

芦荟白酒毒性评价及对酒精性肝损伤小鼠的保护作用研究

王丽娟¹, 仇菊², 李再贵¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

(2. 中国农业科学院农业部食品与营养发展研究所, 北京 100081)

摘要: 研究芦荟白酒的急性和亚慢性毒性及其对酒精性肝损伤小鼠的保护作用。采用一次性经口急性毒性试验比较了芦荟白酒和基酒的安全性差异; 通过建立酒精性肝损伤模型, 测定小鼠血清、肝脏生化指标和观察肝组织病理学变化, 考察了芦荟白酒对酒精性肝损伤小鼠的保护作用。芦荟白酒的半数致死量(LD₅₀)及其95%, 99%平均可信限均比基酒大, 表明芦荟白酒比基酒安全, 急性毒性小; 与基酒相比, 芦荟白酒能显著降低血清中的谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)水平, 提高肝组织超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)水平, 降低肝脏AST、ALT及丙二醛(MDA)含量。低、中剂量效果最佳。肝组织病理学检测结果证明, 适量的芦荟白酒对酒精性肝损伤小鼠有保护作用, 其作用机理与抑制机体脂质过氧化、增强肝脏抗氧化能力有关。

关键词: 芦荟白酒; 毒性; 抗氧化; 护肝

文章编号: 1673-9078(2016)6-281-287

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.6.043

Evaluating Toxicity and Protective Effects of Aloe Liquor in Mice with Alcohol-induced Liver Injury

WANG Li-juan¹, QIU Ju², LI Zai-gui¹

(1. College of Food Science Nutritional & Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China) (2. Institute of Food and Nutrition Development, Ministry of Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The acute and sub-chronic toxicity and hepatoprotective activity of aloe liquor was studied in mice with alcohol-induced liver injury. The difference between health risks of aloe liquor and base liquor were evaluated by a one-time acute oral toxicity test. A mouse model of alcohol-induced liver injury was established to measure serum and liver biochemical indices, observe histopathological changes in the liver, and determine the hepatoprotective effect of aloe liquor on mice with alcohol-induced liver injury. Both the median lethal dose (LD₅₀) and 95% (or 99%) confidence interval of aloe liquor were higher than the values of base liquor, indicating that the former is safer and has a low level of toxicity. Compared with base liquor, aloe liquor could significantly reduce the levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol (TC), and total triglyceride (TG), while increase superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), and glutathione peroxidase (GSH-PX) activities, and reduce the contents of AST, ALT, and malondialdehyde (MDA) in liver tissue. The optimal efficacy for alleviating liver injury were seen in mice treated with low- and medium-dose aloe liquor. The liver histological observations demonstrated that optimal amounts of aloe liquor exhibited hepatoprotective effects in mice with alcohol-induced liver injury, and the protective mechanism is related to the inhibition of lipid peroxidation and enhancement of liver antioxidant capacity.

Key words: aloe liquor; toxicity; antioxidant; hepatoprotective

白酒是我国有悠久历史的传统消费品。饮酒是商

收稿日期: 2015-08-08

基金项目: 现代农业产业技术体系资助项目(CARS-08-D-3)

作者简介: 王丽娟(1988-), 女, 硕士, 研究方向: 现代谷物加工理论与技术; 仇菊(1984-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 功能食品

通讯作者: 李再贵(1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 谷物科学与利用

务洽谈、人际交往、情感交流等社会活动中不可避免的一种消费行为^[1-2]。但是长期或大量饮酒, 乙醇及其代谢的有毒物质会对肝脏、胃肠道等造成一定的损伤^[3-4]。酒精性肝损伤最初表现为肝细胞脂肪变性, 进而发展成脂肪肝、肝炎、肝纤维化和肝硬化, 严重的会导致肝细胞坏死甚至肝癌。酒精性肝损伤的发病机制

十分复杂,氧化应激和自由基的产生被认为是最重要的原因^[5-6]。

随着经济的飞速发展,居民生活品质、消费水平以及健康意识的提高,越来越多的人在日常生活中更多的关注过量饮酒对身体的伤害。希望适量饮酒能有益健康,这是酒的发展方向^[7]。

芦荟中含有多糖、多酚、氨基酸、维生素、酶等多种功效成分,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎抑菌、增强免疫力及预防胃粘膜和肝脏损伤等多种生理功能^[8-12]。Yu等^[13]研究表明,芦荟多糖能有效增强机体免疫力和抑制氧化损伤。Beatrice等^[14]指出芦荟大黄素能抑制脂质过氧化,对肝细胞有保护作用。芦荟作为一种具有较高经济价值、药用价值和食用价值的植物资源,被广泛应用于医药、保健、美容、食品等行业。

