

冷压初榨椰子油对四氯化碳致小鼠 急性肝损伤的保护作用

陈鑫沛,董颖,杨浩铎,王莹莹,王东营,汪学德

(河南工业大学粮油食品学院,郑州450001)

摘要:研究了冷压初榨椰子油对四氯化碳(CCl_4)诱导昆明小鼠急性肝损伤的保护作用。将72只昆明小鼠随机分成6组,包括正常组、四氯化碳肝损伤模型组、联苯双酯组(150 mg/kg)、椰子油低剂量组(5 mL/kg)、椰子油中剂量组(10 mL/kg)、椰子油高剂量组(20 mL/kg),通过测定小鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)指标,肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)活力、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力及丙二醛(MDA)含量,采用HE染色切片对小鼠肝脏组织进行病理学检查,考察冷压初榨椰子油对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用。结果表明:与模型组相比,不同剂量组的冷压初榨椰子油(5、10 mL/kg和20 mL/kg)可以不同程度地降低小鼠血清中ALT、AST、LDH、TG、TC水平以及肝组织中MDA含量,提高肝组织中SOD活力与GSH-Px活力;同时,肝脏组织病理学观察与生化指标检测结果一致。其中,高剂量的冷压初榨椰子油(20 mL/kg)作用效果优于阳性对照联苯双酯。研究表明冷压初榨椰子油对肝脏具有较好的保护作用,作用机制可能与其含有较多的抗氧化物质以及功能性物质有关。

关键词:冷压初榨椰子油;肝损伤;保护作用;四氯化碳

中图分类号:TS225.1;R965.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)04-0077-05

Hepatoprotective effects of virgin cold – pressed coconut oil against carbon tetrachloride induced acute liver injury in mice

CHEN Xinpei, DONG Ying, YANG Haoduo, WANG Yingying,
WANG Dongying, WANG Xuede

(College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The hepatoprotective effects of virgin cold – pressed coconut oil (VCPCO) against carbon tetrachloride (CCl_4) induced acute liver injury in Kunming (KM) mice were studied. A total of 72 Kunming mice were randomly divided into 6 groups, including normal group, CCl_4 liver injury model group, bifendate group (150 mg/kg), coconut oil low dosage group (5 mL/kg), coconut oil medium dosage group (10 mL/kg) and coconut oil high dosage group (20 mL/kg). The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), triglyceride (TG), total cholesterol (TC) in serum, and superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH – Px) and malondialdehyde (MDA) in liver were determined. The liver tissue was examined pathologically by HE staining section. The results showed that VCPCO with dosages of 5, 10 mL/kg and

20 mL/kg could decrease the levels of ALT, AST, LDH, TG, TC in serum and MDA in liver, and increase the levels of SOD and GSH – Px in liver. Meanwhile, the results of liver histopathology were consistent with those of biochemical markers. Among them, the effect of

收稿日期:2021-04-23;修回日期:2021-11-20

基金项目:河南省科技攻关项目(192102110210)

作者简介:陈鑫沛(1997),女,在读硕士,研究方向为油脂制取理论与技术(E-mail) chenjjpei@sina.com。

通信作者:王东营,副教授,博士(E-mail) dywang@haut.edu.cn。

high dosage of VCPCO (20 mL/kg) was better than the positive control bifendate. Results indicated that VCPCO had a good protective effect on liver, and the mechanism might be related to its high content of antioxidative and functional compounds.

Key words: virgin cold – pressed coconut oil; liver injury; protective effect; carbon tetrachloride

冷压初榨椰子油是于低温条件下对新鲜椰子果肉进行压榨所得的植物油。高含量的中链脂肪酸使椰子油在机体中具有较低的脂肪转化率;同时与传统精炼椰子油相比,冷压初榨椰子油在加工过程中没有经过高温、脱色、脱臭等处理,减少了营养成分与活性物质的损失^[1-3]。冷压初榨椰子油在清除自由基、降低小鼠胆固醇与抗 DNA 氧化损伤等方面都具有功效^[4-5]。

