

利福平胶囊和注射液对小鼠肝、胃、白细胞的影响

曾文权 杜雅云 刘芸毓 何婧 刘晖

(长沙医学院医学影像学院 湖南长沙 410000)

摘要:目的:为了从生化、细胞、形态学水平比较利福平胶囊和注射液对正常组织器官的影响大小。研究方法:将26只成熟KM小鼠(8周)随机分为对照组(B组)、胶囊组(R胶组)、注射组(R注组),B组雄雌各3只,R胶组、R注组雄雌各5只在相同环境下分开实验,对照组正常饲养,胶囊组灌胃给予利福平胶囊溶液(20 mg/kg/day,0.6 mg/pc/day),注射组腹腔注射利福平溶液(20 mg/kg/day,0.01 mL/pc/day),第8周取样进行肝功能、血常规检查及胃组织切片观察。结果 R 胶组服药后存活率降低,雄鼠死亡3只,中止1只,雌鼠死亡1只,R注组雄鼠死亡1只,雌鼠死亡1只,余鼠存活良好。白细胞:R胶组、R注组白细胞均高于B组,R胶组白细胞高于R注组,无显著性差异($P>0.05$)。丙氨酸氨基转移酶(ALT):R胶组、R注组ALT均低于B组,R注组ALT低于R胶组,无显著性差异($P>0.05$)。天门冬氨酸氨基转移酶(AST):R胶组、R注组AST均高于B组,R胶组AST低于R注组,无显著性差异($P>0.05$)。胃组织:R胶组、R注组小鼠主/壁细胞分界均向基底层移动,R注组雄鼠见一例胃黏膜鳞状上皮增生。结论 注射液对正常小鼠具有更高存活率,对白细胞影响较小,而对小鼠肝、胃组织影响较大,建议不断开展研究证实。

关键词:利福平不同剂型;肝功能;胃组织;白细胞

利福平(Rifampicin, RFP)是利福霉素SV的人工半合成产品,其抗菌谱广且作用强大,对静止期和繁殖期的细菌均有抑制作用,能增加链霉素等抗结核药物的抗菌活性。RFP不仅对结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)及麻风杆菌(*Mycobacterium leprae*, ML)有作用,亦可杀灭多种G⁺和G⁻球菌。作用机制为特异性地与细菌依赖DNA的RNA多聚酶 β 亚单位结合,阻碍mRNA的合成。RFP单独使用易产生耐药性,但与其他抗菌药无交叉耐药,临床使用RFP与其他抗结核药物联合使用可治疗各种类型初发和复发的结核病^[1-2]。

耐药结核病尤其是耐多药结核病和广泛耐多药结核病的出现对全球结核病控制带来严峻挑战^[3]。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)《2022年全球结核病报告》,2021年全球新发结核病患者1060万,死亡160万,发病率较2020年升高3.6%,耐药结核病负担增加3%^[4]。

肖俊等人在文献中报道:耐药率并不随年龄的升高而升高,耐药菌在年轻人当中同样具有高比率,且男性患者高于女性^[5]。许建花等人研究表明RFP注射液的疗效和病症吸收情况较RFP胶囊好,不良反应分析显示注射液比胶囊的低^[6]。这就意味着RFP注射液可能作为RFP胶囊的最佳替代药物进入治疗,且可能成为对抗毒株耐药性增强的最佳药物,对临床用药改革具有重要意义。

1 对象与方法

1.1 实验动物

SPF级KM小鼠雄雌各13只,8周周龄,雄性体重31-35g,雌性体重28-32g。购自长沙市天勤生物技术有限公司(购买单号:430726220100360636),饲养于长沙医学院实验动物中心(许

可证号:SYXK(湘)2017-0003),试验期间自由进食与饮水,照明时间为8-20时,温度维持于20℃左右,相对湿度40%-60%。实验动物饲料购自长沙市天勤生物技术有限公司(批号:220912)。本研究取得长沙医学院实验动物福利与伦理委员会同意(批文号:2022019),研究过程所涉数据均受到严格保护。

1.2 主要仪器与试剂

利福平胶囊购自广东华南药业有限公司(批号:220701),利福平注射液购自沈阳双鼎制药有限公司(批号:22070301)。0.9%氯化钠注射液购自湖南科伦制药有限公司(批号:D22081501)。