目前最常见的药物治疗酒精性肝损伤,主要是通过解酒降脂、增强抗氧化和清除自由基能力等。然而,解酒药物在肝脏中代谢,有可能进一步加重肝脏的负担。在美国,尚没有FDA认可的能有效治疗酒精性肝损伤的药物。

采用蒸馏白酒浸提芦荟叶肉凝胶制成芦荟白酒,既保留了传统白酒的风味特征,又可利用芦荟的功能减轻酒精对人体的损伤。本研究通过一次性经口急性毒性试验和亚慢性酒精性肝损伤动物试验,研究了芦荟白酒的毒性、对酒精性肝损伤小鼠的保护作用及可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

表1 芦荟白酒主要营养与功能成分表

Table 1 Functional ingredients in aloe liquor

成分	含量/($\mu\text{g}/\text{mL}$)
芦荟多糖	523.24 \pm 14.95
芦荟多酚	4.67 \pm 0.10
维生素C	42.2 \pm 5.1
脯氨酸	24.1 \pm 1.1
蛋氨酸	39.3 \pm 1.7
芦荟大黄素	未检出
芦荟甙	未检出

69%vol基酒(未添加芦荟的浓香型蒸馏白酒,试验前稀释到38%vol)、38%vol芦荟白酒(以库拉索芦荟为原料,基酒浸泡萃取芦荟而成),由北京八达岭酒业有限公司提供。根据前期的研究结果,芦荟白酒主要成分如表1所示。MDA、SOD、GSH、GSH-PX、ALT、AST等试剂盒,南京建成生物工程研究所;还

原型谷胱甘肽片,重庆药友制药有限责任公司;所有试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

Cintra6紫外分光光度仪,澳大利亚科学仪器设备有限公司;TLL-C台式冷冻高速离心机,北京四环科学仪器厂有限公司;DKB 510A超级恒温水槽,上海精宏实验设备有限公司;LD42A离心机,北京医用离心机厂;T203天平,北京赛多利斯仪器系列有限公司;AY220岛津托盘电子分析天平,岛津(香港)有限公司;PHS 25型pH计,上海精科雷磁公司;QL-861涡旋振荡器,其林贝尔仪器公司;AU400全自动生化分析仪,日本Olympus公司。

1.3 试验动物

昆明种雄性小鼠由西安交通大学医学院提供。合格证号:SCXK(陕)2012-003,体重(22.0 \pm 2.0)g。动物房温度为23 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为60%~70%,光照黑暗每12h更替。试验动物于试验前在动物房适应1周,塑料笼饲养,每周更换垫料2次,自由摄食饮水。

1.4 试验方法

1.4.1 急性毒性试验

采用寇氏法^[15-16]对基酒和芦荟白酒的急性毒性进行评价,测定LD50。试验方法具体如下:

预试验:在正式试验之前,首先进行基酒和芦荟白酒的最大耐受量试验,求得动物全部死亡或90%以上死亡的剂量和动物不死亡或10%以下死亡的剂量,分别作为正式试验的最高、最低剂量。经试验确定基酒的LD0和LD100分别为16.03 mL/kg和35.90 mL/kg;芦荟白酒的LD0和LD100分别为16.03 mL/kg和32.00 mL/kg。

正式试验:150只昆明种雄性小鼠适应性喂养1周,体重22.0 \pm 2.0克。将150只小鼠随机分组,第一大组(基酒组)分为8个组,每组10只,灌胃给予38%基酒(由预实验得出的最高、最低剂量换算为常用对数,然后将最高、最低剂量的对数差,分为8个对数等距的剂量组);第二大组(芦荟白酒组)分为7个组,每组10只,灌胃给予38%芦荟白酒。灌胃前禁食不禁水12h,灌胃后正常饮食,饲养一周。观察小鼠活动、饮食、毛发和大小便及死亡情况。试验第8天处死小鼠,解剖观察主要脏器的变化。统计每组小鼠7天内死亡只数,并按下述公式计算其结果:

按寇氏法公式计算LD50:

$$LD50 = \log^{-1} [X_m - i(\sum P - 0.5)]$$

LogLD50 的标准误计算公式:

$$S_{x_{50}} = i \times \sqrt{\frac{\sum P - \sum P^2}{n-1}}$$

LD50 的 95% 平均可信限:

$$L_{95} = LD_{50} \pm 4.5 \times LD_{50} \times i \times \sqrt{\frac{\sum P - \sum P^2}{n-1}}$$

