基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003771

竹荪多糖对慢性酒精暴露诱导的大鼠认知功能障碍的影响

朱安娥，张 健，王承飞，丁九阳，汪家文，王 杰，汪元河
（贵州医科大学法医学院/法医司法鉴定中心，贵阳 550004）

【摘 要】目的：探讨竹荪多糖（dictyophora polysaccharides，DIP）对慢性酒精所致大鼠认知功能障碍的影响。**方法：**60只雄性SD大鼠随机分为5组（n=12）：空白对照组（Control，生理盐水），单纯DIP处理组［DIP_H，300 mg/（kg·d）DIP连续灌胃28 d］，单纯酒精组［EtOH，10 mg/（kg·d）60%酒精连续灌胃28 d］，竹荪多糖低剂量干预组［EtOH+DIP_L，10 mg/（kg·d）60%酒精+100 mg/（kg·d）DIP灌胃，中间间隔6 h，连续28 d］，竹荪多糖高剂量干预组［EtOH+DIP_H，10 mg/（kg·d）60%酒精+300 mg/（kg·d）DIP灌胃，中间间隔6 h，连续28 d］，灌胃至第25天进行4 d的水迷宫训练，第29天行水迷宫测试检测大鼠记忆、学习功能情况，苏木精-伊红染色评估肝及脑组织水肿和炎症情况，免疫组织化学染色检测脑组织炎症细胞及髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein，MBP）的表达情况，免疫印迹检测海马组织髓鞘相关蛋白2，2-环核苷酸-3-磷酸二酯酶（2，2-Cyclic Nucleotide-3-Phosphodiesterase，CNP）表达量，髓鞘染色（luxoL fast blue，LFB染色）及髓鞘透射电镜观察大鼠髓鞘结构完整性。**结果：**与Control组相比，EtOH组逃避潜伏期明显增加，MBP表达量减少，髓鞘密度明显减少。DIP干预可改善大鼠认知功能障碍，增加MBP及CNP的表达及减少髓鞘的损伤情况。**结论：**在300 mg/kg剂量下，DIP可能通过保护髓鞘的结构和功能完整性来改善慢性酒精暴露诱导的认知功能缺陷。

【关键词】慢性酒精暴露；竹荪多糖；认知功能；海马；髓鞘
【中图分类号】R89 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2024-07-09

Effects of Dictyophora polysaccharides on cognitive dysfunction induced by chronic alcohol exposure in rats

Zhu An'e, Zhang Jian, Wang Chengfei, Ding Jiuyang, Wang Jiawen, Wang Jie, Wang Yuanhe
(*School of Forensic Medicine/Department of Forensic Medicine, Guizhou Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of dictyophora polysaccharides (DIP) on cognitive dysfunction induced by chronic alcohol exposure in rats. ***Methods*:** Sixty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into five groups (n=12): control group (normal saline), DIP group [DIP_H, DIP administered by gavage at 300 mg/(kg·d) for 28 consecutive days], alcohol group [EtOH, 60% alcohol administered by gavage at 10 mg/(kg·d) for 28 consecutive days], low-dose DIP treatment group [EtOH+DIP_L, 60% alcohol administered at 10 mg/(kg·d) and DIP administered at 100 mg/(kg·d) by gavage, with an interval of 6 hours between doses, for 28 consecutive days], and high-dose DIP treatment group [EtOH+DIP_H, 60% alcohol administered at 10 mg/(kg·d) and DIP administered at 300 mg/(kg·d) by gavage, with an interval of 6 hours between doses, for 28 consecutive days]. On day 25 of gavage, water maze training was provided for the rats for 4 days. On day 29, a water maze test was performed to determine the memory and learning functions of the rats; HE staining was used to evaluate the edema and inflammation of the liver and brain tissues; presence of inflammatory cells and the expression of myelin basic protein (MBP) in brain tissue were measured using immunohistochemical staining; Western blot was used to measure the expression of 2, 2-cyclic nucleotide-3-phosphodiesterase (CNP) in the hippocampal tissue; the structural integrity of the myelin sheath was evaluated using LuxoL fast blue (LFB) staining and transmission electron microscopy. ***Results*:** Compared with the control group, the EtOH group showed a significantly increased escape latency, reduced expression of MBP, and decreased density of the myelin sheath. DIP intervention significantly improved cognitive dysfunction in rats, increased the expression of MBP and CNP, and reduced myelin damage. ***Conclusion*:** At a dose of 300 mg/kg, DIP may ameliorate cognitive dysfunction induced by chronic alcohol exposure by protecting the structural and functional integrity of myelin sheaths.

【Key words】 chronic alcohol exposure; dictyophora polysaccharides; cognitive function; hippocampus; myelin sheath

作者介绍：朱安娥，Email：1229451681@qq.com，
研究方向：法医病理学。
通信作者：汪元河，Email：yuanhe-wang@sohu.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：82060340）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.r.20250224.1132.002（2025-02-25）

酒精是一种易获得的亲神经类精神活性物质，对人体具有多种毒理作用/药理作用，并与一系列负面健康问题和社会暴力危害相关[1-2]。Greene N 等[3]的研究表明，在报告的暴力死亡病例中，有41.1%呈现血液酒精检测阳性，27.7%的患者血液酒精浓度≥0.08 g/dL。长期大量饮酒不仅引起肝脏、消化系统、心肌等的损害[4-6]，还会影响中枢神经系统的功能，导致判断力受损、协调性丧失和认知功能下降等[7]。

髓鞘是神经纤维周围的保护层，髓鞘的丢失会破坏电脉冲的正常传输，导致广泛的神经系统症状，髓鞘及脑白质病变与认知功能障碍具有相关性[8]。相关研究显示，慢性酒精性脑病患者多伴有脑白质营养不良，主要表现为胼胝体（corpus callosum，CC）变性[9]，长期的酒精作用会通过干扰神经元髓鞘的形成和维持，改变神经元的放电方式和丢失重要的营养物质，影响髓鞘新生及调节，导致白质萎缩，从而导致认知功能障碍和行为异常[10-13]。脑核磁共振成像和电子计算机体层摄影结果显示，酒精依赖患者伴有胼胝体区域脱髓鞘和水肿[14]。以上研究表明，长期酒精暴露可能通过破坏髓鞘结构和功能完整性，来诱导海马相关的认知功能障碍。

目前，临床上针对长期酒精暴露造成的脑损伤的药物很少有能缓解认知功能障碍的作用，因此，需要寻找一种能改善认知障碍的药物。竹荪是世界上最有价值的大型食用菌和药用真菌之一，是中国西南地区特色生长的药食材，它由七种必需氨基酸、12种珍贵金属离子和相当高含量的微量元素[15]。竹荪多糖（dictyophora polysaccharides，DIP）是竹荪的主要有效成分，是一种由葡萄糖、甘露糖、半乳糖和木糖组成的具有较强生物活性的大分子物质[16]。DIP在增强免疫力、延缓衰老、抑制肿瘤等方面具有一定的治疗作用，并可抑制病毒性传染病，具有良好的抗氧化、抗肿瘤、抗菌和免疫调节作用[17]。DIP对由砷引起的大鼠海马相关认知功能障碍有一定的改善作用[18]。在谷氨酰胺和β淀粉样蛋白介导的神经退行性疾病的转基因秀丽隐杆线虫模型中，DIP可改善其化学感受、运动和认知方面的缺陷[19]。DIP可通过抑制线粒体凋亡途径对H_2O_2诱导的嗜铬细胞瘤12神经元死亡具有保护作用[20]。另有研究发现，DIP对慢性酒精暴露引起的肝细胞变性坏死等病理现象具有改善作用[16]。以上研究说明DIP的抗氧化及抗炎活性能够减轻认知功能方面的损害，具有神经保护作用，且对于酒精引起的机体损伤有一定改善作用。神经调控在酒精使用障碍患者治疗方面有一定潜力，但目前尚无DIP对酒精诱导的神经毒性的影响及其机制的相关研究。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级SD（Sprague-Dawley）大鼠60只（雄性，180~220 g，6~8周龄），购自贵州医科大学实验动物中心，许可证号：SYXK（贵）2023-0002。将大鼠置于12 h的光照-黑暗循环，温度（22±2）℃，湿度45%~55%的标准环境中，并给予充分的食物和水。所有涉及动物的程序均经贵州医科大学动物伦理委员会预先批准（动物伦理编号：2304848）。

