

红枣醋对慢性酒精肝损伤的保护作用

向进乐, 李晨露, 郭帅, 梁华, 罗磊

(河南科技大学 食品与生物工程学院, 河南洛阳 471023)

摘要: 以酒精溶液(50%, V/V, 10 mL/kg)灌喂小鼠 42 d, 建立酒精肝损伤模型, 研究红枣醋对酒精中毒引起肝损伤的保护作用。结果表明, 不同剂量的红枣醋均能显著降低慢性酒精中毒小鼠血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 活性, 降低血清甘油三酯 (TG) 和胆固醇 (TC) 含量以及肝脏脂质过氧化 (LPO) 水平, 明显改善肝组织肿大; 不同剂量的红枣醋均能显著提高慢性酒精中毒小鼠肝脏还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平, 提高肝组织总超氧化物酶 (T-SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 以及谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性, 保护小鼠肝组织抗氧化系统。肝组织病理检查结果显示, 红枣醋能明显改善慢性酒精中毒引起的肝损伤, 作用机制与其抑制机体脂质过氧化, 增强肝脏抗氧化酶以及非酶抗氧化能力有关。

关键词: 红枣醋; 酒精肝损伤; 脂质过氧化; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2015)10-40-44

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.10.008

Protective Effect of Chinese Jujube Vinegar on Alcohol-induced Liver Damage in Mice

XIANG Jin-le, LI Chen-lu, GUO Shuai, LIANG Hua, LUO Lei

(College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China)

Abstract: A mouse model of alcoholic liver injury was established by administering alcohol (50%, V/V, 10 mL/kg) to the mice for 42 days, and the protective effect of Chinese jujube vinegar on alcoholic liver injury in mice was studied. The results showed that different doses of Chinese jujube vinegar significantly reduced the activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine transaminase (ALT), concentrations of triglycerides (TG) and total cholesterol (TC) in the serum and lipid peroxidation (LPO) level in the liver of chronic alcohol-intoxicated mice, and the live tissue enlargement was significantly improved. Meanwhile, different doses of Chinese jujube vinegar significantly increased the glutathione (GSH) content and the activities of total superoxide dismutase (T-SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) and protected the antioxidant system in the liver system of chronically alcohol-intoxicated mice. The results of liver histopathological examination showed that Chinese jujube vinegar may significantly alleviate chronically alcohol-induced liver injury, and the underlying mechanism is related to its inhibitory effect on LPO as well as the enhancement of liver antioxidant enzyme activities and the non-enzymatic antioxidant capacity.

Key words: Chinese jujube vinegar; alcoholic liver injury; lipid peroxidation; antioxidation

酒精性肝病是慢性肝病的主要类型, 长期过量饮酒可引起酒精性肝病, 包括脂肪肝及炎症损伤, 严重的可演变成肝纤维化, 甚至难以逆转的肝硬化。在西方国家, 酒精性肝病是慢性肝病的主要类型。近年来, 我国酒精性肝病的发病人数也逐年增加。饮酒后, 肝脏是酒精代谢的主要场所, 所以肝脏最容易受到酒精和代谢毒物攻击, 而氧化应激是造成酒精性肝病的重要机制之一。慢性酒精诱导的肝损伤往往会引起脂肪肝和氧化应激^[1~2]。

收稿日期: 2014-11-20

基金项目: 河南科技大学大学生研究训练计划 (SRTP) 项目 (2015065); 河南科技大学博士科研基金资助项目 (13480034)

作者简介: 向进乐 (1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 果蔬发酵食品及其功能性

近些年, 以植物提取物和一些天然有机化合物预防或减轻酒精引起的氧化应激和肝病的报道很多。Noh 等^[3]研究发现栗子内皮提取物对慢性酒精中毒引起的小鼠肝损伤具有保护作用, 其作用机制与提取物保护肝脏抗氧化系统有关, 并分离鉴定其主要活性成分为二甲氧香豆素和东莨菪内酯。Hou^[4]等研究黑米花色苷提取物对慢性酒精大鼠肝损伤的保护作用, 发现黑米花色苷能显著降低酒精中毒引起的氧化应激, 保护肝组织。Shivashankara 等^[5]对预防和治疗肝损伤的天然提取物和活性物质进行了系统综述。而以功能食品干预慢性酒精性肝损伤的研究报道较少。