LD50 的 99% 平均可信限:

$$L_{99} = LD_{50} \pm 5.9 \times LD_{50} \times i \times \sqrt{\frac{\sum P - \sum P^2}{n-1}}$$

公式中: X_m 代表最大剂量对数值; P 代表动物死亡率; $\sum P$ 代表各组死亡率的总和; i 代表相邻两组剂量比值的对数值。

1.4.2 亚慢性毒性试验

60 只清洁级雄性昆明小鼠 (体重为 22.0 ± 2.0 g), 适应性饲养一周后, 随机分成 6 组, 每组 10 只。小鼠的分组和饲养情况如表 2 所示。每天早晨灌胃, 连续灌胃四周后, 各组小鼠禁食 12 h, 摘眼球取血, 然后迅速处死, 取出肝脏。将取得的血浆在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 、3500

r/min 条件下, 冷冻离心 15 min, 取上清液, 采用全自动生化分析仪检测小鼠血清生化指标, 包括谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、胆固醇 (TC) 和甘油三脂 (TG)。

小鼠肝脏生化指标的检测包括 ALT、AST、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX)。准确称量 0.1 g 肝组织, 放入匀浆器中, 用小剪刀剪碎, 然后加入 0.9 mL 的生理盐水, 置于冰浴中匀浆, 然后在 3000 r/min 下离心 15 min, 制备 10% 肝组织匀浆液后用分光光度计测定。

肝脏病理学观察采用 H&E 染色法。将新鲜肝组织用 10% 中性福尔马林缓冲液固定。然后流水冲洗、梯度酒精脱水、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、水化和染色等处理后采用光学显微镜和成像系统进行肝脏病理变化观察。

表 2 试验动物的分组和饲养

Table 2 Grouping and diet formula of experimental animals

组别	饲养食谱
正常对照组 (NC)	基础饲料+生理盐水[12.0 mL/(kg bw)]
阳性对照组 (RG)	基础饲料+5% GSH[溶于基酒, 12.0 mL/(kg bw)]
模型对照组(BL)	基础饲料+38% vol 基酒[12.0 mL/(kg bw)]
芦荟白酒低剂量组 (LAL)	基础饲料+38% vol 芦荟白酒[4.0 mL/(kg bw)]
芦荟白酒中剂量组 (MAL)	基础饲料+38% vol 芦荟白酒[8.0 mL/(kg bw)]
芦荟白酒高剂量组 (HAL)	基础饲料+38% vol 芦荟白酒[12.0 mL/(kg bw)]

注: 除正常对照组外, 其余各组统称为饮酒组; 芦荟白酒低、中、高三个剂量组统一称为芦荟白酒组。

1.5 数据分析

试验数据用均值±标准误差 (Mean ±SD) 来表示。采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析处理, 用单因素方差分析 ANOVA, 以 Duncans 多重比较检验分析, 不同小写字母表示 $p < 0.05$ 具有显著性差异。

2.1 急性毒性试验

试验中所有受试小鼠毛色光洁, 饮食和大小便正常, 鼻, 眼, 口腔无异常分泌物。各剂量组小鼠灌胃后均出现先兴奋后抑制现象。试验结束时, 解剖观察芦荟白酒组小鼠心、肝、脾、肺、肾等主要器官, 与基酒组差异不明显。

2 结果与讨论

表 3 芦荟白酒的急性毒性试验 LD50 测定结果

Table 3 LD50 of aloee liquor as determined by acute toxicity test

组别	剂量 D/(mL/kg)	logD	动物数	死亡数/只	死亡率/%	P	P ²	LD50/(mL/kg)
1	16.03	1.205	10	0	0	0	0	
2	18.00	1.255	10	1	10	0.1	0.01	
3	20.19	1.305	10	4	40	0.4	0.16	
4	22.65	1.355	10	3	30	0.3	0.09	24.54
5	25.42	1.405	10	2	20	0.2	0.04	
6	28.52	1.455	10	8	80	0.8	0.64	
7	32.00	1.505	10	10	100	1.0	1.00	

芦荟白酒和基酒的急性毒性试验结果如表 3 和 4 所示。芦荟白酒的 LD50 为 24.54 mL/kg, 标准误 SlogLD50=0.015。LD50 的 95% 和 99% 平均可信限分别为 22.88~26.20 mL/kg、22.37~26.71 mL/kg。基酒的 LD50 为 22.90 mL/kg, 标准误 SlogLD50=0.016。LD50

的 95% 和 99% 平均可信限分别为 21.25~24.55 mL/kg、20.73~25.06 mL/kg。通过比较发现芦荟白酒的半数致死量 LD50 大于基酒, 芦荟白酒 LD50 的 95%, 99% 平均可信限均比基酒大。表明芦荟白酒比基酒安全, 急性毒性小。

