

蜂王浆醇提取物对酒精诱导肝损伤小鼠的保护作用

尚曼¹ 张良才² 修贺明^{2*}

(1 石家庄科技创业投资有限公司 石家庄 050031; 2 石家庄颐瑞堂蜂业有限公司 石家庄 050031)

摘要: 探讨蜂王浆乙醇提取物(简称:蜂王浆醇提取物,功效成分:10-羟基-2-癸烯酸,简写:10-HDA)对酒精诱导的小鼠肝损伤的保护作用。试验动物随机分成5组,每组10只,分别为阴性对照组、模型对照组、模型蜂王浆醇提取物低剂量干预组、模型蜂王浆醇提取物高剂量干预组、正常鼠蜂王浆醇提取物高剂量干预组。对实验小鼠进行灌胃,试验结束后测定小鼠的肝组织中的TG、GSH、MDA等指标。结果表明,蜂王浆乙醇提取物对酒精诱导的小鼠化学性肝损伤具有保护作用。

关键词: 蜂王浆醇提取物;酒精;肝损伤;小鼠;

蜂王浆(royal jelly)又称蜂皇浆。是工蜂咽下腺和上颚腺分泌的,主要用于饲喂蜂王和蜂幼虫的乳白色、淡黄色或浅橙色浆状物质^[1]。蜂王浆是集营养、食疗及保健多位一体的天然物质,具有抑菌、抗氧化、抗衰老、降血糖、降血脂、抗肿瘤、调节免疫及护肤美容等其他多方面生理作用^[2]。新鲜的蜂王浆需冷冻保存才能保证其活性及营养价值,且服用不便、剂量不准确。能在常温下放置且功效不变,将其提纯是最佳选择。

蜂王浆醇提取物(10-HDA)是蜂产品中独有的活性功能组分,对其生理作用的研究在开发利用上具有重要意义。化学性肝损伤是由于长期饮酒、环境中的化学有毒物质或农药兽药的残留及某些药物所造成的。为了了解蜂王浆醇提取物对肝损伤的影响,我们通过蜂王浆乙醇提取物(10-HDA)对酒精诱导小鼠急性肝损伤的影响来探讨其对肝脏的保护功能。

1、材料与方法

1.1 材料: 动物为雄性SD小鼠(SPF级,18~22g)50只,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,许可证号:SCXK(京)2009-0004。受试物:蜂王浆醇提取物(自制)。蜂王浆醇提取物(10-HDA)制备方法:将冷冻后的蜂王浆解冻、过滤,滤饼粉碎过筛,加70%乙醇溶解过滤,重复操作制取二次提取液。将滤液合并,注入真空浓缩罐搅拌浓缩,将物料放入结晶罐。结晶罐内加入纯水,搅拌、离心、取样化验。将结晶滤饼干燥10h即得10-HDA成品。合格后取出,包装。

1.2 方法: 试验动物随机分成5组,每组10只,分别为阴性对照组、模型对照组、模型蜂王浆醇提取物低剂量干预组、模型蜂王浆醇提取物高剂量干预组、正常鼠蜂王浆醇提取物高剂量干预组。

模型制备: 每日经口灌胃给予受试样品,阴性对照组和模型对照组给予蒸馏水,低、高剂量组每天分别按60、120mg/kgBW的剂量给予受试物。采用灌胃法(1ml/100g·BW),各组动物每天定时1次,共30天。模型组及各样品组于给予受试物结束时一次性灌胃给予50%乙醇12ml/kg·BW造成酒精肝损伤模型,阴性对照组注射等量的生理盐水,所有动物禁食8h后经腹腔注射50mg/kg BW的戊巴比妥钠溶液麻醉,取肝组织,进行各项指标的检测及病理组织学检查。

2、结果

2.1 蜂王浆醇提取物对酒精诱导肝损伤小鼠体重的影响

小鼠的初始体重在各剂量组与模型对照组间比较、空白对照组与模型对照组间比较,差异均无显著性($P>0.05$)。灌胃小鼠不同剂量的蜂王浆醇提取物30d后,小鼠的体重在各剂量组与模型对照组间比较、空白对照组与模型对照组间比较,差异均无显著性($P>0.05$)。即该样品对小鼠体重无不良影响。

2.2 肝组织病理的变化

处死小鼠,取肝脏,观察其大体变化,固定肝组织,石蜡包埋切片,HE染色,光镜下观察病理变化。肝细胞坏死分级:0级:无病变。I级:肝细胞疏松肿胀,气球样变,有点状坏死。II级:

肝细胞灶性坏死。III级:肝细胞广泛灶性坏死。炎性细胞浸润分级:0级:汇管区极少炎性细胞浸润。I级:汇管区、血管窦可见多个炎性细胞浸润。II级:汇管区、肝小叶内炎性细胞浸润明显,肝实质破坏。III级:汇管区大量炎性细胞浸润,肝实质破坏。

与模型组相比,10-HDA干预组可以有效降低肝脏细胞的炎症反应,减低炎细胞的浸润。低剂量与高剂量干预组略有差异。正常鼠10-HDA高剂量干预组与正常对照组相比未见形态学改变。

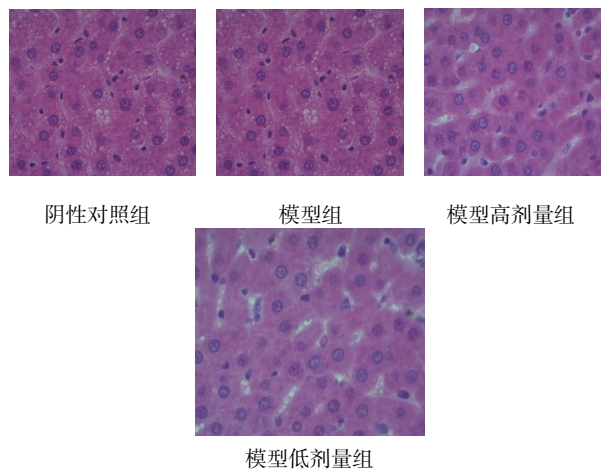


表1 蜂王浆醇提取物(10-HDA)对酒精诱导急性肝损伤小鼠肝脏病理分析

组别	剂量 (mg/kg·bw)	动物(只)	炎细胞浸润 分级	肝细胞坏死 分级
阴性对照组	0	10	0	0
模型对照组	0	10	2	2
低剂量	60	10	1	1
高剂量	120	10	1	0
蜂王浆醇提取物无肝损伤组	120	10	0	0

2.3 蜂王浆醇提取物(10-HDA)对酒精诱导急性肝损伤小鼠肝组织中TG含量的影响

模型组与阴性对照组比较,肝组织中TG含量升高并有统计学意义($P<0.05$)表2,表示模型成立。蜂王浆醇提取物高、低剂量组与模型组相比TG下调有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

表2 蜂王浆醇提取物(10-HDA)对酒精诱导急性肝损伤小鼠肝组织中TG活性的影响

组别	剂量 (mg/kg·bw)	动物(只)	TG (mmol/Lg肝组织)
----	------------------	-------	--------------------

阴性对照组	0	10	0.017 ± 0.005
模型对照组	0	10	0.028 ± 0.003 ^a
低剂量	60	10	0.020 ± 0.007 ^{ab}
高剂量	120	10	0.018 ± 0.006 ^b

注：与阴性对照组比较 $a < 0.01$, $a1 < 0.05$, $a2 > 0.05$ 。与模型对照组比较 $b < 0.01$, $b1 < 0.05$, $b2 > 0.05$

2.4 蜂王浆醇提取物 (10-HDA) 对酒精诱导急性肝损伤小鼠肝脏 GSH、MDA 的影响

模型组 GSH 活性与正常组相比降低, 差异有极显著性 ($p < 0.01$)。蜂王浆醇提取物高、低剂量组与模型组比较 GSH 活性均显著升高 ($p < 0.01$, $p < 0.05$)。模型组 MDA 较正常组下降, 具有极显著性差异 ($P < 0.01$)。蜂王浆醇提取物高、低剂量组较模型组比较 MDA 显著下降 ($P < 0.01$) 表 3。

表 3 蜂王浆醇提取物 (10-HDA) 对酒精诱导急性肝损伤小鼠肝脏 GSH、MDA 的影响

组别	剂量 (mg/kg · bw)	动物 (只)	GSH(mg/gPro)	MDA(nmol/ mg 组织)
阴性对照组	0	10	3.52 ± 1.02	0.51 ± 0.10
模型对照组	0	10	2.62 ± 0.83 ^a	0.97 ± 1.17 ^a
低剂量	30	10	3.47 ± 0.94 ^b	0.32 ± 1.61 ^{ab}
高剂量	120	10	3.78 ± 1.06 ^{ab}	0.29 ± 1.45 ^{ab}