红枣营养丰富, 尤其是含糖量高, 是一种极好的发酵食品原料。红枣醋是以红枣为原料, 经加水打浆, 通过酒精发酵、醋酸发酵酿造而成的天然食品。目前,

关于红枣醋加工的报道较多,而对红枣醋功能性研究较少。红枣醋富含多酚、黄酮、三萜类以及有机酸等营养保健成分^[6]。文献报道^[6-7],红枣醋具有抗氧化、减肥、降血脂等生理功能。本试验研究红枣醋对慢性酒精引起的肝损伤的保护功能以及可能的作用机制,以期对红枣醋功能食品开发提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

红枣(新郑市孟庄镇);昆明种小鼠(18~20 g)(第四军医大学实验动物中心,实验动物许可证号:SCXK(军)2007-007);小鼠基础营养饲料(第四军医大学实验动物中心,符合GB14924 3-2001);谷丙转氨酶(ALT),谷草转氨酶(AST),还原型谷胱甘肽(GSH),总超氧化物歧化酶(T-SOD),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),甘油三酯(TG),总胆固醇(TC),过氧化氢酶(CAT),丙二醛(MDA)以及考马斯亮蓝蛋白测试试剂盒(南京建成生物工程研究所);切片石蜡(软蜡52~54℃,硬蜡和包埋蜡55~58℃)(上海标本模型厂);甲醛、酒精、二甲苯和中性树胶等均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

匀浆机(DY89-II型,宁波新芝生物科技有限公司);生化分析仪(RT-9200,美国雷杜);高速冷冻离心机(北京时代北利离心机有限公司);漩涡混匀器(QL-901型,海门其林贝尔仪器制造有限公司);UV-1700双光束紫外分光光度计(日本岛津);高速离心机(TGL-16G型,上海安亭科学仪器厂);石蜡切片机(德国徕卡公司);光学显微镜(Motic BA400型,德国麦克奥迪公司)。

1.3 红枣醋的制备

表1 灌喂用红枣醋总酸度、总酚、总黄酮以及体外抗氧化能力
Table 1 Total acidity, total phenolic and total flavonoid content, and *in vitro* antioxidant capacity of Chinese jujube vinegar administered to mice

总酸度 (g/100 mL)	总酚 (mg/100 mL)	总黄酮 (mg/100 mL)	清除 DPPH 自由基能 力/(VCEAC mg/100 mL)
2.76	147.65	78.44	62.29

取红枣按重量加3倍水打浆,采用“二步发酵法”,按照实验室优化的拐枣醋的酿造条件^[8],制得总酸度为4.8%的红枣原醋;然后45℃减压浓缩至原体积的1/4左右,再加纯净水稀释至原体积得灌喂用红枣醋,

冷藏备用,灌喂用红枣醋总酸度(NaOH 滴定法)、总酚(Folin-Ciocalteu 比色法)、总黄酮(NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 比色法)以及清除 DPPH 自由基能力(Vc 当量浓度表示法),参考化志秀等^[6]的方法,如表1。

1.4 试验动物模型与处理

健康昆明小白鼠在25±2℃环境中饲养,自由饮食,每天12h循环光照。适应性喂养4d后随机分为4组,每组10只。试验动物每日红枣醋和酒精的供给参考文献^[4]的方法灌胃,持续42d。小鼠分组与处理方法如表2所示。饲养最后一天小鼠禁食12h,称重;酒精灌喂后6h,摘眼球取血,制备血清用于ALT、AST、TC和TG测定。然后小鼠脱臼处死,取肝脏,称重,-80℃超低温冰箱保存,备用。

