

解酒口服液对乙醇致急性肝损伤的保护作用

陈东方*, 李立, 王亚东, 徐冰, 王海玉, 张焱, 张聪恪
(河南省疾病预防控制中心毒理室, 郑州 450016)

[摘要] 目的:研究解酒口服液对乙醇所致急性肝损伤的保护作用。方法:取雄性昆明种小鼠 60 只,随机分为 5 组:空白对照组、肝损伤模型对照组、解酒口服液 1.67, 3.33, 10.0 g·kg⁻¹ 剂量组, ig 给药, 每日 1 次, 连续 30 d。实验末用乙醇给小鼠经口 1 次 ig, 造成急性肝损伤模型。用试剂盒检测肝组织中丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)含量, 全自动生化分析仪测定肝组织中甘油三酯(TG)的含量, 病理检测小鼠肝脏组织脂肪改变的程度。结果:解酒口服液 3.33, 10.0 g·kg⁻¹ 剂量组动物的肝脏 GSH 含量分别为(2.84 ± 0.79), (3.28 ± 0.55) mg·g⁻¹, 明显高于模型对照组;解酒口服液 10.0 g·kg⁻¹ 剂量组动物肝脏 MDA, TG 含量分别为(1.12 ± 0.45) μmol·g⁻¹, (62.4 ± 13.1) μmol·g⁻¹, 明显低于模型对照组, 差异有统计学意义(P < 0.05)。解酒口服液 3.33, 10.0 g·kg⁻¹ 剂量组动物的肝脏脂肪改变程度明显低于模型对照组, 差异有统计学意义(P < 0.05)。结论:解酒口服液对乙醇所致肝损伤具有保护功能。

[关键词] 解酒口服液; 酒精性肝损伤; 小鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0199-03

Protective Action of Jiejiu Oral Liquid on Ethanol-induced Liver Injury in Mice

CHEN Dong-fang*, LI Li, WANG Ya-dong, XU Bing, WANG Hai-yu, ZHANG Yan, ZHANG Cong-ke
(Henan Centre for Diseases Prevention and Control, Zhengzhou 450016, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective effect of Jiejiu Oral Liquid on ethanol-induced liver injury. **Method:** Sixty male KM mice were divided into 5 groups randomly: blank control group, model control group with hepatic injury group and three experimental groups (Jiejiu Oral Liquid 1.67, 3.33, 10.0 g·kg⁻¹ respectively). Ethanol was given to mice by oral gavage once in order to make the acute liver injury model at the end of experiment. The content of MDA and GSH in hepatic tissue was detected by kits accordingly. The content of TG in hepatic tissue was detected by automatic biochemistry analyzer and the pathological change of fat in hepatic tissue was determined. **Result:** The content of GSH in 3.33, 10.0 g·kg⁻¹ groups was significantly higher than that of model control group. The content of MDA and TG was obviously decreased in 10.0 g·kg⁻¹ group, compared to that in the hepatic injury model control group (P < 0.05). The pathological change of fat in hepatic tissue in 3.33 and 10.0 g·kg⁻¹ groups was significantly less than that of model control group (P < 0.05). **Conclusion:** Jiejiu Oral Liquid has the function of protecting the liver from ethanol-induced injury.

[Key words] Jiejiu Oral Liquid; ethanol-induced liver injury; mouse

我国是酒产品的消费大国,居民由于过量饮酒致酒精性肝病人数不断上升且呈年轻化趋势。同

时,我国也是一个盛产中草药的国家,据不完全统计,我国生药资源共有 12 000 余种。在众多的中药资源中,能够运用于临床用于治疗酒精性肝病的更加稀少。因此,从这些天然药物中找寻并提取分离出更多具有解酒作用的有效成分,并开发成服用方便的产品是一个亟待解决的问题。葛根为豆科葛属

[收稿日期] 20101122(010)

[通讯作者] * 陈东方, 硕士, 主管医师, 主要从事食品毒理学与保健食品功能研究, E-mail: chen-df@126.com

植物野葛或甘葛藤的干燥根,其味甘辛性凉,其气轻清,升阳解肌,生津除烦止渴,善治酒积,为药食同源植物。芦根为禾本科芦苇的干燥根茎,味甘性寒,能清热生津,除烦止渴,清胃止呕利尿。银杏叶提取物为银杏科植物银杏干燥叶提取物,研究表明银杏叶提取物可通过增加抗氧化物质活性或含量,抑制脂质过氧化反应对酒精性肝损伤有一定保护作用^[1-3]。解酒口服液是由葛根、银杏叶提取物、芦根等为主要原料制成的口服液,本研究用动物实验探讨解酒口服液对乙醇致肝损伤的保护作用,为进一步开发对乙醇性肝损伤有保护作用的药品和保健食品提供实验依据。

