

藏药郎庆阿塔治疗肝纤维化的实验研究

彭蕴茹*, 丁永芳, 罗宇慧, 黄一平

(江苏省中医药研究院, 南京 210028)

[摘要] **目的:**研究藏药郎庆阿塔对复合因素所致大鼠肝纤维化的治疗作用。**方法:**清洁级 Wistar 大鼠 90 只采用复合因素(高脂低蛋白饲料喂养、含乙醇饮用水加皮下注射四氯化碳)制备大鼠肝纤维化模型,造模 6 周末随机处死 12 只造模大鼠,通过肝组织病理检查及血清肝功能指标来检查肝纤维化模型成功率。将模型大鼠随机分为模型对照组、阳性药复方鳖甲软肝片组(0.55 g·kg⁻¹)、郎庆阿塔颗粒给药高、中、低剂量组(生药 11.4, 5.7, 2.85 g·kg⁻¹),另设正常对照组。各组大鼠于分组后即日(第 7 周)开始 ig 给药,每日 1 次,连续 ig 给药 7 周。治疗结束后,检测血清中生化指标和肝纤维化指标,并取肝脏组织,测定肝脏组织中羟脯氨酸含量、超氧化物歧化酶(SOD)活力及丙二醛(MDA)水平,另取肝脏组织标本进行病理组织学检查。**结果:**郎庆阿塔能明显降低肝纤维化大鼠增高的肝脏系数和肝组织中羟脯氨酸含量($P < 0.05 \sim P < 0.01$),显著降低肝纤维化大鼠血清中异常升高的天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(T-BIL)、透明质酸(HA)、层黏连蛋白(LN)、Ⅲ型前胶原氨基端肽(PⅢNP)及Ⅳ型胶原(CⅣ)($P < 0.05 \sim P < 0.01$),升高白蛋白(ALB)和 A/G 比值,能明显升高肝组织中 SOD 活力($P < 0.05 \sim P < 0.01$),降低异常升高的 MDA 水平($P < 0.05 \sim P < 0.01$),病理组织学检查结果表明郎庆阿塔高、中剂量对肝纤维化大鼠肝纤维组织增生、肝组织炎症活动度均有显著的改善作用($P < 0.05 \sim P < 0.01$),并能显著降低肝组织中胶原纤维面积($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。**结论:**藏药郎庆阿塔具有明显的治疗肝纤维化作用。

[关键词] 藏药;郎庆阿塔;肝纤维化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0189-06

Experimental Study on the Therapeutical Effect of Lang Qing A Ta on Hepatic Fibrosis

PENG Yun-ru*, DING Yong-fang, LUO Yu-hui, HUANG Yi-ping

(Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To study the therapeutical effect of Lang Qing A Ta (LQAT) on hepatic fibrosis induced by composite factors in rats. **Method:** The hepatic fibrosis model was induced by high fat and low protein feed combined with administration of ethyl alcohol and a subcutaneous injection of CCl₄ in rats and the model rats were divided into five groups as model group, Fufang Biejia Ruangan table group and LQAT groups at three doses. The rats were orally treated with corresponding decoctions once a day for 7 weeks. The levels of biochemical indicators and hepatic fibrosis indicators in serum were detected, as well as the levels of hydroxyproline, superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in liver. The histopathologic examination was proceeded to evaluate the pathological changes in livers. **Result:** LQAT decoction could remarkably decrease the liver coefficients and hydroxyproline contents of liver in hepatic fibrosis rats, decrease the levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkalinephosphatase (ALP), total bilirubin (T-BIL), hyaluronic acid (HA), laminin (LN), procollagen Ⅲ N-terminal peptide (PⅢNP), collagen type Ⅳ (CⅣ) and increase the levels of albumin (ALB) and alburmin/globulin (A/G) in serum. Furthermore, LQAT decoction could obviously increase the activity of SOD and decrease the MDA levels in liver. The results of

[收稿日期] 20111012(007)

[通讯作者] * 彭蕴茹, E-mail: pengyunru@126.com

histopathologic examination showed that LQAT at high and medium doses could ameliorate the pathological changes such as fibroplasia and inflammation and decrease the area of collagen fiber in livers. **Conclusion:** LQAT decoction has significant therapeutical effects on hepatic fibrosis in rats.

