DOI:10.19789/j.1004-9398.2017.06.012



# 油橄榄叶提取物对酒精性肝活性物质的影响*

王 昱

(陇南师范高等专科学校农林技术学院,陇南特色农业生物资源研究开发中心,甘肃 成县 742500)

## 摘 要

目的:观察油橄榄叶提取物(olive leaf extract,OLE)对酒精性肝损伤的保护作用及机制. 方法:用递增法灌胃食用乙醇24周建立大鼠肝损伤模型,造模同时用OLE(250,500,1000 mg/kg)进行灌胃治疗. 利用生物显微技术观察肝脏组织结构的变化,检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)水平,用放射免疫法检测肝脏肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素1(IL-1β)含量,比色法检测肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)活性及丙二醛(MDA)含量. 结果显示,与模型组比较,OLE治疗后,血清ALT、AST、TG、TC水平降低;肝脏TNF-α、IL-1β、MDA的含量呈降低趋势,SOD、CAT、GR水平均显著升高. OLE对酒精性肝损伤有一定的保护作用,机制可能与其减少自由基损伤、减轻炎症反应有关.

关键词:油橄榄叶提取物,酒精,炎症因子,抗氧化能力.
中图分类号:R285.5

脂肪变性是酒精性肝病最早和最常出现的损伤形式,长期酗酒者约90%以上可发展成脂肪肝,若不加重视,它可在短期内发展为不可逆的肝损伤. 研究表明发生酒精性脂肪肝后,肝细胞肿大压迫肝血窦造成窦间隙变窄,使肝细胞缺氧,长时间就会导致肝细胞变性和坏死,并促进肝纤维化的发生[1]. 然而,由于酒精性脂肪肝的发病机制尚未完全明确,目前针对酒精性脂肪肝仍缺少有效的靶向治疗方法.

油橄榄叶提取物(olive leaf extract, OLE)是从油橄榄叶中提取的组分,主要成分为黄酮类和萜类内酯化合物,有降血糖、抗高血压及抗微生物作用,还有促进骨骼钙化、防治骨质疏松、预防钙质流失等作用[2-5],近年来药理研究发现具有很好的抗氧化、降血脂、排铅等作用[6-9]. 然而,油橄榄叶抑制酒精性肝损伤的作用尚未有报道. 因此,本研究拟以乙醇诱导大鼠肝损伤模型,从抗氧化能力、炎症反应、细胞凋亡变化等方面,探讨油橄榄叶提取物(OLE)对酒精性肝损伤大鼠的保护作用及其作用机制.

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

油橄榄叶提取物:陇南田园油橄榄科技开发有限公司提供.

SOD、CAT、GR、MDA试剂盒(南京建成生物工程研究所);TNF-α、IL-1β试剂盒(武汉博士德生物工程研究所).

U-1800型UV-VIS全自动分光光度计(日本Tokyo),SpectraMax M5型酶标仪(Molecular Devices,美国),BS-300型全自动生化分析仪(深圳迈瑞);高速台式冷冻离心机(TGL-16M,Beckman美国).

50只健康♂性SD大鼠,SPF级,购于兰州大学实验动物中心,许可证号:SCXK(甘)2005-0007,体质量200~250 g.

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 动物模型的建立与给药

50只大鼠随机分随机分为5组,即正常组、模型组、OLE低剂量组(I)、OLE中剂量组(II)和OLE高剂量组(III),每组10只. 参照文献[10],除正常组外,其他各组采用剂量递增法灌胃食用乙醇:1~4周

收稿日期:2017-01-17
* 甘肃省高等学校科研资助项目(1128B-01);甘肃省陇南市科技计划项目(2016-11);陇南师专校级教改项目(JXGG201616).



(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

5.0 g/kg,5 ~ 8 周 7.0 g/kg,9 ~ 12 周 9.0 g/kg,13 ~ 24 周 9.5 g/kg,每日 1 次. 造模同时,I、II、III 治疗组分别灌胃 250, 500, 1 000 mg/kg OLE,每日 1 次,连续 24 周.

**1.2.2　血生化指标测定**

各组实验动物均乙醚麻醉,摘眼球采血, 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,用全自动生化分析仪测定 ALT、AST 水平,用甘油三酯试剂盒提供的磷酸甘油氧化酶-PAP( APO-PAP) 酶法测定 TG 活性,用总胆固醇试剂盒提供的胆固醇氧化酶-PAP( CHOD-PAP) 酶法测定 TC 活性.

**1.2.3　酶活性测定**

末次给药后,取大鼠肝脏,用预冷的生理盐水洗净血液,滤纸吸干,精确称重,匀浆,3 000 r/min 离心 10 min,按试剂盒的操作要求测定肝脏 SOD、CAT、GR 的活性及 MDA 的含量.