表2 小鼠分组与处理

分组	处理方法
空白对照组	基础营养饲料,自由饮食,6周
慢性酒精中毒模型组	酒精(50%,V/V,10 mL/kg)
红枣醋低剂量组	红枣醋(5 mL/kg)+酒精 (50%,V/V,10 mL/kg)
红枣醋高剂量组	红枣醋(12 mL/kg)+酒精 (50%,V/V,10 mL/kg)

1.5 血清转氨酶、甘油三酯和总胆固醇测定

血清ALT和AST活性按照试剂盒提供的方法,用分光光度计测定。TC和TG水平用半自动生化分析仪测定,含量以mmol/L血清表示。

1.6 肝脏系数测定

小鼠肝脏吸干血水后,按照下列公式计算肝脏系数:

$$\text{肝脏系数}(\%) = \frac{\text{肝重}(g)}{\text{体重}(g)} \times 100\%$$

1.7 肝脏还原型谷胱甘肽、抗氧化酶活性和脂质过氧化水平测定

GSH参考试剂盒提供的方法,其结果用mg/g protein来表示。通过测定MDA含量反应LPO水平,其结果用nmol/mg protein来表示。T-SOD、GSH-Px和CAT测定结果以U/mg protein表示。

1.8 肝组织病理检查-H&E染色法

将新鲜肝组织用中性福尔马林缓冲液固定。将肝

组织用流水冲洗、梯度酒精脱水、浸蜡、包埋、切片、脱蜡，然后经水化和染色，最后采用光学显微镜和成像系统进行肝脏病理变化观察成相。

1.9 统计分析

试验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，用 SAS 9.0 统计软件进行 One-way ANOVA 统计分析，组间比较采用 LSD 法， $p < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果与分析

表 3 红枣醋对小鼠生长情况和肝脏系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	体重/g		肝重/g	肝脏系数($\times 100\%$)
	初	终		
空白对照组	20.86 \pm 1.39	37.21 \pm 4.17	1.58 \pm 0.21	4.25 \pm 0.41
酒精肝损伤模型组	20.45 \pm 1.34	36.53 \pm 5.73	1.94 \pm 0.22**	5.31 \pm 0.57**
枣醋低剂量预防组	20.83 \pm 1.79	34.11 \pm 3.51	1.57 \pm 0.18##	4.60 \pm 0.52#
枣醋高剂量预防组	20.25 \pm 1.57	33.15 \pm 3.57	1.49 \pm 0.19##	4.49 \pm 0.48#

注：*与对照组相比，**极显著差异 $p < 0.01$ ；#与酒精肝损伤模型组相比，#显著差异 $p < 0.05$ ，##极显著差异 $p < 0.01$ ，下同。

2.2 红枣醋对酒精肝损伤小鼠转氨酶活性的影响

长期过量饮酒易造成肝功能异常，表现为 ALT 和 AST 活性的升高。试验各组小鼠血清 ALT 和 AST 活性如图 1。慢性酒精中毒模型组小鼠血清 ALT 和 AST 活性显著升高 ($p < 0.01$)，表明长期过量饮酒引起小鼠肝脏转氨酶泄露^[9-10]。而低剂量和高剂量红枣醋均能显著降低血清 ALT 和 AST 活性，说明红枣醋能改善慢性酒精中毒引起的肝脏损伤。

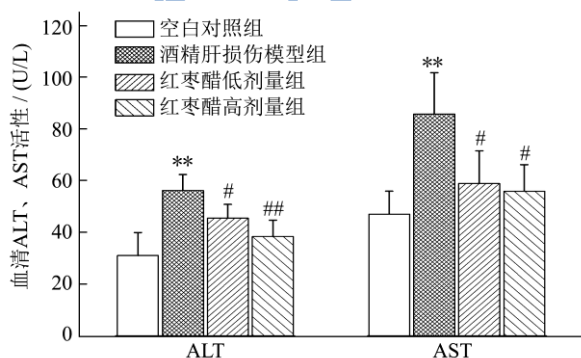


图 1 红枣醋对慢性酒精中毒小鼠血清 ALT 和 AST 的影响 ($n=10$)