表 4 基酒的急性毒性试验 LD50 测定结果

Table 4 LD50 of base liquor as determined by acute toxicity test

组别	剂量 D(mL/kg)	logD	动物数	死亡数/只	死亡率/%	P	P ²	LD50/(mL/kg)
1	16.03	1.205	10	0	0	0	0	
2	18.00	1.255	10	2	20	0.2	0.04	
3	20.19	1.305	10	3	30	0.3	0.09	
4	22.65	1.355	10	4	40	0.4	0.16	22.90
5	25.42	1.405	10	7	70	0.7	0.49	
6	28.52	1.455	10	9	90	0.9	0.81	
7	32.00	1.505	10	9	90	0.9	0.81	
8	35.90	1.555	10	10	100	1.0	1.00	

2.2 亚慢性毒性试验

2.2.1 芦荟白酒对肝损伤小鼠血清 ALT、AST、TC 和 TG 的影响

芦荟白酒对肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 的影响如图 1A-B 所示。ALT 和 AST 是临床上常用的判断肝功能的指标, 主要反映肝细胞有无受损及严重程度。当肝细胞受损时, 肝细胞内的 ALT、AST 进入血液中, 导致血清 ALT、AST 酶活性升高^[17]。因此, 血清 ALT 和 AST 活性用来评价早期酒精性肝损伤程度。试验结束时, 经检测 NC 组小鼠血清 ALT 水平为 46.24±5.99 U/L, AST 水平为 147.40±3.51 U/L。与 NC 组相比, 经酒精处理的各组小鼠血清 ALT 和 AST 活性均有所升高。RG 组、BL 组、LAL 组、MAL 组、HAL 组的小鼠血清 ALT 水平分别上升了 11.07%、53.72%、24.48%、23.81%、43.43%。AST 水平分别上升了 15.93%、49.13%、19.88%、25.57%、29.04%。说明长期大量饮酒导致小鼠一定程度的肝损伤。RG 组和芦荟白酒各剂量组小鼠血清 ALT 和 AST 水平较 BL 组显著降低 ($p<0.05$), 说明添加到酒精中的谷胱甘肽和芦荟能够缓解酒精对小鼠的毒害作用。芦荟白酒各组 ALT 和 AST 水平均高于 RG 组, 表明 GSH 对肝损伤的保护作用优于芦荟。而芦荟白酒剂量与 ALT (AST) 水平并不成量效关系。

乙醇对脂质代谢的影响非常复杂, 而乙醇消耗量与血液甘油三酯水平、高密度脂蛋白胆固醇的提高相关。乙醇摄入导致血清胆固醇的升高和肝胆固醇的增加。虽然肝脏脂质堆积过多是影响酒精性脂肪肝病代谢异常的重要原因, 但其具体机制仍不清楚^[18]。小

鼠的血清胆固醇 TC 和甘油三酯 TG 水平如图 1C-D 所示。除 RG 组外, 饮酒后各组小鼠胆固醇和甘油三酯含量均显著高于 NC 组 ($p<0.05$), 表明长期的酒精摄入引起了肝脏脂质代谢异常。BL 组小鼠血清的 TC (TG) 含量为 4.34±0.64 mmol/L (2.25±0.45 mmol/L), 而芦荟白酒低、中、高剂量组 TC 和 TG 含量与 BL 组比较分别降低了 13.09%、13.63%、10.92%及 21.71%、24.38%、18.00%。表明芦荟白酒可以调节脂质代谢, 对酒精性肝损伤小鼠具有较好的保护作用。

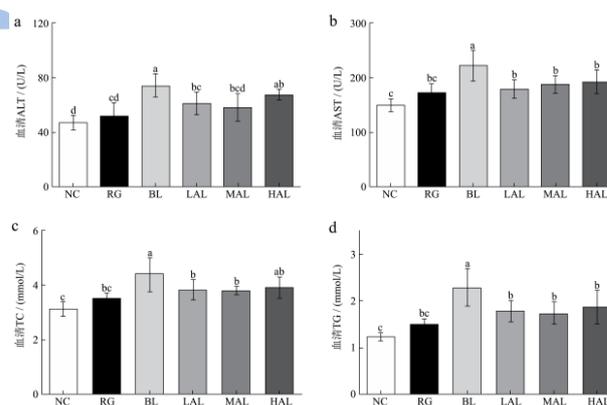


图 1 芦荟白酒对肝损伤小鼠血清 ALT、AST、TC 和 TG 的影响

Fig.1 Effects of aloe liquor on serum ALT, AST, TC, and TG levels in mice with alcohol-induced liver injury

