [28] XU Z R, HU C H, XIA M S, et al. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers [J]. *Poult Sci*, 2003, 82(6): 1030–1036.
- [29] 刘方方, 杨晓华, 张枫琳, 等. 日粮添加鱼油对高脂日粮饲喂小鼠肠道屏障功能的影响 [J]. *华南农业大学学报*, 2020, 41(3): 1–8.
- [30] CALDER P C. Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(8): 885–897.
- [31] NOGUCHI M, MORIYA T, MURAKOSHI S, et al. Lipid compositions of total parenteral nutrition affect gut Peyer's patches and morphology in mice [J]. *J Surg Res*, 2022, 280: 355–362.
- [32] FUKATSU K, NAGAYOSHI H, MAESHIMA Y, et al. Fish oil infusion reverses 5-fluorouracil-induced impairments in mucosal immunity in mice [J]. *Clin Nutr*, 2008, 27(2): 269–275.