1.3 实验分组及处理

26只KM小鼠经适应性喂养1周未见明显饮食,行动,性情等异常,随机将雄雌小鼠分为空白组(B组, n=3)、RFP胶囊组(R胶组, n=5)、RFP注射组(R注组, n=5)独立实验。R胶组取0.15gRFP胶囊用75ml生理盐水配置成溶液每只小鼠灌胃0.3ml(20 mg/kg/day^[7],0.6 mg/pc/day),R注组取0.2mlRFP注射液用10ml生理盐水稀释,每只小鼠腹腔注射0.5ml(20 mg/kg/day,0.01 mL/pc/day),B组小鼠不做处理正常喂食。

1.4 样品采集及检测

1.4.1 样品采集 小鼠实验至第8周周日(小鼠不给药)采样,采集小鼠眼球血0.1ml于抗凝试管用于血常规检查,0.5ml于普通试管用于肝功能检查,解剖小鼠取胃组织置于甲醛溶液保存。

1.4.2 检测方法 血常规送长沙医学院附属第一医院使用血球仪BC-6600进行检测,肝功能送长沙医学院附属第一医院使

用东芝 120 生化仪检测, 胃组织切片及染色观察由小组成员于长沙医学院院士工作站借助相关仪器在老师指导下采用石蜡包埋切片 HE 染色法完成。

1.4.3 观察指标 观察记录血常规白细胞水平, 肝功能检测 ALT,AST 水平及胃组织在光学显微镜下主壁细胞, 肌组织分布和厚度, 是否存在异常组织。

1.5 统计学方法

使用 EXCEL 进行数据录入,应用 SPSS26.0 对数据进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 白细胞水平($10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)

B 组白细胞(5.14 ± 2.76) $10^9/L$, R 胶组白细胞(6.74 ± 1.53) $10^9/L$, R 注组白细胞(5.73 ± 2.17) $10^9/L$, 三组小鼠白细胞差异性无统计学意义 ($p > 0.05$) 统计学分析结果如表一, 图 1 所示:

表一: 白细胞统计学分析表

组别	样本量	白细胞 (单位: $10^9/L$)
B 组	6	5.14 ± 2.76
R 胶组	5	6.74 ± 1.53
R 注组	8	5.73 ± 2.17
F		0.702
p		0.510

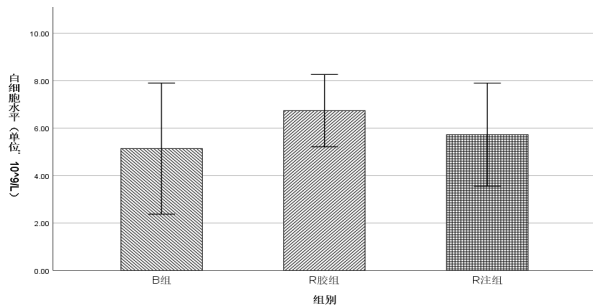


图 1 白细胞统计学分析图

2.2 血清 ALT、AST 水平(U/L, $\bar{x} \pm s$)

B 组丙氨酸氨基转移酶 (72.23 ± 57.33) U/L, R 胶组丙氨酸氨基转移酶 (64.08 ± 55.53) U/L, R 注组丙氨酸氨基转移酶 (57.74 ± 28.67) U/L, 三组小鼠丙氨酸氨基转移酶差异性无统计学意义 ($p > 0.05$), 统计学分析结果如表二, 图 2 所示:

表二: 丙氨酸氨基转移酶统计学分析表

组别	样本量	丙氨酸氨基转移酶 (单位: U/L)
B 组	6	72.23 ± 57.33
R 胶组	5	64.08 ± 55.53
R 注组	8	57.74 ± 28.67
F		0.167
p		0.848

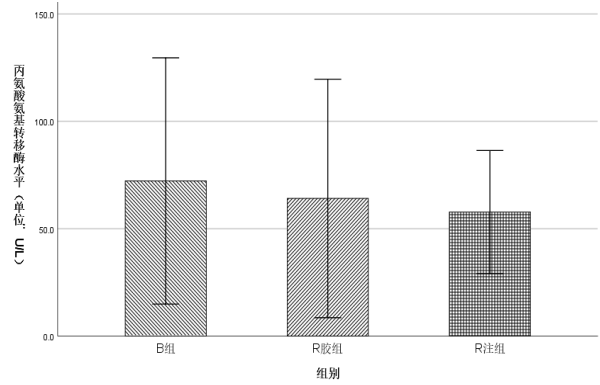


图 2 丙氨酸氨基转移酶统计学分析图

B 组天门冬氨酸氨基转移酶 (255.22 ± 111.53) U/L, R 胶组天门冬氨酸氨基转移酶 (314.20 ± 204.86) U/L, R 注组天门冬氨酸氨基转移酶 (394.75 ± 272.58) U/L, 三组小鼠天门冬氨酸氨基转移酶差异性无统计学意义 ($p > 0.05$), 统计学分析结果如表三, 图 3 所示:

表三: 天门冬氨酸氨基转移酶统计学分析表

组别	样本量	天门冬氨酸氨基转移酶 (单位: U/L)
B 组	6	255.22 ± 111.53
R 胶组	5	314.20 ± 204.86
R 注组	8	394.75 ± 272.58
F		0.729
p		0.498

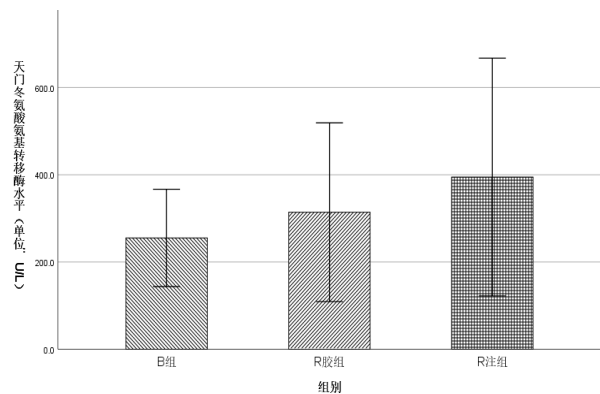


图 3 天门冬氨酸氨基转移酶统计学分析图

2.3 胃组织切片观察结果

B 组在低倍镜下基本可见胃组织大致轮廓, 主壁细胞分界位于下 1/3 处, 肌层组织厚度中等。R 胶组低倍镜下胃组织大小与 B 组接近, 主壁细胞分界见于下 1/4 处, 肌层组织厚度良好。R 注组低倍镜下胃组织较 B 组有扩大, 雄雌间有差异, 雌鼠胃腔较雄鼠大, 主壁细胞分界见于下 1/4, 肌层组织较薄。R

注组取样可见雄鼠低倍镜下胃黏膜广泛鳞状上皮增生一例，典型镜下表现如图 4：

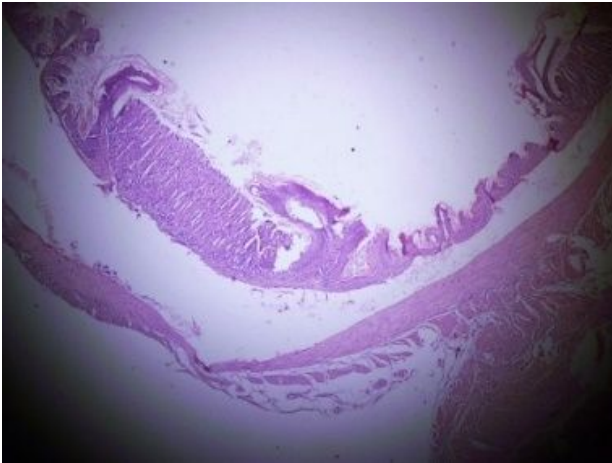


图 4R 注组胃组织增生图 (4×10 倍 HE 染色)

2.4 饮食等一般情况

B 组小鼠全部存活，活动、性情未见明显改变，毛色光亮，平均饮食为 5.00g/d。R 胶组活动度降低，明显抗拒给药，毛色缺乏光泽，于实验第 2、3 周 5 只小鼠前后出现肿物，见于左胸壁，项背部，雄鼠 3 只，死亡 3 只，雌鼠 2 只，死亡 1 只。肿物解剖观察呈黄色乳糜样流体，表面覆有包膜。平均饮食为 4.13g/d。R 注组活动度，性情良好，毛色光亮，雄鼠死亡 1 只，雌鼠死亡 1 只，平均饮食为 5.78g/d。

2.5 其他

R 胶组于第 2 周发现 2 只雄鼠会阴部明显外伤，精神状态不佳，后分开停药正常饲养，第 3 周其中一只发现左上肢内侧壁肿物，后逐渐累及双侧，10 天后死亡。另一小鼠于第 4 周发现左上肢肿物，第 6 周发现腹部背部青紫色，第 8 周取样腹部解剖闻及浓烈氨臭味，小鼠左侧肾脏明显增大，表面不平整，切开可见多发囊腔，内含血性液体。解剖照片见图 5：



