

蔬菜汁、乙醇对四氯化碳致毒中华大蟾蜍 脂质过氧化和转氨酶活性的影响

陈志超, 薛鑫燕, 王伟, 孙建梅*

(徐州师范大学, 江苏徐州 221116)

摘要:以四氯化碳(CCl_4)致毒中华大蟾蜍为肝损伤动物模型,观察胡萝卜、西红柿、甘蓝、莴苣、芹菜、洋葱、茄子、青菜 8 种蔬菜的混合汁、乙醇分别对致毒的中华大蟾蜍谷草转氨酶活性及谷丙转氨酶活性的影响,并探讨其可能的机制。结果显示,单纯四氯化碳致毒组肝脏血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶活力均明显高于混合蔬菜汁干预组($P < 0.01$),而显著低于乙醇干预组($P < 0.01$)。表明混合蔬菜汁对四氯化碳所致的肝损害有保护作用,乙醇则会加重四氯化碳对肝脏的损害。

关键词:中华大蟾蜍;混合蔬菜汁;乙醇;四氯化碳;肝脏;转氨酶

中图分类号: Q959.5; Q95-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2009)06-0886-03

Effects of Vegetables Juice and Ethanol on the Activity of Aminotransferase of *Bufo bufo gargarizans* Poisoned by Carbon Tetrachloride

CHEN Zhi-chao, XUE Xin-yan, WANG Wei, SUN Jian-mei*

(Xuzhou Normal University, Xuzhou, Jiangsu Province 221116, China)

Abstract: In present study, we detected the effects of eight species of vegetable juice including carrots, tomatoes, cabbage, lettuce, celery, onions, eggplant and Chinese cabbage, and ethanol on the activity of partate aminotransferase and alanine aminotransferase of *Bufo bufo gargarizans* after peritoneal injection with carbon tetrachloride (CCl_4). The underlying mechanism was also discussed. Our results demonstrated that the activities of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the serum of the animals treated with CCl_4 were significantly higher than those of the groups intervened with the mixed vegetable juice ($P < 0.01$), but lower than those of the groups intervened with ethanol ($P < 0.01$). These suggest that the mixed vegetable juice can alleviate the liver injury induced by CCl_4 , whereas ethanol can aggravate the injury.

Key words: *Bufo bufo gargarizans*; mixed vegetable juice; ethanol; carbon tetrachloride; liver; transaminase

四氯化碳(CCl_4)用途广泛,目前主要作为化工原料、溶剂清洗剂,是一种很强的亲肝毒物,可引起肝细胞脂肪积聚增加,氨基酸利用率降低,膜磷脂交换减少,线粒体呼吸改变,细胞内 ATP 浓度受抑制及细胞钙含量增高,导致肝细胞坏死和脂肪浸润,并可导致肝硬变(周炯亮,1988)。 CCl_4 在肝内代谢活化生成三氯甲基自由基($\cdot\text{CCl}_3$)和三氯甲基过氧自由基($\cdot\text{OOCCL}_3$),二者能与亚细胞结构的脂质和蛋白质发生共价结合,抑制肝细胞内的甘油三酯以极低密度脂蛋白的形式运出肝外,使甘油三酯在肝细胞内蓄积,造成肝细胞内质网等膜性成分的脂质过氧化,导致蛋白质合成障碍,脂质分解代谢紊乱,从而损伤肝细胞,致使胞质液成分 ALT、AST 等释至胞外,血清 ALT、AST 活性明显增高及相关生理生化指

标改变(张锦周等,1998; Ms, 1999; Wasser *et al.*, 1999; 赵敏等,2002; 黄根牙等,2004)。近年来,国内外学者通过大量研究,基本认为脂质过氧化是四氯化碳中毒性肝损害的一种机理(周炯亮,1988)。

