

玉米肽对酒精性肝损伤大鼠的作用研究

林 兵 马小陶 王亚非 陈 禹

摘 要 **目的** 探讨玉米对于酒精性肝损伤大鼠的保护作用。**方法** SPF 级雌性大鼠,随机分为 5 组:对照组、模型组和玉米肽干预组(3 组剂量分别为 0.225、0.45、0.9g/kg),连续 4 周以乙醇 6g/(kg·d)造成大鼠酒精性肝损伤模型,并给予玉米肽干预,测定各组体重变化和血清转氨酶、病理、抗氧化酶等指标,分析各组间的差异。**结果** 摄入酒精后大鼠一般生活状况和血清转氨酶指标发生均产生了明显改变($P < 0.05$),玉米肽干预对饮酒大鼠的一般状况有一定的改善,可以逆转饮酒导致大鼠的转氨酶水平升高,改善肝组织病理学异常,提高血清超氧化物歧化酶活性并降低丙二醛水平($P < 0.05$),但是体重、谷胱甘肽过氧化物酶、肝乙醇脱氢酶等没有观察到明显的改变。**结论** 玉米肽对大鼠酒精性肝损伤具有一定的保护作用,可能与改善机体氧化应激有关。

关键词 玉米肽 酒精性肝损伤 抗氧化

中图分类号 R151.3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.035

Effect of Corn Peptides on Alcoholic Liver Injury of Rats. Lin Bing, Ma Xiaotao, Wang Yafei, et al. Department of Nutrition, China - Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Abstract **Objective** To investigate the effects of corn peptides on alcoholic liver injury in female rats. **Methods** SD female rats were randomly divided into 5 groups: control group, model group, and three corn peptides groups(0.225, 0.45, 0.9g/kg). All rats except in control group received intragastrical administration of alcohol of 6 g/kg body weight per day to induce liver injury for four weeks continuously, which was then evaluated by serum markers and hisopathological examination. **Results** The general conditions and serum transaminase of rats produced a significant change after alcohol intake ($P < 0.05$). Corn peptides intervention after drinking could reverse the increased level of serum aminotransferase and alleviated the hepatic histological damage induced by alcohol. It also increased the serum superoxide dismutase activity and decrease malondialdehyde level ($P < 0.05$). But there was no obvious change observed in the contents of body weight and alcohol dehydrogenase. **Conclusion** Corn peptides have a significant protective effect on alcoholic liver injury in rats, which is possibly associated with enhancing anti-oxidation level.

Key words Corn peptides; Alcoholic liver injury; Anti-oxidant

随着现代生活方式的改变,饮酒、酗酒人群的逐渐扩大,对个人、家庭甚至社会造成巨大的危害。酒精中毒是当今世界范围内的第一大公害,在我国酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)的发生率也呈明显上升趋势,ALD 的防治是现代医学的研究重点,但目前仍缺乏有效的措施^[1]。

当前低分子肽类的抗氧化作用已经取得了大部分研究者的共识,而氧化应激被认为是酒精代谢致肝损伤的主要致病因素,这为多肽类物质在 ALD 防治领域的应用提供了可能^[2]。既往报道玉米肽具有抗疲劳、抑制乳腺癌细胞增殖、抗辐射以及保护化学性肝损伤等作用^[3]。有实验报道玉米肽口服可降低成人血液中乙醇含量,并在早期动物实验中得到了验

证,加上来源广泛、价格低廉等特点,其在防治急慢性酒精损害领域具有巨大的潜力^[4,5]。由于在早期实验中发现雌性对酒精中毒有更高的易感性,本研究以玉米肽作为干预物,观察其对连续 4 周摄入酒精的雌性大鼠的一般状况、体重、转氨酶、肝组织病理、氧化应激等的影响,评价其对酒精性肝损伤大鼠的作用及可能的机制,为玉米肽的应用提供理论基础。

材料与方法

1. 实验材料:玉米肽以玉米蛋白为原料,采用生物酶解的方法生产,由 2~6 个氨基酸残基组成的、分子质量范围在 0.13~1.00kDa 的低分子混合寡肽类,由北京中食海氏生物技术有限公司提供。酒精为分析纯,配置成体积分数 50% 的酒精。