图 5R 胶中止组肾脏对比图

3 讨论

RFP 作为临床抗结核治疗的一线药物，临床疗效好，是治疗结核病最有效的药物之一^[8-9]。常见的不良反应包括：胃肠道反应、尿酸升高，肝脏毒性、神经系统反应、过敏反应等^[10]。该研究结果证实以上结论，RFP 胶囊和注射液均可以小鼠的白

细胞，肝脏和胃组织带来影响，RFP 注射液对小鼠白细胞影响低于胶囊，但对于肝脏和胃组织影响则高于胶囊，该结果与许建花等人的研究结果不相符，可能原因与注射液的给药途径有关，陈宏亮等人在研究中关于局部用药说到 RFP 在软组织中穿透力强，可随意在组织中弥散^[11]，Minor RL 等人在研究中阐述哺乳动物腹膜腔对药物的吸收效率较高^[12]，注射液经小鼠腹腔给药并不能避免肝脏的首过消毒作用，反而由于经过腹膜腔对 RFP 的吸收导致血液浓度高于经胃肠道吸收的浓度从而加重肝脏负担。

RFP 导致肝功能损害的机制马玉炯等人研究认为可能与过氧化物酶增殖体激活受体 γ 信号通路、谷胱甘肽转移酶、花生四烯酸相关蛋白等有关，还可能与其对人肝母细胞瘤(HepG2)细胞造成损伤有关^[13]。鲁桓兵研究发现 RAGE/ERS/NF- κ B p65 信号通路参与了 RFP 诱导的 HepG2 细胞损伤过程^[14]。涂倩倩等人证实 FGF15 / FGFR4 信号通路在 RFP 所致小鼠肝损伤中也起着重要作用^[15]。Zhou J 等人研究发现铁蛋白吞噬诱导的铁死亡参与了 RFP 的毒性，抑制铁死亡可显著缓解 RFP 在小鼠模型中的肝毒性^[16]。

该研究结果表明 RFP 胶囊和注射液均可导致正常小鼠的白细胞升高，以往学者对于 RFP 在结核患者治疗中导致白细胞减少的案例报道较多，使用 RFP 导致白细胞升高案例偶有报道，陈水平等人认为白细胞减少的作用机制可能是由于 RFP 可以作为半抗原与白细胞细胞上的蛋白质结合而形成全抗原，并再作用于机体产生抗体，抗原、抗体间相互作用，体内更多的白细胞因聚集而被破坏^[17]。Oliveira LRC 研究显示抗结核治疗可以导致外周学单核细胞 DNA 损伤增加^[18]。吴玉姣等人认为结核病是一种免疫紊乱性疾病，在接受药物治疗的过程中可能发生免疫损害反应^[19]。笔者认为在正常小鼠实验中使用 RFP 导致白细胞升高可能与以上机制导致白细胞减少后正常机体造血系统强大的调节功能产生代偿有关。

梁艳蓉等人在研究中认为 RFP 对胃肠道的影响是由于 RFP 易对胃肠道黏膜产生刺激，从而出现胃肠道反应，Sajad Moradi 等人认为对胃肠道的作用机制为胃蛋白酶在酸性环境中被激活，高活性的胃蛋白酶溶解粘膜聚合物结构，从而导致胃食管十二指肠黏膜破坏，RFP 进入胃腔后在静电力和疏水力的作用下能够形成稳定的蛋白-药物复合物，导致胃蛋白酶的活性增加，从而提高对消化道造成伤害的可能^[20]。肖云等人认为胃肠道反应与药物改变机体 PH 值从而影响胃肠道排泄功能有关^[21]。对于 R 胶组饮食减少的原因可能与此存在联系，R 注组饮食增加可能与 RFP 注射液进入腹腔后对肠壁刺激导致肠蠕动增强有关。胶囊和注射液均导致主细胞向基底层移动，其机制可能与

药物进入机体后影响内分泌功能相关。

该研究以机体功能正常小鼠为对象开展实验,与结核患者机体条件具有较大差异,实验结果证实 RFP 胶囊和注射液对正常机体存在不良影响,经腹腔给药 RFP 注射液对血液系统影响低于胶囊,对肝脏及胃组织影响高于胶囊,提醒医护人员在临床使用 RFP 注射液时选择合理给药途径,及时监测患者血常规及肝功能指标,以免给患者带来过大损害。研究尚存在数据不充分问题,将不断开展实验验证。

利益冲突声明:本文所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

[1]杨宝峰,陈建国,臧伟进,等.《药理学》[M].第9版.北京:人民卫生出版社,2018:425-426.