1.2 主要试剂及药品

短裙竹荪子实体粉末（陕西云岭生物科技有限公司，生产批号：YL20230905，产自云南，竹荪多糖成分占总量的71.26%）；GFAP（货号：17590-1-AP，武汉三鹰技术有限公司）；Iba1（货号：ET1705-78，杭州华安生物有限公司）；NeuN（货号：ET1602-12，杭州华安生物有限公司）；MBP（货号：6600-1-lg，武汉三鹰技术有限公司）；CNP（货号：F0624，Selleck）；髓鞘染液（货号：G1030-100 mL，武汉赛维尔生物科技有限公司）；甘氨酸银染试剂（货号：G1052-500T，中国武汉赛维尔生物科技有限公司）。

1.3 仪器

Mirros水迷宫（上海欣软信息科技有限公司）；EasyScan数字切片扫描与应用系统（中国麦克奥迪（厦门）精密光学有限公司）；轮转切片机RM2016型（德国徕卡公司）；全自动包埋机YB-6LF型（中国湖北亚光医用电子有限公司）；Olympus光学显微镜（日本Olympus公司）。

1.4 实验方法

1.4.1 溶液的配制 60%酒精（无水乙醇：蒸馏水=3∶2），低剂量竹荪多糖（竹荪子实体粉末：蒸馏水=10 mg∶1 mL），高剂量竹荪多糖（竹荪子实体粉末：蒸馏水=30 mg∶1 mL）。

1.4.2 实验分组 将60只体质量为180~220 g的雄性SD大鼠在屏障系统中适应性喂养1周，随机分为5组，即空白对照组（Control）、单纯高剂量竹荪多糖对照组（DIP_H，300 mg/kg高剂量竹荪多糖灌胃，每天1次，持续28 d）、单纯酒精模型组（EtOH，60%酒精灌胃，每天1次，连续28 d）、竹荪多糖低剂量干预组（EtOH+DIP_L，100 mg/kg DIP与60%酒精分别灌胃，中间间隔6 h，每天1次，连续28 d）、竹荪多糖高剂量干预

组（EtOH+DIP_H，300 mg/kg DIP 与 60% 酒精分别灌胃，中间间隔 6 h，每天 1 次，连续 28 d），每组 12 只[17]。实验期间，大鼠自由进食、饮水，单纯高剂量竹荪多糖对照组和竹荪多糖干预组分别按 10 mL/kg 灌胃不同浓度的竹荪多糖溶液，空白组和模型组灌胃等体积的蒸馏水。6 h 后，模型组和竹荪多糖干预组按 12 mL/kg 灌胃 60% 酒精，空白组、对照组灌胃等体积的蒸馏水。每天 1 次，持续灌胃 4 周。每 7d 称重 1 次，根据体质量调整灌胃量，在第 25 ~ 28 天进行水迷宫训练，在第 29 天进行水迷宫实验，随后禁食 12 h，将大鼠按 1 mL/kg 腹腔注射 3 mg/mL 戊巴比妥钠进行麻醉，经大鼠心脏先后灌注磷酸缓冲盐溶液和 4% 的多聚甲醛，直至大鼠右心室清亮液体流出，将其肝左叶及大脑在冰上取出后置于 4% 中性甲醛液中固定 1 周。具体实验流程安排如图 1A。

1.4.3 行为学检测 在给药的第 25 ~ 28 天，对大鼠进行水迷宫适应性训练。在直径 160 cm 的迷宫中加入 20 ℃左右的浑浊水，在训练过程中，大鼠被迫游泳 60 s，在第三象限找到 1 个直径 10 cm 的平台，以躲避游泳。该平台位于水面以下 1 cm 处。当大鼠在入水后 60 s 内无法找到平台时，将其人工放置在平台上熟悉 15 s。大鼠每天训练 2 次，每次间隔 30 min。训练 4 d 后，拆除水中平台，将大鼠从第一象限面对池壁放入水中，迷宫上方的摄像机记录大鼠在水迷宫中的活动，分析大鼠从第一象限到达平台所需的时间、1 min 内穿越平台的次数以及在第三象限花费的时间占比作为记忆学习表现的指标。

1.4.4 免疫组织化学检测 灌胃 28 d 后次日，苯巴比妥麻醉大鼠后将其固定在平面上，开胸暴露心脏，剪开右心耳，输液泵刺入左心室缓慢灌注冰生理盐水 100 mL 后，继续灌注 4% 多聚甲醛，直至大鼠心脏停止，将肝脏左叶及脑组织取出，4% 多聚甲醛内固定 1 周，组织经脱水后制作石蜡包埋切片（5 μm）。切片经脱蜡复水后置于 EDTA 抗原修复液中进行高压修复。滴加山羊血清封闭液，在 37 ℃恒温培养箱中封闭 30 min，加入目的蛋白一抗，4 ℃恒温过夜。一抗包括 GFAP（稀释度 1∶500）、Iba1（稀释度 1∶5 000）、NeuN（稀释度 1∶5 000）、MBP（稀释度 1∶200）。次日用 PBS 缓冲液冲洗干净后滴加对应山羊二抗，室温孵育 1 h。使用 DAB 显色后，苏木素复染细胞核，自来水冲洗 15 min。最后经透明后，用中性树胶密封保存。

1.4.5 苏木精-伊红染色 将切片脱蜡至，在组织上滴加苏木素染细胞核，3 min 后自来水冲洗 10 min 返蓝；随后盐酸乙醇分化 15 s，自来水冲洗 30 s；随后在稀氨水中返蓝 10 s，自来水冲洗 30 s；伊红染液中浸泡 5 min，自来水冲洗 30 s；最后将组织脱水透明，中性树胶密封保存。

1.4.6 髓鞘染色 切片脱蜡至水，将髓鞘染液 A 在 65 ℃烘箱提前预热 30 min，将组织切片放入髓鞘染液 A 中 65 ℃染色 4 h（加盖防止液体蒸发）。室温自然冷却后取出切片，自来水洗至玻片流水呈无色。迅速将切片浸入髓鞘染液 B 中快速分化 5 s，然后取出切片立即置于髓鞘染液 C 中快速分化 10 s，切片交替浸入髓鞘 B 和髓鞘染液 C 中进行分化，及时镜检直至髓鞘呈蓝色背景近无色，然后水洗终止分化。切片经 3 次无水乙醇，每次 5 min，再经二甲苯透明 5 min，最后用中性树胶封片。