四氯化碳(CCl_4)是一种可致肝损伤的化合物,被广泛用于模拟人类肝脏在药物作用下产生的急性损伤^[6-8]。现常用 CCl_4 诱导急性肝损伤的动物模型,特别是啮齿动物模型,研究植物提取物、黄酮类化合物、多糖和植物油等对急性肝损伤动物模型的保护作用^[9-10]。现有研究表明,杏仁油、橄榄油、梔子油等皆具有缓解肝损伤的作用^[11-13]。基于此,本文通过 CCl_4 动物模型探索冷压初榨椰子油对小鼠急性肝损伤的抑制效果,旨在为其药用研发提供科学基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF 级昆明种雄性小鼠(体重 18 ~ 22 g),由河南省动物实验中心提供(生产许可证 SCXK(豫)2017-0001),动物房温度 20 ~ 25 °C,湿度 55% ~ 75%,小鼠在实验前常规条件下饲养两周。

1.1.2 主要试剂

椰子油(产于菲律宾),京东商城;总胆固醇(TC)、丙氨酸转氨酶(ALT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、天冬氨酸转氨酶(AST)、甘油三酯(TG)测定试剂盒,南京建成生物有限公司;联苯双酯滴丸,北京协和药厂;一级花生油,山东鲁花集团有限公司;色谱纯正己烷、四氯化碳和其他分析纯试剂,郑州新丰实验设备有限公司。

1.1.3 主要仪器

Flexstation3 多功能酶标仪、HM340E 切片机,美国 Thermo 公司;PHX-150H 光学显微镜,重庆光学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 CCl_4 肝损伤模型的建立

将 72 只昆明小鼠随机分成 6 组,包括正常组、四氯化碳肝损伤模型组、联苯双酯组(150 mg/kg)、椰子油低剂量组(5 mL/kg)、椰子油中剂量组(10 mL/kg)、椰子油高剂量组(20 mL/kg)。正常组和四氯化碳肝损伤模型组给予小鼠 10 mL/kg 的生理盐水,其他各组按照相应的剂量进行灌胃操作。在喂养期间,每隔 3 d 记录小鼠的体重,每天监测小鼠的摄食量与摄水量。连续喂养 14 d 后,除正常组外,其余各组分别于腹腔注射 0.8% 的 CCl_4 (5 mL/kg, CCl_4 溶于花生油里)用于急性肝损伤建模。在注射完所有小鼠后,所有组都严格禁食 16 h,期间正常供应饮用水。

1.2.2 肝脏生化指标的测定

从小鼠眼静脉取血样,放置 2 h 后离心,按试剂盒说明书检测 ALT、AST、LDH、TG、TC 水平。通过颈脱位处死小鼠后立即解剖获得肝脏。然后切除肝脏右叶的一部分并置于 10% 福尔马林中,另一部分用生理盐水制成 10% 的肝匀浆,离心,取上清液,按试剂盒说明书检测 GSH-Px、SOD 活力及 MDA 含量。

1.2.3 肝脏组织学分析

将保存于福尔马林中肝组织进行脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、展开、HE 染色后,使用光学显微镜(400 ×)进行肝组织损伤程度的观察。

1.2.4 数据处理与分析

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计与分析,结果均以“平均值 ± 标准偏差”表示,并采用 GraphPad Prism 8 绘图。

2 结果与分析

2.1 冷压初榨椰子油对小鼠食量和体重的影响(见表 1)

由表 1 可知:在摄水量方面,与正常组小鼠相比,椰子油低、中剂量组小鼠的摄水量显著降低($P < 0.05$),而其他各组小鼠的摄水量没有显著变化;在摄食量方面,与正常组小鼠相比,联苯双酯对小鼠的摄食量没有显著影响,而椰子油组小鼠的摄食量显著减少($P < 0.05$),且椰子油剂量越高,摄食量越少。这是因为椰子油中有近 50% 的中链脂肪