Fig.1 Effects of Chinese jujube vinegar on the serum ALT and AST activities in chronically alcohol-intoxicated mice

2.3 红枣醋对血清甘油三酯和总胆固醇的影响

2.1 试验动物生长情况以和肝脏系数

试验中，各小组小鼠初始体重、终重和肝重等如表 3 所示。各组小鼠饮食正常，生长情况良好，4 组小鼠初重和终重无显著差异。但是，慢性酒精肝损伤模型组小鼠肝重和肝脏系数与空白对照组相比有极显著差异 ($p < 0.01$)。由于长期慢性酒精中毒易造成酒精性脂肪肝，肝脏肿大为其主要特点^[4]。与模型组相比，红枣醋低剂量 (5 mL/kg) 和高剂量 (12 mL/kg) 均能显著降低肝脏重量 ($p < 0.01$) 和肝脏系数 ($p < 0.05$)，说明红枣醋对长期饮酒引起的肝肿大具有显著的抑制作用。

长期慢性酒精中毒的早期表现通常表现为脂肪肝，是最常见的酒精性肝病。小鼠血清 TG 和 TC 水平如图 2。因为被机体吸收的乙醇大部分在肝脏代谢，过量的乙醇及其代谢毒物攻击肝细胞，引起肝脂肪变性、肝炎、肝纤维化甚至肝硬化^[11]。而慢性酒精肝损伤早期表现为 TG 在肝细胞积累而形成脂肪肝^[11]。

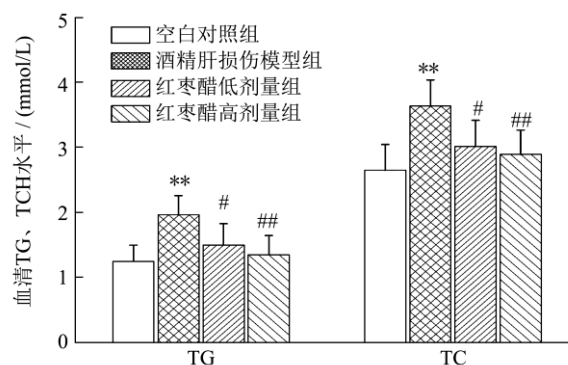


图 2 红枣醋低剂量、果醋对慢性酒精中毒小鼠血清 TG 和 TC 的影响 ($n=10$)

Fig.2 Effects of Chinese jujube vinegar on the serum TC and TG levels in chronically alcohol-intoxicated mice

如图 2 所示，长期慢性酒精中毒小鼠的血清 TG 和 TC 显著升高 ($p < 0.01$)，产生了肝脏病变，而红枣醋能显著降低血清 TG 和 TC 含量。文献报道，植物多酚类能显著提高慢性酒精中毒^[3-4]和高胆固醇饮食^[12]

试验动物模型对脂肪的分解与代谢。红枣醋预防长期慢性酒精中毒小鼠 TG 和 TC 积累,可能与其含有较高含量的酚类物质有关^[6]。另外,醋酸能促进食欲,抑制糖酵解,提高脂肪酸的分解速度,并能降低肝脏合成胆固醇酶—3-羟基-3 甲基戊二酸单酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶活性^[13-14]。试验结果与 Moon 等^[15]报道的柿子醋能显著降低慢性酒精肝损伤大鼠血清 TG 和 TC 水平的结果一致。

2.4 红枣醋对肝脏抗氧化系统的影响

氧化应激是一种由于生物分子过度氧化而造成

表 4 红枣醋对小鼠肝脏抗氧化系统的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 4 Effects of Chinese jujube vinegar on the hepatic antioxidant system

组别	GSH (/mg/g protein)	T-SOD (/U/mg protein)	CAT (/U/g protein)	GSH-Px (/U/mg protein)
空白对照组	7.92±0.88	149.94±9.61	299.12±64.52	1692.22±146.33
模型组	4.91±0.55**	106.39±7.14**	209.97±35.53**	1107.66±104.02**
低剂量组	6.66±0.94##	124.83±6.55##	248.86±20.49#	1254.35±101.34#
高剂量组	7.07±0.84##	130.07±8.53##	260.78±31.46##	1298.86±107.37#

