

DOI: 10.11964/jfc.20230814140

## 山茱萸总苷对 CT 诱导的鲤抗氧化及免疫功能的影响

朱兆曾, 卢荣华\*, 陈梦迪, 徐歆歆, 张玉茹, 曹香林  
河南师范大学水产学院, 河南 新乡 453007

### 摘要:

**【目的】** 研究山茱萸总苷 (*Cornus officinalis* total glycosides, COTG) 对四氯化碳 (CT) 诱导的鲤抗氧化性能、免疫功能及血清生化指标的影响。

**【方法】** 选取初始体重 ( $22.15 \pm 1.15$ ) g 的鲤 135 尾, 随机分为 5 组, 其中实验组 (T1 组、T2 组、T3 组) 分别灌喂 100、200 和 300 mg/kg 的 COTG, C 组 (对照) 及 CT 组灌喂等体积生理盐水, 连续灌喂 7 d 后 CT 组及实验组注射 CT (5 mL/kg), 24 h 后取样。检测肝胰脏和肾脏组织的形态学、血清生化指标、抗氧化和免疫酶活性及相关基因表达变化。

**【结果】** 注射 CT 诱导了鲤肝胰脏和肾脏组织损伤, 而灌喂 COTG 显著降低了血清谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 活性, 并减轻了肝细胞的空泡化程度、细胞核损伤和肾小球肿胀。与 CT 组相比, T3 组血清 TG、TC 及 LDL-C 含量均显著下调, 改善了 CT 诱导的血脂紊乱。此外, T3 组肝胰脏和肾脏的过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、T2 组肝胰脏酸性磷酸酶 (ACP) 及 T3 组肾脏碱性磷酸酶 (AKP) 和 ACP 的活性均显著上调, 但 T2 和 T3 组肝胰脏及肾脏的丙二醛 (MDA) 含量显著降低。基因表达结果显示, COTG 可提高鲤的肝胰脏和肾脏氧化酶相关基因 (*cat*、*sod*、*gst*、*gpx*) 表达, 抑制促炎因子 *il- $\beta$*  和 *nf- $\kappa$ b p65* 的表达。

**【结论】** 灌喂 200~300 mg/kg 的 COTG 可通过增强抗氧化和免疫功能缓解 CT 诱导的鲤肝胰脏及肾脏组织损伤。

**关键词:** 鲤; 山茱萸总苷; 四氯化碳; 抗氧化; 免疫功能

随着我国水产养殖业的不断发展和养殖产量的提高, 对养殖鱼类的病害防控也提出了更大挑战<sup>[1]</sup>, 一般化学药物治疗是解决该问题的常用手段之一, 但化学药物容易引起药物残留及鱼体抗生素蓄积<sup>[2]</sup>, 而天然植物提取物具有低残留、毒副作用小等优点。因此, 为寻找绿色高效的化学药物替代品, 近年来学者们更多关注天然化合物对鱼体抗氧化应激及免疫功能的影响<sup>[3-5]</sup>, 以期开发天然植物来源的抗氧化剂和免疫增强剂等<sup>[6]</sup>。

山茱萸 (*Cornus officinalis*) 提取物是我国的传统药材, 具有抗氧化、抗炎及降脂等功效<sup>[7]</sup>, 其主要活性成分包括环烯醚萜苷、黄酮类、多糖等<sup>[8]</sup>。其中环烯醚萜类化合物如马钱苷和莫诺苷含量被列为草药质



第一作者: 朱兆曾, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail :  
1207275192@qq.com



通信作者: 卢荣华, 从事水产动物营养与免疫研究, E-mail :  
laoaiyika@aliyun.com

资助项目: 河南省自然科学基金  
(222300420469)

收稿日期: 2023-08-31

修回日期: 2023-11-16

文章编号:  
1000-0615(2025)03-039414-10  
中图分类号: S 942.5  
文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)  
Copyright © Editorial Office of Journal of  
Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)



量控制的测定指标<sup>[7]</sup>。山茱萸总苷 (*C. officinalis* total glycosides, COTG) 是山茱萸提取物中包括马钱苷及莫诺苷在内的所有萜苷类物质的总称<sup>[9]</sup>。近年来, 在小鼠和大鼠上的研究表明, 山茱萸提取物及其活性成分对化学药物所致的肝、肾损伤具有保护作用<sup>[10-11]</sup>。但其在水产动物上的研究还非常匮乏, 有研究发现山茱萸提取物可改善嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 感染后鲤 (*Cyprinus carpio*) 的血清免疫参数<sup>[12]</sup>, 但 COTG 是否具有保护水产动物肝脏和肾脏等组织损伤的作用尚不清楚。

四氯化碳 (carbon tetrachloride, CT) 是一种常见的化学毒性药物, 常用于构建哺乳动物和鱼类的急性肝肾损伤模型<sup>[13-14]</sup>; 鲤是我国重要的淡水养殖品种之一, 2022 年的养殖产量为 284.32 万 t<sup>[15]</sup>, 占全国淡水养殖产量的 8.64%。本实验以鲤为研究对象, 通过灌喂 COTG 并进行腹腔注射 CT 诱导其组织损伤, 旨在探讨 COTG 对鲤抗氧化及免疫功能的影响, 为山茱萸及其提取物应用于水产配合饲料中提供基础理论数据。

## 1 材料与方方法

### 1.1 实验材料与饲养管理

山茱萸总苷 (COTG) 主要成分: 马钱苷 10.32%、莫诺苷 16.12%, 购于西安格林生物技术有限公司。实验鱼购买于郑州市兴达水产养殖场, 暂养于河南师范大学水产学院水产养殖基地, 实验开始前驯养 2 周, 每日投饲 2 次商品料 (河南通威饲料有限公司, 商品饲料: 粒径 1 mm, 粗蛋白 32%, 粗脂肪 6%), 挑选体重均一的鲤 135 尾, 初始体重为 (22.15±1.15) g, 随机分到 15 个圆形养殖桶 (容量 100 L), 每桶 9 尾。每日换水 1 次, 换水量约为 1/3。养殖水温 (22±2) °C, pH 7.4~7.8, 溶解氧 7.0~8.0 mg/L, 亚硝酸盐 <0.005 mg/L, 氨氮 <0.2 mg/L。本研究获得了河南师范大学学术道德和伦理委员会批准, 实验过程中操作人员严格遵守河南师范大学伦理规范。