2. 仪器和试剂:肝乙醇脱氢酶(ADH)、肝组织丙二醛(MDA)、肝组织蛋白(proto)和血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶

作者单位:100029 北京,中日友好医院营养科

通讯作者:陈禹,电子信箱:chenyulgc1979@126.com

(PSH - px) 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。Nikon Y - FL 081188 型光学显微镜(日本), HITACHI 7180 全自动生化分析仪(日本), UV7512GD 型紫外可见分光光度计(上海欣益仪器仪表有限公司)。

3. 实验动物及处理:雌性 SPF 级 Sprague - Dawley (SD) 大鼠, 8 ~ 10 周龄, 体重 180 ~ 220g, 由北京大学医学部实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SYXK (京) 2011 - 0039, 饲养环境温度 21 ~ 23℃, 相对湿度 50% ~ 60%。适应性喂养 1 周后称重, 按体重随机分为 5 组: 对照组、模型组和 3 个玉米肽干预组 (0.225g/kg, 0.45g/kg 以及 0.9g/kg), 为避免酒精中毒导致死亡过多, 模型组设置 12 只, 剩余各组 10 只。配置体积分数 50% 的乙醇用于染毒, 剂量为 15ml/kg (6g/kg), 组给予等体积蒸馏水; 酒精灌胃 1h 后分别给予玉米肽干预, 每周称重调整灌胃量。大鼠自由饮食, 过程中记录大鼠生活状况和进食量。

4. 样品采集与处理: 第 29 天禁食不禁水 12h 后, 股动脉取血, 分离血清, 检测 ALT、AST、SOD、GSH - px 和 MDA 水平, 处死大鼠并取部分肝左叶组织检查 ADH 和组织 pro 水平, 剩余部分 4% 甲醛溶液固定并做病理, HE 染色后光学显微镜下观察并记录。ALT

和 AST 采用全自动生化分析仪检测, 其余指标采用试剂盒检测。

5. 统计学方法: 实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 以 SNK 法行两两比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

模型组与对照组的血清学指标和肝组织病理进行比较, 以评价酒精性肝损伤模型。干预组结果与模型组比较, 观察玉米肽对酒精性肝损伤大鼠的作用, 评价干预效果。

1. 一般情况: 52 只大鼠共 49 只完成实验周期, 模型组和低剂量组各 1 只大鼠因灌胃误呛入肺而导致死亡, 低剂量组另有 1 只因不能耐受酒精而死亡, 其余大鼠均存活。在实验过程中, 对照组大鼠营养状况良好, 反应敏捷, 毛发光泽, 无死亡情况; 模型组大鼠有不同程度精神萎靡, 毛色灰暗, 摄食减少; 干预组大鼠的状况有所减轻, 精神状态一般。模型组大鼠体重增长缓慢, 模型组的体重在第 3 周、第 4 周比对照组的体重明显下降, 玉米肽干预后体重虽然有增加的趋势, 但是差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 1)。

表 1 玉米肽对饮酒大鼠体重的影响 (g)

组别	n	D1 体重	D8 体重	D15 体重	D22 体重	D29 体重
对照组	10	232.89 ± 12.15	249.80 ± 13.03	266.98 ± 12.11	279.90 ± 13.27	288.91 ± 17.27
模型组	11	233.35 ± 11.03	235.59 ± 17.04	251.27 ± 17.26*	262.18 ± 14.72*	271.39 ± 13.44*
玉米肽低剂量组	8	234.35 ± 12.19	238.94 ± 11.12	256.88 ± 11.85	269.00 ± 10.52	277.00 ± 13.38
玉米肽中剂量组	10	233.14 ± 14.62	235.00 ± 14.94	250.85 ± 12.51	267.30 ± 15.04	281.60 ± 14.07
玉米肽高剂量组	10	234.52 ± 12.51	240.45 ± 16.00	250.50 ± 13.39	262.65 ± 16.70	273.22 ± 18.58

