

- [4] QIN L, HAN T, LI H, et al. A new thiazinedione from *Xanthium strumarium* [J]. *Fitoterapia*, 2006, 77(3): 245-246.
- [5] JIANG H, YANG L, LIU C, et al. Four new glycosides from the fruit of *Xanthium sibiricum* Patr [J]. *Molecules*, 2013, 18(10): 12464-12473.
- [6] 姜海, 张妍妍, 张颖, 等. 苍耳子化学成分研究[J]. 中医药信息, 2016, 33(3): 8-10.
- [7] HWANG SH, WANG Z, YOON HN, et al. *Xanthium strumarium* as an Inhibitor of α -glucosidase, protein tyrosine phosphatase 1 β , protein glycation and ABTS⁺ for diabetic and its complication [J]. *Molecules*, 2016, 21(9): 1241.
- [8] 延光海, 金光玉, 李光昭, 等. 苍耳子提取物抑制大鼠肥大细胞活化的机制研究[J]. 解剖科学进展, 2010, 16(02): 164-166, 170.
- [9] 熊颖. 苍耳子免疫抑制活性部位初步研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2006.
- [10] HUANG MH, WANG BS, CHIU CS, et al. Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of *Xanthii Fructus* extract [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 135(2): 545-552.
- [11] 崔秀荣, 马海波, 张旗, 等. 苍耳子的化学成分和临床应用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 614-618.
- [12] 张彦琼, 李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 883-892.
- [13] 魏金婷, 刘文奇. 植物药活性成分 β -谷甾醇研究概况[J]. 莆田学院学报, 2007, 14(2): 38-40, 46.
- [14] 李牧, 杜智敏. 芦荟大黄素的药理作用研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(9): 765-768.
- [15] 李帅岚, 邹嵘嵘. 蜡梅属植物中黄酮和香豆素类成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(14): 3425-3431.
- [16] 宋丽. 中国北方地区汉族人群PIK3CG基因多态性与冠心病的关联研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [17] SEMBA S, ITOH N, ITO M, et al. Down-regulation of PIK3CG, a catalytic subunit of phosphatidylinositol 3-OH kinase, by CpG hypermethylation in human colorectal carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(12): 3824-3831.
- [18] 张敏. TLR-NF- κ B信号通路在大鼠变应性鼻炎发病中的作用及雷公藤多甙干预机制的研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2012.
- [19] 李钰馨, 韩燕全, 洪燕, 等. 苍耳子的主要化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国药房, 2015, 26(34): 4868-4871.
- [20] 张帆. 植物甾醇的生物活性与构效关系初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- [21] 张莹莹, 周培, 王炳芳. 芦荟大黄素对小鼠非酒精性脂肪性肝炎的治疗作用[J]. 江苏大学学报(医学版), 2016, 26(4): 283-287.
- [22] LI KC, YU SH, ZHUGE BZ. PIK3CG single nucleotide polymorphisms are associated with poor responsiveness to clopidogrel and increased risk of ischemia in patients with coronary heart disease [J]. *Medicine*, 2017, 96(36): e7566. DOI: 10.1097 / MD. 00000000000007566.

(收稿日期: 2019-06-13, 修回日期: 2019-08-15)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.02.007

◇ 药学研究 ◇

护肝益肺方水提物对抗结核药所致肝损伤小鼠保护作用的研究

丁亮¹, 武谦虎², 凌美², 盛健惠², 张建军², 彭国平¹, 李存玉¹, 黄春帆¹作者单位:¹南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; ²镇江市第三人民医院药剂科, 江苏 镇江 212000

通信作者: 武谦虎, 男, 主任中药师, 硕士生导师, 研究方向为中药药理, E-mail: wuqihu2003@163.com

基金项目: 江苏省中医药局资助科技项目(YB2017081)