1.4.7 甘氨酸银染 石蜡切片脱蜡至水后，将切片置于甘氨酸银染液 C 中浸染 5 min，蒸馏水洗 3 次。随后将切片浸入已提前 37 ℃预热好甘氨酸银染液 B 中 3 ~ 5 min。将切片取出，迅速甩掉组织上残余的甘氨酸银染液 B，放入已提前 15 min 于 45 ℃预热好的甘氨酸银染液 AⅠ中，时刻观察还原效果，数秒后取出切片并迅速甩一下将切片放入已提前 15 min 在 45 ℃预热好甘氨酸银染液 AⅡ中，数秒后快速拿出，蒸馏水洗。如遇到染色背景过深需要用甘氨酸银染液 D 处理，并用蒸馏水洗 3 次。最后脱水、透明、封片。

1.4.8 免疫蛋白印迹 将 1.0 mm 电泳玻璃板洗净、烘干，固定安装在制胶架上，根据检测的蛋白分子量的大小，先后加入 10% 的分离胶，5% 的浓缩胶，待浓缩胶凝固，拔出梳子，将制胶架放入电泳槽中，倒入足量电泳液，充满制胶架内部和电泳槽，在对应的梳齿孔中缓慢匀速地加入蛋白样品和 Marker；浓缩胶 80 V，30 min；分离胶 120 V，进行电泳。按照“三明治结构”（正极板、海绵、滤纸、PVDF 膜、凝胶、滤纸、海绵、负极板）冰浴恒压 100 V 进行转膜。取出 PVDF 膜封闭、孵育一抗、洗膜、孵育二抗，充分洗涤后避光滴加适量的 ECL 曝光液，使用化学发光凝胶成像系统，显影蛋白条带并采集相应图像。最后用 Image J 分析软件测量目的条带及内参条带灰度值并分析。

1.5 统计学方法

将实验所得数据经 SPSS 26.0 统计软件进行分析。实验数据分别进行正态分布和方差齐性检验。正态分布的计量资料用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。多组间比较采用单因素方差分析及重复测量的双因素方差分析，事后多重比较采用最小显著差异（least significant difference，LSD）法和 Tamhane 法联合进行两两比较，检验水准 α=0.05。最后采用 GraphPad Prism 9.0（Graphpad software Co.Ltd）对数据进行可视化。

2 结 果

2.1 DIP 干预对慢性酒精暴露大鼠体质量及水迷宫实验的影响

标准环境中喂养 1 周后，各组大鼠的平均体质量无明显差异。随着实验进行，采用重复测量的双因素方差分析结果表明，不同测量时间，大鼠体质量差异有统计学意义（F=

24.538，P<0.001）；不同处理组之间，大鼠体质量变化差异有统计学意义（F=20.181，P<0.001）；不同处理和时间之间存在交互效应，即随时间变化，不同处理组间大鼠体质量变化差异有统计学意义（F=22.094，P<0.001）。最后一次体质量测量结果表明，与 Control 组及 DIP_H 相比，EtOH 组大鼠平均体质量明显降低。与 EtOH 组相比，竹荪粗多糖高剂量干预组大鼠平均体质量逐渐上升，低剂量干预组大鼠最终体质量与 EtOH 组大鼠差异无统计学意义（F=20.670），以上结果说明竹荪粗多糖的干预可以减轻酒精引起的体质量下降，同时也说明竹荪粗多糖对大鼠无明显毒害作用（图 1B）。

对大鼠水迷宫实验采用重复测量的双因素方差分析，结果显示，不同测量时间，大鼠逃避潜伏期差异有统计学意义（F=221.884，P<0.001）；不同处理组之间，大鼠逃避潜伏期差异有统计学意义（F=29.762，P<0.001）；且不同处理组与大鼠训练时间存在交互效应，即随训练时间增加，各组大鼠逃避潜伏期差异有统计学意义（F=17.465，P<0.001）。第 5 天水迷宫实验正式开始，EtOH 组大鼠平均首次到达平台所在位置花费的时间较多（图 1C，1D），平台穿越次数及在平台象限逗留的时间比例较少（图 1E、1F），这些结果表明 EtOH 导致大鼠空间记忆和学习能力下降，而 DIP 干预后的 EtOH 大鼠逃避潜伏期缩短，并且在平台象限的停留时间增加。

2.2 DIP 对慢性 EtOH 诱导大鼠肝组织损伤及脑水肿的影响

Control 组及 DIP_H 组肝细胞形态饱满、规则，肝索排列整齐、密实，少见炎性细胞浸润；EtOH 组中央静脉及汇管区见大量炎性细胞浸润，汇管区及肝小叶周围结缔组织见大量空泡形成。DIP 干预的 EtOH 大鼠肝组织可见酒精诱导肝损伤明显改善，细胞及肝小叶形态趋于正常。随着竹荪多糖剂量的增加，肝组织损伤相对减轻，高剂量竹荪粗多糖干预组大鼠肝组织仅有少量空泡、炎性浸润（图 2A）。

在慢性 EtOH 大鼠模型中，本研究通过苏木精-伊红染色评估慢性酒精性脑水肿，本研究观察到，EtOH 组大鼠大脑部分区域神经元外周间隙变宽，嗜神经现象明显，并见胼胝