此外,机体抗氧化酶系统,如 SODs、GSH-Px 和 CAT 在对抗过多自由基,保护机体免受伤害也起重要作用,而且在抵御过多的自由基时有相互协同作用^[19]。在本试验的慢性酒精中毒模型中,肝脏 T-SOD 活性显著降低(p<0.01),与 Polavarapu 等^[20]的研究结果一致。而红枣醋能显著恢复肝损伤小鼠 T-SOD 活性(p<0.01)。

CAT 主要存在于过氧化物酶体,清除机体过多的过氧化氢。CAT 催化两个 H₂O₂ 发生反应生成 O₂ 和 H₂O,还能促进 H₂O₂ 与氢供体间反应,使 H₂O₂ 转化为 H₂O,使还原态的供体氧化,而乙醇就能够提供这些氢供体被氧化成乙醛^[19]。由于过多自由基及其降解产物积累,慢性酒精中毒引起小鼠肝脏 CAT 活性显著降低(p<0.01)。而红枣醋能使慢性酒精中毒小鼠 CAT 活性明显恢复。

GSH-Px 是一种以 GSH 为底物的重要抗氧化酶,通过保护机体免受 H₂O₂ 造成的伤害,能降低 LPO 程度。Mallikarjuna 等^[21]认为 GSH-Px 是通过降低 LPO 而保护机体免受氧化损伤的。试验结果表明,慢性酒精中毒小鼠肝脏 GSH-Px 活性显著降低(p<0.01)。由于 GSH-Px 降低,肝细胞 GSH 平衡被破坏,导致肝细胞损伤。这可能是因为过多的自由基造成了酶的失活,也可能是其共同底物-GSH 降低引起。此外,也有可能与慢性酒精中毒引起的肝脏 T-SOD 活性降低有关。因为两者在对抗自由基产生的毒性方面有协同作用^[22]。本试验中,红枣醋提高 GSH-Px 的活性可能与其

的机体氧化还原状态失衡的生理现象,与各种病理密切相关。GSH 是细胞膜内最丰富的含巯基的微量抗氧化物质,在保持细胞完整性方面起着重要作用,是抵御机体氧化应激的一道重要防线^[16]。姚平等^[17]研究发现,肝组织中 GSH 降低 20%就会破坏细胞防御体系而产生肝损伤。Loguercio 等^[18]研究认为慢性酒精中毒直接会造成肝脏 GSH 消耗,同时使 GSH 的合成速度显著下降。本试验慢性酒精中毒模型小鼠肝脏 GSH 的水平与对照组相比下降了 38%(表 4)。而与模型组相比,红枣醋高剂量和低剂量均能显著恢复小鼠肝脏 GSH 水平(p<0.01)。

较高的 T-SOD 活性和较高含量的 GSH 有关。

2.5 红枣醋对肝脏脂质过氧化水平的影响

酒精性肝损伤的另一重要机制是引起机体脂质过氧化。如图 3 所示,慢性酒精中毒造成肝组织 MDA 含量显著升高(p<0.01),肝脏脂质过氧化程度加重。脂肪肝的诱导产生通常与乙醇在肝脏的代谢有关,因为脂质过氧化物的产生与乙醇代谢产生的乙醛或者自由基有关^[3,20],而红枣醋低剂量和高剂量均能显著降低肝脏脂质过氧化水平(p<0.05)。

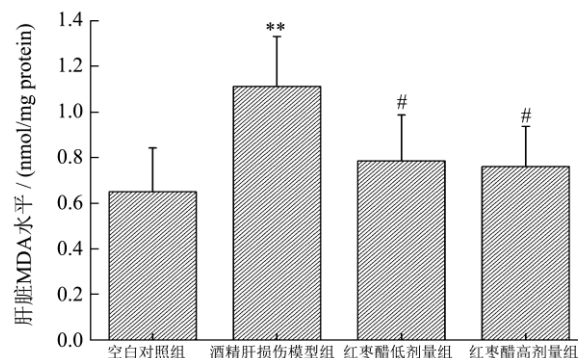


图 3 红枣醋对慢性酒精中毒小鼠肝脏脂质过氧化水平的影响 (n=10)