### 1.2 实验设计

实验分为 5 组, 每组 3 个重复。分别为对照组 (C 组)、CT 组及 3 个实验组 (T1 组、T2 组、T3 组), 实验期间每日投饲 2 次商品料,

其中 T1、T2 和 T3 组按平均体重分别灌喂 100、200 和 300 mg/kg 的 COTG (每尾分别灌喂 11、22 和 33 mg/mL 的 COTG 贮备液), 在对照组和 CT 组灌喂等体积生理盐水 (1 次/d, 持续 7 d), 7 d 后 CT 组及实验组按体重一次性腹腔注射 CT (15% 四氯化碳-橄榄油溶液, 5 mL/kg), 对照组注射等体积橄榄油, 24 h 后取样, CT 注射剂量参考已有文献<sup>[16-17]</sup>, COTG 浓度根据预实验结果, 具体实验设计见表 1。

表 1 实验设计

Tab. 1 Experimental design

组别 groups	灌喂 oral administration	注射 injection
对照组(C) control	生理盐水	橄榄油
CT	生理盐水	5 mL/kg CT
T1	100 mg/(kg·d) COTG	5 mL/kg CT
T2	200 mg/(kg·d) COTG	5 mL/kg CT
T3	300 mg/(kg·d) COTG	5 mL/kg CT

注: 灌喂生理盐水和不同 COTG 溶液体积均为 0.3 mL, 注射橄榄油和 CT 溶液的体积均为 0.2 mL。

Notes: The volume of normal saline and different COTG was 0.3 mL, and the volume of olive oil and CT solution was 0.2 mL.

### 1.3 样品采集与保存

用 1 mL 注射器进行尾静脉取血, 放于 1.5 mL 无菌无酶的离心管中, 室温静置 4 h 后于离心机 (3 500 r/min, 4 °C) 离心 10 min, 取上清液于 -80 °C 保存。取血后将鱼体于冰上解剖, 分离肝胰脏及肾脏, 经生理盐水清洗后, 一部分于 4% 多聚甲醛固定液中, 24 h 后换至 75% 无水乙醇中保存, 用于组织形态学检测; 另一部分于液氮速冻后保存至 -80 °C 冰箱用于后续指标检测。

### 1.4 H.E 染色观察肝胰脏及肾脏组织形态

肝胰脏和肾脏组织经无水乙醇梯度脱水后以二甲苯透明, 石蜡包埋后于切片机切片 (厚度为 6 μm), 用苏木精-伊红 (H.E) 染色 (北京索莱宝科技有限公司), 中性树胶封固后于显微镜下观察及拍照。

### 1.5 血清生化指标、组织抗氧化及免疫相关酶活性检测

血清生化指标、抗氧化及免疫相关酶活性均采用试剂盒检测 (南京建成生物工程研究所有限公司), 检测血清中甘油三酯 (TG)、总胆固

醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST)。

肝胰脏及肾脏组织样品参考说明书按重量 (g): 生理盐水体积 (mL)= 1 : 9 制备 10% 的组织匀浆液, 于高速离心机中 4 °C, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液用于后续检测。使用试剂盒检测蛋白浓度 (BCA)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、碱性磷酸酶 (AKP)、酸性磷酸酶 (ACP) 活性以及丙二醛 (MDA) 含量和总抗氧化能力 (T-AOC)。

## 1.6 实时荧光定量 PCR(qPCR) 检测抗氧化及免疫相关基因表达

取适量鲤的肝胰脏和肾脏组织, 采用 RNAiso Plus(诺唯赞生物科技有限公司, 南京) 提取总 RNA, 并使用 HiScript II Q RT Super-Mix 反转录合成 cDNA, 参照说明书的定量体系和程序 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix Kit 进行荧光定量 PCR, 检测肝胰脏和肾脏中的抗氧化及免疫相关基因表达量, 引物序列如表 2 所示, 以鲤 18S 为内参基因, 目的基因的相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算<sup>[18]</sup>。

表 2 实时荧光定量 PCR 所用引物序列

Tab. 2 Primers used for quantitative real-time PCR

基因 gene	序列号 accession no.	上游引物 forward (5'→3')	下游引物 reverse (5'→3')
18S	FJ710826.1	GAGACTCCGGCTTGCTAAAT	CAGACCTGTTATTGCTCCATCT
cat	JF411604.1	TTCTGTGGGACGCCTTGT	TCCGAGCCGATGCCTATGT
sod	XM019111527.1	CGCACTTCAACCCCTCAT	CATTGCCTCCTTACC
gpx	GQ376155	ACCTGTCCGCGAAACTATTG	GCTCGTTCATCTGGGTGTAATC
gst	DQ411314	GGGATGGATACTTGGAGAAGATG	CAGTGAAGTCGCGGGAAATA
il-1 $\beta$	AJ245635	TTACAGTAAGACCAGCCTGA	AGGCTCGTCACTTAGTTTGT
nf- $\kappa$ b p65	MN167531.1	AACCAAGAACCAGCCGTACAAGC	ACTGTGTATCCTCCGCTCCTGTAG
il-10	KX964678.1	CGCCAGCATAAAGAACTCGT	TGCCAAATACTGCTCGATGT
hsp70	AY120894	TCAGTCTGCCCTTGTCATTGGTGA	TTTGAGCTGACAGGAATCCACCT

## 1.7 数据分析

实验中所有数据均采用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA), Duncan 氏进行多重检验, 并用 GraphPad Prism 8.0 软件进行作图。数据以“平均值 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SE)”表示, 当  $P < 0.05$  时, 表示各组之间存在显著差异。

## 2 结果

### 2.1 COTG 对 CT 诱导的鲤肝胰脏及肾脏组织形态的影响

与 C 组相比, CT 组鲤肝胰脏细胞空泡化明显增多, 细胞核形态受损且偏移, 而与 CT 组相比, 各实验组细胞空泡化程度均明显减轻, 其中 T2 组和 T3 组细胞核居中、受损减轻且细胞轮廓清晰; 与 C 组相比, CT 组鲤的肾脏中肾小球肿胀, 肾小管中细胞排列紊乱, 而与

