

番石榴叶提取物对三硝基苯磺酸诱导大鼠结肠炎结肠组织的保护作用

廖泽云, 李玉山, 姜锦林

廖泽云, 李玉山, 湖北民族学院医学院生理学教研室 湖北省恩施市 445000
姜锦林, 湖北民族学院附属医院 湖北省恩施市 445000
通讯作者: 廖泽云, 445000, 湖北省恩施市, 湖北民族学院医学院. lzy121192004@126.com
电话: 0718-8235239
收稿日期: 2006-06-05 接受日期: 2006-06-30

Protective effect of guava leaf extract on colonic tissues with ulcerative colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid in rats

Ze-Yun Liao, Yu-Shan Li, Jin-Lin Jiang

Ze-Yun Liao, Yu-Shan Li, Department of Physiology, Medical College of Hubei Institute for Nationalities, Enshi 44500, Hubei Province, China

Jin-Lin Jiang, the Affiliated Hospital of Medical College of Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, Hubei Province, China

Correspondence to: Ze-Yun Liao, Department of Physiology, Medical College of Hubei Institute for Nationalities, Enshi 44500, Hubei Province, China. lzy121192004@126.com

Received: 2006-06-05 Accepted: 2006-06-30

Abstract

AIM: To explore the protective effect of guava leaf water extract on the colonic tissues with ulcerative colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) as well as its mechanism in rats.

METHODS: Rat model of ulcerative colitis was established by clyster of TNBS. After treatment with guava leaf extract for 2 weeks, the colon mucosal damage index (CMDI) was evaluated. The activity of myeloperoxidase (MPO), superoxide dismutase (SOD), the content of malondialdehyde (MDA) in colon tissues, and the levels of tumor necrosis factor (TNF), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) in serum were examined.

RESULTS: Guava leaf extract (200, 500, 800 mg/kg) decreased the values of CMDI (2.62

± 0.47 , 2.06 ± 0.54 , 1.83 ± 0.43 vs 3.15 ± 0.39 ; $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), the activity of MPO (2240.78 ± 479.26 , 2078.42 ± 377.91 , 1748.85 ± 236.71 nkat/g vs 2695.37 ± 624.79 nkat/g; $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), the contents of MDA (2.16 ± 0.41 , 1.97 ± 0.35 , 1.96 ± 0.30 $\mu\text{mol/g}$ vs 2.66 ± 0.65 $\mu\text{mol/g}$; $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), and the levels of TNF (2.65 ± 0.40 , 2.51 ± 0.47 , 2.21 ± 0.41 $\mu\text{g/L}$ vs 3.30 ± 0.63 $\mu\text{g/L}$; $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), IL-8 (1.20 ± 0.33 , 1.05 ± 0.24 , 0.92 ± 0.13 $\mu\text{g/L}$ vs 1.53 ± 0.38 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$) and IL-10 (39.36 ± 9.65 , 50.26 ± 11.32 , 59.68 ± 13.65 ng/L vs 30.74 ± 12.91 ng/L, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), but increased the activity of SOD (3618.06 ± 538.44 , 3756.92 ± 577.45 , 4197.51 ± 375.74 nkat/g vs 2663.37 ± 603.79 nkat/g, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$) in a dose-depended manner.

CONCLUSION: Guava leaf extract can relieve the inflammatory reaction and colonic injury in colonitis rats by immunoregulation, anti-oxidation and wound repair.

Key Words: Guava leaf extract; Anti-oxidation; Immunoregulation; Colonitis; Rat

Liao ZY, Li YS, Jiang JL. Protective effect of guava leaf extract on colonic tissues with ulcerative colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(1):69-71

摘要

目的: 研究番石榴叶提取物对大鼠结肠炎组织损伤的保护作用及其机制。

方法: 用健康Wistar大鼠建立大鼠结肠炎模型, 灌胃用药2 wk后, 评价大鼠结肠黏膜损伤指数(CMDI), 检测结肠组织髓过氧化物酶(MPO)及超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量和细胞肿瘤因子(TNF)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)水平。

结果: 不同剂量番石榴叶提取物(200, 500, 800 mg/kg)灌胃均能不同程度降低模型大鼠CMDI(2.62 ± 0.47 , 2.06 ± 0.54 , $1.83 \pm$