摘要: **目的** 探讨护肝益肺方对抗结核药所致肝损伤小鼠的保护作用。 **方法** 将70只小鼠设为空白对照组、模型对照组、阳性对照组、护肝益肺全方低剂量组、全方高剂量组、护肝方低剂量组、护肝方高剂量组。除空白对照组外,其余组小鼠每天给予100 mg·kg⁻¹·d⁻¹异烟肼+400 mg·kg⁻¹·d⁻¹利福平,空白组给予0.9%氯化钠注射液,阳性对照组给予750 mg/kg水飞蓟宾葡甲胺溶液,全方低剂量组(5 g生药/kg)和全方高剂量组(10 g生药/kg)分别给予护肝益肺全方药,护肝低剂量组(2 g生药/kg)和护肝高剂量组(4 g生药/kg)分别给予护肝方药,连续静脉注射给药2周。末次给药24 h后取材,收集小鼠血液和肝组织样品进行血清中生化指标的检测并观察小鼠肝病理情况。 **结果** 连续2周给药利福平、异烟肼,通过生化检测及病理检查证实小鼠肝损伤模型制备成功。护肝益肺全方、护肝方各剂量组能显著抑制肝损伤模型小鼠血清中总胆红素(TBIL)($P < 0.01$)和碱性磷酸酶(ALP)的升高($P < 0.05$),亦能抑制肝组织中丙二醛(MDA)的升高($P < 0.01$),增强肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)的活性和谷胱甘肽(GSH)的水平($P < 0.05$)。病理切片观察也显示护肝益肺全方、护肝方各剂量组较模型组肝细胞脂肪变性明显减轻。 **结论** 护肝益肺方水提物对抗结核药所致肝损伤具有明显保护作用,且作用机制与抗氧化作用有关。

关键词: 药物性肝损伤, 慢性; 利福平; 异烟肼; 中草药; 胆红素; 碱性磷酸酶; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽; 小鼠; 护肝益肺方

Study on the protective effect of *Hugan Yifei Recipe* on anti-tuberculosis-induced liver injury in mice

DING Liang¹, WU Qianhu², LING Mei², SHENG Jianhui², ZHANG Jianjun²,
PENG Guopin¹, LI Cunyu¹, HUANG Chunfan¹

Author Affiliations:¹School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210023, China;

²The Third People's Hospital of Zhenjiang, Zhenjiang, Jiangsu 212000, China

Abstract: Objective To explore the protective effect of *Hugan Yifei Recipe* on mice with liver injury induced by tuberculosis drugs. **Methods** Seventy mice were used as blank control group, model control group, positive control group, total square low dose group and high dose group, Baogan square low dose group and high dose group. Except for the blank control group, the other groups of mice were given 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ isoniazid + 400 mg·kg⁻¹·d⁻¹ rifampicin daily, the blank group was given 0.9 % saline, and the positive control group was given 750 mg/kg silybin meglumine. The total square low dose group (5 g crude drug/kg) and the high dose group (10 g crude drug/kg) were given to *Hugan Yifei* whole prescription, Baogan square low dose group (2 g crude drug/kg) and the high dose group (4 g crude drug/kg) was given the liver-protecting prescription, and the ig was administered for 2 weeks. After 24 hours of the last administration, the blood and liver tissue samples of the mice were collected for serum biochemical indicators and the liver pathological conditions of the mice were observed. **Results** The rifampicin and isoniazid were administered for 2 weeks, and the liver injury model was successfully confirmed by biochemical tests and pathological examination. *Hugan Yifei* Quanfang and Baoganfang could significantly inhibit the Increase in total bilirubin (TBIL) ($P < 0.01$) and alkaline phosphatase (ALP) ($P < 0.05$) also inhibited the increase of MDA in liver tissue ($P < 0.05$), and enhanced the activity of SOD and the level of GSH in liver tissue ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Pathological section observation also showed that hepatic cell steatosis was significantly reduced in each dose group of *Hugan Yifei* Quanfang and Hugan Recipe. **Conclusion** The *Hugan Yifei Recipe* has obvious protective effect against liver damage caused by tuberculosis drugs, and its mechanism of action is related to antioxidant activity.