乙醇(ethyl alcohol, EA)为中枢神经系统抑制剂,可促进四氯化碳的吸收,加重中毒症状。长期酗酒可引起慢性胃炎、脂肪肝、肝硬化、心肌损害等。

有研究表明,补充维生素能减轻肝脏的化学性损伤作用,乙醇可促进四氯化碳的吸收,加重中毒症状。本研究试图通过急性整体动物实验,观察胡萝卜、西红柿、甘蓝、莴苣、芹菜、洋葱、茄子、青菜 8 种蔬菜的混合蔬菜汁对中华大蟾蜍转氨酶活性及其总蛋白量的影响,探讨混合蔬菜汁在四氯化碳急性中毒所致肝损害中的保护机制,以期对混合蔬菜汁治

收稿日期:2008-12-31 修回日期:2009-04-09

作者简介:陈志超(1987~),男,2005级生物技术专业学生 * 通讯作者 Corresponding author, E-mail: sunjianmei@xznu.edu.cn

疗化学性肝损伤提供实验依据;同时研究乙醇对四氯化碳中毒的影响,为防止四氯化碳中毒以及中毒的治疗提供参考。目前毒理实验所研究的对象都是小白鼠等哺乳动物,很少涉及两栖类。本实验以两栖类中华大蟾蜍为研究对象,可供两栖类的相关研究参考,也为研究两栖类与哺乳类的代谢、循环系统的异同提供了实例。

1 材料与方法

1.1 实验动物

中华大蟾蜍若干只,于 2008 年 6 月在徐州师范大学泉山校区玉泉河附近捕捉,从中挑选体重 40 g \pm 6.0 g、无残肢、断肢、表皮无破损、红肿等健康的雄性蟾蜍作为实验对象。

1.2 主要药品、试剂及主要仪器设备

混合蔬菜汁、乙醇、四氯化碳,谷草转氨酶(AST)试剂盒购自南京建成生物研究所,ALT 试剂盒购自中生北控生物研究所。UV7504 型紫外/可见分光光度仪、石英比色皿、水浴锅、离心机、玻璃匀浆器。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组 按随机原则将 48 只中华大蟾蜍分为 4 组,即:(A)正常对照组,(B)CCl₄ 致毒组,(C)CCl₄ + 乙醇干预组,(D)CCl₄ + 100% 混合蔬菜

汁组。实验前观察 1 周,称量并记录蟾蜍体重。

1.3.2 样品制备 给蟾蜍编号,按 10 ml/kg 腹部皮下注射 5% 的四氯化碳溶液(5 ml 的四氯化碳溶液充分溶于 100 ml 花生油)。分别于后 24 h、48 h、72 h、96 h 将各组蟾蜍随机处死 3 只。采用心脏静脉穿刺取血法采集血液,用 EP 管收集血液,静置 10 ~ 20 min 后离心制备血清(血清应无溶血,淡黄色。故最好血液尽量多采集,如果一管出现溶血可选用另一管),用于测定谷丙转氨酶、谷草转氨酶活力。

1.3.3 血清谷丙转氨酶和血清谷草转氨酶活力 使用 UV7504 型紫外/可见分光光度仪测定样品的吸光度值,得出血清中谷丙转氨酶(ALT)和血清谷草转氨酶(AST)的活力。

1.4 统计学分析

将各组实验数据以生物统计学方法,在计算机上应用 SPSS8.0 软件处理,对实验结果进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 四氯化碳对谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性的影响

四氯化碳致毒后中华大蟾蜍血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)活力见表 1。可见致毒后血清 ALT、AST 活性均高于对照组($P < 0.05$),表明四氯化碳对中华大蟾蜍肝脏有一定的影响。

表 1 CCl₄ 处理对中华大蟾蜍血清 ALT、AST 活性(IU/L)的影响
Table 1 Effect of CCl₄ on ALT, AST activity (IU/L) of *Bufo bufo gargarizans* blood serum