注: a: 血清 ALT; b: 血清 AST; c: 血清胆固醇 TC; d: 血清甘油三酯 TG; 图中 NC 为正常对照组; RG 为阳性对照组; BL 为模型对照组; LAL 为芦荟白酒低剂量组; MAL 为芦荟白酒中剂量组; HAL 为芦荟白酒高剂量组。任意两组之间比较, 不同小写字母表示 $P<0.05$ 差异显著。

2.2.2 芦荟白酒对肝损伤小鼠肝脏 ALT、AST、SOD、MDA、GSH 和 GSH-PX 的影响

与血清中 ALT 和 AST 酶活性变化相似, 六组小鼠肝组织 ALT、AST 水平如图 2A-B 所示。与 NC 组相比, BL 组中 ALT 升高了 33.67% ($p < 0.05$), AST 升高了 55.01% ($p < 0.05$), 说明长期大量饮酒可以对肝脏产生毒害作用。与 BL 组相比, RG 组和芦荟白酒各剂量组小鼠肝脏中 ALT、AST 水平显著降低 ($p < 0.05$), 表明 GSH 和芦荟都对小鼠起到一定程度的保护作用。RG 组 ALT、AST 活性低于芦荟白酒各剂量组, 说明谷胱甘肽缓解肝损伤效果优于芦荟。芦荟白酒各剂量组 ALT 的趋势为 MAL < LAL < HAL, AST 的趋势为 LAL < MAL < HAL, 表明芦荟白酒对小鼠肝损伤的保护作用不呈剂量依赖关系。

超氧化物歧化酶 SOD 的活性代表了抗氧化物质保护细胞免受损伤的能力。SOD 酶活力越小, 细胞越容易受损伤。MDA 作为一个与 SOD 相对的指标, 其在肝脏中的含量主要反映体内脂质过氧化的程度。MDA 值越高, 表示体内脂质氧化程度越高。有研究表明, 乙醇的摄入会导致 SOD 酶活性的降低以及 MDA 含量的升高^[17-18]。芦荟白酒对小鼠肝组织 SOD、MDA 的影响如图 2C-D 所示。与 NC 组相比, 饮酒后各组小鼠的肝脏 SOD 活性均显著降低 ($p < 0.05$), 说明长期大量饮酒导致肝脏的抗氧化能力下降, 其中 BL 组 SOD 活性下降幅度最大, 达 41.01%。与 BL 组相比, RG 组、LAL 组、MAL 组、HAL 组的 SOD 活性分别提高了 41.84% ($p < 0.05$), 27.60% ($p < 0.05$), 30.66% ($p < 0.05$), 18.67% ($p > 0.05$), 表明 GSH 和芦荟白酒能够提高肝脏的抗氧化能力, 缓解酒精导致的肝损伤。与 LAL 组和 HAL 组相比, 中等剂量的芦荟白酒对 SOD 的提升效果最明显。试验结束时, NC 组小鼠的肝脏 MDA 含量为 2.17 ± 0.34 nmol/mg prot。与 NC 组相比, 饮酒各组 MDA 含量均显著升高 ($p < 0.05$), BL 组、RG 组、LAL 组、MAL 组、HAL 组的 MDA 含量分别升高 18.42%、59.43%、24.99%、22.43%、29.26%, 表明长期大量饮酒加重了小鼠体内脂质过氧化。与 BL 组相比, RG 组、LAL 组、MAL 组、HAL 组的 MDA 含量分别降低了 25.72%、21.60%、23.20%、18.92%, 表明 GSH 和芦荟白酒能保护酒精引起的肝损伤, 其作用可能与抑制机体脂质过氧化有关。MDA 在芦荟白酒各剂量组的趋势为 MAL (2.66 ± 0.16 nmol/mg prot) < LAL (2.72 ± 0.42 nmol/mg prot) < HAL (2.81 ± 0.75 nmol/mg prot), 表明芦荟白酒对酒精性肝损伤的保护效果不呈剂量依赖关系。

GSH 是一种低分子自由基清除剂, 它可以清除 O_2^- 、 H_2O_2 、LOOH (脂质过氧化物)。GSH-PX 是机体内广泛存在的一种重要的催化 H_2O_2 分解的酶, 二