Key words: Drug-induced liver injury, chronic; Rifampicin; Isoniazid; Drugs, Chinese herbal; Bilirubin; Alkaline phosphatase; Superoxide dismutase; Glutathione; Mice; Formula for protecting liver and benefiting lung

药物性肝损伤 (Drug-Induced Liver Injury, DILI) 是指因药物或其代谢产物的毒性作用、或机体对药物产生过敏反应而对肝脏引发的损害。DILI 分辨率定义为肝脏生化指标值恢复正常或低于 CIOMS 实验室标准^[1], 调查显示每年 10 万居民中大约有 14 ~ 24 人在药物治疗过程中可引发 DILI, 占药品不良反应例数的 3% ~ 9%。DILI 发病机制复杂, 致病因子较多, 且大多数取决于药物理化性质和宿主因子的相互作用^[2]。由于抗结核药物致肝损伤的病程在临床实践中难以观察, 因此有必要建立抗结核药物致肝损伤的动物模型。利福平可诱发肝细胞型和胆汁淤积型肝损害, 异烟肼可诱发肝酶过高, 抗结核药所致的肝损伤已成为最严重毒副作用之一^[3]。护肝益肺方为镇江市第三人民医院肺科协定方。该方由女贞子、五味子、甘草、虎杖、黄芪等 12 味中药组成, 具有护肝解毒, 敛肺止咳等功效, 用于防治抗结核药所致肝损害。既往研究表明, 护肝益肺颗粒对异烟肼、利福平所致药物性肝损害小鼠均有保护作用^[4]。本文自 2018 年 3 月至 2019 年 3 月研究了护肝益肺方对异烟肼+利福平所致药物性肝损害小鼠的保护作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验用药物试剂及仪器设备

1.1.1 要药物及试剂 利福平注射液 (沈阳双鼎制药有限公司, 生产批号 18070201), 规格: 5 mL: 0.3 g; 异烟肼注射液 (天津金耀药业有限公司, 生产批号 1704231), 规格: 100 mg: 2 mL; 水飞蓟宾葡甲胺片 (江苏中兴药业有限公司, 生产批号 171207-314), 规格: 50 毫克/片, 以 1% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 制成混悬液; 羧甲基纤维素钠购于辰昊聚合物科技有限公司; 75% 乙醇消毒液及甲醛组织固定液购于上海雷布斯仪器设备有限公司。

1.1.2 护肝益肺方、护肝方的制备 护肝益肺方组成: 女贞子 10 g、五味子 10 g、甘草 10 g、虎杖 20 g、黄芪 30 g、三七 5 g、胡黄连 6 g、白头翁 6 g、炙百部 15 g、白及 10 g; 护肝方组成: 女贞子 10 g、五味子 10 g、甘草 10 g、虎杖 20 g、胡黄连 6 g、白头翁 6 g。取两副方剂三倍药材量, 将药材粉碎成粗粉, 置适宜煎器中, 加水浸没药材, 浸泡适宜时间后, 加热至煮沸, 分离煎出液, 药渣煎出 2 次, 合并各次煎出液, 浓缩至适宜浓度 (给药量 0.1 mL/10 g 药材)。

1.1.3 主要实验仪器 15R 型台式冷冻离心机 (贝

克曼库尔特商贸有限公司生产),罗氏cobas 8 000全自动生化分析仪(罗氏诊断产品上海有限公司生产),Synergy2酶标仪(美国Bio-Tek公司生产),制冰机(江苏冰欧新能源科技有限公司生产),-20℃冰箱(广东福意电器有限公司生产),石蜡切片机(贝诺医疗器械有限公司生产),显微镜(Olympus,日本生产)。

1.2 药理实验方法

1.2.1 实验动物选择与饲养 70只SPF级ICR小鼠,2~3周龄,体质量20~22 g,雌雄各35只,购于南京中医药大学动物实验中心,实验动物使用许可证号:SYXK(苏)2018-0049。实验动物饲养于屏障设施内、正常喂食标准饲料。动物房内温、湿度调节:温度21~26℃,相对湿度45%~70%。适应性喂养7 d后静脉注射给药。本研究对动物处置符合动物伦理学原则。

1.2.2 动物分组及待测样本采集 动物分组:将70只ICR种小鼠分为7组,雌雄各半。正式给药前一日备好垫料、饲料、水,分组。空白对照组:正常饮水、喂饲料;模型组:静脉注射给联用药(剂量:100 mg/kg异烟肼+400 mg/kg利福平,连续给药2周);阳性对照组:静脉注射给药(水飞蓟宾葡甲胺片配成75 mg/mL的混悬液,换算成给药量750 mg/kg,连续给药2周);全方低剂量组:(剂量:5 g生药/kg,连续静脉注射给药2周);全方高剂量组:(剂量:10 g生药/kg,连续静脉注射给药2周);护肝低剂量组:(剂量:2 g生药/kg,连续静脉注射给药2周);护肝高剂量组:(剂量:4 g生药/kg,连续静脉注射给药2周)。除空白对照组外,其余组小鼠每天上午9点左右给予100 mg·kg⁻¹·d⁻¹异烟肼+400 mg·kg⁻¹·d⁻¹利福平混合药液;每天下午3点(6 h后)针对阳性对照组及方剂组给保护药,模型组和空白组同时间静脉注射给生理盐水。各组灌胃体积均为0.1 ml/10 g,均正常饮水、喂饲料。第14天禁食不禁水24 h,第2天称重。