[2]廖喜冬,唐甜甜.利福平注射液与利福平胶囊治疗肺结核的临床疗效及安全性比较[J].临床合理用药,2023,16(30):72-75.

[3]陈灏珠,钟南山,陆再英,等.《内科学》[M].第9版.北京:人民卫生出版社.2018:62-74.

[4]Bacchi S. WHO's Global Tuberculosis Report 2022. *Lancet Microbe*. 2023, 4(1): e20.

[5]肖俊,杨斌,张玉鹏.黔东南州 2019—2021 年结核分枝杆菌耐药情况分析 [J/OL]. 微量元素与健康研究, 1-3[2024-02-05].

[6]许建花,马萍.利福平注射液对肺结核的治疗效果[J].母婴世界,2021(4):118.

[7]廖传玉,李同心,唐神结,等.高剂量抗结核药物治疗结核病的研究进展[J].中国感染与化疗杂志,2023,23(5):639-646.

[8]Alsayed SSR, Gunosewoyo H. Tuberculosis: Pathogenesis, Current Treatment Regimens and New Drug Targets. *Int J Mol Sci*. 2023, 24(6): 5202.

[9]廖喜冬,唐甜甜.利福平注射液与利福平胶囊治疗肺结核的临床疗效及安全性比较[J].临床合理用药,2023,16(30):72-75.

[10]梁艳蓉,张爱洁,俞南等.抗结核药物不良反应报告分析[J].中国医药,2022,17(12):1850-1853.

[11]陈宏亮,段钢,袁峰,等.一期外科手术联合局部应用利福平粉剂治疗胸腰椎结核的临床疗效[J].徐州医科大学学报,2020,40(11):800-804.

[12]Minor RL, Doss GA, Mans C. Evaluation of glucose absorption rates following intracoelomic or subcutaneous administration in experimentally dehydrated inland bearded dragons

(*Pogona vitticeps*). *Am J Vet Res*. 2021, 82(11): 920-923.

[13]马玉炯,张倩,兀威.抗结核药物不良反应研究进展[J].山东医药,2019,59(32):111-112.

[14]鲁桓兵.HMGB1/ERS 信号通路在利福平诱导的小鼠肝损伤模型中的作用及其可能机制的研究[D].合肥:安徽医科大学,2020.

[15]涂倩倩,卫霞,宋育林.FGF15/FGFR4 信号通路在利福平所致肝损伤中的作用及可能机制[J].肝脏,2022,27(5):596-599,614.

[16]Zhou J, Tan Y, Hu L, et al. Inhibition of HSPA8 by rifampicin contributes to ferroptosis via enhancing autophagy. *Liver Int*. 2022, 42(12): 2889-2899.

[17]陈水平.参芪十一味颗粒治疗抗结核药物致白细胞减少的疗效观察[J].大医生,2023,8(14):72-74.

[18]Oliveira LRC, Peresi E, Tavares FC, et al. DNA damage in peripheral blood mononuclear cells of patients undergoing anti-tuberculosis treatment. *Mutat Res*. 2012, 747(1): 82-85.

[19]吴玉姣,张志新,胡卫华.含乙胺丁醇抗结核治疗方案致白细胞减少的临床分析[J].海峡药学,2021,33(07):199-200.

[20]Moradi S, Ahmadi P, Karami C, et al. Evaluation of the effects of isoniazid and rifampin on the structure and activity of pepsin enzyme by multi spectroscopy and molecular modeling methods. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2021, 253: 119523.

[21]肖云,梁惠.奥美拉唑联合中药热熨对改善抗结核药物所致胃肠道反应的临床疗效研究[J].健康忠告,2021,15(33):82-83.

【基金项目】2022 年度长沙医学院大学生创新创业训练计划项目(长医教[2022]41 号 169);

【作者简介】曾文权(1999-02-),男,湖南邵阳人,长沙医学院,大四本科在读,学习专业:医学影像学

【通讯作者】刘晖(1982-08-),女,湖南邵阳人,硕士,副教授,研究方向:临床医学(药物代谢,影像医学)。