与对照组相比, * $P < 0.05$

2. 血清 ALT 和 AST 含量: 模型组大鼠血清中的 ALT、AST 水平明显高于对照组 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 玉米肽高剂量组的 ALT 水平明显下降 ($P < 0.05$), 各剂量干预组的血清 AST 水平明显下降 ($P < 0.05$), 与对照组水平接近 (表 2)。

表 2 玉米肽对大鼠血清转氨酶的作用

组别	n	ALT (IU)	AST (IU)
对照组	10	42.79 ± 5.12	26.49 ± 15.04
模型组	11	51.52 ± 7.83*	47.01 ± 15.58*
玉米肽低剂量组	8	46.22 ± 6.25	28.71 ± 17.30 [#]
玉米肽中剂量组	10	44.53 ± 7.75	16.17 ± 12.79 [#]
玉米肽高剂量组	10	40.48 ± 7.06 [#]	28.68 ± 12.38 [#]

与对照组相比, * $P < 0.05$; 与模型组相比, [#] $P < 0.05$

3. 血清抗氧化指标: 模型组与对照组相比, 模型组大鼠的 SOD 水平明显降低, 而 MDA 水平明显升高。各剂量组与模型组相比, SOD 水平明显升高 ($P < 0.01$); MDA 水平有下降的趋势, 高剂量组与模型组间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 各组间 GSH - px 的差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 3)。

4. 肝组织检测: 模型组的 ADH 含量较高, 但各组间大鼠肝脏 ADH 含量的差异无统计学意义, 同时各组间肝组织中 MDA 的含量差异亦无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 4)。

5. 肝脏病理学检查: 肝脏组织病理学检查见图 1, 对照组大鼠肝细胞排列规则呈放射状, 细胞形态规

表 3 玉米肽对大鼠氧化应激系统的影响

组别	n	SOD(U/ml)	MDA(nmol/ml)	GSH - PX(U)
对照组	10	101.66 ± 36.18	6.11 ± 6.38	634.26 ± 521.0
模型组	11	81.57 ± 31.46 *	21.66 ± 8.93 **	906.67 ± 665.9
玉米肽低剂量组	8	149.46 ± 13.75 ##	20.13 ± 9.72	668.89 ± 291.4
玉米肽中剂量组	10	119.81 ± 17.13 ##	17.66 ± 8.80	335.19 ± 389.6
玉米肽高剂量组	10	123.41 ± 8.38 ##	9.02 ± 6.59 #	418.93 ± 162.2

与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

表 4 玉米肽对大鼠肝 ADH 和 MDA 水平的作用

组别	n	ADH(μ /mg prot)	MDA(nmol/mg prot)
对照组	10	12.86 ± 5.27	1.41 ± 0.34
模型组	11	17.50 ± 8.76	1.77 ± 0.68
玉米肽低剂量组	8	16.71 ± 4.79	1.55 ± 0.48
玉米肽中剂量组	10	16.16 ± 4.84	1.44 ± 0.65
玉米肽高剂量组	10	14.61 ± 3.22	1.43 ± 0.99

则,未见病理学异常;模型组病理可见肝索排列不整齐,部分肝细胞空泡样变性,形态不规则,可见大小不一、数量较多的脂肪滴,呈现脂肪变性,但是没有见到炎性细胞浸润和大片细胞坏死。玉米肽干预可以减轻相应改变,肝细胞肿胀,部分有脂肪滴,但是相比模型组,肝细胞排列更加有规则,肝细胞界限明显并无明显变性。

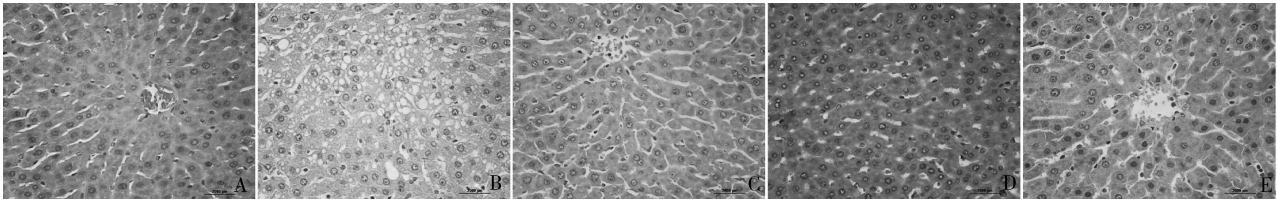


图 1 玉米肽对酒精性肝损伤大鼠肝组织病理的典型改变(HE, ×400)