实验取材:从小鼠眼眶内眦静脉采血收集,用离心管装至0.5~0.7 mL用于血液中生化指标的检测;在超净台中取肝脏,取整块肝组织样本、称湿重,统一取肝左叶用10%甲醛浸泡装于离心管中用于肝组织病理切片制作,迅速剪取肝右叶用于肝匀浆制备。

1.2.3 肝组织病理切片的制作及观察 统一取肝左叶,用生理盐水洗涤后放入甲醛中固定2 d,待其脱水后,经修样、石蜡包埋,再切成厚度5 μm的肝组织病理切片,HE染色后于光学显微镜下观察肝组织病理变化。

1.2.4 肝匀浆的制作及检测 统一取肝右叶,用生

理盐水进行匀浆,制成10%匀浆液,于离心机中离心10 min(转速4 000 r/min、温度4℃),分离上清液。将分离的匀浆液-20℃保存待测。肝匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)含量的测定,均按照试剂盒说明书操作。

1.2.5 血清生化指标的检测 由镇江市第三人民医院检验科使用全自动生化分析仪检测各组小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)及总胆红素(TBIL)的含量。

1.3 统计学方法 采用统计软件SPSS 16.0进行检验。计量资料用的是方差分析和 t 检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示;计数资料用的是 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 实验结果与分析

2.1 观察小鼠外貌、体重和行为的差异 空白对照组:毛色顺白,行动敏捷,食量正常,体质量偏重且增长迅速;模型对照组:毛色无明显变化,行动较正常组迟缓,食量偏小,排泄物呈红色至橘红色,较稀薄;阳性对照组:毛色无明显变化,行动正常,食欲正常。各组体重均稳定增长,雄鼠体重较雌鼠增长较快,模型组较正常组体重增长略缓慢,阳性对照组与各保肝组体重均稳步增长且增重明显。

2.2 观察小鼠肝脏形态的变化 实验周期结束后将肝脏取出,用生理盐水洗去肝表面的血渍,肉眼观察肝脏整体。空白组:小鼠肝脏表面呈暗红色近似红褐色,弹性较好。模型组:外观有所改变,肝脏明显肿大,颜色呈淡黄,部分肝脏表面有大量土黄色小点聚集,与暗红色明显不同,边缘切面组织略宽略钝,触感柔软,明显有油腻感、弹性不足,其中个别肝脏表面黄色小点程度较严重,面积较大,初步论证为脂肪肝变性明显。阳性对照组及其他保肝方组中,小鼠肝脏均比模型组质量减轻,并无明显肿胀,肝脏组织边缘略尖窄、切面较薄,触摸手感较柔软。但保肝方中,尤其以低剂量组中,仍有个别小鼠肝脏有油腻感,切面组织较其他略微宽钝。

2.3 小鼠肝脏生化指标检测结果 由表1可看出,模型组的TBIL、ALP均大于空白对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),表明利福平、异烟肼药物联用所致急性药物性肝损害的模型建立成功。在护肝益肺方及拆分后的护肝方中,ALT与AST与模型组相比差异无统计学意义,阳性对照组(水飞蓟宾葡甲胺片)、各方剂组的TBIL、ALP均小于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明水飞蓟宾葡甲胺片、护肝益肺方及拆分后的护肝方对模型小鼠的肝损伤均有保护作用。可见,拆分后的护肝方对