时间 (d)	血清 AST 活性		血清 ALT 活性	
	正常对照组	CCl ₄ 组	正常对照组	CCl ₄ 组
1	74.33 \pm 5.13	83.00 \pm 4.58	8.96 \pm 5.69	20.11 \pm 0.78 *
2	65.00 \pm 12.12	90.67 \pm 4.16 *	11.35 \pm 1.75	24.27 \pm 1.47 **
3	63.33 \pm 2.52	88.67 \pm 13.58 *	10.20 \pm 2.82	27.73 \pm 5.41 *
4	67.33 \pm 5.69	106.33 \pm 2.52 **	12.53 \pm 2.48	25.93 \pm 4.66 *

注:CCl₄ 0.5 ml/kg(溶于色拉油),与正常对照组比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: CCl₄ 0.5 ml/kg(dissolved in salad oil),compared with normal group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2.2 混合蔬菜汁、乙醇对四氯化碳致毒大蟾蜍谷草转氨酶(AST)活性的影响

由表 2 可见,第 1 d 蟾蜍对四氯化碳和蔬菜汁吸收较慢,四氯化碳毒性没有完全表现,蔬菜汁还未能发挥保护作用,乙醇能够加速四氯化碳的毒害作用。第 3 ~ 4 d 四氯化碳、蔬菜汁和乙醇都已经起到了一定作用,蔬菜汁的保护作用和乙醇的加速毒害作用都得到了充分的发挥,第 4 d 四氯化碳对肝脏的毒害作用和乙醇的加速毒害作用得到充分的表现,在蔬菜汁的作用下蟾蜍肝脏损害基本消失。

2.3 混合蔬菜汁、乙醇对四氯化碳致毒中华大蟾蜍

谷丙转氨酶(ALT)活性的影响

由表 3 可见,第 1 d 四氯化碳致毒组、乙醇干预组与正常组比较差异显著($P < 0.05$),第 2 d 四氯化碳致毒组、乙醇干预组与正常组比较差异极其显著($P < 0.01$),四氯化碳对蟾蜍肝脏造成了损害,乙醇干预组及四氯化碳致毒组相比差异极其显著($P < 0.01$),乙醇的确促进了四氯化碳的吸收,加重了毒害,蔬菜汁组与致毒组和乙醇干预组比较由无明显差异到差异极其显著,说明蔬菜汁对四氯化碳所致的肝损害确实有保护作用。

表 2 各种情况对中华大蟾蜍血清谷草转氨酶 (AST) 活性的影响
Table 2 Effects on AST activity of *Bufo bufo gargarizans* blood serum in four conditions

时间(d)	正常对照组	CCl ₄ 致毒组	CCl ₄ + 乙醇组	CCl ₄ + 100% 蔬菜汁组
1	74.33 ± 5.13	83.00 ± 4.58	107.33 ± 15.50#	84.67 ± 9.02*
2	65.00 ± 12.12	90.67 ± 4.16*	141.67 ± 21.22*#	76.67 ± 2.52#+
3	63.33 ± 2.52	88.67 ± 13.58*	145.00 ± 6.56**##	67.33 ± 4.51*##++
4	67.33 ± 5.69	106.33 ± 2.52**	149.33 ± 13.32**#	67.33 ± 4.04##++

注:与正常对照组比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 CCl₄ 组比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与 CCl₄ + 乙醇组比,+ $P < 0.005$,++ $P < 0.001$ 。活性单位为卡门氏单位,1 卡门氏单位 = 0.482 IU/L,25℃

Note: compared with normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with CCl₄ group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; compared with CCl₄ add ethyl alcohol group, + $P < 0.005$, ++ $P < 0.001$; n = 2; the activity unit is Kallmann unit, 1 Kallmann unit = 0.482 IU/L, 25℃

表 3 各种情况对中华大蟾蜍血清 ALT 活性的影响
Table 3 Effects on ALT activity of *Bufo bufo gargarizans* blood serum in four conditions