[**Key words**] Tibetan medicine; Lang Qing A Ta; hepatic fibrosis

肝纤维化是许多慢性肝病晚期共有的渐进性病理改变,也是发展到肝硬化的必经阶段。因此,有效阻断肝纤维化的发生发展,对防治肝硬化及肝癌具有重要意义^[1-8]。由于肝纤维化的形成和发展是极其复杂的过程,只针对发病过程中的某一方面或某一环节而设计的西药难以取得满意的效果,因而,具有多环节、多层次、多靶点的综合药理学作用的抗肝纤维化药物才能发挥出更好的治疗效果。来自雪域高原的藏医藏药以其独特的药味组成和神奇的疗效为广大肝病患者提供了一种新的治疗手段。

藏药“郎庆阿塔”是西藏那曲县藏医世家名人那本朗次仁祖传的经验方,此药至今已有 580 多年的历史,由牛黄、西红花、五灵脂、余甘子、印度獐牙菜等 10 余味药组成,具有清热解毒、舒肝利胆的功效,近几十年来当地藏医在临床应用中发现其对肝纤维化具有显著的临床疗效。为了对郎庆阿塔的功效进行科学评价,本文从实验的角度研究了其对复合因素所导致的大鼠肝纤维化的治疗作用。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,雌雄各半,清洁级,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号 SCXK(沪)2007-0005。饲养环境为清洁级,饲养合格证号 SYXK(苏)2007-0026。

1.2 供试品 郎庆阿塔(浸膏)含生药 2.605 5 g·mL⁻¹,批号 20110608,江苏省中医药研究院中药制剂研究室提供。

1.3 阳性对照药及试剂 复方鳖甲软肝片,内蒙古福瑞中蒙药科技股份有限公司出品,批号 20110204;四氯化碳(CCl₄)分析纯,南京化学试剂有限公司生产,批号 20101212。

1.4 检测试剂 血清总蛋白(TP,批号 20101022)、白蛋白(ALB,批号 20100920)、总胆红素(T-BIL,批号 20110203)、丙氨酸氨基转换酶(ALT,批号 20110421)、天门冬氨酸氨基转换酶(AST,批号 20110427)、碱性磷酸酶(ALP,批号 20110411) 血液生化学检测专用试剂由上海科华东菱诊断用品有限公司提供。层黏连蛋白(laminin, LN)、IV 型胶原(collagen type IV, C IV)、透明质酸(hyaluronic acid, HA)及 III 型前胶原氨基端肽(procollagen III N-terminal

peptide, P III NP)放射免疫分析药盒:北京北方生物技术研究所提供,批号 20110820。羟脯氨酸测试盒(批号 20110816)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试盒(批号 20110815)、丙二醛(MDA)测试盒(批号 20110816)、蛋白定量(双缩脲法)测试盒(批号 20110812),由南京建成生物工程研究所生产。

1.5 仪器 FEJ-2000B 型电子天平(福州福日电子有限公司生产),PB303-N 型电子分析天平(梅特勒-托利多公司生产),Hypercenter XP 型组织脱水机(英国产),Histocentre 2 型包埋机(英国产),MICROM-340E 型切片机(德国产),BX51 型显微镜(日本 Olympus 公司产品),日立 7060 型全自动生化分析仪(日本产),SN-695B 型智能放免 γ 测量仪(上海原子核研究所日环仪器一厂),752s 型紫外-可见分光光度计(上海棱光技术有限公司)。