**1.2.4　炎症因子及细胞凋亡检测**

末次给药后,迅速取肝,洗净,冰浴匀浆,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,采用放射免疫法中的液相竞争法和平衡法测定肝组织 TNF-α、IL-1β 含量,具体方法按照检测试剂盒说明书操作.

**1.2.5　数据处理**

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 13.0 软件进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2　结　果

### 2.1　OLE 对大鼠血清 ALT、AST、TG、TC 水平的影响

与正常组相比,模型组大鼠血清 ALT、AST、TG、TC 水平升高,而 OLE 治疗后大鼠血清 ALT、AST、TG、TC 水平明显降低,且呈剂量依赖性,OLE 浓度越高,抑制作用越明显,见图 1.

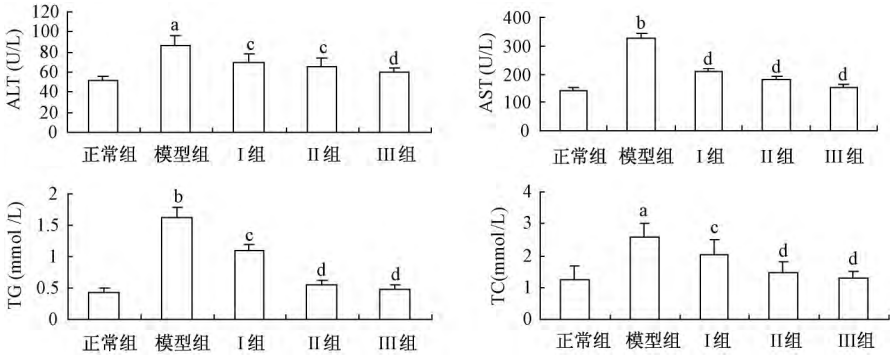



图 1　OLE 对大鼠血清 ALT、AST、TG、TC 水平的影响

注: 模型组与正常组比较 a $P < 0.05$, b $P < 0.01$　治疗组与模型组比较 c $P < 0.05$, d $P < 0.01$.

### 2.2　OLE 对大鼠肝 TNF-α、IL-1β 含量的影响

与正常组相比,模型组大鼠肝 TNF-α、IL-1β 含量显著升高,而 OLE 治疗后大鼠肝 TNF-α、IL-1β 含量显著降低,且呈剂量效应,见图 2.

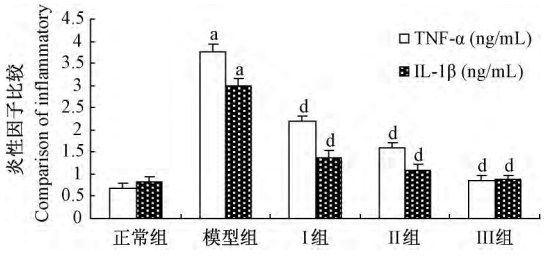



图 2　OLE 对大鼠肝 TNF-α、IL-1β 含量的影响

注: 模型组与正常组比较　a $P < 0.05$, b $P < 0.01$

治疗组与模型组比较　c $P < 0.05$, d $P < 0.01$.

### 2.3　OLE 对大鼠肝组织抗氧化指标的影响

与正常组相比,模型组大鼠肝组织 SOD、CAT、GR 活性显著降低,MDA 含量显著增高,而 OLE 治疗后肝组织 SOD、CAT、GR 活性显著升高,MDA 含量显著降低,且呈剂量效应,见图 3.

## 3　讨　论

酒精性肝损伤是由于长期过度饮酒,使肝细胞反复发生脂肪变性、坏死和再生所引起的一种疾病[10],具有可逆性,这为临床及时治疗提供了重要依据. 关于酒精性肝损伤的发病机制,近年来的研究表明,细胞因子、自由基损害等在酒精性肝损伤发病机制中起重要作用. 目前,在治疗方面以戒酒、营养支持为主,其他试用药物均不理想,且大多都有副作用,故本研究拟用油橄榄叶提取物 OLE 来探讨其对酒精性肝损伤的保护作用.