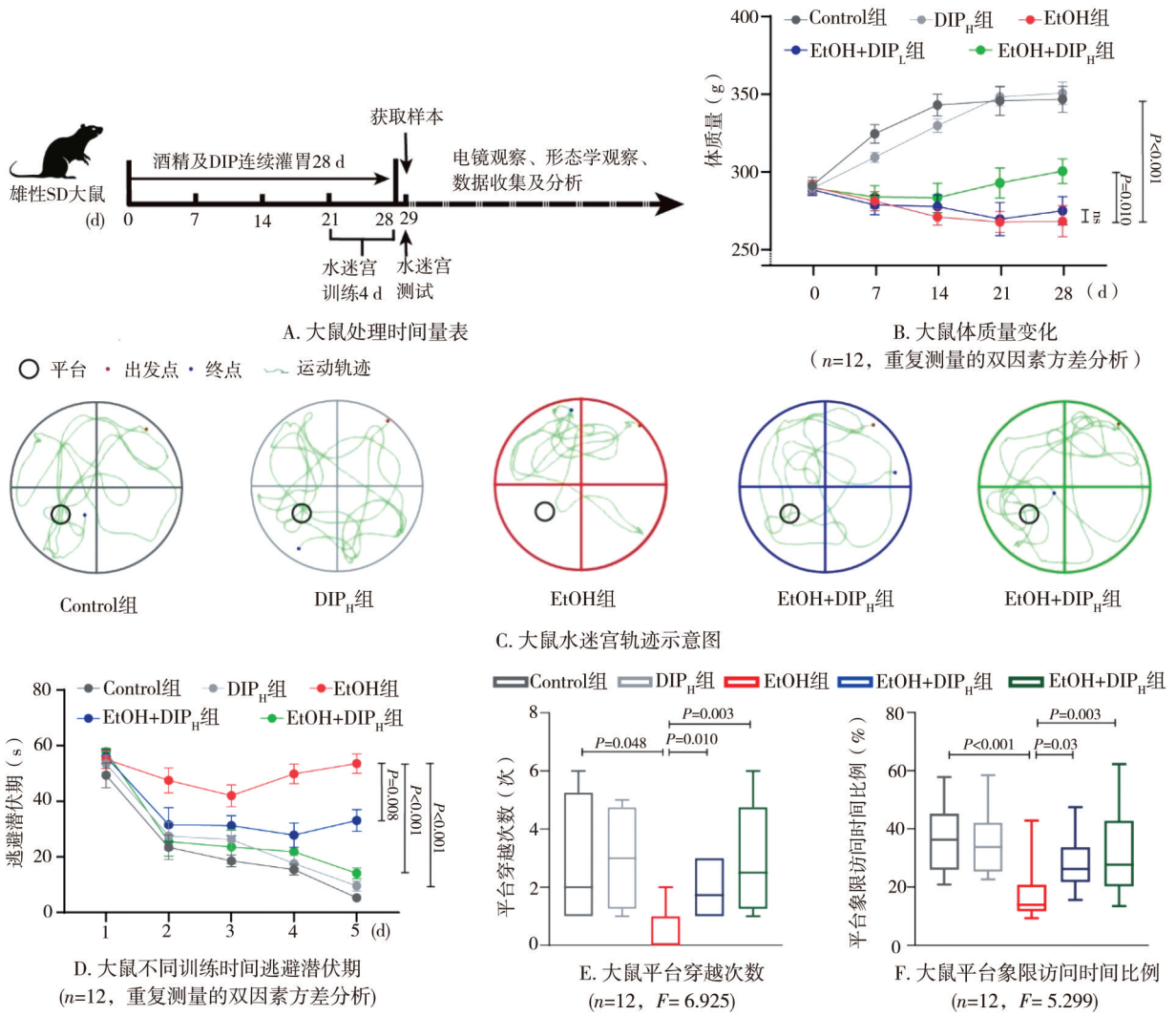


图 1　DIP 对 EtOH 大鼠体质量及学习记忆的影响

体区域少突胶质细胞排列稀疏无序。而与慢性酒精组相比，EtOH+DIP$_L$和EtOH+DIP$_H$组脑水肿和噬神经现象得以减少，胼胝体区少突胶质细胞排列较为有序。从图2B可看出，相比于对照组，EtOH组海马CA3及DG区较多细胞固缩，细胞深染；低剂量竹荪多糖干预组海马上述区域细胞固缩现象有所减轻；高剂量竹荪多糖干预组海马CA3及DG区细胞固缩现象明显减少。表明高剂量竹荪多糖能保护慢性酒精诱导的大鼠脑水肿及神经元损伤（图2B）。

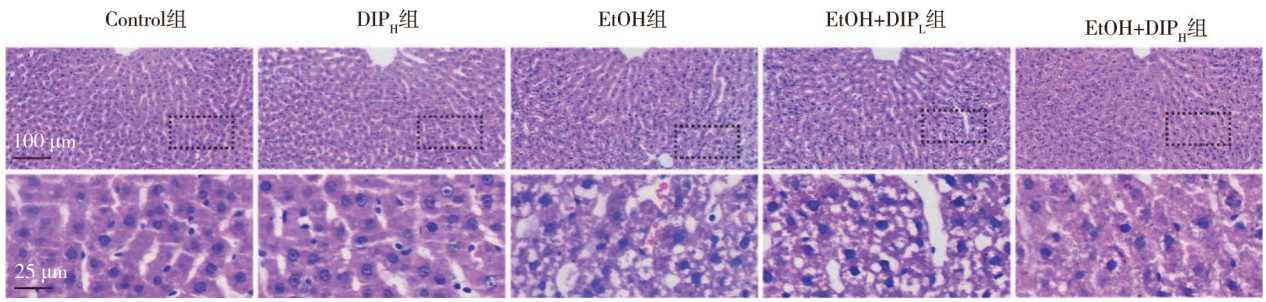
2.3　DIP对EtOH大鼠轴突及神经元数量的影响

在甘氨酸镀银染色组织切片中，EtOH组大鼠的胼胝体区及纹状体区（corpus striatum，CPu）轴突密度相较于对照组有所降低，使用DIP干预的大鼠胼胝体区域轴突相对密度相比于EtOH组增强（图3A、3B），大鼠纹状体区轴突密度呈现出相同趋势，即DIP干预组神经束中轴突密度较EtOH组大鼠高（图3A、3C）。

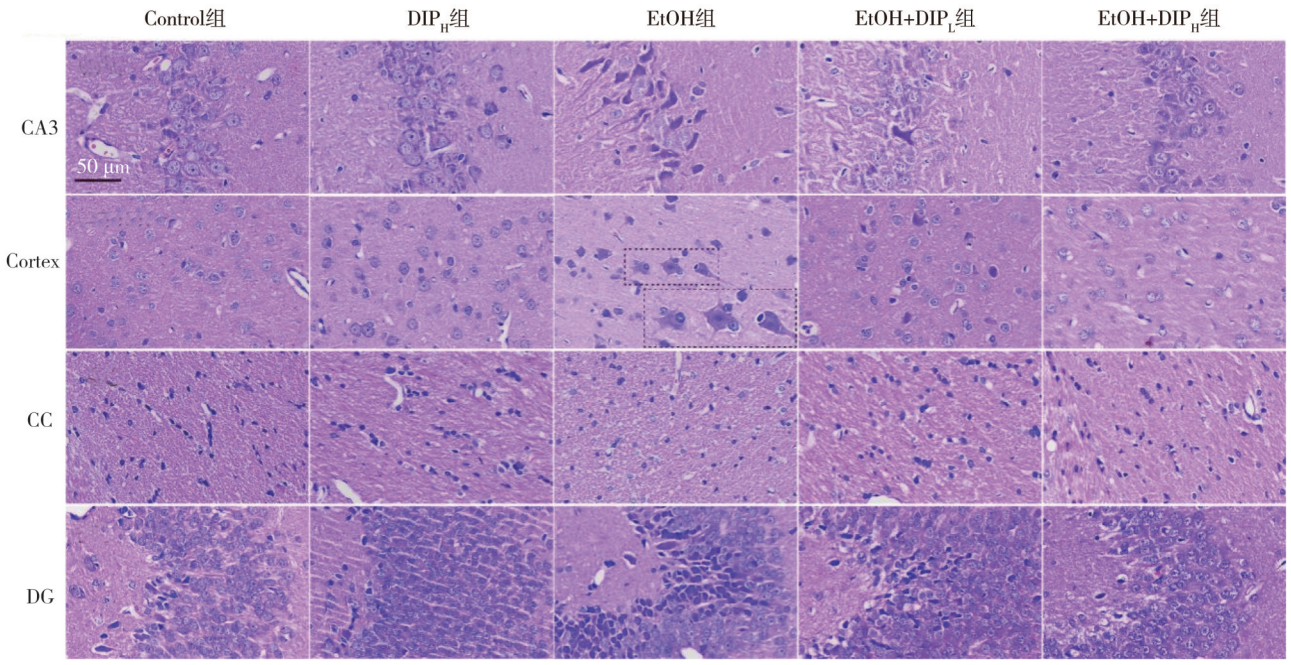
采用NeuN免疫组化染色法检测大鼠皮质区、海马CA3区及海马齿状回（DG区）神经元数量，结果显示，与对照组相比，EtOH组的神经元数量明显减少，并且本研究发现DIP可有效减轻酒精诱发的大鼠脑神经元数量减少，并且高、低剂量DIP干预组与EtOH组大鼠之间均具有明显差异（图3D~G）。

2.4　DIP对EtOH大鼠脑组织星形胶质细胞及小胶质细胞的影响

大量研究表明，慢性EtOH暴露增强了中枢神经系统中免疫细胞的活性，导致先天性免疫信号分子的释放，通过TLR4等受体介导先天免疫系统激活，引起的神经炎症损伤的机制损害特定的大脑区域。星形胶质细胞和小胶质细胞参与了少突胶质细胞谱系的增殖、分化和功能稳定，本研究怀疑其被酒精激活导致髓鞘损伤。为了验证慢性酒精是否会引起星形胶质细胞和小胶质细胞的激活，本研究测量了GFAP+星形胶质细胞和Iba1+小胶质细胞的数量。结果发现，与对照组相比，慢性酒精组的星形胶质细胞和小胶质细