2 方法

2.1 肝纤维化大鼠模型的建立 清洁级 Wistar 大鼠 104 只,体重 150 ~ 180 g,雌雄各半,取 14 只作为正常对照组(不造模),其余 90 只采用复合因素制备大鼠肝纤维化模型:给大鼠 sc 40% CCl₄/橄榄油溶液,首剂量为 5 mL·kg⁻¹ 体重,以后每周注射 2 次,每次剂量 3 mL·kg⁻¹ 体重,持续 6 周。造模 1 ~ 2 周给予高脂低蛋白复合饲料(猪油 20% + 胆固醇 0.5% + 玉米粉 79.5%) 喂养,3 ~ 6 周以玉米粉及 0.5% 胆固醇混合制备而成的饲料喂养,6 周造模期间用 5% 乙醇作为唯一饮料。

2.2 肝纤维化大鼠模型成模率的检查 造模 6 周末,将所有大鼠以毛细管法进行眼眶取血,分离血清,以全自动生化分析仪检测大鼠血清中 ALT 和 AST 水平,比较正常对照组与造模组大鼠肝功能的差别,并随机处死 12 只造模大鼠和 4 只正常对照大鼠,取肝脏做病理组织学检查,检查肝纤维化模型的成功率。

2.3 动物分组及给药方法 将造模大鼠按 ALT, AST 指标将模型大鼠随机分为模型对照组、阳性药复方鳖甲软肝片组、郎庆阿塔给药高、中、低剂量组,另设正常对照组。各组大鼠于分组后即日(第 7 周)开始 ig 给药。郎庆阿塔高、中、低剂量组 ig 给予郎庆阿塔药液(按生药量计,下同)11.4, 5.7, 2.85

$g \cdot kg^{-1}$,阳性药组则 ig 给予复方鳖甲软肝片 $0.55 g \cdot kg^{-1}$,正常及模型组均 ig 等容积的蒸馏水,所有大鼠 ig 容积均为 $10 mL \cdot kg^{-1}$,每日 1 次,连续给药 7 周。除正常对照组外,其余各组大鼠每周仍 sc 1 次 $40\% CCl_4$ /橄榄油溶液,剂量为 $3 mL \cdot kg^{-1}$,继续维持造模 4 周。

2.4 观测指标

2.4.1 动物的一般状况观察 每天观察动物一般情况,对毛色、神态、精神、行为、饮水量、摄食量等状况进行观察,每周称体重。

2.4.2 血清生化指标的检测 于末次给药后次日空腹采血,分离血清,以日立 7060 型全自动生化分析仪检测血清中 AST,ALT,ALP,T-Bil,TP,ALB,A/G 指标。

2.4.3 血清中肝纤维化指标的检测 以放免法检测血清中肝纤维化指标 LN,CIV,HA,PⅢNP。

2.4.4 肝脏系数及肝组织中羟脯氨酸含量的测定 采血后处死动物并取肝脏,称重计算脏器系数,并取左叶肝脏同一部位肝组织,按照试剂盒说明书方法(样本碱水解法)测定肝脏组织中羟脯氨酸含量。

2.4.5 肝脏组织中 SOD,MDA 水平的测定 准确称取左叶肝脏同一部位肝组织 $0.5 g$,以冰生理盐水制成 10% 的组织匀浆,按照试剂盒说明书方法测定肝脏组织中 SOD 和 MDA 水平,SOD 采用黄嘌呤氧化酶法,MDA 采用硫代巴比妥酸(TBA)法检测,肝组织匀浆蛋白测定采用双缩脲法。

2.4.6 肝脏病理组织学检查 每组随机取 10 只大鼠的肝脏组织进行病理组织学检查。取肝右叶同一部位组织标本经 10% 中性福尔马林液固定,石蜡切片,H-E 染色,光镜下观察各组大鼠肝组织的病理改变情况,并采用 Masson 染色观察肝组织内纤维化程度,Masson 染色胶原纤维呈绿色。结果判断及评分标准:①纤维化增生程度分级评分:肝组织内除中心静脉及汇管区周围外,不见纤维组织,出现少量散在纤维分布为+,出现大量纤维组织呈网格状分布为++,介于二者之间为+++;②炎症活动度分级评分:肝组织内无炎症细胞浸润为-,汇管区及周围有少量炎症细胞浸润,偶见少数肝细胞呈现点状坏死为+,肝组织内见中度炎症细胞浸润,且可见肝细胞变性点灶状坏死为++,有大量炎症细胞浸润且出现片状肝细胞坏死为+++;③胶原纤维面积定量:每张切片取四周及中央区域,选取胶原纤维含量最多的视野,每个视野含一个汇管区,采用 HIAPS-2000 型计算机图像分析