酸甘三酯^[14],水解后直接转化为中链脂肪酸从而增加小鼠的饱腹感,所以随着小鼠摄入椰子油剂量的

增加,其摄食量会相应减少。同时,从体重变化上看,摄入椰子油对小鼠体重的增长没有消极影响。

表1 冷压初榨椰子油对急性肝损伤小鼠食量与体重的影响

组别	体重/g			摄食量/(g/d)	摄水量/(mL/d)
	初始	终止	差值		
正常组	45.52 ± 3.46	55.60 ± 2.60	10.08	9.52 ± 1.42 ^c	12.51 ± 1.22 ^b
CCl ₄ 组	45.18 ± 3.44	54.34 ± 4.57	9.16	8.71 ± 1.08 ^{bc}	12.40 ± 0.77 ^{ab}
联苯双酯组	47.76 ± 4.02	57.30 ± 3.68	9.54	9.03 ± 1.26 ^c	12.26 ± 2.11 ^{ab}
低剂量组	44.46 ± 3.84	56.80 ± 3.92	12.34	8.10 ± 0.82 ^b	10.87 ± 1.18 ^a
中剂量组	45.38 ± 4.09	55.80 ± 3.68	10.42	7.69 ± 1.32 ^b	11.86 ± 1.85 ^a
高剂量组	45.52 ± 2.42	56.75 ± 4.32	11.23	5.75 ± 0.83 ^a	12.06 ± 1.95 ^{ab}

注:同列数据不同小写字母代表差异显著($P < 0.05$)。

2.2 冷压初榨椰子油对小鼠血清指标的影响(见表2)

当肝细胞受到损伤后,细胞膜被破坏,丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)通过肝细胞进入到血液循环系统中,因此这3个指标可用来反映肝损伤程度。由表2可知,正常组的血清中,AST、ALT、LDH 3种酶的活性都较为正常,分别为87.9、35.9、4343.8 U/L。与正常组相比,CCl₄组小鼠的肝细胞膜被CCl₄损坏严重,3种酶活性都显著提升($P < 0.05$),表明小鼠肝损伤模型建立成功。服用保肝药联苯双酯的小鼠其各项指

标虽然比正常组高出很多,但是相比CCl₄组具有明显的抑制作用($P < 0.05$)。同时,与CCl₄组相比,不同剂量椰子油组小鼠的3种酶的活性也有所下降,而高剂量组最为显著($P < 0.05$),证明椰子油具有抑制肝细胞受损的作用。与ALT、AST、LDH 3种酶的情况相似,甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)在肝脏受到损伤后,浓度明显增加($P < 0.05$)。与CCl₄组相比,高剂量椰子油组小鼠血清中TG、TC的浓度显著下降($P < 0.05$)。根据结果可知,高剂量的冷压初榨椰子油可有效缓解因CCl₄导致的急性肝损伤。

表2 冷压初榨椰子油对急性肝损伤小鼠血清指标的影响

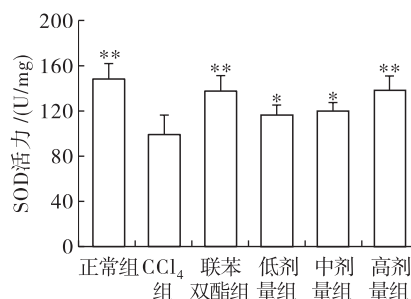
组别	AST/(U/L)	ALT/(U/L)	LDH/(U/L)	TG/(mmol/L)	TC/(mmol/L)
正常组	87.9 ± 18.9 ^a	35.9 ± 12.4 ^a	4343.8 ± 291.7 ^a	2.3 ± 0.0 ^a	6.0 ± 0.8 ^a
CCl ₄ 组	244.0 ± 20.8 ^d	208.8 ± 32.4 ^d	7208.2 ± 751.6 ^d	3.8 ± 0.7 ^c	8.9 ± 1.0 ^c
联苯双酯组	206.2 ± 38.5 ^c	159.7 ± 12.0 ^b	6153.2 ± 58.5 ^c	3.1 ± 0.2 ^b	7.1 ± 0.9 ^{ab}
低剂量组	212.1 ± 33.8 ^c	186.6 ± 6.0 ^c	6481.6 ± 412.4 ^c	3.5 ± 0.2 ^{bc}	7.9 ± 1.8 ^c
中剂量组	205.1 ± 28.1 ^b	175.0 ± 16.7 ^{bc}	5773.1 ± 750.6 ^{bc}	3.4 ± 0.1 ^b	7.5 ± 0.6 ^b
高剂量组	173.2 ± 42.1 ^b	135.6 ± 39.6 ^b	5516.7 ± 483.4 ^b	2.9 ± 0.2 ^b	6.6 ± 1.0 ^a