Fig.3 Effects of Chinese jujube vinegar on the hepatic LPO level in chronically alcohol-intoxicated mice

2.6 小鼠肝脏组织病理

慢性酒精中毒可引起严重肝组织损伤。各组肝组

织 H&E 染色后在 400 倍显微镜下观察损伤程度, 结果如图 4。可以看出, 空白对照组小鼠肝细胞大小一致, 肝细胞索以小叶中央动脉为中心呈辐射状排列; 胞核大呈圆形, 胞浆均匀红染; 胆小管细胞结构完整, 未见病变。

慢性酒精肝损伤模型小鼠肝脏中央静脉的周围肝细胞排列紊乱, 肝细胞间隔明显增大; 肝小叶周边可见面积大小不等的肝细胞坏死区域; 肝细胞出现明显的脂变性、水样变性和气球样变性; 肝细胞胞浆稀疏, 染色变浅且不均匀; 有的肝细胞核溶解消失。而红枣醋低剂量组与模型组病变相似, 但可见的损伤程度明显减轻; 红枣醋高剂量组病理程度得到显著改善。

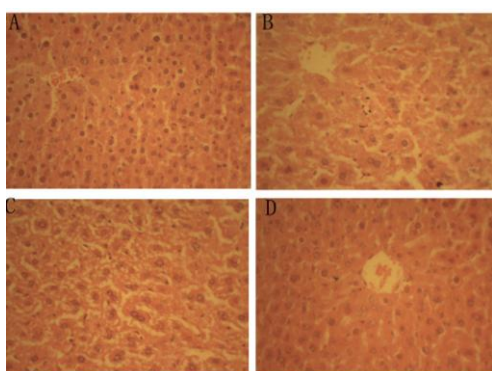


图 4 小鼠肝组织 H&E 染色图 (×400)

Fig.4 H & E staining images of mouse liver tissues

注: A: 空白对照组; B: 肝损伤模型组; C: 红枣醋低剂量干预组; D: 红枣醋高剂量干预组。

3 结论

长期摄入酒精可导致肝损伤, 在肝细胞中, 酒精诱导肝脏病理变化包括肝肿大和血清学变化, 伴随着血清中谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 活性显著升高 ($p < 0.01$)。红枣醋能显著降低慢性酒精中毒小鼠血清 ALT 和 AST 活性, 降低血清 TG 和 TC 以及肝脏 LPO 水平, 显著提高慢性酒精中毒小鼠肝脏还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平, 提高肝组织总超氧化物酶 (T-SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 以及谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性, 保护小鼠肝组织抗氧化系统。肝组织病理检查也显示, 红枣醋对长期慢性酒精中毒引起的肝损伤具有显著的预防效果, 作用机制可能与抑制脂质过氧化, 提高肝脏抗氧化酶和非酶抗氧化能力有关。

参考文献

[1] Lieber C S. Role of oxidative stress and antioxidant therapy in alcoholic and nonalcoholic liver diseases [J]. *Advances in*