系统,通过显微摄影系统摄取图像并输入图像分析系统进行灰度变换,使胶原纤维着色区域与背景分开,自动记录着色面积和总面积,于 200 倍镜下测定胶原纤维面积百分比,计算方法为:胶原纤维面积/肝组织面积 $\times 100\%$,取平均值。

2.5 数据统计 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据统计处理,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用组间 t 检验统计结果。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 肝纤维化模型成功率检查 造模 6 周时,模型组大鼠出现明显的脱毛、活动减少、精神萎靡、食欲不振现象,个别大鼠腹部膨胀,似有腹水现象,且造模大鼠体重明显低于正常对照组($P < 0.01$)。造模组大鼠肝功能出现明显变化,其血清 ALT 及 AST 水平均极显著地高于正常对照组($P < 0.01$),这表明造模大鼠肝功能明显受到损伤。见表 1。

表 1 复合因素造成大鼠肝纤维化模型对大鼠体重及肝功能的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重/g	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹
正常	14	266.6 ± 55.9	49.8 ± 13.0	153.7 ± 41.0
模型	74	201.9 ± 23.4 ¹⁾	160.2 ± 55.3 ¹⁾	340.5 ± 106.6 ¹⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

随机处死 12 只造模大鼠和 4 只正常对照大鼠,取肝脏做病理组织学检查,结果发现:正常对照组大鼠肝组织均未见明显的病理改变,而模型组 12 只大鼠均病变非常显著,肝组织小叶结构被破坏,可见胶原纤维组织增生、穿插,将肝组织分割为大小不等的圆形或椭圆形假小叶,并见大量炎症细胞浸润。Masson 染色示肝组织内大量纤维组织增生。这表明本次造模组大鼠已形成明显的肝纤维化病变,此模型适用于研究药物的抗肝纤维化作用。

3.2 一般状况 正常组大鼠生长状态良好,体重自然增长,行走正常,活动敏捷,食欲正常,皮毛光滑,二便正常。造模大鼠精神萎靡,喜睡少动,被毛枯萎晦暗,食欲下降,体重增加不明显,自造模第 3 周开始有脱毛现象,第 4 周个别动物出现死亡。在造模过程中,正常组大鼠体重增长速度要比模型组大鼠快,当造模 6 周后,模型组大鼠体重明显低于正常对照组($P < 0.01$)。当给予郎庆阿塔颗粒治疗 7 周后,各给药组大鼠体重均比模型组有不同程度增加,但未达到正常水平。各给药治疗组大鼠的一般状况要略好于模型对照组,虽仍有毛色枯黄现象,但食欲有所恢复,活动也有所增加。见表 2。

表 2 郎庆阿塔对复合因素所致肝纤维化模型大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	治疗前(造模 6 周)		治疗后	
		n	$\bar{x} \pm s$	n	$\bar{x} \pm s$
正常	-	10	267.0 ± 56.9 ²⁾	10	310.7 ± 73.8 ²⁾
模型	-	13	199.4 ± 22.3	10	221.6 ± 35.0
复方鳖甲软肝片	0.55	12	201.4 ± 24.7	11	252.6 ± 41.4
郎庆阿塔	11.4	12	200.4 ± 28.4	11	258.7 ± 34.2 ³⁾
	5.7	12	208.2 ± 27.1	10	259.3 ± 45.3
	2.85	13	201.8 ± 22.6	11	263.2 ± 36.2 ³⁾

注:与模型对照组比较²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.05$ (表 3 ~ 7 同)。