CT 组相比, T2 组和 T3 组肾小球肿胀明显减轻, 肾小管细胞排列紧密且居中 (图版 I、图版 II)。

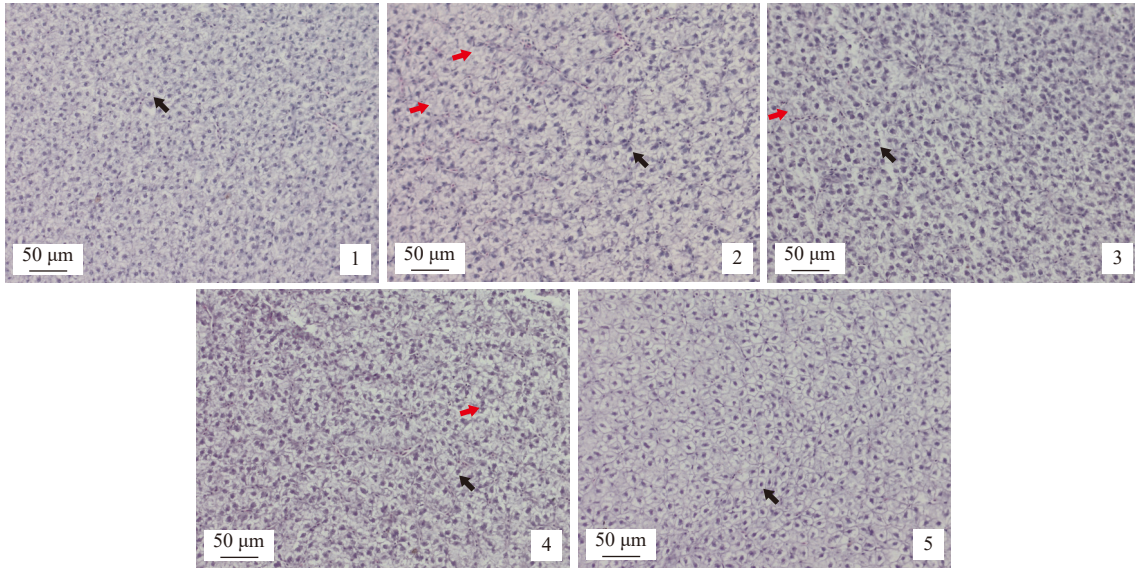
### 2.2 COTG 对 CT 诱导的鲤血清生化指标的影响

与 C 组相比, CT 组血清 AST、ALT 活性及 TC 含量均显著上调 ( $P < 0.05$ ), HDL-C 含量显著下调 ( $P < 0.05$ )。与 CT 组相比, T1 组和 T3 组 AST 水平及各实验组 ALT 水平均显著降低 ( $P < 0.05$ ), T3 组 TC、TG 和 LDL-C 含量均显著下调 ( $P < 0.05$ ), 但 HDL-C 含量无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (图 1)

### 2.3 COTG 对 CT 诱导的鲤肝胰脏、肾脏抗氧化和免疫相关酶活性的影响

与 C 组相比, CT 组鲤肝胰脏和肾脏中 CAT 和 SOD 的活性显著下降但 MDA 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ) (图 2)。而与 CT 组相比, T3 组肝胰脏 CAT 和 SOD 的活性及 T-AOC 均显著提



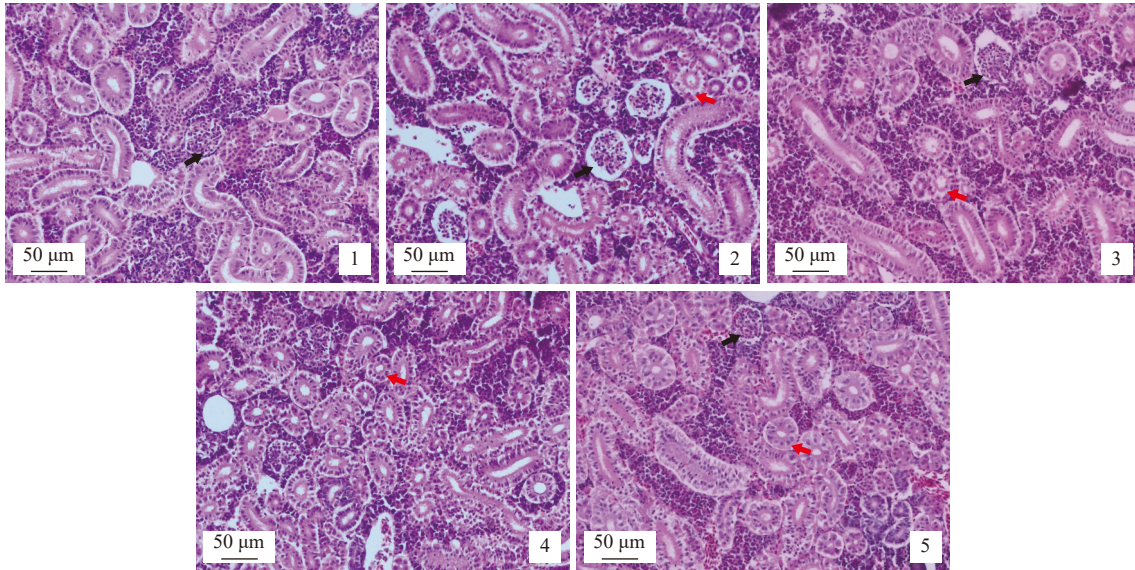


图版 I COTG 对 CT 诱导的鲤肝胰脏组织形态学的影响

1. 对照组, 2. CT 组, 3. T1 组, 4. T2 组, 5. T3 组, 放大倍数为 200×, 下同。红色箭头为细胞空泡化, 黑色箭头为细胞核。

**Plate I Effects of COTG on CT-induced hepatopancreatic histomorphology in *C. carpio***

1. control group, 2. CT group, 3. T1 group, 4. T2 group, 5. T3 group, the magnification is 200×, the same below. The red arrows were vacuolated, and the black arrows were nuclear morphology.



图版 II COTG 对 CT 诱导的鲤肾脏组织形态学的影响

红色箭头处为肾小管, 黑色箭头处为肾小球。

**Plate II Effects of COTG on CT-induced kidney histomorphology in *C. carpio***

The red arrow is the renal tubule, and the black arrow is the glomerulus.