者含量是衡量机体抗氧化能力大小的重要指标^[19]。芦荟白酒对肝损伤小鼠肝组织 GSH 和 GSH-PX 的影响如图 2E-F 所示。与 NC 组相比, BL 组小鼠肝组织 GSH 和 GSH-PX 水平显著降低 ($p < 0.05$), 表明饮酒可以引起机体的抗氧化能力下降, 导致氧化损伤。与 BL 组相比, 芦荟白酒组的 GSH 水平和 GSH-PX 活性得到显著提升 ($p < 0.05$), 表明芦荟白酒对酒精性肝损伤小鼠起到一定程度的保护作用, 其作用机理可能与芦荟保护肝脏抗氧化系统, 提升机体抗氧化能力有关。GSH 含量和 GSH-PX 活性在芦荟白酒组的趋势均为 MAL > LAL > HAL, 表明芦荟白酒对酒精性肝损伤小鼠的保护作用不呈剂量依赖关系。

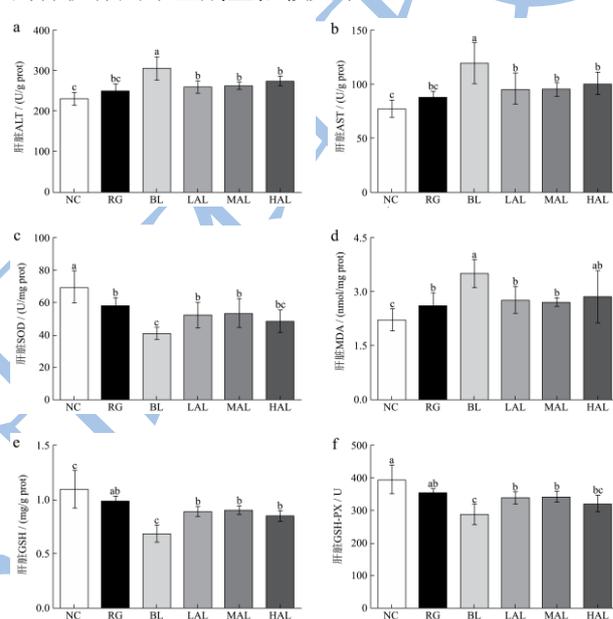


图 2 芦荟白酒对肝损伤小鼠肝脏 ALT、AST、SOD、MDA、GSH 和 GSH-PX 的影响

Fig.2 Effects of aloe liquor on liver ALT, AST, SOD, MDA, GSH, and GSH-PX levels in mice with alcohol-induced liver injury

注: A: 肝脏ALT; B: 肝脏AST; C: 肝脏SOD; D: 肝脏MDA; E: 肝脏GSH; F: 肝脏GSH-PX。图中NC代表正常对照组; RG为阳性对照组; BL为模型对照组; LAL为芦荟白酒低剂量组; MAL为芦荟白酒中剂量组; HAL为芦荟白酒高剂量组。任意两组之间比较, 不同小写字母表示 $p < 0.05$ 差异显著。

酒精性肝损伤的发病机制十分复杂, 主要影响因素除自由基、内毒素和细胞因子等外, 还涉及到酒精及其代谢产物对肝脏的直接和间接作用, 另外也与个体差异、遗传因素和营养水平等密切相关^[20]。不过, 氧化应激和自由基的产生被认为是酒精性肝损伤最重要的发病机制之一。

长期摄入酒精后, 与正常对照组相比, 小鼠血清 ALT、AST、TC、TG 和肝脏 ALT、AST、MDA 显

著升高 ($p<0.05$), 肝脏 GSH、SOD、GSH-PX 显著降低 ($p<0.05$)。然而芦荟白酒组与基酒组相比, 小鼠肝脏 ALT、AST、MDA 和血清 ALT、AST、TC、TG 明显下降, 同时观察到肝脏 GSH、SOD、GSH-PX 活性均呈现不同程度的提高。表明酒精的摄入 (无论是基酒还是芦荟白酒) 都引起了肝脏的损伤, 而芦荟对酒精性肝损伤起到了一定程度的减缓作用。这种作用与芦荟白酒中所含有的多种抗氧化活性成分密不可分。抗氧化成分能够抑制脂质过氧化、保护机体抗氧化系统、提升机体抗氧化能力。经检测, 芦荟白酒中富含多糖, 多酚, 维生素 C, 氨基酸等多种活性成分, 且芦荟白酒确实对羟基自由基、超氧阴离子自由基有较好的清除作用^[21]。当具有良好抗氧化能力的芦荟添加到基酒中后, 可以对肝脏起到一定的保护作用。Ray^[22]等人证明芦荟及芦荟提取物具有一定的抗氧化潜力, 且不同季节芦荟多糖和多酚的含量以及在芦荟体内的不同分布对抗氧化能力有较大的影响。Wu^[23]等人证实从芦荟中分离出来的功能性多糖成分 APS-1 具有良好的抗氧化性能和对 PC12 细胞的保护作用。