A. 对照组;B. 模型组;C. 玉米肽低剂量;D. 玉米肽中剂量组;E. 玉米肽高剂量组

讨 论

1993 年 Fiat 等首次发现了玉米功能短肽具有许多生理功能。当前,玉米肽的研究已经涉及许多方面,研究证明玉米肽具有抗疲劳,抑制乳腺癌细胞增殖,抗辐射等作用。Yamaguchi 等^[4]报道称在给予 0.5g酒精/kg 前接受 5g 玉米肽/人预防性干预的饮酒志愿者中看到玉米肽可以促进酒精代谢,减低血液酒精水平的作用。在之前玉米肽对急性酒精中毒大鼠的实验研究中,发现玉米肽干预可以降低血中酒精的浓度,使醉酒大鼠苏醒时间提前,提示玉米肽对急性酒精中毒有一定的保护作用。在此基础上,进一步探讨玉米肽对 ALD 的作用,并分析其对慢性酒精中毒的作用机制。

肝脏是人体糖、脂肪、蛋白质等营养素代谢的重要场所,也是酒精氧化的重要器官和酒精中毒的首要靶器官。ALD 即由于长期或大量饮酒所导致的一系列肝脏损害性病变,其病程发展与饮酒剂量和时间呈正关。研究结果显示,与对照组相比,饮酒大鼠一般状况较差,体重增长缓慢,血清 ALT、AST 比对照高 ($P < 0.05$),肝组织病理显示空泡样脂肪变性,形态

不规则,表明连续 4 周 6g/kg 的酒精摄入造成了大鼠明显的肝损伤。在模型组的基础上给予玉米肽干预,可以改善雌性大鼠的一般生存状况,并逆转酒精引起的血清转氨酶升高和肝组织病理改变,实验结果表明玉米肽具有保护大鼠早期酒精性肝损伤的作用。

目前虽然对 ALD 的致病机制仍有很大的争论,但是大部分研究者认同氧化应激和脂质过氧化是主要致病机制^[6]。长期大量的酒精摄入后,机体代谢过程中产生大量活性氧自由基、活性氮自由基等,导致巯基化合物、谷胱甘肽等抗氧化物质消耗大量增加,慢性酒精中毒进一步使得抗氧化酶活性如 SOD 受到抑制,使氧化应激系统处于失衡状态,首要的变化表现在酒精代谢重要场所 - 肝细胞发生膜脂质过氧化反应,引起脂质过氧化产物 MDA 在体内的积聚^[7]。此次研究结果表明,较对照组相比,模型组大鼠血清的 SOD 活性下降,血清中脂质代谢产物 MDA 含量升高,玉米肽干预使得这些损伤出现了逆转,使得大鼠 SOD 活性升高,高剂量干预组大鼠的血清 MDA 水平明显下降 ($P < 0.05$),表明玉米肽具有改

善饮酒大鼠氧化应激、降低过氧化损害的作用。前期的研究结果显示玉米肽干预可以提高免疫抑制模型小鼠的抗氧化能力,降低还原性物质的消耗,这也与国际上玉米肽的研究结果相符^[8]。此外,体外实验证实玉米肽对多种自由基具有清除作用,其具有清除羟自由基、超氧阴离子和抑制MDA生成的能力,保护大鼠肝线粒体氧化损伤^[9]。这些证据表明玉米肽具有良好的改善机体氧化应激的能力,但是单纯的还原型物质(如维生素E)干预或者CYP2E1抑制并不能有效地纠正酒精性肝损伤,这也是当前研究的难题之一,原因尚不清楚,可能与酒精的免疫性或炎性损伤有关^[10]。这也表明玉米肽除缓解氧化应激外可能通过其他途径发挥保肝作用,需要进一步的研究证实。