2.3 冷压初榨椰子油对小鼠肝组织SOD活力、GSH活力及MDA含量的影响(见图1~图3)

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内清除自由基的特异性酶,在平衡机体氧化与抗氧化中起到至关重要的作用;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)是一种小分子肽,作为体内重要的抗氧化剂和自由基清除剂,其消耗程度也反映了肝损伤的程度;丙二醛(MDA)是脂质过氧化的重要产物,通过其含量可反映机体细胞受自由基攻击的程度^[15]。因此,通过测定肝匀浆中这3个生物指标可以评价小鼠的肝细胞损伤程度。

由图1~图3可知,小鼠受到CCl₄造成的急性肝损伤后,肝匀浆中的GSH-Px和SOD活力急剧降低($P < 0.01$),MDA含量急剧增加($P < 0.01$)。联苯双酯组小鼠3种指标的情况得到极显著缓解

($P < 0.01$)。同时,低、中、高剂量椰子油组小鼠的肝损伤情况得到不同程度的缓解($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中高剂量椰子油对3种指标的改善程度要优于阳性对照联苯双酯。



注: *表示与CCl₄组相比显著差异($P < 0.05$); **表示极显著差异($P < 0.01$)。下同

图1 椰子油对急性肝损伤小鼠肝组织SOD活力的影响

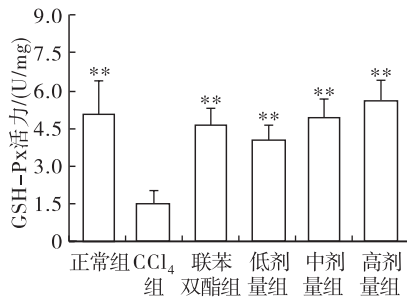


图2 椰子油对急性肝损伤小鼠肝组织GSH-Px活力的影响

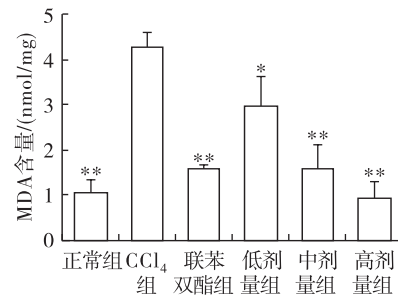


图3 椰子油对急性肝损伤小鼠肝组织MDA含量的影响

2.4 肝脏病理学检查

图4是光学显微镜下小鼠肝组织切片图。

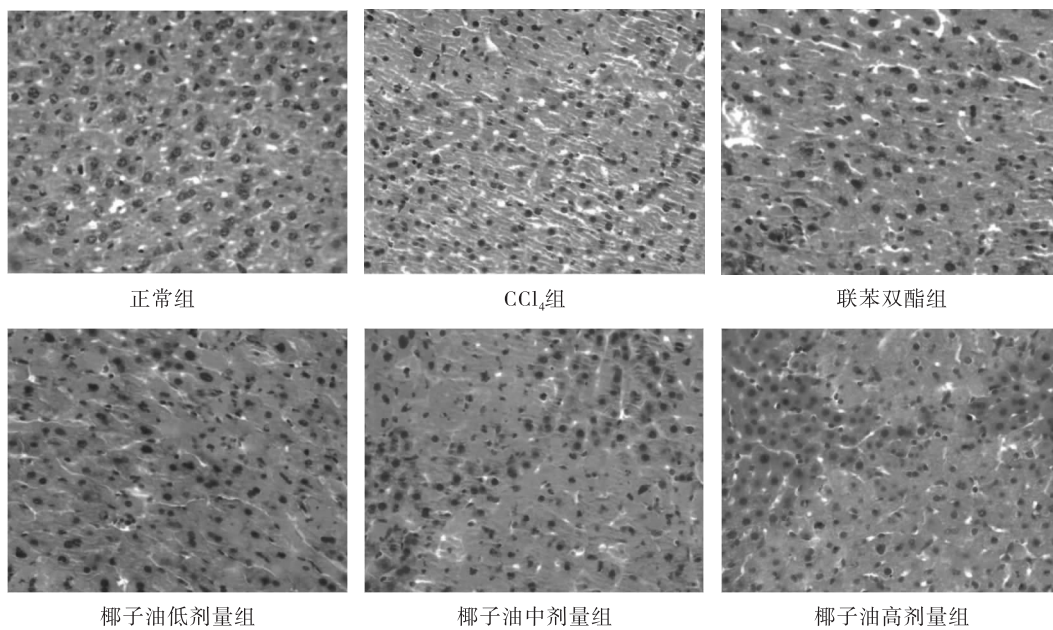


图4 椰子油对急性肝损伤小鼠肝组织病理学的影响(400×)