1 材料

1.1 样品 解酒口服液由天津凯镛药业公司提供,批号 20100403。解酒口服液由葛根 200 g,银杏叶 150 g,芦根 150 g,陈皮 50 g,乌梅 100 g 分别加 8 倍量水,加热煎煮 2 次,每次 1.5 h,过滤,合并滤液,80 ℃,0.08 MPa 条件下减压浓缩至 1 000 mL,灭菌灌装每支 10 mL。人体推荐量每日 20 mL。折算成人日摄入量为 0.33 g·kg⁻¹。

1.2 动物 昆明雄性小鼠,60 只,体重 18~22 g,SPF 级,河南省实验动物中心提供,合格证号 0000814。实验动物房许可证号 SYXK(豫)2007-0008,屏障环境。

1.3 仪器与试剂 拜耳 ADVIA1200 全自动生化分析仪,日立 KY2000 半自动生化分析仪,IKA T25 组织匀浆机,热电 CryotomeSMZ 全自动冰冻切片机。丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)测试盒由南京建成生物工程研究所提供,批号分别为 20100709 和 20100708;甘油三酯(TG)、总蛋白(TP)试剂盒由上海科华-东菱诊断用品有限公司提供,批号分别为 20100522 和 20100603。

2 方法^[4]

2.1 分组与造模 昆明雄性小鼠随机分为 5 组,每组 12 只。解酒口服液设低、中、高 3 个剂量组,分别为推荐量的 5、10、30 倍,即 1.67、3.33、10.0 g·kg⁻¹,另设一个模型对照组和一个空白对照组。各剂量组 ig 给予受试液,空白对照组、模型对照组 ig 给予蒸馏水,每日 1 次,连续 30 d,ig 体积为 20 mL·kg⁻¹。第 30 d 各剂量组和模型对照组 ig 给予 50% 乙醇(12 mL·kg⁻¹),造成急性肝损伤模型,空白对照组 ig 给予等体积蒸馏水。禁食 16 h 处死动物,

进行各项指标检测及病理组织学检查。

2.2 指标检测及病理学检查

2.2.1 指标检测 取肝脏用生理盐水制成 10% 的肝匀浆,检测肝组织中还原型谷胱甘肽(GSH)和甘油三酯(TG)的含量。另取肝脏用 0.2 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液制成 5% 肝匀浆,检测肝组织中丙二醛(MDA)含量。同时测定匀浆中蛋白质含量。

2.2.2 病理组织学检查 从小鼠肝左叶中部做横切面取材,冰冻切片,苏丹Ⅲ染色。镜检时从肝脏的一端视野开始记录细胞的病理变化,用 40 倍物镜连续观察整个组织切片,观察脂滴在肝脏的分布、范围和面积,并按以下标准进行评分:0 分,肝细胞内脂滴散在、稀少;1 分,含脂滴的肝细胞不超过 1/4;2 分,含脂滴的肝细胞不超过 1/2;3 分,含脂滴的肝细胞不超过 3/4;4 分,肝组织几乎被脂滴代替。

2.3 结果处理 SPSS 11.5 软件进行数据统计分析。模型对照组与空白对照组比较用 *t* 检验;各剂量组与模型对照组比较用方差分析,*P* < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 解酒口服液对动物体重的影响 各剂量组动物体重的初重、中期重、末重与模型对照组比较差异无显著意义,说明在本实验条件下解酒口服液对动物的体重无明显影响。

3.2 解酒口服液对小鼠肝 MDA, GSH, TG 含量影响 模型对照组的 MDA, TG 均高于空白对照组,模型对照组的 GSH 低于空白对照组,差异均有统计学意义(*P* < 0.01),说明肝损伤模型成立。解酒口服液 3.33, 10.0 g·kg⁻¹ 剂量组的 GSH 明显高于模型对照组,10.0 g·kg⁻¹ 剂量组的 MDA, TG 明显低于模型对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),表明解酒口服液具有降低乙醇性损伤的小鼠的肝组织 MDA, TG 含量,升高 GSH 含量的作用。见表 1。

3.3 解酒口服液对小鼠肝组织病理脂肪改变的影响 结果见表 2,模型对照组肝脏脂肪改变的程度高于空白对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.01),表明肝损伤模型成立;解酒口服液 3.33, 10.0 g·kg⁻¹ 剂量组肝脏脂肪改变的程度明显低于模型对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05),表明解酒口服液具有减轻乙醇性肝损伤小鼠肝组织脂肪变性的作用。