综上所述,玉米肽对雌性大鼠酒精肝损伤具有一定的保护作用,可能与提高机体抗氧化水平有关。

参考文献

- 1 Wang FS, Fan JG, Zhang Z, *et al.* The global burden of liver disease: the major impact of China[J]. *Hepatology*, 2014, 60(6): 2099 – 2108
- 2 Kang KH, Qian ZJ, Ryu B, *et al.* Antioxidant peptides from protein hydrolysate of microalgae *Navicula incerta* and their protective effects

- in HepG2/CYP2E1 cells induced by ethanol[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(10): 1555 – 1563
- 3 Lv J, Nie ZK, Zhang JL, *et al.* Corn peptides protect against thioacetamide – induced hepatic fibrosis in rats[J]. *J Med Food*, 2013, 16(10): 912 – 919
- 4 Yamaguchi M, Nishikiori F, Ito M, *et al.* The effects of corn peptide ingestion on facilitating alcohol metabolism in healthy men[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1997, 61(9): 1474 – 1481
- 5 林兵, 于永超, 陈禹, 等. 玉米肽对急性酒精中毒大鼠的作用研究[J]. *中国食物与营养*, 2014, 20(4): 66 – 68
- 6 Ceni E, Mello T, Galli A. Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(47): 17756 – 17772
- 7 Zhu H, Jia Z, Misra H, *et al.* Oxidative stress and redox signaling mechanisms of alcoholic liver disease: updated experimental and clinical evidence[J]. *J Dig Dis*, 2012, 13(3): 133 – 142
- 8 Guo H, Sun J, He H, *et al.* Antihepatotoxic effect of corn peptides against *Bacillus Calmette – Guerin*/lipopolysaccharide – induced liver injury in mice[J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(10): 2431 – 2435
- 9 朱艳华, 谭军. 玉米多肽对大鼠体外抗氧化作用的研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(3): 463 – 465
- 10 Mandrekar P, Ambade A. Immunity and inflammatory signaling in alcoholic liver disease[J]. *Hepatol Int*, 2014, 8(2): 439 – 446

(收稿日期:2015 – 08 – 06)

(修回日期:2015 – 08 – 31)

血浆脑钠素水平对心血管病患者远期病死率的预测作用

张春红 黄党生 沈 东 张丽伟 孙红岩 马永江 王宇玫

摘 要 目的 本研究主要探讨血浆BNP水平对心血管患者远期病死率及预后的影响。**方法** 对笔者医院2003年5月~2005年2月期间住院的患者,共276例,失访2例,随访7年,根据BNP水平分为BNP<100ng/L、101~1000ng/L、1001~5000ng/L、>5000ng/L 4组,比较各组间病死率,绘制生存曲线。**结果** 随访期间,91例患者死亡,其中心源性死亡50例,非心源性死亡41例。4组比较,各组间病死率比较差异有统计学意义($P=0.000$),随BNP浓度的增加,病死率逐渐升高。在多因素比较中,BNP、年龄和EF值差异均有统计学意义($P<0.05$),BNP是影响患者预后的独立危险因素,BNP>5000ng/L组,3个月的病死率为超过50%,5年的病死率为100%。**结论** BNP水平是影响病死率的一个独立危险因素,BNP>5000ng/L,近期及远期预后均严重不良。

关键词 脑钠素 心力衰竭 病死率 心血管疾病

中图分类号 R5 **文献标识码** A **DOI** R510.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.036

Prediction of Long – term Mortality by Brain Natriuretic Peptide in Patients with Cardiovascular Diseases. Zhang Chunhong, Huang Dangsheng, Shen Dong, *et al.* Cardiovascular Department of First Affiliated Hospital to PLA General Hospital, Beijing 100048, China

作者单位:100048 北京,中国人民解放军总医院第一附属医院心内科

通讯作者:张春红,电子信箱:zhang_c_h700@sohu.com