TBIL、ALP 的降低能力优于阳性组,而护肝益肺全方的解毒能力与阳性组持平。

2.4 小鼠肝脏病理学检查 对肝损害小鼠模型肝脏组织病理学的影响:正常对照组小鼠肝组织无明显病理改变;模型组肝细胞发生广泛的脂肪样变性,细胞质疏松及混浊肿胀,汇管区炎性细胞浸润及肝细胞可见少量点状和灶状坏死。阳性对照组及护肝方各剂型组仅个别肝细胞出现坏死,肝细胞变性坏死程度较造模组轻,汇管区可见少量炎细胞浸润,见表2。

通过在光镜下对各组小鼠肝组织病理切片进行观察。空白组:切片上每个肝小叶纹路清楚,小叶中间的中央静脉呈放射状排列,无病变发生。门管区结构清晰、结缔组织易辨认,小叶间静、动脉及小叶间胆管无明显病变发生。肝细胞常规排列,辨认清晰,肝实质细胞未见明显急性肝炎、肝硬化、肝脓肿等病理生理变化(图1A)。模型组:可清晰地观察到脂肪变性,肝窦变得狭窄,可见肝细胞体积扩增,聚集排列杂乱,小的脂肪空泡环绕在细胞核四周,脂肪空泡体积大小不一,充斥在整个细胞质中(图1B)。阳性对照组:可依稀有分辨出一些散在的脂肪变性,以微泡型脂肪变性居多,有些区域几乎无脂肪性小泡,属轻度脂肪性病变(图1C)。全方低剂量组:肝细胞气球性样变,细胞肿胀变性,细胞质淡染。以微泡型和小泡型的脂肪变性居多,且数量稍多、属中度变性。10例病理切片中,有4例表现出中度脂肪性病

变,量化指标有所缓和但药效不及高剂量组明显(图1D)。全方高剂量组:依稀分辨出微小气泡较多,存在很轻微的脂肪性变性,可忽略不计(图1E)。护肝低剂量组:也可分辨出一些散在的脂肪变性,以微泡型脂肪变性居多、按小泡数量属轻度到中度病变(图1F)。护肝高剂量组:存在很轻微的脂肪性变性,可忽略不计,整体效果优于护肝常量组(图1G)。

2.5 护肝益肺方对小鼠肝匀浆 GSH、SOD、MDA 的影响 由表3可看出:阳性对照组、各方剂组中的SOD、GSH均高于模型组,MDA均低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明水飞蓟宾葡甲胺片、护肝益肺方及护肝方对肝损伤模型小鼠肝匀浆中的SOD、GSH有升高作用,MDA有降低作用。在阳性组与各方剂组的比较中,可见全方高剂量组对升高SOD、GSH及降低MDA水平的调控能力与水飞蓟宾葡甲胺片持平,而护肝高剂量组对肝损伤模型小鼠肝匀浆中各指标的调控作用更优。

3 讨论

半个世纪来,利福平、异烟肼、吡嗪酰胺等作为一线抗结核药物常被临床使用,但因其肝毒性引发的药物性肝损伤常影响到抗结核治疗方案的实施。治疗过程中由于药物的毒性损害或对药物的过敏反应所致的药物性肝损伤,临床多表现为四肢乏力、黄疸、恶心厌油、肝脏肿大、肝区疼痛等^[5]。

目前已有多种肝损伤动物模型:化学性肝损伤

表1 护肝益肺方水提物对肝损害小鼠模型肝脏生化指标影响/(U/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TBIL	ALT	AST	ALP
空白对照组	10	1.27±0.52 ^a	31.70±6.55	109.60±9.98	190.75±50.44 ^a
模型组	10	36.88±13.25	38.60±10.16	131.30±14.90	566.70±319.56
阳性对照组	10	1.59±0.47 ^a	37.30±6.98	146.20±38.51	288.70±155.98 ^a
全方低剂量组	10	1.35±0.26 ^a	31.40±5.68	128.50±26.06	277.20±161.19 ^a
全方高剂量组	10	1.95±0.70 ^a	27.90±6.08	118.80±22.26	257.20±108.98 ^a
护肝低剂量组	10	2.32±0.40 ^a	35.50±10.05	148.60±26.45	320.70±153.98 ^a
护肝高剂量组	10	2.02±0.70 ^a	32.50±10.49	147.10±45.57	371.60±227.96

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$,ALT为丙氨酸氨基转移酶,AST为天冬氨酸氨基转移酶,ALP为碱性磷酸酶,TBIL为总胆红素