脂肪肝最主要的特征是肝细胞脂肪沉积,肝脂含量是观察脂肪性肝病发展的一个重要指标,而



(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

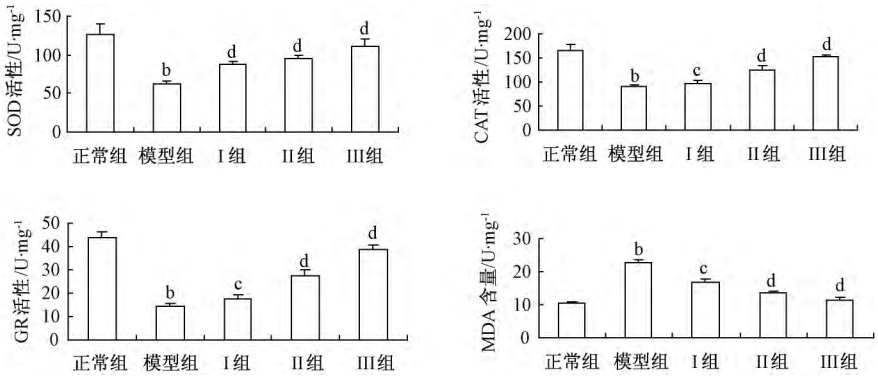



**图3 OLE 对大鼠肝组织 SOD、CAT、GR 活性及 MDA 含量的影响**

**注: 模型组与正常组比较** a $P<0.05$, b $P<0.01$ **治疗组与模型组比较** c $P<0.05$, d $P<0.01$.

临床上脂肪肝患者的血脂异常主要表现为 TG、TC 水平的升高[11]. 长期饮酒会导致肝细胞发生损伤, 肝细胞膜通透性增加及线粒体损伤, 大量的血清标志物酶 ALT 和 AST 释放入血, 致使血中 ALT 和 AST 水平升高[12-13]. 研究表明正常肝内转氨酶的含量约为血中的 100 倍, 1% 的肝特异性细胞坏死即可使血清酶活性增加 1 倍[14]. 因此, 转氨酶是肝细胞受损的敏感标志, 对血清酶的检测有助于判断脂肪肝是否已并发脂肪性肝炎[15]. SOD 广泛存在于机体细胞中, 可以使自由基经过歧化而被清除, 使机体免受自由基的损伤. CAT 存在于红细胞及某些组织细胞的微体中, 催化 $H_2O_2$ 转化为 $H_2O$ 和 $O_2$, $H_2O_2$ 不能在膜外与 $Fe^{2+}$ 或 $Cu^{2+}$ 反应生成 OH 自由基, 使其失去活性氧的作用, 保护机体. GR 的作用就是将氧化型的谷胱甘肽还原成还原型的谷胱甘肽, 参与自由基和脂类过氧化物损伤的防护. MDA 是超氧化物阴离子自由基作用于生物膜磷脂结构不饱和脂肪酸所形成的终产物之一, 机体组织 MDA 含量可间接反映机体细胞受自由基攻击的严重程度[16-17]. 酒精等异物打破肝脏氧化与抗氧化平衡, 引起氧化应激反应, 促使肝细胞中的氧化剂耗尽或失活, 最终导致细胞坏死或凋亡. 除了氧化损伤, 细胞因子的代谢异常也是酒精性肝病的一大特点, 如致炎症因子 TNF-α、IL-1 等的大量表达[18].

本实验观察到, 模型组大鼠肝组织 TNF-α、IL-1β、MDA 及血清 TG 和 TC 水平显著增加, SOD、CAT、GR 水平降低; 血清 ALT、AST 水平显著增高. 经 OLE 治疗后, 肝组织 TNF-α、IL-1β、MDA 及血清 TG 和 TC 水平显著降低, SOD、CAT、GR 水平显著升高; 血清 ALT、AST、TG 和 TC 水平显著降低. 这提示 OLE 能改善肝功能, 清除肝损伤大鼠体内氧自由基, 下调肝组织中的炎症介质 TNF-α、IL-1β 的表达, 减轻肝组织脂肪变性程度, 从而起到保护肝的作用.

综上所述, OLE 能有效减轻肝组织的病理损伤, 对慢性酒精性肝损伤有显著的保护作用, 其机制可能与提高肝组织的抗氧化能力、缓解炎症因子反应. 本研究初步证实, 油橄榄叶提取物作为一种天然产物, 可作为预防和治疗的肝损伤、肝纤维化的一种有潜在价值的药物, 值得更进一步的开发研究.

## 参 考 文 献

[1] 祁瑞瑞. 马齿苋提取物对大鼠酒精性脂肪肝的预防作用及机制探讨[D]. 上海: 第二军医大学, 2012: 2-3.

[2] Turkez H, Togar B, Polat E. Olive leaf extract modulates permethrin induced genetic and oxidative damage in rats [J]. Cytotechnology, 2012, 64(4): 459-464.

[3] 王昱. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠心肌乳酸脱氢酶活性和抗氧化能力的影响[J]. 首都师范大学学报: 自然科学版, 2013, 34(3): 41-44.

[4] Kontogianni V G, Gerothanassis I P. Phenolic compounds and antioxidant activity of olive leaf extracts [J]. Nat Prod Res, 2012, 26(2): 186-189.