芦荟白酒各剂量组血清 ALT、TC、TG 和肝脏 ALT、MDA、SOD、GSH、GSH-PX 水平趋势表明, 中等剂量的芦荟白酒对酒精性肝损伤的缓解作用较强。然而小鼠血清和肝脏 AST 水平则展现出低剂量的芦荟白酒肝脏的保护效果比中剂量和高剂量的效果好。说明芦荟白酒在缓解小鼠酒精性肝损伤方面剂量依赖性不强。芦荟白酒对肝脏的作用主要受芦荟白酒中酒精成分与多糖、多酚等抗氧化活性成分的共同影响。酒精本身会对肝脏有一定程度的损伤, 而芦荟多糖、多酚等抗氧化物质又有护肝的作用。因此, 本研究表明芦荟白酒在一定程度上具有保护酒精肝损伤的作用, 但仍需适量饮用。

2.2.3 芦荟白酒对小鼠肝脏组织形态的影响

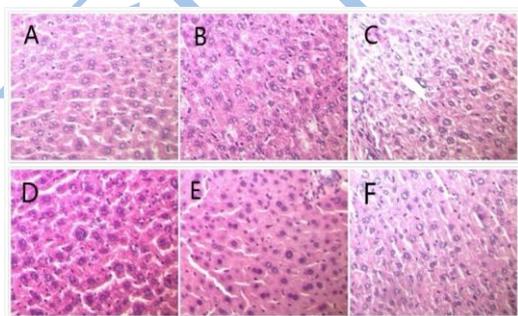


图3 六组小鼠经 HE 染色的肝组织切片图 ($\times 400$)

Fig.3 Representative H&E-stained hepatic sections from experimental mice. (Original magnification, 400 \times)

注: 图A为正常对照组; 图B为阳性对照组; 图C为模型对照组; 图D为芦荟白酒低剂量组; 图E为芦荟白酒中剂量组; 图

F为芦荟白酒高剂量组

芦荟白酒对酒精性肝损伤小鼠的肝脏组织形态的影响如图3所示。正常对照组(图3A)的肝脏组织, 细胞大小均一, 排列整齐, 不存在炎症反应。饮酒后各组肝脏均出现程度不同的炎症反应。模型对照组的肝脏组织存在较为严重的炎症反应, 细胞排列无规则, 大小不一, 存在较严重的细胞肿胀, 有些细胞核出现破裂, 说明基酒对肝脏的损伤较大(图3C)。阳性对照组存在轻微的炎症反应, 细胞排列较整齐, 说明保肝药 GSH 对酒精所致的肝损伤有很好的保护作用(图3B)。芦荟白酒组(图3D-F)中炎症反应程度均低于模型对照组, 且低、中剂量芦荟白酒组(图3D-E)肝脏组织炎症反应较轻, 细胞排列较整齐, 说明芦荟白酒对酒精性肝损伤具有一定的保护作用。肝脏组织图的病理形态与小鼠血清和肝脏生化指标研究结论一致。

3 结论

本文研究了芦荟白酒毒性及其对酒精性肝损伤小鼠的保护作用。试验结果表明, 芦荟白酒的半数致死量(LD₅₀)及其95%, 99%平均可信限均比基酒大, 表明芦荟白酒比基酒安全, 急性毒性小。与基酒相比, 芦荟白酒可以显著降低血清中的 ALT、AST、TC、TG 水平, 提高肝细胞 GSH 含量, 增强 SOD、GSH-PX 酶活性, 降低肝组织 ALT、AST 和 MDA 水平, 表明芦荟白酒对酒精性肝损伤的保护作用机制与抑制脂质过氧化, 提高肝脏抗氧化酶和非酶抗氧化能力密切相关。但芦荟白酒对酒精性肝损伤的保护效果不呈剂量依赖关系, 且低、中剂量芦荟白酒对肝损伤的缓解优于高剂量, 表明芦荟白酒虽然能够缓解酒精所致的肝损伤, 但仍需适量饮用。此外, 肝脏组织病理学分析结果同样证明了芦荟白酒对酒精性肝损伤小鼠具有保护作用。