高, 但 MDA 含量显著降低 ( $P < 0.05$ ), 肾脏中 T3 组 CAT 活性显著上调, MDA 含量显著下调 ( $P < 0.05$ )。此外, 与 C 组相比, CT 组肝胰脏及肾脏 AKP 的活性均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 而 ACP 的活性无显著变化 ( $P > 0.05$ ), 与 CT 组相比, T1 组和 T2 组肝胰脏 ACP 的活性显著上调, 各实验组肾脏

中 AKP 和 ACP 的活性也均显著提高 ( $P < 0.05$ )。

**2.4 COTG 对 CT 诱导的鲤肝胰脏和肾脏抗氧化及免疫相关基因表达的影响**

与 C 组相比, CT 组鲤肝胰脏和肾脏 *cat*、*gst* 和 *il-10* 的表达均显著降低, 肝胰脏中 *sod* 的

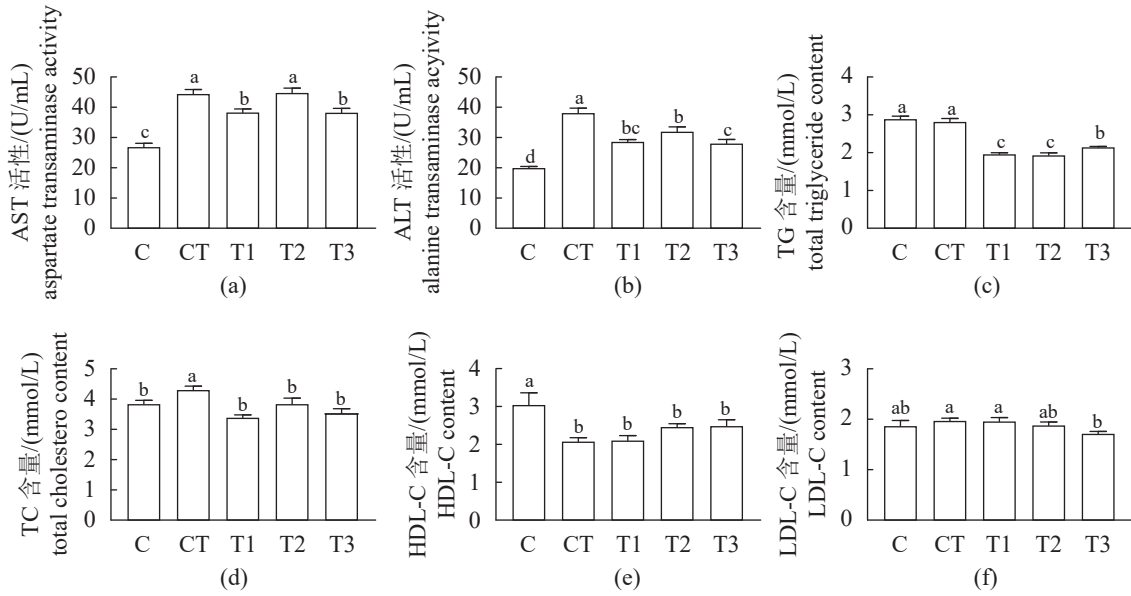


图1 COTG对CT诱导的鲤血清生化指标的影响

同一柱状图中柱子上方字母不同表示存在显著差异,  $P < 0.05$ , 下同。

Fig. 1 Effect of COTG on serum biochemical indexes of *C. carpio* induced by CT

There are significant differences in the letters above the columns in the same histogram,  $P < 0.05$ , the same below.

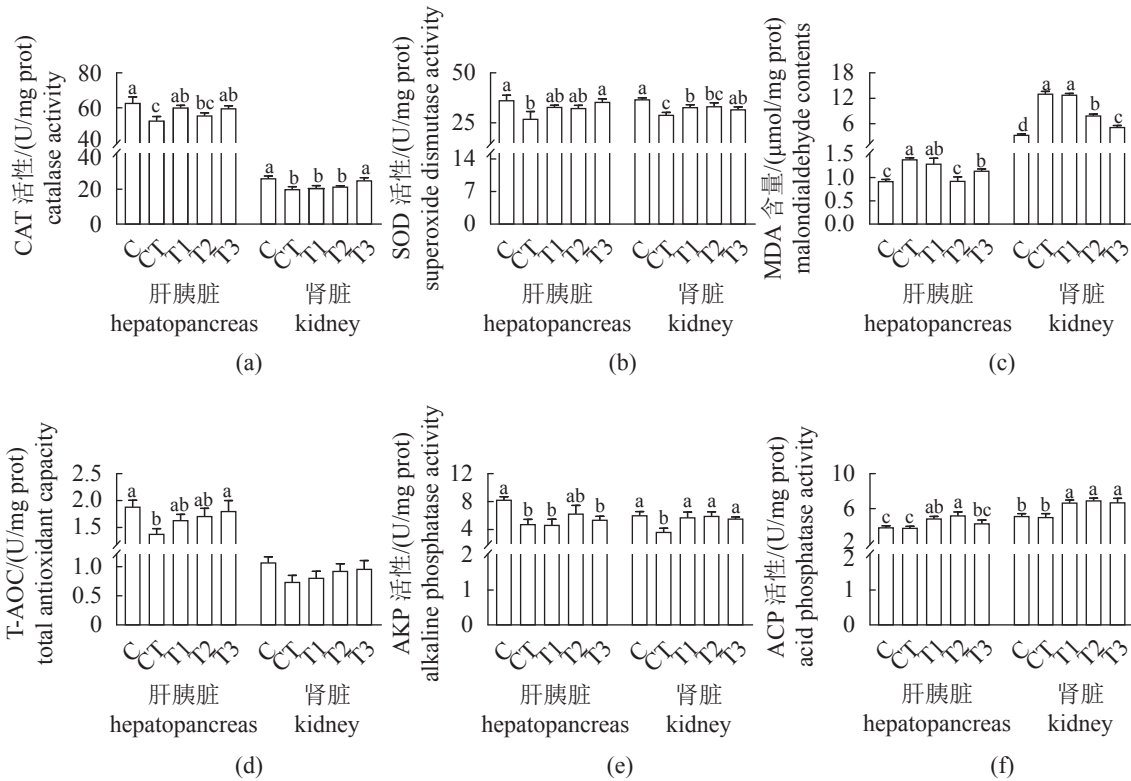


图2 COTG对CT诱导的鲤肝胰脏和肾脏抗氧化及免疫酶活性的影响

Fig. 2 Effects of COTG on CT-induced antioxidant and immune enzyme activities in hepatopancreas and kidney of *C. carpio*

表达显著降低而 *nf-κb p65* 表达显著升高 ( $P < 0.05$ ); 而与CT组相比, 在肝胰脏中T1组的

*sod* 和 *gpx*、T3组的 *cat*、*gst* 和 *hsp70* 表达均显著上调, 且T1和T2组 *nf-κb p65* 基因表达显著

下调 ( $P < 0.05$ )。在肾脏中, 与 CT 组相比, T2 组的 *sod*、*gst* 和 *hsp70* 表达显著增加 ( $P < 0.05$ ),