■背景资料

溃疡性结肠炎是一种病程迁延、容易复发、较难治疗的疾病, 其机制涉及免疫异常, 是一种自体免疫性疾病, 并与变态反应及遗传因素等有关。免疫异常、氧自由基作用在炎症性肠病的发病机制中占有重要地位。当前中西医都无特效的药物, 但是研究证明单味中药对实验动物TNBS与乙醇诱发的结肠炎的病理生理过程有明显影响。

■创新盘点

以往中药对溃疡性结肠炎研究主要集中在临床用药观察疗效方面,由于溃疡性结肠炎的机制涉及免疫异常,是一种自体免疫性疾病,并与变态反应及遗传因素等有关,故本实验研究了番石榴叶对炎症性结肠炎的抗损伤保护作用,以及免疫异常与氧自由基在炎症性肠病的发病机制中的作用。

0.43 vs 3.15 ± 0.39 , $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), MPO活性(2240.78 ± 479.26 , 2078.42 ± 377.91 , 1748.85 ± 236.71 nkat/g vs 2695.37 ± 624.79 nkat/g $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), 减少MDA含量(2.16 ± 0.41 , 1.97 ± 0.35 , 1.96 ± 0.30 , $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), 提高SOD活性(3618.06 ± 538.44 , 3756.92 ± 577.45 , 4197.51 ± 375.74 nkat/g vs 2663.37 ± 603.79 , $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), 降低TNF(2.65 ± 0.40 , 2.51 ± 0.47 , 2.21 ± 0.41 $\mu\text{g/L}$ vs 3.30 ± 0.63 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), IL-8(1.20 ± 0.33 , 1.05 ± 0.24 , 0.92 ± 0.13 $\mu\text{g/L}$ vs 1.53 ± 0.38 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), IL-10(39.36 ± 9.65 , 50.26 ± 11.32 , 59.68 ± 13.65 ng/L vs 30.74 ± 12.91 ng/L, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$)水平,且与用药剂量呈一定量效关系。

结论: 番石榴叶提取物通过拮抗氧化、免疫调节、损伤修复作用缓解结肠炎大鼠炎症反应,减轻结肠损伤。

关键词: 番石榴叶提取物; 抗氧化作用; 调节免疫; 结肠炎; 大鼠

廖泽云, 李玉山, 姜锦林. 番石榴叶提取物对三硝基苯磺酸诱导大鼠结肠炎结肠组织的保护作用. 世界华人消化杂志 2007;15(1):69-71

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/69.asp>

0 引言

番石榴叶又名鸡矢茶,是桃金娘科植物番石榴的嫩叶,其性平味干涩,功用收敛止泻,主要成分含蒽萜苷、槲皮素、石榴酸、石榴苷、鞣酸及挥发油等^[1]。现代药理研究表明,番石榴叶具有抗菌、抗病毒作用^[2-3],且对消化系统有解痉、增强胃肠蠕动的作用^[4]。因番石榴叶具有收敛止泻作用,民间习用其嫩叶煎水口服治疗小儿腹泻。为了探讨番石榴叶对炎症性肠炎是否有抗损伤保护作用,我们通过建立大鼠结肠炎模型,用不同剂量番石榴叶灌胃给药,进行了相关实验研究,观察番石榴叶对炎症性肠炎的保护作用及其机制如下。

1 材料和方法

1.1 材料 番石榴叶水提取物:以下简称提取物(生药含量1 kg/L),选番石榴叶用水煎煮3次,过滤后浓缩成1 kg/L的浓度即得,由湖北民族学院附属医院中医系制剂室完成。2, 4, 6-三硝基苯磺酸(TNBS)为美国Sigma公司产品; 5-氨基水

杨酸(5-ASA)原料药由国怡药业有限公司提供; MPO, SOD, MDA检测试剂盒由南京建成生物工程研究所提供; TNF, IL-8试剂盒由解放军总医院科技开发中心放免所提供; IL-10试剂盒由深圳晶美生物工程公司提供; Aeroset 09D05-01全自动生化分析仪(美国); TL-16G型高速冷冻离心机(上海实验仪器厂生产); GC-1200 r放射免疫计数器(中国安徽科大创新股份有限公司)。健康Wister大鼠,雌雄兼用,体质量250-270 g,由湖北省动物实验中心提供。