由图4可以看出:正常组小鼠的肝细胞完整,排列有序,细胞核圆且位于细胞中央,细胞质保存完好;而CCl₄组小鼠的肝脏呈现出出血与纤维化现象,产生了空泡细胞与再生结节,并伴随细胞萎缩或破裂;与CCl₄组相比,联苯双酯组和椰子油组小鼠的肝损伤情况得到不同程度的改善,特别是高剂量椰子油组的保护效果比联苯双酯组更好,这与2.2和2.3结果相呼应。由此可知,冷压初榨椰子油的摄入对CCl₄诱导的肝损伤具有明显的保护作用。

3 结论

对冷压初榨椰子油进行CCl₄诱导肝损伤模型实验,从体重、肝生化指标的实验数据中可知,高剂量(20 mL/kg)椰子油能够显著抑制ALT、AST与LDH活性的增加,缓解TG与TC的上升,同时使SOD活力、MDA含量与GSH-Px活力恢复近正常值。从肝脏病理学检查中也可看出,服用椰子油的小鼠肝脏切片细胞情况得到不同程度的改善。由此

可知,冷压初榨椰子油对CCl₄诱导的急性肝损伤有较好的保护作用,其中高剂量组(20 mL/kg)的效果甚至优于阳性对照联苯双酯(150 mg/kg)。因此,冷压初榨椰子油具有成为一款营养健康的保肝护肝产品的潜力。

参考文献:

- [1] SENEVIRATNE K N, HAPUARACHCHIL C D, EKANAYAKE S. Comparison of the phenolic - dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot conditions[J]. Food Chem, 2009, 114: 1444 - 1449.
- [2] 沈晓君,李瑞,邓福明,等. 初榨椰子油在烘焙食品中的应用[J]. 中国油脂,2019,44(8):147 - 149.
- [3] 夏秋瑜,李瑞,唐敏敏,等. 天然椰子油的组分及其对花生油氧化稳定性的影响[J]. 中国粮油学报,2012,27(9):64 - 66,70.
- [4] 段奇君,邓福明,赵松林,等. 椰子油的生理活性(Ⅲ): 抗氧化活性[J]. 热带农业科学,2013,33(9):71 - 78.

(下转第86页)

