

荞麦花叶芦丁干预抗结核药物性肝损伤小鼠的效果观察

陈阳 谭彭聪 何坤晖^(通讯作者)

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要:目的:分析荞麦花叶芦丁干预抗结核药物性肝损伤大鼠的效果。方法:60只小鼠均分为健康组、模型组、西药组、芦丁组,每组15只。比较各组小鼠干预前后ALT、AST、MDA、GSH含量的统计学差异。结果:干预后4项相关指标(ALT、AST、MDA、GSH)含量进行比较,西药组和模型组之间、芦丁组和模型组之间的差异均有统计学意义($P < 0.05$),芦丁组和西药组之间的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论:抗结核药物性肝损伤小鼠分别使用荞麦花叶芦丁和西药异甘草酸镁进行干预,两者能产生相类似的肝脏保护效果。

关键词:荞麦花;叶芦丁;抗结核药物;肝损伤;大鼠

肝脏对于人体代谢、氧化还原、免疫调节、维护微环境平衡等重要的有重要的意义,一旦各种致损伤因素使肝脏发生病理改变,会导致肝功能受损,甚至会使肝脏功能衰竭严重可至死亡。抗结核性药物性肝损伤指在使用抗结核药物的过程中,由于药物或其代谢产物引起的肝细胞毒性损伤或肝脏对药物及其代谢产物的变态反应所致的病理过程,可表现为无症状丙氨酸氨基转移酶升高,也可呈急性肝炎表现,甚至发生暴发性肝细胞坏死^[1-2]。由于抗结核性药物肝损伤患者既已发生肝脏损伤,采取相关药物西药干预可能会进一步加大患者肝脏负担,因此尤为必要从中药层面研发相关药物以缓解患者肝脏负担的同时改善预后。

1 动物与方法

1.1 研究动物:取60只KM品系SPF级的小鼠(5周龄)进行研究,初始体重22-25g,雌雄各半,适应性培养后进行研究。

1.2 结核药物性肝损伤小鼠造模:采用利福平混悬液连续灌胃小鼠7-21天,或者利用利福平混悬液、异烟肼混悬液连续混合灌胃小鼠7-21天,检查用药后小鼠的指标,当肝脏指数 $\geq 8.00\%$ 、血液中丙氨酸氨基转移酶水平 $\geq 90.00\text{U/L}$ 、天门冬氨酸氨基转移酶水平 $\geq 190.00\text{U/L}$ 、总胆红素水平 $\geq 45.00\mu\text{mol/L}$,且采用Metavir分级标准进行肝组织病理评分,每组病理检查样本量为10只小鼠,肝组织病理评分 ≥ 15 分时,则以抗结核药物为诱因的肝损伤小鼠动物模型构建成功。

1.3 荞麦花叶芦丁制备:称取荞麦花叶100g,加10倍体积水煎煮30min后,过滤,滤渣加入5倍水后煎煮20min过滤。合并2次滤液并加热浓缩至100mL,使药液浓度相当于含生药量1g/mL。浓缩后保留备用。

1.4 分组干预:健康组(不作任何处理)、模型组(造模成功后

予生理盐水灌胃)、西药组(造模成功后予异甘草酸镁干预)、芦丁组(造模成功后予芦丁干预)4组。模型组、西药组、芦丁组小鼠单次灌胃剂量均为40mg/20g,总体积保持一致。

1.5 数据采集:干预前和干预后(14d)分两次采集小鼠尾部静脉血,静置2h后,3500r/min离心10min,取上层血清备用。用BK-600型全自动生化仪(济南千司生物技术有限公司,中国)对谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)进行检测。同时,按照试剂盒说明书用考马斯亮蓝法测定小鼠肝组织蛋白质浓度,测定肝组织丙二醛(MDA)、还原性谷胱氨酶(GSH)的吸光度值,通过公式计算含量。

1.6 统计分析:用SPSS 20.0建立数据库并统计分析,计量资料用($\bar{x} \pm s$)描述,四组比较用F检验,两两分组比较用两独立样本t检验,组内比较采用配对t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模成功情况的描述

模型组、西药组、芦丁组均为抗结核药物性肝损伤造模成功的小鼠,相比于健康组小鼠,其造模后肝功能4项相关指标(ALT、AST、MDA、GSH)均有异常表达。

2.2 模型组、西药组、芦丁组干预后肝功能相关指标含量的比较

干预后4项相关指标(ALT、AST、MDA、GSH)含量进行比较,西药组和模型组之间、芦丁组和模型组之间的差异均有统计学意义($P < 0.05$),芦丁组和西药组之间的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表2 模型组、西药组、芦丁组干预前和干预后肝功能相关指标含量的比较($\bar{x} \pm s$)

分组	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	MDA (nmol/mg)	GSH (g/L)
模型组	74.63 ± 2.22	25.06 ± 2.12	9.99 ± 1.03	15.74 ± 1.22
西药组	67.98 ± 2.71	22.48 ± 2.11	8.73 ± 1.15	12.56 ± 1.15
芦丁组	67.04 ± 2.49	22.50 ± 2.13	8.75 ± 1.17	12.54 ± 1.10

三组比较: F (P)	19.850 (0.000)	24.377 (0.000)	9.915 (0.000)	12.258 (0.000)
西药组和模型组: t (P)	7.892 (0.000)	3.426 (0.001)	3.150 (0.003)	7.051 (0.000)
芦丁组和模型组: t (P)	14.973 (0.000)	3.407 (0.001)	3.415 (0.001)	7.645 (0.000)
芦丁组和西药组: t (P)	0.922 (0.433)	0.537 (0.875)	0.615 (0.555)	0.788 (0.651)