时间(d)	正常对照组	CCl ₄ 致毒组	CCl ₄ + 乙醇组	CCl ₄ + 100% 蔬菜汁组
1	8.96 ± 5.69	20.11 ± 0.78*	22.26 ± 2.41*	19.22 ± 1.46
2	11.35 ± 1.75	24.27 ± 1.47**	53.23 ± 1.08**##	16.87 ± 1.40*##++
3	10.20 ± 2.82	27.73 ± 5.41*	59.50 ± 2.52**##	11.69 ± 1.28#+
4	12.53 ± 2.48	25.93 ± 4.66*	53.23 ± 1.08**##	11.83 ± 0.63#+

注:与正常对照组比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 CCl₄ 组比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与 CCl₄ + 乙醇组比,+ $P < 0.005$,++ $P < 0.001$ 。活力单位为 U/L

Note: compared with normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with CCl₄ group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; compared with CCl₄ add ethyl alcohol group, + $P < 0.005$, ++ $P < 0.001$; n = 2; the activity unit is U/L

3 讨论

数据分析显示给蟾蜍腹腔注射四氯化碳溶液可造成蟾蜍急性肝损伤。致毒后血清 ALT、AST 活性均显著高于对照组,解剖可见部分肝脏发生脂肪变性,主要表现为:部分肝脏出现点状、块状斑点,肝脏颜色变成深褐色甚至黑色,肝脏出现碎裂,表明肝脏受到不同程度的损伤。蔬菜汁组在第 4 d 血清 ALT、AST 活性与正常对照组差异无显著性,表明四氯化碳已经代谢排出,肝损伤已基本修复。致毒后第 2 d、第 3 d 蔬菜汁组血清 ALT、AST 活性虽较正常组高,但均低于四氯化碳组,明显低于乙醇干预组,表明蔬菜汁对肝损害有一定的保护治疗作用,乙醇的确能加重肝脏毒害作用。

本实验还表明,在致毒同时给予蟾蜍 100% 的混合蔬菜汁,对四氯化碳引起的脂质过氧化有明显的拮抗作用。可能与蔬菜汁中含有多种抗氧化物质如维生素 C 等可清除三氯甲基自由基有关。维生素 C 是一种水溶性抗氧化剂,其分子含有特殊的烯醇式结构,非常容易释放氢原子,达到清除自由基的作用,其抗氧化能力远强于血浆中的其他抗氧化成分

如硫醇蛋白、维生素 E 等,维生素 C 是体内抗氧化剂的第一防线,在其消耗之前血浆中不发生过氧化 (Frei, 1991),不仅可以有效地清除水中的各种自由基,而且也能通过增强维生素 E 的活性来保护膜免受损伤。

4 参考文献

- 黄根牙,倪润洲,张家栋,等. 2004. 凯西莱对四氯化碳致小鼠肝毒性保护作用的研究[J]. 南通医学院学报,24(4):383~386.
- 张锦周,庄志雄. 1998. 四氯化碳急性染毒对大鼠肝脏脂质过氧化的影响[J]. 中国公共卫生学报,17(6):341~342.
- 赵敏,杨杏芬,池莉平,等. 2002. 小鼠急性四氯化碳肝损伤模型的建立及在保健食品筛选中的应用[J]. 华南预防医学,28(5):5~8.
- 周炯亮. 1988. 四氯化碳毒理学研究进展[J]. 职业医学,15(2):47~49.
- Frei B. 1991. Ascorbic acid protects lipids in human plasma and low density lipoprotein against oxidative damage[J]. Am J Clin Nutr, 54 (Sup. 6): 113~118.
- Ms J de Foww. 1999. Carbon Tetrachloride [R]. National Institute of Public Health and Environment.
- Wasser S, Tan CE. 1999. Experimental models of hepatic fibrosis in the rat[J]. Singapore: Ann Acad Med, 28(1): 109~111.