表2 护肝益肺方水提物对肝损害小鼠模型肝组织病理的影响

组别	鼠数	肝细胞变性/只				病理损伤积分	肝细胞坏死/只				病理损伤积分
		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
空白对照组	10	9	1	0	0	1 ^b	8	2	0	0	2 ^b
模型对照组	10	0	1	7	2	21	0	1	8	1	20
阳性对照组	10	5	4	1	0	6 ^b	2	7	1	0	9 ^b
全方低剂量组	10	4	2	4	0	10	1	7	2	0	11 ^a
全方高剂量组	10	6	3	1	0	5 ^b	3	6	1	0	8 ^b
护肝低剂量组	10	3	5	2	0	9 ^a	2	5	3	0	11 ^a
护肝高剂量组	10	3	6	1	0	8 ^b	2	7	1	0	9 ^b

注:1.“-”表示肝细胞一切正常、病理积分记0分;“+”表示肝细胞轻度浊肿、局部可见有水样变性,病理积分记1分;“++”表示肝细胞浊肿,水样变性,轻度炎细胞浸润,很少点状坏死,病理积分记2分;“+++”表示肝细胞严重浊肿,水样变性明显,炎细胞浸润明显,点状坏死明显,灶状坏死,病理积分记3分;2.仅对“病理积分”列作统计分析,与模型组比较^a $P < 0.01$;^b $P < 0.05$

表3 护肝益肺方水提物对肝损害小鼠的
GSH、SOD、MDA的影响($n=10$)

组别	鼠数	SOD/(U/mL)	GSH/(mg/L)	MDA/(nmol/mL)
空白对照组	10	302.34±30.83	316.93±30.32	9.59±1.02
模型对照组	10	162.35±15.92 ^b	219.83±30.15 ^a	15.09±2.56 ^b
阳性对照组	10	224.06±19.34 ^{ca}	443.12±31.65 ^d	10.34±1.72 ^d
全方低剂量组	10	206.24±29.56 ^a	425.42±39.56 ^c	13.56±2.45 ^a
全方高剂量组	10	228.35±20.45 ^{ca}	391.46±38.24 ^{ba}	12.43±3.38 ^c
护肝低剂量组	10	193.57±22.15 ^{ca}	327.37±32.16 ^c	13.41±3.21 ^a
护肝高剂量组	10	230.71±21.11 ^{ca}	351.52±41.15 ^{ca}	10.16±4.18 ^d

注:与空白对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$,与模型组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;SOD为超氧化物歧化酶,GSH为谷胱甘肽,MDA为丙二醛

动物模型、药物性肝损伤动物模型、免疫性肝损伤动物模型、酒精性肝损伤动物模型等。生物性方法要求实验条件高且费用昂贵,限制其应用。免疫性方法是通过免疫方法造成肝损伤,主要用于通过免疫机制所致肝损伤的药物研究。化学性方法通过化学性肝毒物质,如四氯化碳、对乙酰氨基酚等致肝损伤。对乙酰氨基酚是运用最为广泛的一种造模药物,在常规治疗作为解热镇痛药时是相对安全的,但长期或过量使用易造成肝中心小叶坏死,严重会恶化成急性肝功能衰竭^[6]。酒精性方法发病机制较为复杂^[7],通过酒精灌胃,具有简易方便成本低等特点,但安全性不易把控、小鼠易死亡。如何建立更优质有效的肝损伤动物模型,尚需进一步的研究和改进,为研究肝病发病机制、筛选保肝药物等奠定基础。当然,以抗结核药制备肝损伤动物模型,用于评价对抗结核药所致肝损伤保护作用,更具有科学和临床实际意义^[8]。利福平单用可导致胆红素升高,通过协同作用加重异烟肼所引起的肝损伤。抗结核药所引起的肝损伤与对乙酰氨基酚和四氯化碳不同,对于ALT和AST增高不明显、但对于TBIL和ALP有明显的升高作用,均会不同程度出现肝细胞水肿,羽毛样、脂肪变性^[9]。故本实验以利福平+异烟肼干预制备肝损伤模型,并评价护肝益肺方对其的肝保护作用。