3 讨论

芦丁是一种天然类黄酮化合物,广泛分布于植物界尤其是荞麦中,现代药理研究表明荞麦有效成分具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗微生物、抗衰老、保肝等多种药理作用,但关于其具体成分的药效研究依然有限,将其用于肝损伤的干预也多集中于中医临床经验,鲜有机制层面的确证研究,因此强化荞麦花叶芦丁的药效机制探索,对临床保健药物研发及应用可提供坚实的理论基础^[1]。

本研究发现,西药组和模型组之间、芦丁组和模型组之间的差异均有统计学意义,说明无论采取异甘草酸镁或芦丁进行干预,均能对抗结核性药物肝损伤小鼠的肝脏组织和功能产生积极保护作用,一定程度减轻肝脏负担。同时组间比较还发现,芦丁组和西药组小鼠干预后ALT、AST、MDA、GSH含量的差异并无明显差别,说明两种不同护肝药物产生了相似的保护效果。近期,洎首都医科大学的科学家在Br J Pharmacol杂志发表题为文章《Sodium rutin extends lifespan and health span in mice including positive impacts on liver health》,该文章发现芦丁钠可以通过自噬维持肝脏健康,并显著延长了小鼠的健康寿命^[2]。具体分析芦丁发挥肝脏保护作用的机制,可能与如下几点有关:第一,芦丁具有清除超氧阴离子、清除抗氧离子、抗氧化及保护线粒体的作用,并可增强机体SOD活性,抗脂质氧化的同时促进自由基清除。第二,芦丁还可能通过抗炎作用对小鼠肝脏产生一定程度的保护作用。在炎症发生时,会有许多炎症因子(如细胞因子、活性氧、信号分子等)的产生,芦丁通过抑制环加氧酶和脂加氧酶的活性,从而减少炎症的发生^[3]。在体外培养人皮肤角质形成细胞试验中,使用芦丁和抗坏血酸的混合物显著降低紫外线诱导的促炎症因子NF- κ B和促凋亡蛋白的表达,表明使用芦丁和抗坏血酸可能对紫外线诱导的皮肤损伤起到细胞保护作用。Arowoogun等研究发现,芦丁可以降低环氧化酶-2和诱导型一氧化氮合酶浓度,表明芦丁对LPS诱导的肝组织损伤中,对减少NF- κ B通路的激活,抑制iNOS和血管细胞间黏附分子的产生,最终减少中性粒细胞浸润可能均会产生积极效应。除此之外,其发挥药效还可能与芦丁对微生物增殖产生了积极抑制效果有关。芦丁的抑菌机制是芦丁的酚羟基与病原微生物的细胞膜亲水基团相互作用,使磷脂双分子层的流动性发生改变,影响细胞膜的电子传递链,从而抑制病原微生物的生长。芦丁的酚羟基结构可以与金属离子发生螯合作用增强其抑菌效果^[4]。相关抑菌圈试验发现,芦丁对多种细菌均有较好的抑制作用,例如大肠杆菌和葡萄球菌等,而且当芦

丁达到一定浓度时可以对细菌产生杀灭效果^[5],但是该项研究尚未结合抑菌效果相关指标进行深入分析,后续研究有待加以完善。

综上,抗结核药物性肝损伤小鼠分别使用荞麦花叶芦丁和西药异甘草酸镁进行干预,两者能产生相类似的短期肝脏保护效果,但由于观测时间相对较短,其长期效果如何,荞麦花叶芦丁发挥肝脏保护的具体机制如何尚需后续研究进一步深入探究。总的来说,芦丁作为一种来源广泛的黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、提高动物生产性能等特点,在缓解动物氧化应激、炎症和增强免疫能力等方面具有广阔的应用前景和开发潜力。到目前为止,有关于芦丁的研究主要集中在生产性能、抗炎、抗氧化等方面,未见其作用机制报道,为了填补这一方面的空白,需要深入研究其对机体产生生物学活性的作用机制,如信号通路、作用靶点、与靶点结合模式的研究等。

参考文献:

- [1]储金秀,李倩,李光民,等.荞麦中芦丁对免疫性肝损伤小鼠肝脏超微结构的影响[J].华西药理学杂志,2015,30(2):190-192.
- [2]金芳多.黄酮类化合物对肝细胞氧化损伤的保护作用研究进展[J].吉林医药学院学报,2022,43(3):222-225.
- [3]胡亚敏.芦笋活性成分提取纯化及对化学性/酒精性肝损伤的保护作用研究[D].安徽医科大学,2023.
- [4]刘辉,刘芳芳,周勇兵等.芦丁激活腺苷酸活化蛋白激酶 α 蛋白表达减轻全氟辛酸染毒小鼠肝脏损伤[J].卫生研究,2021,50(4):609-614.
- [5]陈永平.菊苣总黄酮的提取、分离、纯化及对急性酒精性肝损伤的保护作用[D].南京师范大学,2022.
- [6]杨佳明,孟宪兰,王丹萍,等.柳蒿化学成分的含量测定及肝损伤保护作用的研究[J].人参研究,2020,32(04):40-44.
- [7]黄思超,袁晓斌,钟劲松,等.曲克芦丁脑蛋白水解物注射液致儿童急性肝损伤及血小板减少1例[J].中国药物警戒,2018,15(5):319-320.

作者简介:陈阳,长沙医学院2021级本科临床医学5班,在读。

通讯作者:何坤晖,长沙医学院附属医院院长

项目基金:2019年湖南省大学生创新创业计划项目湘教通(2019)219号2418