且各实验组 *il-1 $\beta$*  和 *nf-kb p65* 基因表达量均显著降低 ( $P < 0.05$ ) (图 3, 图 4)。

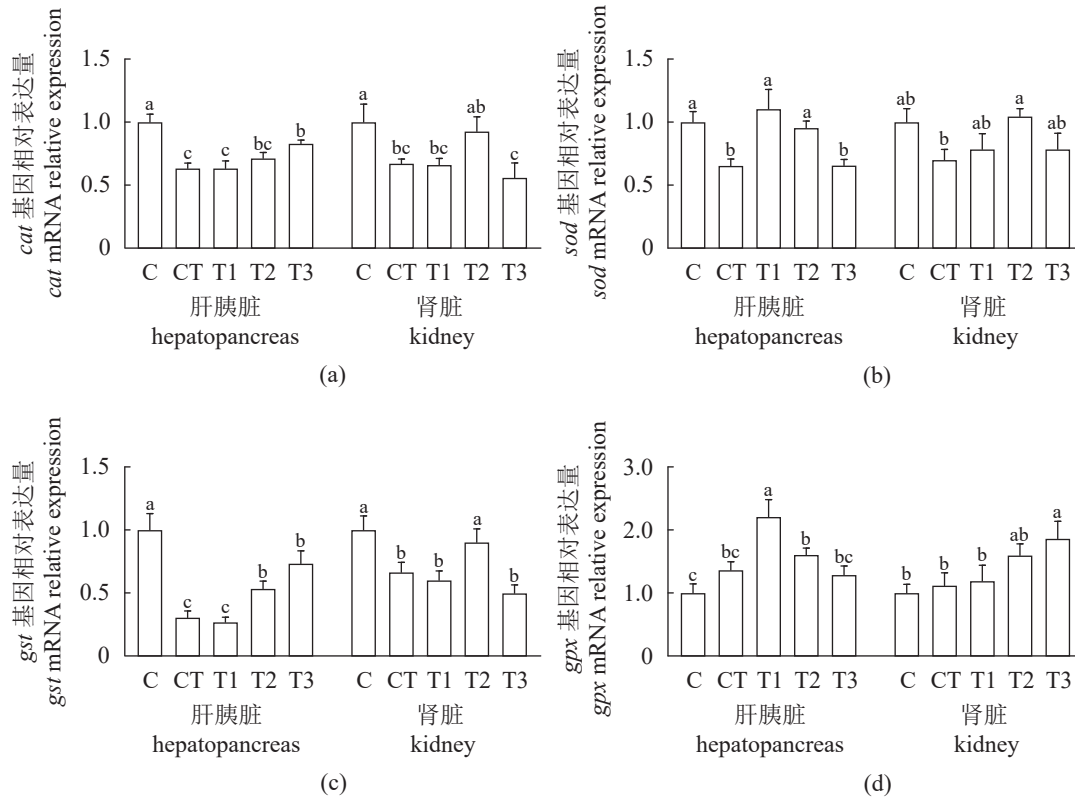


图 3 COTG 对 CT 诱导的鲤肝胰脏和肾脏抗氧化相关基因表达的影响

Fig. 3 Effects of COTG on CT-induced antioxidant related gene expression in *C. carpio* hepatopancreas and kidney

### 3 讨论

#### 3.1 COTG 对 CT 诱导的鲤肝胰脏及肾脏组织形态的影响

组织形态学检测是研究肝损伤的直接手段, 可通过对肝脏组织形态的观察以评估肝损伤程度<sup>[19]</sup>。CT 作为典型的肝损伤物质被广泛应用于哺乳动物和鱼类的研究中<sup>[19-20]</sup>。本实验结果显示, CT 诱导了鲤肝胰脏细胞核偏移、细胞核形态损伤及细胞空泡化, 而灌喂 COTG 后明显减轻了鲤肝胰脏损伤程度; 此外, 研究表明肾脏作为物质代谢的器官之一, 注射 CT 也会导致肾脏组织损伤<sup>[21]</sup>。本研究注射 CT 诱导了肾小球肿胀及肾小管上的细胞排列紊乱, 灌喂 COTG 则改善了鲤肾脏组织形态病变。以往的研究显示山茱萸环烯醚萜苷可缓解乙醇诱导的小鼠肝组织损伤和顺铂诱导的小鼠肾细胞损伤<sup>[22-23]</sup>, 与本实验结果相近, 表明 COTG 对 CT 诱导的鲤肝胰脏及肾脏组织损伤具有保护作用。

#### 3.2 COTG 对 CT 诱导的鲤血清生化指标的影响

血液作为物质代谢和运输的重要载体, 血液参数可作为鱼类的健康状况监测的重要参考指标<sup>[24]</sup>。当肝脏受损时, AST 和 ALT 会被释放到血液中。因此, 血清中 AST 和 ALT 活性常被用做评估肝损伤的标志性指标<sup>[25]</sup>。本实验发现, 注射 CT 后显著上调了鲤血清中 AST 和 ALT 的活性, 表明 CT 注射后鲤肝胰脏功能受损, 与上述组织形态学观察的指标一致, 灌喂不同浓度 COTG 后均能不同程度抑制 CT 诱导的 AST 和 ALT 的上升, 类似的研究同样发现山茱萸乙醇提取物可显著降低链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠 AST 和 ALT 的活性<sup>[26]</sup>。此外, 血清 TG 和 TC 可以作为检测脂代谢紊乱的指标<sup>[27]</sup>, 注射 CT 诱导血清 TC 含量显著升高而 HDL-C 含量显著降低, 但 COTG 组 TC、TG 及 LDL-C 含量均较 CT 组显著降低, 这与山茱萸环烯醚