[5] Goulas V, Papoti V T, Exarchou V, et al. Contribution of falconoid to the overall radical scavenging activity of olive



(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(olea europaea L.) leaf polar extracts [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(6): 3303 – 3308.

[6] 王昱, 王胜青. 油橄榄叶提取物和美沙酮对海洛因依赖大鼠肝功能及 TGF – β1 和 Smad4 表达的影响 [J]. 首都师范大学学报: 自然科学版, 2015, 36(4): 52 – 57.

[7] Esmaeili-Mahani S, Rezaeezadeh-Roukerd M, Esmaeilpour K, et al. Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract elicits antinociceptive activity, potentiates morphine analgesia and suppresses morphine hyperalgesia in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 132(1): 200 – 205.

[8] Kaeidi A, Esmaeili-Mahani S, Sheibani V, et al. Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract attenuates early diabetic neuropathic pain through prevention of high glucose-induced apoptosis: in vitro and in vivo studies [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 136(1): 188 – 196.

[9] Wang Y, Wang S Q, Cui W H, et al. Olive leaf extract inhibits lead poisoning-induced brain injury [J]. Neural Regen Res, 2013, 8(22): 2021 – 2029.

[10] 赵赶, 吕淑娟, 韦刚, 等. 委陵菜积雪草酸对大鼠酒精性肝损伤的保护作用 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14): 2866 – 2870.

[11] Andrea Tannapfel, Berenike Flott-Rahmel. Histopathological diagnosis of non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease [J]. Liver Biopsy in Modern Medicine, 2011: 13 – 34.

[12] 彭文锋, 钟政永. ADA 与 ALT、AST、GGT 联合检测在肝脏疾病诊断中的意义 [J]. 当代医学, 2011, 17(9): 4 – 5.

[13] 吕元. 临床实验诊断学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 44 – 47.

[14] Stranges S, Dorn J M, Muti P, et al. Body fat distribution, relative weight, and liver enzyme levels: a population-based study [J]. Hepatology, 2004, 39(3): 754 – 763.

[15] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南 [J]. 药品评价, 2007, 4(2): 229 – 232.

[16] Nassir F, Ibdah J A. Role of mitochondria in alcoholic liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(9): 2136 – 2142.

[17] Rump T J, Abdul Muneer P M, Szlachetka A M, et al. Acetyl-L-carnitine protects neuronal function from alcohol-induced oxidative damage in the brain [J]. Free Radic Biol Med. 2010, 49(10): 1494 – 1504.

[18] Neri M, Bello S, Bonsignore A, et al. Myocardial expression of TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10 and MCP-1 after a single MDMA dose administered in a rat model [J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2010, 11(5): 413 – 420.

# Effects of Olive Leaf Extract on Active Substance of Alcohol Hepatic

Wang Yu

(College of Agriculture and Forestry, Center for Research & Development of Longnan Characteristic Agro-bioresources, Longnan Teachers College, Chengxian Gansu 742500)

**Abstract**

Objective: the aim of the study was to explore protection role of olive leaf extract (OLE) on alcohol hepatic injury. Methods: a hepatic injury model of rat by using edible alcohol was established with increasing dosage for twenty-four weeks. In the process of experimental hepatic injury, the rats were given OLE at doses of 250, 500 or 1 000 mg/kg by intragastric administration. The changes of liver histological structure were observed by bio-microscopy. The levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) in serum were tested. The contents of tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-1β (IL-1β) in liver were detected by radioimmunoassay. Spectrophotometry was used to detect the

(下转第 74 页)



(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

informal science education; in the system and the management level, optimize teacher training methods designed to improve science literacy, especially focus on improving teachers' level of education and educational research capabilities. In this way, development of science education in our country could be achieved.

**Key words:** scientific literacy, science education, reflection.

**作者简介** 吴晗清(1981 -),男,汉族. 教育学博士,心理学博士后. 首都师范大学化学教育研究所副教授. 主要从事科学教育研究. E-mail: wuhanqing1981@aliyun.com.

(上接第 67 页)

activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR) and malondialdehyde (MDA) content in liver. Results: compared with the model group, after the treatments of OLE, the levels of TG, TC, ALT, AST, TNF-α, IL-1β, MDA were significantly decreased, the activities of SOD, CAT and GR were significantly increased. Further experiments found that OLE decreased liver injury. Conclusion: OLE has a protective effect on alcohol hepatic injury, due to reduce free radical lesion and relieve inflammatory response.

**Key words:** olive leaf extract, alcohol, inflammatory factors, antioxidant capacity.

**作者简介** 王昱(1973 -),男,天水人,硕士,教授,研究方向:天然产物药理、细胞与发育生物学. E-mail: gswangyu@126.com.



(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net