Pharmacology, 1997, 38: 601-628

- [2] Dey A, Cederbaum A I. Alcohol and oxidative liver injury [J]. *Hepatology*, 2006, 43(S1): S63-S74
- [3] Noh J-R, Kim Y-H, Gang G-T, et al. Hepatoprotective effects of chestnut (*Castanea crenata*) inner shell extract against chronic ethanol-induced oxidative stress in C57BL/6 mice [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(7): 1537-1543
- [4] Hou Z, Qin P, Ren G. Effect of anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa* L. Japonica) on chronically alcohol-Induced liver damage in rats [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(5): 3191-3196
- [5] Shivashankara A R, Azmidah A, Haniadka R, et al. Dietary agents in the prevention of alcohol-induced hepatotoxicity: preclinical observations [J]. *Food & Function*, 2012, 3(2): 101-109
- [6] 化志秀, 芦艳, 鲁周民, 等. 红枣醋发酵阶段主要成分及抗氧化性的变化 [J]. *中国食品学报*, 2013, 13(8): 248-253
- HUA Zhi-xiu, LU Yan, LU Zhou-min, et al. Changes of main components and antioxidant properties during Jujube vinegar fermentation [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2013, 13(8): 248-253
- [7] 李红蕊, 李志西, 赵晓野, 等. 红枣醋和枳椇醋减肥降血脂作用研究 [J]. *西北农业学报*, 2009, 18(2): 257-260
- LI Hong-rui, LI Zhi-xi, ZHAO Xiao-ye, et al. Study on the effects of Jujube vinegar and *Hovenia Acerba* vinegar on reducing obesity and blood lipids in rat [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2009, 18(2): 257-260
- [8] 向进乐, 杜琳, 李欣, 等. 拐枣醋半固态-液态发酵工艺研究 [J]. *现代食品科技*, 2014, 30(7): 160-164
- XIANG Jin-Le, DU Lin, LI Xin, et al. Fermentation of fruit vinegar from *Hovenia acerba* [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(7): 160-164
- [9] Kasdallah-Grissa A, Mornagui B, Aouani E, et al. Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates ethanol-induced oxidative stress in rat liver [J]. *Life Sciences*, 2007, 80(11): 1033-1039
- [10] Sillanaukee P. Laboratory markers of alcohol abuse [J]. *Alcohol and Alcoholism*, 1996, 31(6): 613-616
- [11] Purohit V, Gao B, Song B-J. Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver [J]. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 2009, 33(2): 191-205
- [12] Gorinstein S, Bartnikowska E, Kulasek G, et al. Dietary persimmon improves lipid metabolism in rats fed diets containing cholesterol [J]. *Journal Of Nutrition*, 1998, 128(11): 2023-2027

- [13] Fushimi T, Tayama K, Fukaya M, et al. Acetic acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats [J]. *Journal of Nutrition*, 2001, 131(7): 1973-1977
- [14] Fushimi T, Suruga K, Oshima Y, et al. Dietary acetic acid reduces serum cholesterol and triacylglycerols in rats fed a cholesterol-rich diet [J]. *British Journal of Nutrition*, 2006, 95(5): 916-924
- [15] Moon Y-J, Cha Y-S. Effects of persimmon-vinegar on lipid metabolism and alcohol clearance in chronic alcohol-fed rats [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2008, 11: 38-45
- [16] Nordberg J, Arná E S J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2001, 31(11): 1287-1312
- [17] Yao P, Nussler A, Liu L, et al. Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways [J]. *Journal of Hepatology*, 2007, 47(2): 253-261
- [18] Loguercio C, Clot P, Albano E, et al. Free radicals and not acetaldehyde influence the circulating levels of glutathione after acute or chronic alcohol abuse: in vivo and in vitro studies [J]. *Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 1997, 29(2): 168-173
- [19] Cederbaum A I, Lu Y, Wu D. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury [J]. *Archives of Toxicology*, 2009, 83(6): 519-548
- [20] Polavarapu R, Spitz D R, Sim J E, et al. Increased lipid peroxidation and impaired antioxidant enzyme function is associated with pathological liver injury in experimental alcoholic liver disease in rats fed diets high in corn oil and fish oil [J]. *Hepatology*, 1998, 27(5): 1317-1323
- [21] Mallikarjuna K, Nishanth K, Reddy K. Hepatic glutathione mediated antioxidant system in ethanol treated rats: Decline with age [J]. *Pathophysiology*, 2007, 14(1): 17-21
- [22] Rao G, Xia E, Nadakavukaren M, et al. Effect of dietary restriction on the age dependent change in the expression of antioxidant enzymes in rat liver [J]. *Journal of Nutrition*, 1990, 120(6): 602-609