3.3 肝脏形态、肝脏系数及肝组织中羟脯氨酸含量

正常组大鼠肝脏色红嫩有光泽,表面光滑,肝脏边缘锐利,质地较软。模型组大鼠肝脏肿大,边缘钝,质地硬,颜色较浅,表面布满凹凸不等的细小结节,肝脏边缘圆钝,整个肝脏与周围器官粘连广泛。各给药组大鼠肝脏形态较模型组有所改善,但未恢复到正常组状态。见表 3。

模型组大鼠肝脏系数比正常对照组大鼠有明显升高 ($P < 0.01$),郎庆阿塔各剂量组大鼠的肝脏系数与模型组相比较则有极显著的降低 ($P < 0.01$),并在本实验所用剂量范围内呈现出明显的量效关系。

模型组大鼠肝组织中羟脯氨酸含量显著高于正常组 ($P < 0.01$),而郎庆阿塔高、中剂量组大鼠的肝组织中羟脯氨酸含量与模型组相比较则有显著的降低 ($P < 0.01$)。并在本实验所用剂量范围内呈现出

明显的量效关系。见表 3。

表 3 郎庆阿塔对复合因素所致肝纤维化模型大鼠肝脏系数及肝组织羟脯氨酸含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	肝脏系数		羟脯氨酸含量	
			$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
正常	-	10	2.065 ± 0.142 ²⁾	91.5 ± 29.4 ²⁾		
模型	-	10	3.947 ± 0.557	369.3 ± 63.8		
复方鳖甲软肝片	0.55	11	2.993 ± 0.278 ²⁾	271.0 ± 38.8 ²⁾		
郎庆阿塔	11.4	11	2.906 ± 0.386 ²⁾	250.5 ± 41.2 ²⁾		
	5.7	10	2.976 ± 0.232 ²⁾	252.5 ± 64.5 ²⁾		
	2.85	11	3.162 ± 0.376 ²⁾	344.2 ± 48.2		

3.4 血液生化指标的变化 由复合模型组大鼠血清中 AST,ALT,ALP,T-BIL 水平均极显著地高于正常对照组 ($P < 0.01$),而 ALB,A/G 均明显低于正常组 ($P < 0.01$)。经郎庆阿塔高、中剂量治疗后的大鼠肝功能则有明显恢复,其血清中 AST,ALT,ALP,T-BIL 水平与模型组相比均有显著降低 ($P < 0.05 \sim 0.01$),且 ALB 及 A/G 水平均比模型组明显升高 ($P < 0.01$)。见表 4。

3.5 血清中肝纤维化指标的变化 肝纤维化模型大鼠血清中 HA,LN,PⅢNP 及 CⅣ 水平均显著高于正常大鼠 ($P < 0.01$);郎庆阿塔高、中剂量均可显著降低血清中的 PⅢNP,HA,LN 及 CⅣ 水平 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。见表 5。

表 4 郎庆阿塔对复合因素所致肝纤维化模型大鼠血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	ALT	AST	T-BIL	TP	ALB	A/G	ALP
			/U·L ⁻¹	/U·L ⁻¹	/μmol·L ⁻¹	/g·L ⁻¹	/g·L ⁻¹		/U·L ⁻¹
正常	-	10	40.2 ± 6.7 ²⁾	133.6 ± 30.2 ²⁾	1.92 ± 0.46 ²⁾	52.2 ± 2.2	41.3 ± 2.0 ²⁾	3.8 ± 0.6 ²⁾	57.4 ± 22.7 ²⁾
模型	-	10	131.9 ± 46.3	307.8 ± 117.7	2.90 ± 0.86	52.0 ± 2.6	33.7 ± 4.0	2.0 ± 0.5	143.8 ± 63.7
复方鳖甲软肝片	0.55	11	88.0 ± 22.6 ³⁾	188.5 ± 51.2 ²⁾	2.09 ± 0.57 ³⁾	53.7 ± 1.2	38.9 ± 0.9 ²⁾	2.6 ± 0.2 ²⁾	82.0 ± 29.3 ²⁾
郎庆阿塔	11.4	11	76.9 ± 24.8 ²⁾	167.5 ± 53.9 ²⁾	2.10 ± 0.51 ³⁾	52.3 ± 2.7	37.5 ± 1.6 ²⁾	2.6 ± 0.4 ²⁾	91.5 ± 47.8 ³⁾
	5.7	10	85.1 ± 19.6 ²⁾	205.1 ± 67.1 ³⁾	2.24 ± 0.48 ³⁾	52.8 ± 2.1	38.1 ± 1.3 ²⁾	2.6 ± 0.4 ²⁾	92.0 ± 27.4 ³⁾
	2.85	11	97.7 ± 32.0	214.3 ± 53.0 ³⁾	2.22 ± 0.69	53.8 ± 3.4	37.7 ± 1.6 ²⁾	2.4 ± 0.4 ³⁾	103.5 ± 38.9