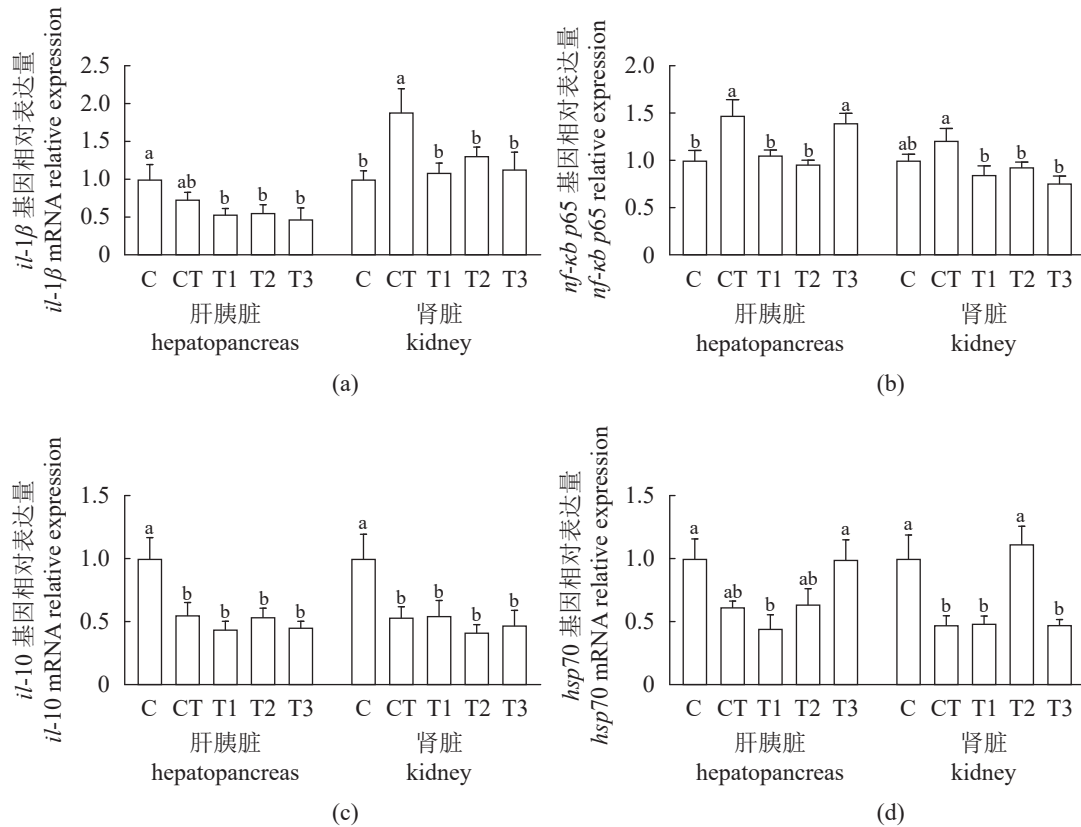


图 4 COTG 对 CT 诱导的鲤肝胰脏和肾脏免疫相关基因表达的影响

Fig. 4 Effects of COTG on CT-induced immune-related gene expression in *C. carpio* hepatopancreas and kidney

萜苷类提取物改善糖尿病小鼠的血脂水平的作用相同<sup>[28]</sup>。结果表明, 灌喂 COTG 可改善 CT 诱导的鲤肝胰脏损伤及血脂代谢异常。

### 3.3 COTG 对 CT 诱导的鲤抗氧化和免疫酶活性及其相关基因表达的影响

抗氧化系统对于维持鱼体健康具有重要作用, 可通过清除过多的自由基保护细胞免受损伤<sup>[16]</sup>, CT 作为强毒性的化学物质可诱导自由基的产生和 MDA 积累, 引起脂质过氧化并造成肝脏和肾脏组织损伤<sup>[29]</sup>, 这与本研究结果一致。CAT 和 SOD 是两种关键的抗氧化酶, 其中 SOD 能够保护机体细胞免受过量的氧自由基和其他有害物质的侵害<sup>[30]</sup>, MDA 是脂质过氧化的产物之一<sup>[31]</sup>, 可以间接表示机体氧化损伤的程度<sup>[32]</sup>。本实验发现, 灌喂 COTG 后各实验组均在不同程度上缓解了 CT 诱导的鲤抗氧化性能的下降, 其中 T3 组效果最显著, 表现为灌喂 COTG 可提高鲤肝胰脏和肾脏 CAT 和 SOD 酶活性, 清除过多有害物质并降低脂质过氧化物的产生。进一步对抗氧化相关基因表达进行检

测, 发现注射 CT 抑制了抗氧化基因的表达, 而 T2 组肝胰脏及肾脏 *sod* 和 *gst* 表达、T3 组肝胰脏 *cat* 和肾脏 *gpx* 表达较 CT 组显著上调, 表明 COTG 能够逆转 CT 诱导的鲤肝胰脏抗氧化酶相关基因表达的降低, 并调节抗氧化酶 CAT 和 SOD 活性进而保护 CT 诱导的组织损伤。已有研究也发现, 山茱萸提取物能够提高嗜水气单胞菌感染后鲤血清抗氧化酶相关基因 *cat*、*sod* 和 *gst* 的表达<sup>[12]</sup>。这表明 COTG 可通过增强鲤抗氧化能力缓解 CT 诱导的组织损伤。

AKP 和 ACP 是参与机体非特异性免疫反应的两种关键酶<sup>[33]</sup>, ACP 能形成水解酶消除异物, 而 AKP 在碱性条件下能发挥解毒功能起到免疫防御的作用<sup>[34]</sup>。本实验中 CT 诱导了鲤肝胰脏及肾脏 AKP 活性的显著降低, 而灌喂 COTG 后, 尤其是灌喂 200 mg/kg 的 COTG 显著提高了 AKP 和 ACP 活性, 表明 COTG 可通过提高免疫酶活性缓解 CT 诱导的鲤组织损伤。此外, 研究显示山茱萸环烯醚萜苷可以通过调节 NF-κB 和 Nrf2 通路改善脓毒症大鼠 (*Rattus norvegicus*) 的氧化应激和炎症反应<sup>[35]</sup>, 本实验同样发

现 200~300 mg/kg 的 COTG 能降低 CT 诱导的促炎相关基因 *il-1 $\beta$*  和 *nf- $\kappa$ b p65* 的表达, 并提高 *hsp70* 的转录水平, 除 NF- $\kappa$ B 信号通路相关的炎症因子 *il- $\beta$*  和 *il-10* 外, *hsp70* 基因也具有免疫调节的作用<sup>[36]</sup>。综合免疫相关酶活性及相关基因表达的结果, 本研究表明 COTG 改善了 CT 诱导的鲤免疫功能障碍, 已有研究表明主要起抗氧化和抗炎作用的活性物质为马钱苷和莫诺苷<sup>[37-38]</sup>, 这与本研究所使用的 COTG 的主要成分和发挥的作用一致, 但其作用机制仍需进一步研究。