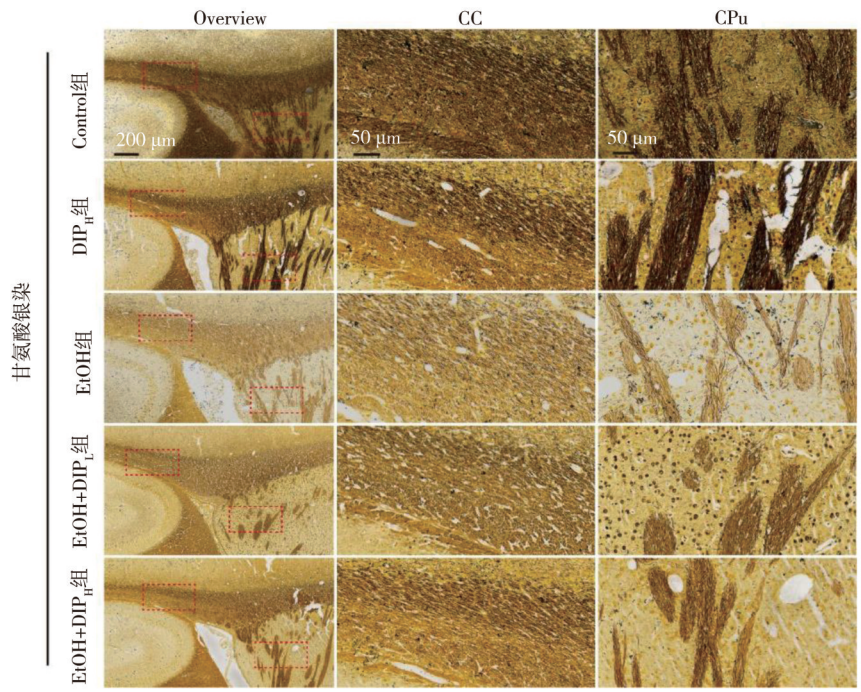


A. 各组大鼠肝组织苏木精-伊红染色

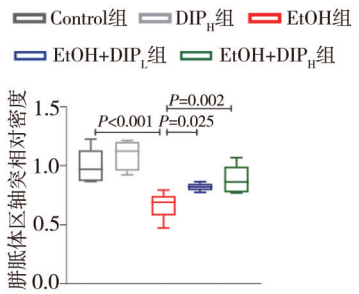


B. 各组大鼠脑组织部分区域苏木精-伊红染色

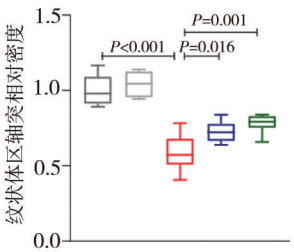
图2　DIP对EtOH大鼠肝及脑组织变化的影响



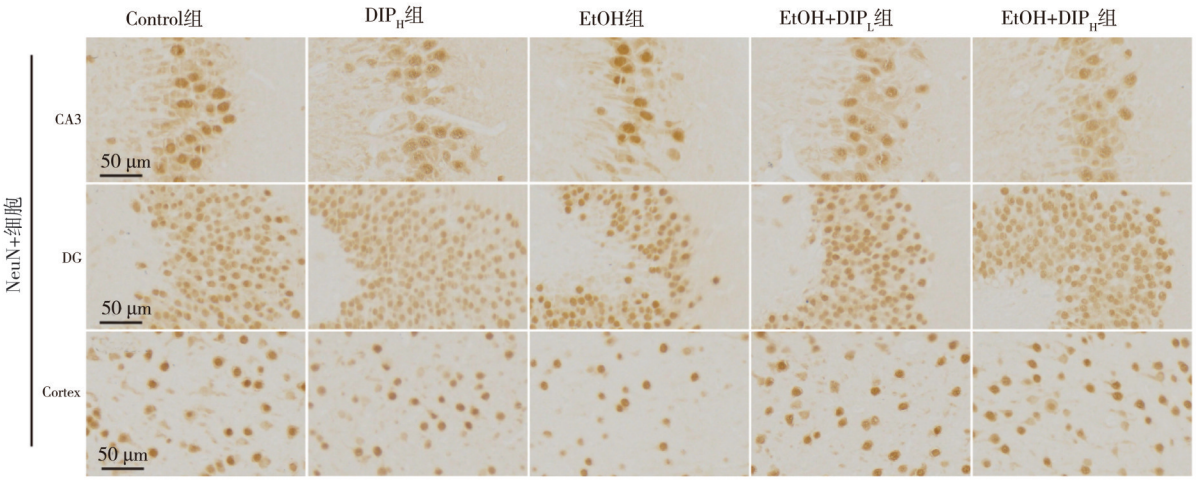
A. CC区及CPu区甘氨酸银染示意图



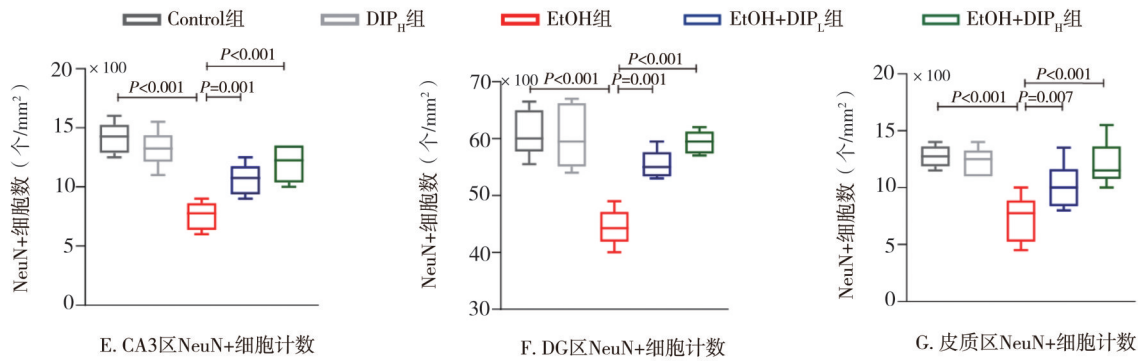
B. CC区轴突密度统计分析



C. CPu区轴突密度统计分析



D. 部分脑区NeuN免疫组织化学染色示意图



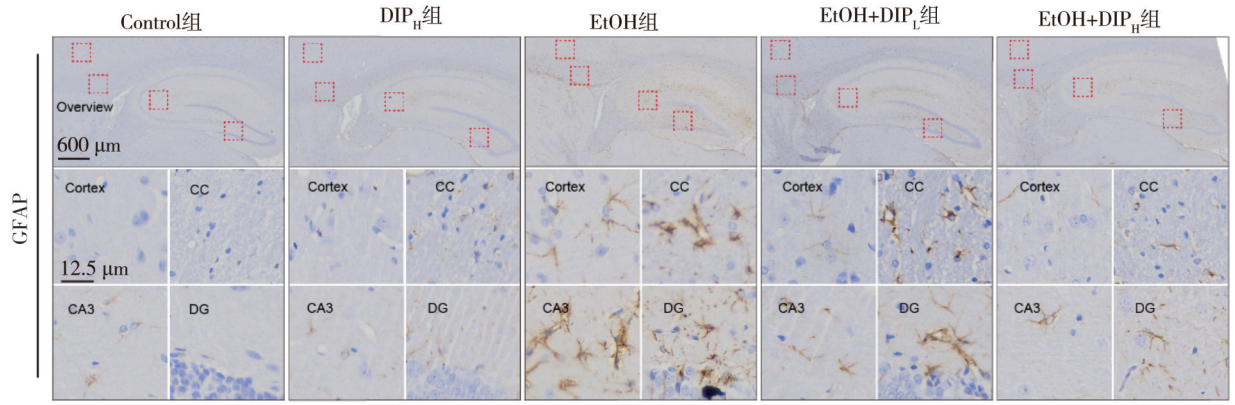
E. CA3区NeuN+细胞计数　F. DG区NeuN+细胞计数　G. 皮质区NeuN+细胞计数