3.6 肝组织中 SOD 和 MDA 的变化 肝纤维化模型大鼠肝脏组织中 SOD 活力显著低于正常大鼠 ($P < 0.01$),MDA 水平明显高于正常大鼠 ($P < 0.01$),郎庆阿塔给药各剂量均可显著升高肝组织中 SOD 活力 ($P < 0.01$)、降低 MDA 水平 ($P < 0.01$)。见表 6。

3.7 病理组织学检查 正常对照组大鼠肝组织均

未见明显的病理改变,肝小叶结构存在,肝板排列整齐,以中央静脉为中心向周围放射状排列,肝细胞多边形,浆丰富,核大而圆,少见双核,Masson 染色见肝组织内除中心静脉及小胆管周围见环形的胶原纤维外,其余处未见胶原纤维。而模型组 10 只大鼠均病变非常显著,肝组织小叶结构被破坏,可见大量纤维组织增生、穿插,将肝组织分割为大小不等的圆形

表5 郎庆阿塔对复合因素所致肝纤维化模型大鼠血清中肝纤维化指标的影响($\bar{x} \pm s$) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	LN	HA	CIV	PⅢNP
正常	-	10	64.23 ± 16.15 ²⁾	150.74 ± 34.84 ²⁾	9.40 ± 4.23 ²⁾	24.68 ± 6.72 ²⁾
模型	-	10	86.05 ± 14.63	361.94 ± 90.63	20.18 ± 6.67	37.94 ± 6.70
复方鳖甲软肝片	0.55	11	70.65 ± 10.96 ³⁾	209.20 ± 57.49 ²⁾	12.96 ± 3.25 ²⁾	29.58 ± 5.24 ²⁾
郎庆阿塔	11.4	11	66.72 ± 9.59 ²⁾	180.85 ± 45.35 ²⁾	12.64 ± 3.97 ²⁾	28.41 ± 4.62 ²⁾
	5.7	10	72.39 ± 13.95 ³⁾	257.54 ± 68.22 ²⁾	13.67 ± 4.77 ³⁾	30.53 ± 6.24 ³⁾
	2.85	11	78.30 ± 10.60	289.33 ± 83.23	15.72 ± 3.36	33.39 ± 7.68

表6 郎庆阿塔对肝纤维化模型大鼠肝组织
SOD及MDA水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	SOD活力 $/\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	MDA水平 $/\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$
正常	-	10	126.41 ± 31.79 ²⁾	1.94 ± 0.37 ²⁾
模型	-	10	70.65 ± 10.83	5.26 ± 1.04
复方鳖甲软肝片	0.55	11	146.50 ± 35.56 ²⁾	3.54 ± 0.42 ²⁾
郎庆阿塔	11.4	11	147.49 ± 24.90 ²⁾	3.60 ± 1.07 ²⁾
	5.7	10	147.71 ± 22.70 ²⁾	3.77 ± 1.12 ²⁾
	2.85	11	142.79 ± 38.48 ²⁾	4.96 ± 1.40