- 284 – 290.
- [35] 申文雯, 戚小红. $n-3$ 多不饱和脂肪酸对注意缺陷多动障碍小鼠脑组织炎症的影响[J]. 山西医科大学学报, 2020, 51(1): 75 – 78.
- [36] AL OMAIRI N E, AL – BRAKATI A Y, KASSAB R B, et al. Soursop fruit extract mitigates scopolamine – induced amnesia and oxidative stress via activating cholinergic and Nrf2/HO – 1 pathways [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(3): 853 – 864.
- [37] KANDA N, HOASHI T, SAEKI H. Nutrition and psoriasis [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5405 [2021 – 07 – 01]. <https://doi.org/10.3390/ijms11155405>.
- [38] LI X X, BI X Y, WANG S, et al. Therapeutic potential of $\omega-3$ polyunsaturated fatty acids in human autoimmune diseases [J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2241 [2021 – 07 – 01]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02241>.
- [39] WANG X Z, ZHU M Q, HJORTH E, et al. Resolution of inflammation is altered in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement*, 2015, 11: 40 – 50.
- [40] 魏宏敏, 于继徐, 刘振川, 等. 环氧二十碳三烯酸在脑出血中的作用研究进展[J]. 中华神经医学杂志, 2020, 19(1): 93 – 97.
- [41] ALASHMALI S M, LIN L, MARC – OLIVIER T, et al. The effects of $n-6$ polyunsaturated fatty acid deprivation on the inflammatory gene response to lipopolysaccharide in the mouse hippocampus [J]. *J Neuroinflamm*, 2019, 16(1): 918 – 934.
- [42] ALASHMALI S M, KITSON A P, LIN L, et al. Maternal dietary $n-6$ polyunsaturated fatty acid deprivation does not exacerbate post – weaning reductions in arachidonic acid and its mediators in the mouse hippocampus [J]. *Nutr Neurosci*, 2017, 20: 1 – 12.
- [43] D'ANGELO S, MOTTI M L, MECCARIELLO R. $\omega-3$ and $\omega-6$ Polyunsaturated fatty acids, obesity and cancer [J/OL]. *Nutrients*, 2020, 12(9): 2751 [2021 – 07 – 01]. <https://doi.org/10.3390/nu12092751>.
- [44] MAKI K C, EREN F, CASSENS M E, et al. $\omega-6$ Polyunsaturated fatty acids and cardiometabolic health: current evidence, controversies, and research gaps [J]. *Adv Nutr*, 2018, 9(6): 688 – 700.
- [45] KUMAR N G, CONTAIFER D, MADURANTAKAM P, et al. Dietary bioactive fatty acids as modulators of immune function: implications on human health [J/OL]. *Nutrients*, 2019, 11(12): 2974 [2021 – 07 – 01]. <https://doi.org/10.3390/nu11122974>.
- [46] 王天栋. 多不饱和脂肪酸对睡眠剥夺大鼠学习记忆的影响和可能机理[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2020.
-
- (上接第 80 页)
- [5] MARINA A M, CHE M Y B, NAZIMAH S A H, et al. Chemical properties of virgin coconut oil [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2009, 86: 301 – 307.
- [6] LIU F P, LIN Y X, LI Z, et al. Glutathione S – transferase A1 (GSTA1) release, an early indicator of acute hepatic injury in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 71: 225 – 230.
- [7] 伍沙沙, 王延, 徐婷, 等. 八月瓜对四氯化碳所致肝损伤小鼠的保护作用 [J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(4): 163 – 165, 174.
- [8] 徐博, 田晶, 马宁, 等. 肝损伤动物模型的研究进展 [J]. *中国当代医药*, 2019, 26(14): 38 – 40, 44.
- [9] 张守堂, 光新兰, 李璐, 等. 药物性肝损伤及其治疗药物研究进展 [J]. *武警医学*, 2016, 27(6): 625 – 627.
- [10] 杨铁戈, 梁爽, 周波. 中药治疗肝硬化研究进展 [J]. *中国民族民间医药*, 2019, 28(8): 68 – 71.
- [11] JIA X Y, ZHANG Q A, ZHANG Z Q, et al. Hepatoprotective effects of almond oil against carbon tetrachloride induced liver injury in rats [J]. *Food Chem*, 2011, 125: 673 – 678.
- [12] AL – SEENI M N, EL R H A, ZAMZAMI M A, et al. The hepatoprotective activity of olive oil and *Nigella sativa* oil against CCl₄ induced hepatotoxicity in male rats [J/OL]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16: 438 [2021 – 04 – 23]. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1422-4>.
- [13] 张风波, 罗光明, 肖日传, 等. 梔子油对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. *中国油脂*, 2017, 42(7): 128 – 131.
- [14] 程敏, 塔巍, 刘睿杰, 等. 精炼工艺对椰子油品质的影响 [J]. *中国油脂*, 2018, 43(7): 1 – 5.
- [15] 孙家昌, 孙妩弋, 厉歆然, 等. 不同浓度四氯化碳诱导小鼠肝纤维化模型的比较 [J]. *实验动物与比较医学*, 2018, 38(4): 255 – 260.