注：与正常组比较 $a < 0.01$, $a1 < 0.05$, $a2 > 0.05$

与模型组比较 $b < 0.01$, $b1 < 0.05$

3 讨论

研究表明, 蜂王浆醇提取物 (10-HDA) 作为蜂王浆中的主要活性成分和质量评估的一个指标, 其已被体外研究证明具有多种药理学影响。如抗肿瘤、免疫调节、促进胶原蛋白的产生、促进神经再生等效应。蜂王浆醇提取物 (10-HDA) 是一种具有组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (HDACi) 活性的中链脂肪酸^[3,10, 11, 12]。它是一类广谱组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 而组蛋白去乙酰化酶抑制剂最近成为有效的消炎药^[11]。蜂王浆醇提取物 (10-HDA) 可能有助于治疗免疫介导的炎症性疾病机制^[12]。是否对化学性肝脏炎症具备相同的作用机理尚不明晰。

肝脏作为人体核心代谢器官, 功能相当复杂, 与三大有机物代谢、转化及解毒等机能有关。作为人体主要的解毒器官, 外来的或体内代谢产生的有毒物质都要经肝脏处理, 变成毒性较小或溶解度大的物质, 随胆汁或尿液排出体外。我们实验结果显示蜂王浆醇提取物的主要成分 10-HDA 对酒精诱导肝组织损伤具有较好的保护作用。

总之, 10-HDA 化学稳定性好, 对人体无害。作为蜂王浆主要活性成分, 它对人体多种器官多种病理生理状态调节作用机制知之甚少, 仍然有待更多科学工作者深入和广泛的研究。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家标准 GB9697-2008, 蜂王浆
- [2] 陈亚玲, 张晶. 蜂王浆的研究进展[J]. 食品研究与开

发. 2015, 36(1): 148

[3] J Wang, W Zhang, H Zou, et al. 10-Hydroxy-2-decenoic acid inhibiting the proliferation of fibroblast-like synoviocytes by PI3K - AKT pathway[J]. International Immunopharmacology, 2015, 28: 97 - 104.

[4] Astrid Spannhoffl, Yong KeeKiml, Noel J, et al. Histone deacetylase inhibitor activity in royal jelly might facilitate caste switching in bees[J]. EMBO reports, 2011, 12(3).

[5] 徐小冬, 俞利平, 尹洪萍. 慢性酒精性肝损伤小鼠 COX-2、TNF- α 的表达及蜂王浆的干预作用[J]. Healthy Research, 2011, 31(1): 4 - 8.

[6] 赵瑞林. E-10-羟基-2-癸烯酸在制备肝脏疾病的药品或保健品的应用: 中国, 104825435 A[P]. 2015-08-12.

[7] 赵瑞林. E-10-羟基-2-癸烯酸在防治化学肝损伤的药物或保健品中的应用: 中国, 104622861 A [P]. 2015-05-20.

[8] 茹清静, 施维群, 李天等. 10-羧基-2-癸烯酸及蜂王浆防治小鼠肝纤维化的实验研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2010, 20 (3).

[9] 凌树森, 周慧萍, 唐春萍等. 10-羟基癸烯酸在动物体内吸收、分布、代谢和排泄[J]. 药理学, 1988, 23 (1): 1 - 7.

[10] Astrid Spannhoff, Yong KeeKim, Noel J.-M. Raynal, et al. Histone deacetylase inhibitor activity in royal jelly might facilitate caste switching in bees[J]. EMBO reports, 2011, 12(3): 238 - 243.

[11] F. Blanchard, C. Chipoy, Histone deacetylase inhibitors: new drugs for the treatment of inflammatory diseases[J]. Drug Discov. Today, 2005, 10: 197 - 204.

[12] A.M. Grabiec, S. Krausz, W. de Jager, T. Burakowski, D. Groot, M.E. Sanders, et al. Histone deacetylase inhibitors suppress inflammatory activation of rheumatoid arthritis patient synovial macrophages and tissue[J]. J. Immunol, 2010, 184: 2718 - 2728.

[13] L.C. Huber, J. Stanczyk, A. Jungel, S. Gay, Epigenetics in inflammatory rheumatic diseases[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56: 3523 - 3531.

[14] M.D. Shahbazian, M. Grunstein, Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation[J]. Annu. Rev. Biochem, 2007, 76: 75 - 100.

[15] J. Gillespie, S. Savic, C. Wong, A. Hemphshall, M. Inman, P. Emery, et al., Histone deacetylases are dysregulated in rheumatoid arthritis and a novel histone deacetylase 3-selective inhibitor reduces interleukin-6 production by peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64: 418 - 422.

[16] Kohlmeier L: Biomarkers of fatty acids exposure and breast cancer risk[J]. Am J Clin Nutr, 1997, 66(6 Suppl): 1548S - 1556S.

[17] Vucevic D, Melliou E, Vasiljic S, Gasic S, Ivanovski P, Chinou I, Colic M: Fatty acids isolated from royal jelly modulate dendritic cell-mediated immune response in vitro[J]. Int Immunopharmacol, 2007, 7: 1211 - 1220.