表7 郎庆阿塔对肝纤维化模型大鼠肝组织
胶原沉积量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	胶原面积/%
正常	-	0.31 ± 0.05 ²⁾
模型	-	14.57 ± 1.21
复方鳖甲软肝片	0.55	10.96 ± 2.26 ²⁾
郎庆阿塔	11.4	10.87 ± 2.79 ²⁾
	5.7	12.30 ± 2.92 ³⁾
	2.85	13.05 ± 2.24

或椭圆形假小叶,肝组织内见大量炎症细胞浸润,以汇管区为重,局部见小片状肝细胞坏死。Masson染色显示肝组织内大量纤维组织增生。阳性药给药组病变情况比模型组有一定减轻,个别例与正常组基本相似,其余各例与模型组改变类似,但肝组织内纤维化增生程度及炎症活动度均较模型组明显好转。郎庆阿塔给药高、中剂量组各例与模型组相比,肝组织内纤维化增生程度及炎症活动度均明显减轻,个别例肝组织改变与正常组接近。郎庆阿塔给药低剂量组肝组织改变与模型组基本相似,肝组织小叶结构被破坏,可见大量纤维组织增生、穿插,将肝组织分割为大小不等的圆形或椭圆形假小叶,大量炎症细胞浸润。Masson染色示肝组织内大量纤维组织增生。

病理组织学检查结论为:大鼠肝纤维化模型造模成功,模型组大鼠肝组织内可见大量增生的胶原纤维呈网状分布。郎庆阿塔高、中剂量和阳性药对肝纤维化大鼠肝纤维组织增生、肝组织炎症细胞浸润均有显著的改善作用,说明郎庆阿塔具有明显的抗肝纤维化作用。见表7。

4 讨论

肝纤维化是当前医学界急需解决的一个难题,目前临床上尚缺乏有效的治疗药物,而民族医药特

别是藏医藏药在此疾病治疗领域显示出了神奇的疗效^[12-13]。因此,开展藏医药治疗肝纤维化的研究,是当前民族医药学发展的一个重要课题,同时,也是广大肝纤维化患者迫切需要的。

藏医认为,肝脏是将运送来的饮食精华生成血液的脏器,是血液依存之地。在过食辛辣及酸味之品、强力劳作等各种因素的作用下,肝脏容易发生病变。肝病在藏医学中属于“本位木布病”的范畴,治疗原则以养血平肝、活血化瘀、清血化毒、调和三大因素为主。藏药郎庆阿塔处方就是以藏医药理论为指导,以《四部医典》第二部《协据》第十九章药理学配伍法为基础,以《医典》第三部《盟阿据》第三十七章肝病治疗篇为依据,以药味配制法与药效配制法的原理精心配制而成。本方用于藏医所称“秦奶图他”病症,其主要病因是由各种慢性肝病等造成,其主要症状见有肝区不适、疼痛,脘闷腹胀,或见蛛痣肝掌,或有黄疸,或肝脾肿大,乏力,纳差,大便异常,恶心、呕吐等。由于藏医术语中的“秦奶图他”的病状与西医中的“肝纤维化(hepatic fibrosis)”病症非常相似,因此,为了从现代药理研究的角度验证郎庆阿塔的传统功效,本项目组前期对本方治疗四氯化碳所诱导的肝纤维化作用进行过系统评价,证实了其抗肝纤维化功效^[17]。由于肝纤维化疾病的发病原因复杂,单一因素所诱发的肝纤维化动物模型存

在一定局限性,本文以复合因素(高脂低蛋白饲料喂养、含乙醇饮用水加 sc 四氯化碳)造成大鼠肝纤维化模型,并在此基础上验证郎庆阿塔的抗肝纤维化作用,这就为本方的深入研究和临床应用提供了科学依据。