图3　DIP对EtOH诱导的轴突损伤和神经元丢失的影响（n=6）

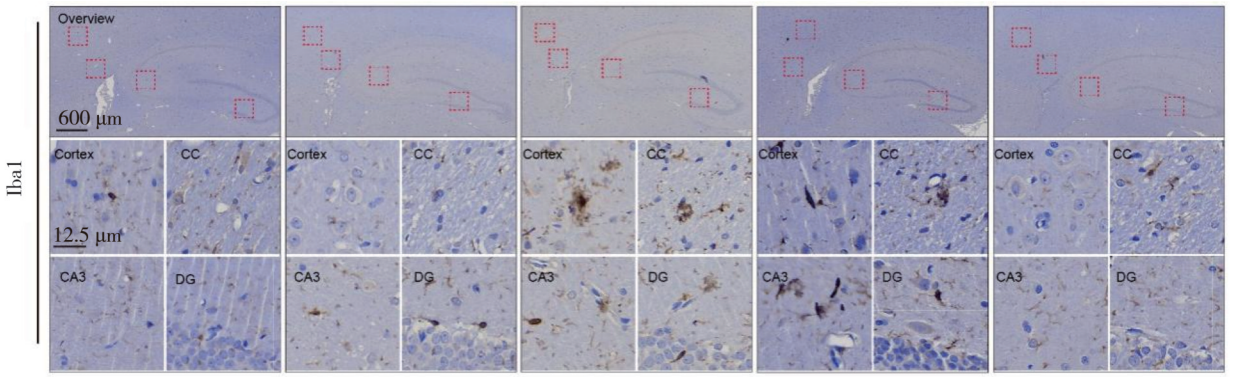
胞的数量明显增加。然而，这种变化因为DIP的干预有所减少：与慢性酒精组相比，低剂量和高剂量DIP干预后GFAP+细胞和Iba1+细胞的数量明显减少（图4）。

2.5　DIP干预对EtOH诱导的脱髓鞘病变的影响

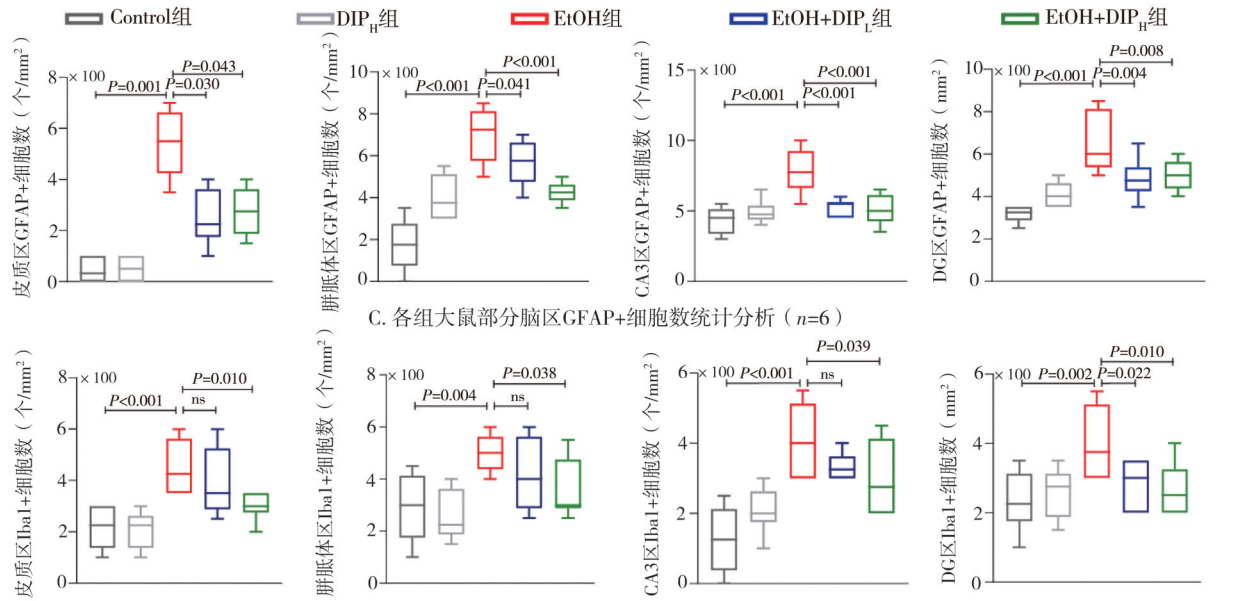
与对照组相比，EtOH组大鼠CC区MBP染色强度、CPu区神经束数、海马区神经束数均有所减少（图5）。