4 讨论

急性酒精性肝损伤的机制是大量乙醇一次性进

表1 解酒口服液对小鼠肝MDA,GSH,TG含量影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	GSH/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	TG/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
解酒口服液	1.67	2.32 ± 0.61	2.06 ± 0.55	75.2 ± 14.3
	3.33	2.18 ± 0.80	$2.84 \pm 0.79^{2)}$	68.8 ± 10.7
	10.0	$1.12 \pm 0.45^{1)}$	$3.28 \pm 0.55^{2)}$	$62.4 \pm 13.1^{2)}$
模型对照	-	2.62 ± 0.71	1.90 ± 0.57	78.3 ± 11.8
空白对照	-	$0.70 \pm 0.29^{2)}$	$3.97 \pm 0.90^{2)}$	$61.8 \pm 6.6^{2)}$

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表2同)。

表2 解酒口服液对小鼠肝组织病理脂肪改变的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	各级病变动物数/只					病理积分
		0分	1分	2分	3分	4分	
解酒口服液	1.67	0	0	0	3	9	3.75 ± 0.45
	3.33	0	1	1	5	5	$3.17 \pm 0.94^{1)}$
	10.0	0	1	2	8	1	$2.75 \pm 0.75^{2)}$
模型对照	-	0	0	0	1	11	3.92 ± 0.29
空白对照	-	10	2	0	0	0	$0.17 \pm 0.39^{2)}$

入机体后,在乙醇脱氢酶的催化下大量脱氢氧化为乙醛和乙酸盐,使三羧酸循环障碍和脂肪酸氧化减弱而影响脂肪代谢。乙醇可导致一磷酸甘油增多而促进甘油三酯(TG)合成,致使脂肪在肝细胞内沉积,同时激活氧分子,产生大量氧自由基致肝细胞膜的脂质过氧化及体内还原型谷胱甘肽(GSH)的耗竭^[5]。乙醇代谢产物乙醛能直接与GSH结合^[6],消耗肝细胞中的GSH,使肝组织中的GSH进一步下降,以致不足以清除自由基,抗氧化能力减弱,MDA含量升高。本实验中,乙醇急性肝损伤组MDA,TG含量明显升高,GSH含量降低,表明乙醇引起肝损伤的机制与脂质过氧化有关。

本研究观察到解酒口服液3.33,10.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组动物的肝脏GSH明显高于模型对照组,10.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组的MDA,TG明显低于模型对照组,表明解酒口服液具有降低乙醇性损伤的小鼠的肝组织MDA、TG含量,升高GSH含量的作用。3.33,10.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组动物的肝脏脂肪改变的程度明显低于模型对照组,表明解酒口服液具有减轻乙醇性肝损伤的小鼠肝组织脂肪变性的作用,实验结果提示解酒口服液具有保护小鼠乙醇性肝损伤的作用。研究发现,葛根、银杏叶提取物、芦根可清除氧自由基,增强抗氧化物质活性,对乙醇等化学物质引起的肝损伤有一定保护作用^[1-2,7]。解酒口服液原料中各组分之间在清除自由基和抗脂质过氧化作用

上是否有协同作用及对乙醇引起的肝损伤保护作用的具体作用机制,有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 罗丽华,王若永,齐颖,等.葛根制剂对小鼠乙醇性肝损伤的保护作用研究[J].解放军药学学报,2005,21(5):365.
- [2] 张国升,凡明月,彭代银,等.芦根多糖对四氯化碳小鼠肝损伤的保护作用[J].中国药理学通报,2002,3(6):354.
- [3] 宋方方,姚平,周绍良,等.银杏叶提取物预防大鼠酒精性肝损伤的机制研究[J].营养学报,2005,27(2):122.
- [4] 卫生部卫生监督司.保健食品检验与评价技术规范[S].2003:133.
- [5] 赵敏,池莉平,王凤岩,等.小鼠急性酒精性肝损伤模型的建立及应用[J].华南预防医学,2005,31(1):14.
- [6] 童英,姚小曼,吴少平,等.乙醇诱发急性肝损伤生物标记物的探讨[J].中国食品卫生杂志,1999,11(2):12.
- [7] 郝云龙,闻勤生,江军,等.银杏叶提取物对大鼠酒精性肝损伤的保护作用[J].武警医学,2004,15(2):108.

[责任编辑 聂淑琴]