肝脏是脂肪转化的场所,需要经过肝静脉运输到身体的各个部位,肝淤血导致肝静脉不能及时的运输走脂肪,肝细胞中的脂肪变性变为明显^[10]。本实验的肝脏病理检查结果显示,由利福平+异烟肼干预制备的模型组均不同程度出现肝细胞水肿,羽毛样、脂肪变性。脂肪变性较为严重的切片中可观察伴有大量慢性炎性细胞充斥在肝细胞中、个别可见散在的胆汁淤积等现象。有的切片中还出现微小脂肪性病毒,体积不大但数量较多;中央静脉周围变形较明显,汇管区脂肪变性不明显,属重度脂肪性病变。以上表明由利福平+异烟肼干预制备的肝损伤

小鼠模型制备成功,且符合抗结核药作用特点。经护肝益肺全方及护肝方治疗后,小鼠肝脏仅个别肝细胞出现坏死,肝细胞变性坏死程度较造模组轻,汇管区仅见少量炎细胞浸润,表明护肝益肺全方及护肝方对抗结核药所致小鼠肝细胞性损伤具有保护作用。

本实验生化检测结果显示:护肝益肺方全方及拆方过后的护肝方能显著降低抗结核药造成的药物性肝损害小鼠血清ALP、TBIL升高的水平;能显著升高药物性肝损害小鼠肝匀浆中SOD、GSH降低的水平且能抑制肝组织中MDA的升高;文献报道护肝益肺方药中部分中药能降低药物性肝损害小鼠肝组织变性、甚至坏死的程度,具有保护肝细胞的作用^[11]。表明护肝益肺颗粒全方能对异烟肼+利福平联用所致药物性肝损伤小鼠发挥较好的肝保护作用,且作用机制与抗氧化作用有关。本实验结果与文献报道复方中药对异烟肼致肝损害保护作用相吻合,这为中药复方与抗结核药联用治疗结核病提供了实验依据。而实验后续中,将继续研究护肝益肺方药其他提取物对抗结核药致肝损害的保护作用。

(本文图1见插图2-1)

参考文献

- [1] HOU FQ, ZENG Z, WANG GQ. Hospital admissions for drug-induced liver injury: clinical features, therapy, and outcomes [J]. Cell Biochem Biophys, 2012, 64(2): 77-83. DOI: 10.1007/s12013-012-9373-y.
- [2] 侯相瑜, 金晶, 李宏亮, 等. SIRT1在丙戊酸对肝细胞毒性中的作用研究[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(1): 31-34.
- [3] 魏来, 赵春景. 槲皮素对异烟肼联用利福平致大鼠肝损伤的防护作用[J]. 中国药业, 2017, 26(16): 9-12.
- [4] 武谦虎, 樊一桥, 王雪梅, 等. 护肝益肺颗粒抗异烟肼肝损害的实验研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2004, 14(3): 149-151.
- [5] 彭江丽, 马国伟, 喻明丽, 等. 洛伐他汀联合异烟肼、利福平、吡嗪酰胺致大鼠肝损伤的实验研究[J]. 安徽医药, 2017, 21(12): 2157-2163.
- [6] 赵慧, 王洪礼, 吕佳, 等. 益甘宁颗粒对对乙酰氨基酚诱导小鼠肝损伤模型的保护作用[J]. 中南药学, 2017, 15(5): 587-590.
- [7] SINGAL AK, BATALLER R, AHN J, et al. ACG clinical guideline: alcoholic liver disease [J]. Am J Gastroenterol, 2018, 113(2): 175-194.
- [8] GUO YX, XU XF, ZHANG QZ, et al. The inhibition of hepatic bile acids transporters Ntcp and Bsep is involved in the pathogenesis of isoniazid/rifampicin-induced hepatotoxicity [J]. Toxicol Mech Methods, 2015, 25(5): 382-387.
- [9] 杨淑艳, 钟秀宏, 王爽, 等. 异烟肼和利福平联用致小鼠肝损伤实验模型的建立[J]. 中国药房, 2011, 22(33): 3104-3105.
- [10] 邹碧泉, 朱小. 决积合剂治疗酒精性脂肪肝大鼠的实验研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(19): 2306-2308, 2312.
- [11] 王朝阳, 朱美意, 欧阳军, 等. Neuritin与HSP60在急性肝损伤修复中的表达变化及意义[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(12): 1959-1964, 1969.

(收稿日期: 2019-08-22, 修回日期: 2019-10-10)