A. GFAP免疫组织化学染色



B. Iba1免疫组织化学染色

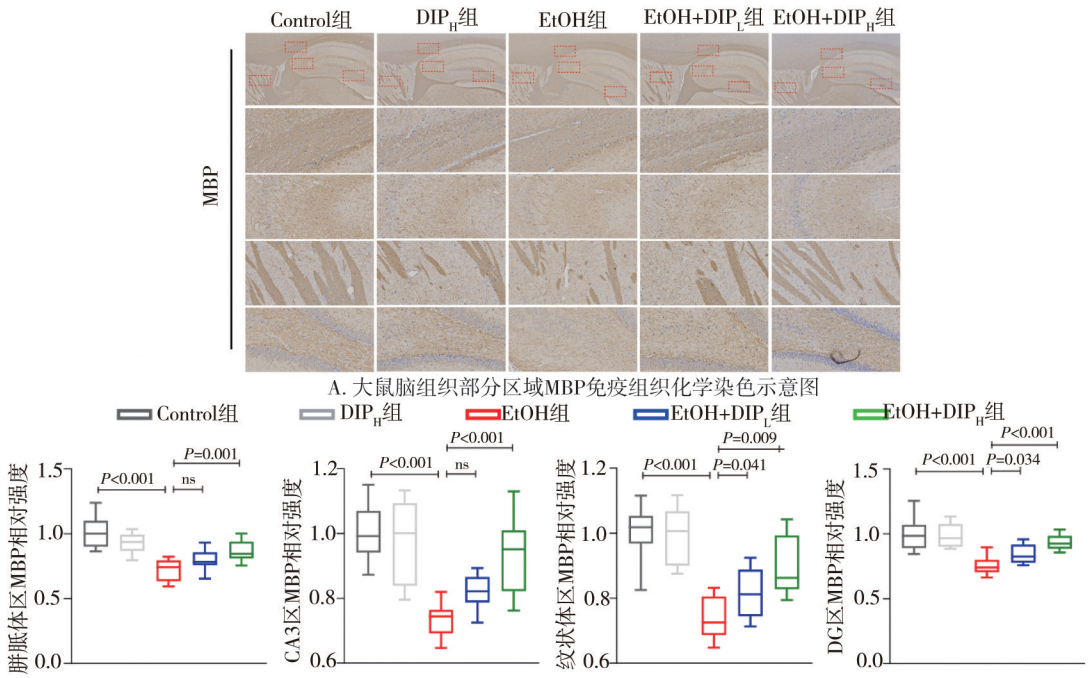


C. 各组大鼠部分脑区GFAP+细胞数统计分析（n=6）

D. 各组大鼠部分脑区Iba1+细胞数统计分析（n=6）

图4　DIP对慢性酒精诱导的星形胶质细胞、小胶质细胞数量的影响

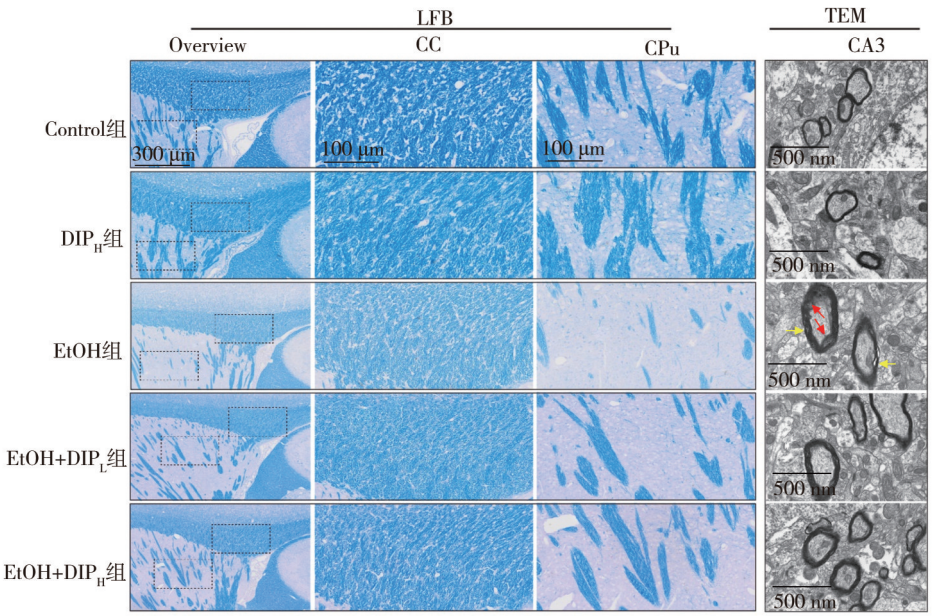
髓鞘染色结果显示，EtOH使大鼠CC区髓鞘密度降低、髓鞘完整性受损。而DIP干预组大鼠上述区域的髓鞘密度稍增强（图6A）。在各组大鼠海马区制作超薄切片，透射电镜下观察髓鞘，结果显示，与对照组相比，EtOH大鼠在横断切面上髓鞘板层模糊，多向内突起，DIP处理的酒精诱导大鼠髓鞘病变较EtOH组减轻（图6A）。进一步对CNP进行定量实验，结果发现EtOH组大鼠海马区域CNP表达量相比于Control组明显减少，DIP干预后其表达量相对上升，当DIP干预计量为300 mg/kg体质量时，CNP表达量接近正常值（图6B~E）。



A. 大鼠脑组织部分区域MBP免疫组织化学染色示意图

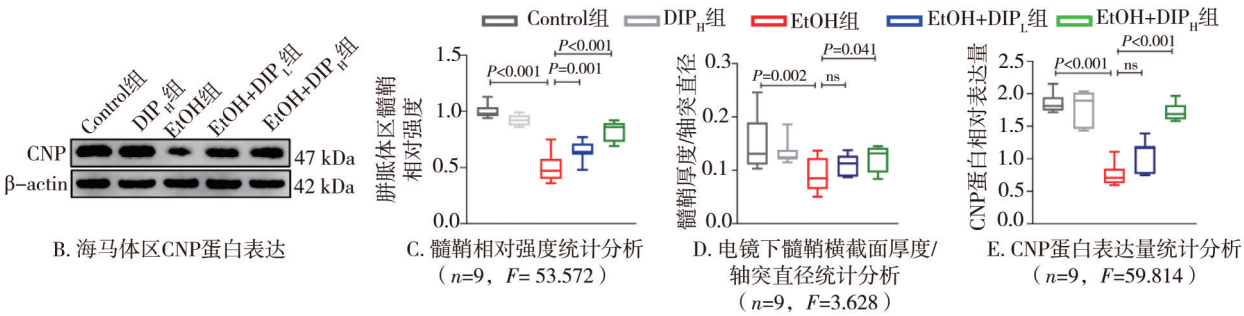
B. 各组大鼠部分脑区MBP相对密度统计分析（n=9）

图5　DIP干预对EtOH诱导的MBP表达减少的影响



注：红色箭头示髓鞘向内突起，黄色箭头示板层松散分离

A. 髓鞘染色及髓鞘电镜



B. 海马体区CNP蛋白表达

C. 髓鞘相对强度统计分析（n=9，F= 53.572）

D. 电镜下髓鞘横截面厚度/轴突直径统计分析（n=9，F=3.628）

E. CNP蛋白表达量统计分析（n=9，F=59.814）

图6　DIP对EtOH大鼠髓鞘的影响

3 讨 论

长期饮用酒精是一个全球性问题，对个人健康和社会产生重大负面影响。长期过量饮酒容易导致肝损伤，并且会造成记忆、学习功能障碍。胎儿酒精谱系障碍已被证明与脑白质损伤有明确的相关性，这种损伤主要表现为脑内白质体积减小，髓鞘破坏，神经元连接丧失，这种影响可导致认知和运动功能下降，并在酒精依赖和戒断症状的发展中发挥重要作用[18,21]。竹荪多糖是一种多糖，具有多种生物活性。最近的研究表明，DIP具有保护脑免受损伤的潜力，可以改善砷诱导的大鼠神经损伤，包括能量代谢紊乱、细胞凋亡、线粒体功能障碍、神经系统发育障碍、突触功能障碍和氧化应激[22]。

本研究结果表明竹荪多糖可以改善慢性酒精暴露引起的认知功能障碍。通过Morris水迷宫实验，本研究观察到慢性酒精暴露大鼠的空间记忆和学习能力较差，表现在EtOH组大鼠在水迷宫中寻找平台花费的时间更长，在平台所在象限逗留的时间比例更短。这些结果与先前的研究一致[23-25]，表明酒精暴露会导致实验动物空间记忆和学习能力下降，并且，有研究表示，长期饮酒导致行为控制、学习、记忆和执行功能的损害，至少部分归因于海马体的完整性。海马体对于通过谷氨酸能传入向前额叶皮层和腹侧纹状体传递环境和上下文信息至关重要，并检索之前的经验以指导行为。在用DIP干预后，本研究观察到大鼠的逃避潜伏期减少，在平台象限的停留时间增加。这与本研究的猜想一致，DIP干预可以改善长期酒精暴露大鼠的记忆、学习功能障碍。本研究结果表明，DIP可以改善酒精诱导的大鼠胼胝体区域神经元周围空隙加宽和少突胶质细胞稀疏排列，即DIP可以改善轴突损伤，改善脱髓鞘病变，这表明DIP可能通过保持髓鞘或神经传导过程的结构完整性来改善大鼠的认知功能。这可能是因为DIP具有抗氧化和抗炎特性，可减少酒精引起的氧化应激和神经炎症反应，通过对神经系统的保护作用来防止轴突损伤、神经元丢失以及脱髓鞘病变，从而减轻酒精引起的记忆功能损伤。

在对长期酒精暴露和DIP干预后的大鼠脑组织炎症情况的观察发现，长期饮酒可激活星形胶质细胞和小胶质细胞，引起脑组织内强烈的炎症反应，这与以往的研究结果一致[26]。DIP可能通过抑制星形胶质细胞和小胶质细胞的激活发挥抗炎作用和神经保护作用。