1.2 方法 大鼠禁食24 h后(饮水照常),将溶于500 mL/L乙醇的TNBS按100 mg/kg,体积0.25 mL/只,用导管(直径4 mm)经肛门插入结肠内约8 cm灌肠1次,建立结肠炎模型^[5]。实验设正常组、模型组、阳性药物对照组(5-ASA, 100 mg/kg)、不同剂量番石榴叶给药组(灌服番石榴剂量分别为200, 500, 800 mg/kg),从制备模型7 d后开始灌胃给药,每日1次,共14 d。正常组与模型组均给予等量生理盐水灌胃。实验完成后处死动物,参照文献[6]方法及标准评价CMDI,评分标准为: 0 = 无损伤; 1 = 轻度充血,水肿,表面光滑,无糜烂或溃疡; 2 = 充血水肿,黏膜粗糙呈颗粒状,有糜烂或肠黏连; 3 = 高度充血水肿,黏膜表面有坏死及溃疡形成,溃疡最大纵径<1 cm,肠壁增厚或表面有坏死及炎症; 4 = 在3分基础上溃疡最大纵径>1 cm,或全肠壁坏死。结肠标本常规石蜡包埋,切片,HE染色,光镜观察。尾动脉采血放免法检测TNF, IL-8, IL-10。另取新鲜结肠组织,用预冷的生理盐水冲洗除去血液,滤纸吸干称质量,加9倍生理盐水,在低温(冰水)中用玻璃研磨器研磨制成100 mL/L的组织匀浆,高速离心取上清液低温(3℃)保存待测, MPO, MDA, SOD按试剂盒说明书进行。

统计学处理 实验数据采用SPSS for Windows 10.0软件进行t检验统计处理。

2 结果

2.1 病理学及炎症反应 模型组大鼠结肠黏膜充血水肿,大量炎性细胞浸润,肠壁增厚,黏膜表面有明显坏死及溃疡形成,腺体中杯状细胞减少。而不同剂量的番石榴叶提取物用药组以上病理组织表现明显缓解。CMDI, MPO活性在模型组大鼠升高,而不同剂量番石榴叶给药组(200, 500, 800 mg/kg)与5-ASA(100 mg/kg)灌胃不同程度降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),且番石榴叶给药组呈现一定量效关系(表1)。

■应用要点

随着深入研究中药对炎症性肠病的抗损伤保护作用,以及免疫异常与氧自由基在炎症性肠病的发病机制中的作用机制的明确,有可能开辟中西医结合治疗溃疡性结肠炎的一个有效的途径。

表 1 番石榴叶提取物对结肠炎大鼠炎症反应、氧自由基和免疫功能的影响 (mean ± SD, n = 10)

分组	mg/kg	CMDI	MPO(nkat/g)	MDA(μmol/g)	SOD(nkat/g)	TNF(μg/L)	IL-8(μg/L)	IL-10(ng/L)
正常组		0.00 ± 0.00	733.98 ± 117.86	1.73 ± 0.24	4505.90 ± 624.29	1.79 ± 0.31	0.59 ± 0.17	88.31 ± 16.62
模型组		3.15 ± 0.39 ^d	2695.37 ± 624.79 ^d	2.66 ± 0.65 ^d	2663.37 ± 603.79 ^d	3.30 ± 0.63 ^d	1.53 ± 0.38 ^d	30.74 ± 12.91 ^d
5-ASA组	100	1.71 ± 0.28 ^b	1729.01 ± 236.55 ^b	1.86 ± 0.49 ^b	4067.31 ± 746.48 ^b	2.19 ± 0.35 ^b	0.83 ± 0.16 ^b	67.32 ± 10.36 ^b
给药组	200	2.62 ± 0.47 ^a	2240.78 ± 479.26 ^a	2.16 ± 0.41 ^a	3618.06 ± 538.44 ^a	2.65 ± 0.40 ^a	1.20 ± 0.33 ^a	39.36 ± 9.65 ^a
	500	2.06 ± 0.54 ^b	2078.42 ± 377.91 ^b	1.97 ± 0.35 ^b	3756.92 ± 577.45 ^b	2.51 ± 0.47 ^b	1.05 ± 0.24 ^b	50.26 ± 11.32 ^b
	800	1.83 ± 0.43 ^b	1748.85 ± 236.71 ^b	1.96 ± 0.30 ^b	4197.51 ± 375.74 ^b	2.21 ± 0.41 ^b	0.92 ± 0.13 ^b	59.68 ± 13.65 ^b

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 模型组; ^dP<0.01 vs 对照组.