#### 4 结论

本研究表明, CT 诱导了鲤肝胰脏及肾脏组织损伤, 而灌喂 200~300 mg/kg 的 COTG 可通过提高鲤抗氧化性能及免疫功能缓解 CT 诱导的组织损伤并改善血脂紊乱, 本实验结果为山茶萸提取物在水产动物中的功能研究和开发利用提供参考依据。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Vakili F, Roosta Z, Hoseinifar S H, *et al.* Effects of thermal stress and hypoxia on skin mucus immune and stress responses in blue gourami (*Trichogaster trichopterus*) cultured in intensive recirculation aquaculture system and semi - intensive systems[J]. *Aquaculture Research*, 2021, 52(12): 6581-6590.
- [ 2 ] Yang C, Song G, Lim W. A review of the toxicity in fish exposed to antibiotics[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2020, 237: 108840.
- [ 3 ] Tadese D A, Song C Y, Sun C X, *et al.* The role of currently used medicinal plants in aquaculture and their action mechanisms: a review[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2022, 14(2): 816-847.
- [ 4 ] Wang L S, Wu D, Fan Z, *et al.* Effect of *Yucca schidigera* extract on the growth performance, intestinal antioxidant status, immune response, and tight junctions of mirror carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 103: 211-219.
- [ 5 ] Sun Z Z, Tan X H, Wei Z L, *et al.* Effects of dietary dandelion extract on the growth performance, serum biochemical parameters, liver histology, and immune and apoptosis-related genes expression of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂ × *Epinephelus fuscoguttatus*♀) at different feeding period[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 120: 280-286.
- [ 6 ] 周东来, 刘凡, 杨琼, 等. 桑叶水提物对鳊生长、脂质代谢、抗氧化能力和肝脏肠道健康的影响 [J]. *中国水产科学*, 2023, 30(2): 206-217.
- Zhou D L, Liu F, Yang Q, *et al.* Effects of mulberry leaf water extract on growth, lipid metabolism, antioxidant capacity, and liver and intestinal health of *Siniperca chuatsi*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(2): 206-217 (in Chinese).
- [ 7 ] Huang J, Zhang Y W, Dong L, *et al.* Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 213: 280-301.
- [ 8 ] Dinda B, Kyriakopoulos A M, Dinda S, *et al.* *Cornus mas* L. (cornelian cherry), an important European and Asian traditional food and medicine: ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology for its commercial utilization in drug industry[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 193: 670-690.
- [ 9 ] 赵晨翔, 张雅敏, 刘宏胜, 等. 山茶萸总苷对刀豆蛋白 A 诱导免疫性肝损伤的保护作用 [J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(8): 1968-1971.
- Zhao C X, Zhang Y M, Liu H S, *et al.* Protective effect of total glycosides from *cornus officinalis* against acute immunologic liver injury induced by ConA in mice[J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2017, 35(8): 1968-1971 (in Chinese).
- [10] Es. Haghi M, Dehghan G, Banihabib N, *et al.* Protective effects of *Cornus mas* fruit extract on carbon tetrachloride induced nephrotoxicity in rats[J]. *Indian Journal of Nephrology*, 2014, 24(5): 291-296.
- [11] Lee N H, Seo C S, Lee H Y, *et al.* Hepatoprotective and antioxidative activities of *Cornus officinalis* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 2012(1): 804924.
- [12] Ahmadifar E, Mohammadzadeh S, Kalhor N, *et al.* Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) fruit extract improves growth performance, disease resistance, and serum immune-and antioxidant-related gene expression of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Aquaculture*, 2022, 558: 738372.
- [13] Alavian S M, Banihabib N, Es. Haghi M, *et al.* Protective effect of *Cornus mas* fruits extract on serum biomarkers in CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in male rats[J]. *Hepatitis Monthly*, 2014, 14(4): e10330.
- [14] 张媛媛, 宋理平, 胡斌, 等. 饲料中添加姜黄素对尼罗罗非鱼幼鱼生长和四氯化碳诱导肝损伤的影响 [J]. *中国水产科学*, 2018, 25(6): 1271-1280.
- Zhang Y, Song L, Hu B, *et al.* Effect of curcumin on growth