参考文献

- [1] 曾祖训. 试论中国白酒的消费[J]. 酿酒, 2008, 35(1): 4-5
ZENG Zu-xun. Talk about the Consumption of Chinese Liquor [J]. Liquor Making, 2008, 35(1): 4-5
- [2] 向鑫. 基于中国传统文化价值观的白酒品类消费动机研究[D]. 湖南: 中南大学, 2008
XIANG Xin. Study of Chinese traditional value and the consumption motivation of distilled spirit [D]. Hunan: Central South University, 2008
- [3] 贺伟, 郭伶伶, 张祎, 等. 饮酒的危害与中药解酒之功效[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(4): 50-52

- HE Wei, GUO Ling-ling, ZHANG Yi, et al. Damage of drinking and anti-alcohol effect of Chinese traditional medicine [J]. Journal of Liaoning University of TCM, 2012, 14(4): 50-52
- [4] 马金立,刘玉环,阮榕生,等.酒类与人体健康关系的生理生化研究进展[J].中国酿造,2012,31(1):4-8
- MA Jin-li, LIU Yu-huan, RUAN Rong-sheng, et al. Research progress of physiology and biochemistry of alcoholic beverage on human health [J]. China Brewing, 2012, 31(1): 4-8
- [5] Artele G, Marsano L, Mendez C, et al. Advances in alcoholic liver disease [J]. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 2003, 17: 625-647
- [6] Albano E. Oxidative mechanisms in the pathogenesis of alcoholic liver disease [J]. Molecular Aspects of Medicine, 2008, 29: 9-16
- [7] 刘洋,刘涛.中国特色营养保健酒发展的思考[J].酿酒,2010,37(5):89-90
- LIU Yang, LIU Tao. Consideration about the development of nutrition and health liquor with Chinese characteristics [J]. Liquor Making, 2010, 37(5): 89-90
- [8] Choi S, Chung MH. A review on the relationship between Aloe vera components and their biologic effects [J]. Seminars in Integrative Medicine, 2003, 1: 53-62
- [9] Krokida M, Pappa A, Agaloti M. Effect of drying on Aloe's functional components [J]. Procedia Food Science, 2011, 1: 1523-1527
- [10] Ray A, Gupta SD, Ghosh S. Evaluation of anti-oxidative activity and UV absorption potential of the extracts of Aloe vera L. gel from different growth periods of plants [J]. Industrial Crops and Products, 2013, 49: 712-719
- [11] Rodriguez ER, Martin JD, Romero CD. Aloe vera as a functional ingredient in foods [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2010, 50: 305-326
- [12] Rodríguez-González VM, Femenia A, González-Laredo RF, et al. Effects of pasteurization on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from Aloe barbadensis Miller [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86: 1675-1683
- [13] Yu ZH, Che J, Ma X, He JM. Effect of Aloe vera polysaccharides on immunity and antioxidant activities in oral ulcer animal models [J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 75(2): 307-311
- [14] Beatrice A, Nicoletta G, Lorena MPF, et al. Aloe-Emodin Quinone pretreatment reduces acute liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Pharmacology and Toxicology, 2000, 87: 229-233
- [15] GB15193.1-2003,食品安全性毒理学评价程序[S]
- GB15193.1-2003, Procedures for Toxicological Assessment of Food [S]
- [16] Xiang F, Peng LC, Yin ZQ, et al. Acute and subchronic toxicity as well as evaluation of safety pharmacology of Gallachinensis solution [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 162: 181-190
- [17] Wang H, Feng F, Zhuang BY, Sun Y. Evaluation of hepatoprotective effect of Zhi-Zi-Da-Huang decoction and its two fractions against acute alcohol-induced liver injury in rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 126(2): 273-279
- [18] Zhang F, Zhang JL, Li Y. Corn oligopeptides protect against early alcoholic liver injury in rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(6): 2149-2154
- [19] Das SK, Vasudevan DM. Alcohol-induced oxidative stress [J]. Life Sciences, 2007, 81(3): 177-187
- [20] Bataller R, Rombouts K, Altamirano J, Marra F. Fibrosis in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis [J]. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 2011, 25: 231-244
- [21] 王丽娟,李再贵.芦荟白酒的功能性成分及体外抗氧化性研究[J].中国酿造,2014,33(3):57-61
- WANG Li-juan, LI Zai-gui. Functional ingredients and in vitro antioxidative activity of aloe liquor [J]. China Brewing, 2014, 33(3): 57-61
- [22] Ray A, Gupta SD. A panoptic study of antioxidant potential of foliar gel at different harvesting regimens of Aloe vera L [J]. Industrial Crops and Products, 2006, 51: 130-137
- [23] Wu JH, Xu C, Shan CY, Tan RX. Antioxidant properties and PC12 cell protective effects of APS-I, a polysaccharide from Aloe vera var. chinensis [J]. Life Sciences, 2006, 78(6): 622-630