本文研究证实,郎庆阿塔对于复合因素所诱导的肝纤维化大鼠的体重有一定的增加作用趋势,能剂量依赖性地降低肝纤维化大鼠增高的肝脏系数和肝组织中羟脯氨酸含量($P < 0.05$, $P < 0.01$),郎庆阿塔高、中剂量能显著降低肝纤维化大鼠血清中异常升高的 AST, ALT, ALP, T-BIL, HA, LN, PⅢ NP 及 CIV 水平,升高 ALB 和 A/G 比值,能明显升高肝组织中 SOD 活力、降低异常升高的 MDA 水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),病理组织学检查结果表明郎庆阿塔高、中剂量对肝纤维化大鼠肝纤维组织增生、肝组织炎症活动度均有显著的改善作用,并能显著降低肝组织中胶原纤维面积($P < 0.05$, $P < 0.01$),表明郎庆阿塔具有明显的治疗肝纤维化作用,其抗肝纤维化功效与其抗氧化损伤有关。

藏药郎庆阿塔治疗肝病有着深厚的临床基础,在当今继承和发展中医药和民族医药的大趋势下,应用现代科学研究方法开展其抗肝纤维化的功效和作用机制研究是藏医药现代化发展的必然要求,这就有待于我们更深入的研究其作用机制。

[参考文献]

[1] Brenner D A. Molecular pathogenesis of liver fibrosis [J]. Trans Am Clin Climatol Assoc, 2009, 120: 361.
[2] Popov Y, Schuppan D. Popov Y, Schuppan D. Targeting liver fibrosis: strategies for development and validation of antifibrotic therapies [J]. Hepatology, 2009, 50(4): 1294.
[3] Friedman S L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis [J]. Gastroenterology, 2008, 134(6): 1655.
[4] Jiao J, Friedman S L, Aloman C. Hepatic fibrosis [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2009, 25(3): 223.
[5] Ghiassi-Nejad Z, Friedman S L. Advances in antifibrotic therapy [J]. Expert Rev Gastroenterol

Hepatol, 2008, 2(6): 803.
[6] Friedman S L. Hepatic fibrosis-overview [J]. Toxicology, 2008, 254(3): 120.
[7] Mallat A, Lotersztajn S. Liver fibrosis: from pathophysiology to therapeutic openings [J]. Gastroenterol Clin Biol, 2009, 33(8/9): 789.
[8] Tsukada S, Parsons C J, Rippe R A. Mechanisms of liver fibrosis [J]. Clin Chim Acta, 2006, 364 (1/2): 33.
[9] 刘红艳,方步武,率红莉,等.蒿鳖养阴软坚方对肝纤维化大鼠抗氧化损伤与诱导凋亡的作用[J].天津医药,2010,38(10):884.
[10] 杨凤蕊,娄建石,方步武.蒿鳖养阴软坚方抗四氯化碳复合因素所致大鼠肝纤维化的作用[J].中草药,2011,42(3):530.
[11] 高爱梅,平洁,汪晖.吡啶-3-原醇对复合因素所致肝纤维化大鼠的治疗作用及部分机制研究[J].中国药理学通报,2011,27(6):764.
[12] 高玉萍,王宁萍.藏药松石丸对大鼠实验性肝纤维化的影响[J].中国实验方剂学杂志,2005,11(5):47.
[13] 更登,藏药久美 70 味松石丸对实验性大鼠肝硬化的影响[J].中国民族民间医药杂志,2002(54):39.
[14] 青献春,刘炳辰,裴香萍,等.软肝散结胶囊抗大鼠肝纤维化实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(15):149.
[15] 李文胜,陈骏,文家萍,等.冷饭团对实验性肝纤维化的防治作用及其机制[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):199.
[16] 张林军,刘光辉,黄东华,等.清纤方抗实验性大鼠肝纤维化的作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(12):75.
[17] 徐晶晶,彭蕴茹,沈明勤,等.藏药朗庆阿塔对四氯化碳所致肝纤维化大鼠的治疗作用[J].时珍国医国药,2009,20(5):1145.
[18] 张媛辉,刘俊田.中药抗肝纤维化作用机制的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(6):66.
[19] 刘鸣昊,薛博瑜.近 5 年来肝纤维化中医证治用药规律的文献研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(18):279.

[责任编辑 聂淑琴]