- performance and protective effect of liver injury induced by carbon tetrachloride in *Oreochromis niloticus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(6): 1271-1280 (in Chinese).
- [15] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴-2023[M]. 北京: 中国农业出版社, 2023: 61.  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook 2023[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2023: 61 (in Chinese).
- [16] Zhang Y Y, Li F J, Yao F B, *et al.* Study of dietary curcumin on the restorative effect of liver injury induced by carbon tetrachloride in common carp, *Cyprinus carpio*[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 21: 100825.
- [17] 曹丽萍, 贾睿, 丁炜东, 等. 建鲤体内外急性肝损伤模型的建立 [J]. 安徽农业大学学报, 2012, 39(6): 885-889.  
Cao L P, Jia R, Ding W D, *et al.* Establishment of the acute hepatic injury model induced by CCl<sub>4</sub> in *Cyprinus carpio* var. *jian* *in vivo* and *in vitro*[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2012, 39(6): 885-889 (in Chinese).
- [18] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [19] Liu T J, Tan F, Long X Y, *et al.* Improvement effect of lotus leaf flavonoids on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice[J]. *Biomedicines*, 2020, 8(2): 41.
- [20] Cao L P, Du J L, Ding W D, *et al.* Hepatoprotective and antioxidant effects of dietary *Angelica sinensis* extract against carbon tetrachloride-induced hepatic injury in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*) [J]. *Aquaculture Research*, 2016, 47(6): 1852-1863.
- [21] Yoshioka H, Tanaka M, Fujii H, *et al.* *Sasa veitchii* extract suppresses carbon tetrachloride-induced hepato- and nephrotoxicity in mice[J]. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 2016, 21(6): 554-562.
- [22] Han X, Liu J, Bai Y F, *et al.* An iridoid glycoside from *Cornus officinalis* balances intestinal microbiome disorder and alleviates alcohol-induced liver injury[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 82: 104488.
- [23] Kim D U, Kim D G, Choi J W, *et al.* Loganin attenuates the severity of acute kidney injury induced by cisplatin through the inhibition of ERK activation in mice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(3): 1421.
- [24] Chen H J, Luo D J. Application of haematology parameters for health management in fish farms[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2023, 15(2): 704-737.
- [25] Ayyat M S, Mahmoud H K, El-Aziz Mohamed El-Hais A, *et al.* The role of some feed additives in fish fed on diets contaminated with cadmium[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(30): 23636-23645.
- [26] Murillo-Villicaña M, Noriega-Cisneros R, Peña-Montes D J, *et al.* Antilipidemic and hepatoprotective effects of ethanol extract of *Justicia spicigera* in streptozotocin diabetic rats[J]. *Nutrients*, 2022, 14(9): 1946.
- [27] Lu S S, Yuan YQ, Chen F, *et al.* Holothuria Leucospilota polysaccharides alleviate hyperlipidemia via alteration of lipid metabolism and inflammation-related gene expression[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2022, 46(12): e14392.
- [28] Kang J F, Guo C, Thome R, *et al.* Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of iridoid glycosides extracted from *Corni fructus*: possible involvement of the PI3K-Akt/PKB signaling pathway[J]. *RSC Advances*, 2018, 8(53): 30539-30549.
- [29] Li J, Song D, Zhang B T, *et al.* Hepatoprotective effects of *Heracleum candicans* against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats[J]. *Dose-Response*, 2021, 19(3): 15-19.
- [30] Ighodaro O M, Akinloye O A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid[J]. *Alexandria Journal of Medicine*, 2018, 54(4): 287-293.
- [31] Oakes K D, Van Der Kraak G J. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent[J]. *Aquatic Toxicology*, 2003, 63(4): 447-463.
- [32] Meng Y, Ma R, Ma J, *et al.* Dietary nucleotides improve the growth performance, antioxidative capacity and intestinal morphology of turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(3): 585-593.
- [33] Rohmah M K, Salahdin O D, Gupta R, *et al.* Modulatory role of dietary curcumin and resveratrol on growth performance, serum immunity responses, mucus enzymes activity, antioxidant capacity and serum and mucus biochemicals in the common carp, *Cyprinus carpio* exposed to abamectin[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 129: 221-230.
- [34] 敖秋梳, 罗永巨, 吕敏, 等. 不同罗非鱼品系感染无乳链球菌后对血液和肝胰腺生化指标的影响 [J]. 渔业科学进展, 2020,

- 41(4): 167-173.
- Ao Q W, Luo Y J, Lü M, *et al.* Effects of *Streptococcus agalactiae* infection on blood and hepatopancreatic tissue biochemical indices in different species of tilapia[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(4): 167-173 (in Chinese).
- [35] Tang X H, Tang H M. Cornus iridoid glycoside alleviates sepsis-induced acute lung injury by regulating NF- $\kappa$ B and Nrf2/HO-1 pathways[J]. *Allergologia et Immunopathologia*, 2022, 50(5): 121-128.
- [36] Farag M R, Alagawany M, Khalil S R, *et al.* *Astragalus membranaceus* polysaccharides modulate growth, hemato-biochemical indices, hepatic antioxidants, and expression of *HSP70* and apoptosis-related genes in *Oreochromis niloticus* exposed to sub-lethal thallium toxicity[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021, 118: 251-260.
- [37] Park C, Cha H J, Lee H, *et al.* The regulation of the TLR4/NF- $\kappa$ B and Nrf2/HO-1 signaling pathways is involved in the inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammation and oxidative reactions by morroniside in RAW 264.7 macrophages[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2021, 706: 108926.
- [38] Chu L W, Cheng K I, Chen J Y, *et al.* Logenin prevents chronic constriction injury-provoked neuropathic pain by reducing TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ -mediated NF- $\kappa$ B activation and Schwann cell demyelination[J]. *Phytotherapy*, 2020, 67: 153166.

## Effects of total glycosides of *Cornus officinalis* on antioxidant and immune function of *Cyprinus carpio* induced by CT

ZHU Zhaozeng, LU Ronghua\*, CHEN Mengdi, XU Xinxin, ZHANG Yuru, CAO Xianglin  
College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

**Abstract:** To investigate the effects of *Cornus officinalis* total glycosides on antioxidant properties, immune function, and serum biochemical indices in *Cyprinus carpio* induced by carbon tetrachloride (CT), 135 *C. carpio* with initial body weight of (22.15±1.15) g were randomly divided into five groups. The experimental groups (T1, T2 and T3) were fed diets supplemented with 100 mg/kg, 200 mg/kg, and 300 mg/kg of *C. officinalis* total glycosides, respectively. The control (C) and CT groups were fed an equal volume of normal saline. After 7 days of continuous feeding, CT (5 mL/kg) was administered to the CT and the experimental groups, and samples were collected after 24 h. The morphology of hepatopancreas and kidney tissues, serum biochemical indices, antioxidant and immune related indices were assessed. Results indicated that the CT injection caused significant damage to hepatopancreas and kidney tissues. However, *C. officinalis* total glycosides significantly reduced the activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) ( $P<0.05$ ), and mitigated vacuolization of hepatopancreas cells, nuclear damage, and glomerular swelling. Compared to the CT group, serum levels of triglycerides (TG), total cholesterol (TC), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were significantly decreased in the T3 group ( $P<0.05$ ), indicating an improvement in CT-induced dyslipidemia. Furthermore, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities in the hepatopancreas and kidney and of the T3 group were significantly increased, while malondialdehyde (MDA) content was significantly reduced ( $P<0.05$ ). Acid phosphatase (ACP) activity in the hepatopancreas of the T2 group, and alkaline phosphatase (AKP) and ACP activities in the kidney of the T3 group were significantly up-regulated ( $P<0.05$ ). Gene expression analysis revealed that *C. officinalis* total glycosides up-regulated the expression of antioxidant-related genes (*cat*, *sod*, *gst*, *gpx*) and down-regulated the expression of pro-inflammatory factors *il- $\beta$*  and *nf- $\kappa$ b p65* ( $P<0.05$ ). Over all, these findings demonstrate that oral administration of 200–300 mg/kg *C. officinalis* total glycosides can alleviate CT-induced hepatopancreatic and renal tissue damage by enhancing tissue antioxidant and immune functions.

**Key words:** *Cyprinus carpio*; *Cornus officinalis* total glycosides; carbon tetrachloride (CT); antioxidation; immunity

**Corresponding author:** LU Ronghua. E-mail: laoiyika@aliyun.com

**Funding projects:** Henan Provincial Natural Science Foundation (222300420469)