本实验显示EtOH组大鼠脑组织特别是胼胝体区MBP染色强度以及海马体区CNP蛋白表达量明显低于对照组，高剂量的DIP干预对慢性酒精诱导的髓鞘损伤调节作用具有统计学意义，即DIP干预可预防慢性酒精暴露引起的大鼠脱髓鞘、MBP及CNP表达减少。LFB染色和透射电镜观察发现，酒精明显降低了大鼠胼胝体和纹状体区域髓鞘的密度，破坏了髓鞘的完整性，证实酒精对髓鞘的损伤作用。在应用DIP干预慢性酒精暴露的大鼠后，其髓鞘密度接近正常，进一步证明DIP可能对髓鞘有保护作用。对各组大鼠海马区制备超薄切片，透射电镜下观察轴突髓鞘。结果表明，EtOH组大鼠髓鞘横切面损伤明显，原来致密的髓鞘板层结构遭到破坏，而高剂量DIP干预组大鼠髓鞘超微结构接近正常，这表明高剂量DIP可以减轻酒精对脑组织结构的损伤，并可能通过减少星形胶质细胞与小胶质细胞的激活来保护髓鞘的结构和功能完整性而起作用。

4 结 语

酒精对人体多脏器有不利影响，尤其是神经系统方面，不仅导致形态结构改变，还可通过多种途径影响神经系统功能。根据目前的研究数据，在300 mg/kg BW最佳剂量下，DIP可能通过保护髓鞘结构完整性来改善过量饮酒引起的认知障碍，这对维持神经系统的功能有重要作用。本研究发现进一步为治疗和预防慢性酒精中毒引起的肝脏毒性和神经病变开辟了一条新的途径。

参 考 文 献

[1] Haque LY, Leggio L. Integrated and collaborative care across the spectrum of alcohol-associated liver disease and alcohol use disorder[J]. Hepatology, 2024: 102-112.

[2] Sontate KV, Rahim Kamaluddin M, Naina Mohamed I, et al. Alcohol, aggression, and violence: from public health to neuroscience[J]. Front Psychol, 2021, 12: 699726.

[3] Greene N, Tomedi LE, Cox ME, et al. Alcohol testing and alcohol involvement among violent deaths by state, 2014-2016[J]. Prev Med, 2021, 148: 106527.

[4] Mackowiak B, Fu YJ, Maccioni L, et al. Alcohol-associated liver disease[J]. J Clin Investig, 2024, 134(3): 236-289.

[5] Aleman RS, Moncada M, Aryana KJ. Leaky gut and the ingredients that help treat it: a review[J]. Molecules, 2023, 28(2): 619.

[6] Steiner JL, Lang CH. Etiology of alcoholic cardiomyopathy: Mitochondria, oxidative stress and apoptosis[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2017, 89: 125-135.

[7] Mira RG, Tapia-Rojas C, Pérez MJ, et al. Alcohol impairs hippocampal function: from NMDA receptor synaptic transmission to mitochondrial function[J]. Drug Alcohol Depend, 2019, 205: 107628.

[8] Filley CM. Cognitive dysfunction in white matter disorders: new perspectives in treatment and recovery[J]. J Neuropsychiatry Clin Neurosci, 2021, 33(4): 349-355.

[9] Singh S, Wagh V. Marchiafava bignami disease: a rare neurological complication of long-term alcohol abuse[J]. Cureus, 2022, 14(10): e30863.

[10] Papp-Peka A, Tong M, Kril JJ, et al. The differential effects of alcohol and nicotine-specific nitrosamine ketone on white matter ultrastructure[J]. Alcohol Alcohol, 2017, 52(2): 165-171.

[11] Hisamatsu T, Tabara Y, Kadota A, et al. Alcohol consumption and cerebral small- and large-vessel diseases: a Mendelian randomization analysis[J]. J Atheroscler Thromb, 2024, 31(2): 135-147.

[12] Rice J, Gu C. Function and mechanism of myelin regulation in alcohol abuse and alcoholism[J]. Bioessays, 2019, 41(7): e1800255.

[13] 杜 静, 吴铁妤, 严孙宏, 等. 脑白质病变与帕金森病患者临床症状的相关性研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2024, 49(5): 558-562.
Du J, Wu TY, Yan SH, et al. Association between white matter lesion and clinical symptoms in patients with Parkinson's disease[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2024, 49(5): 558-562.

[14] Singer E, Bhatt K, Prashad A, et al. Diagnosis and management of marchiafava-bignami disease, a rare neurological complication of long-term alcohol abuse[J]. Discoveries, 2023, 11(2): e168.

[15] Xia ZQ, Wang R, Ma C, et al. Effect of controlled atmosphere packaging on the physiology and quality of fresh-cut *Dictyophora rubrovolvata*[J]. Foods, 2023, 12(8): 1665.

[16] Wang JH, Pan JJ, Zou JB, et al. Isolation, structures, bioactivities, and utilizations of polysaccharides from *Dictyophora* species: a review[J]. Int J Biol Macromol, 2024, 278(Pt 1): 134566.

[17] Han SY, Ma CX, Hu MH, et al. A polysaccharide from *Dictyophora indusiata* inhibits the immunosuppressive function of cancer-associated fibroblasts[J]. Cell Biochem Funct, 2017, 35(7): 414-419.

[18] Zhang J, Hu T, Wang Y, et al. Investigating the neurotoxic impacts of arsenic and the neuroprotective effects of *Dictyophora* polysaccharide using SWATH-MS-based proteomics[J]. Molecules, 2022, 27(5): 1495.

[19] Zhang J, Shi RN, Li HF, et al. Antioxidant and neuroprotective effects of *Dictyophora indusiata* polysaccharide in *Caenorhabditis elegans*[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 192: 413-422.

[20] Yu WX, Lin CQ, Zhao Q, et al. Neuroprotection against hydrogen peroxide-induced toxicity by *Dictyophora* echinovolvata polysaccharide via inhibiting the mitochondria-dependent apoptotic pathway[J]. Biomedecine Pharmacother, 2017, 88: 569-573.

[21] Darbinian N, Selzer ME. Oligodendrocyte pathology in fetal alcohol spectrum disorders[J]. Neural Regen Res, 2022, 17(3): 497-502.

[22] Newville J, Valenzuela CF, Li L, et al. Acute oligodendrocyte loss with persistent white matter injury in a third trimester equivalent mouse model of fetal alcohol spectrum disorder[J]. Glia, 2017, 65(8): 1317-1332.

[23] Bakalkin G, Bazov I, Yakovleva T, et al. S. 26.02 Alcoholism-associated molecular adaptations in endogenous opioids in brain neurocognitive circuits: human and animal correlates[J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2008, 18: S194.

[24] Gao DP, Weng QY, Zhang YY, et al. Memantine alleviates cognitive impairment and hippocampal morphology injury in a mouse model of chronic alcohol exposure[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2024, 243: 173827.

[25] Yen FS, Wang SI, Lin SY, et al. The impact of alcohol consumption on cognitive impairment in patients with diabetes, hypertension, or chronic kidney disease[J]. Front Med, 2022, 9: 861145.

[26] Cruz B, Borgonetti V, Bajo M, et al. Sex-dependent factors of alcohol and neuroimmune mechanisms[J]. Neurobiol Stress, 2023, 26: 100562.

（责任编辑：周一青）

本文引用格式：
朱安娥，张 健，王承飞，等. 竹荪多糖对慢性酒精暴露诱导的大鼠认知功能障碍的影响[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(5)：602-611.