2.2 结肠炎大鼠氧自由基和免疫功能 与模型组比较, 不同剂量番石榴叶给药组(200, 500, 800 mg/kg)与5-ASA(100 mg/kg)灌胃均降低结肠组织中MDA含量, 升高SOD活性, 且番石榴叶给药组中、大剂量作用显著($P<0.01$, 表1). 与对照组比较, 模型组大鼠血清中TNF, IL-8水平明显升高, IL-10明显降低($P<0.01$); 经过2 wk的灌胃用药, 模型组大鼠血清TNF, IL-8水平降低, IL-10明显升高($P<0.05$, $P<0.01$, 表1).

3 讨论

TNBS与乙醇诱发大鼠结肠炎的主要机制为乙醇破坏结肠黏膜屏障, TNBS渗入结肠与大分子物质结合, 形成全抗原引起肠壁一系列免疫应答与炎症反应, 因其发病机制及病理表现与人类炎症性肠炎非常相似^[7]. 免疫异常、氧自由基作用在炎症性肠病的发病机制中占有重要地位. 本实验采用TNBS与乙醇诱发大鼠结肠炎模型后, 发现大鼠血清中的促炎因子与抗炎因子水平变化明显, 结肠组织中MDA含量明显升高、SOD活性降低, 证明了免疫异常与氧自由基在炎症性肠病的发病机制中起重要作用.

我们观察到, 番石榴叶组组织病理损伤程度明显缓解, 且呈一定剂量效应, 显示采用番石榴叶提取液灌胃用药可明显减轻模型组大鼠结肠损伤, 缓解炎症反应, 表现出抗炎、抗损伤的保护作用; 实验中番石榴叶提取液灌胃用药能降低结肠炎模型组大鼠代谢产生的脂质过氧化物MDA含量, 升高重要抗氧化酶SOD活性, 表现出抗氧化特性, 从而抑制结肠组织中的脂质过氧化反应, 保护组织细胞. 免疫异常在炎症性肠病的发病机制中起重要作用, 而细胞因子实质

上是维持免疫细胞功能协调运转, 相互联络的“信使”, 其促炎因子与抗炎因子间的失衡是导致结肠免疫损伤的主要因素, 实验结果显示, 番石榴叶提取物灌胃能明显降低模型组大鼠TNF, IL-8及升高IL-10水平, 足以表明其对免疫异常有一定调节恢复作用, 从而缓解结肠免疫损伤与炎症反应.

总之, 番石榴叶提取物通过免疫调节及抗脂质过氧化作用, 对大鼠结肠炎结肠损伤进行修复, 抑制结肠炎大鼠炎症反应, 对结肠炎具有抗损伤保护作用. 番石榴为野生植物资源, 果实富含蛋白质、维生素、糖类、非挥发性的有机酸、矿物质及芳香化合物等, 番石榴嫩叶可制茶, 常喝能清热解毒、防治肠炎和腹泻等^[8], 具有很高的营养食用价值和药用价值, 开发利用前景广阔.

4 参考文献

- 1 黄泰康, 丁志遵, 赵守训. 现代本草纲目. 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 1843-1844
- 2 魏练波, 吕瑞和, 陈宝田. 番石榴叶体外抗轮状病毒的实验研究. 国外医学微生物分册 1996; 3: 3
- 3 蔡玲斐, 徐迎. 番石榴叶提取物对常见细菌的体外抗菌作用. 医药导报 2005; 24: 1095-1097
- 4 谢宗万, 余友岑. 全国中草药名鉴(上册). 北京: 人民卫生出版社, 1996: 882-887
- 5 Hibi T, Ogata H, Sakuraba A. Animal models of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2002; 37: 409-417
- 6 梅俏, 于皆平, 许建明, 顶立. 褪黑素对结肠炎大鼠免疫功能的影响. 世界华人消化杂志 2002; 10: 193-196
- 7 Millar AD, Rampton DS, Chander CL, Claxson AW, Blades S, Coumbe A, Panetta J, Morris CJ, Blake DR. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut* 1996; 39: 407-415
- 8 刘建林, 夏明忠, 袁颖. 番石榴的综合利用现状及发展前景. 中国林副特产 2005; 60-62

电编 张敏 编辑 潘伯荣

■同行评价

本文研究了番石榴叶提取物对三硝基苯磺酸诱导大鼠结肠炎结肠组织的保护作用, 有一定创新性.